

HRVATSKA AKADEMIJA ZNANOSTI I UMJETNOSTI
CROATIAN ACADEMY OF SCIENCES AND ARTS

Razred za medicinske znanosti
Department of Medical Sciences

Odbor za animalnu i komparativnu patologiju
Committee of Animal and Comparative Pathology



SARS-CoV-2 u sklopu koncepta „Jedno zdravlje“
SARS-CoV-2 within „One Health“ concept

Virtualni simpozij
Online Symposium

Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti
Croatian Academy of Sciences and Arts, Zagreb

Četvrtak, 26. studenoga 2020.
Thursday, November 26th 2020

Znanstveni odbor / Scientific Committee

Redoviti članovi
Razreda za medicinske znanosti
Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti

Željko Cvetnić, Ivo Čikeš, Dragan Dekaris, Vida Demarin, Vjekoslav Jerolimov, Ivica Kostović,
Zvonko Kusić, Josip Madić, Dražen Matičić, Davor Miličić, Marko Pećina, Željko Reiner, Daniel
Rukavina, Miroslav Samaržija, Mirna Šitum i Slobodan Vukičević

Organizacijski odbor / Organizing Committee

Predsjednik: Josip Madić
Članovi: Ljubo Barbić, Željko Cvetnić, Dražen Matičić, Boris Habrun, Vladimir Savić

ISBN 978-953-347-371-0



HRVATSKA AKADEMIJA ZNANOSTI I UMJETNOSTI
CROATIAN ACADEMY OF SCIENCES AND ARTS

Razred za medicinske znanosti
Department of Medical Sciences

Odbor za animalnu i komparativnu patologiju
Committee of Animal and Comparative Pathology

Sažetci / Abstracts

PROGRAM / PROGRAMME

- 11,00-11,15 **POZDRAVNE RIJEČI**
akademkinja Vida Demarin, tajnica Razreda za medicinske znanosti Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti
akademik Josip Madić, predsjednik Organizacijskog odbora
- Moderatori: Josip Madić, Ljubo Barbić, Željko Cvetnić i Vladimir Savić***
- 11,15-11,30 **KORONAVIRUSI SISAVACA**
Josip Madić
Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb
- 11,30-11,45 **KORONAVIRUSI PTICA I CJEPIVA**
Vladimir Savić
Hrvatski veterinarski institut, Centar za peradarstvo, Zagreb
- 11,45-12,00 **EMERGENCIJA ZOONOTSKIH KORONAVIRUSA**
Ljubo Barbić
Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb
- 12,00-12,15 **COVID-19 NA PODRUČJU HRVATSKE**
Tatjana Vilibić-Čavlek
Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb; Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb
- 12,15-12,30 **DIJAGNOSTIKA COVID-19: ISKUSTVA REFERENTNOG CENTRA MINISTARSTVA ZDRAVSTVA ZA VIROLOŠKU DIJAGNOSTIKU INFEKCIJA DIŠNOG SUSTAVA**
Irena Tabain
Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb
- 12,30-12,45 **MJESTO I ULOGA VETERINARSKE SPECIJALISTIČKE SLUŽBE U ODGOVORU NA COVID-19 INFEKCIJU U SRBIJI**
Tamaš Petrović
Naučni institut za veterinarstvo “Novi Sad”, Novi Sad, Srbija

- 12,45-13,00 **SARS-CoV-2 PANDEMIC: CORONAVIRUS INFECTIONS IN ANIMALS AND VETERINARY RESPONSE IN SLOVENIA**
Ivan Toplak
University of Ljubljana, Veterinary Faculty, Institute of Microbiology and Parasitology, Ljubljana, Slovenia
- 13,00-13,15 **UČESTALOST I EPIDEMIOLOŠKI ZNAČAJ INFEKCIJA KUĆNIH LJUBIMACA SARS-CoV-2 VIRUSOM**
Vladimir Stevanović
Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb
- 13,15-13,30 **DIVLJE ŽIVOTINJE I OKOLIŠ KAO POKAZATELJI PRISUTNOSTI VIRUSA SARS-CoV-2 U HRVATSKOJ**
Dragan Brnić
Hrvatski veterinarski institut, Odjel za virologiju, Zagreb
- 13,30-13,45 **PANDEMIJA COVID-19 – IZAZOV ZA MODERNU MEDICINU**
Alemka Markotić
Klinika za infektivne bolesti “Dr. Fran Mihaljević”, Zagreb
- 13,45-14,15 **RASPRAVA**

KORONAVIRUSI SISAVACA

Josip Madić, Ljubo Barbić

*Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom,
Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska*

e-mail: jmadic@vef.hr

Koronavirusi svoje podrijetlo vuku od šišmiša, ptica i glodavaca. Svrstani su u četiri roda: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* i *Deltacoronavirus*. Svaki rod obuhvaća nekoliko podrodova. Kao uzročnici bolesti dokazani su u različitim vrsta sisavaca, ptica i glodavaca. Podložni su čestim genetskim promjenama u smislu nakupljanja točkastih mutacija te homolognih i heterolognih rekombinacija. Njihova genetička varijabilnost rezultira kontinuiranom pojavom novih virusnih sojeva s povećanom virulencijom, različitim tropizmom i širenjem uzročnika na novog domaćina. Primjerice, poznata je rekombinanta pasjeg koronavirusa tip I, mačjeg koronavirusa tip II i virusa transmisivnog gastroenteritisa svinja (TGE). Sva tri virusa pripadaju rodu *Alphacoronavirus*. Prije pojave SARS-CoV (2002./2003.) nije se puno istraživalo humane koronavirusa. Znalo se za alfakoronavirus HCoV-229E podrijetlom sa šišmiša, čiji je prijenosnik na čovjeka bila alpaka te za HCoV-OC43 koji je s glodavaca preko goveda prenesen na čovjeka. Nakon epidemije SARS-a otkriven je humani alfakoronavirus HCoV-NL63 na čovjeka prenesen sa šišmiša, i betakoronavirus HCoV- HKU1 prenesen s glodavaca. Ti koronavirusi uzrokuju u čovjeka blage respiratorne znakove.

Opsežna istraživanja u veterinarskoj medicini dovela su do mnogih novih spoznaja o životinjskim koronavirusima, njihovoj evoluciji i patobiologiji. Tako su istraživanja virusa zaraznog bronhitisa peradi i zaraznog peritonitisa mačaka pokazala da koronavirusi mogu mijenjati svoj tropizam prema određenom tkivu i svoju virulenciju te da mogu prevladati vrsnu barijeru i inficirati novog domaćina. Smatra se da virus transmisivnog gastroenteritisa svinja vjerojatno potječe od usko srodnog pasjeg koronavirusa, a da je od njega potekao manje virulentan respiratorni koronavirus svinja. Druga dva alfakoronavirusa svinja, virus epizootskog proljeva i nedavno otkriven virus teškog akutnog dijarojičnog sindroma svinja potječu od koronavirusa šišmiša. Betakoronavirus uzročnik bolesti povraćanja i kržljanja odojaka (v. hemaglutinacijskog encefalomijelitisa) vjerojatno je podrijetlom od goveđeg koronavirusa. U novije doba dokazano je da deltakoronavirus uzročnik teškog proljeva svinja, potječe od ptičjeg deltakoronavirusa.

