

# Rizični faktori za infekciju HIV-om kod korisnika Centra za dobrovoljno savjetovanje i testiranje na HIV/AIDS u Osječko-baranjskoj županiji

---

**Koić, Marijana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:637250>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-22**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijska  
dijagnostika**

**Marijana Koić**

**RIZIČNI FAKTORI ZA INFEKCIJU HIV-OM KOD  
KORISNIKA CENTRA ZA DOBROVOLJNO SAVJETOVANJE  
I TESTIRANJE NA HIV/AIDS U OSJEČKO-BARANJSKOJ  
ŽUPANIJI**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2019.**

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

**Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijska  
dijagnostika**

**Marijana Koić**

**RIZIČNI FAKTORI ZA INFEKCIJU HIV-OM KOD  
KORISNIKA CENTRA ZA DOBROVOLJNO SAVJETOVANJE  
I TESTIRANJE NA HIV/AIDS U OSJEČKO-BARANJSKOJ  
ŽUPANIJI**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2019.**

Ovaj rad ostvaren je u Zavodu za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, u Centru za besplatno i anonimno HIV-testiranje i savjetovanje.

Mentor: izv.prof. dr. sc. Karlo Kožul, dr. med.

Rad ima 36 listova i 5 tablica.

Zahvala:

Zahvaljujem mentoru doc. dr. sc. Karlu Kožulu, dr. med. na stručnoj pomoći, potpori i strpljenju tijekom izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem kolegicama u laboratoriju za mikrobiološku dijagnostiku Zavoda za javno zdravstvo i kolegicama s fakulteta koje su mi bile potpora tijekom studiranja i pisanja diplomskog rada.

Veliko hvala mojoj obitelji na strpljenju i potpori.

## Popis kratica i oznaka

ADCC	eng. Antibody-dependent cytotoxicity
AG	antigen
AIDS	eng. acquired immunodeficiency syndrome
ANOVA	eng. analysis of variance
AT	antitijelo
CA	eng. capsid antigen
CCR	eng. chemokine receptor
CD	eng. cluster of differentiation
CDC	eng. Center for Disease Control and Prevention
CMIA	eng. Chemiluminescence microparticle immunoassay
CRF	eng. circulating recombinant form
DNA	eng. deoxyribonucleic acid
ELISA	engl. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FeLV	eng. feline leukaemia virus
GRID	eng. gay-related immune deficiency
HIV	eng. Human immunodeficiency virus
HTLV	eng. human T-lymphotropic virus
LAV	eng. lymphadenopathy-associated virus
LFA	eng. lymphocyte function-associated antigen
LTR	eng. long terminal repeats
MA	eng. matrix antigen
MSM	eng. man who have sex with men
NC	eng. nucleocapsid antigen
RNA	eng. ribonucleic acid
RT	reverzna transkriptaza
SIDA	fr. Syndrome d'immunodéficience acquise
SIV	eng. Simian virus imunodeficijencije
WHO	eng. World health organization

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. Povijesni pregled .....	1
1.2. Taksonomska klasifikacija HIV-a .....	2
1.3. Građa, replikacija i stanični tropizam HIV-a .....	3
1.4. Tijek HIV-infekcije .....	6
1.5. Imunološki odgovor na infekciju HIV-om.....	8
1.5.1. AIDS - bolest uzrokovana HIV-om .....	9
1.5.2. Rizični čimbenici i putevi prijenosa HIV-a.....	10
2. CILJ RADA.....	11
3. ISPITANICI I METODE .....	12
3.1. Ispitanici .....	12
3.2. Metode.....	13
3.2.1. ELISA imunoenzimni test .....	13
3.2.2. CMIA kemiluminiscentna imunoanaliza s mikročesticama.....	14
3.2.3 Western blot potvrdni test .....	14
3.3 Statističke metode .....	15
4. REZULTATI.....	16
4.1. Rezultati i tablice.....	16
5. RASPRAVA.....	21
6. ZAKLJUČAK .....	24
7. SAŽETAK.....	25
8. SUMMARY .....	26
9. LITERATURA.....	27
10. ŽIVOTOPIS .....	30

