



UNIVERZITET U NOVOM SADU

MEDICINSKI FAKULTET



**SEROPREVALENCIJA I
EPIDEMIOLOŠKE
KARAKTERISTIKE KRPELJSKOG
ENCEFALITISA U VOJVODINI**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentori:

Prof. dr Vladimir Petrović

Prof. dr Aleksandar Potkonjak

Kandidat:

Tatjana Pustahija

Novi Sad, 2023. godine

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Татјана Пустахија
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	Проф.др Владимир Петровић, редовни професор Катедра за епидемиологију, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду Проф.др Александар Поткоњак, редовни професор Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду
Наслов рада:	Серопреваленција и епидемиолошке карактеристике крпељског енцефалитиса у Војводини
Језик публикације (писмо):	Српски (латиница)
Физички опис рада:	Унети број: Страница 138 Поглавља 8 Референци 216 Табела 17 Слика 9 Графикона 3 Мапа 5 Прилога 5
Научна област:	Медицина
Ужа научна област (научна дисциплина):	Епидемиологија
Кључне речи / предметна одредница:	крпељи; вирус крпељског енцефалитиса; крпељски енцефалитис; сероепидемиолошке студије; епидемиолошки надзор; тест неутрализације
Резиме на језику рада:	Увод: Крпељски енцефалитис је природножаришна векторска болест вирусне етиологије, која се јавља ендемски на широком подручју Европе и Азије. Глобално, крпељски енцефалитис постаје све већи јавноздравствени проблем, јер се постојећа ендемска жаришта шире, а формирају нова, што за последицу има постепен и сталан пораст учесталости ове болести у хуманој популацији и појаву аутохтоних случајева у државама у којима до сада нису регистровани. У Републици Србији, епидемиолошки надзор над крпељским енцефалитисом је пасиван и инсуфицијентан, а лабораторијска дијагностика је доступна у малобројним установама. Циљеви истраживања су били да се докаже присуство вируса

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штапане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штапаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

крпељског енцефалитиса и одреди његов подтип и преваленција у популацији крпеља на територији Фрушке горе, те да се утврде серопреваленција специфичних антитела против вируса крпељског енцефалитиса становника фрушкогорске регије и становника Војводине ван територије Фрушке горе, као и стопа инциденције крпељског енцефалитиса у Војводини.

Материјал и методе: Утврђивање присуства вируса крпељског енцефалитиса и одређивање његове преваленције у популацији крпеља са територије Фрушке горе спроведено је проспективно. Крпељи су прикупљени у периоду од јуна 2019. године до октобра 2019. године, током маја 2020. године и у периоду март-јун 2022. године на 109 локалитета у 49 насељених места Фрушке горе *flag*-час методом. Детерминација крпеља извршена је на основу најважнијих морфолошких карактеристика, према таксономским кључевима. Крпељи су тестирани на присуство вирусне RNK применом PCR методе. Утврђивање присуства, учесталости и распрострањености крпељског енцефалитиса у популацији људи у Војводини спроведено је проспективно од 1. августа 2021. до 31. октобра 2022. године. Испитанике су чинили хоспитализовани пацијенти, код којих је на основу дефиниције случаја Европског Центра за контролу и превенцију болести постављена сумња на ову болест. Крвни серуми и/или ликвор ових пацијената испитани су ELISA тестом на присуство специфичних антитела на вирус крпељског енцефалитиса. Сви серопозитивни и гранични узорци, даље су испитани неутрализационим тестом. Сероепидемиолошко истраживање спроведено је проспективно. На основу критеријума за укључивање испитаника у истраживање, односно искључивање из истраживања, прикупљено је 1000 узорака резидуалног крвног серума становника 49 насеља фрушкогорске регије. Сваком испитанику ове групе по полу и узрасту одговарао је по један из групе испитаника, коју је чинило 1000 крвних серума становника Војводине ван територије Фрушке горе. Лабораторијско испитивање узорака крвних серума спроведено је ELISA тестом на присуство специфичних IgG антитела и сви позитивни и гранични узорци су даље испитани на присуство неутрализујућих антитела. Израчуната је серопреваленција специфичних антитела на вирус крпељског енцефалитиса у обе групе испитаника, те је извршено поређење између њих, а анализирани су и серопреваленције у односу на пол, узраст, место становања испитаника, занимање и претходни увод крпеља.

Резултати: Током периода истраживања, прикупљена је и детерминисана укупно 1931 јединка крпеља, од којих је 1882 лабораторијски испитано PCR методом. Ни у једном узорку није детектована РНК вируса крпељског енцефалитиса. У периоду од 1. августа 2021. до 31. октобра 2022. године, на територији Војводине нису регистровани потврђени случајеви крпељског енцефалитиса. Регистрована серопреваленција антитела на вирус крпељског енцефалитиса у групи становника Војводине ван Фрушке горе износи 0,20% (95% CI: 0,02 - 0,72), а у групи становника фрушкогорске регије 0,40% (95% CI: 0,01– 1,02). Серопреваленција међу становништвом Фрушке горе двоструко је виша од вредности серопреваленције регистроване у групи становника Војводине ван ове регије, али није утврђена статистички значајна разлика у серопреваленцијама између ове две групе. Највиша серопреваленција према узрасту од 2,94% (CI: 95% 0,07–16,39) бележи се у узрасној групи 80 и више година у оба узорка испитаника. У групи испитаника Војводине ван Фрушке горе, серопреваленције према полу су у односу 1:1 (0,20% : 0,20% (95% CI: 0,01– 1,11)), док су сви серопозитивни испитаници на вирус крпељског

	<p>енцефалитиса у групи становника Фрушке горе мушког пола, а регистрована серопреваленција износи 0,80% (95% CI: 0,20–2,05). Серопозитивни испитаници регистровани су у насељеним местима: Беочин (1,08%; 95% CI: 0,02–5,99), Бешка (1,45%; 95% CI: 0,03–8,07), Чортановци (3,57%; 95% CI: 0,09–19,90), Ириг (1,92%; 95% CI: 0,04–10,71) и у делу Јужнобачког округа ван фрушкогорске регије (0,65%; 95% CI: 0,07–2,33).</p> <p>Закључак: Становништво регије Фрушке горе и делова Јужнобачког округа је прокуженије вирусом крпељског енцефалитиса, него остало становништво Војводине ван ових подручја. Неопходна је имплементација свеобухватног надзора над енцефалитисима инфективне етиологије, на основу стандардизоване дефиниције случаја, посебно у сезони највеће активности крпеља, уз јачање лабораторијских капацитета и увођење нових метода лабораторијског испитивања у рутинску праксу. Такође је неопходан скрининг домаћих и дивљих животиња и мониторинг крпеља, уз испитивање преваленције вируса у њима.</p>
Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	24. април 2018. године
Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	
Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	Председник: Члан: Члан: Члан:
Напомена:	

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OR CENTER**

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Tatjana Pustahija
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Vladimir Petrović, MD, PhD, Full Professor Department of Epidemiology, Faculty of Medicine, University of Novi Sad Aleksandar Potkonjak, DVM, PhD, Full Professor Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Thesis title:	Seroprevalence and epidemiological characteristics of tick-borne encephalitis in Vojvodina
Language of text (script):	Serbian language (latin)
Physical description:	Number of: Pages 138 Chapters 8 References 216 Tables 17 Illustrations 9 Maps 5 Graphs 3 Appendices 5
Scientific field:	Medicine
Scientific subfield (scientific discipline):	Epidemiology
Subject, Key words:	Ticks; Encephalitis Viruses, Tick-Borne; Encephalitis, Tick-Borne; Seroepidemiologic Studies; Epidemiological Monitoring; Neutralization Tests
Abstract in English language:	Introduction: Tick-borne encephalitis is a viral vector-borne disease with focal distribution, which occurs endemically in a wide area of Europe and Asia. Globally, tick-borne encephalitis is becoming an increasing public health problem, because existing endemic foci are spreading and new ones are emerging, which results in a gradual and constant increase in the incidence of this disease in human population and the appearance of autochthonous cases in countries where they have not been registered so far. In the Republic of Serbia, epidemiological surveillance of tick-borne encephalitis is passive and insufficient, and laboratory diagnostics are available in a small number of institutions. The aim of the research was to detect the presence of the tick-borne encephalitis virus and determine its subtype and prevalence in the tick population in the territory of Fruška Gora, and to determine the

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

56 – Statement on the authority,

5b – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5r – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at the faculty and are not included into the printed thesis.

seroprevalence of specific antibodies against the tick-borne encephalitis virus among the population of the Fruška Gora region and population of Vojvodina outside the territory of Fruška Gora, as well as the incidence rate of tick-borne encephalitis in Vojvodina.

Material and methods: Detecting the presence of the tick-borne encephalitis virus and determining its prevalence in ticks from the territory of Fruška Gora was conducted prospectively. Ticks were collected in the period from June 2019 to October 2019, during May 2020 and in the period March-June 2022 at 109 locations in 49 places of Fruška Gora using the flag-hour method. The determination of ticks was carried out according to the most important morphological characteristics, according to taxonomic keys. Ticks were tested for the presence of viral RNA using the PCR method. Determining the presence, frequency and prevalence of tick-borne encephalitis in the human population in Vojvodina was conducted prospectively from August 1, 2021 to October 31, 2022. The subjects were hospitalized patients, who were suspected for tick-borne encephalitis, based on the case definition of the European Center for Disease Control and Prevention. The blood sera and/or cerebrospinal fluid of these patients were examined by ELISA test for the presence of specific antibodies to the tick-borne encephalitis virus. All seropositive and borderline samples were further tested with a neutralization test. Seroepidemiological study was conducted prospectively. Based on the criteria for the inclusion of subjects in the research, that is, exclusion from the research, 1000 samples of residual blood serum of residents of 49 places in the Fruška Gora region were collected. Each subject of this group by gender and age was matched by one from the group of subjects, which consisted of 1000 blood sera of residents of Vojvodina outside the territory of Fruška Gora. Laboratory testing of blood serum samples was performed using an ELISA test for the presence of specific IgG antibodies, and all positive and borderline samples were further tested for the presence of neutralizing antibodies. The seroprevalence of specific antibodies against the tick-borne encephalitis virus was calculated in both groups of subjects, and they compared. Also, the seroprevalence was analyzed in relation to sex, age, place of residence of the subjects, occupation and previous tick bite.

Results: During the research period, a total of 1931 ticks were collected and determined, of which 1882 were laboratory tested using the PCR method. No tick-borne encephalitis virus RNA was detected in any sample. In the period from August 1, 2021 to October 31, 2022, no confirmed cases of tick-borne encephalitis were registered on the territory of Vojvodina. The registered seroprevalence of specific antibodies to the tick-borne encephalitis virus in the group of residents of Vojvodina outside Fruška Gora is 0.20% (95% CI: 0.02 - 0.72), and in the group of residents of the Fruška Gora region it is 0.40% (95% CI: 0.01–1.02). Seroprevalence among the population of Fruška Gora is twice as high as the value of seroprevalence registered in the group of inhabitants of Vojvodina outside this region, but no statistically significant difference in seroprevalence between these two groups was determined. The highest seroprevalence of 2.94% (CI: 95% 0.07–16.39) was recorded in the age group of 80 years and older in both samples of respondents. In the group of respondents from Vojvodina outside Fruška Gora, the male/female seroprevalence ratio is 1:1 (0.20% : 0.20% (95% CI: 0.01– 1.11)), while in the population of Fruška Gora, all seropositive respondents were males, and the registered seroprevalence is 0.80% (95% CI: 0.20–2.05). Seropositive respondents were registered in places: Beočin (1.08%; 95% CI: 0.02–5.99), Beška (1.45%; 95% CI: 0.03–8.07), Čortanovci (3.57%; 95% CI: 0.09–19.90), Irig (1.92%; 95% CI: 0.04–10.71) and in the part of South Bačka District outside the Fruška Gora region (0.65%; 95% CI: 0.07–2.33).

Conclusion: The population of the region of Fruška Gora and parts of the

	<p>South Bačka district were more infected with the tick-borne encephalitis virus than the rest of the population of Vojvodina outside these areas. It is necessary to implement a comprehensive surveillance of viral encephalitis, based on a standardized case definition, especially in the season of the highest tick activity, with the strengthening of laboratory capacities and the introduction of new methods of laboratory testing into routine practice. It is also necessary to carry out screening of domestic and wild animals and monitoring of ticks with an examination of the prevalence of the tick-borne encephalitis virus in them.</p>
Accepted on Scientific Board on:	April 24, 2018
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	President: Member: Member: Member:
Note:	

Zahvalnica

S poštovanjem izražavam neizmernu zahvalnost svojim mentorima prof. dr. Vadimiru Petroviću i prof. dr. Aleksandru Potkonjaku na ukazanom poverenju, velikoj pomoći, usmeravanju i savetima tokom sprovođenja ovog istraživanja i izrade disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem i mom načelniku prof. dr. Mioljubu Ristiću na razumevanju, korisnim savetima i smernicama.

Ogromnu zahvalnost dugujem prim. dr. sci. med. Snežani Medić na podršci, nesebičnom deljenju znanja i na svemu što sam od nje naučila tokom proteklih godina.

Moja zahvalnost upućena je i načelnici Centra za virusologiju Instituta za javno zdravlje Vojvodine doc. dr. Aleksandri Patic na podršci, nesebičnoj pomoći i korisnim sugestijama.

Veliku zahvalnost dugujem dr. sci. vet. med. Tamašu Petroviću na sugestijama i pomoći tokom eksperimentalnog dela ovog istraživanja.

Veliko hvala upućujem i prof. dr. Vesni Turkulov i prof. dr. Siniši Seviću, koji su i pored angažovanja tokom pandemije COVID-19, doprineli realizaciji ovog istraživanja.

Iskazujem veliku zahvalnost i prof. dr. Aleksandru Jurišiću na prenesenom znanju i pomoći oko prikupljanja i determinacije krpelja.

Neizmerno hvala i profesoru Danijelu Ružeku iz Veterinarskog istraživačkog instituta u Brnu, Češka Republika, na sugestijama i angažovanja tokom izvođenja neutralizacionog testa.

Zahvalnost dugujem i dragim kolegama iz Centra za kontrolu i prevenciju bolesti Instituta za javno zdravlje Vojvodine za prijateljsku podršku, reči ohrabrenja i zdravu radnu atmosferu.

Zahvaljujem se na pomoći svim kolegama iz Centra za virusologiju. Posebno bih izdvojila dr. sci. Gordanu Kovačević, Danijelu Latinović, Jasminu Urošev, Marijanu Filipović i Duška Pašića. Moja posebna i neizmerna zahvalnost za podršku, posvećenost, preciznost i angažovanje tokom eksperimentalnog dela ovog istraživanja upućena je dragoj kolegini Nataši Bogdanović.

Za angažovanje i pomoć tokom determinacije krpelja i njihove pripreme za analizu sam veoma zahvalna i dr. sci. Jeleni Radovanov.

Zahvalnost na tehničkoj podršci tokom izrade disertacije, ali i tokom dosadašnjeg radnog staža, dugujem dragom kolegi Josipu Mihajloviću. Na pomoći se zahvaljujem i Danijeli Grujić.

Na pomoći prilikom statističke analize rezultata, zahvaljujem se kolegi Zoranu Topalovu.

Zahvaljujem se i kolegini Milani Vidak, Siniši Vujasinoviću iz Neština i studentima veterinarske medicine Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu na pomoći tokom prikupljanja krpelja.

Veliko hvala dugujem i Nikoli Bijelošu na angažovanju tokom prikupljanja uzoraka seruma.

Zahvaljujem rukovodstvu ustanova, u saradnji s kojima je sprovedeno ovo istraživanje, a posebno šefovima laboratorija i laboratorijskom osoblju ovih ustanova. Veliko hvala i ispitanicima i roditeljima ispitanika na pristanku i odvojenom vremenu za učestvovanje u istraživanju.

Hvala mojim prijateljima i rodbini, koji su bili uz mene i pružali mi podršku.

I na kraju, posebno želim da se zahvalim mom pokojnom ocu, koji je bezrezervno verovao u mene, usmeravao me i bio mi bezgranična podrška.

Najveća zahvalnost, na neizmernoj podršci, ljubavi i požrtvovanosti upućena je mojoj majci, koja je ostavila svoj život po strani da bi meni bila od pomoći i koja je ceo život bila moj oslonac.

Jednaku zahvalnost dugujem i suprugu Vladimiru, bez čijeg razumevanja, ljubavi, pomoći i podrške ova disertacija ne bi ugledala svetlost dana, kao i našoj deci na ogromnom strpljenju, ljubavi i razumevanju.

Mojoj majci, Lazaru, Danilu i Vladimiru

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Istorijat krpeljskog encefalitisa.....	1
1.2. Virus krpeljskog encefalitisa	2
1.3. Patogeneza krpeljskog encefalitisa.....	4
1.4. Imunski odgovor domaćina na infekciju virusom krpeljskog encefalitisa	5
1.5. Kliničke karakteristike krpeljskog encefalitisa.....	6
1.5.1. Postencefalitični sindrom	9
1.6. Eko-epidemiologija krpeljskog encefalitisa	10
1.6.1. Vektori, rezervoari i životni ciklus virusa krpeljskog encefalitisa u prirodi	10
1.6.2. Epidemiološke karakteristike krpeljskog encefalitisa	14
1.7. Nadzor nad krpeljskim encefalitisom	17
1.7.1. Nadzor nad krpeljskim encefalitisom u Republici Srbiji.....	19
1.7.2. Definicija slučaja krpeljskog encefalitisa prema ECDC	20
1.8. Dijagnostika krpeljskog encefalitisa.....	21
1.9. Terapija krpeljskog encefalitisa.....	23
1.10. Mere sprečavanja i suzbijanja krpeljskog encefalitisa	23
1.10.1. Opšte mere sprečavanja i suzbijanja krpeljskog encefalitisa.....	23
1.10.2. Imunizacija protiv krpeljskog encefalitisa.....	25
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE.....	27
3. MATERIJAL I METODE RADA.....	28
3.1. Struktura, vreme i mesto sprovođenja istraživanja.....	28
3.2. Metodologija utvrđivanja prisustva virusa krpeljskog encefalitisa i određivanje njegove prevalencije u populaciji krpelja prikupljenih na teritoriji Fruške gore	29
3.2.1. Prikupljanje, transport, skladištenje i determinacija krpelja.....	29
3.2.2. Laboratorijsko ispitivanje krpelja na prisustvo virusa krpeljskog encefalitisa.....	31
3.2.3. Obrada i analiza podataka.....	33
3.3. Metodologija utvrđivanja prisustva, učestalosti i rasprostranjenosti krpeljskog encefalitisa u populaciji ljudi na teritoriji Vojvodine	33

3.3.1. Način izbora, konstrukcija i veličina uzorka	33
3.3.2. Transport, skladištenje i laboratorijsko ispitivanje uzoraka hospitalizovanih pacijenata sa sumnjom na krpeljski encefalitis	34
3.3.3. Prikupljanje podataka putem upitnika, analiza i obrada rezultata	37
3.4. Metodologija seroepidemiološkog ispitivanja prokuženosti stanovnika Vojvodine na virus krpeljskog encefalitisa	38
3.4.1. Način izbora, konstrukcija i veličina uzorka	38
3.4.2. Kriterijumi za uključivanje ispitanika u istraživanje i isključivanje iz istraživanja pri formiranju studijske grupe.....	40
3.4.3. Transport i skladištenje uzoraka rezidualnih krvnih seruma.....	40
3.4.4. Laboratorijsko ispitivanje rezidualnih krvnih seruma na prisustvo specifičnih IgG antitela na virus krpeljskog encefalitisa	40
3.5. Statistička obrada podataka	42
4. REZULTATI	44
4.1. Rezultati utvrđivanja prisustva virusa krpeljskog encefalitisa i određivanje njegove prevalencije u populaciji krpelja prikupljenih na teritoriji Fruške gore	44
4.1.1. Rezultati laboratorijskog testiranja krpelja na prisustvo virusa krpeljskog encefalitisa ..	44
4.1.2. Brojnost i distribucija prikupljenih krpelja na teritoriji Fruške gore prema polu i razvojnem stadijumu	44
4.1.3. Pregled prikupljenih vrsta krpelja na teritoriji Fruške gore.....	48
4.1.4. Brojnost i distribucija pojedinih vrsta krpelja na teritoriji Fruške gore prema polu i razvojnem stadijumu	56
4.2. Rezultati utvrđivanja prisustva, učestalosti i rasprostranjenosti krpeljskog encefalitisa u populaciji ljudi na teritoriji Vojvodine	64
4.3. Rezultati seroepidemiološkog ispitivanja prokuženosti stanovnika Vojvodine na virus krpeljskog encefalitisa	66
4.3.1. Rezultati seroepidemiološkog ispitivanja prokuženosti stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore na virus krpeljskog encefalitisa.....	66
4.3.2. Rezultati seroepidemiološkog ispitivanja prokuženosti stanovnika Fruške gore na virus krpeljskog encefalitisa	70

4.3.3. Poređenje seroprevalencija neutrališućih antitela na virus krpeljskog encefalitisa između stanovnika Fruške gore i stanovnika Vojvodine van ove regije.....	82
4.4. Analiza učestalosti uboda krpelja među stanovništvom Fruške gore.....	83
5. DISKUSIJA	89
6. ZAKLJUČAK.....	111
7. LITERATURA	113
8. PRILOZI.....	133
LISTA SKRAĆENICA	139
SPISAK SLIKA.....	141
SPISAK TABELA.....	142
SPISAK GRAFIKONA.....	144
SPISAK MAPA.....	145

1. UVOD

Krpeljski encefalitis (KE) je prirodnožarišna vektorska bolest virusne etiologije, koja se javlja endemski na širokom području Evrope i Azije (1). Na osnovu toka bolesti i njenih kliničkih manifestacija ili na osnovu naziva endemskih područja ili naučnika koji su doprineli znanju o ovoj bolesti, KE se naziva još i centralnoevropski encefalitis, krpeljski meningoencefalitis, ruski prolećno-letnji encefalitis, meningoencefalitis ranog leta, bifazni meningoencefalitis, biundulantni meningoencefalitis, tajga encefalitis, bifazna mlečna groznica ili Šnajderova bolest (1,2).

1.1. Istorijat krpeljskog encefalitisa

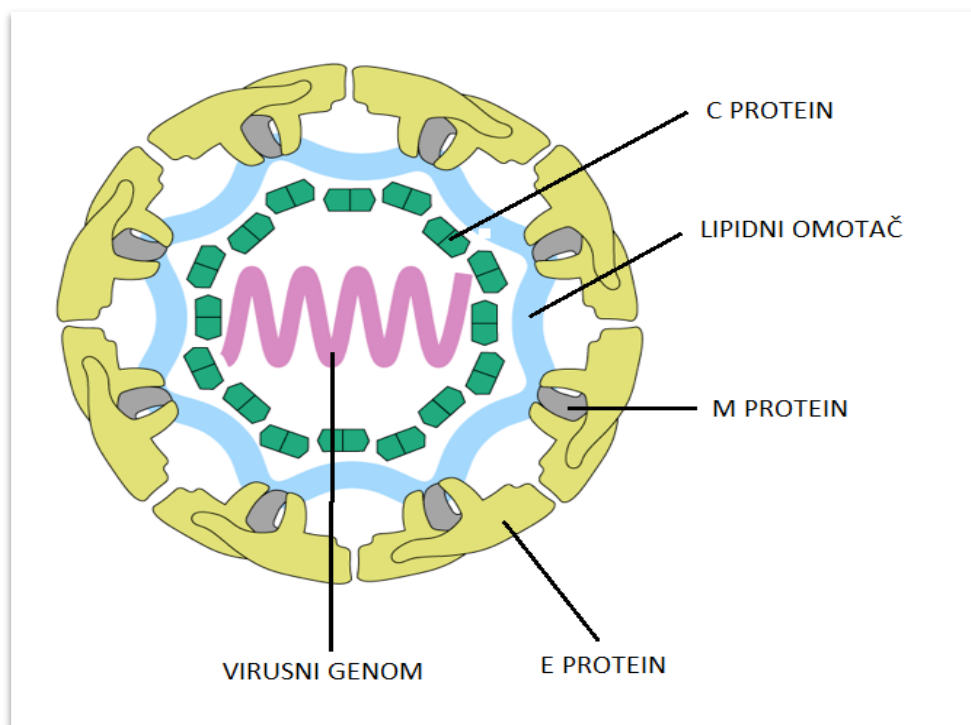
Prvi zapisi o KE datiraju još iz 18. veka, a nalaze se u crkvenim knjigama u Finskoj (3). Prvu epidemiju KE opisao je Šnajder 1931. godine, a oboljenje je nazvao „akutni epidemijski serozni meningitis“ (tzv. Šnajderova bolest). U ovoj, prvoopisanoj, epidemiji obolele su tri porodice i njihovo pomoćno osoblje (ukupno 24 slučaja) u jugoistočnoj Austriji, a pretpostavljeni put širenja je bio alimentarni preko kontaminiranog mleka (4). Virus krpeljskog encefalitisa je prvi put izolovan 1937. godine u bivšem Sovjetskom Savezu. Naime, tridesetih godina prošlog veka u tajgama Dalekog Istoka registrovano je obolevanje velikog broja vojnika, šumskih i pružnih radnika od nepoznate neurološke bolesti, koju je pratila visoka smrtnost. Istraživački tim, na čelu sa profesorom Zilberom, je nakon boravka u zaraženom području izolovao virus iz moždanog tkiva pacijenta, koji je preminuo od akutnog encefalitisa. Virus je takođe izolovan iz miševa i iz krpelja, koji su se na njima hranili, te je napokon bila utvrđena etiologija ovog oboljenja. Krpelj, vrste *Ixodes persulcatus* je označen kao glavni vektor (3,5). Već sledeće godine bila je poznata i eko-epidemiologija virusa KE (6). Odmah po otkrivanju etiološkog agensa KE, 1937. godine, u bivšem Sovjetskom Savezu proizvedena je prva vakcina protiv ove bolesti. Dobijena je obradom virusa izolovanog iz mozga miševa, koji su prethodno bili intracerebralno inficirani dalekoistočnim podtipom virusa KE. Bila je efikasna, ali je izazivala učestale alergijske neželjene reakcije (7,8). U Evropi virus KE prvi put je izolovan 1939. godine i to iz krpelja vrste *Ixodes ricinus* u Belorusiji, a zatim 1948. godine u tadašnjoj

Čehoslovačkoj (3,9). Usledila su brojna laboratorijska istraživanja, koja su 1976. godine dovela do razvoja prve „evropske“ vakcine protiv ove bolesti (10).

1.2. Virus krpeljskog encefalitisa

Uzročnik krpeljskog encefalitisa je virus krpeljskog encefalitisa (engl. *Tick-Borne Encephalitis Virus*, TBEV), koji pripada rodu *Flavivirus*, porodici *Flaviviridae*. Ovaj rod čini više od 70 vrsta virusa, koji se od ostalih članova porodice *Flaviviridae* razlikuju po svojim antigenskim i epidemiološkom karakteristikama (11,12). Rod *Flavivirus* se deli u tri velike skupine: flavivirusi koje prenose komarci (*mosquito-borne flaviviruses* (MBFV)), flavivirusi koje prenose krpelji (*tick-borne flaviviruses* (TBFV)) i flavivirusi čiji je vektor još uvek nepoznat (*no known vector flaviviruses* (NKV)). Prvoj skupini (MBFV) pripadaju virus Zapadnog Nila (WNV), denge (DENV), Japanskog encefalitisa (JEV), žute groznice (YFV), Zika virus (ZKV) i mnogi drugi. Skupina flavirusa, koje prenose krpelji (TBFV) dalje se deli na dve grupe: grupa povezana sa sisarima (*mammalian tick-borne virus group* (M-TBFV)) i grupa povezana sa morskim pticama (*seabird tick-borne virus group* (S-TBFV)). Virus KE, zajedno sa virusom Omske hemoragijske groznice (OHFV), bolesti šume Kjasanur (KFDV), Lupingove bolesti (LIV) i *Powassan* virusom (POWV) čini prvu grupu (13,14). Za viruse druge grupe još nije dokazano da su patogeni za ljude (15).

Virus KE spada u male viruse sa lipidnim omotačem. Sferičnog je oblika i prečnika oko 50 nanometara (Slika 1) (14,16). U nukleokapsidu virusa nalazi se genom, koji čini jednočlana, pozitivno orijentisana ribonukleinska kiselina (RNK), dužine 11 kilobaza, koja kodira tri strukturna proteina – kapsidni protein (C), membranski protein (M – nastao od prekursora prM) i glikoprotein omotača (E), kao i sedam nestrukturnih proteina – NS1 (glikoprotein), NS2A, NS2B (komponenta proteaze), NS3 (aktivnost proteaze, helikaze i nukleotid-trifosfataze), NS4A, NS4B i NS5 (RNK polimeraza) (14,16). Glikoprotein E je odgovoran za vezivanje virusa za ćelijske receptore, kao i za fuziju virusa sa ćelijskom membranom, a takođe je i najvažniji antigen, na koji se stvaraju specifična neutrališuća antitela (17,18).



Slika 1. Struktura virusa krpeljskog encefalitisa (ljubaznošću Pulkkinen i saradnika (16), adaptirano i reprodukovano pod međunarodnom licencom Creative Commons Attribution (CC BY 4.0))

Virus KE je osetljiv na faktore spoljašnje sredine. Temperatura, preko 60° C i ultravioletni zraci inaktiviraju ga za dva minuta, ali u mleku i siru održava vijabilnost oko dve nedelje na 4° C. Za epidemiologiju KE važna je acidorezistencija uzročnika, odnosno njegova otpornost u uslovima niskih vrednosti pH, koja mu omogućava prenošenje alimentarnim putem. Epidemiološki značajna osobina ovog virusa je i termolabilnost, te se efikasno može uništiti pasterizacijom (1,19,20).

Filogenetskom analizom do sada je otkriveno sedam genetski i antigenski povezanih podtipova TBEV: evropski (TBEV-Eu), sibirski (TBEV-Sib), dalekoistočni (TBEV-Fe) i kasnije otkriveni himalajski (TBEV-Him), bajkalski 1 i 2 (TBEV-Bkl-1 i TBEV-Bkl-2) i obski (TBEV-Ob) podtipovi (21).

1.3. Patogeneza krpeljskog encefalitisa

Tokom uboda zaraženog krpelja, iz njegove pljuvačke, virus dospeva u potkožno tkivo domaćina. Odmah nakon inokulacije umnožava se prvo u keratinocitima, a zatim u neutrofilima, makrofazima i Langerhansovim ćelijama kože, koje ga putem drenažnih limfnih sudova prenose do regionalnih limfnih čvorova. (22-24). Dalja replikacija virusa u limfnim čvorovima praćena je širenjem virusa eferentnim limfnim sudovima i torakalnim kanalom, dovodeći dalje do viremije i diseminacije virusnih partikula ka organima mononuklearnog fagocitnog sistema (jetra, slezina, kosna srž). U ovim organima se takođe dešava replikacija sa posledičnom sekundarnom viremijom, tokom koje virus dospeva do centralnog nervnog sistema (CNS). Umnožavanje virusa KE u CNS-u izaziva zapaljenje, razgradnju moždanih ćelija i oštećenje njihove funkcije (25-27). Uprkos brojnim istraživanjima, tačan mehanizam prodora virusa KE kroz krvno-moždanu barijeru još uvek nije razjašnjen. U literaturi se navodi nekoliko pretpostavljenih puteva: preko perifernih nerava ili putem olfaktornih neurona, zatim ulaskom virusa u endotelne ćelije kapilara mozga i transcitozom u moždano tkivo i, na kraju, difuzijom virusa između ćelija kapilarnog endotela. Preduslov za prodor virusa kroz krvno-moždanu barijeru je masivna replikacija virusa u organima hematopoeznog aparata i sledstvena hiperprodukcija virusa (23,28.29).

Patološke promene u CNS-u nisu specifične, a najizraženije su u moždanim ovojnicama i u svojoj masi moždanih struktura. U moždanim ovojnicama, posebno cerebelarnim, dešava se difuzna limfocitna infiltracija, koja se klinički ispoljava meningitisom. U ćelijama sive mase pored infiltracije limfocitima, dolazi i do nagomilavanja ćelija glije, nekroze nervnih ćelija i neurofagije. Kako virus KE pokazuje izrazit tropizam za velike neurone sive mase, a naročito Purkinjeove ćelije u kori malog mozga, ove promene su najizraženije u kičmenoj moždini, moždanom stablu i malom mozgu, dajući kliničku sliku poliencfalomijelitisa. Nije poznato da li u osnovi patogenetskog mehanizma stoji direktan citolitički efekat virusa ili je pak oštećenje tkiva posredovano imunskim odgovorom domaćina (30,31).

Ukoliko je ulazno mesto infekcije virusa KE digestivni trakt, primarna replikacija se odvija u epitelnim i Langerhansovim ćelijama creva, odakle virus dospeva do regionalnih limfnih čvorova. Dalji patogenetski mehanizam je identičan kao kod infekcije nastale ubodom inficiranog krpelja (32).

1.4. Imunski odgovor domaćina na infekciju virusom krpeljskog encefalitisa

Tokom uzimanja krvnog obroka zaraženi krpelj na mestu uboda, putem pljuvačke, pored virusa, ispušta i inhibitore bradikinina i serotonina (na taj način inhibiše pojavu bola i svraba na mestu uboda), antihemostatske i imunomodulatorne molekule, čime stimuliše niz imunoloških reakcija u organizmu domaćina (24,33). Odmah nakon prvog kontakta sa bioaktivnim molekulima i virusom KE, aktiviraju se Langerhansove ćelije, endotelne ćelije, makrofazi i fibroblasti, koji su normalno prisutni u koži domaćina. Ovim se pokreće složen sistem produkcije brojnih medijatora zapaljenja – hemokina i citokina, među kojima je u ovoj fazi najznačajniji interferon tipa I (34,35). On dalje aktivira makrofage i ćelije prirodne ubice (NK ćelije) i podstiče T limfocite na diferencijaciju, a B limfocite na produkciju specifičnih antitela (36).

Supstancije iz pljuvačke krpelja mogu modulirati ovaj imunski odgovor domaćina, dovodeći do imunosupresije inhibicijom odgovora antitela domaćina, aktivacije komplementa, proliferacije T-ćelija i produkcije citokina. To im omogućava nesmetano hranjenje krvlju domaćina, a i olakšava prelaz virusa iz pljuvačke u ćelije kože domaćina i njegovu replikaciju (37, 38). I pored brojnih proba u uslovima *in vitro* i ispitivanja na eksperimentalnim životinjama (miševima) ovaj složeni imunski odgovor nije u potpunosti rasvetljen kod ljudi, naročito zbog nemogućnosti ispitivanja pacijenata obolelih od KE na početku infekcije, kada imaju nespecifične simptome bolesti i ne traže medicinsku pomoć. Rezultati dobijeni iz eksperimenata na životinjama moraju se tumačiti sa rezervom kada su ljudi u pitanju, zbog izvesnih razlika u imunskom odgovoru na viruse (34,35). Optimalan ćelijski imunitet, posredovan T limfocitima, kao i kod drugih virusnih infekcija, ima presudnu ulogu u borbi organizma sa virusom KE. U odgovoru na prisutne antigene virusa, T ćelije se diferenciraju u regulatorne (CD4+) i efektorne (CD8+) T limfocite. Regulatorni limfociti nastaju u odgovoru na strukturne proteine (protein E i C) i pružaju pomoć pri stvaranju i održavanju humoralnog imunskog odgovora (39). Efektorni T limfociti nastaju u odgovoru na nestrukturne proteine virusa KE (NS), deluju direktno citotoksično, što je njihova ključna uloga za uklanjanje virusa iz organizma, naročito iz CNS-a. Jedan mali deo ovih ćelija ostaje u organizmu i posle eliminacije antigena u vidu memorijskih ćelija, koje se aktiviraju odmah nakon ponovnog izlaganja istom infektivnom agensu i obezbeđuju dugoročni zaštitni imunitet (32,39). Sa druge strane, preterana aktivacija ćelijskog

imunskog odgovora, a posebno CD8+ limfocita u CNS-u, vodi ka intenzivnom zapaljenskom procesu u neuronima, koji za posledicu ima razvoj teških oblika ove bolesti (32,40). Dakle, ćelijski imunološki odgovor čoveka na virus KE je veoma snažan i kompleksan i može imati dvostruku funkciju, zaštitnu i štetnu, te na taj način uveliko određuje kliničku formu bolesti (23).

Klinički oblik bolesti takođe zavisi i od humoralnog imuniteta, posredovanog B limfocitima. Nedavne studije su dokazale da je koncentracija specifičnih antitela u serumu obrnuto srazmerna težini kliničke slike KE. Naime, uloga humoralnog imunskog odgovora u ranoj fazi infekcije virusom KE jeste zaštita od visoke koncentracije slobodnih virusa u krvi, koja je, kao što je ranije napomenuto, preduslov za prolazak virusa kroz krvno-moždanu barijeru. Ukoliko je nivo specifičnih antitela nizak, dolazi do visoke viremije, koja će omogućiti ulazak virusa u CNS i posledični razvoj teže kliničke slike bolesti (32,41).

Humoralni imunski odgovor se pokreće nakon antigene stimulacije B limfocita, koje se diferenciraju u plazma ćelije, a one luče imunoglobuline M (IgM) i G klase (IgG). Glavni induktor stvaranja specifičnih antitela je protein E omotača virusa KE (39,41). Specifična antitela se mogu detektovati u krvnom serumu i cerebrospinalnoj tečnosti (likvoru) tek na početku druge, odnosno neurološke faze bolesti (39,42). Nivo serumskih IgM počinje da raste između nultog i šestog dana od pojave neuroloških simptoma bolesti i na visokim vrednostima se održava u periodu do šest nedelja od početka bolesti, kada počinje da pada, pa se dalje održava na niskim vrednostima nekoliko meseci, retko do godinu dana (43). U likvoru specifična IgM dostižu najviši nivo od devetog dana do šeste nedelje od početka neuroloških simptoma bolesti (43,44). Nasuprot tome, nivo IgG antitela i u serumu i u likvoru dostiže svoj maksimum oko šest nedelja nakon početka druge faze bolesti (45). Ova klasa antitela ostaje detektabilna doživotno i obezbeđuje imunitet, koji sprečava ponovnu infekciju virusom KE (14).

1.5. Kliničke karakteristike krpeljskog encefalitisa

Prosečan inkubacioni period krpeljskog encefalitisa traje od sedam do deset dana (minimalno dva, maksimalno 28). Dužina inkubacionog perioda je znatno kraća kod alimentarnog puta prenošenja i u proseku iznosi tri do četiri dana (27).

Jedna trećina infekcija virusom KE se klinički ispolji (46). Rizik od klinički manifestne bolesti povećava se sa starošću i prisustvom pridruženih bolesti (47). Naime, stariji od 50 godina

znatno češće ispoljavaju simptome i znake ove bolesti, a takođe su i u većem riziku od razvoja teških kliničkih oblika KE. U ovoj grupi pacijenata su i trudnice i osobe oslabljenog imuniteta, među kojima su posebno u riziku oboleli od dijabetesa, onkološki pacijenti, osobe sa transplantiranim organima, zatim oboleli od autoimunih bolesti, kao što su reumatoidni artritis, vaskulitis, psorijaza i druge, koje zahtevaju dugotrajno lečenje kortikosteroidima i imunomodulatorima, kao i sva druga stanja koja dovode do imunosupresije (8,47). Postoje indicije da i genetska predispozicija ima važnu ulogu u nastanku teških kliničkih formi KE, pa se na ovom polju, poslednjih godina, intenzivno sprovode ispitivanja (8).

Način ispoljavanja bolesti i težina kliničke slike uveliko zavise i od virusoloških faktora, kao što su podtip virusa i infektivna doza. Infekcije izazvane evropskim podtipom imaju kod oko 75% pacijenata bifazan tok (48). Prva (viremijska) faza bolesti traje od jedan do osam dana (najčešće dva do četiri) sa simptomima sličnim gripu (povišena telesna temperatura, malaksalost, bolovi u mišićima, glavobolja i mučnina), nakon čega sledi asimptomatski period, koji može trajati od jedan do 21 dan (48,49). Klinički oblik bolesti koji se manifestuje samo ovom prvom fazom naziva se febrilni ili abortivni oblik i završava se potpunim ozdravljenjem. Ipak, kod 20-30% pacijenata razvija se druga, odnosno neurološka faza bolesti, koja počinje naglo povišenom telesnom temperaturom ($>39^{\circ}$ C) i praćena je pojavom neuroloških simptoma (18,50).

U zavisnosti koja je moždana struktura zahvaćena infekcijom, manifestuje se kliničkom slikom meningitisa, encefalitisa, mijelitisa, radikulitisa ili njihovih kombinacija (26,48). Meningitis je praćen jakom glavoboljom, ukočenošću vrata i drugim meningealnim znacima, mučninom, povraćanjem i vrtoglavicom. Najčešći je klinički oblik u mlađem uzrastu i ima dobru prognozu (51). Kod odraslih, najčešći klinički oblik je meningoencefalitis sa učestalošću od oko 50% (52).

Encefalitisom je najčešće zahvaćen mali mozak, te simptomi posledično uključuju ataksiju, ali se mogu javiti i poremećaji svesti do kome, konvulzije, nemir, hiperkinezija (najčešće udova i mišića lica), poremećaji govora, hemipareze ili hemiplegije, urinarna i fekalna inkontinencija (52,53). Kod encefalitisa nisu retki ni poremećaji ponašanja, kognitivnih funkcija i razvoj psihoza (54).

Najteži oblik bolesti je meningoencefalomijelitis, koga dodatno prate pareze mišića, koje su mlitave i prethodi im bol u zahvaćenom mišiću. Češće zahvataju gornje ekstremitete i njihove

proksimalne segmente, te liče na poliomijelitis i mogu dovesti do dugotrajne invalidnosti (27,49,55). U oko 10% slučajeva, koji razviju neurološku simptomatologiju, zahvaćeni su kranijalni nervi, što je praćeno asimetričnom parezom očnih, facijalnih i faringealnih mišića i oštećenjem sluha (56).

Virus KE može biti odgovoran i za radikulitis, za koji je karakteristično oštećenje perifernih živaca, a koji se manifestuje jakim bolom u leđima, ramenom pojasu i udovima, oslabljenim tetivnim refleksima i senzornim poremećajima. Ima povoljniji ishod od mijelitisa (55,57).

Kada zapaljenski proces zahvati moždano stablo, posebno produženu moždinu, nastaje bulbarni sindrom, koji ima veoma lošu prognozu (52,55). Smrtni ishod obično nastaje usled respiratorne insuficijencije ili cirkulatornog kolapsa (52). Letalitet KE izazvanog evropskim podtipom virusa kreće se od 0,5-2%. Kod 10-20% slučajeva, posle preležane bolesti ostaju neurološke sekvele (14,52).

Dalekoistočni podtip virusa KE izaziva najteži oblik bolesti, sa letalitetom između 5 i 40% (48,54). Tok bolesti je u preko 90% slučajeva monofazan sa naglim početkom (23). Pored opšteg infektivnog sindroma sa izrazito visokom telesnom temperaturom, odmah na početku bolesti se javljaju i neurološki simptomi. Zapaljenski proces ekstenzivno zahvata centralni i periferni nervni sistem, te su kod ovog oblika bolesti često zahvaćeni moždano stablo i produžena moždina, pa je i smrtni ishod češći. U 30-60% preživelih ostaju trajne neurološke posledice (18,48). Pretpostavlja se da je novootkriveni bajkalski-2 podtip virusa KE veoma sličan dalekoistočnom i da je visoko virulentan, ali to tek treba da bude potvrđeno u budućnosti (58).

Sibirski podtip izaziva blaže oboljenje kod ljudi nego dalekoistočni, sa visokim udelom asimptomatskih i febrilnih oblika bolesti bez neuroloških simptoma od čak 80% i nižim letalitetom od 2-3% (13,59). Ovaj podtip je povezan sa razvojem hroničnog oblika KE kod 1,7% obolelih (49).

Hronični oblik nastaje kod pacijenata kod kojih virus KE ostaje aktivan u CNS-u nekoliko meseci, pa i godina nakon zaražavanja. Prouzrokovan je sibirskim i ređe dalekoistočnim podtipom virusa (8). Do sada su opisana i dva slučaja ove kliničke forme bolesti nakon infekcije evropskim podtipom (48). Češće se javlja kod dece i radno aktivnih osoba (52). Može se ispoljiti kao progresivni neuritis obično ramenog pleksusa, amiotrofična lateralna

skleroza, zatim kao bolest slična Parkinsonovoj ili kao progresivna mišićna atrofija praćena mentalnim propadanjem sve do razvoja teške demencije. Ipak, najčešća manifestacija ovog kliničkog oblika bolesti je mioklonična hiperkinezija određenih grupa mišića (najčešće ekstremiteta i lica), koji mogu progredirati do epileptoidnog sindroma (tzv. Koževnikove epilepsije) (8,13,49,52). Smrtnost od hroničnog oblika bolesti je oko 17% u periodu od 9 do 20 godina od ispoljavanja (8).

Virus KE može izazvati infekcije i organa van CNS-a. Do sada su opisani retki slučajevi hepatitisa, pankreatitisa i miokarditisa, kao i slučajevi izuzetno teškog hemoragijskog oblika ove bolesti, koji je udružen sa visokom smrtnošću, a javlja se izuzetno retko i to samo nakon infekcije dalekoistočnim podtipom virusa KE (48,55,60).

