

# Epidemiološke karakteristike kronične HCV infekcije u Osječko-baranjskoj županije

---

**Kopjar, Dajana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:170654>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-25**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijska  
dijagnostika**

**Dajana Kopjar**

**EPIDEMIOLOŠKE KARAKTERISTIKE  
KRONIČNE HCV INFEKCIJE U  
OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANIJI**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2018.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijska  
dijagnostika**

**Dajana Kopjar**

**EPIDEMIOLOŠKE KARAKTERISTIKE  
KRONIČNE HCV INFEKCIJE U  
OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANIJI**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2018.**

Rad je izrađen u Službi za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Domagoj Drenjančević, dr. med. spec. med. mikrobiologije i parazitologije

Rad ima: 28 listova i 9 tablica

## ZAHVALA

Veliko hvala mojim roditeljima koji su uvijek vjerovali u mene i moj uspjeh kada ni sama nisam. Hvala vam na bezgraničnoj ljubavi i strpljenju.

Veliko hvala mojoj svekrvi Anici bez koje bi ovo „putovanje“ bila nemoguća misija. Hvala na podršci i brojnim satima čuvanja djece, te na pomoći pri njihovom odgoju i na brojnim napisanim zadaćama.

Hvala mentoru profesoru Domagoju Drenjančeviću koga iznimno cijenim. Hvala Vam što ste imali volje i strpljenja za sva pitanja i nedoumice.

Najveća zahvala upućena je dragom Bogu koji me čuvao i pratio tijekom cijelog života te me doveo do ovog trenutka.

Rad posvećujem roditeljima.

## SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| 1. UVOD .....   | 1  |
| 1.1. Virus hepatitisa C .....   | 1  |
| 1.1.1. Put prijenosa infekcije HCV-a.....                               | 2  |
| 1.2. Kvantitativno određivanje HCV-a.....                               | 2  |
| 1.3. Određivanje genotipa HCV-a .....                                   | 3  |
| 1.4. Liječenje hepatitisa C .....                                       | 4  |
| 2. CILJ I SVRHA RADA.....   | 6  |
| 3. ISPITANICI I METODE RADA .....                                       | 7  |
| 3.1. Ustroj studije .....   | 7  |
| 3.2. Ispitanici .....   | 7  |
| 3.3. Uzorci i metode .....  | 7  |
| 3.4. Statistička obrada podataka .....                                  | 7  |
| 4. REZULTATI.....   | 8  |
| 4.1. Učestalost genotipova HCV-a i demografske osobine ispitanika ..... | 8  |
| 5. RASPRAVA.....  | 16 |
| 6. ZAKLJUČAK .....  | 18 |
| 7. SAŽETAK.....   | 19 |
| 8. SUMMARY .....  | 20 |
| 9. LITERATURA.....  | 21 |
| 10. ŽIVOTOPIS .....   | 23 |

## POPIS KRATICA KORIŠTENIH U RADU (abecednim redom)

|          |  |
|----------|--|
| Anti-HCV | protutijela specifična za HCV  |
| DAA      | direktni antivirusni lijekovi  |
| DNK      | deoksiribonukleinska kiselina  |
| HAV      | virus hepatitisa A   |
| HAB      | virus hepatitisa B   |
| HCC      | hepatocelularni karcinom   |
| HIV      | virus humane imunodefekcije  |
| HZJZ     | Hrvatski zavod za javno zdravstvo  |
| KHB      | kronični hepatitis B   |
| KHC      | kronični hepatitis C   |
| RNK      | ribonukleinska kiselina  |
| WHO      | Svjetska zdravstvena organizacija ( <i>engl. World Health Organization</i> ) |
| ZZJZ     | Zavod za javno zdravstvo   |

## 1. UVOD

Za izazivanje virusnog hepatitisa uglavnom je zaslužan jedan od šest virusa nazvanih hepatitis A, B, C, D, E i G. Svaki od navedenih virusa, iako se bitno razlikuju po građi, porodici od koje potječu, načinu umnožavanja, načinu širenja bolesti te samom tijeku bolesti, ipak imaju zajedničku karakteristiku, a to je ciljni organ – jetra. Virus hepatitisa C otkriven je 1989. godine, kada približno 90 % slučajeva poslijetransfuzijskog hepatitisa nije uzrokovao do tada poznati virus hepatitisa A ili B. Bolest su B. Alter i suradnici nazvali non - A, non - B hepatitisom. Tek 1988. godine uspješno je izolirana virusna nukleinska kiselina iz plazme pokusno inficiranih čimpanza. To je značilo prvo uspješno izoliranje novog virusa bez upotrebe kultura tkiva i bez pomoći elektronskog mikroskopa (1).

NANB virus dobiva novo ime – hepatitis C.

### 1.1. Virus hepatitisa C

Virus hepatitisa C (HCV) jedan je od uzročnika upale jetre koja se može manifestirati kao akutna ili kronična bolest. Virus hepatitisa C građen je od ovojnice i pozitivne jednolančane RNK. Veličine je 60 nm, a genom mu sadrži približno 9 500 nukleotida. S obzirom na razlike u sekvencama virusnog genoma postoji više genotipova virusa. Virus HCV-a glavni je predstavnik porodice *Flaviviridae* iz roda *Hepacivirus* (2).

Inkubacija, odnosno vrijeme potrebno da se bolest razvije od ulaska virusa u organizam za hepatitis C iznosi oko 6 tjedana. Akutna infekcija je vrlo rijetko prepoznatljiva s obzirom na to da se simptomi karakteristični za akutni hepatitis (žutica, tamniji urin, svijetla stolica, bolovi u gornjem dijelu trbuha, mučnina) javljaju u manje od 20 % oboljelih. Najčešće je jedini simptom umor te rjeđe mučnina što je nedovoljno da bi liječnik posumnjao da se radi upravo o hepatitisu C. Slično je i s kliničkom slikom kroničnog hepatitisa C. Većina bolesnika nema nikakvih simptoma ili su simptomi nespecifični. Upravo zbog netipičnog tijeka bolesti, najveći dio oboljelih sasvim slučajno, tijekom sistematskog pregleda ili obrade zbog nekih drugih bolesti otkrije da boluje od te opake bolesti.