Uzročnici bolesti u svinja iz roda *Alphacoronavirus* su v. transmisivnog gastroenteritisa (TGE), v. respiratorne koronavirusne infekcije (PRCoV), v. epizootskog virusnog proljeva (PEDv) i v. sindroma akutnog proljeva svinja (engl. Swine Acute Diarrhoea Syndrome, SADS), a iz roda *Betacoronavirus*, v. bolesti povraćanja i krčljanja odojaka (v. encefalomijelitisa) te uzročnik enteritisa iz roda *Deltacoronavirus* (PDCoV).

U preživača su betakoronavirusi poznati kao uzročnici gastroenteritisa i to u goveda, ovce, koze, azijskog vodenog bivola, ljame, alpake i jednogrbe deve, a jednogrba deva veže se i uz bliskoistočni respiratorni sindrom (MERS).

U konja je ustanovljen jedino betakoronavirus podroda *Embecovirus*, uzročnik probavnih poremećaja, a zanimljivo je da je u respiratornim uzorcima magaraca dokazana RNA virusa MERS-CoV.

U mesoždera su dobro poznati pasji alfakoronavirus I uzročnik blagog enteritisa i pantropni alfakoronavirus II (IIa) uzročnik sistemske bolesti i uginuća te betakoronavirus vezan uz blage respiratorne znakove. U mačaka se javlja crijevni alfakoronavirus tip I i alfakoronavirus tip II. Genotip II je nastao rekombinacijom između pasjeg koronavirusa genotip II i mačjeg koronavirusa genotip I. Oba genotipa mačjeg crijevnog alfakoronavirusa mogu uzrokovati blagi gastroenteritis, ali i teški zarazni peritonitis mačaka s efuzijom ili bez (peritonitis, pneumonija, meningoencefalitis, panoftalmitis, mršavost, anoreksija, opća slabost, gubitak težine, povećan trbuh). U američke vidrice (*Neovison vison*), koja se farmski uzgaja za proizvodnju krzna, i europske vidrice (*Mustela lutreola*), alfakoronavirus podroda *Minacovirus* uzrokuje epizootski kataralni gastroenteritis. Ta je bolest opisana i u pitome vretice (*Mustela putorius furo*).

Glodavci imaju važnu ulogu u evoluciji koronavirusa. Prototipna vrsta je koronavirus mišjeg hepatitisa, svrstan u podrod *Embecovirus* rod *Betacoronavirus*, a uzrokuje hepatitis, gastroenteritis i encefalomijelitis. Tu pripada i koronavirus štakora, uzročnika dišne bolesti i sijalodakrioadenitisa u laboratorijskih štakora. Koronavirusi glodavaca preci su embekovirusa drugih sisavaca. U Kini je u štakora dokazan i alfakoronavirus označen *Lucheng rat coronavirus* pripadnik roda *Luchacovirus*. Valja istaknuti da su istraživanja virusa SARS-a na miševima te sirijskom zlatnom i kineskom hrčku pokazala da su starije životinje pokazivale puno teže znakove bolesti od mlađih. Transgenični miševi s ekspresijom humanog receptora ACE2 (angiotenzin konvertirajući enzim 2) nakon pokusne infekcije pokazivali su znakove slične onima kod SARS-a.

Od ostalih životinjskih vrsta, koronavirus je dokazan u bijeloga kita (beluga kit, *Delphinapterus leucas*) s pneumonijom i nekrozom jetre, držanog u zatočeništvu u jednom akvaparku u Americi.

Uzročnik je svrstan u rod *Gammacoronavirus* podrod *Cegacovirus*. Srodan virus dokazan je kasnije u fecesu indopacifičkog običnog dupina (*Tursiops aduncus*). Različiti koronavirusi dokazani su u divljih mesoždera: vuka, lisice, vidre, cibetke, hijene, čaglja, servala, geparda, pume, divlje mačke i rakuna.

Betakoronavirusi s 92-98%-tnom srodnošću s MERS-CoV dokazani su u novije doba u fecesu europskog ježa (*Erinaceus europeus*) u Njemačkoj, Francuskoj, Engleskoj i Italiji. Ti su virusi svrstani u posebnu vrstu (*Hedgehog coronavirus 1*) u podrodu *Merbecovirus*. S obzirom da ježevi nisu pokazivali znakove bolesti, smatra se da uz šišmiše vjerojatno doprinose evoluciji roda *Merbecovirus*. Nedavno su u Kini otkriveni koronavirusi u amurskog ježa (*Erinaceus amurensis*) i azijske kućne rovke (*Suncus murinus*).

Komercijalna cjepiva rabe se za prevenciju bolesti u pasa, goveda, svinja i mačaka.

KORONAVIRUSI PTICA I CJEPIVA

Vladimir Savić

Centar za peradarstvo, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

e-mail: v_savic@veinst.hr

Koronavirusi zaražavaju ptice i sisavce. Prema nekim istraživanjima filogenetskog datiranja ptičji koronavirusi su nastali prije 10.000 godina, a koronavirusi sisavaca prije nekih 7.000 do 8.000 godina. Dok su alfa- i betakoronavirusi specifični za sisavce, u ptica nalazimo gama- i deltakoronaviruse, uz neke iznimke u obje skupine domaćina. Bolest uzrokovana koronavirusom je prvi put opisana 1931. godine u SAD-u u pilića s dišnim simptomima i shodno tome ova bolest je nazvana zarazni bronhitis (*engl.* infectious bronchitis – IB). Kasnije se saznalo da isti virus može uzrokovati niz drugih simptoma. Virus zaraznog bronhitisa (IBV) je prototip gamakoronavirusa, a vrlo slični virusi uzrokuju infekcije i drugih vrsta iz reda kokoški poput purana, biserki, fazana ili prepelica. Nakon IBV-a gospodarski najznačajniji gamakoronavirus je puranski koronavirus (TCoV) koji uzrokuje koronavirusni enteritis purana. Analogne gamakoronaviruse nalazimo i u ptica iz redova golupčarki, pelikanki, rodarica, papigašica i patkarica. Koronavirusi detektirani 2009. godine u vrapčarica poput drozda, amadine i bulbula međusobno su slični, ali različiti od svih ostalih koronavirusa te su svrstani u novi rod, deltakoronavirus.

IBV je akutna virusna bolest koja pogađa kokoši svih dobi. Sveprisutan je u većini svijeta gdje se perad uzgaja i smatra se najkontagioznijom bolesti peradi. Pobol obično doseže 100%, ali je smrtnost relativno niska i doseže do 25% u pilića mlađih od šest tjedana, no obično je beznačajna u starijih jedinki. Unatoč niskoj smrtnosti, gospodarska važnost IBV-a nadilazi gospodarsku važnost svih zaraznih bolesti peradi izuzev visokopatogene influence. S obzirom na svoj značaj, IBV je najviše istraživani koronavirus općenito. Unatoč sugestivnom nazivu, IBV uz bolest dišnoga sustava uzrokuje različite kliničke oblike. Infekcija jajovoda u vrlo mladoj dobi može rezultirati njegovim trajnim oštećenjem, dok infekcija odraslih kokoši obično uzrokuje pad ili prestanak nosivosti, kao i proizvodnju jaja s tankom, depigmentiranom i deformiranom ljuskom. Određeni sojevi IBV-a mogu značajno oštetiti bubrege i izazvati akutni nefritis, urolitijazu i uginuće, osobito u pilića. IBV postoji u mnogim različitim antigenskim ili genskim tipovima, tj. serotipovima ili genotipovima, koje obično nazivamo varijantama. Virus IB-a imaju golemu sposobnost promjene kako kroz spontane mutacije tako i genskim