Infekcije virusom KE nastale alimentarnim putem su dvofaznog toka, bez obzira kojim podtipom virusa su prouzrokovane, te zbog toga nose naziv "bifazne mlečne groznice". Bolest počinje naglo, povišenom telesnom temperaturom i drugim simptomima i znacima opšteg infektivnog sindroma, koji su praćeni gastrointestinalnim tegobama u vidu mučnine i povraćanja. Simptomi traju od pet do deset dana, pa se, nakon perioda kliničkog poboljšanja od nekoliko dana, ponovo javljaju sa mnogo jačim intenzitetom. Neurološke tegobe se retko razvijaju i to samo u formi blagog meningitisa i/ili encefalitisa, te ovaj klinički oblik bolesti nikada ne ostavlja trajne neurološke posledice. Samim tim, alimentarne infekcije izazvane virusom KE su mnogo blaže od infekcija koje su nastale nakon prenošenja virusa ubodom krpelja, što se objašnjava različitim imunskim odgovorom na početku infekcije i manjom infektivnom dozom (13).

1.5.1. Postencefalitični sindrom

Infekcija CNS-a prouzrokovana virusom KE kod 35-58% slučajeva ostavlja posledice, koje se zajedničkim imenom nazivaju postencefalitični sindrom (61). Čini ga čitav spektar neuroloških komplikacija, među kojima su najčešće glavobolja, vrtoglavica, hronični umor, poremećaji sna, kognitivnih funkcija, koncentracije, raspoloženja i ponašanja, a nisu retki ni psihički poremećaji, najčešće depresija. Teže sekvele su pareze i paralize kranijalnih i perifernih nerava, među kojima je najčešća paraliza brahijalnog pleksusa i posledična slabost mišića ramenog pojasa, a mogu se javiti i pareza facijalnog nerva, oftalmoplegija sa posledičnim

oštećenjem vida, te oštećenje sluha izazvano parezom vestibularnog nerva. Neretko se javljaju znaci oštećenja malog mozga: nesigurnost pri hodu, ataksija, tremor i poremećaj ravnoteže (52,62). Najteži oblik postencefalitičnog sindroma jeste kvadripareza sa istovremenom respiratornom paralizom, koja zahteva mehaničku ventilaciju (48). Na nastanak sekvela značajno utiču starost obolelog, težina kliničke slike i podtip virusa (50).

Najveći rizik od nastanka dugotrajnih neuroloških komplikacija imaju osobe starije od 50 godina, zatim one koje su razvile kliničku sliku meningoencefalomijelitisa i kod kojih je infekcija prouzrokovana dalekoistočnim podtipom virusa (63). Kako su krpelji, osim KE, vektori i drugih zaraznih bolesti, udružene infekcije borelijama, rikecijama, anaplazmom i drugim patogenim uzročnicima takođe povećavaju rizik od razvoja teškog oblika bolesti i posledičnog nastanka neuroloških komplikacija (52). Postencefalitični sindrom značajno narušava kvalitet života obolelih, produžava period hospitalizacije i opterećuje zdravstveni sistem visokim troškovima lečenja, a može dovesti i do smrtnog ishoda (64).

1.6. Eko-epidemiologija krpeljskog encefalitisa

1.6.1. Vektori, rezervoari i životni ciklus virusa krpeljskog encefalitisa u prirodi

U prirodnom ciklusu virus KE cirkuliše između kompetentnog domaćina-kičmenjaka i vektora-krpelja (48). Ukoliko su na nekoj teritoriji, pored ove interakcije, ispunjeni i klimatski, mikroklimatski i geološki uslovi sa prisutnom odgovarajućom vegetacijom, uspostavlja se prirodno žarište ove bolesti (65,66). Prirodna žarišta su geografski ograničena, a njihova veličina u slučaju KE varira od nekoliko kvadratnih metara, kada se nazivaju mikrofokusima, do nekoliko kvadratnih kilometara (2,65). Uravnoteženost svih gore pobrajanih faktora određuje aktivnost žarišta, te odstupanje od ove ravnoteže može dovesti do njegove povremene inaktivacije, odnosno prekida prirodnog ciklusa cirkulacije virusa KE u žarištu (65).

Krpelji su obligatni hematofagni ektoparaziti, koji se hrane na kičmenjacima. Nisu insekti, nego paukoliki zglavkari, te zajedno sa paucima, grinjama i škorprijama čine klasu *Arachnida*- paukolikih životinja. Pripadaju podklasi *Acari*, podredu *Ixodida*, koji se dalje deli u tri porodice: tvrdi (*Ixodidae*), meki (*Argasidae*) i nepoznati (*Nuttalliellidae*) (67). Sa epidemiološkog i epizootiološkog stanovišta tvrdi krpelji su najznačajniji, a među njima rod

Ixodes, koji broji više od 200 vrsta. Krpelji uključeni u prirodni ciklus KE su mnogobrojni i pripadaju rodovima *Ixodes*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* i *Hyalomma* (68). Najvažniji vektori KE su krpelji vrste *Ixodes ricinus* (ovčiji krpelj) i *Ixodes persulcatus* (krpelj tajgi). Krpelji vrste *I. ricinus* su široko rasprostranjeni u Evropi, severozapadnoj Aziji i nekim državama severne Afrike (Tunis, Alžir i Maroko) i pretežno prenose evropski podtip virusa (69,70). *Ixodes persulcatus* je najznačajniji vektor sibirskog i dalekoistočnog podtipa i rasprostranjen je u Istočnoj Evropi, severnoj Aziji i Dalekom istoku (13). U Finskoj, Baltičkim državama (Estonija, Letonija i Litvanija) i zapadnoj Rusiji prisutne su obe vrste, pa u tom delu sveta cirkulišu sva tri podtipa virusa (71,72). Ova kocirkulacija virusa je odgovorna za detekciju virusa KE u nespecifičnim vektorima, verovatno zbog koinfekcije koja se dešava tokom hranjenja na zajedničkom domaćinu (73). Tako je sibirski podtip izolovan iz vrste *I. ricinus* u Estoniji i u Bosni i Hercegovini, a evropski podtip iz *I. persulcatus*-a u Letoniji, Finskoj i istočnom Sibiru (72,74,75). *Ixodes persulcatus* je vektor i bajkalskih podtipova virusa KE (Bkl-1 i Bkl-2), koji su rasprostranjeni u oblasti istočnog Sibira i severne Mongolije, u području Bajkalskog jezera (76). Vektori ostalih novootkrivenih podtipova još uvek nisu utvrđeni, s tim da je obski podtip izolovan u istoimenoj oblasti zapadnog Sibira iz krpelja vrste *Ixodes pavlovskyi*, dok je himalajski podtip detektovan u pacovima na Tibetanskoj visoravni tokom 2018. godine (21).

Još nekoliko vrsta krpelja iz roda *Ixodes* učestvuje u transmisiji virusa KE na ljude i životinje: *I. ovatus*, *I. arboricola*, *I. hexagonus* i *I. gibbosus*. *Ixodes ovatus* je dominantan u Japanu, a zastupljen je i u centralnoj Aziji, dok je *I. gibbosus* prisutan na Mediteranu, ali kao sporedna vrsta. *Ixodes hexagonus* infestira uglavnom lisice i ježeve, a *I. arboricola* ptice (68,77).

Vektorski potencijal za transmisiju virusa KE dokazan je samo kod dve vrste iz roda *Dermacentor*: *D. reticulatus* i *D. marginatus* (68). Obe su široko rasprostranjene u Evropi i Aziji, s tim da je za *D. reticulatus* dokazano da je, osim visokog kapaciteta da prenese virus KE, podjednako bitan za održavanje prirodnih žarišta i cirkulaciju ovog virusa, kao i vrsta *I. ricinus* (77).

Tri vrste roda *Haemaphysalis* su okarakterisane kao prenosioci virusa KE (*H. punctata*, *H. concinna* i *H. inermis*), a samo jedna iz roda *Hyalomma*. To je takozvani mediteranski krpelj, *Hyalomma marginatum*, koja egzistira u jugoistočnoj Evropi, Africi i na Bliskom istoku (68).

Vektori virusa KE, koji bi mogli biti značajni za područje Vojvodine pripadaju rodovima *Ixodes*, *Dermacentor* i *Haemaphysalis* (78).

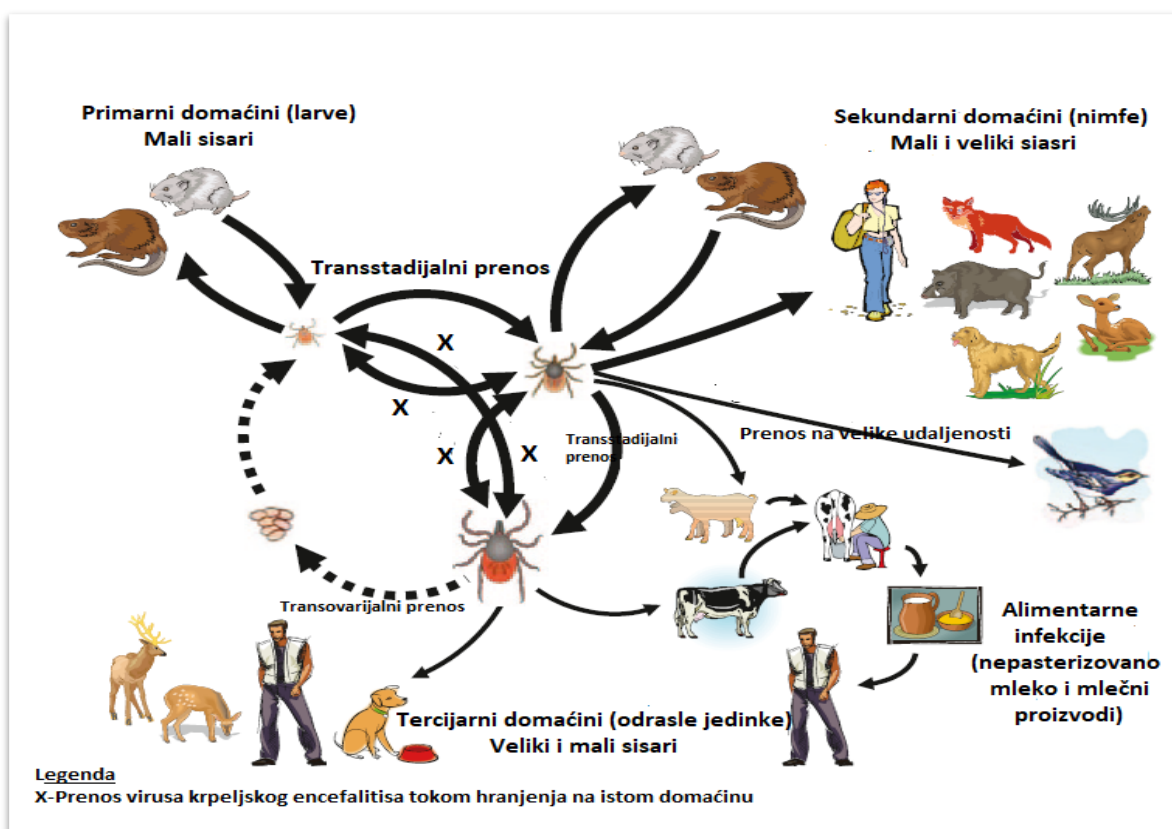
Životni ciklus krpelja traje od dve do šest godina, tokom kojeg prolazi kroz četiri razvojna stadijuma: jaje, larva, nimfa i odrasla jedinka (mužjak i ženka). Iz jaja se izlegu larve, kojima je za prelazak u stadijum nimfe i dalje u odraslu jedinku potreban krvni obrok, i to samo po jedan pre svakog presvlačenja. Larve se hrane na vodozemcima i gmizavcima, kao i nekim vrstama malih sisara (miševi, voluharice i sl.), dok se nimfe hrane na malim sisarima, pticama i gmizavcima. Odrasle jedinke krpelja se hrane na krupnim domaćim i divljim životinjama (79). Ženka nakon kopulacije i poslednjeg hranjenja na domaćinu traži mesta sa odgovarajućim mikroklimatskim uslovima za polaganje jaja (ovipoziciju), koje traje nekoliko nedelja, pri čemu položi čak i do 5000 jaja, te ugine (65,68).

Period aktivnosti krpelja počinje kada temperatura vazduha dostigne 5 do 7° C, odnosno u martu ili aprilu u umerenom klimatskom pojasu i završava se u novembru kada se temperatura spusti ispod ovih vrednosti. Tada ulaze u zimsku dijapauzu, koja im omogućava preživljavanje u nepovoljnim mikroklimatskim uslovima (80,81). Vrhunac aktivnosti u umerenom klimatskom pojasu krpelji dostižu u maju/junu i septembru/oktobru, dok je za hladniju klimu severne Evrope i Azije karakterističan jedan vrhunac aktivnosti, obično sredinom leta (65,68). Krpelji vrsta *D. reticulatus* i *D. marginatus* vrhunac aktivnosti dostižu pri nižim temperaturama, obično početkom proleća i u jesen, a ponekad i tokom zime, ukoliko su srednje temperature visoke za to doba godine (68).

Prirodno stanište krpelja, koji prenose virus KE, su šume i proplanci na njihovom obodu sa bujnom vegetacijom, koja omogućava održavanje adekvatne temperature i visoke vlažnosti, koje su esencijalne za opstanak i aktivnost ovih zglavkara (65). U slučaju *I. persulcatus* u pitanju su četinarske šume, a *I. ricinus* obitava u mešovitim šumama, bogatim hrastovim, grabovim ili bukovim drvećem, sa gustim rastinjem u vidu paprati, leske i sl. (65,81). Tražeći krvni obrok, ove dve vrste krpelja se postavljaju na vegetaciju do visine od jednog i po metra, zavisno od stadijuma, i čekaju domaćina. Receptorima u Halerovom organu, koji se nalazi na prvom paru nogu, krpelji detektuju ugljen dioksid, amonijak, temperaturu budućeg domaćina ili vibracije tokom njegovih pokreta (13,68).

Virus KE se održava i prenosi u žarištu na nekoliko načina (Slika 2) (2). Naime, krpelj se zarazi tokom hranjenja na domaćinu- životinji, koji je u fazi viremije. Virus KE dospeva u

creva ovog zglavkara, u čijim se ćelijama replikuje i hemolimfom širi ka drugim organima, među kojima su pljuvačne žlezde i jajnici (2,77). Tokom uzimanja sledećeg krvnog obroka zaraženi krpelj putem pljuvačke može preneti infekciju na novog domaćina. U samoj populaciji krpelja virus se može prenositi intrastadijalno (između mužjaka i ženki prilikom kopulacije), transstadijalno, odnosno prilikom presvlačenja u naredni stadijum životnog ciklusa, te transovarijalno na sledeće generacije. Transmisija virusa među jedinkama krpelja dešava se i tokom hranjenja na istom domaćinu. Ovaj put prenosa se naziva nevretnični, jer ne zahteva prisustvo virusa u krvi domaćina, na kojima se krpelji simultano hrane (82-84).



Slika 2. Faze razvoja krpelja vrste *Ixodes ricinus* sa putevima prenošenja virusa krpeljskog encefalitisa (ljubaznošću Dobler i saradnika (2), adaptirano i reprodukovano pod dozvolom dobijenom od prof. dr M. Pfeffer)

Zbog svega navedenog, krpelji se smatraju i vektorima i rezervoarima virusa KE (1). Pored njih, rezervoari virusa KE su brojni sisari, ptice i reptili, a među njima su najznačajniji glodari (miševi, pacovi, voluharice i drugi), od kojih se na evropskom kontinentu posebno

izdvajaju žutogrli šumski miš (*Apodemus flavicollis*), šumska ili riđa voluharica (*Myodes glareolus*) i evropski jež (*Erinaceus europaeus*) (2). Glodari i insektivori su uglavnom asimptomatski nosioci virusa KE, ali imaju dugotrajnu fazu viremije i virus je prisutan u visokoj koncentraciji u krvi ovih sisara (1,68). Kako imaju mali radijus kretanja, a mogu preneti infekciju vertikalno na svoje potomstvo, obično putem mleka, imaju značajnu funkciju u održavanju žarišta (66,85).

Krupne divlje životinje poput jelena, divljih svinja i lisica, tokom infekcije virusom KE ne razvijaju visok stepen viremije, dovoljan da se krpelj inficira tokom hranjenja, te se njihov udeo u održavanju prirodnog žarišta ispoljava u održavanju brojnosti populacije samih krpelja (2).

Kako krupne divlje životinje, kao i ptice, imaju veliki radijus kretanja, ostvaruju bitnu ulogu i u širenju žarišta i prenosu krpelja zaraženih virusom KE na velike udaljenosti (66,86). U korist ove pretpostavke svedoči detekcija evropskog podtipa virusa KE u Južnoj Koreji na udaljenosti 7000 kilometara od uobičajenog područja distribucije ili otkrivanje sibirskog podtipa virusa KE u Bosni i Hercegovini. Osim toga, takozvana bosanska linija ovog podtipa laboratorijski je potvrđena i u Kazahstanu, Kirgistanu i na Krimu (74,86).

Domaće životinje, naročito koze, ovce i krave, mogu biti domaćini virusa KE i to najčešće kao asimptomatski nosioci. Period viremije, koju razviju nakon infekcije, traje nekoliko dana i praćen je posledičnim izlučivanjem virusa mlekom. Koze su najčešće zaražene ovim virusom, jer tokom ispaše jedu lišće sa žbunastih biljaka, pre nego travu, te tako češće dospevaju u stanište krpelja. Osim toga, ove životinje najduže izlučuju virus KE mlekom, čak i do 25 dana posle infekcije, a ovce i krave sedam do osam dana. Takođe, koncentracija virusa je mnogo viša u kozijem, u odnosu na mleko drugih preživara (87-89).

Ostale životinje kao što su psi i konji, iako češće od ostalih životinja razvijaju klinički manifestne oblike bolesti u vidu teškog neurološkog oboljenja, nemaju značaja za transmisiju na čoveka, ali mogu poslužiti kao sentinelne životinje za otkrivanje prirodnih žarišta KE (87-89).

1.6.2. Epidemiološke karakteristike krpeljskog encefalitisa

Čovek je slučajni domaćin virusa KE i poslednja karika u lancu infekcije (Slika 2) (2,9). Dominantan put prenošenja infekcije na ljude je transmisivni, odnosno ubodom zaraženog

krpelja. Sva tri razvojna stadijuma ovih zglavkara mogu infestirati čoveka, ali se smatra da su za prenošenje virusa KE najznačajnije nimfe, jer se zbog veličine teško uočavaju, a takođe pokazuju manju specifičnost ka izboru domaćina (65,90). U populaciji ljudi, oko 30% uboda krpelja ostaje nezapaženo (90).

Slučajevi infekcije virusom KE nastali transmisivnim putem javljaju se sporadično i to najčešće kod stanovništva endemskih područja ili osoba koje profesionalno ili rekreativno borave u prirodnim žarištima ove bolesti (72,90). Osim toga, krpeljski encefalitis je sve veći problem putnika u međunarodnom saobraćaju zbog intenzivnog turizma i sve češćeg putovanja na evropske destinacije, koje su ujedno i prirodna žarišta ove bolesti. Na osnovu broja turista u Austriji, procenjuje se da se oko 60 njih može zaraziti u ovoj zemlji samo tokom jedne letnje sezone (72,90).

U populaciji ljudi, drugi po značaju put prenošenja virusa KE je alimentarni. Kako se virus tokom viremije izlučuje mlekom domaćih životinja (koza, krava, ovaca), infekcija kod ljudi može nastati konzumiranjem sirovog ili termički neobrađenog ili neadekvatno obrađenog mleka ili mlečnih proizvoda. Izvor infekcije, osim mleka, mogu biti sve vrste mlečnih proizvoda, uključujući kiselo mleko, jogurt, sir, surutku, puter i kajmak, ukoliko nisu adekvatno tretirani, s tim da virus KE, kao što je ranije navedeno, zadržava infektivnost dve nedelje u mleku na 4°C, a čak dva meseca u puteru (87,88).

U ukupnom broju registrovanih slučajeva KE, alimentarno nastale infekcije čine oko 1% (49). Ovakve infekcije se obično javljaju u obliku manjih porodičnih epidemija i najčešće nakon konzumiranja svežeg kozijeg mleka (87). Najveća alimentarna epidemija sa 660 slučajeva prijavljena je 1951. godine u bivšoj Čehoslovačkoj. Izvor infekcije u ovoj epidemiji bilo je nepasterizovano kozije mleko, koje je u lokalnoj mlekari mešano sa kravljim i tako distribuirano (87,91). Epidemije ovog tipa najčešće su u istočnoj i centralnoj Evropi, a od zemalja u okruženju prijavljene su u Mađarskoj, Hrvatskoj i Rumuniji (30,92,93).

Virus KE se takođe može preneti direktnim kontaktom sa krvlju tokom klanja stoke, koja je u fazi viremije, gde je ulazno mesto infekcije oštećena koža ili sluznica, a opisani su i retki slučajevi prenosa virusa sa majke na novorođenče tokom laktacije, transplantacijom organa i transfuzijom, kao i laboratorijske infekcije nakon uboda kontaminiranom iglom ili inhalacijom infektivnog aerosola (94-98).

Geografska rasprostranjenost KE se superponira sa distribucijom krpeljskih vrsta, koje prenose ovu bolest (1). Sledstveno tome, prirodna žarišta KE rasprostranjena su u šumskom pojasu Evrope i Azije i prostiru se od istočne Francuske na zapadu, preko centralne, istočne Evrope, Baltičkih zemalja i Rusije, pa sve do Dalekog istoka, odnosno Vladivostoka, severne i istočne Kine i japanskog ostrva Hokaido, čineći takozvani pojas krpeljskog encefalitisa (engl. *TBE belt*) (Slika 3). Unutar ovog pojasa žarišta su neravnomerno raspoređena (54,99).



Slika 3. Geografska rasprostranjenost krpeljskog encefalitisa („TBE belt“) (ljubaznošću Dobler i saradnika (2), adaptirano i reprodukovano pod dozvolom dobijenom od prof. dr M. Pfeffer)

Iako se klinički manifestna bolest registruje u svim starosnim grupama, uključujući i odojčad, uzrasno-specifična incidencija KE raste sa uzrastom (62). Najviša uzrasno-specifična stopa incidencije (oko 1/100.000 stanovnika) u Evropi beleži se u uzrasnoj grupi 45-64 godine, a najniža kod dece do četiri godine (0,2/100.000 stanovnika) (100-102). U proseku 10 do 20%

svih prijavljenih slučajeva KE na svetu čine deca, sa najvišom stopom obolevanja u školskom uzrastu (44,103). Razlike u uzrasno-specifičnoj incidenciji su posledica različitog stepena izloženosti i većeg učešća klinički ispoljene bolesti u starijem uzrastu (44).

Osobe muškog pola češće obolevaju od KE u odnosu na žene i to u svim uzrasnim grupama, što je posledica profesionalne ili rekreativne ekspaniranosti, a dodatni uzrok bi mogla biti i genetska predispozicije muškog pola za klinički manifestnu bolest (49,50). Registrovani odnos muškaraca i žena u Evropi iznosi 1,5:1 (49,100).

U nekim profesijama, kao što su šumski radnici, lugari, stočari, vojnici, policajci, geodete, geolozi, berači gljiva, šumskih plodova i lekovitog bilja, učestalost bolesti je visoka, a takođe i među lovcima, izletnicima, kamperima, planinarima, izviđačima, biciklistima, igračima golfa, turistima i drugim osobama, koje rekreativno borave u prirodnim žarištima ove bolesti (65,104).

Sezonska distribucija KE je usko povezana sa ekologijom krpelja, te se slučajevi ove bolesti kod ljudi javljaju u periodu aktivnosti krpelja, odnosno od marta do novembra. Kao što je već napomenuto, za neke vrste krpelja period aktivnosti počinje ranije, pa se slučajevi oboljenja kod ljudi mogu sporadično pojavljivati i tokom toplijeg zimskog perioda. Najviše incidencije beleže se tokom perioda najveće aktivnosti ovih zglavkara. Prema tome, u umerenom klimatskom pojasu, sezonska distribucija KE pokazuje dva vrha, u maju/junu i septembru/oktobru, dok se u oblastima hladnije klime severne Evrope, Sibira ili planinskih masiva Evrope i Azije, maksimum incidencije dostiže samo jednom i to obično u junu (49,68,105).

1.7. Nadzor nad krpeljskim encefalitisom

Kako eko-epidemiologija i dinamika KE, kao i drugih vektorskih bolesti, zavisi od brojnih biotičkih i abiotičkih faktora, tako je i nadzor nad ovom bolešću veoma kompleksan i da bi bio adekvatan i pružio kvalitetne i pravovremene informacije zahteva multidisciplinarni pristup i saradnju između javozdravstvenih radnika, kliničara, veterinara, entomologa, ekologa i drugih disciplina (106). Svetska zdravstvena organizacija (SZO) smatra da je kvalitetan nadzor nad KE ključan za merenje opterećenja ovom bolešću, identifikovanje rizičnih područja i novih žarišta, kao i za uvođenje i praćenje uticaja mera prevencije i kontrolu bolesti (7).

Iako mnoge evropske zemlje imaju uspostavljen sistem nadzora nad KE (Rusija, Kina i Slovačka još od davne 1950. godine), postoje velike razlike u kvalitetu, načinu sprovođenja i načinu izveštavanja. Problem su neusaglašene definicije slučaja i različite, nestandardizovane laboratorijske procedure, koje se koriste u dijagnostici ove bolesti (107). Iz tih razloga, Evropski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC) je 2012. godine uvrstio KE u listu bolesti koje se prijavljuju na nivou Evropske unije (EU) i predložio novu, standardnu definiciju slučaja. Cilj je usklađivanje načina prikupljanja podataka i laboratorijske dijagnostike KE, da bi se dobili uporedivi podaci, koji se mogu adekvatno analizirati (106). Međutim, po poslednjem izveštaju ECDC-a, nisu sve zemlje EU implementirale standardnu definiciju slučaja, prijavljivanje KE nije obavezno čak u pet, a sistem nadzora je aktivan samo u tri države (Češka, Slovačka i Velika Britanija), što pokazuje da homogenizacija prikupljanja podataka i njihovog prijavljivanja nije jednostavan zadatak na nivou Evrope (100).

Osim toga, za procenu epidemiološke situacije KE na nekoj teritoriji, nadzor mora biti sveobuhvatan i integrisati znanja o ovoj bolesti ne samo u populaciji ljudi, nego i u populaciji vektora (krpelja) i animalnih rezervoara (106,108). Ovakav pristup se naziva „Jedno zdravlje“ („One health“) i od posebnog je značaja u postizanju bolje prevencije i kontrole zoonoza i vektorskih bolesti uopšte, a podrazumeva multidisciplinarnu saradnju i komunikaciju stručnjaka, koji se bave zdravstvenom zaštitom ljudi, životinja i životne sredine (109).

Integrisan nadzor na KE podrazumeva (65,107):

1. Nadzor nad vektorima (krpeljima)
2. Nadzor nad rezervoarima (životinjama)
3. Seroepidemiološke studije prokuženosti stanovništva na virus KE (pre uvođenja vakcinacije)
4. Kliničko prikupljanje podataka na osnovu definicije slučaja.

Nadzor nad vektorima podrazumeva utvrđivanje prisustva/odsustva i gustine vektora na određenoj teritoriji i prevalencije virusa u njima molekularnim metodama. Nadzor nad rezervoarima- životinjama obuhvata studije prevalencije virusa u glodarima (detekcijom virusne nukleinske kiseline najčešće u uzorcima moždanog tkiva) i serološka ispitivanja na prisustvo antitela protiv određenih patogenih uzročnika kod domaćih i divljih životinja (2,68,107).

Među mnogobrojnim rezervoarima, glodari su najbolji signal za prisustvo virusa KE (68). Serološko ispitivanje koza, ovaca, goveda takođe se pokazalo kao naročito dobra metoda

za otkrivanje endemskih žarišta, a dobru podudarnost sa incidencijom slučajeva KE kod ljudi imaju i seroprevalencije KE kod pasa, konja i jelena (110).

Ispitivanje prokuženosti populacije ljudi na virus KE ima smisla raditi pre uvođenja vakcinacije i obično se prvo izvodi nad stanovništvom, koje je potencijalno izloženo virusu, bilo mestom stanovanja, bilo profesionalno ili rekreativno. Konačno, kliničko prikupljanje podataka na osnovu uniformne definicije slučaja, daje uvid u broj autohtonih i importovanih slučajeva, odnosno incidenciju KE na određenoj teritoriji u određenom vremenskom periodu i opterećenje populacije bolešću (99).

Za vektorske bolesti je poželjno preduzimanje akcije, čak i kada bolest još uvek nije prisutna na određenoj teritoriji (106). Na osnovu informacija dobijenih ovakvim sveobuhvatnim nadzorom izrađuju se mape rizika, koje su važne za planiranje i uvođenje adekvatnih i pravovremenih mera prevencije i kontrole KE (108). Zonu rizika od vektorskih bolesti, ECDC definiše kao „oblast u kojoj su šanse za prenošenje bolesti koje prenose zglavkari na ljude veće od nule“ (99).

1.7.1. Nadzor nad krpeljskim encefalitisom u Republici Srbiji

U Republici Srbiji, nadzor nad KE je pasivan i insuficijentan, a laboratorijska dijagnostika je dostupna u malobrojnim ustanovama. Naša zemlja nema ni kontinuiran sistem entomološkog nadzora nad krpeljima na nacionalnom nivou, koji bi omogućio uvid u vrste i rasprostranjenost ovih značajnih vektora i stepen njihove zaraženosti raznim patogenim uzročnicima (111). Osim toga, jedna studija nedavno sprovedena u Srbiji, pokazala je da su znanja i stavovi profesionalno izloženih osoba, opšte populacije, ali i zdravstvenih radnika o KE na niskom nivou (112).

Stoga je, za sticanje uvida u opterećenost ovom bolešću u našoj zemlji, uz uvođenje i unapređenje laboratorijske dijagnostike KE, neophodno uspostavljanje integrisanog sistema nadzora na nacionalnom nivou, koji će osim nadzora nad slučajevima kod ljudi u skladu sa standardnom EU definicijom, uključiti i nadzor nad vektorima i rezervoarima ove bolesti (111). Takođe je neophodno povećati svest o ovom oboljenju, na prvom mestu zdravstvenih radnika, ali i potencijalno izloženog stanovništva (112). Ovim aktivnostima bi se smanjila podregistracija KE i stvorili uslovi za planiranje efikasnih mera kontrole i prevencije, među kojima bi bio

omogućen i kvalitetniji i usmereniji program imunizacije protiv ovog oboljenja u budućnosti (99).

Na teritoriji Autonomne Pokrajine Vojvodine (APV) uspostavljen je integrisan sistem nadzora za kontrolu transmisivnih antropozoonoza, koji uključuje stručnjake iz oblasti humane i veterinarske medicine, kao i entomologe, a koji se sprovodi u okviru posebnog programa javnog zdravlja (113).

1.7.2. Definicija slučaja krpeljskog encefalitisa prema ECDC

Klinički kriterijumi:

- Osoba sa simptomima zapaljenja centralnog nervnog sistema (meningitis, meningoencefalitis, encefaloradikulitis ili encefalomijelitis)

Epidemiološki kriterijumi:

- Izloženost zajedničkom izvoru (nepasterizovani mlečni proizvodi)

Laboratorijski kriterijumi: *

- Verovatan slučaj
- Detekcija specifičnih IgM antitela protiv virusa KE u jednom uzorku krvnog seruma
- Potvrđen slučaj (najmanje jedan od navedenih):
 - Detekcija specifičnih IgM i IgG antitela protiv virusa KE u serumu;
 - Detekcija specifičnih IgM antitela protiv virusa KE u cerebrospinalnoj tečnosti;
- Serokonverzija ili četverostruki porast titra specifičnih antitela protiv virusa KE u parnim serumima;
 - Detekcija KE virusne nukleinske kiseline u kliničkom materijalu (cerebrospinalna tečnost, krv i druge telesne tečnosti i tkiva);
 - Izolacija virusa KE iz kliničkog materijala (cerebrospinalna tečnost, krv i druge telesne tečnosti i tkiva).

* Interpretacija rezultata seroloških ispitivanja mora biti u skladu sa vakcinalnim statusom i prethodnom ekspozicijom drugim flavivirusnim infekcijama. Potvrđene slučajeve u takvim situacijama treba potvrditi testom neutralizacije ili drugim odgovarajućim analizama.

Klasifikacija slučaja

- Moguć: nije primenjivo
- Verovatan: ispunjeni klinički i laboratorijski kriterijumi za verovatan slučaj ili ispunjeni klinički kriterijumi i ustanovljena epidemiološka veza
- Potvrđen: ispunjeni klinički i laboratorijski kriterijumi za potvrđeni slučaj (114).

1.8. Dijagnostika krpeljskog encefalitisa

S obzirom na nespecifičnost kliničkih i laboratorijskih nalaza i teškog razlikovanja od zapaljenja moždanih struktura druge etiologije, za dijagnostiku KE presudna je laboratorijska potvrda bolesti (42). Koriste se direktne laboratorijske metode, kojima se detektuje sam virus, i indirektne, odnosno serološke metode, koje otkrivaju prisustvo specifičnih antitela na virus KE (115).

Najstarija direktna metoda je izolacija virusa iz bolesničkog materijala, koja se nekada izvodila na laboratorijskim životinjama, a danas na različitim kulturama ćelija. Ova metoda je dugotrajna i složena, te se danas upotrebljava samo u naučno-istraživačke svrhe. Mnogo jednostavnije za izvođenje i brže su molekularne metode, odnosno dokazivanje virusne nukleinske kiseline reakcijom lančane polimerizacije sa reverznom transkripcijom u realnom vremenu (RT-PCR) (9,115).

Uprkos visokoj senzitivnosti i specifičnosti direktnih metoda, one se retko koriste u kliničkoj praksi, posebno van endemskih područja i u delovima sveta gde dominira evropski podtip virusa sa dvofaznim tokom bolesti, jer se virus u krvi i likvoru nalazi samo tokom prve, viremijske faze bolesti, a izuzetno retko i samo na početku druge, odnosno neurološke faze. Tokom ovog perioda obično se ne postavlja sumnja na krpeljski encefalitis, zbog nespecifičnosti simptoma, a i oboleli retko traže medicinsku pomoć pre razvoja neuroloških poremećaja (42,116). Tokom neurološke faze bolesti virus se može otkriti direktnim metodama samo *post mortem* iz moždanog tkiva, a opisani su i uspešni pokušaji detekcije virusne RNK u urinu obolelih, čak 19 dana od početka neuroloških simptoma (9,115,117).

Ipak, u delovima sveta gde dominiraju dalekoistočni i sibirski podtip virusa sa monofaznim tokom bolesti i u endemskim područjima, gde se češće misli na ovu bolest, pa već

epidemiološki podaci o prethodnom ubodu krpelja, boravku u prirodnom žarištu, profesionalnoj izloženosti ili slično obolelim osobama u okruženju mogu uputiti na dijagnozu KE, RT-PCR metoda je od koristi za postavljanje dijagnoze KE (9,115).

Iz navedenih razloga metode izbora za laboratorijsku potvrdu bolesti su serološke analize. Najznačajniji antigen virusa KE je protein E, na koji se stvaraju neutrališuća i hemaglutinirajuća specifična antitela, dok se antitela koja vezuju komplement stvaraju na kapsularni protein C i nestrukturani protein NS1. Pre osamdesetih godina prošlog veka, najznačajnije serološke metode bile su reakcija vezivanja komplementa (RVK) i test inhibicije hemaglutinacije (*hemagglutination inhibition (HI) test*), ali su ih zamenile jednostavnije, ali i senzitivnije i specifičnije tehnike. Ipak, HI test se još uvek primenjuje u nekoliko zemalja, uprkos brojnim unakrsnim reakcijama sa drugim flavivirusima (115).

U dokazivanju specifičnih antitela usmerenih protiv virusa KE danas se najčešće koriste imunoenzimski test (*enzyme-linked immunosorbent assay- ELISA*) i neutralizacioni test (NT), a ređe indirektni imunofluorescentni test (IFT) (48,54). Specifična antitela se mogu detektovati u serumu već sa pojavom prvih neuroloških simptoma, tj. na samom početku druge faze bolesti, dok u likvoru postaju detektabilna nešto kasnije (9). Naime, samo 50% obolelih razvije specifična antitela u likvoru pre desetog dana neurološke faze bolesti (118).

Veliki nedostatak ELISA i IF testova su unakrsne reakcije u slučaju prethodnih infekcija drugim flavivirusima ili imunizacije protiv flavivirusnih bolesti. Razlog za ovu unakrsnu reaktivnost su sličnosti antigenskih struktura između pojedinih flavivirusa, te prethodno stvorena antitela unakrsno reaguju sa antigenom testa i daju lažno pozitivne rezultate (54). Ovo se uglavnom odnosi na IgG, dok su IgM antitela specifičnija za tip virusa i retko unakrsno reaguju sa drugim flavivirusima (115). Međutim, ova klasa antitela može dugo perzistirati u serumu, što dodatno otežava interpretaciju rezultata (9).

Na kraju, lažno pozitivni rezultati nastali zbog unakrsne reaktivnosti predstavljaju problem pri dijagnostici KE u oblastima gde cirkulišu drugi flavivirusi: virus Zapadnog Nila, denge, žute groznice, Japanskog encefalitisa, Omske hemoragijske groznice, Usutu virus, Zika virus i drugi predstavnici ove familije, a i kod osoba koje su vakcinisane protiv flavivirusnih bolesti (Žuta groznica ili Japanski encefalitis) (42,116). Stoga je dijagnozu potrebno potvrditi specifičnijim testom. U te svrhe koristi se test neutralizacije, koji je složen, dugotrajan, skup i sprovodi se u visoko specijalizovanim laboratorijama, nivoa BSL 3 (sa trećim stepenom

biosigurnosti) i samo u nekoliko evropskih država (9,54). Međutim, test neutralizacije je zlatni standard za detekciju specifičnih IgG antitela, dok za specifična IgM antitela zlatni standard ne postoji, s obzirom na to da ova klasa antitela nema visok kapacitet neutralizacije i detektuje se u likvoru uzetom u prvih deset dana bolesti samo kod 50% pacijenata, što dodatno komplikuje dijagnozu akutne infekcije tokom prvih dana neurološke faze, kada specifična IgG antitela još uvek nisu detektabilna (115). Stoga, dijagnoza u ovoj fazi bolesti može biti potvrđena ili isključenjem infekcija drugim kocirkulišućim flavivirusima i vakcinacije flavivirusnim vakcinama ili određivanjem aviditeta antitela ili kvantifikacijom dobijenih rezultata ELISA testa (115,119,120).

1.9. Terapija krpeljskog encefalitisa

Lečenje krpeljskog encefalitisa je simptomatsko. Zavisno od težine kliničke slike, pacijenti se mogu lečiti ambulantno, uz savet o mirovanju i uzimanju antipiretika i nesteroidnih antiinflamatornih lekova, prema potrebi, a teži slučajevi sa neurološkom simptomatologijom se hospitalizuju na odeljenjima/klinikama za lečenje infektivnih bolesti (8,52). Sedam do 12% hospitalizovanih zahteva lečenje u jedinicama intenzivne nege, a određenom broju takvih pacijenata potrebne su intubacija i respiratorna podrška (49). Antivirusni lekovi su tek u fazi ispitivanja, a efikasnost kortikosteroida, imunomodulatora, specifičnih i nespecifičnih imunoglobulina i drugih supstanci se razmatra, jer još uvek nisu sprovedene randomizovane kliničke studije, koje bi potkrepile njihovu upotrebu (49,52).

1.10. Mere sprečavanja i suzbijanja krpeljskog encefalitisa

1.10.1. Opšte mere sprečavanja i suzbijanja krpeljskog encefalitisa

Mere prevencije KE mogu biti opšte i specifične. Opšte mere su usmerene na smanjenje rizika od uboda krpelja. Najefikasnija opšta mera prevencije bi bila izbegavanje prirodnog staništa krpelja, ali kako je to nemoguće zbog profesionalnih ili rekreativnih aktivnosti ili kod osoba koje žive u endemskom području, tokom boravka u prirodi preporučuje se nošenje odeće svetlih boja, radi lakšeg uočavanja krpelja i odeće dugih rukava i nogavica, koje su uvučene u

čarape ili čizme, te upotreba repelenata, koji odbijaju krpelje. Trenutno najefikasniji repelenti su N,N-diethyl-3-methylbenzamide (DEET), ikaridin i p-Menthane-3,8-diol (PMD) (55,121). Odeća se pre oblačenja može tretirati akaricidima, koji sadrže permetrin. Tokom boravka u prirodi kretanje treba ograničiti na obeležene, raskršćene staze, uz izbegavanje visokog rastinja (121).

Nakon boravka u prirodi važno je pažljivo pregledati kožu kako bi se na vreme uočili i odstranili krpelji. Skraćanjem vremena hranjenja na domaćinu, smanjuje se rizik od infekcije za mnogo bolesti, koje prenose krpelji, uključujući i Lajmsku boreliozu. Međutim, virus KE se iz pljuvačnih žlezda vektora odmah prenosi na domaćina, već u prvom minutu uzimanja krvnog obroka, te se ovako ne može sprečiti infekcija, ali svakako može količina prenetog virusa, od koje zavisi težina kliničke slike (9,48,121).

Uklanjanje krpelja sa kože treba da vrši stručna osoba bez prethodnog tretiranja ubodnog mesta alkoholom ili drugim sredstvima, koja mogu pojačati izlučivanje virusa iz pljuvačnih žlezda. Pincetom se ovaj zglavkar hvata što bliže površini kože i odstranjuje povlačenjem nagore bez uvrtanja ili trzanja, čime se sprečava njegovo oštećenje. Tek nakon uspešnog vađenja krpelja, mesto uboda se tretira dezinfekcionim sredstvom (121).

U opšte mere spadaju i aktivnosti koje se sprovode za smanjenje brojnosti krpelja i glodara, a to su krčenje šipražja, redovno košenje trave i tretiranje odgovarajućim akaricidima i rodenticidima. Međutim, ove mere su ograničenog dometa, jer se prirodna staništa krpelja nalaze i u zaštićenim zonama prirode, kao i u nacionalnim parkovima, gde je upotreba hemijskih sredstava strogo kontrolisana i zahteva saglasnost nadležnog ministarstva, a i rezervoari virusa KE su, osim glodara, i brojne druge životinje (49,121).

Alimentarno prenošenje infekcije može se sprečiti pasterizacijom mleka i mlečnih proizvoda na temperaturama iznad 72° C ili kuvanjem mleka, kao i strogom zakonskom regulativom bezbednosti hrane (49,87).

I na kraju, važna opšta mera prevencije KE je i edukacija, naročito zdravstvenih radnika, profesionalno ili rekreativno eksponiranih osoba, stanovništva endemskih područja, ali i javnozdravstvenih vlasti o značaju ove bolesti i merama za njeno sprečavanje i suzbijanje (87).

1.10.2. Imunizacija protiv krpeljskog encefalitisa

Primena samo opštih mera prevencije KE nije dala zadovoljavajuće rezultate, tako da se najbolja zaštita protiv ove bolesti postiže aktivnom imunizacijom. Pre uvođenja programa imunizacije protiv KE na određenoj teritoriji, SZO predlaže detaljno sagledavanje epidemiološke situacije i procenu rizika od ove bolesti, kao i analizu isplativosti uvođenja ovog programa (7). Prema važećim preporukama SZO, u endemskim oblastima sa visokom prosečnom incidencijom bolesti (≥ 5 slučajeva na 100.000 stanovnika), a visokom riziku od KE je izložena cela populacija, vakcinacijom bi trebalo obuhvatiti sve uzrasne grupe. Sa druge strane, ukoliko je incidencija pre uvođenja vakcinacije umerena ili niska ($< 5/100.000$) ili je rizik od infekcije ograničen na određeno geografsko područje ili na određene aktivnosti, imunizacijom treba obuhvatiti samo izloženu populaciju (7).

Imunizacijom bi naročito trebalo obuhvatiti starosnu grupu preko 50 godina, zbog povećanog rizika od nastanka teških oblika bolesti i smrtnog ishoda, i putnike, koji dolaze iz neendemskih područja, posebno ako je njihov boravak vezan za aktivnosti u prirodi i na nadmorskim visinama do 1500 m (122).

Strategije imunizacije protiv KE razlikuju se od države do države. Austrija je jedina država koja je imunizaciju protiv KE uvrstila u nacionalni kalendar obavezne imunizacije još 1980. godine, te je i obuhvat u ovoj zemlji najviši u Evropi (10). Približno 85% populacije primilo je bar jednu dozu vakcine protiv ove bolesti, dok je prosečan obuhvat imunizacijom na nivou Evrope 25% (123). U ostalim državama sveta, program vakcinacije protiv KE, ako postoji, onda je obavezan za određene ciljne grupe (stanovništvo endemskih područja ili profesionalno i rekreativno izložene osobe) ili je na nivou preporučenog, kakav je u našoj zemlji (124).