### 1.1.1. Put prijenosa infekcije HCV-a

Hepatitis C najčešće se prenosi direktnim kontaktom sa zaraženom krvi oboljele osobe. Krv mora prodrijeti kroz ozlijeđenu kožu ili sluznicu zdrave osobe te tako dospije u krvotok. Vjerojatnost infekcije ovisi o količini krvi i količini virusnih čestica u krvi oboljele osobe.

Najčešći način prenošenja virusa HCV-a je tijekom intravenskog uživanja opojnih droga, ako se pri tome ne koriste sterilne igle, šprice, već se zajednički višekratno upotrebljavaju iste.

Rizik zaraze hepatitisom C također predstavlja i transfuzija krvi ili krvnih pripravaka prije uvođenja obveznog testiranja dobrovoljnih davatelja krvi. U Hrvatskoj je to uvedeno 1993. godine (3).

U ostale moguće načine prijenosa infekcije hepatitisa C ubrajamo i perinatalni prijenos odnosno prijenos sa zaražene majke na novorođenče tijekom poroda. Ako je majka HCV RNA pozitivna, prosječno će oboljeti 6 % novorođenčadi. Način poroda i dojenje nemaju bitnu ulogu kod obolijevanja. Zaražena djeca najčešće razviju blaži oblik hepatitisa.

Što se tiče prijenosa infekcije HCV-a spolnim putem, uočena je slabija učinkovitost prijenosa koja je rijetka među stalnim partnerima te iznosi oko 5 % i vjerojatno ovisi o viremiji. Veća vjerojatnost prijenosa je među visoko promiskuitetnim pojedincima, čak do 15 % (4).

Zaraziti se hepatitisom C moguće je i kod medicinskih ili stomatoloških zahvata koji su izvedeni nesterilnim instrumentima. Prilikom tetoviranja, piercinga, akupunktura ili trajnog šminkanja izvedenih nesterilnim priborom.

Valja naglasiti da sve osobe kojima je prije otkrića virusa hepatitisa C postavljena dijagnoza non A non B hepatitisa, trebaju se obavezno testirati na hepatitis C jer postoji velika mogućnost da su baš zaražene virusom HCV-a (5,6).

Hepatitis C se ne širi ljubljenjem, kihanjem, kašljanjem, grljenjem, hranom, vodom i socijalnim kontaktom. Osobe koje su pozitivne na virus HCV-a ne smiju biti isključene iz škole, igre, s posla, vrtića i slično.

## 1.2. Kvantitativno određivanje HCV-a

Za kvantitativno određivanje HCV-a korišten je komercijalno dostupni test-paket COBAS®Taqman®HCV test. Njime je određen dokaz prisutnosti HCV-a te broj virusnih

kopija. Princip testa zasniva se na upotrebi Master Mix-a i mangana koji se nalaze u komercijalnom paketu. Master Mix sadrži termostabilnu Z05DNK polimerazu. Osjetljivost testa iznosi 25 IU/mL.

### **1.3. Određivanje genotipa HCV-a**

Genotip HCV-a određen je korištenjem komercijalno dostupnim test-paketom Linear Array Hepatitis C Virus Genotyping Test. Test određuje 6 glavnih genotipova HCV-a koje su označene arapskim brojevima od 1 do 6.

Princip navedenog testa zasniva se na upotrebi nitraceluloznih stripova i reagensa koji se nalaze u paketu. Na nitraceluloznom stripu nalaze se probe za svih 6 genotipova HCV-a te se jednolančani biotinizirani produkti vežu za specifične oligonukleotidne probe (7).

#### ***Postupak određivanja genotipa HCV-a***

Nakon uključivanja vodene kupelji podešene na temperaturu 50°C pristupa se pripremi radnih otopina. Radni pufer za hibridizaciju WHB (engl. *Working Hybridization Buffer*) priprema se tako da se u 432,5 ml destilirane vode doda 25 ml SSPE-reagensa i 10 ml SDS-reagensa. Radni pufer WSWB (engl. *Working Stringent Wash Buffer*) priprema se tako da se u 965 ml destilirane vode doda 25 ml SSPE-reagensa i 10 ml SDS-reagensa. Pufer za ispiranje WAWB (engl. *Working Ambient Wash Buffer*) priprema se tako da se u 1447,5 ml destilirane vode doda 37,5 ml SSPE-reagensa i 15 ml SDS-reagensa. Radni pufer WCB (engl. *Working Citrate Buffer*) priprema se tako da se u 450 ml destilirane vode doda 50 ml CIT-reagensa. Prije same upotrebe pufer WHB i WSWB potrebno je ugrijati u vodenoj kupelji 15 min na 50°C, nakon čega se podesi temperatura vodene kupelji na 55°C. Konjugat je pripremljen tako da je u 5 ml zagrijanog WSWB-reagensa dodano 50 µl SA-HRP-reagensa za jedan strip. U 24-well kadicu sterilnom pincetom pažljivo su stavljene nitracelulozne trake. Svakoj je trakici dodano 4 ml zagrijanog WHB-pufer i 100 µl denaturiranog amplikona. Kadicu treba pokriti poklopcem i položiti u vodenu kupelj 20 min/55 °C uz miješanje brzine 60 RPM. Tijekom inkubacije dolazi do vezanja jednolančanih biotiniziranih produkata za specifične oligonukleotidne probe koje su vezane za nitroceluloznu traku. Nakon vezanja, nitracelulozne se trake isperu puferima za

ispiranje te se dodaje pripremljen supstrat koji se sastoji od vodikovog peroksida i kromogen tetrametil benzidina (TMB). Peroksidaza katalizira oksidaciju vodikovog peroksida te posljedično oksidaciji kromogena TMB nastaje plava boja na onom mjestu na nitraceluloznoj traci gdje je došlo do specifične hibridizacije. Vidljivi plavi bendovi uspoređeni su s bendovima referalne tablice te se očitava prisutni HCV-genotip u ispitivanom uzorku (7).