preslagivanjem. Takve promjene rezultiraju pojavom novih varijanti od kojih većina na kraju iščezne, neke postanu enzootične ili imaju ograničeno značenje, dok samo manji broj varijanti postane dominantan, tj. raširen u većim regijama, čak i kontinentima. Primjerice u Hrvatskoj, uz nazočnost globalno proširenih varijanti, od početka 1990-ih se u nekoliko valova pojavila varijanta koja nigdje drugdje nije dokazana. Cijepljenje protiv IBV-a je neizbježno u peradarskoj proizvodnji zbog izrazito velike kontagioznosti i njegove mogućnosti širenja dominantnim vjetrovima na udaljenosti veće od kilometra. Živa atenuirana i inaktivirana cjepiva su u širokoj primjeni, a u novije vrijeme se počinju koristiti i vektorska cjepiva protiv IB-a. Učinkovito cijepljenje ipak nije ni približno jednostavno ni uspješno kao što je to slučaj za većinu drugih bolesti. Cjepiva određenog serotipa IBV-a mogu zaštititi pravilno cijepljenu perad od homolognog serotipa. Međutim, često postoji samo djelomična zaštita od sojeva drugih serotipova pa zaštita može varirati od visoke do vrlo niske. Nasuprot tome, cijepljenje dvama antigenski različitim živim atenuiranim cjepivima može rezultirati širokom križnom zaštitom protiv drugih varijanti IBV-a. Uvjet za uspješni program cijepljenja je poznavanje antigenskih svojstava trenutno cirkulirajućih sojeva IBV-a u određenom području budući da često dolazi do promjene cirkulirajućih sojeva.

EMERGENCIJA ZONOTSKIH KORONAVIRUSA

Ljubo Barbić¹, Vladimir Stevanović¹, Tatjana Vilibić-Čavlek^{2,3}, Josip Madić¹

¹Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Zagreb, Hrvatska

²Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

³Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

e-mail: ljubo.barbic@vef.hr

Trend pojave sve većeg broja emergentnih zaraznih bolesti, koji je uočen u drugoj polovici 20. stoljeća, dodatno se ubrzao u 21. stoljeću te se nastavlja. Među ovim emergentnim zaraznim bolestima najznačajniji dio su zoonoze, a prema posljedicama njihovog pojavljivanja te proizlazećem općem društvenom interesu i učinku, među njima prednjače virusne bolesti. Analizirajući sve učestalije pojavljivanje emergentnih zaraznih bolesti, očito je da ovakav jednoznačan trend mora imati i zajedničke uzroke. Sagledavajući cjeloviti razvoj modernoga društva, kao najznačajnije čimbenike emergencije prepoznamo demografske promjene, sociološke promjene vezane na suživot sa životinjama i prirodom općenito te, možda i najznačajnije, globalizaciju i klimatske promjene. Ovi čimbenici emergencije omogućili su porast broja emergentnih zaraznih bolesti, stvarajući preduvjete za njihovo globalno širenje po ponekad ponavljajućim scenarijima. Među njima ističu se dvije velike skupine emergentnih zoonoza sa, unutar tih skupina, svojstvenom srodnošću uzročnika i gotovo jednoobraznim značajkama pojave i širenja.

Prva skupina su vektorske emergentne zoonoze čijem globalnom širenju svjedočimo. U ovu skupinu pripadaju bolesti poput Zika virusne infekcije, bolesti Zapadnog Nila ili Usutu virusne infekcije, čiji uzročnici pripadaju flavivirusima, a prenose ih komarci. Emergencija ovih zoonoza omogućena je klimatskim promjenama i globalnim zatopljenjem koje je pogodovalo širenju i povećavanju broja kompetentnih vektora na novim područjima kao i globalizacijom prometa ljudi i robe.

Druga skupina emergentnih zoonoza, s više ili manje podudarnim značajkama širenja, su koronavirusne infekcije. U ovom trenutku poznato je sedam koronavirusa koji uzrokuju infekcije u ljudi od kojih dva pripadaju u skupinu alfa koronavirusa (HCoV-229E i HCoV-NL63)

te preostalih pet u skupinu betakoronavirusa (HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2).

Kronološkim redom, prvi dokazani koronavirus u ljudi je HCoV-229E izdvojen 1966. godine. Izvorom ovog virusa smatraju se šišmiši, a pretpostavka je da je uzročnik prilagodbom na međudomaćinu iz porodice *Camelidae* postao patogen za ljude među kojima se i danas sezonski širi uzrokujući blage respiratorne simptome. Sljedeći koronavirus u ljudi, HCoV-OC43, s istim epidemiološkim i kliničkim značajkama, izdvojen je godinu kasnije, 1967. godine. Za ovaj virus najvjerojatniji izvor su glodavci, a međudomaćinom se smatraju goveda. Pojedini autori opisuju da se mogući prvi prijelaz ovog uzročnika na ljude dogodio još 1890. godine kada je i zabilježena velika pandemija u ljudi s mnogobrojnim smrtnim ishodima.

Koronavirusi ljudi dolaze u fokus tek 2002. godine pojavom SARS-a u pokrajni Guangdong u Kini. Za ovog uzročnika, SARS-CoV, izvorom se smatraju šišmiši, a međudomaćinom koji mu je omogućio prilagodbu i prelazak na ljude cibetka. Prve infekcije ljudi epidemiološki su povezane s tzv. mokrim tržnicama na kojima je dolazilo do kontakta cibetki i ljudi, dakle istim mjestima koja se dovode u vezu i s početakom pandemije bolesti COVID-19. SARS je rigoroznim mjerama uspješno suzbijen sljedeće godine, a klinički se očitovao teškim respiratornim oboljenjima sa smrtnošću od 11%.

Sljedeći koronavirus ljudi, HCoV-NL63, izdvojen je 2004. godine, a brzo mu je dokazana globalna proširenost. Izvorom ovog virusa ponovo se smatraju šišmiši, a za njega nije dokazana prilagodba na ljude preko neke životinjske vrste kao međudomaćina. Iste godine prvi put je izdvojen ljudski koronavirus HCoV-HKU1 izvorom kojega se smatraju glodavci. Niti za njega nije dokazan međudomaćin prije prelaska i širenja među ljudima. Oba navedena virusa uzrokuju blage kliničke oblike.

Za razliku od njih, pojava MERS-CoV virusa 2012. godine ponovno je naglasila moguće dramatične posljedice pojave zoonotskih koronavirusa u ljudi. Od prvog zabilježenog slučaja MERS se kontinuirano pojavljuje na području Bliskog istoka uz smrtnost od približno 35%. I za ovog uzročnika dokazano je da ima izvor u šišmišima te da je jednogrba deva najvjerojatniji međudomaćin koji je omogućio prilagodbu virusa i prelazak na ljude.