U svetu je danas registrovano i dostupno šest vakcina protiv KE: tri ruske, dve evropske i jedna kineska (8,125,126):

1. FSME-Immun® (ili Ticovac®) - proizvedena u Austriji; sadrži soj *Neudoerfl*, koji pripada evropskom podtipu virusa KE; licencirana 1976. godine
2. Encepur® - proizvedena u Nemačkoj; sadrži *Karlsruhe* (K23) soj, koji pripada evropskom podtipu virusa KE; licencirana 1991. godine

3. TBE-Moscow® - proizvedena u Moskvi, Rusija, sadrži *Soffin* soj, koji pripada dalekoistočnom podtipu virusa KE; licencirana 1982. godine

4. Tick-E-Vac® (Klesch-E-Vac) - proizvedena u Moskvi, Rusija, sadrži *Soffin* soj, koji pripada dalekoistočnom podtipu virusa KE; licencirana 2012. godine

5. EnceVir® - proizvedena u Tomsku, Rusija, sadrži 205 soj, koji pripada dalekoistočnom podtipu virusa KE; licencirana 2001. godine

6. Sen Tai Bao® - proizvedena u Kini, sadrži *Senzhang* soj, koji pripada dalekoistočnom podtipu virusa KE; licencirana 2004. godine

SZO ne preporučuje postekspozicionu aktivnu imunizaciju, jer je inkubacija ove bolesti kratka, pa je malo verovatno da će se vakcinalni imunitet razviti pre početka bolesti. Sa druge strane, humoralni odgovor na vakcinu može dovesti do pojačanja infekcije i posledičnog pogoršanja bolesti (7).

Pasivna imunizacija specifičnim imunoglobulinima protiv KE trenutno se sprovodi samo u Rusiji, odakle dolaze podaci da se pravovremenim davanjem jedne doze ovog preparata do 96 sati nakon uboda krpelja, može sprečiti čak 79% kliničkih oblika bolesti (53). Suprotno tome, Evropa je devedesetih godina prošlog veka prekinula administraciju ovog preparata i potpuno ga povukla sa tržišta, zbog pretpostavke da njegova primena dovodi do pogoršanja kliničke slike bolesti. Ovaj fenomen se javlja kod drugih flavivirusnih infekcija, ali za KE nikada nije naučno dokazan (54,126).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE

Ovo istraživanje imalo je za cilj da:

1. Utvrdi seroprevalenciju antitela protiv krpeljskog encefalitisa stanovnika fruškogorske regije i stanovnika AP Vojvodine van teritorije Fruške gore.
2. Utvrdi stopu incidencije krpeljskog encefalitisa u AP Vojvodini tokom jedne godine.
3. Dokaže prisustvo virusa krpeljskog encefalitisa i odredi njegov podtip u populaciji krpelja na teritoriji Fruške gore.
4. Utvrdi prevalenciju virusa u populaciji krpelja na teritoriji Fruške gore.

Ovim istraživanjem proverene su sledeće hipoteze:

1. Stanovništvo fruškogorske regije je značajno više prokuženo na virus krpeljskog encefalitisa nego stanovništvo AP Vojvodine van teritorije Fruške gore.
2. Stopa incidencije krpeljskog encefalitisa u Vojvodini je viša od 0,04 na 100.000 stanovnika.
3. Fruškogorska regija je prirodno žarište krpeljskog encefalitisa.
4. Prevalencija virusa u populaciji krpelja na teritoriji Fruške gore je viša od 3%.

3. MATERIJAL I METODE RADA

3.1. Struktura, vreme i mesto sprovođenja istraživanja

Istraživanje se sastojalo iz tri dela:

1. Utvrđivanje prisustva virusa KE i određivanje njegove prevalencije u populaciji krpelja prikupljenih na teritoriji Fruške gore
2. Utvrđivanje prisustva, učestalosti i rasprostranjenosti KE u populaciji ljudi na teritoriji Vojvodine
3. Seroepidemiološko ispitivanje prokuženosti stanovnika Vojvodine na virus KE

Istraživanje je sprovedeno prospektivno u periodu od juna 2019. godine do februara 2023. godine.

Istraživanje je sprovedeno u Centru za kontrolu i prevenciju bolesti i Centru za virusologiju Instituta za javno zdravlje Vojvodine (IZJZV).

Podaci, koji su značajni za ovo istraživanje, prikupljeni su u saradnji sa domovima zdravlja (DZ) Beočin, Inđija, Irig, Novi Sad, Sremska Mitrovica, Bačka Palanka i Šid, zavodima za javno zdravlje (ZZJZ) na teritoriji AP Vojvodine (Sremska Mitrovica, Pančevo, Zrenjanin, Kikinda, Sombor, Subotica), opštim bolnicama (OB) u AP Vojvodini (Sremska Mitrovica, Vrbas, Subotica, Sombor, Kikinda, Senta, Zrenjanin, Pančevo, Vršac), Klinikom za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine (KCV), Institutom za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine (IZZZDIOV), Klinikom za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije (KCS) u Beogradu, Naučnim institutom za veterinarstvo (NIV) „Novi Sad“ i Poljoprivrednim fakultetom Univerziteta u Novom Sadu.

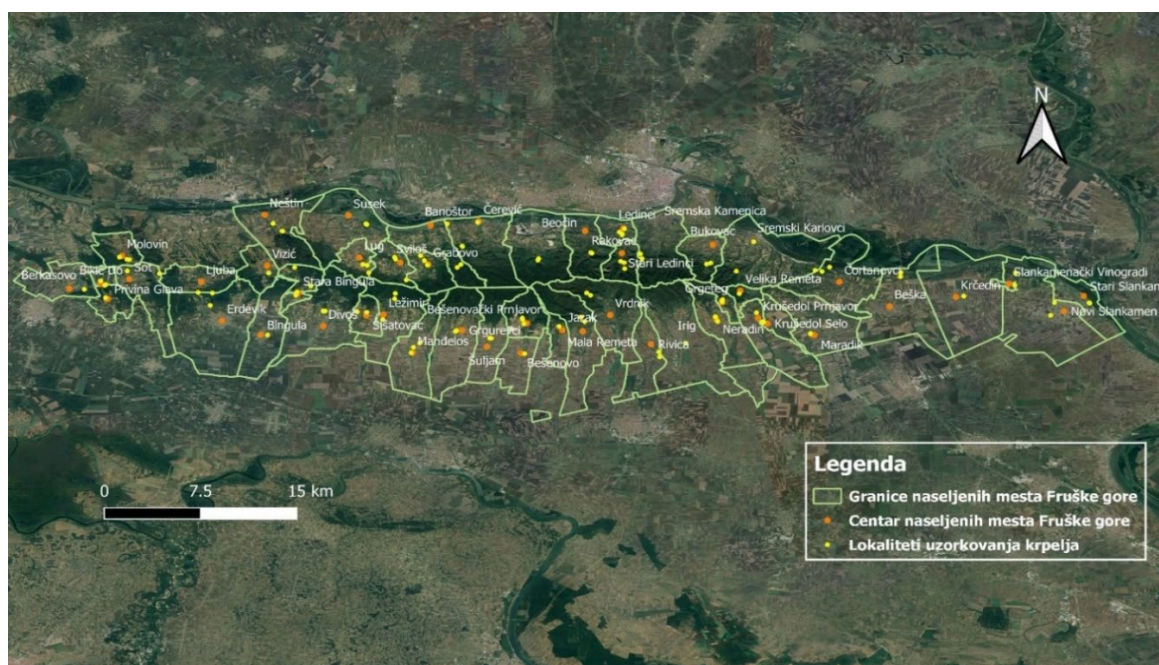
Istraživanje je započeto tek nakon dobijenih pisanih saglasnosti rukovodioca svih ustanova, kao i etičkih odbora svih zdravstvenih ustanova, u koordinaciji sa kojima je ovo istraživanje realizovano.

3.2. Metodologija utvrđivanja prisustva virusa krpeljskog encefalitisa i određivanje njegove prevalencije u populaciji krpelja prikupljenih na teritoriji Fruške gore

3.2.1. Prikupljanje, transport, skladištenje i determinacija krpelja

Utvrđivanje prisustva virusa KE i određivanje njegove prevalencije u populaciji krpelja sa teritorije Fruške gore sprovedeno je prospektivno. Krpelji su prikupljeni u periodu od juna 2019. godine do oktobra 2019. godine, tokom maja 2020. godine i u periodu mart-jun 2022. godine od 10 do 18 časova, kada su to meteorološki uslovi dozvoljavali.

Uzorkovanje je obavljeno na 109 lokaliteta u 49 naseljenih mesta Fruške gore (Mapa 1). Područja uzorkovanja obuhvatala su parkove i travnate zone unutar naseljenih mesta Fruške gore ili obode šume, livade, izletišta i pešačke staze u njihovoj okolini. Tokom uzorkovanja očitavane su koordinate mesta uzorkovanja i upisivane u listu (Prilog 1). Spisak koordinata lokaliteta, na kojima su krpelji uzorkovani nalazi se u Prilogu 2.



Mapa 1. Prikaz lokaliteta na kojima su uzorkovani krpelji

Krpelji su prikupljeni *flag-čas* metodom, koja podrazumeva povlačenje belog flanelskog platna dimenzija 1 x 1,6 m po površini vegetacije niskog rasta, uz merenje vremena uzorkovanja. Kako bi se rizik od infestacije sveo na minimum, korišćena je zaštitna oprema u vidu skafandera i dubokih gumenih čizama (Slika 4). Na svakih 20 metara povlačenja, platno je detaljno pregledano sa obe strane i uočene jedinke krpelja su uzorkovane pincetom (78).



Slika 4. Uzorkovanje krpelja *flag-čas* metodom (foto: Pustahija T.)

Jedinke krpelja su stavljene u plastične *ependorf* mikrotube, zapremine 1,5 ml, kojima je prethodno perforiran poklopac, da bi se obezbedio adekvatan dotok vazduha. Radi održavanja vlažnosti u mikrotubama, u svaku je stavljen komadić vate natopljene vodom. *Eppendorf* mikrotube sa prikupljenim krpeljima, stavljane su u ručni frižider (2-8° C). Održavanje adekvatnih uslova u mikrotubama, uz održavanje hladnog lanca, omogućilo je jedinkama krpelja da prežive transport do laboratorije i sprečilo eventualnu razgradnju virusne RNK.

Determinacija krpelja do nivoa vrste i klasifikacija u odnosu na stadijum i pol, izvršena je u Laboratoriji za medicinsku i veterinarsku entomologiju na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu i u Centru za virusologiju IZJZV, na osnovu najvažnijih morfoloških karakteristika na dorzalnoj i ventralnoj strani jedinki, prema taksonomskim

ključevima (127). Za determinaciju su korišćeni: lupa marke Olympus (model SZ61) i mikroskop (Olympus EP50).

Jedinke krpelja su razvrstane prema lokalitetu uzorkovanja, vrsti, polu i stadijumu i grupisane u zbirne uzorke (engl. *pool*). Broj krpelja u zbirnim uzorcima kretao se u rasponu od 1 do 11.

Eppendorf mikrotube sa grupisanim jedinkama krpelja, skladištene su u Centru za virusologiju IZJZV u zamrzivaču na -80°C , a potom su transportovane, u uslovima hladnog lanaca do laboratorije Naučnog Instituta za veterinarstvo u Novom Sadu, gde su krpelji testirani na prisustvo RNK virusa KE.

3.2.2. Laboratorijsko ispitivanje krpelja na prisustvo virusa krpeljskog encefalitisa

Laboratorijsko ispitivanje krpelja na prisustvo virusa KE sprovedeno je u Odeljenju za virusologiju Naučnog instituta za veterinarstvo "Novi Sad".

Za potrebe molekularne detekcije prisustva genoma virusa KE, prikupljeni krpelji su prethodno podvrgnuti posebnoj obradi u cilju razgradnje njihove tvrde kutikule i oslobađanja sadržaja unutrašnjeg tkiva. Obrada je sprovedena u mikrotubama od 2 ml mehaničkom destrukcijom uzoraka krpelja u instrumentu *TissueLyser* proizvođača *Qiagen*, Nemačka, uz primenu kvarcnog peska i metalnih kuglica prečnika 4 mm u tri uzastopna ciklusa u trajanju od po pet minuta. Pre toga je svaki uzorak krpelja bio uronjen u 500 μl lizis pufera (*NucliSENS® Lysis Buffer*, proizvođača *Biomerieux*, Velika Britanija) sa 20 μl Proteinase K (*Qiagen*, Nemačka) na temperaturi od 56°C u trajanju od 30 min uz povremeno mešanje (*vortex*). Nakon sprovedenog postupka destrukcije, mikrotube sa uzorcima krpelja su centrifugirane i supernatant je odvojen za dalji postupak ekstrakcije RNK.

Krpelji su testirani na prisustvo virusne RNK primenom *real-time* RT-PCR metodologije za skrining, odnosno konvencionalne RT-PCR i PCR metode za potvrdu nalaza i tipizaciju virusa sa prajmerima specifičnim za virus KE kao vrstu (detektuju sve podtipove i sojeve virusa), po ranije opisanoj metodologiji (128). Ekstrakcija virusne RNK je izvršena korišćenjem dijagnostičkog kompleta *BioExtract®SuperBall®* (*Biosellal*, Francuska), prema originalnom uputstvu proizvođača i aparatom *KingFisher Flex 96* (*ThermoFisher Scientific*, SAD). Detekcija prisustva genoma virusa KE izvršena je upotrebom komercijalnog kompleta

RNA UltraSense™ One-Step qRT-PCR System (Life Technologies Corporation, Carlsbad, Kalifornija) i prajmerima i TaqMan probom kojima je vršena amplifikacija sekvence virusnog genoma odgovornog za kodiranje E proteina omotača virusa. Za potvrdu prisustva virusa KE i njegovu naknadnu karakterizaciju korišteni su dijagnostički kompleti OneStep RT-PCR kit (Qiagen GmbH, Hilden, Nemačka) i HotStarTaq Master Mix kit (Qiagen GmbH, Hilden, Nemačka) i prajmeri kojima je vršena amplifikacija 5'NCR i dela sekvence virusnog genoma, odgovornog za kodiranje kapsidnog C proteina virusa KE. Rezultati su interpretirani kao pozitivni ili negativni u skladu sa uputstvom proizvođača PCR testova.

Jedan deo krpelja je testiran na prisustvo genoma virusa KE u Centru za virusologiju IZJZV. Prikupljeni krpelji su prvo podvrgnuti obradi u cilju oslobađanja sadržaja unutrašnjeg tkiva. Krpelji su stavljeni u eppendorf mikrotube, dodato je 500 µl 96% etanola, uz mešanje (vortex) 3 do 5 sekundi. Nakon uklanjanja supernatanta dodato je 500 µl 0,15 M NaCl ili fosfatnog pufera i sadržaj u mikrotubi je opet mešan (vorteksovan) 3-5 sekundi, a supernatant je uklonjen pipetom.

Ovako obrađeni krpelji manuelno su homogenizovani u porcelanskom avanu sa tučkom u cilju dobijanja suspenzije krpelja. Homogenizacija krpelja je izvršena na sledeći način: 300 µl 0,15 M NaCl ili fosfatnog pufera upotrebljeno je za jednu jedinku vrste *I. ricinus*, 500 µl za jednu jedinku krpelja vrste *D. marginatus* ili 1µl za zbirni uzorak (pool) ostalih vrsta krpelja. Nakon toga se smeša centrifugirala na 5000 rpm tokom 2 min. Od dobijene smeše odvajan je supernatant za ekstrakciju RNK.

Za ekstrakciju nukleinskih kiselina korišćen je komercijalni komplet RealBest extraction kit (Global Bios, Carteret, New Jersey, SAD). Protokol izolacije izvršen je prema uputstvu proizvođača. Utvrđivanje prisustva genoma virusa KE izvršeno je real-time PCR metodom uz upotrebu komercijalnog multiplex testa TBEV, *B. burgdorferi*, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/ *E. muris* Real-TM (Sacace Biotechnologies, Komo, Italija). Zajedno sa uzorcima krpelja testirane su pozitivna kontrola, negativna kontrola amplifikacije i negativna kontrola ekstrakcije. Rezultati su interpretirani kao pozitivni ili negativni u skladu sa preporukama proizvođača.

Ukupno je testirano 1728 jedinki vrste *I. ricinus*. Kako su i druge prikupljene vrste krpelja označene kao vektori virusa KE dodatno je ispitano i 50 jedinki krpelja vrste *H. concinna* i devet jedinki vrste *D. marginatus*. Od ukupno prikupljene 142 jedinke vrste *H. punctata*,

analizirano je samo 18. Zbog zahtevne determinacije i diferencijacije u odnosu na morfološki sličnu vrstu *H. sulcata*, jedinke ove vrste su dugo bile van hladnog lanca, pa je procenjeno da virusna nukleinska kiselina nije mogla biti očuvana. Stoga su testirana ukupno 352 zbirna uzorka, a prosečan broj krpelja po jednom zbirnom uzorku (*pool-u*) iznosio je 5,13 (\pm 2,82) (95% CI: 4,84 – 5,43).

3.2.3. Obrada i analiza podataka

Svi podaci relevantni za istraživanje dobijeni determinacijom i diferencijacijom krpelja, kao i rezultati laboratorijskog ispitivanja krpelja na prisustvo virusa KE uneti su u prethodno kreirane baze podataka i analizirani u programu *Excel*. Za svako naseljeno mesto određena je gustina krpelja u jedinici vremena, odnosno broj prikupljenih krpelja po jednom satu, kao i struktura populacije krpelja u odnosu na vrstu. Odnos polova, odnosno seksualni indeks, izračunat je kao broj ženki u odnosu na ukupan broj mužjaka i ženki.

3.3. Metodologija utvrđivanja prisustva, učestalosti i rasprostranjenosti krpeljskog encefalitisa u populaciji ljudi na teritoriji Vojvodine

Ovaj deo istraživanja sproveden je prospektivno od 1. avgusta 2021. do 31. oktobra 2022. godine, obuhvatajući tri sezone najveće aktivnosti krpelja (septembar/ oktobar 2021, maj/ jun 2022. i septembar/ oktobar 2022. godine).

3.3.1. Način izbora, konstrukcija i veličina uzorka

Ispitanike ovog dela istraživanja činili su pacijenti hospitalizovani na Klinici za infektivne bolesti KCV, na infektivnim odeljenjima opštih bolnica na teritoriji Vojvodine, u IZZZDIOV i na Klinici za infektivne i tropske bolesti KCS u Beogradu, a koji mestom prebivališta pripadaju teritoriji AP Vojvodine i kod kojih je na osnovu definicije slučaja ECDC-a (opisana u poglavlju 1.7.2.) postavljena sumnja na KE.

Nakon postavljanja sumnje na ovo oboljenje od strane nadležnog lekara/infektologa u sklopu redovnih dijagnostičkih procedura zapaljenja CNS-a, za koje je obezbeđena pismena saglasnost pacijenta, uzeti su krvni serum i/ili likvor za laboratorijsko ispitivanje na virus KE.

3.3.2. Transport, skladištenje i laboratorijsko ispitivanje uzoraka hospitalizovanih pacijenata sa sumnjom na krpeljski encefalitis

Uzorci krvnog seruma i likvora su transportovani u Centar za virusologiju IZJZV u ručnom frižideru, u režimu hladnog lanca. U Centru za virusologiju, čuvani su u zamrzivačima na -20°C .

Uzorci su testirani na prisustvo specifičnih IgM i IgG antitela na virus KE semikvantitativnim ELISA testovima.

U zavisnosti od dostupnosti, za laboratorijsko ispitivanje prisustva specifičnih IgG antitela u krvnom serumu korišćena su dva testa: *Euroimmun Anti-TBEV ELISA IgG* komercijalni kit (proizvođača *Euroimmun, Lübeck, Nemačka*) i *SERION ELISA classic FSME/TBE Virus IgG* (proizvođača *Virion\Serion, Würzburg, Nemačka*). Senzitivnost *Euroimmun Anti-TBEV ELISA IgG* testa je 83%, a specifičnost 71%, dok je senzitivnost *SERION ELISA classic FSME/TBE Virus IgG* testa 94%, a specifičnost 67% (129).

Euroimmun Anti-TBEV ELISA IgG test se izvodio na potpuno automatizovanom aparatu *Euroimmun Analyzer I-2P*. Ukratko, razblažen uzorak krvnog seruma, kontrole (pozitivna i negativna) i kalibrator su se prenosili na mikrotitarsku ploču, koja na sebi sadrži udubljenja ispunjena antigenima virusa KE. Nakon inkubisanja u trajanju od 30 minuta na sobnoj temperaturi (od $18-25^{\circ}\text{C}$) i ispiranja dodat je konjugat, koji sadrži anti-humana IgG antitela, obeležena peroksidazom. Nakon ponovnog inkubisanja u trajanju od 30 minuta na sobnoj temperaturi i ispiranja, dodat je supstrat i inkubisanje je ponovljeno. Kako bi se zaustavila enzimska reakcija, nakon 15 minuta inkubisanja dodat je stopirajući reagens. Intenzitet obojenog proizvoda reakcije izmeren je na fotometru. Ekstinkcija uzorka očitavana je na 450 nm uz korišćenje diferencijalnog filtera od 650 nm. Uporedo sa ispitivanim krvnim serumima, u zasebnim udubljenima na mikrotitarskoj ploči, obrađeni su pozitivna i negativna kontrola, kao i kalibrator.

Interpretacija rezultata testa je sprovedena u skladu sa preporukama proizvođača na osnovu računanja sledećeg odnosa:

$$\text{odnos} = \text{ekstinkcija ispitivanog uzorka} / \text{ekstinkcija kalibratora}$$

Na osnovu vrednosti dobijenog odnosa, rezultati su razvrstani u tri grupe:

- negativan rezultat – odnos $< 0,8$
- graničan rezultat – odnos = $0,8$ do $1,1$
- pozitivan rezultat – odnos $\geq 1,1$

SERION ELISA classic FSME/TBE Virus IgG test je izveden prema uputstvu proizvođača. Sažeto, uzorci krvnog seruma nakon razblaživanja, negativna kontrola i standard (standardni serum) su preneti u duplikatu na mikrotitarsku ploču, koja sadrži udubljenja ispunjena antigenima virusa KE. Jedno polje u mikrotitarskoj ploči je ostavljeno prazno za slepu probu supstrata (engl. *blank*). Primarno inkubisanje je obavljeno u trajanju od 60 minuta na temperaturi od 37° C. Potom je dodat konjugat, koji sadrži anti-humana IgG antitela, obeležena alkalnom fosfatazom, u sva polja mikrotitarske ploče, izuzev u slepu probu supstrata. Posle ovog koraka, izvršeno je sekundarno inkubisanje u trajanju od 30 minuta na temperaturi od 37° C. Posle ispiranja, dodat je bezbojni supstrat p-nitrofenilfosfat u sva polja mikrotitarske ploče, pa i u polje za slepu probu supstrata. Nakon ponovnog inkubisanja u trajanju od 30 minuta na temperaturi od 37° C, dodat je reagens za zaustavljanje reakcije. Intenzitet signala obojenog proizvoda reakcije (p-nitrofenol) proporcionalan je koncentraciji antitela u uzorku i meri se fotometrijski. Optička gustina (OD) uzoraka očitana je na 405 nm u odnosu na slepu probu supstrata i referentnu talasnu dužinu od 650 nm.

Za adaptaciju nivoa testa na 4 PL standardnu krivu izračunat je korekcionni faktor F, deljenjem standardne referentne vrednosti optičke gustine (OD) naznačene na sertifikatu kontrole kvaliteta sa izmerenom i posledičnom standardnom OD vrednošću, specifičnom za izvođenje testa.

Množenjem OD vrednosti, dobijenih iz uzoraka pacijenata, korekcionnim faktorom F, nivo svakog pojedinačnog izvođenja testa podešava se na 4 PL standardnu krivu. Nakon oduzimanja slepe probe supstrata od svih izmerenih OD vrednosti i izračunavanja srednje OD

vrednosti standardnog seruma (STD), testiranog u duplikatu, procena aktivnosti antitela iz optičkih merenih signala (OD) uzoraka pacijenata izvršena je se na sledeći način:

- negativan rezultat <100 U/ml
- graničan rezultat = 100-150 U/ml
- pozitivan rezultat >150 U/ml

Za detekciju specifičnih IgM antitela u krvnom serumu korišćen je *Euroimmun Anti-TBEV ELISA IgM* komercijalni kit, proizvođača *Euroimmun, Lübeck, Nemačka* (senzitivnost i specifičnost ovog testa su 94%) (129). U skladu sa uputstvom proizvođača tumačeni su rezultati laboratorijskog testiranja, pa su krvni serumi klasifikovani kao TBEV IgM negativni ($<0,8$), TBEV IgM granični ($\geq 0,8$ do $<1,1$) i TBEV IgM pozitivni ($\geq 1,1$). Test se izvodio na aparatu *Euroimmun Analyzer I-2P*, koji je potpuno automatizovan. Uzorci krvnog seruma su razblaženi komercijalnim diluentom proizvođača, koji sadrži apsorberent reumatoidnog faktora, kako bi se isključila mogućnost nespecifično (lažno) pozitivnih rezultata pri određivanju specifičnih IgM antitela. Dalji postupak izvođenja testa i izračunavanje rezultata izvršeno je na isti način kao za laboratorijsko ispitivanje prisustva specifičnih IgG antitela, što je opisano prethodno u ovom poglavlju.

Za testiranje uzoraka likvora, korišćeni su testovi dizajnirani za detekciju specifičnih antitela na virus KE u likvoru. Zavisno od dostupnosti na tržištu, korišćena su dva testa: *Anti-TBEV ELISA IgM (Euroimmun, Lübeck, Nemačka)* (senzitivnost 94%, specifičnost 94%) i *SERION ELISA classic FSME/TBE Virus IgM test* (proizvođača *Virion\Serion, Würzburg, Nemačka*) (senzitivnost 99%, specifičnost 99%). Prema uputstvu proizvođača, tumačeni su rezultati laboratorijskog ispitivanja, pa su uzorci likvora klasifikovani kao TBEV IgM pozitivni ($\geq 5U$) ili kao TBEV IgM negativni ($<5U$) prema *Euroimmu* testu, a prema *Virion\Serion* testu kao TBEV IgM negativni (<10), TBEV IgM granični (10-15 U/ml) i TBEV IgM pozitivni (>15). Za računanje indeksa antitela tokom izvođenja *Virion\Serion* testu korišćen je *Virion EasyCSF* softver.

Zbog mogućih unakrsnih seroloških reakcija sa drugim virusima iz porodice *Flaviviridae*, svi seropozitivni i granični uzorci, dobijeni tokom testiranja ELISA testom, prosleđeni su laboratoriji u Češkoj (*Laboratory of Emerging Viral Infections, Veterinary*

Research Institute, Brno, Czech Republic) radi postavljanja konačne dijagnoze virus neutralizacionim testom (VNT). Uzorci su poslani brzom poštom, zamrznuti na “suvom ledu” uz prateću dokumentaciju.

Metodologija izvođenja virus neutralizacionog testa u laboratoriji u Češkoj Republici opisana je ranije (130). Sažeto, toplotom inaktivisani i dvostruko razblaženi serumi su inkubisani, u trajanju od 90 minuta na temperaturi od 37° C, u mikrotitarskim pločama sa 96 polja u kojima se nalazi virus KE (soj *Hypr*) iz zbirke arbovirusa Biološkog centra Češke akademije nauka. U ovom periodu, ukoliko su prisutna specifična antitela protiv virusa KE u serumu, reagovaće sa dodatim virusom i neutralisaće njegovu infektivnost. Zatim je smešama dodata PS kultura ćelija (ćelije dobijene od svinjskih bubrega) i inkubisanje je nastavljeno još pet dana, nakon čega je pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa očitani citopatogeni efekat. Najveće razblaženje seruma, koje inhibira citopatogeni efekat, smatralo se titrom krajnje tačke. Uzorci sa recipročnim titrom $>1/10$ smatrani su pozitivnim (130).

3.3.3. Prikupljanje podataka putem upitnika, analiza i obrada rezultata

Po prijemu prijave o seropozitivnom ili graničnom rezultatu ELISA testa iz laboratorije Centra za virusologiju IZJZV, glavni istraživač je popunjavao anketni upitnik na osnovu razgovora sa pacijentom ili njegovim roditeljem/ starateljem i nadležnim lekarima (Prilog 3). Ukoliko zdravstveno stanje pacijenata nije dozvoljavalo anketiranje, podaci relevantni za upitnik uzeti su samo od nadležnog lekara ili prepisani iz istorije bolesti. U upitniku su sadržana pitanja o socio-demografskim karakteristikama pacijenata, zatim laboratorijski, klinički i epidemiološki podaci, kao i podaci o vakcinalnom statusu pacijenta i komorbiditetima.

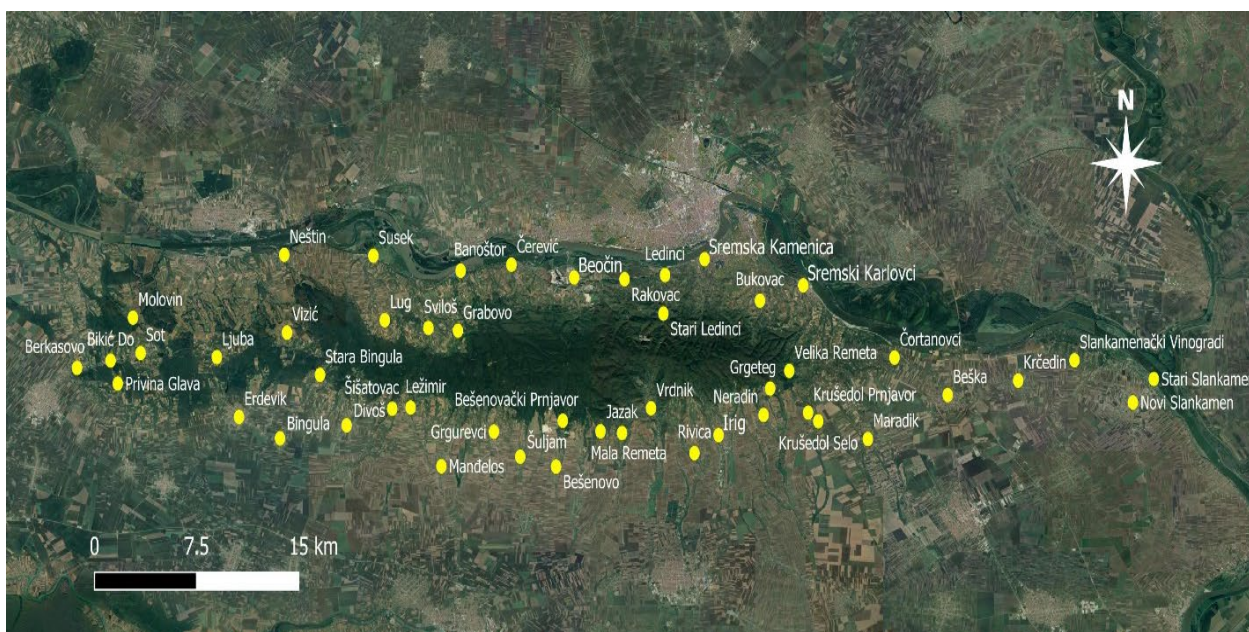
Prikupljeni podaci su uneti u posebno kreiranu bazu podataka u programu *Excel* sa zaštićenim pristupom, kako bi se obezbedili uslovi za hronološku, topografsku i demografsku analizu.

3.4. Metodologija seroepidemiološkog ispitivanja prokuženosti stanovnika Vojvodine na virus krpeljskog encefalitisa

3.4.1. Način izbora, konstrukcija i veličina uzorka

Grupa stanovnika Vojvodine van područja Fruške gore sastavljena je od 1000 uzoraka iz banke krvnih seruma IZJZV, što čini 0,05% ukupnog broja stanovnika Vojvodine, bez 49 naseljenih mesta Fruške gore. Činili su je samo serumi ispitanika, koji mestom prebivališta ne pripadaju fruškogorskoj regiji, a koji su prikupljeni u periodu od aprila 2015. do februara 2016. godine. Topografska distribucija kontrolne grupe je izračunata prema Popisu stanovništva Republike Srbije iz 2011. godine, a kako bi se postigla geografska reprezentativnost, iz svakog okruga je uključen podjednak procenat (0,05%) ispitanika.

Grupa stanovnika Fruške gore se sastojala od 1000 uzoraka rezidualnih krvnih seruma, prikupljenih od stanovnika svih naseljenih mesta na teritoriji Fruške gore (ukupno 49), što čini 1,19% ukupne populacije ove regije. Naseljena mesta fruškogorske regije prikazana su na mapi 2.



Mapa 2. Prikaz naseljenih mesta Fruške gore

Uzorak je prethodno stratifikovan po polu i uzrastu u skladu sa Popisom stanovništva Republike Srbije iz 2011. godine, čime je postignuta demografska reprezentativnost za regiju Fruške gore. Da bi se dobila i geografska reprezentativnost uzorka, procentualna zastupljenost ispitanika (1,19%) iz svakog naselja je bila jednaka. Ispitanici muškog i ženskog pola su jednako zastupljeni unutar uzorka. Na ovaj način je unapred određen broj ispitanika, koji će ući u uzorak iz svakog fruškogorskog naseljenog mesta.

Svakom ispitaniku iz grupe stanovnika Fruške gore odgovarao je jedan ispitanik istog pola i uzrasta \pm 1-2 godine iz grupe stanovnika Vojvodine van fruškogorske regije.

Pri formiranju grupe ispitanika sa teritorije Fruške gore, rezidualni krvni serumi su se prikupljali u laboratorijama IZJZV, OB Sremska Mitrovica, DZ Beočin, Inđija, Irig, Novi Sad, Sremska Mitrovica, Bačka Palanka i Šid. Pre početka istraživanja svakoj od ovih laboratorija dostavljena je tabela sa potrebnim brojem ispitanika sa teritorije njihove nadležnosti, raspoređenih u odnosu na pol, uzrast i mesto prebivališta.

Izbor ispitanika obavljalo je prethodno obučeno laboratorijsko osoblje, u skladu sa kriterijumima za uključivanje ispitanika u istraživanje, odnosno isključivanje iz istraživanja.

Učešće u seroepidemiološkom istraživanju je bilo dobrovoljno i na bazi informisanog pristanka, a ispitanici su imali pravo da odustanu od učestvovanja u istraživanju u bilo kom momentu.

Svaki ispitanik je usmeno i pismeno informisan o ciljevima istraživanja i tek nakon što je dao pisanu saglasnost za učestvovanje u istraživanju, laboratorijsko osoblje je odvojilo rezidualni krvni serum za potrebe istraživanja. Za decu uzrasta do 15 godina, informisanu saglasnost za učešće u istraživanju potpisivali su roditelji ili staratelji.

Eppendorf mikrotube sa rezidualnim krvnim serumom su obeležavane brojem, čime je obezbeđena anonimnost ispitanika.

Nakon toga, laboratorijsko osoblje je popunjavalo listu uzoraka, koja sadrži redni broj krvnog seruma (isti kao na *eppendorf* mikrotubi), datum uzorkovanja, zatim osnovne generalije ispitanika (pol, mesec i godina rođenja, mesto stanovanja i zanimanje) i podatak o prethodnom ubodu krpelja (Prilog 4).

U Centru za virusologiju IZJZV *eppendorf* mikrotube sa rezidualnim krvnim serumima su dalje šifrirane, tj. obeležavane rednim brojevima, a dodeljena šifra ispitanika i prateći podaci iz liste uzoraka unosili su se u prethodno kreiranu bazu podataka u programu *Excel*.

3.4.2. Kriterijumi za uključivanje ispitanika u istraživanje i isključivanje iz istraživanja pri formiranju studijske grupe

1. Kriterijum za uključivanje u istraživanje su:

- Indikovano vađenje krvi u sklopu laboratorijskog ispitivanja nekog oboljenja ili zbog sistematskog pregleda
- Informisani pristanak na ispitivanje (za uzrasta do 15 godina, saglasnost za učestvovanje u istraživanju davali su roditelji ili staratelji).

2. Kriterijumi za isključivanje iz studije su:

- Primanje transfuzije krvi ili njenih derivata u poslednjih šest meseci
- Imunosupresivna stanja i bolesti
- Prethodna vakcinacija protiv krpeljskog encefalitisa ili žute groznice

3.4.3. Transport i skladištenje uzoraka rezidualnih krvnih seruma

U laboratorijama, u kojima su uzorkovani, rezidualni krvni serumi su čuvani u frižideru do sedam dana ili u zamrzivaču na -20°C do transporta. Transportovani su poštujući hladni lanac (u ručnom frižideru, na temperaturi 2 do 8°C) ka IZJZV. Uz serume su transportovane i liste uzoraka i potpisane saglasnosti ispitanika.

U Centru za virusologiju IZJZV, uzorci krvnih seruma prikupljeni na terenu za potrebe ovog istraživanja, kao i uzorci banke krvnih seruma, skladišteni su u zamrzivačima na -20°C .

3.4.4. Laboratorijsko ispitivanje rezidualnih krvnih seruma na prisustvo specifičnih IgG antitela na virus krpeljskog encefalitisa

Laboratorijsko ispitivanje uzoraka krvnih seruma sprovedeno je u Centru za virusologiju IZJZV. Prisustvo specifičnih IgG antitela na virus KE u uzorcima krvnih seruma obe grupe ispitanika detektovano je semikvantitativnim ELISA testovima. Za detekciju specifičnih IgG antitela u krvnom serumu ispitanika korišćen je isti test kao za laboratorijsko ispitivanje krvnih seruma tokom ispitivanja prisustva, učestalosti i rasprostranjenosti krpeljskog encefalitisa u

populaciji ljudi na teritoriji Vojvodine. Detaljan postupak izvođenja testova i izračunavanje rezultata opisani su u poglavlju 3.3.2.

Zbog mogućih unakrsnih seroloških reakcija sa drugim virusima iz porodice *Flaviviridae*, krvni serumi sa pozitivnim i graničnim rezultatima, dobijenim ELISA testom, prosleđeni su u laboratoriju u Austriji (*Department of Virology, Medical University of Vienna*) ili laboratoriju u Češkoj Republici (*Laboratory of Emerging Viral Infections, Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic*) u cilju laboratorijske potvrde primenom virus neutralizacionog testa.

Virus neutralizacioni test u laboratoriji u Beču je izveden po ranije opisanoj metodologiji (131). Ukratko, za VNT korišćene su ćelije bubrega mladunčeta hrčka (BHK-21) i *Neudoerfl* soj virusa KE. Dvostruka serijska razblaženja krvnih seruma, prethodno inaktivisanog toplotom da bi se otklonili nespecifični inhibitori, pomešana su sa virusom i inkubisana na temperaturi od 37° C u trajanju od jednog sata. Tokom vremena inkubacije, ukoliko u krvnom serumu postoje specifična antitela, ona će se vezati za virus i neutralisaće infektivnost virusa.

Zatim je suspenziji dodata BHK-21 kultura ćelija (ćelije dobijene od bubrega mladunčeta hrčka) i inkubisanje je nastavljeno još tri dana. Izostanak citopatogenog efekta u kulturi ćelija u odnosu na kontrolu virusa (kultura ćelija u kojoj je inokulisan samo virus), pokazuje da u ispitivanom serumu ima specifičnih antitela, koja su neutralisala infektivnost virusa. Pošto citopatogeni efekat izazvan virusom KE nije dovoljno karakterističan i vidljiv za lako očitavanje, prisustvo virusa je određeno ELISA testom. Titar neutralizacije virusa je definisan kao recipročna vrednost razblaženja seruma, koje je dalo smanjenje od 90% tokom očitavanja apsorpcije u poređenju sa kontrolom bez specifičnih antitela. Titar neutrališućih antitela ≥ 10 smatran je pozitivnim. Prilikom svakog testiranja, kontrola virusa i tri pozitivna (sa specifičnim anti-KE virusnim antitelima) i jedan negativan serum (bez specifičnih antivirusnih antitela) korišćeni su kao kontrole (131).

Virus neutralizacioni test u laboratoriji u Češkoj (*Laboratory of Emerging Viral Infections, Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic*) sproveden je po metodologiji opisanoj u poglavlju 3.3.2.

3.2.5. Obrada i analiza podataka

Rezultati dobijeni serološkim laboratorijskim ispitivanjima unosili su se u bazu podataka u programu Excel i na osnovu njih je izračunata seroprevalencija specifičnih IgG antitela protiv virusa KE u studijskoj i kontrolnoj grupi. Seroprevalencija je izračunata kao procenat seropozitivnih u odnosu na ukupan broj testiranih uzoraka krvnih seruma.

Nakon toga je izvršeno poređenje seroprevalencija ove dve grupe, a analizirane su i seroprevalencije u odnosu na pol, uzrast, mesto stanovanja ispitanika, zanimanje i prethodni ubod krpelja.

3.5. Statistička obrada podataka

Podaci prikupljeni istraživanjem obrađeni su i analizirani u Centru za kontrolu i prevenciju bolesti IZJZV. Za obradu i prezentaciju podataka (tabele i grafikoni) korišćeni su programi *Microsoft Word 2016*, *Microsoft Excel 2016* i *Power Point 2016*, a za mapiranje *Quantum GIS (QGIS)*, verzija 3.10. Statistička obrada podataka izvršena je pomoću softverskog paketa *IBM SPSS Statistics 21*.

Atributivna obeležja su prikazana kao frekvencije i relativni brojevi (procenti), a numerička kao srednje vrednosti, standardne devijacije (SD), intervali poverenja (CI), medijane i interkvartilni opsezi (IQR).

Komparacija vrednosti obeležja izvršena je primenom Pirsonovog hi-kvadrat testa (χ^2) (*Pearson's chi-square test*) ili Fišerovog egzaktnog testa (*Fisher's exact test*) u zavisnosti od toga da li je frekvencija obeležja veća ili manja od 5 jedinica.

Ispitivanje moguće povezanosti dva ili više obeležja izvršeno je univarijantnom i multivarijantnom logističkom regresionom analizom. Na ovaj način analizirane su varijable pol i uzrast u odnosu na seropozitivnost na virus KE. Da bi se izrazila snaga povezanosti, izračunat je unakrsni odnos (*Odds ratio*, OR) sa odgovarajućim intervalom poverenja od 95% (95% CI).

Ispitanici su na osnovu delatnosti podeljeni na 18, zatim dodatno raspoređeni u četiri grupe: ispitanici koji većinu radnog vremena provode u zatvorenom prostoru, ispitanici koji posao većinom obavljaju na otvorenom, grupa sa više slobodnog vremena i grupa koju čine

deca, učenici i studenti (Prilog 5). Statistički značajnim su smatrane vrednosti nivoa značajnosti $p < 0.05$. Rezultati su prikazani tabelarno, grafički i putem mapa.

4. REZULTATI

4.1. Rezultati utvrđivanja prisustva virusa krpeljskog encefalitisa i određivanje njegove prevalencije u populaciji krpelja prikupljenih na teritoriji Fruške gore

4.1.1. Rezultati laboratorijskog testiranja krpelja na prisustvo virusa krpeljskog encefalitisa

Laboratorijskim ispitivanjem 1805 jedinki krpelja, razvrstanih u 352 zbirna uzorka u odnosu na mesto uzorkovanja, vrstu, pol i stadijum, ni u jednom uzorku PCR metodom nije detektovana nukleinska kiselina virusa krpeljskog encefalitisa.

Kako prisustvo RNK virusa nije dokazano u pregledanim uzorcima, nisu se stekli uslovi za planirano određivanje prevalencije virusa KE u krpeljima sa teritorije Fruške gore, kao ni za sekvencioniranje genoma i filogenetske analize.