## 1. UVOD

### 1.1. Povijesni pregled

Časopis Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC), Morbidity and Mortality Weekly Report, 5. lipnja 1981. godine objavio je pojavu upale pluća uzrokovane *Pneumocystis carinii* (danas *P. jiroveci*) u pet mladih homoseksualnih osoba u trima različitim bolnicama u Los Angelesu (Kalifornija, SAD) (1). U časopisu su prvi puta dokumentirali bolest koja će se poslije zvati sindrom stečene imuno deficijencije (eng. acquired immunodeficiency syndrome, AIDS; fr. Syndrome d'immunodéficience acquise, SIDA). Urednici su uključili mogućnost povezanosti sindroma sa spolnim ponašanjem muškaraca. Istraživači u Pasteurovu institutu otkrili su 1983. godine novi virus kod pacijenta homoseksualca, koji su nazvali „virus udružen s limfadenopatijom“ ( fr. Lymphadenopathie associee virus – LAV) (2), a istraživači u Americi nedugo nakon toga otkrili su bolesnika s virusom koji je sličan LAV virusu. Američki istraživači nazvali su taj virus „limfotropni virus ljudskih stanica T tipa 3“ (eng. Human T-lymphotropic virus Type-3; HTLV-3) (3). Usporednim istraživanjima otkrivena je istovjetnost virusa LAV i HTLV-3. Međunarodni odbor za taksonomiju virusa (eng. International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV), uveo je 1986. godine službeni naziv za te viruse „virus ljudske imunodeficijencije“ (eng. Human immunodeficiency virus – HIV).

Ova istraživanja i članci uvod su u mnoštvo znanstvenih radova i studija koji su posvećeni jednoj od najvećih svjetskih pandemija, od koje i danas obolijeva i umire veliki broj ljudi.

Prema podacima svjetske zdravstvene organizacije WHO (eng. World health organization ) iz 2016. godine, od početka pandemije zaraženo je 70 miliona ljudi, 35 miliona je umrlo, a u 2016. godini evidentirano je novih 1,8 miliona HIV-pozitivnih osoba, dok je 1 milion umrlih od HIV-a (4).

Prema podacima objavljenim 2016. godine u časopisu Lancet, broj zaraženih virusom HIV-a u zemljama istočne Europe i središnje Azije u porastu je 10 % godišnje (5).

Stigma i diskriminacija vezana uz AIDS, u cijelom su svijetu najveća prijetnja prevenciji širenja virusa, adekvatnoj podršci oboljelih i liječenju oboljelih. Hrvatska nema bolje



pokazatelje od ostatka Europe. Zbog malog broja oboljelih, ljudske indiferentnosti, nezainteresiranosti ili nedovoljne edukacije o AIDS-u, svake godine pojavljuju se nove HIV- pozitivne osobe. Za sada nema učinkovitog cjepiva ili lijeka koji bi izliječio zaraženu osobu, zato je najbolja zaštita prevencija kroz edukaciju i točne informacije o načinu prijenosa HIV-a te sprječavanju širenja i zaraze HIV-om.