Krajem 2019. godine, dolazi do pojave i širenja novog koronavirusa ljudi u gradu Wuhan, kineskoj pokrajni Hubei. Pojava novog zoonotskog koronavirusa, SARS-CoV-2, epidemiološki se ponovno veže uz tzv. mokre tržnice, a izvorom virusa se smatraju šišmiši dok je najvjerojatniji međudomaćin ljuskavac. Globalno širenje ovog virusa uzrokovalo je najveću pandemiju 21.

stoljeća s nesagledivim posljedicama na društvo i, u ovom trenutku, približno 1,3 milijuna žrtava.

Zaključno, dosada poznatih sedam ljudskih koronavirusa ima niz podudarnosti u pojavljivanju i širenju. Svih sedam su zoonotski uzročnici izvori kojih su šišmiši ili glodavci, a za najmanje pet je vjerojatan životinjski međudomaćin koji je omogućio prilagodbu uzročnika za infekciju ljudi i interhumani prijenos. Stoga se postavlja pitanje, s obzirom na navedene pravilnosti u pojavljivanju, jesmo li mogli očekivati pandemiju COVID-19 i biti bolje pripremljeni na emergenciju SARS-CoV-2, sedmoga u nizu koronavirusa ljudi? Koliko god u ovom trenutku, kada su svi svjetski resursi usmjereni na suzbijanje posljedica pandemije, ovo pitanje može zvučati irelevantno, ono nam mora biti smjernica za budućnost. Smjernica za intenziviranje istraživanja koronavirusnih infekcija životinja u skladu s pristupom „Jedno zdravlje“ kako bi neminovni budući, osmi koronavirus ljudi, dočekali puno spremniji te kroz zajednički rad ispunili temeljnu zadaću svih medicinskih struka, očuvanje zdravlja i života ljudi.

COVID-19 NA PODRUČJU HRVATSKE

Tatjana Vilibić- Čavlek^{1,2}, Vladimir Stevanović³, Irena Tabain¹, Ljiljana Antolašić¹,
Ljiljana Milašinčić¹, Željka Hruškar¹, Ljubo Barbić³, Dario Sabadi^{4,5}, Anna Mrzljak^{2,6},
Ljiljana Perić^{4,5}, Maja Bogdanić¹, Željka Jureković⁶, Vladimir Savić⁷, Boris Kudumija⁸,
Jadranka Pavičić-Šarić⁶, Goranka Petrović¹, Krunoslav Capak¹, Bernard Kaić¹

¹Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

³Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

⁴Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

⁵Medicinski fakultet, Sveučilište J.J. Strossmayera, Osijek, Hrvatska

⁶Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

⁷Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

⁸Poliklinika za internu medicinu i dijalizu B. Braun Avitum, Zagreb, Hrvatska

e-mail: tatjana.vilibic-cavlek@hzjz.hr

Krajem prosinca 2019. godine zabilježeno je grupiranje bolesnika s atipičnom pneumonijom nepoznate etiologije na području Wuhan, Kina. Iako su se prve oboljele osobe epidemiološki povezivale s boravkom na gradskoj veleprodajnoj tržnici morskih i živih životinja što je upućivalo na vjerojatan zoonotski prijenos, ubrzo je opisano obiteljsko grupiranje bolesti kao i pojava sekundarnih slučajeva u zdravstvenim ustanovama čime je nedvojbeno potvrđen interhumani prijenos. Početkom siječnja 2020. godine, kao uzročnik dokazan je novi koronavirus (2019-nCoV) koji se razlikovao od svih do sada poznatih humanih koronavirusa. Bolest je nazvana COVID-19 (engl. *coronavirus disease*), a virus preimenovan u SARS-CoV-2. Nakon epidemije u Kini, bolest se brzo proširila diljem svijeta te je Svjetska zdravstvena organizacija 11. ožujka 2020. godine proglasila pandemiju.

SARS-CoV-2 se prenosi kapljičnim putem (izravan kontakt s izlučevinama bolesnika tijekom govora, kašljanja i kihanja) ili inhalacijski (udisanjem aerosola koji nastaje pri medicinskim zahvatima u zdravstvenim ustanovama). Asimptomatske osobe također mogu prenositi virus. Još uvijek nije razjašnjeno u kojoj je mjeri moguć prijenos virusa npr. fekalno-oralnim putem ili putem očnih sekreta. Neka su istraživanja pokazala da je izlučivanje virusa iz probavnog sustava duže u odnosu na dišni sustav. Isto tako, nedavne su studije dokazale prisutnost novijih koronavirusa na neživim površinama (metal, staklo, plastika) do 9 dana što upućuje na mogućnost prijenosa i preko kontaminiranih predmeta. Infektivnost virusa može se uništiti 62-70% etanolom, 0,5% vodikovim peroksidom te 0,1% natrijevim hipokloritom tijekom 1 minute.

Inkubacija COVID-19 najčešće iznosi 4-5 (do 14) dana. U 80% bolesnika, bolest je blagog tijeka, u 15% teškog, a oko 5% bolesnika zahtijeva liječenje u jedinici intenzivne skrbi. Ukupna stopa smrtnosti iznosi 0,7%-7,2%. Od kliničkih simptoma pojavljuju se prema učestalosti: povišena tjelesna temperatura (99%), opća slabost i malaksalost (70%), suhi i podražajni kašalj (59%), gubitak apetita (40%), bolovi u mišićima (35%), oslabljen osjet ili gubitak osjeta njuha i okusa (34%), zaduha (31%), proljev (13%), mučnina/povraćanje (10%) te bolovi u trbuhu (9%).

Dijagnostika SARS-CoV-2 provodi se dokazom virusne RNA metodom lančane reakcije polimerazom nakon reverzne transkripcije (RT-PCR) te detekcijom specifičnih protutijela. Početno se testiranje vrši imunoenzimskim testom (EIA) uz potvrdu testom neutralizacije virusa (VNT). Serološka su testiranja važna za procjenu proširenosti infekcije u populaciji te kao dodatna metoda za potvrdu kliničkih slučajeva u bliskih kontakata oboljelih čiji je RT-PCR nalaz negativan.

Prvi slučaj COVID-19 u Hrvatskoj je zabilježen 25. veljače 2020. godine, a do 12. studenog dokazano je ukupno 75,922 slučajeva i 925 smrtnih slučajeva. Oboljele su osobe iz svih hrvatskih županija.

U svrhu određivanja seroprevalencije testirana je opća populacija kao i pojedine populacijske skupine: zdravstveni radnici, profesionalni sportaši, građevinski radnici iz Zagreba i okolice koji su radili na saniranju građevina oštećenih potresom u ožujku 2020. godine, bolesnici na hemodijalizi te bolesnici nakon transplantacije solidnih organa. EIA testom, SARS-CoV-2 protutijela dokazana su u 2,3% osoba iz opće populacije; 2,7% zdravstvenih radnika; 2,9% građevinskih radnika; 5,9% bolesnika na hemodijalizi; 19,4-20,7% bolesnika nakon transplantacije jetre i bubrega te 11,1% sportaša.

U svrhu sprečavanja širenja COVID-19, osnovno je pravilo izbjegavanje bliskog kontakta s osobama koje imaju simptome respiratorne infekcije. Standardne mjere prevencije uključuju higijenu ruku i dišnih puteva te korištenje odgovarajuće osobne zaštitne opreme. Medicinsko osoblje koje liječi i zbrinjava bolesnike sa suspektnom COVID-19 infekcijom mora nositi zaštitnu odjeću, masku (N95), nitrilne rukavice i zaštitne naočale. Pri oduzimanju kliničkih uzoraka ili izvođenju medicinskih postupaka tijekom koji dolazi do stvaranja aerosola potrebno je koristiti vizir kako bi se izbjegla kontaminacija sluznica.