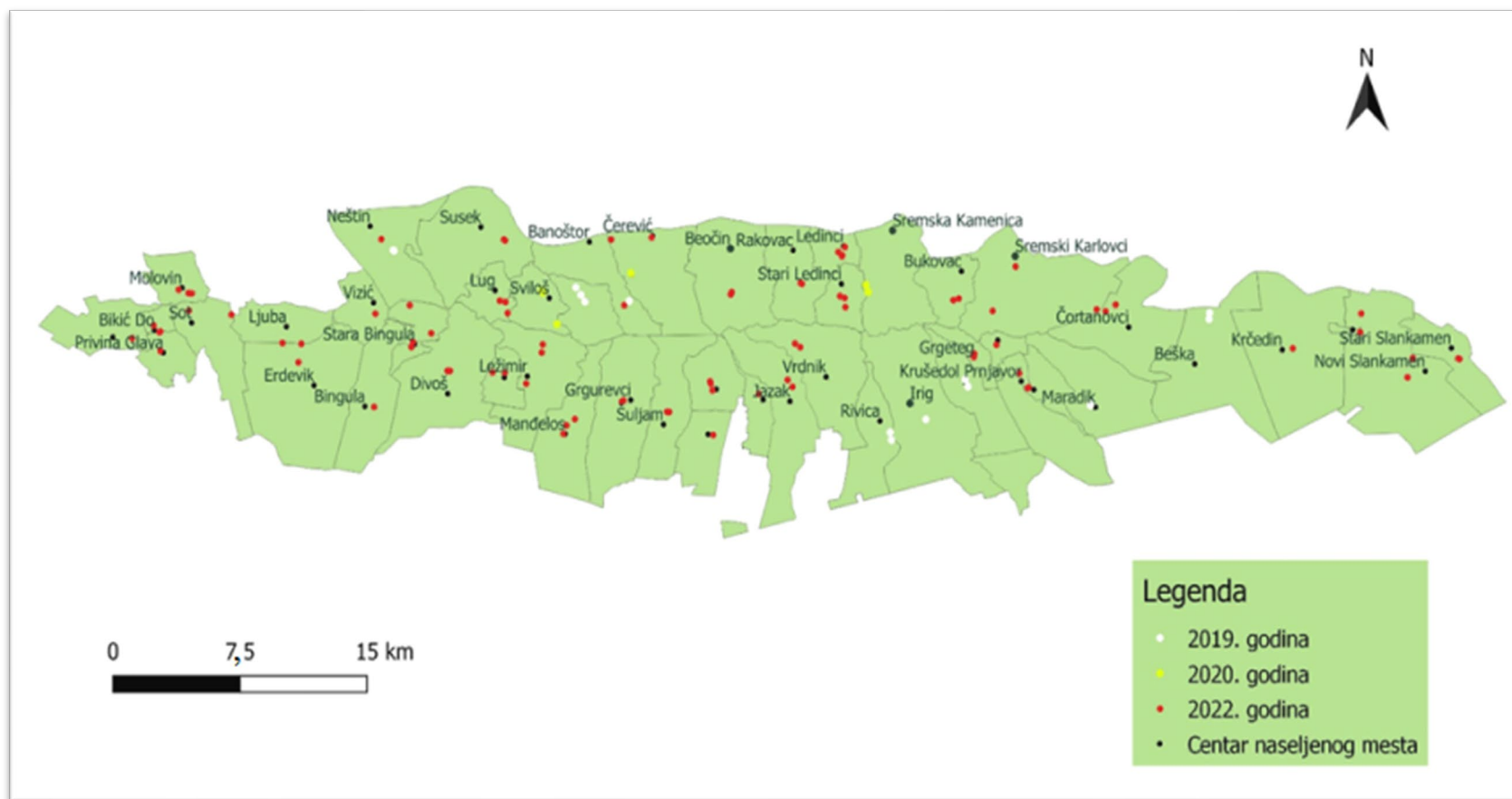
4.1.2. Brojnost i distribucija prikupljenih krpelja na teritoriji Fruške gore prema polu i razvojnom stadijumu

Tokom perioda istraživanja, u 49 naseljenih mesta na teritoriji Fruške gore i u njihovoj okolini sakupljena je i determinisana ukupno 1931 jedinka krpelja. Kako su uzorkovane sa površine vegetacije, sve jedinke su bile nenahranjene.

U odnosu na sezonu, broj prikupljenih krpelja varirao je od 84 u sezoni 2020. godine do 1556 u sezoni 2022. godine, zavisno od meteoroloških uslova i vremena provedenog na terenu (Tabela 1, Mapa 3).

Tabela 1. Broj prikupljenih krpelja u odnosu na sezonu uzorkovanja

Godina	Mesec	Broj jedinki	%
2019	Jun	94	4,87
	Jul	16	0,83
	Avgust	3	0,16
	Septembar	97	5,02
	Oktobar	81	4,19
	Međuzbir	291	15,07
2020	Maj	84	4,35
	Međuzbir	84	4,35
2022	Mart	217	11,24
	April	363	18,80
	Maj	847	43,86
	Jun	129	6,68
	Međuzbir	1556	80,58
Ukupno		1931	100,00



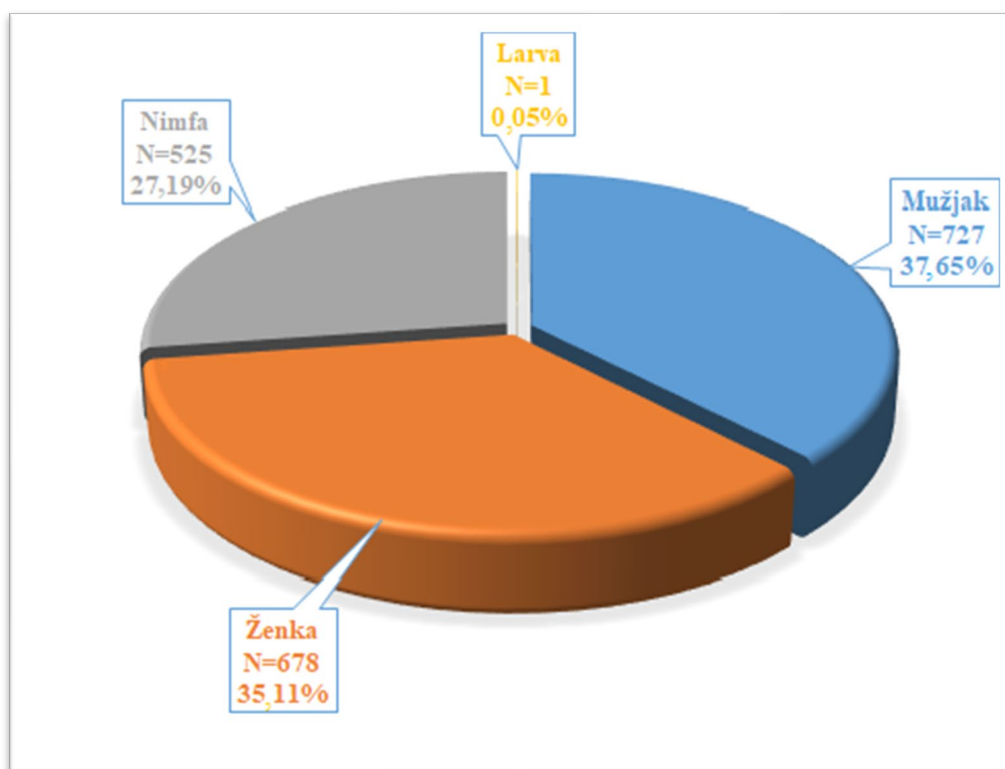
Mapa 3. Prikaz lokaliteta na kojima su prikupljeni krpelji po godinama

Prosečan broj jedinki, koji je prikupljen po jednom satu uzorkovanja iznosi $9,41 (\pm 8,58)$ (95% CI: 6,95– 11,88). Najveći prosečan broj jedinki po satu (41,50/sat) prikupljen je u mestu Privina Glava u Opštini Šid, a najmanji u Starom Slankamenu (0,94/sat) u Opštini Inđija. Značajan prosečan broj krpelja po satu prikupljen je i u okolini naseljenih mesta Erdevik (kod jezera Bruje) (35,33/sat), Jazak (u blizini manastira) (24,00/sat) i Sremski Karlovci (Stražilovo) (21,33/sat) (Tabela 2).

Tabela 2. Broj prikupljenih krpelja po satu u naseljenim mestima Fruške gore

Red. broj	Naseljeno mesto	Broj prikupljenih jedinki	Broj prikupljenih jedinki po satu	Red. broj	Naseljeno mesto	Broj prikupljenih jedinki	Broj prikupljenih jedinki po satu
1	Neštin	36	7,20	26	Neradin	36	5,14
2	Vizić	45	18,00	27	Rivica	30	1,20
3	Banoštor	60	13,33	28	Bukovac	39	15,60
4	Beočin	97	12,13	29	Ledinci	39	7,09
5	Grabovo	52	17,33	30	Stari Ledinci	36	10,29
6	Lug	38	7,60	31	Sremska Kamenica	32	5,33
7	Rakovac	21	3,00	32	Sremski Karlovci	96	21,33
8	Sviloš	44	12,57	33	Bešenovački Prnjavor	51	10,20
9	Susek	30	5,45	34	Bešenovo	29	11,60
10	Čerević	37	14,80	35	Grgurevci	28	1,12
11	Beška	31	1,19	36	Divoš	44	14,67
12	Krčedin	31	10,33	37	Stara Bingula	34	1,70
13	Maradik	29	1,16	38	Ležimir	29	1,53
14	Novi Slankamen	29	0,97	39	Šišatovac	25	0,96
15	Slankamenački Vinogradi	47	18,80	40	Mandelos	31	1,11
16	Stari Slankamen	29	0,94	41	Šuljam	34	4,86
17	Čortanovci	31	1,11	42	Berkasovo	30	10,00
18	Velika Remeta	33	9,43	43	Bingula	29	1,04
19	Vrdnik	32	7,11	44	Erdevik	106	35,33
20	Grgeteg	35	6,36	45	Ljuba	32	10,67
21	Irig	34	11,33	46	Molovin	30	12,00
22	Jazak	36	24,00	47	Privina Glava	83	41,50
23	Krušedolski Prnjavor	29	1,93	48	Bikić Do	33	4,13
24	Krušedol Selo	30	12,00	49	Sot	28	2,33
25	Mala Remeta	31	12,40				

U uzorku od ukupno sakupljene 1931 jedinke krpelja, najveći udeo od 72,76% (N=1405) zauzimaju adulti, s tim da procentualno učešće mužjaka iznosi 37,65% (N=727), a ženki 35,11% (N=678). Kada se dalje analizira distribucija prema razvojnim stadijumima, u prikupljenom uzorku, nimfe krpelja su prisutne u 27,19% (N=525), dok je najmanje prikupljeno larvi (N=1; 0,05%) (Grafikon 1). Odrasle jedinke su u prikupljenom uzorku statistički značajno zastupljenije u odnosu na nimfe ($\chi^2=401244$; $p<0,001$).



Grafikon 1. Distribucija prikupljenih krpelja na teritoriji Fruške gore prema polu i razvojnom stadijumu

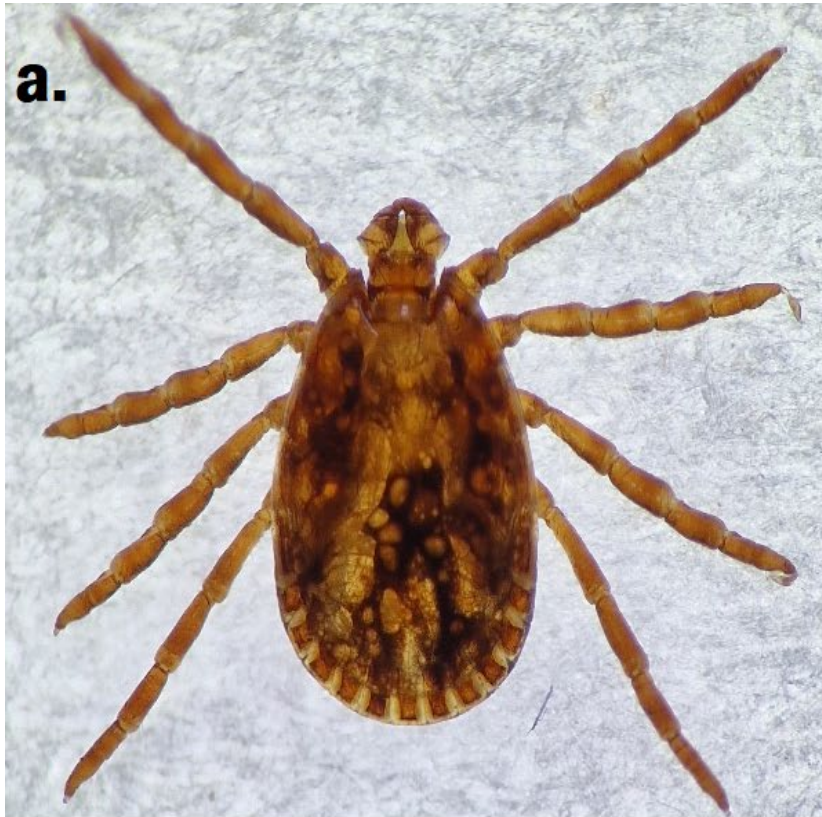
4.1.3. Pregled prikupljenih vrsta krpelja na teritoriji Fruške gore

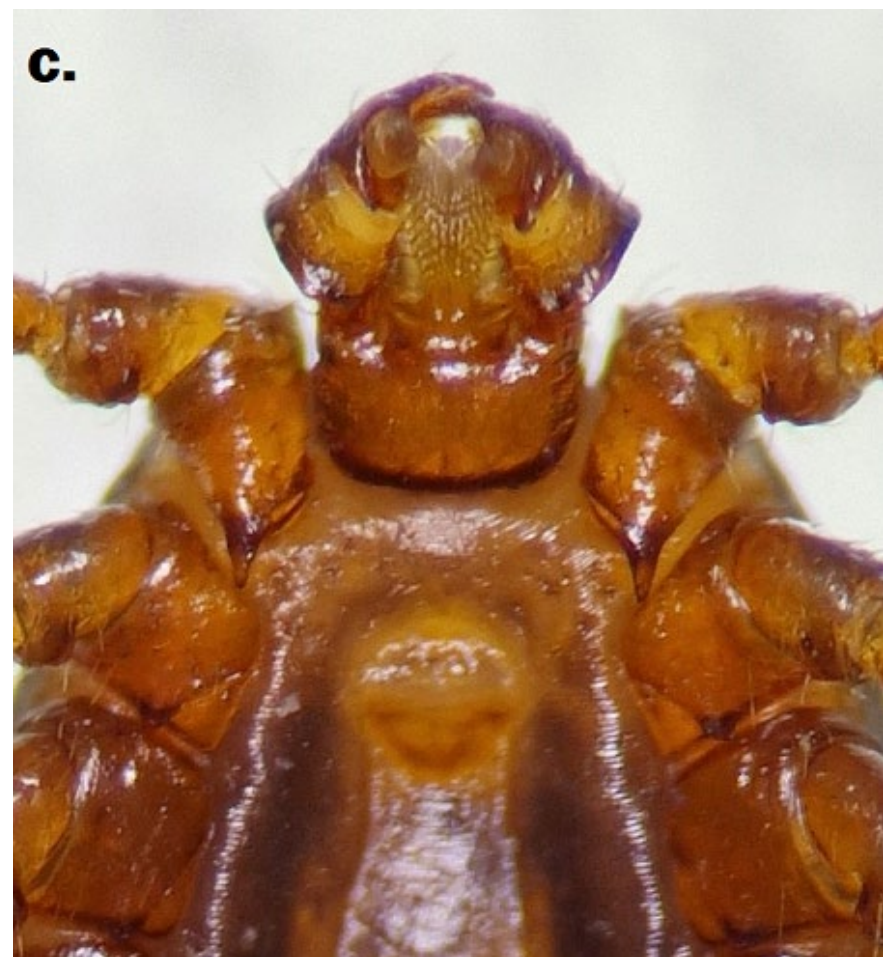
Determinacijom, prema morfološko-zoološkim ključevima, u odnosu na najvažnije morfološke karakteristike na dorzalnoj i ventralnoj strani jedinki, na teritoriji Fruške gore registrovano je prisustvo pet vrsta krpelja, koji pripadaju rodovima: *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor* i *Rhipicephalus*. Iz roda *Haemaphysalis* registrovane su dve vrste: *H. punctata*

Canestrini i Fanzago, 1878 (Slika 5) i *H. concinna* Koch, 1844 (Slika 6) i po jedna vrsta iz rodova *Ixodes* (*I. ricinus* Linnaeus, 1758) (Slika 7), *Dermacentor* (*D. marginatus* Sulzer, 1776) (Slika 8) i *Rhipicephalus* (*R. sanguineus*, Latreille, 1804) (Slika 9).



Slika 5. Morfološke karakteristike krpelja vrste *H. punctata*; a. Ženka sa dorzalne i ventralne strane; b. Mužjak sa dorzalne i ventralne strane (foto: Pustahija T.)







Slika 6. Morfološke karakteristike krpelja vrste H. concinna; a. Mužjak sa dorzalne i ventralne strane; b. Cornua i izraštaj na trohanteru prvog para nogu; c. Treći segmenti palpi u obliku klešta i izraštaj na prvom paru koksi; d. Nimfa sa dorzalne i ventralne strane (foto: Pustahija T.)







Slika 7. Morfološke karakteristike krpelja vrste I. ricinus; a. Ženka sa dorzalne i ventralne strane; b. Mužjak sa dorzalne i ventralne strane; c. Nimfa sa dorzalne i ventralne strane; d. Larva sa ventralne strane (foto: Pustahija T.)





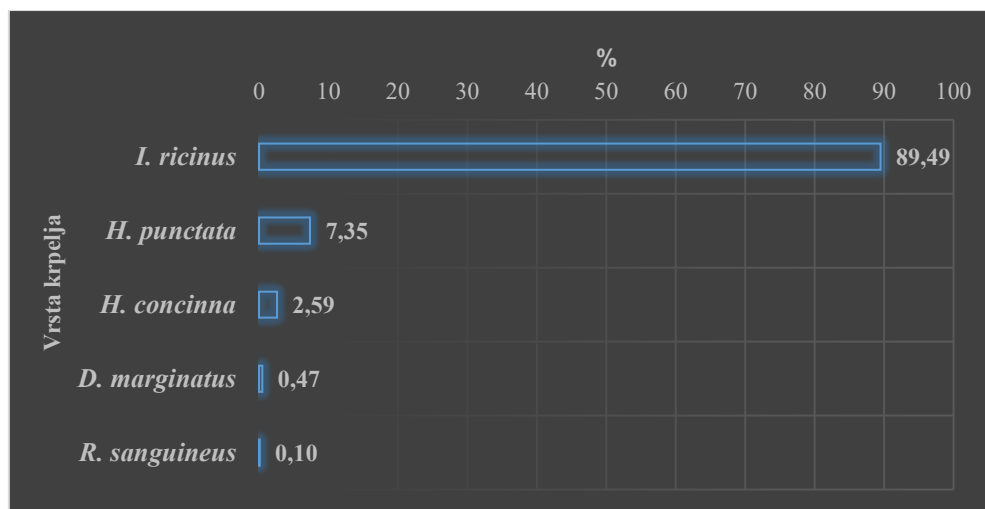
*Slika 8. Morfološke karakteristike krpelja vrste *D. marginatus*; a. Ženka sa dorzalne i ventralne strane; b. Mužjak sa dorzalne i ventralne strane; c. Koxa prvog para nogu (foto: Pustahija T.)*



Slika 9. Morfološke karakteristike mužjaka vrste *R. sanguineus* sa dorzalne i ventralne strane (foto: Pustahija T.)

4.1.4. Brojnost i distribucija pojedinih vrsta krpelja na teritoriji Fruške gore prema polu i razvojnem stadijumu

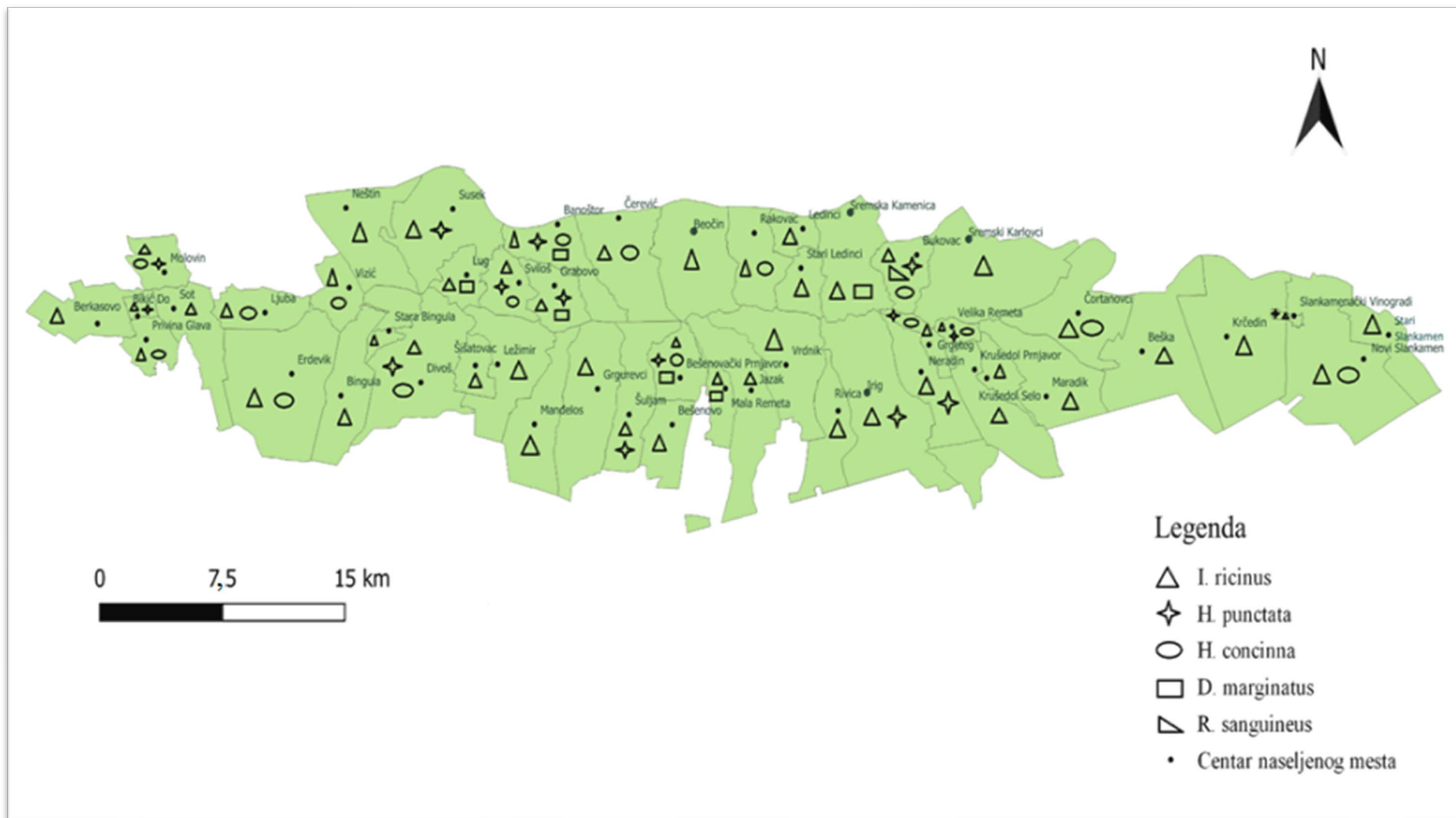
Po brojnosti se izdvaja vrsta *I. ricinus*, koja u prikupljenom uzorku uzima učešće od 89,49% (N=1728) i statistički je značajno zastupljenija u odnosu na sve druge vrste ($\chi^2=1204,363$; $p=0,000$) (Grafikon 2).



Grafikon 2. Učešće pojedinih vrsta u ukupnom broju prikupljenih krpelja na teritoriji Fruške gore

Vrsta *I. ricinus* je zastupljena u svih 49 naseljenih mesta fruškogorske regije, dok su vrste iz roda *Haemaphysalis*, *H. concinna* i *H. punctata*, prikupljene u 16 (32,65%), odnosno 15 (30,61%) naseljenih mesta, redom. Malobrojne jedinice vrste *D. marginatus* prikupljene su u šest naseljenih mesta, a *R. sanguineus* je nađen samo u jednom.

Vrsta *I. ricinus* je dominantna u 46 (preko 90%) naseljenih mesta fruškogorske regije, izuzev Iriga, Bukovca i Velike Remete, gde dominira vrsta *H. punctata*, sa učešćem od 73,53%, 58,97% i 45,45%, redom. Apsolutna dominacija (100%) vrste *I. ricinus* registrovana je u skoro polovini naseljenih mesta (N=23; 46,94%) (Mapa 4, Tabela 3).



Mapa 4. Prikaz prikupljenih vrsta krpelja po naseljenim mestima Fruške gore

Tabela 3. Zastupljenost pojedinih vrsta krpelja prema naseljenom mestu na teritoriji Fruške gore

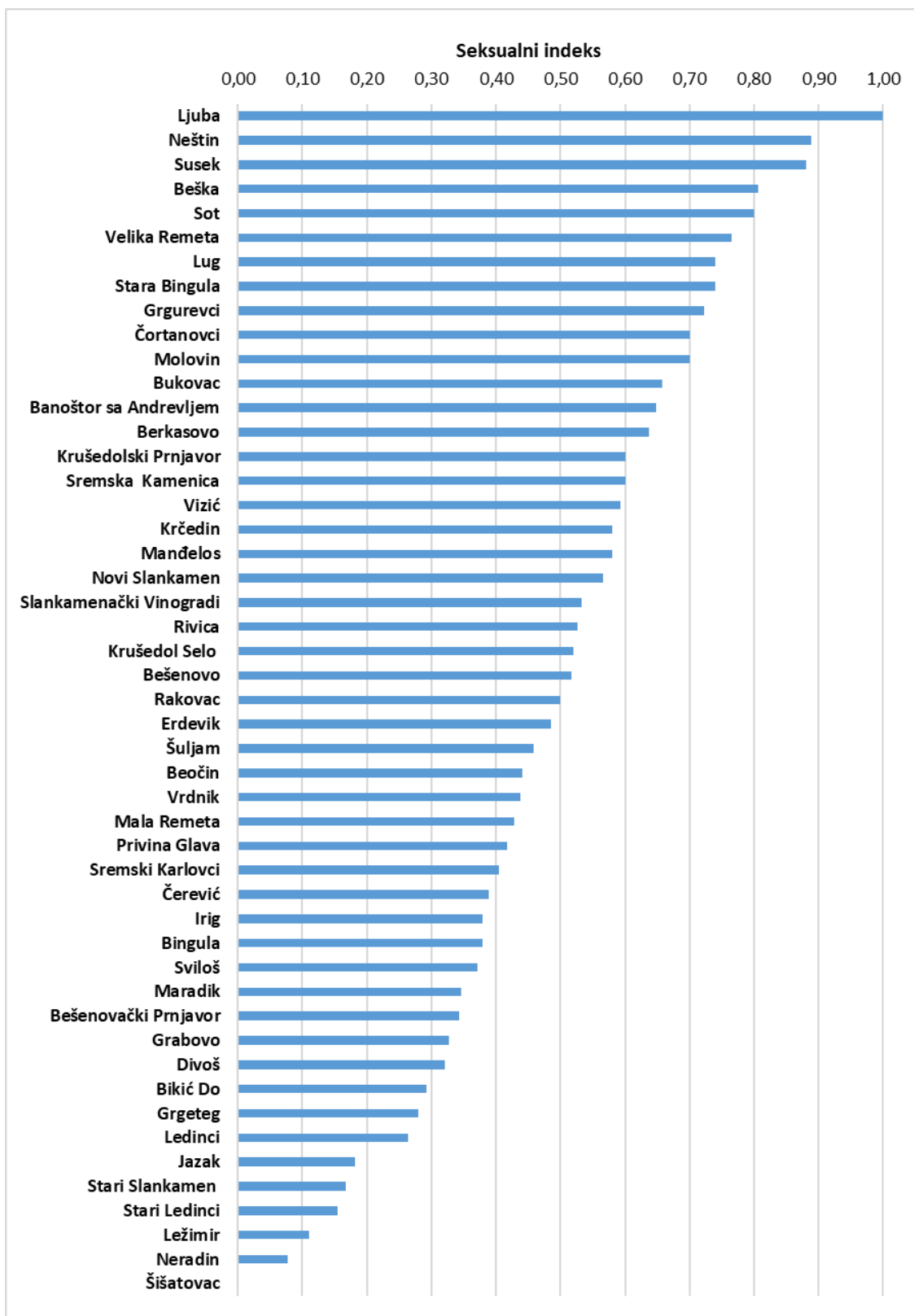
Opština	Naseljeno mesto	<i>I. ricinus</i>		<i>H. punctata</i>		<i>H. concinna</i>		<i>D. marginatus</i>		<i>R. sanguineus</i>		Ukupno
		N;	%	N;	%	N;	%	N;	%	N;	%	
Opština Bačka Palanka	Neštin	36	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	36
	Vizić	30	66,67	0	0,00	15	33,33	0	0,00	0	0,00	45
Opština Beočin	Banoštor	42	70,00	11	18,33	4	6,67	3	5,00	0	0,00	60
	Beočin	97	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	97
	Grabovo	38	73,08	12	23,08	0	0,00	2	3,85	0	0,00	52
	Lug	37	97,37	0	0,00	0	0,00	1	2,63	0	0,00	38
	Rakovac	20	95,24	0	0,00	1	4,76	0	0,00	0	0,00	21
	Sviloš	38	86,36	3	6,82	3	6,82	0	0,00	0	0,00	44
	Susek	28	93,33	2	6,67	0	0,00	0	0,00	0	0,00	30
Čerević	36	97,30	0	0,00	1	2,70	0	0,00	0	0,00	37	
Opština Indija	Beška	31	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	31
	Krčedin	31	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	31
	Maradik	29	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	29
	Novi Slankamen	28	96,55	0	0,00	1	3,45	0	0,00	0	0,00	29
	Slankamenački Vinogradi	45	95,74	2	4,26	0	0,00	0	0,00	0	0,00	47
	Stari Slankamen	29	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	29
	Čortanovci	30	96,77	0	0,00	1	3,23	0	0,00	0	0,00	31
Opština Irig	Velika Remeta	12	36,36	15	45,45	6	18,18	0	0,00	0	0,00	33
	Vrdnik	32	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	32
	Grgeteg	25	71,43	9	25,71	1	2,86	0	0,00	0	0,00	35
	Irig	9	26,47	25	73,53	0	0,00	0	0,00	0	0,00	34
	Jazak	36	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	36
	Krušedolski Prnjavor	29	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	29
	Krušedol Selo	30	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	30
	Mala Remeta	30	96,77	0	0,00	0	0,00	1	3,23	0	0,00	31

Nastavak Tabele 3

Opština	Naseljeno mesto	<i>I. ricinus</i> N; %		<i>H. punctata</i> N; %		<i>H. concinna</i> N; %		<i>D. marginatus</i> N; %		<i>R. sanguineus</i> N; %		Ukupno
Opština Irig	Neradin	33	91,67	3	8,33	0	0,00	0	0,00	0	0,00	36
	Rivica	30	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	30
Opština Novi Sad	Bukovac	13	33,33	23	58,97	1	2,56	0	0,00	2	5,13	39
	Ledinci	39	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	39
	Stari Ledinci	36	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	36
	Sremska Kamenica	31	96,88	0	0,00	0	0,00	1	3,13	0	0,00	32
Opština Sremski Karlovci	Sremski Karlovci	96	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	96
Opština Sremska Mitrovica	Bešenovački Prnjavor	31	60,78	13	25,49	6	11,76	1	1,96	0	0,00	51
	Bešenovo	29	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	29
	Grgurevci	28	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	28
	Divoš	31	70,45	12	27,27	1	2,27	0	0,00	0	0,00	44
	Stara Bingula	34	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	34
	Ležimir	29	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	29
	Šišatovac	25	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	25
	Mandelos	31	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	31
Šuljam	31	91,18	3	8,82	0	0,00	0	0,00	0	0,00	34	
Opština Šid	Berkasovo	30	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	30
	Bingula	29	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	29
	Erdevik	100	94,34	0	0,00	6	5,66	0	0,00	0	0,00	106
	Ljuba	31	96,88	0	0,00	1	3,13	0	0,00	0	0,00	32
	Molovin	27	90,00	2	6,67	1	3,33	0	0,00	0	0,00	30
	Privina Glava	82	98,80	0	0,00	1	1,20	0	0,00	0	0,00	83
	Bikić Do	26	78,79	7	21,21	0	0,00	0	0,00	0	0,00	33
	Sot	28	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	28
Ukupno		1728	89,49	142	7,35	50	2,59	9	0,47	2	0,10	1931

Uzimajući u obzir odnos polova prikupljenih jedinki, ustanovljeno je da u ukupnom uzorku prikupljenom tokom perioda istraživanja neznatno dominiraju mužjaci ($S_i=0,48$). Međutim, kada se odnos polova analizira u odnosu na lokalitete uzorkovanja, dominacija ženki utvrđena je u približno 50% naseljenih mesta Fruške gore, a seksualni indeks (S_i) u tim mestima kreće se u rasponu od 0,52 do 1. Apsolutna dominacija ženki uočena je u mestu Ljuba ($S_i=1$). U jednom mestu (Rakovac), zastupljenost polova je jednaka ($S_i=0,5$) (Grafikon 3).

Ako se zasebno posmatra vrsta *I. ricinus*, koja je i primarni vektor KE, u prikupljenom uzorku zabeležena je dominacija ženki ove vrste u odnosu na mužjake u 25 (preko 50%) naseljenih mesta, sa rasponom seksualnog indeksa od 0,52 do 1. U Ljubi i Velikoj Remeti mužjaci vrste *I. ricinus* nisu prikupljeni ($S_i=1$), pa ženke apsolutno dominiraju.



Grafikon 3. Odnos polova (seksualni indeks) prikupljenih krpelja po naseljenim mestima Fruške gore

Analiza prikupljenih vrsta krpelja prema razvojnim stadijumima pokazuje zastupljenost adulta kod svih pet vrsta, pri čemu su adulti vrste *I. ricinus* najbrojniji i čine 88,54% svih prikupljenih adultnih stadijuma u uzorku. Stadijum nimfe prisutan je kod vrsta *I. ricinus* i *H. concinna*, uz dominaciju nimfi vrste *I. ricinus* sa udelom od 92,00% u ukupnom broju prikupljenih nimfi. Jedna prikupljena larva pripada vrsti *I. ricinus*, te su u prikupljenom uzorku sva tri stadijuma razvoja krpelja prisutna samo kod ove vrste.

U ukupnom broju prikupljenih jedinki vrste *I. ricinus* (N=1728), adulti dominiraju sa procentualnim učešćem od 71,99%. Apsolutna dominacija (100,00%) adultnog stadijuma razvoja prisutna je kod vrsta *H. punctata*, *D. marginatus* i *R. sanguineus*. Kod vrste *H. concinna* brojnije su nimfe sa udelom od 84,00% (Tabela 4).

Tabela 4. Broj prikupljenih krpelja prema identifikovanoj vrsti u odnosu na razvojni stadijum

Vrsta	Stadijum	Broj jedinki	%	Ukupno
<i>I. ricinus</i>	Adult	1244	71,99	1728
	Nimfa	483	27,95	
	Larva	1	0,06	
<i>H. punctata</i>	Adult	142	100,00	142
<i>H. concinna</i>	Adult	8	16,00	50
	Nimfa	42	84,00	
<i>D. marginatus</i>	Adult	9	100,00	9
<i>R. sanguineus</i>	Adult	2	100,00	2
Ukupno		1931	100,00	1931

4.2. Rezultati utvrđivanja prisustva, učestalosti i rasprostranjenosti krpeljskog encefalitisa u populaciji ljudi na teritoriji Vojvodine

U periodu od 1. avgusta 2021. do 31. oktobra 2022. godine, na teritoriji Vojvodine nisu registrovani potvrđeni slučajevi krpeljskog encefalitisa. Planirana analiza hronološke, demografske i topografske distribucije ove bolesti, kao ni profesionalne izloženosti obolelih, nije mogla biti sprovedena.

Tokom perioda istraživanja, kod ukupno 86 hospitalizovanih pacijenata postavljena je sumnja na virusno zapaljenje CNS-a, čiji bi etiološki uzročnik mogao biti i virus KE. U ukupnom uzorku pacijenata sa sumnjom na KE, osobe muškog pola su skoro dvostruko zastupljenije u odnosu na osobe ženskog pola (M:Ž= 1,97:1).

Najmlađi pacijent imao je 20, a najstariji 90 godina. Više od polovine pacijenata (55,81%) je starijeg uzrasta (60 i više godina), s tim da najveće procentualno učešće od 25,58% zauzimaju pacijenti uzrasta 70-79 godina.

Slučajevi sumnje na KE registrovani su u svim okruzima Vojvodine, a najveći procenat (približno 70%) mestom prebivališta pripada Južnobačkom okrugu i Opštini Novi Sad (preko 40%). Najčešće postavljena klinička dijagnoza bolesti je encefalitis sa učešćem od približno 70%.

Laboratorijskim ispitivanjem prikupljenih uzoraka krvnih seruma i/ili likvora 86 pacijenata kod kojih je postavljena sumnja na KE, prisustvo specifičnih IgM antitela dokazano je ELISA testom u likvoru osam (9,30%) pacijenata, dok su tri uzorka imala graničan rezultat (3,49%). Svi testirani uzorci krvnih seruma bili su negativni na prisustvo IgM i IgG antitela protiv virusa KE (Tabela 5).

Daljim laboratorijskim ispitivanjem osam IgM pozitivnih i tri granična likvora virus neutralizacionim testom, specifična neutrališuća antitela na virus KE nisu dokazana ni u jednom uzorku.

Tabela 5. Karakteristike ispitanika i rezultati laboratorijskog ispitivanja na prisustvo specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa u uzorku pacijenata sa sumnjom na krpeljski encefalitis

Karakteristike	Ukupno		ELISA pozitivan rezultat		ELISA graničan rezultat	
	N=86	%	N=8	%	N=3	%
Pol						
Muški	57	66,28	5	8,77	1	1,75
Ženski	29	33,72	3	10,34	2	6,90
Uzrasne grupe						
0–19	0	0	0	0	0	0
20–29	5	5,81	1	20,00	0	0,00
30–39	12	13,95	2	16,67	0	0,00
40–49	13	15,12	2	15,38	1	7,69
50–59	8	9,30	1	12,50	0	0,00
60–69	17	19,77	0	0,00	0	0,00
70–79	22	25,58	2	9,09	2	9,09
≥ 80	9	10,47	0	0,00	0	0,00
Okrug						
Južnobački	61	70,93	6	9,84	1	1,64
Južnobanatski	1	1,16	0	0,00	0	0,00
Severnobački	4	4,65	1	25,00	0	0,00
Severnobanatski	7	8,14	0	0,00	1	14,29
Srednjebanatski	5	5,81	1	20,00	1	20,00
Sremski	4	4,65	0	0,00	0	0,00
Zapadnobački	4	4,65	0	0,00	0	0,00
Opština						
Ada	1	1,16	0	0,00	0	0,00
Apatin	1	1,16	0	0,00	0	0,00
Bač	1	1,16	0	0,00	0	0,00
Bačka Palanka	6	6,98	2	33,33	2	33,33
Bački Petrovac	5	5,81	0	0,00	0	0,00
Bečej	2	2,33	0	0,00	0	0,00
Beočin	3	3,49	1	33,33	1	33,33
Kikinda	2	2,33	0	0,00	0	0,00
Kovačica	1	1,16	0	0,00	0	0,00
Kula	1	1,16	0	0,00	0	0,00
Novi Kneževac	1	1,16	0	0,00	0	0,00
Novi Sad	37	43,02	2	5,41	2	5,41
Sečanj	1	1,16	0	0,00	0	0,00
Senta	3	3,49	0	0,00	0	0,00
Šid	2	2,33	0	0,00	0	0,00
Sombor	2	2,33	0	0,00	0	0,00

Nastavak Tabele 5

Karakteristike	Ukupno		ELISA pozitivan rezultat		ELISA graničan rezultat	
	N=86	%	N=8	%	N=3	%
Opština						
Sremska Mitrovica	2	2,33	0	0,00	0	0,00
Subotica	4	4,65	1	25,00	1	25,00
Temerin	3	3,49	1	33,33	1	33,33
Titel	2	2,33	0	0,00	0	0,00
Žabalj	2	2,33	0	0,00	0	0,00
Zrenjanin	4	4,65	1	25,00	1	25,00
Godina uzorkovanja						
2021	25	40,98	1	4,00	0	0,00
2022	61	59,02	7	11,48	3	4,92
Klinička dijagnoza						
Mijelitis	2	2,33	0	0,00	0	0,00
Meningitis	15	17,44	3	20,00	0	0,00
Encefalitis	60	69,77	4	6,67	2	3,33
Meningoencefalitis	9	10,49	1	11,11	1	11,11

4.3. Rezultati seroepidemiološkog ispitivanja prokuženosti stanovnika Vojvodine na virus krpeljskog encefalitisa

4.3.1. Rezultati seroepidemiološkog ispitivanja prokuženosti stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore na virus krpeljskog encefalitisa

Uzorak se sastoji od 1000 krvnih seruma stanovnika Vojvodine, koji mestom prebivališta ne pripadaju regiji Fruške gore. Prosečna starost ispitanika iznosi 42,36 (\pm 21,91) godina, sa rasponom uzrasta od 1 do 91 godine. Najveći procentualni udeo ispitanika od preko 15% pripada uzrasnoj grupi 50-59 godina. Polovi su zastupljeni u odnosu 1:1.

Od ukupno 1000 uzoraka krvnih seruma, testiranih ELISA testom na prisustvo specifičnih IgG antitela protiv virusa KE, 22 (2,20%) su bila seropozitivna, a 16 (1,60%) je imalo graničan rezultat testiranja. Od 38 seropozitivnih i graničnih uzoraka krvnih seruma, laboratorijskim ispitivanjem testom neutralizacije u dva uzorka je dokazano prisustvo specifičnih antitela na virus KE. Šest krvnih seruma je imalo graničnu vrednost titra dokazanu testom neutralizacije (Tabela 6).

Tabela 6. Karakteristike ispitanika i rezultati laboratorijskog ispitivanja na prisustvo specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore

Karakteristike ispitanika	Ukupno (N=1000; %)		ELISA seropozitivnost (N=22; %; 95% CI)			ELISA graničan rezultat (N=16; %; 95% CI)			NT seropozitivnost (N=2; %; 95% CI)			NT graničan rezultat (N=6; %; 95% CI)		
Pol														
Muški	500	50,00	12	2,40	1,24–4,19	11	2,20	1,10–3,94	1	0,20	0,01–1,11	3	0,60	0,01–1,75
Ženski	500	50,00	10	2,00	0,96–3,68	5	1,00	0,32–2,33	1	0,20	0,01–1,11	3	0,60	0,01–1,75
Uzrasne grupe														
0–4	41	4,10	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
5–9	43	4,30	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
10–14	47	4,70	1	2,13	0,05–11,85	2	4,26	0,51–15,37	0	0,00	–	1	2,13	0,05–11,85
15–19	58	5,80	2	3,45	0,42–12,46	1	1,72	0,04–9,61	0	0,00	–	1	1,72	0,04–9,61
20–29	126	12,60	3	2,38	0,49–6,96	1	0,79	0,02–4,42	0	0,00	–	1	0,79	0,02–4,42
30–39	123	12,30	1	0,81	0,02–4,53	1	0,81	0,02–4,53	0	0,00	–	0	0,00	–
40–49	142	14,20	2	1,41	0,17–5,09	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
50–59	165	16,50	3	1,82	0,37–5,31	2	1,21	0,15–4,38	0	0,00	–	1	0,61	0,01–3,38
60–69	126	12,60	5	3,97	1,29–9,26	2	1,59	0,19–5,73	0	0,00	–	0	0,00	–
70–79	95	9,50	2	2,11	0,25–7,61	6	6,32	2,31–13,75	1	1,05	0,03–5,86	1	1,05	0,02–5,86
≥ 80	34	3,40	3	8,82	1,82–25,79	1	2,94	0,07–16,39	1	2,94	0,07–16,39	1	2,94	0,07–16,39
Okrug														
Južnobački	309	30,90	5	1,62	0,52–3,78	6	1,94	0,71–4,23	2	0,65	0,07–2,33	0	0,00	–
Južnobanatski	159	15,90	4	2,52	0,68–6,44	1	0,63	0,01–3,50	0	0,00	–	1	0,63	0,02–3,50
Severnobački	101	10,10	4	3,96	1,08–10,14	0	0,00	–	0	0,00	–	3	2,97	0,61–8,68
Severnobanatski	81	8,10	3	3,70	0,76–10,82	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Srednjobanatski	101	10,10	2	1,98	0,24–7,15	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Sremski	146	14,60	2	1,37	0,17–4,95	4	2,74	0,75–7,01	0	0,00	–	1	0,68	0,01–3,81
Zapadnobački	103	10,30	2	1,94	0,23–7,01	5	4,85	1,57–11,33	0	0,00	–	1	0,97	0,02–5,41

Ako se izuzmu granični rezultati testiranja, ukupna seroprevalencija specifičnih antitela na virus KE u uzorku stanovnika Vojvodine van regije Fruške gore iznosi 0,20% (95% CI: 0,02–0,72).

Među ispitanicima iz Vojvodine van teritorije Fruške gore, prisustvo specifičnih antitela na virus KE detektovano je samo u jednom od sedam okruga (Južnobačkom), a registrovana seroprevalencija u tom okrugu iznosi 0,65%.

Seroprevalencije prema polu, nalaze se u odnosu M:Ž=1:1 (0,20% : 0,20%). Specifična neutrališuća antitela su otkrivena samo kod ispitanika, koji pripadaju uzrasnim grupama 70-79 i ≥ 80 godina, te se u ovim uzrasnim grupama registruje seroprevalencija od 1,05% i 2,94%, redom (Tabela 7).

Tabela 7. Seroprevalencija specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa prema polu, uzrastu i okrugu stanovanja u grupi stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore

Karakteristike ispitanika	Ukupno (N=1000)	NT seropozitivnost (N=2)	Seroprevalencija (%)	95% CI	p
Pol					
Muški	500	1	0,20	0,01–1,11	NA
Ženski	500	1	0,20	0,0–1,11	
Uzrasne grupe					
0-4	41	0	0,00	–	NA
5-9	43	0	0,00	–	
10-14	47	0	0,00	–	
15-19	58	0	0,00	–	
20-29	126	0	0,00	–	
30-39	123	0	0,00	–	
40-49	142	0	0,00	–	
50-59	165	0	0,00	–	
60-69	126	0	0,00	–	
70-79	95	1	1,05	0,03–5,86	
≥ 80	34	1	2,94	0,07–16,39	
Okrug					
Južnobački	309	2	0,65	0,07–2,33	NA
Južnobanatski	159	0	0,00	–	
Severnobački	101	0	0,00	–	
Severnobanatski	81	0	0,00	–	
Srednjebanatski	101	0	0,00	–	
Sremski	146	0	0,00	–	
Zapadnobački	103	0	0,00	–	
Ukupno	1000	2	0,20	0,02–0,72	

Prosečna starost seropozitivnih ispitanika iznosi 80 ($\pm 2,83$) godina (95% CI: 54,59–105,41), medijana 80 godina (IQR: 78– 82).