#### 1.4. Liječenje hepatitisa C

Desetljećima nakon otkrića HCV-a (1989. g.), liječenje osoba zaraženih HCV-om je konačno moguće. Prva terapija se sastojala od monoterapije interferon-alfa. Ta je terapija dovela do učinkovite eliminacije virusa u samo 20 % oboljelih. Uspješnost liječenja je udvostručena kada su interferonu (IFN) u terapiji dodali ribavirin. Napredak u liječenju HCV-a počeo se brzo razvijati otkako je WHO 2014. godine izdala prvi Vodič za skrining, njegu i liječenje osoba s infekcijom hepatitisa C (*Guidelines for the screening, care and treatment of person with hepatitis C infection 2014.*)

Do 2014. godine zlatni standard u liječenju bila je kombinacija pegiliranog IFN-a i ribavarina. Nakon 2014. godine započelo je razdoblje oralne terapije bez primjene interferona što je rezultiralo stopama izlječenja većim od 90 % s kraćim trajanjem liječenja. SVR (engl. *sustained virological response*) je definiran kao osnovni cilj terapije koji predstavlja nedetektabilnu viremiju 24 tjedna nakon prestanka terapije, a u 99 % slučajeva odgovara izlječenju. Tijekom 2014. godine u zemljama Europske unije, SAD-u i Japanu registrirana su tri nova direktna antivirusna lijeka (DAA): simeprevir, sofosbuvir i daklatasvir. Novi DAA-ovi dijele se u četiri skupine: inhibitori NS3/4A proteaze, nukleozidni/nukleotidni inhibitori, nenukleozidni inhibitori HCV-ovisne RNK polimeraze i inhibitori NS5A proteaze. Kvantitativno određivanje viremije, odnosno broja virusnih kopija RNK izražava se kao broj međunarodnih jedinica u mililitru seruma (IU/ml) i dio je obvezne predterapijske dijagnostičke obrade. S obzirom na postojanje razlika u uspješnosti liječenja odnosno odgovora na terapiju i terapijskom pristupu u ovisnosti o kojoj je vrsti genotipa riječ, indicirano je svim pacijentima zaraženim s HCV-om odrediti genotip te podvrstu genotipa HCV-a. Budućnost liječenja KHC-a je prema dosadašnjim rezultatima i istraživanjima vrlo svijetla. Napredak na području istraživanja genetskih karakteristika virusa rezultirao je značajnim poboljšanjem farmakoterapije posljednjih deset godina. Uvođenjem i dostupnošću terapije bez interferona ostvaruje se velika stopa izlječenja (više od 90 %) (8,9,10).

## **2. CILJ I SVRHA RADA**

Cilj i svrha ovog rada je:

1. Ispitati učestalost infekcije HCV-a u Osječko-baranjskoj županiji
2. Ispitati učestalost genotipova HCV-a svim oboljelim od KHC-a u Osječko-baranjskoj županiji od 2012. do 2016. godine
3. Prikazati raspodjelu grupe genotipa HCV-a prema dobi i spolu.

### **3. ISPITANICI I METODE RADA**

#### **3.1. Ustroj studije**

Istraživanje je presječno iz povijesnih podataka.

#### **3.2. Ispitanici**

U istraživanje su uključeni bolesnici koje je uputio liječnik primarne zdravstvene zaštite na odjel mikrobiologije Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije na molekularno dokazivanje HCV-RNA u uzorku krvi (seruma). Ispitanici ne sudjeluju aktivno u istraživanju, nego se koriste podatci iz baze podataka Službe za mikrobiologiju od 1. siječnja 2012. do 31. prosinca 2016. godine.

#### **3.3. Uzorci i metode**

Svi podatci o uzorcima i ispitanicima dobiveni su iz elektroničke baze podataka Mikrobiološkog laboratorija ZZJZ Osječko-baranjske županije.

HCV RNA određuje se molekularnom metodom PCR-a, korištenjem kvantitativnog testa Amplicor® HCV Amplification Kit, verzija 2.0, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka.

#### **3.4. Statistička obrada podataka**

Dobiveni rezultati obrađeni su programskim paketom za statističku obradu – SPSS 20.0., a u samoj obradi podataka proveden je test normaliteta distribucija, izračun deskriptivnih podataka podrazumijevajući frekvencije, postotke, medijan i interkvartilni raspon. Također, izračunati su hi-kvadrat test, Fisherov egzaktni test i Cramerov V koeficijent za testiranje značajnosti razlika među dvjema ili više nezavisnim skupinama.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Učestalost genotipova HCV-a i demografske osobine ispitanika

Deskriptivni podatci pacijenata, čiji su rezultati testiranja korišteni u ovom istraživanju, prikazani su u tablici 1 i tablici 2 te su izračunati postotci pojavnosti s obzirom na vrstu genotipa virusa hepatitisa C. Izračunat je i udio u postotcima prema spolu te dobi za koju su statistički, formiranjem razreda, izračunate granice kategorija prema kojima su pacijenti podijeljeni u tri skupine, mlađu (11 - 34 godine), srednju (35 - 58 godina) i stariju dobnu skupinu (59 - 82 godine).

Tablica 1. Dob i spol ispitanika s infekcijom hepatitis C virusom

| Varijabla   |         | Frekvencija<br>ukupno | %<br>Ukupno |
|-------------|---------|-----------------------|-------------|
| <b>Spol</b> | Muški   | 310                   | 63,3        |
|             | Ženski  | 180                   | 36,7        |
|             | Ukupno  | 490                   | 100         |
| <b>Dob</b>  | Mlađa   | 33                    | 6,7         |
|             | Srednja | 261                   | 53,3        |
|             | Starija | 196                   | 40,0        |
|             | Ukupno  | 490                   | 100         |

Pregledom tablice 1 može se uočiti kako je u ovom istraživanju zastupljen veći broj muškaraca u odnosu na broj žena. Također, najviše su zastupljene srednja i starija dobna skupina, dok je u mlađoj dobnoj skupini sudjelovao mali broj pacijenata.