Zahvala: Ovaj je rad sufinanciran projektom Medicinskog fakulteta Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku: Kliničke značajke i molekularna epidemiologija COVID-19 na području Osječko-baranjske županije (voditeljica: prof. dr. sc. Ljiljana Perić).

DIJAGNOSTIKA COVID-19: ISKUSTVA REFERENTNOG CENTRA MINISTARSTVA ZDRAVSTVA ZA VIROLOŠKU DIJAGNOSTIKU INFEKCIJA DIŠNOG SUSTAVA

Irena Tabain¹, Vladimir Stevanović², Željka Hruškar¹, Ivana Ferencak¹, Iva Fiolić¹,
Gordana Vojnović¹, Ljubo Barbić², Ljiljana Antolašić¹, Anita Mišić¹, Bojana Bocka¹,
Diana Brlek-Gorski¹, Nataša Janev-Holcer¹, Pavle Jeličić¹, Vladimir Savić³, Goranka Petrović¹,
Bernard Kaić¹, Ljiljana Milašinčić¹, Vesna Šeperić¹, Mirela Josipović¹, Tatjana Vilibić-Čavlek¹

¹Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

²Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

³Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

e-mail: irena.tabain@hzjz.hr

Sredinom prosinca 2020. godine u Kini je zabilježeno grupiranje bolesnika s atipičnom virusnom pneumonijom nepoznate etiologije za koju je utvrđeno da je uzrokovana novim koronavirusom zoonotskog podrijetla (SARS-CoV-2), a bolest je nazvana COVID-19. S pojavom prvih slučajeva izvan Kine i laboratorij Nacionalnog centra za gripu, koji je dio Referentnog centra Ministarstva zdravstva za virološku dijagnostiku infekcija dišnog sustava u Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo (HZJZ), započeo je s pripremama za uvođenje dijagnostike SARS-CoV-2. Prvo je uvedena izravna (lančana reakcija polimerazom s reverznom transkripcijom; RT-PCR, te brzi testovi za detekciju antigena), a kasnije i neizravna dijagnostika (EIA/ELFA, test neutralizacije virusa; VNT). Od početka epidemije u Hrvatskoj, u HZJZ-u je RT-PCR metodom testirano više od 110 000 uzoraka na SARS-CoV-2, od čega je 14 610 bilo pozitivnih. Dokaz prisutnosti virusa u uzorku RT-PCR-om još uvijek je metoda izbora za dokaz akutne infekcije. Međutim, za procjenu proširenosti infekcije u populaciji jako je važno provesti serološka testiranja. Serologija je važna i kao dodatna metoda za potvrdu klinički jasnih slučajeva s negativnim RT-PCR nalazom na COVID-19 u osoba koje su bliski kontakti oboljelih.

Validacijom više vrsta brzih imunokromatografskih antigenih testova (engl. *Rapid antigen test*; RAT) utvrđeno je da značajan broj RAT-ova (poput Abbott, Ecotest, Biosensor, Biosynex, Humasis) ima visoku osjetljivost (>90%) kod uzoraka kojima je RT-PCR-om SARS-CoV-2 zabilježen do 25 ciklusa amplifikacije.

Učinjena je usporedba deset seroloških testova za dijagnostiku SARS-CoV-2: pet 'Point-of care' (POC) imunokromatografskih testova (ACRO, AMP, ENCODE, NG BIOTECH i WIZ BIOTECH),

četiri imunoenzimski testovi (EIA; DiaPro, Vircell; Euroimmun i NovaTec) te imunoenzimskog testa s fluorescentnom detekcijom (ELFA; Mini Vidas). EIA testovi su pokazali veću osjetljivost detekcije IgM/IgA protutijela u usporedbi s POC testovima, dok je osjetljivost detekcije IgG protutijela bila podjednaka u POC i EIA testovima.

Budući da je test neutralizacije virusa (VNT) još uvijek zlatni standard za potvrdu seroloških testova, izoliran je SARS-CoV-2. Virus je uzgojen u staničnoj kulturi na Vero E6 stanicama iz nazofaringealnog obriska COVID-19 bolesnika u BSL-3 uvjetima (biozaštitni laboratorij 3. kategorije). Početno reaktivni serološki rezultati dodatno su provjereni mikro-neutralizacijskim testom (mVNT). Također je testiran i surogat VNT (GENSCRIPT SARS-CoV-2 Surrogate Virus Neutralisation ELISA) koji je pokazao značajno nižu osjetljivost u uzorcima s niskim titrom neutralizacijskih protutijela detektiranih klasičnim mVNT-om (8 i 16).

Analizirana je i prisutnost SARS-CoV-2 u okolini COVID-19 bolesnika kako bi se procijenio obim prisutnosti virusa u okolišu oboljelih. SARS-CoV-2 RNA dokazana je u 3/41 (7,3%) okolišnih uzoraka (mobitel, upravljač igranje konzole, prozorska kvaka).

MJESTO I ULOGA VETERINARSKJE SPECIJALISTIČKE SLUŽBE U ODGOVORU NA COVID-19 INFEKCIJU U SRBIJI

Tamaš Petrović¹, Gospava Lazić¹, Dalibor Todorović¹, Milena Samojlović¹, Dejan Vidanović²,
Vladimir Polaček¹, Diana Lupulović¹, Siniša Grubač¹, Milanko Šekler², Sava Lazić¹

¹ *Naučni institut za veterinarstvo “Novi Sad”, Novi Sad, Srbija*

² *Veterinarski specijalistički institut “Kraljevo”, Kraljevo, Srbija*

e-mail: tomy@niv.ns.ac.rs

COVID-19 je bolest ljudi izazvana infekcijom SARS-CoV-2 virusom. Za ovaj virus se smatra da je poreklom od životinja (slepih miševa) i da je zoo-antropogeni prenos na ljude nastao kao rezultat ukrštanja velikog broja divljih životinjskih vrsta i čoveka na malom području u okviru pijace u gradu Vuhan u Kini krajem prošle i početkom ove godine. Virus se tokom meseci brzo proširio svetom, uzrokujući visok morbiditet i visok broj mrtvih u humanoj populaciji (50.493.278 obolelih i 1.260.991 preminulih osoba na dan 08.11.2020.), kao i velike socijalne i ekonomske probleme širom sveta. Svetska zdravstvena organizacija je 11. marta 2020. god. proglasila pandemiju COVID-19 bolesti izazvanu virusom SARS-CoV-2. Prvi slučaj bolesti COVID-19 u Republici Srbiji potvrđen je 6. marta 2020. god., a do 08.11.2020.god broj registrovanih slučajeva porastao je na 60.635, od čega 880 sa letalnim ishodom.