U odnosu na pol i uzrast ispitanika, seropozitivnost na virus KE registruje se u uzrasnoj grupi od 70 do 79 godina kod ispitanika muškog pola (2,04%), a u uzrastu 80 i više godina kod ispitanica ženskog pola (5,55%) (Tabela 8).

Tabela 8. Seroprevalencija specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore u odnosu na pol i uzrast

Uzrast	Muški pol						Ženski pol						Ukupno					
	N	\bar{x}	SD	95% CI	Medijana	IQR (25-75)	N	\bar{x}	SD	95% CI	Medijana	IQR (25-75)	N	\bar{x}	SD	95% CI	Medijana	IQR (25-75)
	N	Seropozitivni (N)	Seroprevalencija (%)	95% CI	P	N	Seropozitivni (N)	Seroprevalencija (%)	95% CI	P	N	Seropozitivni (N)	Seroprevalencija (%)	95% CI	P			
0–4	20	0	0,00	–	NA	21	0	0,00	–	NA	41	0	0,00	–	NA			
5–9	22	0	0,00	–		21	0	0,00	–		43	0	0,00	–				
10–14	24	0	0,00	–		23	0	0,00	–		47	0	0,00	–				
15–19	30	0	0,00	–		28	0	0,00	–		58	0	0,00	–				
20–29	62	0	0,00	–		64	0	0,00	–		126	0	0,00	–				
30–39	62	0	0,00	–		61	0	0,00	–		123	0	0,00	–				
40–49	69	0	0,00	–		73	0	0,00	–		142	0	0,00	–				
50–59	84	0	0,00	–		81	0	0,00	–		165	0	0,00	–				
60–69	62	0	0,00	–		64	0	0,00	–		126	0	0,00	–				
70–79	49	1	2,04	0,05 – 11,37		46	0	0,00	–		95	1	1,05	0,03 – 5,86				
80+	16	0	0,00	–		18	1	5,55	0,14 – 30,95		34	1	2,94	0,07 – 16,39				
Ukupno	500	1	0,20	0,01 – 1,11	500	1	0,20	0,01 – 1,11	1000	2	0,20	0,02 - 0,72						

Primenom univarijantne logističke regresione analize, sprovedene korišćenjem varijabli pol i uzrast (izražen u godinama), ni jedna od varijabli se nije izdvojila kao statistički značajan prediktivni faktor pozitivnog rezultata na virus KE kada se primenjuje neutralizacioni test u grupi stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore. Na osnovu rezultata multivarijantne analize, u kojoj su za prilagođavanje korišćeni muški pol i uzrast ispitanika, takođe nisu ustanovljeni prediktori seropozitivnosti na antitela protiv virusa KE kada se primenjuje neutralizacioni test u ovoj grupi ispitanika (Tabela 9).

Tabela 9. Prediktori seropozitivnosti na virus krpeljskog encefalitisa kod stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore

		Univarijantna analiza					Multivarijantna analiza			
		N	p	OR	95% CI		p	OR	95% CI	
Pol	Muški	500	1,000	1,00 ^a	–	–	0,995	1,00 ^a	–	–
	Ženski	500		1,000	0,062	16,032		1,008	0,060	17,035
Uzrast		1000	0,055	1,217	0,996	1,488	0,056	1,217	0,995	1,489

^a Referentna vrednost; OR– Odds Ratio (unakrsni odnos); CI– Confidence Interval (interval poverenja); p – verovatnoća

4.3.2. Rezultati seroepidemiološkog ispitivanja prokuženosti stanovnika Fruške gore na virus krpeljskog encefalitisa

U uzorak je uključeno 1000 ispitanika, koji mestom prebivališta pripadaju fruškogorskoj regiji. Učešće ispitanika muškog i ženskog pola je podjednako (M: Ž=1:1). Najmlađi ispitanik prikupljenog uzorka ima četiri meseca, a najstariji 90 godina. Prosečan uzrast ispitanika iznosi 42,72 ($\pm 21,91$) godine. Najveći procenat ispitanika (16,70%) pripada uzrasnoj grupi 50-59 godina, a najmanje procentualno učešće od 3,20% zauzima uzrasna kategorija ≥ 80 godina.

Najveći procenat (22,70%) ispitanika pripada Opštini Novi Sad, odnosno naseljima ove opštine, koja se nalaze u fruškogorskoj regiji (Bukovac, Ledinci, Stari Ledinci i Sremska Kamenica).

Ukupno 411 (41,10%) ispitanika je dalo anamnestički podatak o prethodnom ubodu krpelja, a status prethodne infestiranosti krpeljima ostao je nepoznat kod 12 (1,20%) osoba.

Na osnovu zanimanja i delatnosti koju obavljaju, ispitanici su podeljeni u 18 kategorija. Najveće procentualno učešće od 25,50% zauzima kategorija ostalih zanimanja, kojoj pripadaju ispitanici koji su tokom anketiranja dali neodređen podatak o zanimanju ("radnik"), pa nisu mogli biti adekvatno klasifikovani prema delatnosti. Ako se izuzme ova grupa ispitanika, najbrojniji su penzioneri sa udelom od 22,70%. Četiri osobe su pored osnovnog zanimanja navele da se u slobodno vreme bave i lovom.

Serološkim ispitivanjem 1000 krvnih seruma stanovnika Fruške gore ELISA testom, seropozitivnost na specifična IgG antitela utvrđena je kod 27 uzoraka (2,70%), dok je 13 (1,30%) imalo graničan rezultat.

Nakon daljeg laboratorijskog ispitivanja neutralizacionim testom, od 40 uzoraka krvnih seruma, koji su imali pozitivan ili graničan rezultat, specifična antitela na virus KE potvrđena su u četiri uzorka. Pet uzoraka je imalo graničan rezultat sa recipročnom vrednošću titra neutrališućih antitela od 1/10 (Tabela 10).

Tabela 10. Karakteristike ispitanika i rezultati laboratorijskog ispitivanja na prisustvo specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa stanovnika Fruške gore

Karakteristike ispitanika	Ukupno (N=1000; %)		ELISA seropozitivnost (N=27; %; 95% CI)			ELISA graničan rezultat (N=13; %; 95% CI)			NT seropozitivnost (N=4; %; 95% CI)			NT graničan rezultat (N=5; %; 95% CI)		
	N	%	N	%	95% CI	N	%	95% CI	N	%	95% CI	N	%	95% CI
Pol														
Muški	500	50,00	11	2,20	1,09–3,93	8	1,60	0,69–3,15	4	0,80	0,20–2,05	2	0,40	0,05–1,44
Ženski	500	50,00	16	3,20	1,83–5,19	5	1,00	0,32–2,33	0	0,00	–	3	0,60	0,12–1,75
Uzrasne grupe														
0–4	41	4,10	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
5–9	44	4,40	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
10–14	47	4,70	0	0,00	–	1	2,13	0,05–11,85	0	0,00	–	0	0,00	–
15–19	57	5,70	1	1,75	0,04–9,77	1	1,75	0,04–9,77	0	0,00	–	0	0,00	–
20–29	126	12,60	1	0,79	0,02–4,42	2	1,59	0,19–5,73	1	0,79	0,02–4,42	0	0,00	–
30–39	123	12,30	6	4,88	1,79–10,62	0	0,00	–	1	0,81	0,02–4,52	2	1,63	0,20–5,87
40–49	143	14,30	2	1,40	0,17–5,05	3	2,10	0,43–6,13	1	0,70	0,02–3,92	0	0,00	–
50–59	167	16,70	7	4,19	1,68–8,64	2	1,20	0,14–4,33	0	0,00	–	0	0,00	–
60–69	123	12,30	6	4,88	1,79–10,62	2	1,63	0,19–5,87	0	0,00	–	2	1,63	0,20–5,87
70–79	97	9,70	4	4,12	1,12–10,56	1	1,03	0,02–5,74	0	0,00	–	1	1,03	0,03–5,74
≥ 80	32	3,20	0	0,00	–	1	3,13	0,08–17,41	1	3,13	0,07–16,39	0	0,00	–
Prethodni ubod krpelja														
Da	411	41,10	13	3,16	1,68–5,41	5	1,22	0,39–2,84	2	0,49	0,05–1,76	3	0,73	0,15–2,13
Ne	577	57,70	13	2,25	1,20–3,85	8	1,39	0,59–2,73	2	0,35	0,04–1,22	1	0,17	0,01–0,96
Nepoznato	12	1,20	1	8,33	0,21–46,43	0	0,00	–	0	0,00	–	1	8,33	0,21–46,43

Nastavak Tabele 10

Karakteristike ispitanika	Ukupno (N=1000; %)		ELISA seropozitivnost (N=27; %; 95% CI)			ELISA graničan rezultat (N=13; %; 95% CI)			NT seropozitivnost (N=4; %; 95% CI)			NT graničan rezultat (N=5; %; 95% CI)		
Zanimanje (Delatnost)														
Šumarska	2	0,20	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Umetnost	3	0,30	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Građevinska	4	0,40	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Pravna	5	0,50	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Administrativna	10	1,00	0	0,00	–	2	20,00	2,42–72,25	0	0,00	–	0	0,00	–
Obrazovna	14	1,40	1	7,14	0,18–39,79	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Tehnička	15	1,50	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Industrijska	16	1,60	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Zdravstvena	20	2,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Poljoprivredna	21	2,10	2	9,52	1,15–34,40	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Finansijska	22	2,20	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Student	27	2,70	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Dete	50	5,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Nezaposlen	69	6,90	4	5,80	1,58–14,84	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Uslužna	113	11,30	5	4,42	1,44–10,33	2	1,77	0,21–6,39	1	0,88	0,02–4,93	1	0,88	0,02–4,93
Učenik	127	12,70	1	0,79	0,02–4,39	1	0,79	0,02–4,39	0	0,00	–	0	0,00	–
Penzioner	227	22,70	10	4,41	2,11–8,10	4	1,76	0,39–3,69	1	0,44	0,01–2,45	2	0,88	0,11–3,18
Ostali	255	25,50	4	1,57	0,43–4,02	4	1,57	0,43–4,02	2	0,78	0,09–2,83	2	0,78	0,09–2,83
Opština														
Bačka Palanka	12	1,20	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Beočin	187	18,70	6	3,21	1,18–6,98	5	2,67	0,87–6,24	1	0,53	0,01–2,98	2	1,07	0,13–3,86
Indija	196	19,60	4	2,04	0,56–5,22	3	1,53	0,32–4,47	2	1,02	0,12–3,69	0	0,00	–
Irig	124	12,40	2	1,61	0,19–5,83	0	0,00	–	1	0,81	0,02–4,49	0	0,00	–
Novi Sad	227	22,70	8	3,52	1,52–6,94	3	1,32	0,27–3,86	0	0,00	–	2	0,88	0,11–3,18
Sremska Mitrovica	76	7,60	0	0,00	–	1	1,32	0,03–7,33	0	0,00	–	0	0,00	–
Sremski Karlovci	104	10,40	5	4,81	1,56–11,22	1	0,96	0,02–5,36	0	0,00	–	1	0,96	0,02–5,36

Nastavak Tabele 10

Karakteristike ispitanika	Ukupno (N=1000; %)		ELISA seropozitivnost (N=27; %; 95% CI)			ELISA graničan rezultat (N=13; %; 95% CI)			NT seropozitivnost (N=4; %; 95% CI)			NT graničan rezultat (N=5; %; 95% CI)		
Naseljeno mesto														
Šid	74	7,40	2	2,70	0,33–9,76	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Banoštor	9	22,22	2	22,22	2,69–80,27	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Beočin	93	2,15	2	2,15	0,26–7,77	3	3,23	0,66–9,43	1	1,08	0,02–5,99	2	2,15	0,26–7,77
Berkasovo	13	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Bešenovački Prnjavor	1	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Bešenovo	10	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Beška	69	0,00	0	0,00	–	1	1,45	0,04–8,07	1	1,45	0,03–8,07	0	0,00	–
Bikić Do	3	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Bingula	9	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Bukovac	47	2,13	1	2,13	0,05–11,85	2	4,26	0,51–15,37	0	0,00	–	0	0,00	–
Čerević	33	3,03	1	3,03	0,08–16,88	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Čortanovci	28	0,00	0	0,00	–	1	3,57	0,09–19,90	1	3,57	0,09–19,90	0	0,00	–
Divoš	16	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Erdevik	32	6,25	2	6,25	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Grabovo	1	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Grgeteg	1	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Grgurevci	13	0,00	0	0,00	–	1	7,69	0,19–42,86	0	0,00	–	0	0,00	–
Irig	52	3,85	2	3,85	0,76–22,58	0	0,00	–	1	1,92	0,04–10,71	0	0,00	–
Jazak	11	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Krčedin	29	3,45	1	3,45	0,09–19,21	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Krušedol Selo	4	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Krušedolski Prnjavor	3	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Ledinci	23	13,04	3	13,04	2,69–38,12	0	0,00	–	0	0,00	–	1	4,35	0,11–24,22
Ležimir	8	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Ljuba	5	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Lug	8	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–

Nastavak Tabele 10

Karakteristike ispitanika	Ukupno (N=1000; %)		ELISA seropozitivnost (N=27; %; 95% CI)			ELISA graničan rezultat (N=13; %; 95% CI)			NT seropozitivnost (N=4; %; 95% CI)			NT graničan rezultat (N=5; %; 95% CI)		
	N	%	N	%	95% CI	N	%	95% CI	N	%	95% CI	N	%	95% CI
Mala Remeta	2	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Mandelos	16	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Maradić	25	4,00	1	4,00	0,10–22,29	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Molovin	2	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Neradin	6	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Neštin	9	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Novi Slankamen	36	5,56	2	5,56	0,67–20,07	1	2,78	0,07–15,48	0	0,00	–	0	0,00	–
Privina Glava	2	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Rakovac	27	3,70	1	3,70	0,09–20,64	2	7,41	0,90–26,76	0	0,00	–	0	0,00	–
Rivica	7	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Šišatovac	3	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Slankamenački Vinogradi	3	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Sot	8	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Sremska Kamenica	146	2,74	4	2,74	0,75–7,01	1	0,68	0,02–3,82	0	0,00	–	1	0,68	0,02–3,82
Sremski Karlovci	104	4,81	5	4,81	1,56–11,22	1	0,96	0,02–5,36	0	0,00	–	1	0,96	0,02–5,36
Stara Bingula	2	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Stari Ledinci	11	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Stari Slankamen	6	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Šuljam	7	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Susek	12	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Sviloš	4	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Velika Remeta	1	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Vizić	3	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–
Vrdnik	37	0,00	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–	0	0,00	–

Registrovana seroprevalencija specifičnih antitela na virus KE među stanovnicima regije Fruške gore, izuzimajući granične rezultate, iznosi 0,40% (95% CI: 0,00–1,02).

Sva četiri ispitanika pozitivna na prisustvo specifičnih neutrališućih antitela na virus KE su muškog pola, prosečnog uzrasta 46,75 (\pm 23,63) godina. Seroprevalencija prema polu iznosi 0,80%. Seroprevalencija prema uzrastu kreće se u rasponu 0,70% u uzrasnoj grupi 40-49 godina do 3,13% u uzrastu \geq 80 godina.

Seropozitivni ispitanici registrovani su u naseljenim mestima: Beočin, Beška, Čortanovci i Irig, a seroprevalencija se kretala u rasponu od 1,08% u Beočinu do 3,57% u Čortanovcima (Mapa 5). Nema statistički značajne razlike u seroprevalencijama koje su registrovane u naseljenim mestima fruškogorske regije (Čortanovci- Beočin: $p=0,368$; Čortanovci- Beška: $p=0,509$; Čortanovci- Irig: $p=0,656$).

U odnosu na opštinski nivo, ispitanici seropozitivni na virus KE otkriveni su u tri od osam opština Vojvodine, kojima pripadaju naseljena mesta fruškogorske regije, pri čemu se najviša seroprevalencija od 1,02% registruje u delu Opštine Inđija koja pripada fruškogorskoj oblasti. Razlike u registrovanim seroprevalencijama između opština nisu statistički značajne.

Seroprevalencija neutrališućih antitela na virus KE je 1,40 puta viša među ispitanicima koji su dali podatak o prethodnom ubodu krpelja, u odnosu na one koji tvrde da tokom života nisu bili infestirani krpeljima, ali razlika u seropozitivnosti između ove dve grupe ispitanika nije statistički značajna.

U odnosu na zanimanje, prisustvo specifičnih antitela na virus KE utvrđeno je među penzionerima i ispitanicima koji obavljaju uslužnu i ostale delatnosti. Razlike u seropozitivnosti između ispitanika različitih profesija nisu statistički značajne (Tabela 11).

Tabela 11. Seroprevalencija na virus KE prema polu, uzrastu, mestu i opštini stanovanja i zanimanju u grupi stanovnika Fruške gore

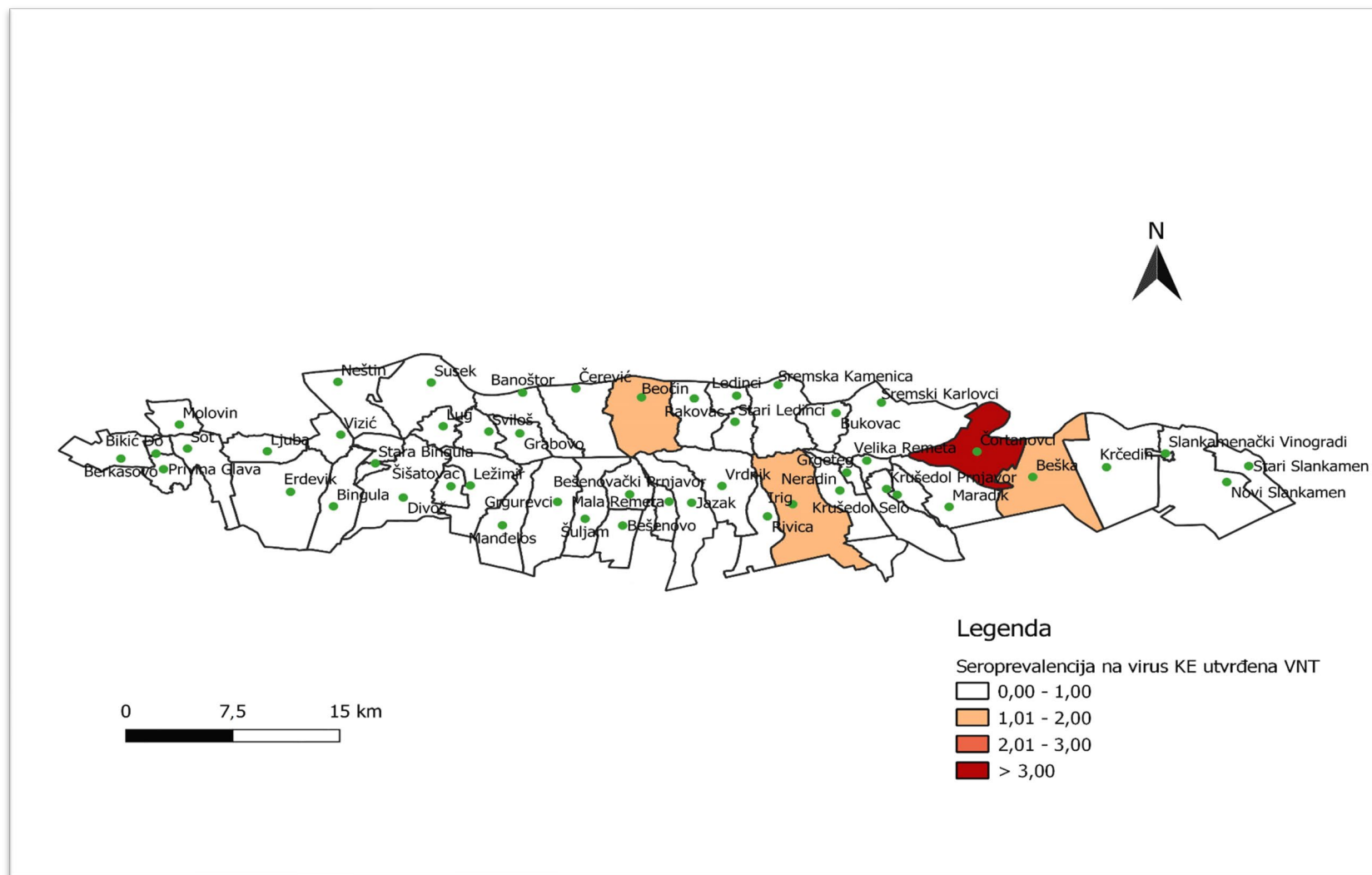
Karakteristike ispitanika	Ukupno (N=1000)	NT seropozitivnost (n=4)	Seroprevalencija (%)	95% CI	p
Pol					
Muški	500	4	0,80	0,20–2,05	NA
Ženski	500	0	0,00	–	
Uzrasne grupe					
0-4	41	0	0,00	–	NA
5-9	44	0	0,00	–	
10-14	47	0	0,00	–	
15-19	57	0	0,00	–	
20-29	126	1	0,79	0,02–4,42	
30-39	123	1	0,81	0,02–4,52	
40-49	143	1	0,70	0,02–3,92	
50-59	167	0	0,00	–	
60-69	123	0	0,00	–	
70-79	97	0	0,00	–	
≥ 80	32	1	3,13	0,07–16,39	
Prethodni ubod krpelja					
Da	411	2	0,49	0,05–1,76	0,717
Ne	577	2	0,35	0,04–1,22	
Nepoznato	12	0	0,00	–	–
Zanimanje					
Šumarska	2	0	0,00	–	NA
Umetnost	3	0	0,00	–	
Građevinska	4	0	0,00	–	
Pravna	5	0	0,00	–	
Administrativna	10	0	0,00	–	
Obrazovna	14	0	0,00	–	
Tehnička	15	0	0,00	–	
Industrijska	16	0	0,00	–	
Zdravstvena	20	0	0,00	–	
Poljoprivredna	21	0	0,00	–	
Finansijska	22	0	0,00	–	
Student	27	0	0,00	–	
Dete	50	0	0,00	–	
Nezaposlen	69	0	0,00	–	
Učenik	127	0	0,00	–	
Uslužna	113	1	0,88	0,02–4,93	0,858
Penzioner	227	1	0,44	0,01–2,45	
Ostali	255	2	0,78	0,09–2,83	

Nastavak Tabele 11

Karakteristike ispitanika	Ukupno (N=1000)	NT seropozitivnost (n=4)	Seroprevalencija (%)	95% CI	p
Opštine					
Bačka Palanka	12	0	0,00	–	–
Beočin	187	1	0,53	0,01–2,98	0,591
Indija	196	2	1,02	0,12–3,69	
Irig	124	1	0,81	0,02–4,49	0,847
Novi Sad	227	0	0,00	–	NA
Sremska Mitrovica	76	0	0,00	–	
Sremski Karlovci	104	0	0,00	–	
Šid	74	0	0,00	–	
Naseljeno mesto					
Banoštor	9	0	0,00	–	NA
Beočin	93	1	1,08	0,02–5,99	
Berkasovo	13	0	0,00	–	
Bešenovački Prnjavor	1	0	0,00	–	
Bešenovo	10	0	0,00	–	
Beška	69	1	1,45	0,03–8,07	
Bikić Do	3	0	0,00	–	
Bingula	9	0	0,00	–	
Bukovac	47	0	0,00	–	
Čerević	33	0	0,00	–	
Čortanovci	28	1	3,57	0,09–19,90	
Divoš	16	0	0,00	–	
Erdevik	32	0	0,00	–	
Grabovo	1	0	0,00	–	
Grgeteg	1	0	0,00	–	
Grgurevci	13	0	0,00	–	
Irig	52	1	1,92	0,04–10,71	
Jazak	11	0	0,00	–	
Krčedin	29	0	0,00	–	
Krušedol Selo	4	0	0,00	–	
Krušedolski Prnjavor	3	0	0,00	–	
Ledinci	23	0	0,00	–	
Ležimir	8	0	0,00	–	
Ljuba	5	0	0,00	–	
Lug	8	0	0,00	–	
Mala Remeta	2	0	0,00	–	
Mandelos	16	0	0,00	–	
Maradik	25	0	0,00	–	
Molovin	2	0	0,00	–	

Nastavak Tabele 11

Karakteristike ispitanika	Ukupno (N=1000)	NT seropozitivnost (n=4)	Seroprevalencija (%)	95% CI	
Naseljeno mesto					NA
Neradin	6	0	0,00	–	
Neštin	9	0	0,00	–	
Novi Slankamen	36	0	0,00	–	
Privina Glava	2	0	0,00	–	
Rakovac	27	0	0,00	–	
Rivica	7	0	0,00	–	
Šišatovac	3	0	0,00	–	
Slankamenački Vinogradi	3	0	0,00	–	
Sot	8	0	0,00	–	
Sremska Kamenica	146	0	0,00	–	
Sremski Karlovci	104	0	0,00	–	
Stara Bingula	2	0	0,00	–	
Stari Ledinci	11	0	0,00	–	
Stari Slankamen	6	0	0,00	–	
Šuljam	7	0	0,00	–	
Susek	12	0	0,00	–	
Sviloš	4	0	0,00	–	
Velika Remeta	1	0	0,00	–	
Vizić	3	0	0,00	–	
Vrdnik	37	0	0,00	–	
Ukupno	1000	4	0,40	0,01–1,02	



Mapa 5. Seroprevalencija specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa po naseljenim mestima Fruške gore

Najmlađi seropozitivan ispitanik ima 26, a najstariji 80 godina, sa prosekom starosti od 46,75 (\pm 23,63) godina. Kada se dalje analizira seropozitivnost po dobnim grupama, a u odnosu na pol ispitanika, najviša seroprevalencija od 6,25% registruje se starosnoj grupi 80 i više godina u uzorku muškaraca (Tabela 12).

Tabela 12. Seroprevalencija specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa stanovnika Fruške gore u odnosu na pol i uzrast

Uzrast	Muški pol						Ženski pol						Ukupno					
	N	\bar{x}	SD	95% CI	Medijana	IQR (25-75)	N	\bar{x}	SD	95% CI	Medijana	IQR (25-75)	N	\bar{x}	SD	95% CI	Medijana	IQR (25-75)
	500	42,77	22,05	40,83-44,70	44	24,50-60,00	500	42,67	21,79	40,76-44,59	45	24,50-60,00	1000	42,72	21,91	41,36-44,08	44	24,50-60,00
	4	46,75	23,63	9,15-84,35	40,50	30,50-63,00	4	-	-	-	-	-		46,75	23,63	9,15-84,35	40,50	30,50-63,00
	N	Seropozitivni (N)	Seroprevalencija (%)	95% CI	P	N	Seropozitivni (N)	Seroprevalencija (%)	95% CI	P	N	Seropozitivni (N)	Seroprevalencija (%)	95% CI	P			
0-4	21	0	0,00	-	NA	20	0	0,00	-	NA	41	0	0,00	-	NA			
5-9	22	0	0,00	-		22	0	0,00	-		44	0	0,00	-				
10-14	23	0	0,00	-		24	0	0,00	-		47	0	0,00	-				
15-19	28	0	0,00	-		29	0	0,00	-		57	0	0,00	-				
20-29	63	1	1,59	0,04-8,99		63	0	0,00	-		126	1	0,79	0,02-4,42				
30-39	62	1	1,61	0,04-8,99		61	0	0,00	-		123	1	0,81	0,02-4,53				
40-49	72	1	1,39	0,03-8,07		71	0	0,00	-		143	1	0,70	0,02-3,92				
50-59	83	0	0,00	-		84	0	0,00	-		167	0	0,00	-				
60-69	62	0	0,00	-		61	0	0,00	-		123	0	0,00	-				
70-79	48	0	0,00	-		49	0	0,00	-		97	0	0,00	-				
\geq 80	16	1	6,25	0,16-34,82	16	0	0,00	-	32	1	3,13	0,07-16,39						
Ukupno	500	4	0,80	0,20-2,05	500	0	0,00	-	1000	4	0,40	0,01-1,02						

Primenom modela logističke regresije nisu ustanovljeni statistički značajni prediktivni faktori seropozitivnosti na virus KE kada je primenjen neutralizacioni test u grupi stanovnika Fruške gore ni u univarijantnoj analizi, sprovedenoj korišćenjem varijabli pol i uzrast, ni u multivarijantnoj analizi prilagođenoj u odnosu na muški pol i starost ispitanika (Tabela 13).

Tabela 13. Prediktori seropozitivnosti na virus krpeljskog encefalitisa kod stanovnika Fruške gore

		Univarijantna analiza				Multivarijantna analiza				
		N	p	OR	95% CI		p	OR	95% CI	
Pol	Muški	500	0,993	1,00 ^a	–	–	0,993	1,00 ^a	–	–
	Ženski	500		0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000
Uzrast		1000	0,713	1,009	0,964	1,056	0,715	1,009	0,964	1,055

^a Referentna vrednost; *OR*–Odds Ratio (unakrsni odnos); *CI*–Confidence Interval (interval poverenja); p-verovatnoća

4.3.3. Poređenje seroprevalencija neutrališućih antitela na virus krpeljskog encefalitisa između stanovnika Fruške gore i stanovnika Vojvodine van ove regije

Vrednost seroprevalencije među stanovništvom Fruške gore dvostruko je viša je od vrednosti seroprevalencije registrovane u grupi stanovnika Vojvodine van ove regije, ali primenom Fišerovog egzaktnog testa nije utvrđena statistički značajna razlika u seroprevalencijama između ove dve grupe ispitanika ($p=0,687$) (Tabela 14).

Tabela 14. Razlike u seroprevalencijama na virus krpeljskog encefalitisa između grupe stanovnika Fruške gore i stanovnika Vojvodine van fruškogorske regije

TBE VNT	Ispitanici						p=0,687
	Studijska grupa		Kontrolna grupa		Ukupno		
	N	%	N	%	N	%	
Negativan	996	99,60	998	99,80	1994	99,70	
Pozitivan	4	0,40	2	0,20	6	0,30	
Ukupno	1000	100,00	1000	100,00	2000	100,00	

4.4. Analiza učestalosti uboda krpelja među stanovništvom Fruške gore

Ubod krpelja je češće, preko 50%, prijavljen među ispitanicima muškog pola, u odnosu na osobe ženskog pola, kao i među radno aktivnim ispitanicima (skoro 60%) u odnosu na osobe uzrasta ≤ 18 godina (manje od 10%) i ≥ 60 godina (oko 30%).

Tabela 15. Karakteristike ispitanika studijske grupe u odnosu na anamnestički podatak o prethodnom ubodu krpelja

	Prethodni ubod krpelja						χ^2	p	NT seropozitivni (N)	Pirsonova korelacija	
	Ne/ Nepoznato		Da		Ukupno					r	p
	N	%	N	%	N	%					
Pol											
Muški	282	56,40	218	43,60	500	100,00	2,582	0,108	4	NA	
Ženski	307	61,40	193	38,60	500	100,00			0		
Ukupno	589	58,90	411	41,10	1000	100,00			4		
Uzrasna grupa											
≤ 18	125	75,30	41	24,70	166	100,00	26,211	0,000	0	0,996	0,056
19-59	337	57,90	245	42,10	582	100,00			3		
≥ 60	127	50,40	125	49,60	252	100,00			1		
Ukupno	589	58,90	411	41,10	1000	100,00			4		
Opština											
Bačka Palanka	9	75,00	3	25,00	12	100,00	38,162	0,000	0	0,601	0,115
Beočin	106	56,68	81	43,32	187	100,00			1		
Indija	125	63,78	71	36,22	196	100,00			2		
Irig	59	47,58	65	52,42	124	100,00			1		
Novi Sad	155	68,28	72	31,72	227	100,00			0		
Šid	36	48,65	38	51,35	74	100,00			0		
Sremska Mitrovica	29	38,16	47	61,84	76	100,00			0		
Sremski Karlovci	70	67,31	34	32,69	104	100,00			0		
Ukupno	589	58,90	411	41,10	1000	100,00			4		

Primenom hi-kvadrat testa utvrđena je visoko statistički značajna razlika ($p=0,000 < 0,01$) u učestalosti prethodnog uboda krpelja u odnosu na uzrast pacijenta i opštinu stanovanja. Ubod krpelja je značajno češće prijavljivan među ispitanicima iz opština Sremska Mitrovica, Šid i Irig, nego u drugim opštinama, kao i među odraslim osobama u odnosu na osobe uzrasta ≤ 18 godina. Nije utvrđena statistički značajna razlika među polovima u odnosu na podatak o prethodnom ubodu krpelja. Tokom ispitivanja korelacije između broja uboda i broja seropozitivnih ispitanika, nije utvrđena statistički značajna povezanost između ove dve varijable po dobnim grupama i opštini stanovanja (Tabela 15).

Među osobama, koje su tokom života bile infestirane krpeljima, najveće procentualno učešće zauzimaju stanovnici Sremske Kamenice, Sremskih Karlovaca i Beočina (9,73%; 8,27% i 7,54%, redom).

Tabela 16. Prethodna infestacija ispitanika krpeljima u odnosu na naseljeno mesto Fruške gore

Naseljeno mesto	Prethodni ubod krpelja						p	NT seropozitivni (N)	Pirsonova korelacija	
	Ne/ Nepoznato		Da		Ukupno				r	p
	N	%	N	%	N	%				
Banoštor	2	22,22	7	77,78	9	100,00	0,095	0	0,417	0,003
Beočin	62	66,67	31	33,33	93	100,00	0,001	1		
Berkasovo	8	61,54	5	38,46	13	100,00	0,405	0		
Bešenovački Prnjavor	0	0,00	1	100,00	1	100,00	-	0		
Bešenovo	6	60,00	4	40,00	10	100,00	0,527	0		
Beška	43	62,32	26	37,68	69	100,00	0,040	1		
Bikić Do	1	33,33	2	66,67	3	100,00	0,564	0		
Bingula	4	44,44	5	55,56	9	100,00	0,739	0		
Bukovac	31	65,96	16	34,04	47	100,00	0,029	0		
Čerević	17	51,52	16	48,48	33	100,00	0,862	0		
Čortanovci	17	60,71	11	39,29	28	100,00	0,257	1		
Divoš	5	31,25	11	68,75	16	100,00	0,134	0		
Erdevik	17	53,13	15	46,88	32	100,00	0,724	0		
Grabovo	1	100,00	0	0,00	1	100,00	-	0		
Grgeteg	1	100,00	0	0,00	1	100,00	-	0		
Grgurevci	5	38,46	8	61,54	13	100,00	0,405	0		
Irig	35	67,31	17	32,69	52	100,00	0,012	1		
Jazak	4	36,36	7	63,64	11	100,00	0,368	0		
Krčedin	19	65,52	10	34,48	29	100,00	0,094	0		
Krušedol Selo	1	25,00	3	75,00	4	100,00	0,317	0		
Krušedolski Prnjavor	2	66,67	1	33,33	3	100,00	0,564	0		
Ledinci	12	52,17	11	47,83	23	100,00	0,835	0		
Ležimir	0	0,00	8	100,00	8	100,00	-	0		
Ljuba	2	40,00	3	60,00	5	100,00	0,655	0		
Lug	3	37,50	5	62,50	8	100,00	0,479	0		

Nastavak Tabele 16

Naseljeno mesto	Prethodni ubod krpelja						p	NT seropozitivni (N)	Pirsonova korelacija	
	Ne/ Nepoznato		Da		Ukupno				r	p
	N	%	N	%	N	%				
Mala Remeta	0	0,00	2	100,00	2	100,00	-	0	0,417	0,003
Mandelos	5	31,25	11	68,75	16	100,00	0,134	0		
Maradik	15	60,00	10	40,00	25	100,00	0,317	0		
Molovin	1	50,00	1	50,00	2	100,00	1,000	0		
Neradin	1	16,67	5	83,33	6	100,00	0,102	0		
Neštin	7	77,78	2	22,22	9	100,00	0,095	0		
Novi Slankamen	27	75,00	9	25,00	36	100,00	0,003	0		
Privina Glava	1	50,00	1	50,00	2	100,00	1,000	0		
Rakovac	12	44,44	15	55,56	27	100,00	0,033	0		
Rivica	3	42,86	4	57,14	7	100,00	0,705	0		
Šišatovac	1	33,33	2	66,67	3	100,00	0,564	0		
Slankamenački Vinogradi	1	33,33	2	66,67	3	100,00	0,564	0		
Sot	2	25,00	6	75,00	8	100,00	0,157	0		
Sremska Kamenica	106	72,60	40	27,40	146	100,00	<0,001	0		
Sremski Karlovci	70	67,31	34	32,69	104	100,00	0,004	0		
Stara Bingula	1	50,00	1	50,00	2	100,00	1,000	0		
Stari Ledinci	6	54,55	5	45,45	11	100,00	0,763	0		
Stari Slankamen	3	50,00	3	50,00	6	100,00	1,000	0		
Šuljam	6	85,71	1	14,29	7	100,00	0,059	0		
Susek	7	58,33	5	41,67	12	100,00	0,564	0		
Sviloš	2	50,00	2	50,00	4	100,00	1,000	0		
Velika Remeta	1	100,00	0	0,00	1	100,00	-	0		
Vizić	2	66,67	1	33,33	3	100,00	0,564	0		
Vrdnik	11	29,73	26	70,27	37	100,00	0,014	0		
Ukupno	589	58,90	411	41,10	1000	100,00	<0,001	4		

U 20 od 49 naseljenih mesta, više od polovine ispitanika dalo je podatak o prethodnom ubodu krpelja, u odnosu na one koji su tvrdili da tokom života nisu imali iskustva sa infestacijom krpeljima, ali ova razlika je statistički značajna samo u naseljenom mestu Vrtnik ($p=0,014$). U osam naseljenih mesta, statistički značajno više ispitanika nije prijavilo ubod, u odnosu na one koji jesu. Pirsonovom korelacijom utvrđena je statistički značajna povezanost između broja uboda i broja seropozitivnih ispitanika po naseljenim mestima Fruške gore ($r=0,417$; $p=0,003$) (Tabela 16).

Nakon grupisanja ispitanika u odnosu na aktivnosti na otvorenom povezane sa zanimanjem, izuzimajući ostale (nedefinisane) delatnosti, ubod krpelja je najučestaliji (skoro 50%) u grupi ispitanika sa više slobodnog vremena, koju čine penzioneri i nezaposlene osobe. Odnos ispitanika koji su dali podatak o infestiranosti prema onima koji nisu, najveći je u grupi ispitanika koji posao obavljaju većinom na otvorenom (3,50). Ovaj odnos je približno jednak u grupi sa više slobodnog vremena (0,94), dok je najniži (0,38) u grupi dece, učenika i studenata (Tabela 17).

Tabela 17. Prethodna infestacija krpeljima u odnosu na aktivnosti na otvorenom povezane sa zanimanjem

Grupa ispitanika	Prethodni ubod krpelja						p	NT+ (N)	Pirsonova korelacija	
	Ne/nepoznato		Da		Ukupno				r	p
	N	%	N	%	N	%				
Posao većinom obavljaju u zatvorenom	127	58,26	91	41,74	218	100,00	1	0,871	0,129	
Posao većinom obavljaju na otvorenom	6	22,22	21	77,78	27	100,00	0			
Grupa sa više slobodnog vremena	153	51,69	143	48,31	296	100,00	1			
Grupa dece, učenika i studenata	148	72,55	56	27,45	204	100,00	0			
Ukupno	434	56,25	311	41,74	745	100,00	2*			

*Izuzeti ispitanici, koji pripadaju ostalim delatnostima; Ispitanici pozitivni laboratorijskim ispitivanjem neutralizacionim testom (NT+)

Primenom hi-kvadrat testa ustanovljeno je da statistički značajno više ispitanika koji rade na otvorenom prijavljuje ubod krpelja ($\chi^2=36,802$; $p<0,001$), nego u ostalim posmatranim kategorijama. Pirsonova korelacija ne pokazuje statistički značajnu povezanost između broja uboda i broja seropozitivnih po grupama ispitanika, podeljenih u odnosu na aktivnosti na otvorenom (Tabela 17).

5. DISKUSIJA

Globalno, KE postaje sve veći javnozdravstveni problem, jer se postojeća endemska žarišta šire ka severu i ka većim nadmorskim visinama, a formiraju nova, što za posledicu ima postepen i stalan porast učestalosti ove bolesti u humanoj populaciji (132). Takođe, mnoge poznate turističke destinacije nalaze se u pojasu rasprostranjenosti KE, čime se povećava i rizik za putnike u međunarodnom saobraćaju (133,134).

Pogoršanje epidemiološke situacije ove bolesti u svetu objašnjava se promenom brojnih ekoloških i društvenih faktora (društveno-političke promene, putovanja i sve češći boravak u netaknutoj prirodi), ali i podizanjem svesti o ovoj bolesti, kao i dostupnijim dijagnostičkim mogućnostima (2,49,99). Globalno zagrevanje i posledične klimatske promene utiču na eko-epidemiologiju KE, dovodeći do povećanja brojnosti vektora i rezervoara, te migraciju vektora ka većim nadmorskim visinama i severnijim geografskim širinama i posledičnom širenju geografske distribucije ove bolesti (81,132). Naime, toplije zime i duža proleća i leta nastala kao posledica porasta srednjih godišnjih temperatura, produžavaju period preživljavanja krpelja, odnosno dovode do ranijeg prestanka zimske dijapauze i ranijeg početka aktivnosti traženja domaćina, te se samim tim i frekvencija razmnožavanja povećava (132). Sve pomenute aktivnosti, uz povećanje brojnosti i aktivnosti domaćina, omogućavaju pojačanu cirkulaciju virusa KE u žarištu, te se brojnost zaraženih krpelja povećava. Osim toga, povećanje srednjih godišnjih temperatura produžava vegetacioni period, koji je bitan činilac za održavanje visoke vlažnosti vazduha, neophodne za aktivnost ovih vektora (132,135). Dalje, povećana aktivnost ptica i krupne divljači omogućava prenos inficiranih vektora van endemskog područja, gde su se opet pod uticajem globalnog zagrevanja stvorili adekvatni klimatski uslovi za uspostavljanje novog žarišta (132). I na kraju, globalno otopljanje u umerenom klimatskom pojasu, odnosno veći broj toplih dana u godini, produžava vreme profesionalnog ili rekreativnog boravka ljudi u prirodi, pa je izloženost prirodnim staništima KE veća (136).

Na teritoriji naše zemlje, nalazi cirkulacije virusa KE datiraju od pre pedeset godina. Tokom 1972. godine virus KE izolovan je iz krpelja sa područja Peštera u Raškom okrugu. Izolovani virus pripadao je evropskom podtipu (137). Nakon toga, virus KE je, PCR metodom, detektovan u krpeljima vrste *I. ricinus*, koji su prikupljeni tokom 2014. i 2015. godine na 17 lokaliteta u okolini Beograda i na Fruškoj gori. Prevalencija zaraženih krpelja vrste *I. ricinus*

iznosila je 2% (1/50) na lokalitetu Andrevlje (Fruška Gora) i 6,6% (30/450) na lokalitetu Manastirska Šuma (Rakovica- Beograd). Filogenetskom analizom dokazano je da virus pripada evropskom podtipu (128). Pored toga, tokom 2017. godine genom virusa KE je detektovan RT-PCR metodom u krvi dva konja iz ergele u Ljubičevu (Braničevski okrug). Obe životinje su imale znake neurološke bolesti (138).

Geografska rasprostranjenost bolesti, koje prenose krpelji, zavisi od distribucije ovih vektora (1). Zbog toga se endemska područja ovih oboljenja preklapaju (139). Kako je Fruška gora endemsko žarište Lajmske borelioze i prirodno stanište najznačajnijeg vektora KE u Evropi (140,141) i kako je virus KE detektovan jedino u ovoj regiji Vojvodine (128), polazna osnova našeg istraživanja bila je pretpostavka da su pojedine oblasti Fruške gore prirodno žarište KE. Budući da je sveobuhvatan nadzor neophodan za realno sagledavanje epidemiološke situacije KE i stepena opterećenja populacije ovom bolešću na nekoj teritoriji, ovim istraživanjem je integrisano prikupljanje podataka u humanoj populaciji, kao i u populaciji vektora. Izvršili smo uzorkovanje krpelja u okolini svih 49 naseljenih mesta Fruške gore na ukupno 109 lokaliteta. Najzastupljenija vrsta krpelja bila je *I. ricinus*, sa učešćem od približno 90%, što je u saglasnosti sa nalazima objavljenim u doktorskoj disertaciji A. Jurišića, koji je ustanovio da ova vrsta dominira sa udelom od oko 92% na teritoriji Srbije, među nenahranjenim jedinkama prikupljenim iz prirode (78). Ova vrsta je preovladavala u preko 90% naseljenih mesta na teritoriji Fruške gore, a apsolutno je dominirala u skoro polovini. Predominacija ove vrste sa procentualnim učešćem od oko 93% ustanovljena je i u Hrvatskoj (142).