Tablica 2. Učestalost genotipova Hepatitis C virusa

| Varijabla  | Frekvencija<br>ukupno | %<br>Ukupno |
|------------|-----------------------|-------------|
| Genotip 1  | 15                    | 3,1         |
| Genotip 1a | 35                    | 7,1         |
| Genotip 1b | 110                   | 22,4        |
| Genotip 2a | 1                     | 0,2         |
| Genotip 3  | 1                     | 0,2         |
| Genotip 3a | 54                    | 11,0        |
| Genotip 4  | 16                    | 3,3         |
| Nepoznat   | 258                   | 52,7        |

U tablici 2 prikazana je učestalost genotipova HCV-a u ispitivanoj populaciji: najveći postotak oboljelih imao je genotip 1b, zatim genotip 3a a najmanje zastupljeni bili su genotip 2a i 3. Pacijenata s nepoznatom vrstom genotipa je 258.

Tablica 3. Raspodjela genotipova HCV-a prema spolu ispitanika 2012. – 2016.

| Spol   | Broj ispitanika s genotipom |        |     |   |   |    |    |          | P*     | Cramerov V |
|--------|-----------------------------|--------|-----|---|---|----|----|----------|--------|------------|
|        | 1                           | 1<br>a | 1b  | 2 | 3 | 3a | 4  | Nepoznat |        |            |
| Muški  | 9                           | 3<br>0 | 57  | 0 | 0 | 44 | 11 | 159      | <0,001 | 0,104      |
| Ženski | 6                           | 5      | 53  | 1 | 1 | 10 | 5  | 99       |        |            |
| Ukupno | 1<br>5                      | 3<br>5 | 110 | 1 | 1 | 54 | 16 | 258      |        |            |

\*Fisherov egzaktni test

U Tablici 3 prikazana je raspodjela genotipova HCV-a prema spolu ispitanika u cjelokupnom ispitivanom razdoblju gdje je uočena statički značajna razlika između muškog i ženskog spola.

Tablica 4. Prikaz raspodjele genotipa 2012. g. s obzirom na spol i dob ispitanika

| 2012.             |                      | Spol       |            | Dob      |            |            |
|-------------------|----------------------|------------|------------|----------|------------|------------|
|                   |                      | Muški      | Ženski     | Mlađa    | Srednja    | Starija    |
| <b>Genotip 1</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 1<br>1,2   | 5<br>6,1   | 0<br>0   | 5<br>6,1   | 1<br>1,2   |
| <b>Genotip 1a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 5<br>6,1   | 1<br>1,2   | 0<br>0   | 4<br>4,9   | 2<br>2,4   |
| <b>Genotip 1b</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 6<br>7,3   | 12<br>14,6 | 1<br>1,2 | 9<br>11,0  | 8<br>9,8   |
| <b>Genotip 3</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 0<br>0     | 1<br>1,2   | 1<br>1,2 | 0<br>0     | 0<br>0     |
| <b>Genotip 3a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 3<br>3,7   | 2<br>2,4   | 0<br>0   | 5<br>10,4  | 0<br>0     |
| <b>Genotip 4</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 1<br>1,2   | 1<br>1,2   | 1<br>1,2 | 1<br>1,2   | 0<br>0     |
| <b>Nepoznat</b>   | <b>n</b><br><b>%</b> | 29<br>35,4 | 15<br>18,3 | 2<br>2,4 | 24<br>29,3 | 18<br>22,0 |
| <b>Ukupno</b>     | <b>n</b><br><b>%</b> | 45<br>54,9 | 37<br>45,1 | 5<br>6,1 | 48<br>58,5 | 29<br>35,4 |

n = broj ispitanika

Iz prikaza tablica 4 vidljivo je kako je 2012. godine od infekcije virusom hepatitisa C oboljelo više muškaraca. Nadalje, prema dobnim skupinama, najveća zastupljenost infekcije bila je u srednjoj i starijoj dobnj skupini. Prema vrsti genotipa, genotipovi 1 i 1b bili su češći kod žena dok se genotip 3 pojavio samo kod žena i to u vrlo malom postotku. Genotip 1a češći je kod muškaraca kao i genotip 3a. Genotip 4 pojavljuje se podjednako kod obaju spolova. Nije zabilježena pojava genotipa 2. U starijoj dobnj skupini najveću učestalost ima genotip 1b dok se genotipovi 1 i 1a rijetko pojavljuju a genotipovi 3, 3a i 4 u istoj dobnj skupini se ne pojavljuju. Genotip 1b, genotip 3 i genotip 4 u mlađoj dobnj skupini pojavljuju se rijetko u



dok se genotipovi 1, 1a i 3a ne pojavljuju. U srednjoj dobnoj skupini najveću učestalost ima genotip 1b, koji je pokazao i općenito najčešću pojavnost za podatke iz 2012. godine.

Tablica 5. Prikaz raspodjele genotipa 2013. g. s obzirom na spol i dob pacijenata

| 2013.             |                      | Spol       |            | Dob      |            |            |
|-------------------|----------------------|------------|------------|----------|------------|------------|
|                   |                      | Muški      | Ženski     | Mlađa    | Srednja    | Starija    |
| <b>Genotip 1</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 2<br>2,2   | 0<br>0     | 0<br>0   | 2<br>2,2   | 0<br>0     |
| <b>Genotip 1a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 2<br>2,2   | 1<br>1,1   | 0<br>0   | 2<br>2,2   | 1<br>1,1   |
| <b>Genotip 1b</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 9<br>10    | 6<br>6,7   | 2<br>2,2 | 8<br>8,9   | 5<br>5,6   |
| <b>Genotip 2a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 0<br>0     | 1<br>1,1   | 0<br>0   | 0<br>0     | 1<br>1,1   |
| <b>Genotip 3a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 9<br>10,0  | 1<br>1,1   | 0<br>0   | 10<br>11,1 | 0<br>0     |
| <b>Genotip 4</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 5<br>5,6   | 0<br>0     | 1<br>1,1 | 4<br>4,4   | 0<br>0     |
| <b>Nepoznat</b>   | <b>n</b><br><b>%</b> | 37<br>41,1 | 18<br>20,0 | 1<br>1,1 | 22<br>24,4 | 31<br>34,4 |
| <b>Ukupno</b>     | <b>n</b><br><b>%</b> | 63<br>70,0 | 27<br>30,0 | 4<br>4,4 | 48<br>53,3 | 38<br>42,2 |