Jedan od ključnih faktora u prevenciji širenja bolesti izazvane virusom SARS-CoV-2 jeste brzina utvrđivanja prisustva virusa u humanoj populaciji. U cilju dijagnostičkog testiranja i skrininga COVID-19 svuda u svetu najpre su se primenjivali molekularni testovi (real-time RT PCR) kao visoko osetljivi i specifični. Imajući u vidu naglo povećanje broja slučajeva obolelih od COVID-19, da bi se zadovoljile operativne potrebe za kontrolom COVID-19 bili su potrebni dodatni kapaciteti za testiranje u većem obimu. Svetska organizacija za zdravlje životinja (OIE) pored praćenja eventualne pojave virusa SARS-CoV-2 kod životinja, objavila je i principe i uslove rada veterinarskih laboratorija u dijagnostici. Sledeći ove principe, a zahvaljujući uspostavljenom sistemu organizacije akreditovanih laboratorija (SRPS ISO 17025), kadrovskim resursima i opremom, veterinarska specijalistička služba u Srbiji u okviru veterinarskih instituta se aktivno uključila u dijagnostiku SARS-CoV-2. Glavni izazov za stručnjake veterinarskih instituta tokom COVID-19 pandemije bio je podržati odgovor sektora javnog zdravlja putem testiranja humanih dijagnostičkih uzoraka. Učešće veterinarskih instituta u sprovođenju testova molekularne

dijagnostike radi identifikacije SARS-CoV-2 je bio i ostao gest odgovornosti i jedinstva prema pristupu „Jedno zdravlje“ u rešavanju zdravstvenih problema uzrokovanim zoonoznim i drugim patogenima.

Od kraja marta 2020. godine u mrežu dijagnostičkih laboratorija za testiranje SARS-CoV-2 u Srbiji se redom uključuju, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“ (NIV-NS), a zatim Veterinarski specijalistički institut (VSI) „Kraljevo“, pa VSI „Niš“, pa VSI „Šabac“ i kasnije VSI „Subotica“. Uzorkovanje, pripremu materijala i dokumentaciju za laboratorijsko ispitivanje obavljala je epidemiološka služba i laboratorije područnih Instituta i Zavoda za javno zdravlje. Prijem materijala i primarna obrada uzoraka, kao i ispitivanje u veterinarskim institutima je rađeno u za tu svrhu organizovanom namenskom prostoru uz poštovanje biosigurnosnih mera visokog nivoa. Rezultati ispitivanja dostavljani su pošiljaocu elektronskim putem po završetku ispitivanja.

Prvi uzorci u NIV-NS su ispitani 29.03.2020. godine i od tada je Institut bio svakodnevno uključen u mrežu laboratorija koje testiraju uzorke na ovaj virus, sa dnevnim kapacitetom od 200 - 300 uzoraka. Zajedno sa Institutom za javno zdravlje Vojvodine su testirani svi uzorci koji su se prikupljali na području Vojvodine do jula 2020.godine. Osnovni princip je bio da se uzorci uzeti tokom dana testiraju istog dana, a maksimalno u roku od 24 sata. Od jula meseca su uzorci primani i iz laboratorije „Vatrenog oka“ iz Beograda. Zahvaljujući visoko sofisticiranoj opremi zavidnog kapaciteta, koja podrazumeva automatski ekstraktor nukleinskih kiselina *KingFisher Flex* sa mogućnošću ekstrakcije do 96 uzoraka istovremeno, 2 *real-time PCR* instrumenta (*7500 real-time PCR System, Applied Biosystem*) i sve ostale prateće opreme, a posebno obučanim kadrovima, koji čine tim od 4 doktora nauka i jedan tehnički saradnik, do polovine avgusta, u NIV-NS je ukupno je ispitano 12.000 uzoraka od čega 2342 (19.52%) sa pozitivnim nalazom. Pri tome, u velikom broju slučajeva se radilo u 2 smene. U VSI „Kraljevo“ je u periodu od aprila do polovine avgusta pregledano je 13.282 uzorka poreklom sa teritorije 7 okruga Jugozapadne Srbije. Dnevno je pregledano od 200 do 300 uzoraka, a svi primljeni uzorci bili su laboratorijski ispitani u roku od 24 sata. Broj uzoraka sa pozitivnim nalazom je iznosio 2819 ili 21.22% (prevalenca u prvom talasu je bila 9,5%, tj u odnosu na broj pregledanih iz pojedinih okruga od 2-20% a u drugom talasu 45.7%, tj od 7 do 65%). U periodu od 03. aprila do 15. avgusta 2020. godine laboratorija VSI „Šabac“ izvršila je analizu 13992 uzorka, a genom virusa SARS-CoV-2 je potvrđen u 2620 (18.72%) uzorka. Uzorci su pretežno pristizali sa područja centralne i severozapadne Srbije. U VSI Niš uzorke za detekciju prisustva genoma virusa SARS-CoV-2 je dostavljalo 18 različitih medicinskih institucija sa područja jugoistočne

Srbije, ali su uzorci primani i od drugih laboratorija koje su vršile ova ispitivanja. Od 01. aprila do 15. avgusta 2020. godine laboratorija VSI „Niš“ je izvršila analizu 19751 uzoraka, od čega je 13,26% (2619) uzoraka dalo pozitivan nalaz. Pored laboratorijskog dijagnostike ovoga virusa, istraživači i tehnički saradnici NIV-NS su bili uključeni u dezinfekciju stambenih jedinica (ulazi u zgrade, hodnici, zajedničke prostorije i drugo) i ulica na području Grada Novog Sada. Zahvaljujući opremi za dezinfekciju i kadrovima sa kojima raspolaže NIV-NS ukupno je u period od 01.04. do 15.05.2020. dezinfikovano 1.673 stambenih jedinica i u više navrata u vreme vanrednog stanja i sve ulice u prigradskim naseljima.

Na istraživačkom planu, istraživači NIV-NS su intenzivirali istraživanja prisustva i genetske karakterizacije koronavirusa kod slepih miševa koja sprovode sa Prirodnjačkim muzejom iz Beograda i VSI Kraljevo već nekoliko godina unazad. Shvatajući značaj sekvenciranja celog genoma, virusološka laboratorija VSI „Kraljevo“ je prva u zemlji sekvencirala i ceo genom SARS-CoV-2 virusa. U okviru Nacionalnog projekta u saradnji sa Medicinskim fakultetom u Beogradu, u okviru "Nacionalne studije seroprevalencije i molekularne karakterizacije SARS-CoV-2 tokom epidemije u populaciji Srbije", koji je odobrila i finansirala Vlada Republike Srbije, u VSI „Kraljevo“ je na Minion uređaju (Oxford Nanopore) urađeno sekvenciranje 150 uzoraka SARS-CoV-2 u dužini celog genoma virusa, poreklom sa terena gde su veterinarski instituti radili dijagnostiku, kao osnova daljeg proučavanja epidemiologije bolesti na molekularnom nivou. U NIV-NS su od skora otpočela i istraživanja i komercijalna testiranja prisustva SARS-CoV-2 kod kućnih ljubimaca, pre svega kod pasa i mačaka. Osim toga, vršena su, a i trenutno su u toku istraživanja prisustva SARS-CoV-2 u površinskim vodama u neposrednim blizinama izliva gradskih kanalizacija, kao potencijalni hazard kontaminacije životne sredine i daljeg širenja virusa na ljude i životinje, a i kao indikator intenziteta prisustva virusa kod stanovništva tih urbanih naselja. Pored prethodno navedenog, kadar NIV-NS je u proteklih 4 meseca značajno uključen i u testiranja više dezinficijenasa u smislu testiranja njihovog virucidnog efekta na virus SARS-CoV-2 kao i na neke druge viruse.