Primenom metoda molekularne biologije u okviru ovog istraživanja, virus KE nije detektovan ni u jednom pregledanom uzorku krpelja. Negativan rezultat testiranja 1882 jedinke objašnjava se sezonskim varijacijama u stepenu zaraženosti krpelja virusom KE, koje nastaju kao posledica međusobne interakcije između brojnih abiotičkih i biotičkih faktora (68). Između ostalog, porast temperature i smanjenje vlažnosti vazduha u staništima u periodu aktivnosti krpelja dovodi do smanjenja količine virusa KE u njima i negativno korelira sa stepenom infektivnosti ovih vektora (80). Pored toga, brojnost i sastav populacije domaćina na određenom području značajno utiču na aktivnost žarišta, s tim da veći udeo onih koji nisu kompetentni kompromituje cirkulaciju i opstanak virusa KE, a takođe negativan uticaj ima i visok udeo imunih domaćina (68,143). Kao posledica nabrojanih, ali i drugih zooloških, klimatoloških i botaničkih faktora, prevalencija virusa KE u krpeljima može se menjati iz godine u godinu, čak

i u istom žarištu (80). Sledstveno tome, prevalencija virusa KE u nenahranjenim krpeljima varira od nula do veoma visokih vrednosti od čak 40% u visoko rizičnim zonama, zavisno od sezone, ali i od vrste ispitivanih krpelja (68,124). Procenat krpelja vrste *I. ricinus* zaraženih virusom KE je uglavnom nizak i kreće u rasponu od 0 do 5%, čak i u zemljama koje prijavljuju veliki broj humanih slučajeva ove bolesti, i retko dostiže visoke vrednosti. Stepenn inficiranosti vrste *I. persulcatus* je daleko viši (68,144).

Godišnje razlike u visini stepena zaraženosti prikupljenih krpelja virusom KE dokazane su dugoročnom studijom *Borde* i saradnika, tokom koje je praćeno jedno odranije poznato žarište KE u periodu od skoro deset godina. Utvrđeni stepenn zaraženosti varirao je od 0,09% (2009. godine) do 1,36% (2015. godine) (145). Izrazita varijabilnost u odnosu na sezonu ustanovljena je i u Letoniji (koja prijavljuje visoke stope incidencije KE) tokom perioda praćenja od 10 godina, pa je prevalencija virusa KE u odraslim jedinkama bila u opsegu od 0% do 37,3% i 1,7% do 26,6%, zavisno od vrste i godine uzorkovanja (86). U Belorusiji u periodu praćenja od devet godina (od 2012. do 2020. godine) procenat inficiranih krpelja kretao se u rasponu od 1,6% (2015. godine) do čak 19,8% (2013. godine) (68,146). Slično tome, nakon četvorogodišnjeg prikupljanja jedinki vrste *I. ricinus* sa vegetacije na 45 lokaliteta južne Švajcarske, procenat pozitivnosti na virus KE kretao se u rasponu od 0,16% do 11,11%, zavisno od sezone uzorkovanja (147). Istraživanje sprovedeno u Nemačkoj takođe ukazuje na sezonske razlike u stepenu zaraženosti krpelja. Naime, ovom studijom je detektovano prisustvo virusa KE u vrsti *I. ricinus* sa prevalencijom u opsegu 2,2-5,2% nakon petnaestogodišnje inaktivacije žarišta na severoistoku ove zemlje. Brojnim istraživanjima sprovedenim u ovim ranije aktivnim žarištima u periodu od 15 godina, nije detektovano prisustvo virusa KE, uprkos prikupljenim i analiziranim hiljadama jedinki krpelja. Na latenciju žarišta ukazivalo je i odsustvo humanih slučajeva poreklom iz ovog područja. U ovom istraživanju *Frimmel* i saradnika u Nemačkoj ističe se da prirodna žarišta KE mogu biti ili neaktivna ili aktivna na niskom nivou sa malim brojem zaraženih jedinki krpelja dugi niz godina, te se posle određenog vremena latencije mogu ponovo aktivirati, što utiče na varijacije u prevalenciji virusa KE u populaciji krpelja tokom različitih sezona (148).

Naši rezultati upućuju na moguću latenciju žarišta otkrivenog 2015. godine na lokalitetu *Andrevlje* na Fruškoj gori (prevalencija 1/50=2%), s obzirom na to da smo tokom istraživanja jedinke uzorkovali na istim koordinatama.

Na teritoriji Nemačke, krpelji su uzorkovani iz ranije dobro poznatih prirodnih žarišta KE, koja su označena kao mesta izloženosti obolelih slučajeva. Ni u jednoj od preko 3000 ispitanih jedinki krpelja nije otkriveno prisustvo RNK virusa KE, iako se sporadično registruju humani slučajevi iz ovih oblasti (149). Slično tome, u Belgiji su područja prikupljanja krpelja određena na osnovu rezultata studije seroprevalencije kod životinja, pri čemu su za lokalitete uzorkovanja izabrani oni sa najvećim procentom seropozitivnih. Virusna nukleinska kiselina nije utvrđena ispitivanjem skoro 2000 prikupljenih jedinki krpelja (150).

Tokom drugog istraživanja u Belgiji, prikupljeno je 1599 jedinki krpelja, koje su prethodno obavješteni građani dostavili poštom Nacionalnom Institutu za zdravstvo. Prisustvo virusa u ovim uzorcima nije dokazano (151).

Da dinamika inficiranosti krpelja zavisi od sezone pokazuje i istraživanje jednog žarišta u Danskoj, u kome je virus KE detektovan u krpeljima tokom tri uzastopne godine (2009-2011), ali 2016. i 2017. godine su sve jedinice prikupljene u ovom području bile negativne na prisustvo virusa (152).

Na razlike u prevalenciji, kao i na mogućnost nedetektovanja virusa KE u ispitivanim uzorcima krpelja, pored sezone, utiču i nejednaka geografska rasprostranjenost žarišta, kao i mikrofokalna cirkulacija virusa KE. Naime, suprotno drugim patogenim uzročnicima koje prenose krpelji, virus KE kruži između kompetentnih domaćina i vektora u geografski ograničenim zonama, takozvanim mikrofokusima, koji su veoma male površine, nekada i 50 metara u prečniku. Virus se van ovih mikrofokusa ili retko detektuje ili se otkriva jako nizak stepen inficiranosti krpelja (68,143).

Na jugu Engleske, cirkulacija virusa KE sa prevalencijom od 0,17% dokazana je laboratorijskim ispitivanjem 3070 jedinki krpelja, koji su uzorkovani tokom 2018. i 2019. godine na lokalitetima na kojima su prethodno identifikovani seropozitivni jeleni. Niska prevalencija u ovoj studiji, koja nije u saglasnosti sa utvrđenom seroprevalencijom antitela kod jelena, objašnjava se mikrofokalnom distribucijom i ograničenošću enzootskih područja KE, zbog kojih krpelji iz centra samog fokusa verovatno nisu uzorkovani (153).

Skorašnje istraživanje na severu Nemačke, takođe ukazuje na geografsku ograničenost mikrofokusa. U uzorku od čak 20.056 jedinki krpelja, prikupljenih tokom 2020. i 2021. godine u sezoni najveće aktivnosti ovih vektora, prevalencija se kretala u rasponu 0,00-0,51% kod

odraslih jedinki i od 0,00 do 0,36% kod nimfi zavisno od lokaliteta, ali i od sezone uzorkovanja (154).

S obzirom na to da se područje našeg istraživanja (Fruška gora) proteže na površini od približno 285 hiljada kvadratnih metara, postoji mogućnost da jedinke krpelja nisu uzorkovane iz samog mikrofokusa, osim na lokalitetu Andrevlje, gde smo koristili tačne koordinate na kojima je detektovan virus 2015. godine.

Pored mikrofokalne ograničenosti, na nalaz pozitivnog nalaza virusa KE u krpeljima i na vrednosti njegove prevalencije može uticati i takozvana „*patchy*“ distribucija prirodnih žarišta, odnosno njihova nejednaka raspoređenost, čak i unutar iste države ili regije (143,155).

U još jednoj nemačkoj studiji, koja je trajala od 2017. do 2020. godine, uzorkovanje krpelja izvršeno je na osnovu prethodnog anketiranja pacijenata, kod kojih je potvrđena dijagnoza KE, a na osnovu potencijalne lokacije njihovog zaražavanja. Od 2955 jedinki prikupljenih na 13 potencijalnih mesta zaražavanja pacijenata na jugu ove zemlje, cirkulacija virusa je dokazana u osam mesta, a stepen zaraženosti krpelja je značajno varirao među lokalitetima (od 0% do 1,7%) (156).

Jedno veliko istraživanje, sprovedeno po sličnoj metodologiji, obuhvatilo je sve tri Baltičke zemlje i istočnu Poljsku. Krpelji su prikupljeni sa vegetacije na 24 lokaliteta u ove četiri države. Dokazana prosečna prevalencija zaraženosti krpelja vrste *I. ricinus* virusom KE kretala se u rasponu 0,11% u istočnoj Poljskoj do 1,02% u Letoniji, s tim da su vrednosti prevalencije znatno varirale među pojedinim oblastima (86). Slično tome, u norveškom istraživanju stepen inficiranosti krpelja se kretao u rasponu od 0 do 1,1% zavisno od mesta uzorkovanja (99).

I na kraju, negativan nalaz virusa u krpeljima može biti posledica i niske gustine krpelja na nekoj teritoriji i posledičnog uzorkovanja malog broja jedinki. Na gustinu krpelja utiče prethodno spomenuta interakcija biotičkih i abiotičkih faktora u žarištima (68). Na teritoriji naseljenih mesta Fruške gore gustina po jedinici vremena kretala se u rasponu od 0,94/sat do 41,50/ sat, pa je na 11 lokaliteta uzorkovano manje od 30 jedinki ovih vektora.

Na mogućnost neotkrivanja virusa KE zbog malog uzorka ukazuju britanski naučnici, koji su 2020. godine, nakon pojave drugog verovatnog slučaja KE, sproveli eko-epidemiološko istraživanje, tokom kojeg su *flagging* metodom uzorkovani krpelji u okolini mesta boravka obolelog, ali virus nije pronađen u njima (157).

Sve do sada pomenute studije odnose se na istraživanja stepena zaraženosti krpelja iz roda *Ixodes*. Međutim, istraživanje prevalencije KE u krpeljima iz roda *Dermacentor* takođe nije zanemarljivo, jer se dve vrste iz ovog roda (*D. reticulatus* i *D. marginatus*) smatraju značajnim vektorima ove bolesti (77,86).

U našoj studiji prikupljeno je samo devet jedinki vrste *D. marginatus* i ni u jednoj od njih nije dokazano prisustvo virusne nukleinske kiseline, što se može objasniti jako malim uzorkom. Međutim, ni mađarski naučnici nisu dokazali prisustvo virusa KE u 46 prikupljenih krpelja ove vrste (158), dok je u Bugarskoj izolovan još davne 1960. godine iz jedne od 19 jedinki (159). Virus KE je izolovan još 2002. godine u Rusiji iz krpelja vrste *I. ricinus* i *D. marginatus*, koji su sakupljeni u okolini Banja Luke u Bosni i Hercegovini. Kasnijom genotipizacijom ustanovljeno je da na ovoj teritoriji cirkulišu evropski i sibirski podtip virusa (74,160).

U endemskoj oblasti Kazahstana, u krpeljima vrste *D. marginatus* utvrđena je minimalna stopa zaraženosti od 1,6% (161). U evropskim državama se prevalencija virusa KE u krpeljima vrste *D. reticulatus* kretala u rasponu od 0,59% u Nemačkoj do 10,8% u istočnoj Poljskoj (77,162). Visoka prevalencija (3,9%) u ovoj vrsti krpelja zabeležena je i u Moldaviji. U ovoj zemlji je utvrđen i visok procenat zaraženosti virusom KE u populaciji krpelja vrste *H. punctata* od čak 8,8% (163).

Tokom perioda našeg istraživanja, prikupljene su 142 jedinice vrste *H. punctata* i ova vrsta je bila druga po zastupljenosti u našem uzorku sa učešćem od preko 7%, a bila je dominantna u Irigu, Bukovcu i Velikoj Remeti. Od 142 prikupljene jedinice, analizirali smo svega 18, jer su ostale bile van režima hladnog lanca. Sve analizirane jedinice su bile negativne na prisustvo virusne RNK. Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima testiranja ove vrste krpelja prikupljenih u Požeško-slavonskoj županiji u Hrvatskoj (142).

Još jedna vrsta roda *Haemaphysalis* je označena kao vektor virusa KE. Reč je o vrsti *H. concinna* (68). Međutim, malo je istraživanja u dostupnoj literaturi koja su se bavila stepenom zaraženosti virusom KE ove vrste krpelja. Tokom našeg istraživanja prikupili smo i analizirali 50 jedinki ove vrste, ali virusna nukleinska kiselina nije detektovana ni u jednom uzorku. Tokom istraživanja u jugoistočnoj Mađarskoj, prikupljeno je 489 jedinki ove vrste i sve su bile negativne na prisustvo virusa KE (158), dok je u četvorogodišnjoj studiji sprovedenoj u jugozapadnom delu ove zemlje prisustvo virusa potvrđeno u nimfalnom stadijumu vrste *H.*

concinna (164). Vrlo visoka prevalencija u populaciji krpelja *H. concinna* od preko 5% otkrivena je u Rusiji tokom višegodišnje studije, sprovedene na istoku te zemlje (165).

Sve gore navedeno upućuje da je određivanje prevalencije virusa KE u krpeljima važno za otkrivanje novih prirodnih žarišta i praćenje njihove endemske aktivnosti, kao i za identifikaciju novih vrsta kao potencijalnih vektora na nekoj teritoriji, ali nije osetljiv pokazatelj rizika za ljude, kada je ova bolest u pitanju (166).

Ovu činjenicu naglašavaju *Stefanoff* i saradnici, koji u uzorku od preko 16.000 krpelja, prikupljenih na 50 mesta u Poljskoj i Nemačkoj, obuhvatajući regione od onih koji sporadično prijavljuju humane slučajeve do oblasti sa jako visokom incidencijom KE, nisu detektovali virus (166).

Da visina prevalencije virusa KE u populaciji krpelja nema uticaja na visinu incidencije humanih slučajeva, pokazuju podaci nadzora u visoko endemskoj Češkoj Republici u periodu od 50 godina, tokom kojeg je zabeležena prosečna prevalencija KE u populaciji krpelja od samo 0,12% (99).

Jedinke krpelja za našu studiju uzorkovane su u pojedinim mesecima tokom tri godine (2019, 2020 i 2022.). S obzirom na to da su se lokaliteti prikupljanja razlikovali, tako da je svaki lokalitet uzorkovan samo u toku jedne godine, ne možemo tvrditi da virus nije prisutan u populaciji krpelja na svih 109 lokaliteta tokom sve tri godine uzorkovanja.

Visoko učešće nimfi u ukupnom uzorku prikupljenih krpelja od oko 27%, približno je nalazima A. Jurišića, koji pokazuju da je u uzroku prikupljenih krpelja na teritoriji Srbije u petogodišnjem periodu (2006-2010. godina) ovaj razvojni stadijum zauzimaio procenat od oko 31% svih jedinki (78). Nimfe se smatraju najvažnijim stadijumom razvoja u prenošenju virusa KE, jer su manje specifične za domaćina, a i teško su uočljive na odeći, telu, kosi zbog veličine od svega 1-2 mm (65,167). Stoga se smanjenje rizika od bolesti koje prenose krpelji može postići monitoringom i kontrolom brojnosti nimfi (78).

Pored nimfi, za transmisiju virusa KE na ljude odgovorne su i ženke krpelja, kojima je potreban krvni obrok za produkciju jaja i ovipoziciju (68). Analizom odnosa polova, u našem uzorku utvrđena je dominacija ženki u skoro polovini naseljenih mesta na teritoriji Fruške gore, sa rasponom seksualnog indeksa od 0,52 do apsolutne dominacije od 100% u mestu Ljuba. Suprotno istraživanju A. Jurišića (78), u ukupnom uzorku prikupljenih krpelja na teritoriji Fruške gore dominirali su mužjaci.

Iako virus KE nije detektovan u našim uzorcima, gustina krpelja u pojedinim naseljenim mestima Fruškogorske regije zabrinjava, posebno na lokalitetima sa velikom frekvencijom ljudi, kao što su jezero Bruje kod Erdevika, izletišta poput Stražilova kod Sremskih Karlovaca, Andrevlja u blizini Banoštor i Čerevića, biciklističkog parka kod Bukovca i Lipovače kod Berkasova, zatim okolina manastira Jazak, Beočin, Kuveždin kod Divoša i Velika Remeta, te park u centru naseljenog mesta Grabovo, spomen-park kod Iriga, Stari Ledinci- put za jezero, te travnate zone pored stambenih objekata u samom naseljenom mestu Privina Glava, Slankamenački Vinogradi i Krušedol Selo. Visoka gustina krpelja u rasponu 18,87- 45,50 po satu uzorkovanja *flag* metodom utvrđena je i tokom istraživanja Instituta za epidemiologiju Vojno-medicinske akademije na pet šumskih lokaliteta u Beogradu (167).

Na osnovu toga, uvođenje monitoringa nad ovim značajnim vektorima na nivou cele Srbije je od ključnog značaja za prevenciju i kontrolu niza bolesti koje oni prenose na ljude, uključujući i krpeljski encefalitis, s obzirom na globalnu ekspanziju prirodnih žarišta ove bolesti.

Samo poslednjih godina, nova žarišta KE otkrivena su u severnoj Nemačkoj, francuskim Alpima, severoistočnoj Italiji, Švedskoj, južnoj Engleskoj, Finskoj i Danskoj, a 2020. godine prvo žarište ove bolesti prijavljeno je na području Severne Afrike (severoistočni Tunis) (69,152,153,168-170). Osim toga, 2018. godine u severnoj Norveškoj je virus KE prvi put detektovan na geografskoj širini od 65 stepeni, koja se nalazi u regionu arktičkog kruga, odnosno severnog polarnika. Ovo je ujedno najsevernija tačka na kojoj je prijavljeno prisustvo krpelja vrste *I. ricinus* (171). Pojava novih žarišta poslednjih godina, osim porasta učestalosti ove bolesti, imala je za posledicu i registrovanje prvih autohtonih slučajeva u Holandiji 2016. godine, Velikoj Britaniji 2019. i u Belgiji tokom 2020. godine (157,172,173).

U svetu je, takođe, dokumentovano pomeranje endemskih žarišta KE prema većim nadmorskim visinama. Tokom perioda 1961-1979. godina, u Slovačkoj su žarišta registrovana na nadmorskoj visini od 180 do 340 m, a već 2004. godine gornja granica se pomerila na 832 metra (174). Slično tome, u Češkoj se maksimalna nadmorska visina na kojoj se žarišta javljaju pomerila za 400 metara (sa 700 na 1100m) u periodu od deset godina (175), zatim je cirkulacija virusa KE prijavljena na 1564 m nadmorske visine 2008. godine u austrijskim Alpima (176), a nakon toga i na 2100 m u Kirgistanu (177).

Prirodna žarišta KE nalaze su i u zemljama u okruženju. Istraživanja u Rumuniji ukazuju na rasprostranjenost žarišta ove bolesti na teritoriji cele zemlje, ali se najrizičnija područja nalaze na jugoistoku i severozapadu, zatim u centralnom području Transilvanije i u podnožju Karpata (124,178). U Sloveniji endemska područja zahvataju veliku površinu i protežu se od severa, preko centralnog do jugozapadnog dela zemlje (179).

Prirodna žarišta različitog stepena endemičnosti protežu se od severoistoka do severozapada Hrvatske, zahvatajući i planinski region Gorskog Kotara (55,92), a u Mađarskoj se nalaze u šumovitim predelima na severu i zapadu ove zemlje, zatim duž reke Dunav i oko jezera Balaton (72,124).

Rezultati ranijih studija pokazuju da se endemska žarišta KE nalaze i na teritoriji Albanije, posebno u južnim oblastima (65,72).

Kao posledica širenja prirodnih žarišta, u svetu se godišnje registruje od 10 do 15 hiljada slučajeva KE, a od toga više od tri hiljade u Evropi (90,100-102). U periodu od 1974. do 2003. godine broj obolelih se učetrostručio (180). Pored toga, stopa incidencije registrovana 2015. godine na nivou Evropske unije dvostruko se uvećala za samo pet godina i dostigla vrednost od 0,8/100.000 stanovnika tokom 2020. godine (181). To je ujedno i najviša vrednost stope incidencije KE, koja je registrovana u evropskom regionu od uvođenja nadzora nad ovom bolešću 2012. godine, a procenjuje se da je stvarni broj obolelih znatno veći, jer je nadzor u mnogim državama insuficijentan, a i zbog visokog učešća asimptomatskih i blagih oblika bolesti, koji ostaju ili neprepoznati ili oboleli ne traže pomoć zdravstvenog sistema (90,182).

Zavisno od regiona, vrste krpelja i podtipa virusa, koji u njemu preovladavaju, letalitet KE se kreće u rasponu 0,2-40% (48). Najviši letalitet se registruje u područjima gde preovladava dalekoistočni podtip virusa (54).

Krpeljski encefalitis je endemska bolest u 27 evropskih i 7 azijskih država (104). Najviše stope incidencije u svetu (preko 5/100.000) beleže Češka Republika, Baltičke zemlje (Litvanija, Estonija i Letonija) i Slovenija (99-102). Međutim, zbog geografske ograničenosti endemskih područja, velike razlike u učestalosti ove bolesti postoje unutar država (1). Shodno tome, u Rusiji se registruje prosečna godišnja incidencija od oko 2/100.000 stanovnika, ali godišnje incidencije u nekim oblastima Sibira su čak pet do deset puta više od prijavljenih na nacionalnom nivou (7). Slično Rusiji, Nemačka se ubraja u niskoendemske zemlje sa prosečnom

godišnjom incidencijom od oko 0,5/100.000 slučajeva, dok u nekim regijama ove zemlje stope incidencije dostižu i 10/100.000 stanovnika (2).

Mada u Republici Srbiji zakonska obaveza prijavljivanja krpeljskog encefalitisa postoji još od 2004. godine, epidemiološka situacija se još uvek ne može pravilno realno oceniti, zbog insuficijentnosti epidemiološkog nadzora nad ovom bolešću i ograničene dostupnosti laboratorijske dijagnostike. U periodu od 2004. do 2021. u našoj zemlji registrovano je ukupno 25 slučajeva ove bolesti. Najveći broj slučajeva (ukupno 13) registrovan je 2018. godine (111,137,183).

Iako su prethodna istraživanja registrovala prisustvo virusa KE na teritoriji Autonomne Pokrajine (AP) Vojvodine, do sada nije bilo prijavljenih slučajeva ove bolesti (137).

Od zemalja u okruženju, Slovenija prijavljuje najviše prosečne godišnje stope incidencije (oko 10/100.000 stanovnika), dok u nekim područjima zemlje dostižu vrednosti i do 45/100.000 stanovnika (99). Hrvatska se ubraja u niskoendemske zemlje sa prosečnom godišnjom incidencijom ispod 1/100.000 stanovnika. Međutim, prosečna godišnja incidencija u visokoendemskom severozapadnom delu ove zemlje kreće se u rasponu od 3,61 do 6,78/100.000 (55,92). Sporadični slučajevi kod ljudi prijavljeni su u priobalju (124). Podaci o humanim slučajevima u Bosni i Hercegovini su oskudni, ali se u literaturi pominje sporadično javljanje KE u periodu od 2001. do 2016. godine, kada je registrovano ukupno šest slučajeva na teritoriji ove zemlje (99). U poslednjih 60 godina u Bugarskoj je registrovano svega nekoliko slučajeva KE (184), a slična situacija je i u Rumuniji, koja sporadično prijavljuje slučajeve KE (124,178). Prijavljene prosečne godišnje incidencije u Mađarskoj su 0,2/100.000 stanovnika (72,124). Poslednjih godina se registruju epidemije, koje su nastale konzumiranjem mleka, najčešće kozijeg. Najveća alimentarna epidemija u ovoj zemlji registrovana je 2007. godine, kada je obolelo 25 osoba (20). U Albaniji je pre 1990. godine registrovano do 25 slučajeva godišnje, ali nakon tog perioda nema dostupnih podataka o epidemiološkoj situaciji (65,72). Epidemiološka situacija KE u Crnoj Gori i Makedoniji su nepoznate, jer u dostupnoj literaturi nema podataka iz ovih zemalja.

S obzirom na to da se rizik za ljude od KE ne može proceniti samo na osnovu ispitivanja stepena zaraženosti krpelja i da se epidemiološka situacija može oceniti jedino integrisanim nadzorom, koji, između ostalog, uključuje i kliničko prikupljanje podataka o ovoj bolesti (106),

sproveli smo intenzivan, aktivni nadzor nad KE kod hospitalizovanih pacijenata, sa kliničkom dijagnozom zapaljenja CNS-a.

Svetska zdravstvena organizacija smatra da je za kvalitetan nadzor nad krpeljskim encefalitisom neophodna primena standardizovane definicije slučaja i upotreba standardizovanih reagenasa, kako bi rezultati testova bili uporedivi između različitih laboratorija i država (7). Kako bismo omogućili uporedivost naših rezultata sa rezultatima drugih studija, sprovedenih na nivou EU, deo istraživanja koje se odnosi na kliničko prikupljanje podataka, bazirali smo na definiciji slučaja ECDC-a (114), a tokom laboratorijske dijagnostike koristili smo komercijalne ELISA testove, koji su u široj upotrebi u Evropi i koji su dostupni u našoj zemlji. Takođe smo sve pozitivne i granične rezultate iz likvora i seruma, dobijene ELISA testom, laboratorijski ispitali testom neutralizacije, što je po preporukama SZO i ECDC neophodno za potvrdu dijagnoze KE, posebno u područjima gde cirkulišu i drugi flavivirusi, pa postoji mogućnost unakrsne serološke reaktivnosti između njih i dobijanja lažno pozitivnih rezultata (7,185). Međutim, neutralizacioni test u prvih deset dana bolesti, kada se IgG antitela još uvek nisu stvorila, može da rezultira lažnom negativnošću u čak 50% uzoraka, s obzirom na slab neutralizacioni kapacitet IgM antitela (115).

U periodu hospitalnog nadzora nad KE, od 1. avgusta 2021. do 31. oktobra 2022. godine, nije potvrđen ni jedan slučaj ove bolesti na teritoriji Vojvodine. Ovaj rezultat našeg istraživanja može se objasniti nestabilnom dinamikom KE i izrazitim periodičnim varijacijama u broju slučajeva (186). Pored toga, postojeća epidemija bolesti COVID-19 dodatno je otežala naše istraživanje.

Ipak, jedan slučaj sumnje je imao visok titar (desetostruko viši od granične vrednosti) specifičnih IgM antitela na KE u likvoru tokom izvođenja ELISA testa, a nalaz na specifična IgG antitela je bio negativan. Krvni serum ovog pacijenta je utrošen radi drugih laboratorijskih analiza, koje su tražene, tako da nije mogao biti testiran na prisustvo specifičnih antitela na virus KE, a zbog dobrog opšteg stanja pacijent je otpušten iz bolnice, te uzorak krvnog seruma nije mogao biti naknadno uzet. Unakrsnost sa virusom groznice Zapadnog Nila je prethodno isključena laboratorijskim ispitivanjem. Međutim, u ovom uzorku nisu detektovana neutrališuća antitela na virus KE. Kako je likvor pacijenta uzet u prvih četiri dana bolesti, ne može se isključiti lažno negativan rezultat testa neutralizacije. Zbog otpuštanja pacijenta iz bolnice nisu se stekli uslovi ni za ispitivanje serokonverzije specifičnih antitela u parnim uzorcima seruma.

Uprkos podacima iz literature da IgM antitela retko unakrsno reaguju sa drugim flavivirusima, ni u slučaju dokaza serokonverzije ne bi bilo opravdano ovaj slučaj klasifikovati kao potvrđen, sve dok nije isključena i moguća unakrsna reakcija sa Usutu virusom, čija je cirkulacija potvrđena u našoj zemlji (187).

Na otežanu dijagnostiku KE i oprezno tumačenje rezultata serologije ukazuje i grupa hrvatskih autora u studiji slučaja, koja prikazuje unakrsne reakcije između flavirusa kod pacijenta sa kliničkom dijagnozom aseptičnog meningitisa. Rezultati ELISA testa su bili pozitivni na prisustvo specifičnih antitela na tri flavirusa (IgM i IgG na virus KE u serumu i likvoru, IgM i IgG na virus groznice Zapadnog Nila u serumu i samo IgG u likvoru i IgG na Usutu virus i u serumu i likvoru- IgM nije testiran). Daljim ispitivanjem testom neutralizacije, dokazana su neutrališuća antitela na sva tri virusa, s tim da se na osnovu visine titra pretpostavilo da se radi o akutnoj infekciji virusa KE, a da su neutrališuća antitela na druga dva virusa rezultat unakrsne neutralizacije. Međutim, tek ispitivanjem aviditeta IgG antitela na virus groznice Zapadnog Nila, ustanovljeno je se da je pacijent prethodno bio izložen ovom virusu, a ne isključuje se ni mogućnost prethodne infekcije Usutu virusom, s obzirom na prisutnost neutrališućih antitela (120).

U dostupnoj literaturi nema mnogo prospektivnih istraživanja, kojima je utvrđeno opterećenje populacije KE na osnovu aktivnog hospitalnog nadzora nad suspektnim slučajevima. Većina objavljenih rezultata o incidenciji KE dobijena je na osnovu retrospektivno dizajniranih studija, tokom kojih su prikupljeni podaci iz pasivnog nadzora nad ovom bolešću (188,189).

Slično našem, prospektivno istraživanje sprovedeno je u Poljskoj, tokom kojeg je intenziviran hospitalni nadzor nad KE. Nadzorom je obuhvaćeno 105 bolničkih ustanova u 11 od 16 provincija u toj zemlji. Uzorci seruma i/ili likvora svih pacijenata kod kojih je postavljena sumnja na ovu bolest na osnovu prethodno kreirane definicije slučaja, upućeni su na laboratorijsko ispitivanje antitela. Od 1585 suspektnih slučajeva, kod 256 je ELISA testom postavljena dijagnoza KE. Međutim, dobijeni rezultati seropozitivnosti nisu potvrđeni testom neutralizacije, uz objašnjenje da ovaj test nije u rutinskoj upotrebi u ovoj zemlji, ali i da je verovatnoća lažno pozitivnih rezultata niska, jer do perioda kada se istraživanje sprovodilo nije bilo dokaza o cirkulaciji drugih flavirusa na ovom području. Svakako, povećanje broja registrovanih slučajeva za 51% više u odnosu na prethodni petogodišnji proseki i otkrivanje čak

38 novih žarišta KE u Poljskoj, čine ovo istraživanje veoma značajnim i naglašavaju potrebu sprovođenja intenziviranog epidemiološkog nadzora nad hospitalizovanim pacijentima sa sumnjom na ovu bolest (190).

Mohareb i saradnici su objavili rezultate dobijene aktivnim hospitalnim nadzorom u Bugarskoj u periodu od 2009. do 2012. godine po metodologiji, koja je u saglasnosti sa našom (184). Primenjena je tada aktuelna definicija slučaja ECDC-a. Tokom četvorogodišnjeg praćenja, sumnja na KE je postavljena kod 86 hospitalizovanih pacijenata, od kojih su tri klasifikovana kao potvrđeni slučajevi KE. Kod jednog pacijenta je detektovana nukleinska kiselina virusa KE u serumu PCR metodom, kao i prisustvo IgM antitela na ovaj virus takođe u serumu. Kod drugog pacijenta komercijalnim ELISA testom utvrđeno je prisustvo antitela na virus KE u parnim uzorcima seruma. Pozitivnost IgM antitela u prvom uzorku, praćena graničnim rezultatom u drugom, uz detekciju IgG antitela tek u drugom uzorku ide u prilog serokonverziji. Kod trećeg pacijenta je u parnim serumima uzetim u razmaku od devet dana dokazano prisustvo i IgM i IgG antitela na virus KE u oba uzorka. Dobijeni rezultati serološkog testiranja kod poslednja dva pacijenta nisu potvrđeni testom neutralizacije, ali im je istovremeno laboratorijskim ispitivanjem isključena infekcija virusom groznice Zapadnog Nila i žute groznice. Usutu virus još uvek nije potvrđen na teritoriji ove zemlje (191).

U Finskoj je sprovedeno retrospektivno istraživanje, tokom kojeg je laboratorijski ispitano 1957 seruma pacijenata, koji su tokom sezone aktivnosti krpelja (od aprila do oktobra) prethodnih godina (1997, 2005–07. i 2011–12. godine) bili hospitalizovani zbog zapaljenja CNS-a, čija je etiologija ostala nepoznata. Serumi ovih pacijenata, koji se čuvaju u laboratoriji helsinške univerzitetske bolnice, testirani su primenom EIA (*enzyme immunoassay*) testa i potvrđeni testom inhibicije hemaglutinacije. Ovim retroaktivnim istraživanjem otkriveno je pet slučajeva KE, koji su ispunjavali definiciju za potvrđen slučaj (192).

Tokom intenziviranog prospektivnog praćenja pacijenata sa kliničkom dijagnozom encefalitisa u 106 bolničkih ustanova u Francuskoj, biološki uzorci pacijenata su ispitivani na mnogobrojne virusne i bakterijske uzročnike, među kojima je i virus KE, koji je dokazan kod 1,4% slučajeva (ukupno tri). Studija je ponovljena i proširena na period od četiri godine (od 2016. do 2019. godine). Od 494 pacijenta sa kliničkom dijagnozom encefalitisa, procentualno učešće KE je iznosilo 5,4%, skoro četiri puta veće nego tokom prethodne studije. Studija naglašava potrebu stalnog nadzora nad encefalitisima infektivne etiologije uz jačanje

laboratorijskih kapaciteta i uvođenja novih metoda laboratorijskog ispitivanja u rutinsku praksu (193).

Iako malobrojne, prospektivne studije praćenja klinički suspektnih slučajeva na KE, naglašavaju značaj aktivnog nadzora nad ovom bolešću, zasnovanog na standardizovanoj definiciji slučaja i posebno tokom sezone najveće aktivnosti krpelja. Ovom vrstom nadzora otkriva se daleko veći broj slučajeva KE i dobijaju mnogo kvalitetniji podaci, nego prilikom sprovođenja samo pasivnog nadzora (194).

Uprkos činjenici da aktivnim hospitalnim nadzorom, sprovedenim u našoj studiji, nije potvrđen ni jedan slučaj KE na teritoriji Vojvodine u periodu od 15 meseci sprovođenja, naše istraživanje je značajan pomak u nadzoru, koji je izrazito insuficijentan u Srbiji, ali i dijagnostici ove bolesti, i može poslužiti kao polazna osnova za implementaciju intenzivnog sezonskog nadzora nad KE u doba aktivnosti krpelja (od marta do novembra) na nivou cele zemlje. Uz implementaciju nadzora, neophodno je i uvođenje dijagnostike ove bolesti u rutinsku praksu sa tačnim algoritmom laboratorijskog ispitivanja, kako bi se isključile unakrsne seroreaktivnosti (115). Od izuzetne važnosti je da nadzor bude baziran na uniformnoj definiciji slučaja ECDC-a, da bi se obezbedila uporedivost podataka sa drugim evropskim zemljama (114). Pored toga, neophodno je i jačanje laboratorijskih kapaciteta u pravcu izvođenja neutralizacionog testa, a sve u cilju otkrivanja novih slučajeva KE i što realnijeg sagledavanja opterećenosti populacije ovom bolešću.

U Grčkoj su tokom 2007. godine na prisustvo nukleinske kiseline virusa KE, kao i na prisustvo antitela IgM i IgG klase protiv ovog virusa, laboratorijski ispitani uzorci krvnog seruma i likvora ukupno 302 pacijenta sa infekcijom CNS-a. U saglasnosti sa našim rezultatima, ni jedan od testiranih uzoraka nije bio pozitivan. Međutim, zahvaljujući implementaciji epidemiološkog nadzora u ovoj zemlji, 2014. godine registrovan je prvi autohton slučaj KE i od tada ova zemlja prijavljuje sporadične slučajeve ove bolesti, koji su posledica lokalne transmisije virusa KE (195,196).

Kako je KE bolest sa visokim udelom asimptomatskih infekcija (preko 65%) (46), seroepidemiološka ispitivanja imuniteta stanovništva određene regije pre uvođenja programa vakcinacije su esencijalna za otkrivanje izloženosti virusu KE, posebno u zemljama u kojima je nadzor nad ovom bolešću insuficijentan (106).

Po uzoru na druge evropske zemlje (197,198), sproveli smo seroepidemiološku studiju prokuženosti stanovništva Fruške gore, koje je mestom stanovanja potencijalno izloženo virusu KE, detektovanom u ovoj oblasti 2015. godine. Dodatno smo seroprevalenciju antitela na virus KE stanovnika Fruške gore poredili sa seroprevalencijom stanovnika Vojvodine van ove regije, gde cirkulacija virusa još uvek nije potvrđena.

Specifičnost komercijalno dostupnih ELISA testova za detekciju antitela klase G na virus KE se procenjuje na 30-71%, što ukazuje na visoko učešće lažno pozitivnih rezultata, a posledica je unakrsnih reakcija sa drugim flavivirusima (129). Zbog toga ECDC preporučuje test neutralizacije kao zlatni standard za potvrdu rezultata seroprevalencije dobijenih ELISA testovima, posebno u područjima gde je dokumentovana cirkulacija drugih flavivirusa (185). Kako je u Vojvodini dokazano prisustvo virusa Zapadnog Nila i Usutu virusa (187), sve IgG pozitivne i granične uzorke krvnog seruma nakon ELISA testa, dalje smo ispitali virus neutralizacionim testom.

Mnogobrojne seroepidemiološke studije sprovedene su u Evropi i nekim zemljama Azije na različito koncipiranim uzorcima opšte populacije ili profesionalno izloženih osoba, zatim dobrovoljnih davalaca krvi ili korišćenjem uzoraka iz banaka krvnih seruma (197-209). Naša studija seroprevalencije sprovedena je na uzorku opšte populacije i slično studijama u Poljskoj i Švedskoj, obuhvatala je stanovništvo svih uzrasnih kategorija, uključujući i decu (197,198).

Prosečan uzrast ispitanika u oba uzorka našeg istraživanja bio je približno 42 godine (opseg: 4 meseca-90 godina za stanovnike Fruške gore, a 1-91 za stanovnike Vojvodine van ove teritorije). Medijana uzrasta obe grupe bila je 44 godine. Medijana uzrasta ispitanika u švedskoj studiji bila je 50, sa opsegom 2-87 godina (198). Bugarski ispitanici iz opšte populacije prosečno su bili stari oko 53 godine (184). Prosek starosti ispitanika studije sprovedene u Turskoj se nalazio u rasponu $30,22 \pm 12,89$ do $38,43 \pm 13,76$ zavisno od regiona stanovanja, a ovo istraživanje je sprovedeno na dobrovoljnim davaocima krvi uzrasta od 18 do 64 godine (199).

Slično studijama sprovedenim u Poljskoj i jugoistočnoj Norveškoj (197,200) zastupljenost osoba muškog i ženskog pola u našim uzorcima bilo je podjednako, dok su u uzorku dobrovoljnih davalaca u Turskoj, muškarci bili dominantniji čak 20 puta (199). Muški pol je bio mnogostruko zastupljeniji i u istraživanjima, koja su se sprovodila na uzorku profesionalno izloženih osoba, što objašnjava činjenica da se uglavnom muškarci bave poljoprivrednim ili poslovima vezanim za boravak u šumi (202,203,208).

U odnosu na profesiju, u našem uzorku studijske grupe, ako se izuzmu osobe, koje su klasifikovane u grupu ostalih delatnosti, jer su tokom anketiranja dale neodređen podatak o zanimanju (npr. radnik), dominiraju penzioneri sa udelom od 22,70%, dok u iranskoj studiji seroprevalencije penzioneri čine samo 3,47% ukupnog uzorka, a najveće procentualno učešće od 47,69% zauzimaju domaćice (204). U studijama koje su rađene na uzorku profesionalno izloženih osoba, najzastupljenija zanimanja su šumski i poljoprivredni radnici (202,203,208), koji su u našem uzorku zastupljeni sa procentom od 0,20% i 2,10%, redom.

Rezultati neutralizacionog testa u našem istraživanju pokazuju da je registrovana seroprevalencija među ispitanicima koji mestom prebivališta pripadaju oblasti Fruške gore 0,40%, a među ispitanicima iz Vojvodine, isključujući stanovništvo 49 naseljenih mesta fruškogorske regije, 0,20%. Prema ovim rezultatima, stanovništvo Fruške gore dvostruko je više prokuženo na virus KE u odnosu na stanovništvo Vojvodine van ove teritorije, ali zbog malog uzorka seropozitivnih ispitanika u obe grupe, razlika između registrovanih seroprevalencija nije značajna.

Ukupno 11 seruma imalo je graničan rezultat laboratorijskog ispitivanja na VNT, koji se može tumačiti ili kao slabo pozitivan i ukazivati da je procenat seropozitivnih ispitanika u Vojvodini veći, ili može biti posledica ukrštene reakcije sa drugim flavivirusima (120). Kako se unakrsna neutralizacija nije mogla isključiti, ovi rezultati nisu uzeti u obzir prilikom računanja seroprevalencije antitela na antigene virusa KE u našoj studiji.

Prvo seroepidemiološko ispitivanje, sprovedeno je u našoj zemlji na uzorku od 1726 humanih krvnih seruma, prikupljenih u periodu od 1962. do 1969. godine na teritoriji cele Srbije. Seropozitivnost, detektovana testom inhibicije hemaglutinacije, bila je mnogostruko viša od seropozitivnosti utvrđene u našim uzorcima ispitanika i kretala se od 1,1% (na području Srema) do 52,6% (na području Novog Pazara u Raškom okrugu) (137).

U periodu 2014-2015. godina sprovedena su i serološka ispitivanja kod životinja. Testiranjem krvnih seruma 200 životinja (psi, konji, goveda, koze, srne i divlje svinje) utvrđena seropozitivnost kretala se u rasponu od 2,5% kod goveda i srna do 17,5% kod pasa (128).

Utvrđeni procenat seropozitivnih ispitanika u obe naše grupe, takođe je mnogostruko niži od udela seropozitivnih u uzorku od 101 zdrave osobe Južnobačkog okruga. U ovoj preliminarnoj seroepidemiološkoj studiji, 181 uzorak krvnog seruma zdravih ljudi sa teritorija Južnobačkog (JBO) i Nišavskog okruga laboratorijski je ispitan upotrebom *Euroimmun Anti-*

TBEV ELISA IgG komercijalnog kita (proizvođača *Euroimmun, Lübeck, Nemačka*). Seroprevalencija antitela protiv virusa KE iznosila je 7,92% (8/101) kod ispitanika iz JBO, dok u Nišavskom okrugu nije bilo seropozitivnih krvnih seruma (0/80) (210).

Još jedna seroepidemiološka studija, sprovedena 2020. godine u našoj zemlji, obuhvatila je 113 osoba, koje su se javile u Pasterov zavod u Novom Sadu nakon uboda krpelja, kao i 50 zdravih davalaca krvi. Testom imunofluorescencije utvrđena je IgG seropozitivnost na virus KE kod 13,27% ispitanika prve grupe, a 4% kod dobrovoljnih davalaca krvi (205).

U Pasterovom zavodu u Novom Sadu tokom 2021. godine sprovedeno je i retrospektivno istraživanje IgG seroprevalencije na virus KE kod pacijenata, koji su tokom 2018. i 2019. godine bili hospitalizovani zbog virusnog meningitisa i/ili virusnog encefalitisa nepoznate etiologije u KCV-u, a kod kojih je laboratorijskim ispitivanjem tokom hospitalizacije isključena infekcija virusom Zapadnog Nila (206). Specifična IgG antitela protiv virusa KE su otkrivena imunofluorescentnim testom kod tri od 15 rekonvalescentnih pacijenata, što je 50 puta više od seroprevalencije utvrđene u našem uzorku stanovnika Fruške gore, odnosno sto puta više od seroprevalencije utvrđene van ove teritorije u Vojvodini.

Rezultati seroprevalencije, dobijeni tokom našeg istraživanja su u suprotnosti sa svim rezultatima gore pobrojanih studija seroprevalencije sprovedenim na teritoriji Pokrajine. Velika diskrepancija između seroprevalencija može se objasniti različitim načinom regrutovanja ispitanika prilikom konstrukcije uzoraka, te posledičnim razlikama u demografskoj distribuciji i veličini uzoraka. Pored toga, osim što su sprovedene na mnogostruko manjim uzorcima, ni u jednoj od navedenih studija nije sprovedena konačna potvrda seropozitivnosti testom neutralizacije, koju je, kako naglašavaju SZO i ECDC, neophodno sprovesti, posebno u područjima gde se ne može isključiti cirkulacija flavivirusa, kakvo je i naše (7,185). Prema tome, rezultate prethodnih studija treba tumačiti oprezno.

Slično je i sa rezultatima seroepidemiološkog istraživanja u susednoj Hrvatskoj, koji su publikovani 2011. godine, a tokom kojeg je na prisustvo IgG reaktivnosti na antigene virusa KE laboratorijski ispitano 295 šumskih radnika srednje Posavine, koji su činili studijsku grupu. Kontrolna grupa je bila sastavljena od 60 zdravih dobrovoljaca sa istog područja. ELISA serološkim ispitivanjem utvrđena je seroprevalencija od 4,41% u studijskog grupi, dok su svi ispitanici kontrolne grupe bili seronegativni (207). S obzirom na to da je na teritoriji ove države

potvrđena cirkulacija i drugih flavivirusa, ukrštena seroreaktivnost se ne može sa sigurnošću isključiti (120).