n= broj ispitanika

Prema podacima za 2013. godinu tablica 5, više oboljelih bilo je među muškarcima te je najviše oboljelih bilo u srednjoj dobnoj skupini dok je najmanje bilo u mlađoj dobnoj skupini. Podatci za genotip 1, 1a i 1b prikazuju da je pojavnost bila češća kod muškaraca nego kod žena te najveća u srednjoj dobnoj skupini, a najmanja u mlađoj dobnoj skupini gdje se genotip 1 i 1a nisu pojavili, dok je pojavnost genotipa 1b vrlo mala. Genotip 2a pojavio se kod malog broja žena i to samo u starijoj dobnoj skupini te općenito ima najmanju pojavnost za 2013. godinu od svih zabilježenih genotipa. Pojavnost genotipa 3a vidljiva je samo u srednjoj dobnoj skupini.

Genotip 4 pojavio se samo kod muškaraca u mlađoj i srednjoj dobnoj skupini. Općenito, najveću pojavnost imao je genotip 1b.

Tablica 6. Prikaz raspodjele genotipa 2014. g. s obzirom na spol i dob pacijenata

| 2014.             |                      | Spol       |            | Dob        |            |            |
|-------------------|----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                   |                      | Muški      | Ženski     | Mlađa      | Srednja    | Starija    |
| <b>Genotip 1</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 3<br>2,6   | 0<br>0     | 0<br>0     | 2<br>1,8   | 1<br>0,9   |
| <b>Genotip 1a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 5<br>4,4   | 0<br>0     | 1<br>0,9   | 3<br>2,6   | 1<br>0,9   |
| <b>Genotip 1b</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 10<br>8,8  | 7<br>6,1   | 1<br>0,9   | 9<br>7,9   | 7<br>6,1   |
| <b>Genotip 3a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 9<br>7,9   | 3<br>2,6   | 1<br>0,9   | 9<br>7,9   | 2<br>1,8   |
| <b>Genotip 4</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 0<br>0     | 1<br>0,9   | 0<br>0     | 1<br>0,9   | 0<br>0     |
| <b>Nepoznat</b>   | <b>n</b><br><b>%</b> | 44<br>38,6 | 32<br>28,1 | 9<br>7,9   | 28<br>24,6 | 39<br>34,2 |
| <b>Ukupno</b>     | <b>n</b><br><b>%</b> | 71<br>62,3 | 43<br>37,7 | 12<br>10,5 | 52<br>45,6 | 50<br>43,9 |

n = broj ispitanika

U tablici 6 prikazana je raspodjela genotipova HCV-a prema spolu u 2014. godini kada je zabilježena veća učestalost oboljelih muškaraca. Prema dobnim skupinama najviše oboljelih bilo je u srednjoj dobnoj skupini, a najmanje u mlađoj. Najveću učestalost, prema definiranim genotipovima, ima genotip 1b, češće kod muškaraca i najviše u srednjoj dobnoj skupini. Genotip 1 pojavio se samo kod muškaraca i to u srednjoj i starijoj dobnoj skupini, dok se genotip 1a pojavio u svim trima dobnim skupinama, najčešće u srednjoj, također samo kod muškog spola. Genotip 3a češće se pojavio kod muškaraca nego kod žena, a s obzirom na dob, najveću učestalost imao je u srednjoj dobnoj skupini. Genotip 4 pojavio se samo kod žena i to samo u srednjoj dobnoj skupini. Nije zabilježena pojavnost genotipa 2a i 3.

Tablica 7. Prikaz raspodjele genotipa 2015. g. s obzirom na spol i dob pacijenata

| 2015.             |                      | Spol        |             | Dob      |            |            |
|-------------------|----------------------|-------------|-------------|----------|------------|------------|
|                   |                      | Muški       | Ženski      | Mlada    | Srednja    | Starija    |
| <b>Genotip 1</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 1<br>1,0    | 1<br>1,0    | 0<br>0   | 0<br>0     | 2<br>2,0   |
| <b>Genotip 1a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 6<br>5,9    | 1<br>1,0    | 0<br>0   | 5<br>4,9   | 2<br>2,0   |
| <b>Genotip 1b</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 12<br>11,8  | 14<br>13,7  | 2<br>2,0 | 12<br>11,8 | 12<br>11,8 |
| <b>Genotip 3a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 10<br>9,8   | 3<br>2,9    | 0<br>0   | 11<br>10,8 | 2<br>2,0   |
| <b>Genotip 4</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 2<br>2,0    | 2<br>2,0    | 0<br>0   | 4<br>3,9   | 0<br>0     |
| <b>Nepoznat</b>   | <b>n</b><br><b>%</b> | 29<br>25,44 | 20<br>17,54 | 4<br>3,9 | 23<br>22,5 | 23<br>22,5 |
| <b>Ukupno</b>     | <b>n</b><br><b>%</b> | 61<br>59,8  | 41<br>40,2  | 6<br>5,9 | 55<br>53,9 | 41<br>40,2 |

n = broj ispitanika

Pregledom podataka iz 2015. godine, prikazanih u tablici 7, učestalost oboljelih muškaraca bila je viša od oboljelih žena. Najveća učestalost oboljelih zabilježena je u srednjoj dobnoj skupini, a najmanja u mlađoj. Prema vrsti genotipa, najveću pojavnost imao je genotip 1b. Približno podjednako pojavljivao se kod muškaraca i žena te u srednjoj i starijoj dobnoj skupini. Pojavnost genotipa 1 jednaka je kod obaju spolova te se pojavljuje samo u starijoj dobnoj skupini, dok se genotip 1a pojavljuje u srednjoj i starijoj dobnoj skupini, i to češće u srednjoj te kod muškaraca. Pojavnost genotipa 2a i 3 nije zabilježena. Nadalje, pojavnost genotipa 3a bila je češća kod muškaraca nego kod žena te se najviše pojavljivao u srednjoj dobnoj skupini, dok u mlađoj dobnoj skupini nije zabilježen. Genotip 4 pojavio se u jednakom postotku za oba spola i iznosi 2 % te se pojavio samo u srednjoj dobnoj skupini.