## 1.2. Taksonomska klasifikacija HIV-a

HIV ima jednolančanu RNA i član je roda *Lentiviridae* unutar porodice *Retroviridae*. Lentivirusi obuhvaćaju raznoliku skupinu animalnih virusa, a njihov ljudski analog HIV, izoliran je 1983. Za sve lentiviruse karakterističan je dug period inkubacije, stoga su poznati i kao spori virusi (6). Uzrokuju imunodeficijencije i kronične infekcije kod više vrsta sisavaca uključujući goveda, konje, mačke i primata. Za više od 40 vrsta primata u subsaharskoj Africi poznato je kako mogu biti inficirani s vrsno specifičnim lentivirusom zvanim SIV (eng. simian immunodeficiency virus). Kod prirodnih domaćina virusa SIV-a, dolazi do razvoja infekcije koja je analogna infekciji HIV-a kod ljudi, ali s jednom ključnom razlikom, kod njih ne dolazi do pojave terminalnog stadija bolesti (AIDS-a), kao kod ljudi. Takva neprogresivna infekcija predstavlja evolucijsku prilagodbu vrste, koja omogućava mirnu koegzistenciju lentirusa primata i imunskog sustava domaćina. Filogenetski podatci (podatci o razvoju pojedine vrste) pokazuju kako je međuvrtnim prijenosom virusa SIV-a, među dvama domaćina; čimpanze (SIVcpz) i pepeljastog mangabija (SIV-smm), tijekom prijenosa na ljude došlo do pojave virusa HIV-1 odnosno HIV-2 (7). Virus humane imunodeficijencije (HIV) i Simian-virus imunodeficijencije (SIV) su retrovirusi iz roda *Lentivirus*, porodice *Retroviridae*, sadrže dvije kopije RNA, a njihova replikacija temelji se na prisutnosti posebnog enzima, reverzne transkriptaze (RT), koja stvara dvolančanu DNA kopiju virusne RNA. Stvorena dvolančana DNA se integrira kao DNA provirus u DNA domaćina, a takav oblik replikacije zajednički je svim članovima iz porodice *Retroviridae*. Lentivirusi su prisutni u brojnim životinjskim vrstama, koje uz morfološka svojstva, karakterizira dugačak period inkubacije i dugotrajna bolest. Karakteristika je humanih lentirusa, HIV-a i SIV-a, vezanje za CD4 (eng. cluster of differentiation 4) proteinski receptor i izostanak enzima dUTPaze.

Dva srodna lentirusa, HIV-1 i HIV-2 mogu uzrokovati AIDS. Na temelju filogenetske analize uzoraka različitih geografskih lokalizacija, HIV-1 je klasificiran u tri skupine, M, N i

O. Skupina M (od eng. Major) čini najučestaliji soj HIV-1 virusa odgovornog za nastanak pandemije, a skupine O (eng. Outlier) i N (eng. non-M, non-O) ograničene su na manji dio Zapadne i Centralne Afrike. Skupinu M možemo dalje podijeliti u devet podtipova (A-D, F-H, J, K), s cirkulirajućim rekombinantnim oblicima (CRF, CRF01-CRF-32) i jedinstvenim rekombinantnim oblicima. S druge strane, postoji samo manji broj HIV-2 podtipova koji su podijeljeni u osam skupina (A - H), od kojih su samo skupina A i B epidemijski tipovi (8).

### 1.3. Građa, replikacija i stanični tropizam HIV-a

Promjer čestice HIV-a je 100 nm, kuglasta je oblika, sadrži dvije molekule jednolančane RNA koje su nekovalentno vezane na 5'-kraju. Obavija ju dvoslojna lipidna ovojnica, koja potječe od stanica domaćina u kojima se virus umnažao. Na dvoslojnoj lipidnoj ovojnici nalaze se 72 glikoproteina, a na nju se nastavljaju izdanci: površinski gp120 i transmembranski gp41. Virus sadrži strukturni protein p24 i enzime nužne za replikaciju virusa i formiranje novih virona kao i različite proteine stanice domaćina (antigeni tkivne podudarnosti I. i II. razreda) stečene tijekom napuštanja stanice procesom pupanja (9).