Razvoj situacije u svetu, kao i na nacionalnom planu je dokazao sve prednosti pristupa „Jedno zdravlje“, koji je praktično pokazao značaj sistemske saradnje humane i veterinarske medicine u slučaju pojave zoonotskog oboljenja.

Zahvalnica: Ovaj rad i istraživanja su podržana od strane Ministarstva poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede, Uprave za veterinu i ugovorom sa Ministarstvom prosvete, nauke i tehnološkog razvoja R. Srbije o realizaciji i finansiranju naučnoistraživačkog rada NIV-NS u 2020. godini, broj 451-03-68/2020-14/200031 od 24.01.2020. godine.

SARS CoV-2 PANDEMIC: CORONAVIRUS INFECTIONS IN ANIMALS AND VETERINARY RESPONSE IN SLOVENIA

Ivan Toplak

*University of Ljubljana, Veterinary Faculty,
Institute of Microbiology and Parasitology, Ljubljana, Slovenia*

e-mail: ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Genetic and antigenic similarity of some coronaviruses (CoV) is evident among animal and human strains. But rarely, animal CoV can be transmitted to humans and then spread between people such as with SARS, MERS, and new human coronavirus virus (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2 was identified for the first time in in December 2019 in city Wuhan in China and then in few months spread all over the world, producing the biggest pandemical event in last century. CoV are a large family of viruses that are common in different species of animals, including cattle, pigs, cats, dogs, birds, ferrets, camels, and bats. Since 2008 sequence analysis of highly conserved RNA dependent RNA polymerase gene or complete genomes determination have been done in several animal CoV (pigs, cattle, cats) in Slovenia. All CoV identified in 2008 in horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) fecal samples has been genetically closely related, with 99.5 % to 100 % nucleotide identity to each other and belong to genus Betacoronavirus, into SARS-like CoV cluster, and sharing 95.67 – 96.19 % nucleotide identity with *Rhinolophus hipposideros* CoV from Spain and Italy, the closely related strains in GenBank. Slovenia is with two million inhabitants one of the smallest countries in European Union. The first laboratory positive human case of SARS-CoV-2 was detected on March 4th, 2020. From March to November 12th, 2020 a total 50.864 SARS-CoV-2 human positive cases were laboratory confirmed and 686 human deaths were reported. During first wave of SARS-CoV-2 of epidemic in humans, with maximum 70 daily cases on March 27th, 2020 in Slovenia, several control measures were implemented in a country and successfully reduced number of reported cases on 0 until beginning of May 2020. The general preventive measurements were suggested also to pet owners and farmers, with aim to reducing risk of transmission from infected person to susceptible animals. The second wave of SARS-CoV-2 started in July 2020, by increasing number of daily reported human positive cases to maximum 2.612 cases on October 28th, 2020. Since May 2020 two veterinary laboratories have been implemented laboratory protocols for fast and reliable detection of SARS-CoV-2 infections in clinical samples

of animals. No SARS-CoV-2 clinical cases or laboratory positive animals were identified during human epidemic in Slovenia. Since April 2020, all important information for veterinarians, pet owners and farmers are regularly updated on special coronavirus web page of Veterinary Faculty University of Ljubljana.

UČESTALOST I EPIDEMIOLOŠKI ZNAČAJ INFEKCIJA KUĆNIH LJUBIMACA SARS-CoV-2 VIRUSOM

Vladimir Stevanović¹, Tatjana Vilibić-Čavlek^{2,3}, Irena Tabain², Iva Benven¹, Vilim Starešina¹,
Ljubo Barbić¹

¹Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

²Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

³Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

e-mail: vladimir.stevanovic@vef.hr

Od prvog opisa krajem 2019. godine, novi je koronavirus SARS-CoV-2 zabilježen u velikom broju država širom svijeta uzrokujući globalnu pandemiju. Zbog pretpostavljenog zoonotskog podrijetla ovog virusa početkom 2020. godine načinjena su prva istraživanja osjetljivosti pojedinih vrsta domaćih životinja na infekciju SARS-CoV-2. Ova istraživanja pokazala su prijemljivost pasa, mačaka te pitomih vretica na infekciju u laboratorijskim uvjetima. U terenskim uvjetima dokazi infekcije u pasa i mačaka su sporadični, međutim danas svjedočimo pojavi širenja SARS-CoV-2 na farmama američke i europske vidrice i prijenosa virusa sa zaraženih životinja na ljude. Navedeni podaci pokazuju da je još mnogo toga nepoznato o ulozi domaćih životinja u epidemiologiji bolesti COVID-19. Ovim istraživanjem pokušali smo razjasniti ulogu kućnih ljubimaca u epidemiologiji bolesti serološkim pretraživanjem uzoraka seruma pasa i mačaka.

Od 26. veljače 2020. godine, samo jedan dan nakon prvog potvrđenog slučaja infekcije SARS-CoV-2 u ljudi u Hrvatskoj, do 15. lipnja 2020. godine prikupljeni su ostadni uzorci seruma pasa i mačaka zaprimljenih u tri veterinarske organizacije s područja Zagreba i Splita. Ukupno je prikupljeno 656 uzoraka seruma pasa i 131 uzorak seruma mačaka koji su pretraženi virus neutralizacijskim testom razvijenim za potrebe ovog istraživanja. Od navedenih uzoraka nasumično je odabrano 172 uzorka seruma pasa koji su dodatno pretraženi imunoenzimnim testom. Korišteni imunoenzimni test nastao je preinakom komercijalno dostupnog kompleta koji je prilagođen pretraživanju uzoraka seruma pasa na prisutnost protutijela za SARS-CoV-2 virus.

Neutralizirajuća protutijela su dokazana u 0,76% seruma mačaka. Seroprevalencija SARS-CoV-2 infekcije u mačaka u Hrvatskoj je niska, osobito kada se usporedi sa seroprevalencijom u mačaka u Wuhanu. Po drugoj strani prevalencija neutralizirajućih protutijela u mačaka je

slična prevalenciji mačaka koje su pokazale pozitivan rezultat imunoenzimnim testom u Francuskoj. Kako se čini u terenskim uvjetima infekcija u mačaka u Europi je rijetka. Kod pasa u 0,31% seruma dokazana je neutralizacijska aktivnost te su imunoenzimnim testom protutijela su dokazana i u 7,56% pretraženih životinja. U dostupnoj literaturi ne postoje podaci o sličnim istraživanjima za usporedbu. Što je zanimljivo prvi, imunoenzimnim testom, pozitivni uzorak seruma psa uzorkovan je u Zagrebu 17. travnja, oko sedam tjedana nakon prvog dokaza infekcije u ljudi u istom području, a najveći broj pozitivnih pasa je uzorkovan šest tjedana nakon najvećeg zabilježenog broja infekcija u ljudi. Ova odgoda od šest do sedam tjedana govori u prilog da dinamika infekcije SARS-CoV-2 u pasa prati dinamiku infekcije u ljudi. Naime kako se slučajevi u ljudi potvrđuju dokazom uzročnika, a u ovom istraživanju u kućnih ljubimaca, dokazom protutijela ovakav vremenski odmak je očekivan te nema naznaka o pojavi neovisne epizootije među pretraživanim psima.