Tablica 8. Prikaz raspodjele genotipa 2016. g. s obzirom na spol i dob pacijenata

| 2016.             |                      | Spol       |            | Dob      |            |            |
|-------------------|----------------------|------------|------------|----------|------------|------------|
|                   |                      | Muški      | Ženski     | Mlađa    | Srednja    | Starija    |
| <b>Genotip 1</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 2<br>2     | 0<br>0     | 0<br>0   | 2<br>2,0   | 0<br>0     |
| <b>Genotip 1a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 12<br>11,8 | 2<br>2     | 1<br>1,0 | 10<br>9,8  | 3<br>2,9   |
| <b>Genotip 1b</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 20<br>19,6 | 14<br>13,7 | 2<br>2,0 | 14<br>13,7 | 18<br>17,6 |
| <b>Genotip 3a</b> | <b>n</b><br><b>%</b> | 13<br>12,7 | 1<br>1     | 0<br>0   | 12<br>11,8 | 2<br>2,0   |
| <b>Genotip 4</b>  | <b>n</b><br><b>%</b> | 3<br>2,9   | 1<br>1     | 0<br>0   | 4<br>3,9   | 0<br>0     |
| <b>Nepoznat</b>   | <b>n</b><br><b>%</b> | 20<br>19,6 | 14<br>13,7 | 3<br>2,9 | 16<br>15,7 | 15<br>14,7 |
| <b>Ukupno</b>     | <b>n</b><br><b>%</b> | 70<br>6,6  | 32<br>31,4 | 6<br>5,9 | 58<br>56,9 | 38<br>37,3 |

n = broj ispitanika

Podatci za 2016. godinu tablica 8 pokazuju da je veći postotak oboljelih muškaraca te da je najveća pojavnost oboljenja u srednjoj dobnoj skupini, a najmanja u mlađoj dobnoj skupini. Prema vrsti genotipa, genotip 1 imalo je 2 % muškaraca u srednjoj dobnoj skupini, dok kod žena i u mlađoj i starijoj dobnoj skupini pojavnost nije zabilježena. Genotip 1a imalo je više muškaraca te se najčešće pojavljuje u srednjoj dobnoj skupini, a najmanje u mlađoj dobnoj skupini. Genotip 1b ima najveću pojavnost u 2016. godini, a pojavljuje se kod većeg broja muškaraca te češće u starijoj i srednjoj dobnoj skupini. Genotip 3a pojavio se kod velikog broja muškaraca. Najmanju pojavnost imao je genotip 4, više kod muškaraca. Također, taj se genotip pojavio samo u srednjoj dobnoj skupini. Genotip 2 i 3 nisu zabilježeni u 2016. godini.

Tablica 9. Učestalost genotipova s obzirom na dob u ispitivanoj populaciji

| Dob            | Genotip (N) |    |     |    |   |    |    | Nepoznat | Ukupno |
|----------------|-------------|----|-----|----|---|----|----|----------|--------|
|                | 1           | 1a | 1b  | 2a | 3 | 3a | 4  |          |        |
| <b>Mlada</b>   | 0           | 2  | 8   | 0  | 1 | 1  | 2  | 19       | 33     |
| <b>Srednja</b> | 11          | 24 | 52  | 0  | 0 | 47 | 14 | 113      | 261    |
| <b>Starija</b> | 4           | 9  | 50  | 1  | 0 | 6  | 0  | 126      | 196    |
| <b>Ukupno</b>  | 15          | 35 | 110 | 1  | 1 | 54 | 16 | 258      | 490    |

\*Fisherov egzaktni test; Cramerov V koeficijent = 0,373,  $p < 0,001$ ,  $N = 490$

Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u dobnim skupinama s obzirom na zaraženost infekcijom HCV-a (Tablica 9;  $p < 0,001$ ). U srednjoj dobnj skupini ima statistički više oboljelih u odnosu na druge dvije dobne skupine te je najveća prevalencija genotipova 1, 3a i 4 u toj dobnj skupini. Pojavnost genotipa 2 generalno se pokazala iznimno niskom te je zapravo zabilježena samo 2013. godine u starijoj dobnj skupini, samo kod žena. Po pitanju genotipa 1, vidljivo je da je zastupljen i u starijoj dobnj skupini, u odnosu na mladu dobnj skupinu i u odnosu na ostale genotipove. Također, u starijoj dobnj skupini najveća je prevalencija nedefiniranih genotipova. Uočena je umjerena povezanost prema dobi i vrsti genotipova (Fisherov egzaktni  $P < 0,001$ , Cramerov  $V = 0,4$ )

## 5. RASPRAVA

HCV može uzrokovati akutnu, ali i kroničnu bolest jetre. Infekcija HCV-om je jedan od vodećih javnozdravstvenih problema u različitim populacijama i dobnim skupinama. U ovom istraživanju veliki udio ispitanika je određivao genotip prije 2009. godine (njih 258). Prema rezultatima ovog istraživanja bilo je više muškaraca u odnosu na žene. Također, najviše je zastupljena starija i srednja dobna skupina, dok je u mlađoj skupini bilo najmanje ispitanika. Najveći postotak oboljelih pacijenata s određenim genotipom ima 1b genotip, zatim slijedi genotip 3a, zatim genotip 1a.