Genom HIV-a veličine je 9,8 kb i sadrži 9 gena, a dvije identične jednolančane RNA zatvorene su unutar jezgrine virusne čestice. Geni *gag* i *env* kodiraju proteine nukleokapside i glikoproteine virusne membrane, a gen *pol* kodira za virusne enzime: reverznu transkriptazu, proteazu i integrazu. Dva pomoćna proteina virusa HIV-a su *tat* i *rev* i imaju regulatorne uloge koje su nužne za transkripciju i translaciju virusa. Preostala četiri proteina *nef*, *vif*, *vpr* i *vpu*, nisu važna za replikaciju virusa, ali smatra se su neophodni za efikasnu proizvodnju virusa in vivo odnosno njegovu patogenezu. Genom HIV-provirusa, također poznat kao proviralna DNA, generira se reverznom transkripcijom viralnog RNA genoma u DNA, degradacijom RNA i integracijom dvolančane HIV DNA u ljudski genom. DNA genom je na oba kraja produžen pomoću LTR (eng. long terminal repeat) sekvenci, a 5' LTR regija kodira promotor za transkripciju virusnih gena. Većina retrovirusa umnožava se posredstvom triju temeljnih strukturnih gena – *gag*, *pol* i *env* (eng. envelope). U smjeru 5' do 3' gen *gag*, kodira tvorbu proteina nukleokapside p24, p17, p9, p7, gen *env* kodira sintezu površinskog glikoproteina virusne ovojnice gp120 i transmembranskog glikoproteina gp41, a gen *pol* kodira tvorbu virusnih enzima (reverzne transkriptaze, proteaze, integraze i ribomukleaze). Tijekom infekcije gp120 spaja se sa CD4 receptorom stanice domaćina, a transmembranski glikoprotein gp41 pomaže fuziju virusa na površinu stranice i citopatične promjene stanica inficiranih HIV-om

(tvorba sincicija). Regulatorni geni genoma HIV-a (*vif*, *vpu*, *vpr*, *tat*, *rev* i *nef*) kodiraju proteine i pridonose osobnosti HIV-a u odnosu prema drugim retrovirusima. S obzirom na njihovu mogućnost nadzora infekcije, pretpostavlja se da su upravo oni najslabije mjesto virusa (10).

Viralna replikacija HIV-a, njeno trajanje kao i ishod ovisi o tipu ciljne stanice i staničnoj aktivaciji i može se podijeliti u više faza.

Prva faza ciklusa viralne replikacije je ulazak virusa u organizam domaćina i kontakt s tjelesnim tekućinama (krvi, ejakulata, vaginalnog sekreta, majčinog mlijeka i eksudata iz promjena na koži) ili mukoznim površinama. Slijedi adhezija virusnog glikoproteina gp120 i CD4 molekule na stanici domaćina, koja završava spajanjem membrana uz naknadni ulazak virusne jezgre u citoplazmu stanice domaćina. Stanice na koje virus adherira, najčešće su limfociti CD4, a osim limfocita virus može adherirati i na ostale antigen prezentirajuće stanice (monocite, makrofage i folikularne dendritičke stanice), koje na svojoj membrani nose molekule CD4. Proces je to interakcije protein-protein kroz nekoliko faza, koji u konačnici rezultira virusnom infekcijom. Viron se prvo veže na ciljnu stanicu posredovanjem *env* proteina ili posredovanjem proteina stanične membrane domaćina inkorporiranim u viron i to uz posredovanje jednog od brojnih čimbenika vezanja stanica. Dolazi do interakcija između *env* i  $\alpha 4\beta 7$  integrina, ili receptora za prepoznavanje uzoraka kao što je dendritički stanični specifični intercelularni adhezijski molekularni 3-grabbing neintegrin (DC-SIGN). Pretpostavlja se kako HIV za vezanje na stanicu domaćina, preko bilo kojeg od ovih čimbenika, dovodi *env* u blizinu CD4 specifičnog receptora na površini primljive stanice.