Međutim, vrednost seroprevalencije naše studijske grupe približno je jednaka seoprevalenciji specifičnih IgG antitela na virus KE kod pacijenata uzorkovanih na Infektivnoj klinici KCV. Utvrđeni procenat IgG pozitivnosti u ovom istraživanju Potkonjaka i saradnika iznosila je 0,37% (1/267). Iako rezultati ovog istraživanja nisu potvrđeni testom neutralizacije, IgG seropozitivnost na druge kocirkulišuće flaviviruse u našoj zemlji je isključena laboratorijskim ispitivanjem (128).

Seroprevalencija neutrališućih antitela na virus KE stanovnika 49 naseljenih mesta Fruške gore ne razlikuje se od seroprevalencije utvrđene nedavnim serološkim ispitivanjem nevakcinisanog stanovništva endemskog područja na jugu Norveške. Na uzorku od 1123 dobrovoljna davaoca krvi, 0,4% je imalo neutrališuća antitela kao posledicu prethodne infekcije ovim virusom (200). Međutim, seroreaktivnost nije dokazana ni u jednom uzorku krvnog seruma nakon potvrde testom neutralizacije tokom ispitivanja 1213 dobrovoljnih davalaca krvi u zapadnom delu ove zemlje, iako je preliminarna seroprevalencija nakon ELISA testa iznosila 0,1% među nevakcinisanim davaocima (201). Slično tome, u studiji sprovedenoj u centralnoj Italiji (*Lazio* region) među 145 šumskih radnika i 282 dobrovoljna davaoca krvi, seropozitivnost dobijena ELISA testom iznosila je 4,1% u grupi šumskih radnika, dok u drugoj grupi nije bilo seropozitivnih davaoca. Međutim, testom inhibicije hemaglutinacije ovaj rezultat nije potvrđen, te je tokom ELISA testa verovatno došlo do ukrštene reakcije sa nekim od cirkulišućih flavivirusa u tom regionu (202). Tokom još jednog ispitivanja imuniteta na virus KE među šumskim radnicima u severoistočnoj Italiji (*Friuli–Venezia–Giulia* region) dokazana je seroprevalencija od 7,2% nakon ELISA testa, ali je nakon potvrdnog testa neutralizacije iznosila svega 0,6% (208). Tokom ispitivanja imuniteta na virus KE u susednoj Bugarskoj, koje je izvedeno 2015. godine prikupljen je 1451 rezidualni serum od pacijenata koji su posetili laboratorije u domovima zdravlja na teritoriji svih okruga ove zemlje. Komercijalnim ELISA testom sa naknadnom potvrdom testom aviditeta, ustanovljena je seroprevalencija od 0,6% (184). Neutralizacioni test je pokazao seropozitivnost od 0,5% u uzorcima seruma profesionalno izloženih osoba u Holandiji, nakon inicijalne vrednosti seroprevalencije od 1,8% dobijene ELISA testom (203).

U Južnoj Koreji je nakon dokazivanja virusa KE u krpeljima i glodarima, sprovedena serološka studija ispitivanja imuniteta na ovaj virus kod 583 šumska i poljska radnika, koji su profesionalno izloženi krpeljima na lokalitetima gde je virus prethodno detektovan. Procentualno učešće od 0,9% IgG seropozitivnih ispitanika utvrđeno je ELISA testom, a nakon neutralizacionog testa ovaj procenat je bio trostruko niži i iznosio 0,3% (209). Opsežno ispitivanje seroprevalencije testom neutralizacije na uzorku zdravih davalaca krvi u Turskoj, pokazalo je nizak stepen serokonverzije od 0,04% na virus KE, nakon inicijalne seropozitivnosti od 1,91%, dobijene komercijalnim ELISA testom. U uzorku samo jednog od 2454 ispitanika su detektovana neutrališuća antitela (199). Slični rezultati dobijeni su i u severozapadnoj Rumuniji, gde je od 1200 ispitanih uzoraka seruma 2,3% bilo ELISA pozitivno na virus KE, a samo jedan uzorak (0,08%) je bio potvrđen neutralizacionim testom (211).

Zabeležene vrednosti seroprevalencije u većini gore navedenih studija, u saglasnosti su sa našim rezultatima i ukazuju na nisku endemičnost KE na teritorijama na kojima su se sprovodile. I pored niskih procenata seropozitivnosti, ove studije naglašavaju potrebu sprovođenja kontinuiranog nadzora nad KE, uzimajući u obzir trend porasta incidencije ove bolesti, širenje postojećih i pojavu novih endemskih žarišta u Evropi i svetu (132,143).

Na nivou evropskog regiona, registrovane seroprevalencije, utvrđene neutralizacionim testom, kreću se u rang od 0 do 5% (212). Prema rezultatima dostupnih istraživanja, najviše vrednosti u opštoj populaciji, zabeležene su u visokoendemskim zemljama: u Češkoj, Litvaniji, Poljskoj i Švedskoj (8%, 3%, 2,6% i 2%, redom). Međutim, u pojedinim oblastima ovih zemalja, zbog nejednake distribucije žarišta KE, seroreaktivnost u opštoj populaciji dostiže veoma visoke vrednosti do čak 39% (99).

U našem uzorku stanovnika Fruške gore, svi ispitanici seropozitivni na virus KE su bili muškarci, prosečne starosti približno 47 godina (raspon 26-80), dok je od dva seropozitivna ispitanika iz Vojvodine van ove teritorije, jedan pripadao muškom polu, a prosek uzrasta seropozitivnih ispitanika iz ove grupe bio je 80 godina. Najveći procenat seropozitivnih stanovnika fruškogorske regije pripada radno aktivnoj dobnoj grupi, s tim da je najveća seroprevalencija ustanovljena kod starijih od 80 godina.

Slično našim rezultatima, jedini ispitanici pozitivni na testu neutralizacije u istraživanjima sprovedenim u Turskoj, Rumuniji i Norveškoj bili su muškarci i svi su pripadali kategoriji radno aktivnog stanovništva (199,200,211), dok su u holandskom istraživanju od tri

seropozitivna ispitanika, dva bila muškog pola, a svi seropozitivni su bili uzrasta 20 do 40 godina (203). Veće učešće seropozitivnih muškaraca u odnosu na žene u nekim od ovih istraživanja može se tumačiti većim brojem muškaraca obuhvaćenih studijom, dok je u našim uzorcima sa podjednakim udelom oba pola, verovatno reč o češćoj ekspaniranosti muškaraca prirodnim staništima krpelja, u odnosu na žene.

Prema našim rezultatima, prisustvo specifičnih antitela utvrđeno je u četiri naseljena mesta Fruške gore: Beočin, Beška, Čortanovci i Irig, sa najvišom seroprevalencijom u Čortanovcima, a u uzorku ispitanika iz Vojvodine van ove teritorije u Gradu Novom Sadu. Budući da je istraživanje sprovedeno anonimno, ne može se utvrditi gde su ovi ispitanici bili izloženi virusu KE.

S obzirom na reprezentativnost uzorka stanovnika Fruške gore, naši rezultati dokazuju da je ova populacija nisko prokužena na virus KE. Isto se ne može zaključiti za teritoriju ostatka Vojvodine bez fruškogorske regije, jer je uzorak obuhvatio samo 0,05% ukupnog broja stanovnika ovog dela Pokrajine. Takođe, dva seropozitivna ispitanika kontrolne grupe mestom prebivališta pripadaju Gradu Novom Sadu, čije stanovništvo često rekreativno boravi na teritoriji Fruške gore, pa se ne može isključiti mogućnost izloženosti i zaražavanja virusom KE baš u ovoj regiji. Prema tome, u cilju utvrđivanja realne seroprevalencije specifičnih antitela na ovaj virus, neophodna su dodatna istraživanja na većem uzorku vojvođanske populacije van fruškogorske oblasti.

U našem istraživanju, podatak o prethodnoj infestaciji krpeljima dalo je nešto više od 40% stanovnika Fruške gore, među kojima je osoba muškog pola bilo 1,13 puta više nego ženskog. Statistički značajno češće je infestacija prijavljivana među osobama starijeg uzrasta u odnosu na mlađe od 18 godina i među stanovništvom u opštinama Irig, Sremska Mitrovica i Šid. Grupisanjem ispitanika na osnovu zanimanja ili delatnosti koju obavljaju, ustanovljeno je da je u grupi ispitanika koja većinu vremena provodi na otvorenom statistički značajno češće prijavljen ubod krpelja, nego u ostalim grupama, ali broj uboda po grupama ispitanika podeljenih u odnosu na aktivnosti na otvorenom nije korelirao sa brojem seropozitivnih.

U 20 naseljenih mesta, više od polovine ispitanika je navelo da je bilo infestirano krpeljima, u odnosu na one koji nisu, a utvrđena je i statistički značajna korelacija između broja uboda i broja prokuženih ispitanika po naseljenim mestima fruškogorske regije.

Približno jednak procenat ispitanika (42%) tokom ispitivanja imuniteta na KE u jugoistočnoj Norveškoj prijavio je prethodni ubod krpelja (213), dok je u južnom delu ove zemlje, gde je gustina krpelja visoka, procenat prethodno infestiranih ispitanika dvostruko viši nego u našoj studiji (214).

U istraživanju *Schielein* i saradnika, koji su na uzorku od 3503 stanovnika južne Nemačke ispitivali učestalost uboda krpelja među raznim profesijama, oko 70% ispitanika je prijavilo prethodnu infestaciju ovim vektorima. Za razliku od naše grupe ispitanika sa teritorije Fruške gore, osobe koje posao obavljaju na otvorenom i češće su eksponirane ubodu krpelja, u odnosu na one koje većinu radnog vremena provode u zatvorenom prostoru, bile su značajno zastupljenije u ovom uzorku ispitanika. U saglasnosti sa našim rezultatima, nije bilo statistički značajne razlike među ispitanicima, koji su naveli podatak o prethodnom ubodu u odnosu na pol, ali suprotno našim rezultatima nisu utvrđene ni razlike u odnosu na uzrast (215). Tokom seroepidemiološkog ispitivanja u Holandiji, ustanovljeno je da je infestacija krpeljima među osobama koje većinu radnog vremena obavljaju u prirodi čak šest puta češća, u odnosu na opštu populaciju (203). Za razliku od naših rezultata, među ispitanicima švedske studije, značajno je bilo više žena koje su prethodno bile infestirane krpeljima, u odnosu na muškarce (198).

Seropozitivnost na virus KE u našem uzorku ispitanika fruškogorske oblasti, 1,40 puta je bila viša među ispitanicima koji su dali podatak o prethodnom ubodu, ali nije utvrđena statistička značajnost u razlici između ovih grupa ispitanika, dok je u iranskom seroepidemiološkom istraživanju seroprevalencija trostruko veća kod izloženih u odnosu na neizložene ispitanike i, pored držanja stoke u domaćinstvu, ubod krpelja se pokazao kao statistički značajan prediktor seropozitivnosti (204).

Shodno dobijenim rezultatima, ali i prethodnim dokazima cirkulacije virusa KE na teritoriji Fruške gore, kao i visokoj abundanci vrsta krpelja, koje su označene kao vektori ove bolesti, pojedine oblasti fruškogorske regije mogu se smatrati prirodnim žarištima KE. Takođe, prema klasifikaciji i definicijama rizičnih zona ECDC-a za arbovirusne infekcije, ovo područje Vojvodine dobija status ugroženog (engl. *imperilled*) (216).

Na osnovu toga, a obzirom na rastući trend obolevanja od ove bolesti u Evropi, pored neizostavnog uvođenja sveobuhvatnog aktivnog nadzora nad hospitalizovanim pacijentima na osnovu standardizovane definicije slučaja, i unapređenja dostupnosti laboratorijske dijagnostike, potrebno je sprovoditi kontinuiran monitoring brojnosti i zaraženosti krpelja,

posebno na teritoriji naseljenih mesta Fruške gore, kao i skrining divljih i domaćih životinja na prisustvo specifičnih antitela protiv virusa KE. Preventivne programe treba usmeriti i na podizanje svesti o ovoj bolesti među zdravstvenim radnicima, stanovnicima Fruške gore i profesionalno izloženim osobama.

Na osnovu važećih preporuka SZO (7), a s obzirom na to da je rizik od infekcije virusom KE ograničen na geografsko područje Fruške gore, uvođenje programa imunizacije opravdano je za samo za izloženu populaciju i osobe koje profesionalno ili rekreativno borave na Fruškoj gori, a naročito osobe starije od 50 godina, koje su u povećanom riziku od nastanka težih formi ove bolesti.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu sprovedenog istraživanja zaključeno je sledeće:

1. Stanovništvo fruškogorske regije i delova Južnobačkog okruga je prokuženije virusom krpeljskog encefalitisa nego ostalo stanovništvo AP Vojvodine, koje živi van ovih područja.
2. Neophodna su buduća istraživanja prokuženosti stanovništva AP Vojvodine, koje živi van fruškogorske oblasti, na većem uzorku populacije.
3. Odsustvo potvrđenih slučajeva tokom perioda istraživanja, ukazuje na potrebu sveobuhvatnog stalnog nadzora nad encefalitisima infektivne etiologije uz jačanje laboratorijskih kapaciteta i uvođenje novih metoda laboratorijskog ispitivanja u rutinsku praksu, sa sprovođenjem periodičnih studija praćenja klinički suspektnih slučajeva na KE, zasnovanih na standardizovanoj definiciji slučaja, posebno tokom sezone najveće aktivnosti krpelja kako bi se registrovali slučajevi KE.
4. Uz implementaciju nadzora, neophodan je precizan algoritam laboratorijskog ispitivanja u dijagnostici ove bolesti u rutinskoj praksi, kako bi se isključile unakrsne serološke reakcije sa drugim virusima, uz jačanje laboratorijskih kapaciteta za izvođenje neutralizacionog testa, a sve u cilju realnijeg sagledavanja opterećenosti populacije ovom bolešću.
5. Sezonske varijacije u stepenu zaraženosti krpelja virusom KE nastaju kao posledica međusobne interakcije između brojnih abiotičkih i biotičkih faktora, čineći prirodna žarišta KE neaktivnim ili aktivnim na niskom nivou sa malim brojem zaraženih jedinki krpelja dugi niz godina, a koja se posle određenog vremena latencije mogu ponovo aktivirati.
6. Vrlo je verovatno da na Fruškoj gori postoje lokaliteti koji predstavljaju latentna prirodna žarišta, sa niskom prevalencijom virusa u populaciji krpelja (<3%), čineći ova područja Vojvodine ugroženim.

7. Određivanje prevalencije virusa KE u krpeljima je važno za otkrivanje novih prirodnih žarišta i praćenje njihove endemske aktivnosti, kao i za identifikaciju novih vrsta kao potencijalnih vektora na nekoj teritoriji, ali ne predstavljaju dovoljno osjetljiv pokazatelj rizika za ljude, kada je ova bolest u pitanju.

8. Epidemiološka situacija se može oceniti jedino integrisanim nadzorom, koji uključuje ispitivanja stepena zaraženosti krpelja i kliničko prikupljanje podataka o ovoj bolesti uz intenzivan, aktivni nadzor nad KE kod hospitalizovanih pacijenata sa kliničkom dijagnozom zapaljenja CNS-a, uz skrining divljih i domaćih životinja na prisustvo specifičnih antitela protiv virusa KE.

9. Preventivne programe treba usmeriti i na podizanje svesti o ovoj bolesti među zdravstvenim radnicima, stanovnicima Fruške gore i profesionalno izloženim osobama.

10. Uvođenje programa imunizacije opravdano je samo za izloženu populaciju i osobe koje profesionalno ili rekreativno borave na Fruškoj gori, a naročito osobe starije od 50 godina, koje su u povećanom riziku od nastanka težih formi ove bolesti.

7. LITERATURA

1. Petrović V, Šeguljev Z, Radovanović Z. Krpeljski encefalitis. U: Petrović V, urednik. Imunizacija protiv zaraznih bolesti. Novi Sad: Medicinski fakultet; 2015. str. 153-8.
2. Dobler G, Gniel D, Petermann R, Pfeffer M. Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr.* 2012;162(11-12):230-8.
3. Kahl O, Pogodina VV, Poponnikova T, Süß J, Zlobin VI. A short history of TBE. Chapter 1. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
4. Schneider H. Über epidemische acute meningitis serosa. *Wiener Klin Wochenschr.* 1931;44:350–2.
5. Zilber LA, Levkovich EN, Shubladze Ak, Chumakov MP, Solov'ev VD, Sheboldaeva AD. Etiology of spring-summer epidemic encephalitis. *Arch Biol Sci.* 1938;52:162-83.
6. Pavlovsky EN. On the natural focality of infectious and parasitic diseases. *Vestn Akad Nauk SSSR.* 1939;10:98-108.
7. Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec.* 2011;86(24):241-56.
8. Růžek D, Avšič Županc T, Borde J, Chrdle A, Eyer L, Karganova G, et al. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral Res.* 2019;164:23-51.
9. Donoso-Mantke O, Karan LS, Růžek D. Tick-borne encephalitis virus: a general overview. In: Růžek D, editor. *Flavivirus Encephalitis*. Rijeka: InTech; 2011. p. 133- 56.
10. Kunz C. Vaccination against TBE in Austria: the success story continues. *Int J Med Microbiol.* 2002;291:56-7.
11. Gould EA, Solomon T. Pathogenic flaviviruses. *Lancet.* 2008;371(9611):500-9.
12. Grard G, Moureau G, Charrel RN, Lemasson JJ, Gonzalez JP, Gallian P, et al. Genetic characterization of tick-borne flaviviruses: new insights into evolution, pathogenetic determinants and taxonomy. *Virology.* 2007;361(1):80-92.
13. Gritsun TS, Lashkevich VA, Gould EA. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003;57:129–46.

14. Mansfield KL, Johnson N, Phipps LP, Stephenson JR, Fooks AR, Solomon T. Tick-borne encephalitis virus - a review of an emerging zoonosis. *J Gen Virol.* 2009;90:1781-94.
15. Růžek D, Yoshii K, Bloom ME, Gould EA. Virology. Chapter 2a. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
16. Pulkkinen LIA, Butcher SJ, Anastasina M. Tick-Borne Encephalitis Virus: A Structural View. *Viruses.* 2018;10(7):350.
17. Füzik T, Formanová P, Růžek D, Yoshii K, Niedrig M, Plevka P. Structure of tick-borne encephalitis virus and its neutralization by a monoclonal antibody. *Nat Commun.* 2018;9(1):436.
18. Velay A, Paz M, Cesbron M, Gantner P, Solis M, Soulier E, et al. Tick-borne encephalitis virus: molecular determinants of neuropathogenesis of an emerging pathogen. *Crit Rev Microbiol.* 2019;45(4):472-93.
19. Kerbo N, Donchenko I, Kutsar K, Vasilenko V. Tickborne encephalitis outbreak in Estonia linked to raw goat milk, May-June 2005. *Euro Surveill.* 2005;10(6):E050623.2.
20. Caini S, Szomor K, Ferenczi E, Szekelyne Gaspar A, Csohan A, Krisztalovics K, et al. Tick-borne encephalitis transmitted by unpasteurised cow milk in western Hungary, September to October 2011. *Euro Surveill.* 2012;17(12):20128.
21. Deviatkin AA, Karganova GG, Vakulenko YA, Lukashev AN. TBEV Subtyping in Terms of Genetic Distance. *Viruses.* 2020;12(11):1240.
22. Labuda M, Austyn JM, Zuffova E, Kozuch O, Fuchsberger N, Lysy J, et al. Importance of localized skin infection in tick-borne encephalitis virus transmission. *Virology.* 1996;219(2):357-66.
23. Růžek D, Dobler G, Donoso Mantke O. Tick-borne encephalitis: pathogenesis and clinical implications. *Travel Med Infect Dis.* 2010;8(4):223-32.
24. Kazimírová M, Thangamani S, Bartíková P, Hermance M, Holíková V, Štibrániová I, et al. Tick-Borne Viruses and Biological Processes at the Tick-Host-Virus Interface. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:339.
25. Albrecht P. Pathogenesis of neurotropic arbovirus infections. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1968;43:44-91.

26. Haglund M, Günther G. Tick-borne encephalitis--pathogenesis, clinical course and long-term follow-up. *Vaccine*. 2003;21:S11-8.
27. Dumpis U, Crook D, Oksi J. Tick-borne encephalitis. *Clin Infect Dis*. 1999;28(4):882-90.
28. McMinn PC. The molecular basis of virulence of the encephalitogenic flaviviruses. *J Gen Virol* 1997;78:2711-22.
29. Toporkova MG, Aleshin SE, Ozherelkov SV, Nadezhdina MV, Stephenson JR, Timofeev AV. Serum levels of interleukin 6 in recently hospitalized tick-borne encephalitis patients correlate with age, but not with disease outcome. *Clin Exp Immunol*. 2008;152:517-21.
30. Gelpi E, Preusser M, Garzuly F, Holzmann H, Heinz FX, Budka H. Visualization of Central European tick-borne encephalitis in fatal human cases. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005;64:506-12.
31. Gelpi E, Preusser M, Laggner U, Garzuly F, Holzmann H, Heinz FX, et al. Inflammatory response in human tick-borne encephalitis: analysis of postmortem brain tissue. *J Neurovirool*. 2006;12(4):322-7.
32. Valarcher JF, Hägglund S, Juremalm M, Blomqvist G, Renström L, Zohari S, et al. Tick-borne encephalitis. *Rev Sci Tech*. 2015;34(2):453-66.
33. Chmelař J, Kotál J, Karim S, Kopacek P, Francischetti IMB, Pedra JHF, et al. Sialomes and Mialomes: A Systems-Biology View of Tick Tissues and Tick-Host Interactions. *Trends Parasitol*. 2016;32(3):242-54.
34. González-Navajas JM, Lee J, David M, Raz E. Immunomodulatory functions of type I interferons. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(2):125–35.
35. Fares M, Cochet-Bernoin M, Gonzalez G, Montero-Menei CN, Blanchet O, Benchoua A, et al. Pathological modeling of TBEV infection reveals differential innate immune responses in human neurons and astrocytes that correlate with their susceptibility to infection. *J Neuroinflammation*. 2020;17(1):76.
36. Kadowaki N, Liu YJ. Natural type I interferon-producing cells as a link between innate and adaptive immunity. *Hum Immunol*. 2002;63(12):1126-32.
37. Nuttall PA, Labuda M. Saliva-assisted transmission of tick-borne pathogens. In: Bowman AS, Nuttall PA, editors. *Ticks: Biology, Disease and Control*. Cambridge: Cambridge University Press; 2008. p. 205–19.

38. Wikel SK, Ramachandra RN, Bergman DK. Tick-induced modulation of the host immune response. *Int J Parasitol.* 1994;24(1):59-66.
39. Gredmark-Russ S, Varnaite R. Immunology of TBEV infection. Chapter 9. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
40. Růžek D, Salát J, Palus M, Gritsun TS, Gould EA, Dyková I, et al. CD8⁺ T-cells mediate immunopathology in tick-borne encephalitis. *Virology.* 2009;384(1):1-6.
41. Bogovič P, Lusa L, Korva M, Pavletič M, Rus KR, Lotrič-Furlan S, et al. Inflammatory Immune Responses in the Pathogenesis of Tick-Borne Encephalitis. *J Clin Med.* 2019;8(5):731.
42. Holzmann H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine.* 2003;21:S36-40.
43. Günther G, Haglund M, Lindquist L, Sköldenberg B, Forsgren M. Intrathecal IgM, IgA and IgG antibody response in tick-borne encephalitis. Long-term follow-up related to clinical course and outcome. *Clin Diagn Virol.* 1997;8(1):17-29.
44. Arnež M, Avšič-Županc T. Tick-borne encephalitis in children: an update on epidemiology and diagnosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2009;7(10):1251-60.
45. Dörrbecker B, Dobler G, Spiegel M, Hufert FT. Tick-borne encephalitis virus and the immune response of the mammalian host. *Travel Med Infect Dis.* 2010;8(4):213-22.
46. Kaiser R. The clinical and epidemiological profile of tick-borne encephalitis in southern Germany 1994-98: a prospective study of 656 patients. *Brain.* 1999;122(11):2067-78.
47. Jereb M, Karner P, Muzlovic I, Jurca T. Severe tick-borne encephalitis in Slovenia in the years 2001-2005: time for a mass vaccination campaign? *Wien Klin Wochenschr.* 2006;118(23-24):765-8.
48. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet.* 2008;371(9627):1861-71.
49. Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases.* 2015;3(5):430-41.
50. Lenhard T, Ott D, Jakob NJ, Pham M, Bäumer P, Martinez-Torres F, et al. Predictors, Neuroimaging Characteristics and Long-Term Outcome of Severe European Tick-Borne Encephalitis: A Prospective Cohort Study. *PLoS One.* 2016;11(4):e0154143.
51. Bogovic P, Lotric-Furlan S, Strle F. What tick-borne encephalitis may look like: clinical signs and symptoms. *Travel Med Infect Dis.* 2010;8(4):246-50.

52. Borde JP, Zajkowska J. TBE in adults. Chapter 5. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
53. Kaiser R. Tick-borne encephalitis: clinical findings and prognosis in adults. *Wien Med Wochenschr.* 2012; 162:239-43.
54. Kollaritsch H, Krasilnikov V, Holzmann H, Karganova G, Barrett A, Süss J. Background document on vaccines and vaccination against tick-borne encephalitis. Geneva: WHO Strategic Advisory Group of Experts on Immunization; 2011.
55. Vilibić-Čavlek T, Barbić L, Pandak N, Pem-Novosel I, Stevanović V, Kaić B, et al. Virus krpeljnog encefalitisa: epidemiološka i klinička slika, dijagnostika i prevencija. *Acta Med Croat.* 2014;68,393-404.
56. Beer S, Brune N, Kesselring J. Detection of anterior horn lesions by MRI in central European tick-borne encephalomyelitis. *J Neurol.* 1999;246(12):1169-71.
57. Zambito Marsala S, Pistacchi M, Gioulis M, Mel R, Marchini C, Francavilla E. Neurological complications of tick borne encephalitis: the experience of 89 patients studied and literature review. *Neurol Sci.* 2014;35(1):15-21.
58. Kovalev SY, Mukhacheva TA. Reconsidering the classification of tick-borne encephalitis virus within the Siberian subtype gives new insights into its evolutionary history. *Infect Genet Evol.* 2017;55:159-65.
59. Stähelin-Massik J, Zimmermann H, Gnehm HE. Tick-borne encephalitis in Swiss children 2000-2004: five-year nationwide surveillance of epidemiologic characteristics and clinical course. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27:555-7.
60. Mišić-Majerus Lj, Bujčić N, Mađarić V, Avšić-Županc T. Hepatitis caused by tick-borne meningoencephalitis virus (TBEV)- a rare clinical manifestation outside the central nervous system involvement. *Acta Med Croat.* 2005;59:347-52.
61. Laursen K, Knudsen JD. Tick-borne encephalitis: a retrospective study of clinical cases in Bornholm, Denmark. *Scand J Infect Dis.* 2003;35(5):354-7.
62. Bojkiewicz E, Toczyłowski K, Sulik A. Tick-borne encephalitis - a review of current epidemiology, clinical symptoms, management and prevention. *Przegl Epidemiol.* 2020;74(2):316-25.

63. Haglund M, Forsgren M, Lindh G, Lindquist L. A 10-year follow-up study of tick-borne encephalitis in the Stockholm area and a review of the literature: need for a vaccination strategy. *Scand J Infect Dis.* 1996;28:217–24.
64. Günther G, Haglund M, Lindquist L, Forsgren M, Sköldenber B: Tick-borne encephalitis in Sweden in relation to aseptic meningo-encephalitis of other etiology: a prospective study of clinical course and outcome. *J Neurol.* 1997;244:230–8.
65. Süß J. Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine.* 2003;21 Suppl 1:S19-35.
66. Michelitsch A, Wernike K, Klaus C, Dobler G, Beer M. Exploring the Reservoir Hosts of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Viruses.* 2019;11(7):669.
67. Nava S, Guglielmone AA, Mangold AJ. An overview of systematics and evolution of ticks. *Front Biosci.* 2009;14:2857-77.
68. Chitimia-Dobler L, Mackenstedt U, Kahl O, Petney TN. Transmission/ Natural cycle. Chapter 3. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
69. Fares W, Dachraoui K, Cherni S, Barhoumi W, Slimane TB, Younsi H, et al. Tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) ticks, Tunisia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021;12(1):101606.
70. Charrel RN, Attoui H, Butenko AM, Clegg JC, Deubel V, Frolova TV, et al. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(12):1040-55.
71. Lundkvist A, Vene S, Golovljova I, Mavtchoutko V, Forsgren M, Kalnina V, et al. Characterization of tick-borne encephalitis virus from Latvia: Evidence for co-circulation of three distinct subtypes. *J Med Virol.* 2001;65(4):730–5.
72. Süß J. Tick-borne encephalitis 2010: Epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia -An overview. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011;2(1):2–15.
73. Labuda M, Kozuch O, Zuffová E, Elecková E, Hails RS, Nuttall PA. Tick-borne encephalitis virus transmission between ticks cofeeding on specific immune natural rodent hosts. *Virology.* 1997;235(1):138-43.
74. Tkachev SE, Babkin IV, Chicherina GS, Kozlova IV, Verkhozina MM, Demina TV, et al. Genetic diversity and geographical distribution of the Siberian subtype of the tick-borne encephalitis virus. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020;11(2):101327.

75. Jääskeläinen AE, Tonteri E, Sironen T, Pakarinen L, Vaheiri A, Vapalahti O. European subtype tick-borne encephalitis virus in *Ixodes persulcatus* ticks. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(2):323-5.
76. Kozlova IV, Demina TV, Tkachev SE, Doroshchenko EK, Lisak OV, Verkhovina MM, et al. Characteristics of the Baikal type of tick-borne encephalitis virus circulating in eastern Siberia. *Acta Biomed Sci.* 2018;3(4):53–60.
77. Chitimia-Dobler L, Lemhöfer G, Król N, Bestehorn M, Dobler G, Pfeiffer M. Repeated isolation of tick-borne encephalitis virus from adult *Dermacentor reticulatus* ticks in an endemic area in Germany. *Parasit Vectors.* 2019;12(1):90.
78. Jurišić A. Iksodidni krpelji (Acari: Ixodidae)- vektori i rezervoari uzročnika oboljenja kod ljudi i životinja. Disertacija. Novi Sad, Republika Srbija: Univerzitet u Novom Sadu, 2012.
79. Klaus C, Gethmann J, Hoffmann B, Ziegler U, Heller M, Beer M. Tick infestation in birds and prevalence of pathogens in ticks collected from different places in Germany. *Parasitol Res.* 2016;115(7):2729-40.
80. Korenberg E. Seasonal population dynamics of *Ixodes* ticks and tick-borne encephalitis virus. *Exp Appl Acarol.* 2000;24:665-81.
81. Gray JS, Dautel H, Estrada-Peña A, Kahl O, Lindgren E. Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2009;2009:593232.
82. Havlikova S, Ličkova M, Klempa B. Non-viraemic transmission of tick-borne viruses. *Acta Virol.* 2013;57:123-9.
83. Nuttall PA, Labuda M. Dynamics of infection in tick vectors and at the tick-host interface. *Adv Virus Res.* 2003; 60:233–272.
84. Pettersson JH, Golovljova I, Vene S, Jaenson TG. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* ticks in northern Europe with particular reference to Southern Sweden. *Parasit Vectors.* 2014;7:102.
85. Bakhvalova VN, Dobrotvorskyy AK, Panov VV, Matveeva VA, Tkachev SE, Morozova OV. Natural tick-borne encephalitis virus infection among wild small mammals in the southeastern part of western Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2006;6(1):32-41.
86. Katargina O, Russakova S, Geller J, Kondrusik M, Zajkowska J, Zygotiene M, et al. Detection and characterization of tick-borne encephalitis virus in Baltic countries and eastern Poland. *PLoS One.* 2013;8(5):e61374.

87. Ličková M, Fumačová Havlíková S, Sláviková M, Klempa B. Alimentary Infections by Tick-Borne Encephalitis Virus. *Viruses*. 2021;14(1):56.
88. Salat J, Růžek D. Tick-Borne Encephalitis in Domestic Animals. *Acta Virol*. 2020;64,226–32.
89. Rizzoli A, Neteler M, Rosà R, Versini W, Cristofolini A, Bregoli M, et al. Early detection of tick-borne encephalitis virus spatial distribution and activity in the province of Trento, northern Italy. *Geospat Health*. 2007;1(2):169-76.
90. Amicizia D, Domnich A, Panatto D, Lai PL, Cristina ML, Avio U, et al. Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) in Europe and its prevention by available vaccines. *Hum Vaccin Immunother*. 2013;9(5):1163-71.
91. Kríz B, Benes C, Daniel M. Alimentary transmission of tick-borne encephalitis in the Czech Republic (1997-2008). *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. 2009;58(2):98-103.
92. Ilic M, Barbic L, Bogdanic M, Tabain I, Savic V, Kosanovic Licina ML, et al. Tick-borne encephalitis outbreak following raw goat milk consumption in a new micro-location, Croatia, June 2019. *Ticks Tick Borne Dis*. 2020;11(6):101513.
93. Hudopisk N, Korva M, Janet E, Simetinger M, Grgič-Vitek M, Gubenšek J, et al. Tick-borne encephalitis associated with consumption of raw goat milk, Slovenia, 2012. *Emerg Infect Dis*. 2013;19(5):806-8.
94. Avsic-Zupanc T, Poljak M, Maticic M, Radsel-Medvescek A, LeDuc JW, Stiasny K, et al. Laboratory acquired tick-borne meningoencephalitis: characterisation of virus strains. *Clin Diagn Virol*. 1995;4(1):51-9.
95. Lipowski D, Popiel M, Perlejewski K, Nakamura S, Bukowska-Osko I, Rzadkiewicz E, et al. A Cluster of Fatal Tick-borne Encephalitis Virus Infection in Organ Transplant Setting. *J Infect Dis*. 2017;215(6):896-901.
96. Wahlberg P, Saikku P, Brummer-Korvenkontio M. Tick-borne viral encephalitis in Finland: The clinical features of Kumlinge disease during 1959–1987. *J Intern Med*. 1989;225(3):173–7.
97. Kräusler J. 23 years of TBE in the district of Neunkirchen (Austria). In: Kunz C, editor. *Tick-borne encephalitis*. Vienna: Facultas; 1981. p. 6–12.

98. Vaisviliene D. TBE in Lithuania. In: Süss J, Kahl O, editors. Proceedings of the Fourth International Potsdam Symposium on Tick-borne diseases; 1997; Berlin, Germany. Lengerich: Pabst Science Publishers; 1997. p.110-13.
99. Erber W, Schmitt HJ, Janković TV. Epidemiology by country-an overview. Chapter 12a. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. The TBE Book, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
100. European Centre for Disease Prevention and Control [Internet]. Tick-borne encephalitis- Annual epidemiological report for 2019. Stockholm: ECDC; 2021 [cited 2022 Jan 17]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER-TBE-2019.pdf>
101. European Centre for Disease Prevention and Control [Internet]. Tick-borne encephalitis- Annual epidemiological report for 2018. Stockholm: ECDC; 2019 [cited 2022 Jan 17]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/TBE-annual-epidemiological-report-2018.pdf>
102. European Centre for Disease Prevention and Control [Internet]. Tick-borne encephalitis- Annual epidemiological report for 2017. Stockholm: ECDC; 2019 [cited 2022 Jan 17]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2017-tick-borne-encephalitis_0.pdf
103. Rostasy K. Tick-borne encephalitis in children. *Wien Med Wochenschr.* 2012;162:244-7.
104. Süss J, Kahl O, Aspöck H, Hartelt K, Vaheri A, Oehme R, et al. Tick-borne encephalitis in the age of general mobility. *Wien Med Wochenschr.* 2010;160(3-4):94-100.
105. Taba P, Schmutzhard E, Forsberg P, Lutsar I, Ljøstad U, Mygland Å, et al. EAN consensus review on prevention, diagnosis and management of tick-borne encephalitis. *Eur J Neurol.* 2017;24(10):1214-61.
106. Braks M, van der Giessen J, Kretzschmar M, van Pelt W, Scholte EJ, Reusken C, et al. Towards an integrated approach in surveillance of vector-borne diseases in Europe. *Parasit Vectors.* 2011;4:192.
107. Donoso Mantke O, Schädler R, Niedrig M. A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries. *Euro Surveill.* 2008;13(17):18848.

108. Amato-Gauci A, Zeller H. Tick-borne encephalitis joins the diseases under surveillance in the European Union. *Euro Surveill.* 2012;17(42):20299.
109. Rabozzi G, Bonizzi L, Crespi E, Somaruga C, Sokooti M, Tabibi R, et al. Emerging zoonoses: the "one health approach". *Saf Health Work.* 2012;3(1):77-83.
110. Imhoff M, Hagedorn P, Schulze Y, Hellenbrand W, Pfeffer M, Niedrig M. Review: Sentinels of tick-borne encephalitis risk. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015;6(5):592-600.
111. Institut za javno zdravlje Srbije [Internet]. Izveštaj o zaraznim bolestima u Republici Srbiji za 2019. godinu. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije; 2021 [cited 2022 Feb 2]. Available from: <https://www.batut.org.rs/download/izvestaji/Godisnji%20izvestaj%20o%20zaraznim%20bolestima%202019.pdf>
112. Vasić A, Bjekić J, Veinović G, Mihaljica D, Sukara R, Poluga J, et al. Knowledge, Attitudes, and Practices on Tick-Borne Encephalitis Virus and Tick-Borne Diseases within Professionally Tick-Exposed Persons, Health Care Workers and General Population in Serbia: A Questionnaire-Based Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19:867.
113. Službeni list AP Vojvodine [Internet]. Poseban program iz oblasti javnog zdravlja za teritoriju AP Vojvodine za 2020. godinu. Novi Sad: Pokrajinski sekretarijat za obrazovanje, propise, upravu i nacionalne manjine – nacionalne zajednice; 54/2019 [cited 2022 Jan 27]. Available from: http://demo.paragraf.rs/demo/combined/Old/t/t2020_01/t01_0092.htm
114. European Centre for Disease Prevention and Control [Internet]. Factsheet about tick-borne encephalitis. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control [cited 2022 Jan 22]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/tick-borne-encephalitis/facts/factsheet>
115. Dobler G. Diagnosis. Chapter 10. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
116. Veje M, Studahl M, Johansson M, Johansson P, Nolskog P, Bergström T. Diagnosing tick-borne encephalitis: a re-evaluation of notified cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(2):339-44
117. Veje M, Studahl M, Norberg P, Roth A, Möbius U, Brink M, et al. Detection of tick-borne encephalitis virus RNA in urine. *J Clin Microbiol.* 2014;52(11):4111-2.

118. Litzba N, Zelená H, Kreil TR, Niklasson B, Kühlmann-Rabens I, Remoli ME, et al. Evaluation of different serological diagnostic methods for tick-borne encephalitis virus: enzyme-linked immunosorbent, immunofluorescence, and neutralization assay. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014;14(2):149-59.
119. Stiasny K, Aberle JH, Chmelik V, Karrer U, Holzmann H, Heinz FX. Quantitative determination of IgM antibodies reduces the pitfalls in the serodiagnosis of tick-borne encephalitis. *J Clin Virol.* 2012;54(2):115-20.
120. Vilibic-Cavlek T, Ferenc T, Vujica Ferenc M, Bogdanic M, Potocnik-Hunjadi T, Sabadi D, et al. Cross-Reactive Antibodies in Tick-Borne Encephalitis: Case Report and Literature Review. *Antibodies.* 2022;11(4):72.
121. Kunze U, Haditsch M. TBE as a matter of public health. Chapter 13. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
122. World Health Organization [Internet]. *International Travel and Health*. Chapter 6. Geneva: WHO, 2019 [cited 2022 Jan 19]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/travel-and-health/9789241580472-eng-chapter-6.pdf?sfvrsn=8c1a400c_14
123. Erber W, Schmitt HJ. Self-reported tick-borne encephalitis (TBE) vaccination coverage in Europe: Results from a cross-sectional study. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018;9(4):768-77.
124. Zavadská D, Anca I, André F, Bakir M, Chlibek R, Cižman M, et al. Recommendations for tick-borne encephalitis vaccination from the Central European Vaccination Awareness Group (CEVAG). *Hum Vaccin Immunother.* 2013;9(2):362-74.
125. Xing Y, Schmitt HJ, Arguedas A, Yang J. Tick-borne encephalitis in China: A review of epidemiology and vaccines. *Vaccine.* 2017;35(9):1227-37.
126. Pollabauer EM, Kollaritsch H. Prevention; Vaccines and immunoglobins. Chapter 14. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
127. Estrada-Peña A, Mihalca AD, Petney TN. *Ticks of Europe and North Africa: A guide to species identification*. Berlin/Heidelberg: Springer International Publishing; 2018.
128. Potkonjak A, Petrović T, Ristanović E, Lalić I, Vračar V, Savić S, et al. Molecular Detection and Serological Evidence of Tick-Borne Encephalitis Virus in Serbia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2017;17(12):813-20.

129. Reusken C, Boonstra M, Rugebregt S, Scherbeijn S, Chandler F, Avšič-Županc T, et al. An evaluation of serological methods to diagnose tick-borne encephalitis from serum and cerebrospinal fluid. *J Clin Virol.* 2019;120:78-83.
130. Salat J, Strakova P, Stefanik M, Slosarkova S, Ruzek D. Sero-epidemiology of tick-borne encephalitis in small ruminants in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis.* 2022;13(5):101996.
131. Stiasny K, Holzmann H, Heinz FX. Characteristics of antibody responses in tick-borne encephalitis vaccination breakthroughs. *Vaccine.* 2009;27(50):7021–6.
132. Nuttall P, editor. *Climate, Ticks and Disease.* United Kingdom: Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI); 2021.
133. Marano C, Moodley M, Melander E, De Moerlooze L, Nothdurft HD. Perceptions of tick-borne encephalitis risk: a survey of travellers and travel clinics from Canada, Germany, Sweden and the UK. *J Travel Med.* 2019;26(Suppl 1):S10-6.
134. Steffen R. Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) in international travellers to Western/Central Europe and conclusions on vaccination recommendations. *J Travel Med.* 2016;23(4):taw018.
135. Petri E, Gniel D, Zent O. Tick-borne encephalitis (TBE) trends in epidemiology and current and future management. *Travel Med Infect Dis.* 2010;8(4):233-45.
136. Kunze U. Tick-borne encephalitis: the impact of epidemiology, changing lifestyle, and environmental factors. Conference report of the 12th Annual Meeting of the International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW-TBE). *Vaccine.* 2011;29(7):1355-6.
137. Petrović V, Ristanović E, Potkonjak A. TBE in Serbia. Chapter 12b. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
138. Živojinović M, Stokić-Nikolić S, Dobrosavljević I, Lazić M, Radojičić S, Stojanović M, et al. Krpeljski encefalitis: Nova bolest u Srbiji. U: *Uzgoj, reprodukcija i zdravstvena zaštita konja*; 2017 Avgust 31- Septembar 1; Ljubičevo, Serbia. Beograd: Fakultet veterinarske medicine; 2017. p. 32-7.
139. Ernez M, Avsic-Zupanc T. Tick-borne encephalitis in children: an update on epidemiology and diagnosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2009;7(10):1251-60.