Manjkavost ovog istraživanja leži u činjenici da je među ispitivanom populacijom skoro 53 % pacijenata s nepoznatim genotipom. To je zato što se pacijentima oboljelima od KHC-a jednom u životu određuje genotip. S obzirom na to da je u Zavodu za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije određivanje genotipa bilo moguće tek od 2009. godine, pacijenti su dijagnostiku odrađivali u Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo u Zagrebu te im se ovdje navodi genotip kao nepoznat. Ovim istraživanjem možemo uočiti kako muškarci više oboljevaju od infekcije KHC-a te imaju veću učestalost genotipova 1, 3a, 4 i nedefiniranih genotipova nego žene. Općenito kod obaju spolova najzastupljeniji je genotip 1 i 3 što odgovara razdiobi genotipova u Hrvatskoj i Europi. Genotip 2a ima najmanju učestalost te se pojavio samo kod žena. Vidljiva je statistički značajna razlika u dobnim skupinama s obzirom na zaraženost infekcijom HCV-a. U srednjoj dobnoj skupini ima više oboljelih u odnosu na druge dvije dobne skupine te je najveća učestalost genotipova 1, 3a i 4 u toj dobnoj skupini.

Općenito, problem populacije s infekcijom HCV-a je razvijanje kroničnog oblika bolesti koji traje desetljećima i pojavljuje se u čak 85 % inficiranih osoba. Kod velikog broja oboljelih od KHC-a dolazi do razvoja ozbiljnih komplikacija kao što su ciroza jetre i hepatocelularni karcinom. Prema navodima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) procjenjuje se da je 3 % svjetskog stanovništva zaraženo HCV-om. Prevalencija HCV-a je različita i varira od područja u svijetu. U Hrvatskoj je oko 1 % oboljelih od HCV-a, stoga Hrvatska spada u zemlju niske prevalencije. U zemlje niske prevalencije još ubrajamo Njemačku, Belgiju, Mađarsku, Kanadu, Indiju, Francusku i Australiju (11,12).

Unatoč nedostatku prevencija novih infekcija cijepljenjem koje zbog raznolikosti genotipova i sklonosti mutacijama još nije razvijeno, posljednjih godina su razvijeni novi lijekovi koji

učinkovito mogu kontrolirati umnožavanje virusa – skupina lijekova nazvana direktni antivirusni lijekovi. Upravo ti lijekovi omogućavaju učinkovitu kontrolu infekcije HCV-a.

Zahvaljujući revoluciji oralne terapije bez primjene interferona koja je započela 2014. godine, postiže se trajni virološki odgovor u više od 90 % liječenih pacijenata. Uz spomenutu terapiju, liječenje je po prvi put moguće kod pacijenata s dekompenziranom cirozom jetre (13,14).

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata opisanog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

- Godišnje je u Osječko-baranjskoj županiji oko 100 novootkrivenih pacijenata oboljelih od kroničnog hepatitisa C
- S obzirom na spol, kronični hepatitis C češće se pojavljuje kod muškaraca nego kod žena
- Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u dobnim skupinama s obzirom na zaraženost virusom hepatitisa C
- Najviše oboljelih od kroničnog hepatitisa C dokazano je u srednjoj dobnoj skupini 35 - 58 godina
- U odnosu na genotipove 2, 3 i 4, najviše ispitanika bilo je zaraženo genotipom 1
- Utvrđeno je da je genotip najzastupljeniji u srednjoj pa starijoj dobnoj skupini
- U starijoj dobnoj skupini najveća je pojavnost nepoznatih genotipova
- Utvrđeno je da postoji umjerena povezanost među varijablama dobi i genotipom infekcije kroničnog virusa hepatitisa C
- Utvrđeno je da postoji statički značajna razlika između muškog i ženskog spola
- Utvrđeno je da je pojavnost genotipa 2 jako niska te se pojavila samo kod jednog ispitanika u starijoj dobnoj skupini.



## 7. SAŽETAK

Uvod: Virus HCV-a otkriven je 1989. godine kao glavni uzročnik 90 % poslijetransfuzijskih slučajeva hepatitisa. Prema navodima Svjetske zdravstvene organizacije infekcija HCV-a globalni je problem. Svake se godine u Hrvatskoj prijavi oko 200 000 slučajeva akutnih i kroničnih oblika infekcije HCV-a. Hrvatska se ubraja u zemlje niske prevalencije infekcije HCV-a.

Ciljevi: 1. Ispitati učestalost HCV infekcije u Osječko-baranjskoj županiji, 2. Ispitati učestalost genotipova HCV-a svim oboljelim od KHC-a u Osječko-baranjskoj županiji od 2012. do 2016. godine, 3. Prikazati raspodjelu grupe genotipa HCV-a prema dobi i spolu.

Ispitanici i metode: izvršena je retrospektivna analiza rezultata testiranja pacijenata koje je uputio liječnik primarne zdravstvene zaštite na odjel mikrobiologije ZZJZ OBŽ na molekularno dokazivanje HCV-RNA u uzorku krvi (seruma). HCV RNA određuje se molekularnom metodom PCR, korištenjem kvantitativnog testa Amplicor® HCV Amplification Kit, verzija 2.0, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka.

Rezultati: Tijekom pet godina (2012. - 2016.) određeno je ukupno 490 genotipova, grupa i podgrupa iz krvi (seruma) pacijenata. Rezultati analize pokazuju kako je u ovom istraživanju zastupljen veći broj muškaraca (63,3 %) u odnosu na broj žena (36,7 %). Također, najviše su zastupljene srednja (53,3 %) i starija (40,0 %) dobna skupina, dok je u mlađoj dobnoj skupini sudjelovalo samo 6,7 % pacijenata. Prema učestalosti genotipova HCV-a u ispitivanoj populaciji najveći postotak oboljelih imalo je genotip 1b, njih 22,4 %, zatim genotip 3a, njih 11 %, genotip 1a, njih 7,1 %, a najmanje zastupljeni bili su genotip 2a i 3 s 2 % pojavnosti. Pacijenata s nepoznatom vrstom genotipa je 258, odnosno 52,7 %.