Zaključno, niska seroprevalencija i nizak titar neutralizirajućih protutijela u pozitivnih životinja govori u prilog da su infekcije u kućnih ljubimaca rijetke. Usporedbom rezultata seroprevalencije u kućnih ljubimaca i širenja infekcije SARS-CoV-2 u populaciji ljudi u Hrvatskoj nema dokaza da se ovaj virus širio neovisno među kućnim ljubimcima već da su primaran izvor infekcije za pse i mačke zaraženi ljudi.

DIVLJE ŽIVOTINJE I OKOLIŠ KAO POKAZATELJI PRISUTNOSTI VIRUSA SARS-CoV-2 U HRVATSKOJ

Dragan Brnić, Ivana Lojkić, Nina Krešić, Ivana Šimić, Ines Škoko, Besi Roić,
Boris Habrun, Lorena Jemeršić

Hrvatski veterinarski institut, Odjel za virologiju, Laboratorij za dijagnostiku klasične svinjske kuge, molekularnu virologiju i genetiku, Zagreb, Hrvatska

e-mail: brnic@veinst.hr

Pandemija COVID-19, uzrokovana virusom SARS-CoV-2, zbog javno-zdravstvene ugroze promijenila je svijet, od prve pojave bolesti u Kini 2019. godine do danas. Uzročnik bolesti je virus iz porodice *Coronaviridae*, rod *Betacoronavirus*, a dosadašnje analize velikog broja genoma ukazuju na nisku genetsku raznolikost cirkulirajućih sojeva virusa. Smatra se da su izvorni prirodni rezervoari ovog virusa šišmiši, a intermedijarni domaćin do danas nije potvrđen. Do sada je virus SARS-CoV-2 dokazan u nekoliko vrsta životinja uslijed izravnog prijenosa infekcije s čovjeka na životinju. Međutim zbog boljeg epidemiološkog razumijevanja infekcije, dodatna su istraživanja potrebna, naročito u divljih životinja u njihovom prirodnom okruženju. Uslijed izlučivanja virusa putem fecesa, okolišni uzorci su također predmet istraživanja, naročito otpadne vode gdje je virus SARS-CoV-2 dokazan i prije prvih slučajeva kod ljudi. Cilj predmetnog istraživanja je utvrditi značaj odabranih divljih životinjskih vrsta kao mogućih domaćina i rezervoara virusa SARS-CoV-2 te dokazati prisutnost virusa u okolišnim uzorcima kao potencijalnog rizika u širenju infekcije.

Istraživanje je provedeno na uzorcima podrijetlom od divljih svinja, lisica, čagljeva, galebova, šišmiša, otpadnih i površinskih voda te školjaka prikupljenih od svibnja 2019. godine do studenog 2020. godine. Od divljih životinjskih vrsta pretraženi su krv (mišićni iscrpak kod lisica i čagljeva), te feces (feces i guano kod šišmiša) ili rektalni/kloakalni brisevi. Površinske i otpadne vode te uzorci školjaka pripremljeni su sukladno ISO normi 15216-1 2017. Uzorci krvnog seruma i mišićnih iscrpaka pretraženi su primjenom komercijalnog ELISA kompleta na prisutnost specifičnih protutijela za virus SARS-CoV-2, a uzorci fecesa, guana, rektalnih/kloakalnih briseva, otpadnih i površinskih voda te hepatopankreasa školjaka pretraženi su primjenom metode RT-PCR u stvarnom vremenu (za gene koji kodiraju proteine E, N i/ili nsp14

virusa SARS-CoV-2) i/ili ugniježdene RT-PCR metode (za gen koji kodira protein nsp14 virusa SARS-CoV-2).

Preliminarni rezultati ovog istraživanja ukazuju na prisutnost specifičnih protutijela u 57,9% (22/38) uzoraka podrijetlom od šišmiša, 1,3% (2/155) uzoraka podrijetlom od divljih svinja uz jedan suspektan rezultat u galebova (N = 102). Primjenom molekularnih metoda, dokazali smo prisutnost dijela genoma virusa SARS-CoV-2 u fecesu šišmiša (2/21, 9,5%) i u otpadnim/površinskim vodama (1/28, 3,6%). Uzorci hepatopankreasa školjkaša polučili su negativan rezultat. Istraživanje je u tijeku te će potpuni rezultati biti prezentirani na Simpoziju. Naša buduća istraživanja bit će usmjerena na provedbu potvrdnih seroloških i molekularnih metoda. Prikazani rezultati ukazuju na važnost pretraživanja uzoraka podrijetlom od životinja i iz okoliša jer jedino uz pristup „Jednog zdravlja“ možemo adekvatno odgovoriti na izazove emergentnih zoonoza već danas, ali i u budućnosti.

PANDEMIJA COVID-19 – IZAZOV ZA MODERNU MEDICINU

Alemka Markotić

Klinika za infektivne bolesti “Dr. Fran Mihaljević”, Zagreb, Hrvatska

e-mail: alemka.markotic@bfm.hr

Pandemija COVID-19 je postavila velike izazove pred modernu medicinu. U ovom trenutku preko 41 milijun je zaraženih i milijun i četristo tisuća umrlih u svijetu. Veliki broj inficiranih i umrlih je i u cijeloj Europi, što trenutno predstavlja veliki pritisak na sustav zdravstva te ekonomiju, ali i mentalno zdravlje stanovništva.

Zahvaljujući tome što se cijeli znanstveni i stručni svijet udružio u borbi protiv novog koronavirusa, u iznimno kratkom vremenu su se razvili molekularni dijagnostički PCR testovi, a nakon toga i serološki i brzi antigenski testovi, koji također imaju ulogu u dijagnostici COVID-19.

Tijekom ovih desetak mjeseci značajna iskustva su se stekla i u kliničkom zbrinjavanju i liječenju bolesnika, iako specifičnih, učinkovitih lijekova za sada još uvijek nema. Značajne spoznaje i o imunopatogenezi ove nove bolesti su ostvarene te predstavljaju važnu podlogu za razvoj lijekova i cjepiva.

Veliku nadu u stavljanje pandemije pod kontrolu, međutim daju cjepiva. Nekoliko različitih cjepiva za sada pokazuje značajnu učinkovitost, a ozbiljnije nuspojave za sada nisu zabilježene. Ono što je od iznimne važnosti je osigurati što veću procijepljenost stanovništva, u prvom redu rizičnih skupina i profesionalno izloženih osoba, a zatim i šire populacije.

Naredni mjeseci će pokazati koliko će i sama cjepiva, a i cjepna kampanja biti uspješni, a do tada je od iznimne važnosti držati se jednostavnih, ali učinkovitih epidemioloških mjera.



SARS-CoV-2 u sklopu koncepta „Jedno zdravlje“
SARS-CoV-2 within „One Health“ concept



Notes:

Bilješke:

HRVATSKA AKADEMIJA ZNANOSTI I UMJETNOSTI
CROATIAN ACADEMY OF SCIENCES AND ARTS

Razred za medicinske znanosti
Department of Medical Sciences

Odbor za animalnu i komparativnu patologiju
Committee of Animal and Comparative Pathology



SARS-CoV-2 u sklopu koncepta „Jedno zdravlje“
SARS-CoV-2 within „One Health“ concept

Virtualni simpozij
Online Symposium

Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti
Croatian Academy of Sciences and Arts, Zagreb

Četvrtak, 26. studenoga 2020.

Thursday, November 26th 2020