140. Šeguljev Z, Vidić B, Ilić S, Savić S, Petrović V. Incidence of Lyme disease in humans in the region of AP Vojvodina (Serbia). In: 2nd International Epizootiology Days; 2012 Apr 18-21; Belgrade, Serbia. Belgrade: Serbian Veterinary Association; 2012. p. 167-74.
141. Čik Nađ E, Ćosić G, Đurić P. Epidemiološke karakteristike i mogućnosti prevencije vektorskih bolesti u Vojvodini. U: Dragiša Popović, urednik. Zarazne i parazitarne bolesti ljudi i životinja u Vojvodini. Novi Sad: Matica srpska; 2003.
142. Jemeršić L, Deždek D, Brnić D, Prpić J, Janicki Z, Keros T, et al. Detection and genetic characterization of tick-borne encephalitis virus (TBEV) derived from ticks removed from red foxes (*Vulpes vulpes*) and isolated from spleen samples of red deer (*Cervus elaphus*) in Croatia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014;5(1):7-13.
143. Wondim MA, Czupryna P, Pancewicz S, Kruszewska E, Groth M, Moniuszko-Malinowska A. Epidemiological Trends of Trans-Boundary Tick-Borne Encephalitis in Europe, 2000-2019. *Pathogens.* 2022;11(6):704.
144. Han X, Aho M, Vene S, Peltomaa M, Vaheri A, Vapalahti O. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in ticks in Finland. *J Med Virol.* 2001;64:21-8.
145. Borde JP, Kaier K, Hehn P, Matzarakis A, Frey S, Bestehorn M, et al. The complex interplay of climate, TBEV vector dynamics and TBEV infection rates in ticks—Monitoring a natural TBEV focus in Germany, 2009–2018. *PLoS One.* 2021;16(1):e0244668.
146. Kniazeva V, Pogotkaya Y, Higgs S, Krasko A. The Prevalence of Different Human Pathogenic Microorganisms Transmitted by Ixodes Tick Vectors in Belarus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2021;21(1):6-10.
147. Rieille N, Bressanelli S, Freire CC, Arcioni S, Gern L, Péter O, et al. Prevalence and phylogenetic analysis of tick-borne encephalitis virus (TBEV) in field-collected ticks (*Ixodes ricinus*) in southern Switzerland. *Parasit Vectors.* 2014;7:443.
148. Frimmel S, Krienke A, Riebold D, Loebermann M, Littmann M, Fiedler K, et al. Tick-borne encephalitis virus habitats in North East Germany: reemergence of TBEV in ticks after 15 years of inactivity. *Biomed Res Int.* 2014;2014:308371.
149. Klaus C, Hoffmann B, Hering U, Mielke B, Sachse K, Beer M, et al. Tick-borne encephalitis (TBE) virus prevalence and virus genome characterization in field-collected

- ticks (*Ixodes ricinus*) from risk, non-risk and former risk areas of TBE, and in ticks removed from humans in Germany. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(3):238-44.
150. Adjadj NR, Vervaeke M, Sohier C, Cargnel M, De Regge N. Tick-Borne Encephalitis Virus Prevalence in Sheep, Wild Boar and Ticks in Belgium. *Viruses.* 2022;14(11):2362.
151. Lernout T, De Regge N, Tersago K, Fonville M, Suin V, Sprong H. Prevalence of pathogens in ticks collected from humans through citizen science in Belgium. *Parasit Vectors.* 2019;12(1):550.
152. Agergaard CN, Rosenstjerne MW, Bødker R, Rasmussen M, Andersen PHS, Fomsgaard A. New tick-borne encephalitis virus hot spot in Northern Zealand, Denmark, October 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(43):1900639.
153. Holding M, Dowall SD, Medlock JM, Carter DP, McGinley L, Curran-French M, et al. Detection of new endemic focus of tick-borne encephalitis virus (TBEV), Hampshire/Dorset border, England, September 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(47):1900658.
154. Topp AK, Springer A, Dobler G, Bestehorn-Willmann M, Monazahian M, Strube C. New and Confirmed Foci of Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV) in Northern Germany Determined by TBEV Detection in Ticks. *Pathogens.* 2022;11(2):126.
155. Ott D, Ulrich K, Ginsbach P, Öhme R, Bock-Hensley O, Falk U, et al. Tick-borne encephalitis virus (TBEV) prevalence in field-collected ticks (*Ixodes ricinus*) and phylogenetic, structural and virulence analysis in a TBE high-risk endemic area in southwestern Germany. *Parasit Vectors.* 2020;13(1):303.
156. Lang D, Chitimia-Dobler L, Bestehorn-Willmann M, Lindau A, Drehmann M, Stroppel G, et al. The Emergence and Dynamics of Tick-Borne Encephalitis Virus in a New Endemic Region in Southern Germany. *Microorganisms.* 2022;10(11):2125.
157. Mansbridge CT, Osborne J, Holding M, Dryden M, Aram M, Brown K, et al. Autochthonous tick-borne encephalitis in the United Kingdom: A second probable human case and local eco-epidemiological findings. *Ticks Tick Borne Dis.* 2022;13(1):101853.
158. Pintér R, Madai M, Vadkerti E, Németh V, Oldal M, Kemenesi G, et al. Identification of tick-borne encephalitis virus in ticks collected in southeastern Hungary. *Ticks Tick Borne Dis.* 2013;4(5):427-31.

159. Pavlov P, Daniel M, Georgiev B, Kolman JM, Rashev KH, Arnaudov D, et al. The natural focus of tick-borne encephalitis of sheep and man in the Rhodope mountains (Bulgaria). *Folia Parasitol (Praha)*. 1972;19(1):33-40.
160. Zlobin VI, Adeljšin RA, Golubović S, Tešanović M, Verhozina MM, Kozlova IV, et al. Molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus. *Mozaik medicinskih komunikacija- Medici.com*. 2006;12:11-4.
161. Abdiyeva K, Turebekov N, Yegemberdiyeva R, Dmitrovskiy A, Yeraliyeva L, Shapiyeva Z, et al. Vectors, molecular epidemiology and phylogeny of TBEV in Kazakhstan and central Asia. *Parasit Vectors*. 2020;13(1):504.
162. Wójcik-Fatla A, Cisak E, Zajac V, Zwoliński J, Dutkiewicz J. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks collected from the Lublin region (eastern Poland). *Ticks Tick Borne Dis*. 2011;2(1):16-9.
163. Ponomareva EP, Mikryukova TP, Gori AV, Kartashov MY, Protopopova EV, Chausov EV, et al. Detection of Far-Eastern subtype of tick-borne encephalitis viral RNA in ticks collected in the Republic of Moldova. *J Vector Borne Dis*. 2015;52(4):334-6.
164. Zöldi V, Papp T, Rigó K, Farkas J, Egyed L. A 4-year study of a natural tick-borne encephalitis virus focus in Hungary, 2010-2013. *Ecohealth*. 2015;12(1):174-82.
165. Pukhovskaya NM, Morozova OV, Vysochina NP, Belozerova NB, Bakhmetyeva SV, Zdanovskaya NI, et al. Tick-borne encephalitis virus in arthropod vectors in the Far East of Russia. *Ticks Tick Borne Dis*. 2018;9(4):824-33.
166. Stefanoff P, Pfeffer M, Hellenbrand W, Rogalska J, Rühle F, Makówka A, et al. Virus detection in questing ticks is not a sensitive indicator for risk assessment of tick-borne encephalitis in humans. *Zoonoses Public Health*. 2013;60(3):215-26.
167. Krstić M, Stajković N, Lazić S. Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes ricinus* ticks and assessment of entomological risk index at localities in Belgrade. *Vojnosanit Pregl*. 2016;73(9):817-24.
168. Botelho-Nevers E, Gagneux-Brunon A, Velay A, Guerbois-Galla M, Grard G, Bretagne C, et al. Tick-Borne Encephalitis in Auvergne-Rhône-Alpes Region, France, 2017-2018. *Emerg Infect Dis*. 2019;25(10):1944-8.

169. Wallenhammar A, Lindqvist R, Asghar N, Gunaltay S, Fredlund H, Davidsson Å, et al. Revealing new tick-borne encephalitis virus foci by screening antibodies in sheep milk. *Parasit Vectors*. 2020;13(1):185.
170. Smura T, Tonteri E, Jääskeläinen A, von Troil G, Kuivanen S, Huitu O, et al. Recent establishment of tick-borne encephalitis foci with distinct viral lineages in the Helsinki area, Finland. *Emerg Microbes Infect*. 2019;8(1):675-83.
171. Soleng A, Edgar KS, Paulsen KM, Pedersen BN, Okbaldet YB, Skjetne IEB, et al. Distribution of *Ixodes ricinus* ticks and prevalence of tick-borne encephalitis virus among questing ticks in the Arctic Circle region of northern Norway. *Ticks Tick Borne Dis*. 2018;9(1):97-103.
172. Stoefs A, Heyndrickx L, De Winter J, Coeckelbergh E, Willekens B, Alonso-Jiménez A, et al. Autochthonous Cases of Tick-Borne Encephalitis, Belgium, 2020. *Emerg Infect Dis*. 2021;27(8):2179-82.
173. de Graaf JA, Reimerink JH, Voorn GP, Bij de Vaate EA, de Vries A, Rockx B, et al. First human case of tick-borne encephalitis virus infection acquired in the Netherlands, July 2016. *Euro Surveill*. 2016;21(33):30318.
174. Lukan M, Bullova E, Petko B. Climate warming and tick-borne encephalitis, Slovakia. *Emerg Infect Dis*. 2010;16(3):524-6.
175. Danielová V, Kliegrová S, Daniel M, Benes C. Influence of climate warming on tick-borne encephalitis expansion to higher altitudes over the last decade (1997-2006) in the Highland Region (Czech Republic). *Cent Eur J Public Health*. 2008;16(1):4-11.
176. Holzmann H, Aberle SW, Stiasny K, Werner P, Mischak A, Zainer B, et al. Tick-borne encephalitis from eating goat cheese in a mountain region of Austria. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(10):1671-3.
177. Briggs BJ, Atkinson B, Czechowski DM, Larsen PA, Meeks HN, Carrera JP, et al. Tick-borne encephalitis virus, Kyrgyzstan. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(5):876-9.
178. Salat J, Mihalca AD, Mihaiu M, Modrý D, Ruzek D. Tick-Borne Encephalitis in Sheep, Romania. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(12):2065-7.
179. Knap N, Avšič-Županc T. Factors affecting the ecology of tick-borne encephalitis in Slovenia. *Epidemiol Infect*. 2015;143(10):2059-67.

180. Riccardi N, Antonello RM, Luzzati R, Zajkowska J, Di Bella S, Giacobbe DR. Tick-borne encephalitis in Europe: a brief update on epidemiology, diagnosis, prevention, and treatment. *Eur J Intern Med.* 2019;62:1-6.
181. European Centre for Disease Prevention and Control [Internet]. Surveillance Atlas of Infectious Diseases. Stockholm: ECDC; 2022 [cited 2022 Jan 22]. Available from: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>
182. Kunze U. Report of the 21st Annual Meeting of the International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW-TBE): TBE - record year 2018. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020;11(1):101287.
183. Institut za javno zdravlje Srbije [Internet]. Izveštaj o zaraznim bolestima u Republici Srbiji za 2018. godinu. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije; 2020 [cited 2022 Feb 2]. Available from: <https://www.batut.org.rs/download/izvestaji/GodisnjiIzvestajOZaraznimBolestima2018.pdf>
184. Mohareb E, Christova I, Soliman A, Younan R, Kantardjiev T. Tick-borne encephalitis in Bulgaria, 2009 to 2012. *Euro Surveill.* 2013;18(46):20635.
185. European Centre for Disease Prevention and Control [Internet]. Epidemiological situation of tick-borne encephalitis in the European Union and European Free Trade Association countries. Stockholm: ECDC; 2012 [cited 2022 June 20]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/TBE-in-EU-EFTA.pdf>
186. Zeman P. Cyclic patterns in the central European tick-borne encephalitis incidence series. *Epidemiol Infect.* 2017;145(2):358-67.
187. Petrović T, Šekler M, Petrić D, Vidanović D, Potkonjak A, Hrnjaković Cvjetković I, et al. Flaviviruses at the territory of Serbia-present situation and challenges. *Arch Vet Med.* 2019;11:53–70.
188. Schuler M, Zimmermann H, Altpeter E, Heininger U. Epidemiology of tick-borne encephalitis in Switzerland, 2005 to 2011. *Euro Surveill.* 2014;19(13):20756.
189. Radžišauskienė D, Žagminas K, Ašoklienė L, Jasionis A, Mameniškienė R, Ambrozaitis A, et al. Epidemiological patterns of tick-borne encephalitis in Lithuania and clinical

- features in adults in the light of the high incidence in recent years: a retrospective study. *Eur J Neurol*. 2018;25(2):268-74.
190. Stefanoff P, Zielicka-Hardy A, Hlebowicz M, Konior R, Lipowski D, Szenborn L, et al. TBE enhanced surveillance working group. New endemic foci of tick-borne encephalitis (TBE) identified in districts where testing for TBE was not available before 2009 in Poland. *Parasit Vectors*. 2013;6:180.
191. Vilibic-Cavlek T, Savic V, Petrovic T, Toplak I, Barbic L, Petric D, et al. Emerging Trends in the Epidemiology of West Nile and Usutu Virus Infections in Southern Europe. *Front Vet Sci*. 2019;6:437.
192. Tonteri E, Kurkela S, Timonen S, Manni T, Vuorinen T, Kuusi M, et al. Surveillance of endemic foci of tick-borne encephalitis in Finland 1995-2013: evidence of emergence of new foci. *Euro Surveill*. 2015;20(37):30020.
193. Mailles A, Argemi X, Biron C, Fillatre P, De Broucker T, Buzel   R, et al. Changing profile of encephalitis: Results of a 4-year study in France. *Infect Dis Now*. 2022;52(1):1-6.
194. Kunze M, Banovi   P, Bogovi   P, Briciu V,   iviljak R, Dobler G, et al. Recommendations to Improve Tick-Borne Encephalitis Surveillance and Vaccine Uptake in Europe. *Microorganisms*. 2022;10(7):1283.
195. Pavlidou V, Geroy S, Diza E, Antoniadis A, Papa A. Epidemiological study of tick-borne encephalitis virus in northern Greece. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2007;7(4):611-5.
196. Voyiatzaki C, Papailia SI, Venetikou MS, Pouris J, Tsoumani ME, Papageorgiou EG. Climate Changes Exacerbate the Spread of *Ixodes ricinus* and the Occurrence of Lyme Borreliosis and Tick-Borne Encephalitis in Europe-How Climate Models Are Used as a Risk Assessment Approach for Tick-Borne Diseases. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(11):6516.
197. Bojkiewicz E, Toczyłowski K, Grygorczuk S, Zelazowska-Rutkowska B, Dunaj J, Zebrowska A, et al. The Prevalence of Asymptomatic Infections with Tick-Borne Encephalitis Virus and Attitude towards Tick-Borne Encephalitis Vaccine in the Endemic Area of Northeastern Poland. *Vaccines*. 2022;10(8):1294.
198. Stjernberg L, Holmkvist K, Berglund J. A newly detected tick-borne encephalitis (TBE) focus in south-east Sweden: a follow-up study of TBE virus (TBEV) seroprevalence. *Scand J Infect Dis*. 2008;40(1):4-10.

199. Ergünay K, Saygan MB, Aydoğan S, Litzba N, Sener B, Lederer S, et al. Confirmed exposure to tick-borne encephalitis virus and probable human cases of tick-borne encephalitis in Central/Northern Anatolia, Turkey. *Zoonoses Public Health*. 2011;58(3):220-7.
200. Marvik Å, Tveten Y, Pedersen AB, Stiasny K, Andreassen ÅK, Grude N. Low prevalence of tick-borne encephalitis virus antibodies in Norwegian blood donors. *Infect Dis*. 2021;53(1):44-51.
201. Hjetland R, Henningsson AJ, Vainio K, Dudman SG, Grude N, Ulvestad E. Seroprevalence of antibodies to tick-borne encephalitis virus and *Anaplasma phagocytophilum* in healthy adults from western Norway. *Infect Dis*. 2015;47(1):52-6.
202. Di Renzi S, Martini A, Binazzi A, Marinaccio A, Vonesch N, D'Amico W, et al. Risk of acquiring tick-borne infections in forestry workers from Lazio, Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29(12):1579-81.
203. Hofhuis A, van den Berg OE, Meerstadt-Rombach FS, van den Wijngaard CC, Chung NH, Franz E, et al. Exposure to tick-borne encephalitis virus among nature management workers in the Netherlands. *Ticks Tick Borne Dis*. 2021;12(5):101762.
204. Salehi-Vaziri M, Pouriayevali MH, Azad-Manjiri S, Vasmehjani AA, Baniasadi V, Fazlalipour M. The Seroprevalence of Tick-Borne Encephalitis in Rural Population of Mazandaran Province, Northern Iran (2018-2019). *Arch Clin Infect Dis*. 2020;15(1):e98867.
205. Banović P, Obregón D, Mijatović D, Simin V, Stankov S, Budakov-Obradović Z, et al. Tick-Borne Encephalitis Virus Seropositivity among Tick Infested Individuals in Serbia. *Pathogens*. 2021;10(3):301.
206. Banović P, Díaz-Sánchez AA, Đurić S, Sević S, Turkulov V, Lendak D, et al. Unexpected TBEV Seropositivity in Serbian Patients who Recovered from Viral Meningitis and Encephalitis. *Pathogens*. 2022;11(3):371.
207. Miletić Medved M, Đaković Rode O, Cvetko Krajinović L, Markotić A. Krpeljni meningoencefalitis u hrvatskoj srednjoj Posavini: seroepidemiološko ispitivanje u šumskih radnika. *Infektološki glasnik*. 2011;31(2):87-94.

208. Cinco M, Barbone F, Ciufolini MG, Mascioli M, Rosenfeld MA, Stefanel P, et al. Seroprevalence of tick-borne infections in forestry rangers from northeastern Italy. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(12):1056-61.
209. Noh JY, Song JY, Bae JY, Park MS, Yoon JG, Cheong HJ, et al. Seroepidemiologic survey of emerging vector-borne infections in South Korean forest/field workers. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021;15(8):e0009687.
210. Hrnjakovic Cvjetkovic I, Patić A, Nikolic N, Radovanov J, Kovacevic G, Jovanovic Galovic A, et al. Seroprevalence of West Nile virus and Tick-borne encephalitis virus in South Backa District and Nisava District. In: 48th Days of Preventive Medicine; 2014 Sep 23-26; Niš, Serbia. Niš: Faculty of Medicine; 2014. p. 35.
211. Coroian M, Mihalca AD, Dobler G, Euringer K, Gîrlău P, Borșan SD, et al. Seroprevalence Rates against West Nile, Usutu, and Tick-Borne Encephalitis Viruses in Blood-Donors from North-Western Romania. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(13):8182.
212. Dobler G, Tkachev S. General epidemiology of TBE. Chapter 11. In: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ, editors. *The TBE Book*, 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019.
213. Larsen AL, Kanestrøm A, Bjørland M, Andreassen A, Soleng A, Vene S, et al. Detection of specific IgG antibodies in blood donors and tick-borne encephalitis virus in ticks within a non-endemic area in southeast Norway. *Scand J Infect Dis.* 2014;46(3):181-4.
214. Thortveit ET, Aase A, Petersen LB, Lorentzen ÅR, Mygland Å, Ljøstad U. Human seroprevalence of antibodies to tick-borne microbes in southern Norway. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020;11(4):101410.
215. Schielein L, Tizek L, Biedermann T, Zink A. Tick bites in different professions and regions: pooled cross-sectional study in the focus area Bavaria, Germany. *BMC Public Health.* 2022;22(1):1-8.
216. Domanovic D, Giesecke J. How to define an area where transmission of arthropod-borne disease is occurring? *Euro Surveill.* 2012;17(20):20171.

Prilog 2. Spisak koordinata uzorkovanja krpelja

N	E	N	E	N	E
45.192530	19.646890	45.135382	19.902581	45.179296	19.316501
45.193020	19.646680	45.136612	19.902277	45.114930	19.898190
46.173290	19.645344	45.105530	19.641164	45.115280	19.897960
45.216044	19.631838	45.104621	19.639826	45.119891	19.895748
45.216044	19.631838	45.092500	19.866700	45.119900	19.896096
45.179996	19.721838	45.114840	19.767159	45.208430	19.469930
45.178405	19.721198	45.119589	19.763519	45.208770	19.469350
45.148213	19.274491	45.141244	20.140585	45.216341	19.460418
45.118578	19.705738	45.114011	19.942654	45.121393	20.225944
45.117094	19.706181	45.114312	19.943497	45.134617	20.229825
45.112511	19.707545	45.124118	19.936424	45.180079	19.823667
45.081686	19.708064	45.124111	19.936417	45.184896	19.822077
45.161363	20.078088	45.205409	19.804304	45.139570	19.295531
45.165709	20.078525	45.204632	19.804110	45.185640	19.774327
45.152961	19.295511	45.207492	19.801432	45.186255	19.773247
45.152469	19.294660	45.210986	19.806340	45.078292	19.841095
45.100988	19.455044	45.138478	19.580105	45.124603	19.552539
45.174413	19.887228	45.117064	19.568451	45.124817	19.543341
45.175516	19.891340	45.143986	19.580849	45.165239	20.191461
45.217587	19.662073	45.144975	19.386608	45.134298	20.263915
45.171361	20.008380	45.165497	19.554612	45.167274	19.316863
45.166736	20.000928	45.173205	19.553029	45.164504	19.348536
45.168025	19.994232	45.174045	19.548831	45.169662	19.806675
45.125698	19.511241	45.109973	19.742050	45.197542	19.933687
45.125920	19.511625	45.092692	19.604847	45.167066	19.916572
45.125910	19.509783	45.082552	19.596368	45.142175	19.482783
45.144462	19.400679	45.088327	19.598619	45.177195	19.802607
45.131709	19.398548	45.102702	19.989610	45.133931	20.264620
45.178042	19.609296	45.102071	19.989550	45.134309	20.263815
45.183170	19.605620	45.181640	19.309162	45.097701	19.673556
45.137620	19.902960	45.179103	19.318923	45.097551	19.675254
45.216108	19.551908	45.143783	19.919437	45.145538	19.484015
45.215424	19.552726	45.151722	19.497661	45.175938	19.806184
45.181433	19.580128	45.170872	19.481610	45.142116	19.773058
45.179463	19.581039	45.144567	19.769131	45.165069	19.455991
45.157883	19.591532	45.173495	19.612366	45.125910	19.509783
45.083501	19.840122				

Prilog 3. Anketni upitnik**КРПЕЉСКИ ЕНЦЕФАЛИТИС****АНКЕТНИ УПИТНИК**

ЗДРАВСТВЕНА УСТАНОВА: _____ ОДЕЉЕЊЕ: _____

ИМЕ И ПРЕЗИМЕ ЛЕКАРА: _____ БРОЈ ИСТОРИЈЕ БОЛЕСТИ: _____

ПОДАЦИ О ПАЦИЈЕНТУ

ИМЕ И ПРЕЗИМЕ: _____

ПОЛ Мушки Женски

ДАТУМ РОЂЕЊА: _____

МЕСТО СТАНОВАЊА: _____

ОПШТИНА: _____

БРОЈ ТЕЛЕФОНА: _____

ЗАНИМАЊЕ: _____

ЛАБОРАТОРИЈСКИ ПОДАЦИ

ДАТУМ ЛАБОРАТОРИЈСКЕ ПРИЈАВЕ: _____

ВРСТА КЛИНИЧКОГ МАТЕРИЈАЛА: ЛИКВОР КРВ

ДАТУМ УЗИМАЊА ЛИКВОРА: _____

ДАТУМ УЗИМАЊА КРВИ: _____

КЛИНИЧКИ ПОДАЦИ

ДАТУМ ПОЧЕТКА БОЛЕСТИ: ____/____/____

ДАТУМ ХОСПИТАЛИЗАЦИЈЕ: ____/____/____

ПРВА ФАЗА БОЛЕСТИ**СИМПТОМИ И ЗНАЦИ БОЛЕСТИ**

ПОВИШЕНА ТЕМПЕРАТУРА	ДА <input type="checkbox"/>	НЕ <input type="checkbox"/>	БОЛОВИ У МИШИЋИМА	ДА <input type="checkbox"/>	НЕ <input type="checkbox"/>
ГРОЗНИЦА	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	БОЛОВИ У ЗГЛОБОВИМА	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
СЛАБОСТ/ МАЛАКСАЛОСТ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	МУЧНИНА	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ГЛАВОБОЉА	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ПОВРАЋАЊЕ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ДРУГА ФАЗА БОЛЕСТИ**КЛИНИЧКА ДИЈАГНОЗА**

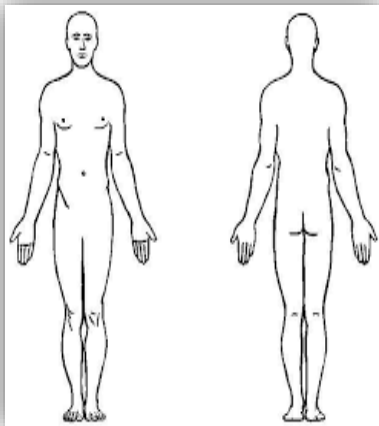
МЕНИНГИТИС	ДА <input type="checkbox"/>	НЕ <input type="checkbox"/>	МЕНИНГОЕНЦЕФАЛОМИЕЛИТИС	ДА <input type="checkbox"/>	НЕ <input type="checkbox"/>
МЕНИНГОЕНЦЕФАЛИТИС	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	МЕНИНГОЕНЦЕФАЛОРАДИКУЛИТИС	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ЭПИДЕМИОЛОШКИ ПОДАЦИ

ДА ЛИ ЈЕ ПАЦИЈЕНТ У ПОСЛЕДЊИХ МЕСЕЦ ДАНА ПРИМЕТИО УБОД КРПЕЉА? ДА НЕ

АКО ЈЕ ОДГОВОР ДА, УПИСАТИ НА КОЈОЈ ГЕОГРАФСКОЈ ЛОКАЦИЈИ ЈЕ ДОШЛО ДО УБОДА КРПЕЉА

ОЗНАЧИТИ МЕСТО УБОДА КРПЕЉА:



ДА ЛИ СЕ ПАЦИЈЕНТ БАВИ ЛОВОМ? ДА НЕ
 ДА ЛИ СЕ БАВИ УЗГОЈЕМ ЖИВОТИЊА? ДА НЕ
 ДА ЛИ СЕ БАВИ ПОЉОПРИВРЕДОМ? ДА НЕ
 ДА ЛИ СЕ РЕКРЕАТИВНО БАВИ БИЦИКЛИЗМОМ? ДА НЕ
 ДА ЛИ СЕ РЕКРЕАТИВНО БАВИ ПЛАНИНАРЕЊЕМ? ДА НЕ
 ДА ЛИ СЕ БАВИ КАМПОВАЊЕМ У ПРИРОДИ? ДА НЕ
 ДА ЛИ БЕРЕ ШУМСКЕ ПЛОДОВЕ ИЛИ ГЉИВЕ? ДА НЕ

ДА ЛИ ЈЕ У ТОКУ ПОСЛЕДЊИХ МЕСЕЦ ДАНА КОНЗУМИРАО НЕКУВАНО ИЛИ НЕПАСТЕРИЗОВАНО МЛЕКО ИЛИ МЛЕЧНЕ ПРОИЗВОДЕ?

ДА НЕ

АКО ЈЕ ОДГОВОР ДА, НАВЕСТИ МЛЕКО КОЈЕ ЖИВОТИЊЕ ЈЕ КОНЗУМИРАО
 ОВЧИЈЕ КОЗИЈЕ КРАВЉЕ ДРУГО _____

ДА ЛИ ЈЕ ПАЦИЈЕНТ ПУТОВАО ВАН МЕСТА БОРАВКА У ПОСЛЕДЊИХ МЕСЕЦ ДАНА?

ДА НЕ

АКО ЈЕ ОДГОВОР ДА, НАВЕСТИ ГДЕ ЈЕ ПУТОВАО _____

ДА ЛИ ЈЕ У ПОСЛЕДЊИХ МЕСЕЦ ДАНА ПРИМИО ТРАНСФУЗИЈУ КРВИ? ДА НЕ

ВАКЦИНАЛНИ СТАТУС ПАЦИЈЕНТА

ДА ЛИ СТЕ ВАКЦИНИСАНИ ПРОТИВ КРПЕЉСКОГ ЕНЦЕФАЛИТИСА? ДА НЕ

ДА ЛИ СТЕ ВАКЦИНИСАНИ ПРОТИВ ЖУТЕ ГРОЗНИЦЕ? ДА НЕ

ИМУНОДЕФИЦИЈЕНТНА СТАЊА И АУТОИМУНЕ БОЛЕСТИ

ДА ЛИ ПАЦИЈЕНТ БОЛУЈЕ ОД НЕКЕ МАЛИГНЕ БОЛЕСТИ? ДА НЕ НАВЕСТИ БОЛЕСТ _____

ДА ЛИ ЈЕ НА АНТИНЕОПЛАСТИЧНОЈ ТЕРАПИЈИ? ДА НЕ

ДА ЛИ ЈЕ ПАЦИЈЕНТ НА РАДИОТЕРАПИЈИ? ДА НЕ

ДА ЛИ ЈЕ ПАЦИЈЕНТ НА ТЕРАПИЈИ КОРТИКОСТЕРОИДИМА УНАЗАД МЕСЕЦ ДАНА? ДА НЕ

ДА ЛИ ЈЕ НА ИМУНОСУПРЕСИВНОЈ ТЕРАПИЈИ УСЛЕД ТРАНСПЛАНТАЦИЈЕ ОРГАНА? ДА НЕ

ДА ЛИ ПАЦИЈЕНТ БОЛУЈЕ ОД РЕУМАТОИДНОГ АРТРИТИСА? ДА НЕ

ДА ЛИ БОЛУЈЕ ОД СИСТЕМСКОГ ЛУПУСА ЕРИТЕМАТОДЕСА? ДА НЕ

ДА ЛИ ИМА НЕКО ДРУГО АУТОИМУНО ОБОЉЕЊЕ? ДА НЕ НАВЕСТИ ОБОЉЕЊЕ _____

ДА ЛИ ИМА ХИВ ИНФЕКЦИЈУ? ДА НЕ

ДА ЛИ БОЛУЈЕ ОД БОЛЕСТИ КРВИ ИЛИ СЛЕЗИНЕ? ДА НЕ НАВЕСТИ БОЛЕСТ _____

ДА ЛИ ИМА НЕКО ДРУГО СТАЊЕ ИМУНОДЕФИЦИЈЕНЦИЈЕ? ДА НЕ

НАПОМЕНА: _____

ДАТУМ _____

АНКЕТУ ПОПУНИО: _____

Prilog 5. Podela ispitanika studijske grupe prema zanimanju/ delatnosti

1. Posao većinom obavljaju u zatvorenom

Administrativna
Pravna
Obrazovna
Industrijska
Zdravstvena
Finansijska
Tehnička
Uslužna
Umetnost

2. Posao većinom obavljaju na otvorenom

Šumarska
Poljoprivredna
Građevinska

3. Grupa sa više slobodnog vremena

Penzioner
Nezaposlen

4. Grupa dece, učenika i studenata

Dete
Učenik
Student

LISTA SKRAĆENICA

- **APV**- Autonomna Pokrajina Vojvodina
- **BHK**- *Baby hamster kidney cells* (ćelije bubrega mladunčeta hrčka)
- **BSL**- *Biosafety level* (nivo biosigurnosti)
- **CNS**- centralni nervni sistem
- **DEET**- N,N-diethyl-3-methylbenzamide
- **DENV**- *Denga virus* (virus denge)
- **DZ**- dom zdravlja
- **ECDC**- *European Centre for Disease Prevention and Control* (Evropski centar za prevenciju i kontrolu bolesti)
- **ELISA**- *Enzyme-linked immunosorbent assay* (imunoenzimski test)
- **EU**- Evropska unija
- **HI**- *Hemagglutination inhibition* (inhibicija hemaglutinacije)
- **IFT**- indirektni imunofluorescentni test
- **IgG**- Imunoglobulini klase G
- **IgM**- Imunoglobulini klase M
- **IZJZV**- Institut za javno zdravlje Vojvodine
- **IZZDIOV**- Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine
- **JEV**- *Japanese encephalitis virus* (virus japanskog encefalitisa)
- **KCS**- Klinički centar Srbije
- **KCV**- Klinički centar Vojvodine
- **KE**- krpeljski encefalitis
- **KFDV**- *Kyasanur Forest disease virus* (virus bolesti šume Kjasanur),
- **LIV**- *Louping ill virus* (virus Lupingove bolesti)
- **MBFV**- *Mosquito-borne flaviviruses* (flavivirusi koje prenose komarci)
- **M-TBFV**- *Mammalian tick-borne flaviviruses* (flavivirusi povezani sa sisarima)
- **NIV**- Naučni institut za veterinarstvo
- **NK** ćelije- *Natural killer cells* (ćelije prirodne ubice)
- **NKV**- *No known vector flaviviruses* (flavivirusi čiji je vektor još uvek nepoznat)

- **OB**- opšta bolnica
- **OD**- *Optical density* (optička gustina)
- **OHFV**- *Omsk hemorrhagic fever virus* (virus Omske hemoragijske groznice)
- **PMD**- p-Menthane-3,8-diol
- **POWV**- *Powassan virus*
- **RNK**- ribonukleinska kiselina
- **RT-PCR**- *Reverse transcription polymerase chain reaction* (reakcija lančane polimerizacije sa reverznom transkripcijom)
- **RVK**- reakcija vezivanja komplementa
- **SAD**- Sjedinjene Američke Države
- **S-TBFV**- *Seabird tick-borne flaviviruses* (flavivirusi povezani sa morskim pticama)
- **SZO**- Svetska zdravstvena organizacija
- **TBEV**- *Tick-borne encephalitis virus* (virus krpeljskog encefalitisa)
- **TBEV-Bkl**- *Baikalian subtype TBEV* (bajkalski podtip virusa KE)
- **TBEV-Eu**- *European subtype TBEV* (evropski podtip virusa KE)
- **TBEV-Fe**- *Far Eastern subtype TBEV* (dalekoistočni podtip virusa KE)
- **TBEV-Him**- *Himalayan subtype TBEV* (himalajski podtip virusa KE)
- **TBEV-Ob**- *Obkaya subtype TBEV* (obski podtip virusa KE)
- **TBEV-Sib**- *Siberian subtype TBEV* (sibirski podtip virusa KE)
- **TBFV**- *Tick-borne flaviviruses* (flavivirusi koje prenose krpelji)
- **VNT**- virus neutralizacioni test
- **WNV**- *West Nile virus* (virus Zapadnog Nila)
- **YFV**- *Yellow fever virus* (virus žute groznice)
- **ZKV**- *Zika virus* (zika virus)
- **ZZJZ** -zavod za javno zdravlje

SPISAK SLIKA

<i>Slika 1. Struktura virusa krpeljskog encefalitisa.....</i>	<i>3</i>
<i>Slika 2. Faze razvoja krpelja vrste Ixodes ricinus sa putevima prenošenja virusa krpeljskog encefalitisa.....</i>	<i>13</i>
<i>Slika 3. Geografska rasprostranjenost krpeljskog encefalitisa („TBE belt“)......</i>	<i>16</i>
<i>Slika 4. Uzorkovanje krpelja flag-čas metodom.....</i>	<i>30</i>
<i>Slika 5. Morfološke karakteristike krpelja vrste H. punctata. a. Ženka sa dorzalne i ventralne strane. b. Mužjak sa dorzalne i ventralne strane.....</i>	<i>49</i>
<i>Slika 6. Morfološke karakteristike krpelja vrste H. concinna. a. Mužjak sa dorzalne i ventralne strane. b. Cornua i izraštaj na trohanteru prvog para nogu. c. Treći segmenti palpi u obliku klešta i izraštaj na prvom paru koksi. d. Nimfa sa dorzalne i ventralne strane.....</i>	<i>50</i>
<i>Slika 7. Morfološke karakteristike krpelja vrste I. ricinus. a. Ženka sa dorzalne i ventralne strane. b. Mužjak sa dorzalne i ventralne strane. c. Nimfa sa dorzalne i ventralne strane d. Larva sa ventralne strane.....</i>	<i>52</i>
<i>Slika 8. Morfološke karakteristike krpelja vrste D. marginatus. a. Ženka sa dorzalne i ventralne strane. b. Mužjak sa dorzalne i ventralne strane. c. Koxa prvog para nogu.....</i>	<i>54</i>
<i>Slika 9. Morfološke karakteristike mužjaka vrste R. sanguineus sa dorzalne i ventralne strane.....</i>	<i>56</i>

SPISAK TABELA

<i>Tabela 1. Broj prikupljenih krpelja u odnosu na sezonu uzorkovanja</i>	<i>45</i>
<i>Tabela 2. Broj prikupljenih krpelja po satu u naseljenim mestima Fruške gore</i>	<i>47</i>
<i>Tabela 3. Zastupljenost pojedinih vrsta krpelja prema naseljenom mestu na teritoriji Fruške gore.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabela 4. Broj prikupljenih krpelja prema identifikovanoj vrsti u odnosu na razvojni stadijum.....</i>	<i>63</i>
<i>Tabela 5. Karakteristike ispitanika i rezultati laboratorijskog ispitivanja na prisustvo specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa u uzorku pacijenata sa sumnjomna krpeljski encefalitis.....</i>	<i>65</i>
<i>Tabela 6. Karakteristike ispitanika i rezultati laboratorijskog ispitivanja na prisustvo specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore.....</i>	<i>67</i>
<i>Tabela 7. Seroprevalencija specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa prema polu, uzrastu i okrugu stanovanja u grupi stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore.....</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 8. Seroprevalencija specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore u odnosu na pol i uzrast.....</i>	<i>69</i>
<i>Tabela 9. Prediktori seropozitivnosti na virus krpeljskog encefalitisa kod stanovnika Vojvodine van teritorije Fruške gore.....</i>	<i>70</i>
<i>Tabela 10. Karakteristike ispitanika i rezultati laboratorijskog ispitivanja na prisustvo specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa stanovnika Fruške gore.....</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 11. Seroprevalencija na virus KE prema polu, uzrastu, mestu i opštini stanovanja i zanimanju u grupi stanovnika Fruške gore.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabela 12. Seroprevalencija specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa stanovnika Fruške gore u odnosu na pol i uzrast.....</i>	<i>81</i>
<i>Tabela 13. Prediktori seropozitivnosti na virus krpeljskog encefalitisa kod stanovnika Fruške gore.....</i>	<i>82</i>

<i>Tabela 14. Razlike u seroprevalencijama na virus krpeljskog encefalitisa između grupe stanovnika Fruške gore i stanovnika Vojvodine van fruškogorske regije.....</i>	<i>82</i>
<i>Tabela 15. Karakteristike ispitanika studijske grupe u odnosu na anamnestički podatak o prethodnom ubodu krpelja.....</i>	<i>84</i>
<i>Tabela 16. Prethodna infestacija ispitanika krpeljima u odnosu na naseljeno mesto Fruške gore.....</i>	<i>86</i>
<i>Tabela 17. Prethodna infestacija krpeljima u odnosu na aktivnosti na otvorenom povezane sa zanimanjem.....</i>	<i>88</i>

SPISAK GRAFIKONA

<i>Grafikon 1. Distribucija prikupljenih krpelja na teritoriji Fruške gore prema polu i razvojnem stadijumu.....</i>	<i>48</i>
<i>Grafikon 2. Učešće pojedinih vrsta u ukupnom broju prikupljenih krpelja na teritoriji Fruške gore.....</i>	<i>57</i>
<i>Grafikon 3. Odnos polova (seksualni indeks) prikupljenih krpelja po naseljenim mestima Fruške gore.....</i>	<i>62</i>

SPISAK MAPA

<i>Mapa 1. Prikaz lokaliteta na kojima su uzorkovani krpelji.....</i>	<i>29</i>
<i>Mapa 2. Prikaz naseljenih mesta Fruške gore.....</i>	<i>38</i>
<i>Mapa 3. Prikaz lokaliteta na kojima su prikupljeni krpelji po godinama.....</i>	<i>46</i>
<i>Mapa 4. Prikaz prikupljenih vrsta krpelja po naseljenim mestima Fruške gore.....</i>	<i>58</i>
<i>Mapa 5. Seroprevalencija specifičnih antitela na virus krpeljskog encefalitisa po naseljenim mestima Fruške gore.....</i>	<i>80</i>

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
Серопреваленција и епидемиолошке карактеристике крпељског енцефалитиса у Војводини
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
а) Институт за јавно здравље Војводине, Нови Сад, Република Србија б) Клиника за инфективне болести Клиничког центра Војводине, Нови Сад, Република Србија в) Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду, Република Србија г) Научни институт за ветеринарство Нови Сад, Република Србија д) Домови здравља: Ириг, Нови Сад, Инђија, Шид, Сремска Митровица, Бачка Паланка ђ) Опште болнице на територији АП Војводине е) Заводи за јавно здравље на територији АП Војводине ж) Институт за здравствену заштиту деце и омладине Војводине, Нови Сад, Република Србија з) Клиника за инфективне и тропске болести Клиничког центра Србије, Београд, Република Србија
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Докторске академске студије - јавно здравље
1. Опис података
1.1 Врста студије <i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i> Дизајн студије припада проспективној студији. У циљу утврђивања присуства вируса крпељског енцефалитиса и одређивања његове преваленције у популацији крпеља са територије Фрушке горе, прикупљена је 1931 јединка крпеља на 109 локалитета у 49 насељених места Фрушке горе. У циљу утврђивања присуства, учесталости и распрострањености крпељског енцефалитиса у популацији људи у Војводини, прикупљени су узорци крвног серума и/или ликвора од 86 хоспитализованих пацијената, код којих је на основу дефиниције случаја Европског центра за контролу и превенцију болести постављена сумња на крпељски енцефалитис. Како би се утврдила серопреваленција антитела на вирус крпељског енцефалитиса становника Војводине ван територије Фрушке горе, испитано је 1000 узорака резидуалног крвног серума из Банке серума Института за јавно здравље Војводине, који су прикупљени током 2015. и 2016. године. У циљу сероепидемиолошког истраживања прокужености становника Фрушке горе на вирус крпељског енцефалитиса, прикупљено је 1000 узорака резидуалног крвног серума становника 49 насеља фрушкогорске регије.
1.2 Врсте података а) квантитативни б) квалитативни

1.3. Начин прикупљања података

а) анкете, упитници, тестови

б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи

в) генотипови: навести врсту _____

г) административни подаци: навести врсту _____

д) узорци ткива: резидуални серум, ликвор

ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____

е) текст: доступна литература

ж) мапа, навести врсту _____

з) остало: описати _____

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

а) Excel фајл, датотека .xlsx

б) SPSS фајл, датотека .sps

с) PDF фајл, датотека .pdf

д) Текст фајл, датотека .docx

е) JPG фајл, датотека .jpg .png

ф) Остало, датотека .csv

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли ___ **Велики број варијабли**

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.)

У студију је укључено 86 хоспитализованих пацијената, затим 1000 становника Војводине, који местом пребивалишта не припадају фрушкогорској регији и 1000 испитаника, који местом пребивалишта припадају регији Фрушке горе.

1.3.3. Поновљена мерења

а) да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) временски размак између поновљених мера је _____
- б) варијабле које се више пута мере односе се на _____
- в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) *Да*

б) *Не*

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

- а) експеримент, навести тип _____
- б) корелационо истраживање, навести тип _____
- ц) анализа текста, навести тип _____
- д) остало, навести шта **Проспективна студија**

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

- а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да **Не**

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података? _____
 - б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да Не
 - в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података
-

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Квалитет добијених лабораторијских резултата је контролисан тестирањем контрола према упутству произвођача комерцијалних комплета. Квалитет података је контролисан применом статистичких тестова и валидацијом добијених података.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уноса података у матрицу је изведена поређењем добијених података са литературним подацима.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у *Репозиторијуму докторских дисертација Универзитета у Новом Саду*.

3.1.2. URL адреса: **<https://cris.uns.ac.rs/searchDissertations.jsf>**

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

- а) Да
- б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____
- в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? **Трајно**

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да **Не**

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да **Не**

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да **Не**

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност

података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

Истраживање је одобрено од стране :

Етичког одбора Института за јавно здравље Војводине (број: 01-978/3)

од 21.04.2017. године

Етичког одбора Клиничког центра Србије (број: 415/3)

од 21.09.2017. године

Етичког одбора Клиничког центра Војводине (број: 00-15/897)

од 28.09.2017. године

Етичког одбора Института за здравствену заштиту деце и омладине Војводине (број: 1777/9)

од 30.05.2019. године

Етичког одбора Завода за јавно здравље Сремска Митровица (број: 17/17-3)

од 08.06.2017. године

Етичког одбора Завода за јавно здравље Панчево (број: 01-341/2-2017)

од 16.06.2017. године

Етичког одбора Завода за јавно здравље Суботица (број: 06-540/3-2017)

од 29.08.2017. године

Етичког одбора Завода за јавно здравље Сомбор (број: 2067/2015)

од 07.09.2017. године

Етичког одбора Завода за јавно здравље Зрењанин (број: 2451)

од 28.08.2017. године

Етичког одбора Завода за јавно здравље Кикинда (број: 01-18-II-05/2018)

од 12.02.2018. године

Етичког одбора Опште болнице Панчево (број: 01-4616/17-3)

од 05.06.2017. године

Етичког одбора Дома здравља Инђија (број: 01-2421/1)

од 03.10.2017. године

Етичког одбора Дома здравља Бачка Паланка (број: 03-97/2-17)

од 21.07.2017. године

Етичког одбора Дома здравља Нови Сад (број: 21/30-1)

од 27.7.2017. године

Етичког одбора Дома здравља Ириг (број: 1808/17)

од 15.11.2017. године

Етичког одбора Дома здравља Шид (број: 05-789/3)

од 25.05.2017. године

Етичког одбора Опште болнице Суботица (број: 01-441/6)

од 20.09.2017. године

Етичког одбора Опште болнице Сремска Митровица (број: 3506/2)

од 31.05.2017. године

Етичког одбора Опште болнице Вршац (број: 01-945)

од 04.07.2017. године

Етичког одбора Опште болнице Сомбор (број: 31-2876/2017-4)

од 20.06.2017. године

Етичког одбора Опште болнице Сента (број: 51-28/3-7)

од 14.06.2017. године

Етичког одбора Опште болнице „Ђорђе Јоановић“ Зрењанин (број: 01-489/17)

од 08.06.2017. године
Етичког одбора Опште болнице Врбас (број: 1703/2)
од 26.05.2017. године
Етичког одбора Опште болнице Кикинда (број: 01-48/1-1)
од 02.06.2017. године

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? **Да Не**

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
- б) **Подаци су анонимизирани**
- ц) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

- а) **јавно доступни**
- б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области
- ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

Ауторство-некомерцијално- делити под истим условима

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Татјана Пустахија; tatjana.pustahija@mf.uns.ac.rs

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Татјана Пустахија; tatjana.pustahija@mf.uns.ac.rs

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Татјана Пустахија; tatjana.pustahija@mf.uns.ac.rs