Zaključak: Kvantitativno određivanje broja virusnih kopija HCV RNK te određivanje genotipa i podvrste indicirano je svim zaraženim osobama jer ima značajnu ulogu u terapijskom pristupu svakog pojedinca.

Ključne riječi: kronična hepatitis C infekcija; genotip; broj virusnih kopija; RNK

## 8. SUMMARY

### **Epidemiological characteristics of chronic HCV infection in Osijek-Baranja County**

**Introduction:** HCV virus was discovered in 1989 as the major cause of 90% of post-transfusion hepatitis. According to the WHO, HCV infection is a global problem. Every year, around 200,000 cases of acute and chronic HCV infections are reported in Croatia. Croatia is among the countries with low HCV infection prevalence.

**Objectives:** 1. To determine frequency of HCV genotype groups in Osijek-Baranja County, 2. To determine frequency of HCV genotype groups for all HCV patients in Osijek-Baranja County from 2012 to 2016., 3. To show distribution of HCV genotype by age and sex.

**Participants and Methods:** A retrospective analysis of patients' data was performed. All patients were referred by their primary health care physician to the Department of Microbiology at the Institute of Public Health of Osijek-Baranja County for the molecular analysis of HCV-RNA in blood sample (serum). HCV RNA was determined by the molecular PCR method, using the Amplior® HCV Amplification Kit quantitative test, version 2.0, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany.

**Results:** In the five-year period (2012 – 2016) a total of 490 genotypes, groups and subgroups of blood (serum) patients. The results of the analysis show there were more men in this study (63.3%) than women (36.7%). Also, it was more common in middle-aged (53.3%) and elderly (40.0%) people, while only 6.7% of the patients were in the younger age group. According to the frequency of HCV genotypes, the highest percentage of patients had genotype 1b, 22.4%; genotype 3a, 11%; genotype 1a, 7.1%, and the least represented were genotype 2a and 3 with 2%. There were 258, i.e. 52.7% of patients with unknown genotype.

**Conclusion:** Quantitative count of the number of viral copies of HCV RNA, and genotype identification as well as subtype identification is indicated to all the infected patients because it has a significant role in the therapeutic approach to each individual.

**Keywords:** chronic HCV infection; genotype; number of viral copies, RNA

**9. LITERATURA**

1. Presečki V. i sur. (2002) Virologija, Virusi hepatitisa. Medicinska naklada Zagreb, 292-294.
2. Mlinarić Galinović G., Ramljak Šešo M, i sur. (2003) Specijalna medicinska mikrobiologija i parazitologija. Udžbenik visoke zdravstvene škole Zagreb, 353 – 354.
3. Kosanović M. L., Knežević J., (2006) Epidemiološke karakteristike osoba testiranih na hepatitis C u okviru akcije „Hepatitis C – otkrij, spriječi i izliječi“ u Zavodu za javno zdravstvo grada Zagreba. HČJZ 2, 1 – 3.
4. Presečki V. i sur. (2002), Virologija, Virusi hepatitisa. Medicinska naklada Zagreb, 292 - 294.
5. Ostojić R. (2006), Hepatitis C. Medicus 15, 113 – 120.
6. Mlinarić Galinović G., Ramljak Šešo M. i sur. (2003) Specijalna medicinska mikrobiologija i parazitologija. Udžbenik visoke zdravstvene škole Zagreb, 353 – 354.
7. Murray P. R, Baron J. E, James H. Jorgensen J. H, Pfaller M. A, Tenover F. C, Tenover F. C. (2003), Manual of Clinical Microbiology, 8 izdanje. Washington, D.C.: American Society for Microbiology Press, 1864.
8. Begovac J., Božinović D., Lisić M., Barišić B., Schonwald S. (2006) Infektologija. Zagreb; Profil, 430-434.
9. Kolovrat A., Jurišić I., Marić Z., Cvitković A., Usporedba prevalencije biljega hepatitisa B, C i HIV-a među intravenskim ovisnicima liječenima ambulantno i u terapijskoj zajednici na području Brodsko-posavske županije. Acta Med Croatica. 2010; 64:287-296.
10. Balija M., Očić T., Vuk T., Herceg M., Jukić I. Izvješće o rezultatima rada transfuzijske djelatnosti u Hrvatskoj u 2011. godini. U: Transfuziološki vjesnik br. 52/2012.
11. Presečki V. i sur. (2002), Virologija, Virusi hepatitisa. Medicinska naklada Zagreb, 292 - 294.
12. Mlinarić Galinović G., Ramljak Šešo M. i sur. (2003) Specijalna medicinska mikrobiologija i parazitologija. Udžbenik visoke zdravstvene škole Zagreb, 353-354.
13. Vince A, Iščić-Beš J, Židovec-Lepej S, et al (2006) Distribution of hepatitis C virus genotypes in Croatia-a 10 year retrospective study of four geographic regions. Coll Antropol 30: 139-143.

14. Kaić B., Vilibić - Čavlek T., Kurečić Filipović S., Nemeth - Blazić T., Pem-Novosel I., Vručina I. et al.[Epidemiology of viral hepatitis]. Acta Med Croatica 2013; 67: 273 – 9.

## 10. ŽIVOTOPIS

### OPĆI PODATCI:

Ime i prezime: Dajana Kopjar

Datum rođenja: 14. 3. 1982.

Mjesto rođenja: Osijek, Republika Hrvatska

Državljanstvo: Hrvatsko

### KONTAKT:

Adresa: Sjenjak 18, 31000 Osijek

E-pošta: dajanakopjar@gmail.com

Mobitel: 098 980 8092

### ŠKOLOVANJE:

2015. – 2018. Medicinski fakultet Osijek

Polaznica Sveučilišnog diplomskog studija medicinsko laboratorijska dijagnostika

2011. – 2014. Medicinski fakultet Osijek, preddiplomski studija medicinsko laboratorijska dijagnostika

### ZAPOSLENJE:

2002. – do danas Zavod za javno zdravstvo Osijek