Drugi korak je vezanje *env* proteina na njegov primarni receptor CD4 stanice domaćina. Gp120 podjedinica odgovorna je za vezanje receptora, sadrži pet relativno konzerviranih domena (C1 - C5) i pet varijabilnih petlji (V1 - V5). Svaka od varijabilnih regija sastoji se od petlje formirane disulfidnom vezom na svojoj bazi, s izuzetkom V5. Varijabilne petlje leže pretežno na površini gp120 i igraju važne uloge za imunitet i vezanje jezgre, osobito V3 petlje. CD4 je imunoglobulin koji djeluje u staničnoj signalizaciji posredovan T-staničnim receptorom, a vezanjem CD4 s *env* dolazi do preraspodjela varijabilnih petlji što je ujedno ključno u ulasku virusa u stanicu.

Treći korak je vezanje virusa na kemokinske koreceptore što se smatra „okidačem“ koji aktivira membransku fuziju virusa i stanice domaćina. HIV-sojevi mogu se klasificirati na temelju njihove upotrebe koreceptora. Virusi koji koriste kemokinski receptor CCR5 nazivaju se R5 HIV, oni koji koriste CXCR4 nazivaju se X4 HIV, a virusi koji mogu koristiti oba

koreceptora nazivaju se R5X4 HIV. Uz rijetku iznimku, samo se R5 i R5X4 virusi prenose među pojedincima, vjerojatno zbog višestrukih nepravilnih replikacija i ograničenja domaćina na prijenos X4 HIV-a. Mehanizam kemokinskih koreceptora važan je kod progresije bolesti i liječenja s inhibitorima ulaska HIV-a u stanicu domaćina.

Četvrti korak ulaza virusa je kretanje virusne čestice na mjesto spajanja s membranom domaćina. Niz nedavnih istraživanja pokazalo je sposobnost virusa za korištenje staničnih transportnih putova do određenih odredišta, koji su potrebni za infekciju ili čine ulazak virusa učinkovitijim. Neki virusi uključujući i HIV pokazali su sposobnost „surfanja“ duž površine stanice domaćina, kao još jedan od načina membranske fuzije virusa i stanice.

Peti je korak unos virusa posredovanjem gena *env* i ekspozicijom hidrofobnog gp41 proteina prilikom vezanja jezgre. Protein gp41 privlači amino i karboksi regije (HR-N i NR-c) s kojima tvori 6HB „pokretačku“ silu, koja donosi suprotne membrane u bliski odnos, što rezultira formiranjem fuzijske pumpe. Vezanje jezgre i receptora otključava potencijalnu energiju fuzijskog kompleksa gp41, što rezultira formiranjem 6HB, otvaranjem i stabilizacijom membranskog fuzijskog otvora i naknadnom isporukom viralnog sadržaja u citoplazmu stanice domaćina (11).

Zbog aktivnosti virusnog enzima RT, dolazi do prepisivanja virusne RNA u jednolančanu DNA. RT kao i mnoge druge DNA polimeraze treba primer i predložak, a u slučaju HIV-a primer je tRNA domaćina. Jednom, kada se tRNA kopira u DNA, ona postaje supstrat za RNazu H. Većina retrovirusa uklanja cijelu tRNA; međutim RT HIV-a je iznimka, ona frakcionira jedan nukleotid tRNA od 3' kraja, ostavljajući jedan ribonukleotid na 5' kraju minus lanca. Postupak reverzne transkripcije stvara DNA proizvod koji je dulji od RNA genoma iz kojeg je izveden: oba kraja DNA sadrže sekvence sa svakog kraja RNA (U3 s 3' kraja i U5 s 5' kraja). Svaki kraj virusne DNA ima isti slijed, U3-R-U5; to su dugi LTR krajevi koji će nakon integracije biti krajevi provirusa. Sekvence na krajevima linearne virusne DNA pune duljine definirane su na kraju U5 pomoću cijepanja RNaze H koja uklanja tRNA primer na kraju U3 i uklanja ppt primer. Unatoč činjenici da RNaza H nema nikakvih specifičnih molekula za prepoznavanje sekvence, ona cijepa te supstrate jednostrukom nukleotidnom specifičnošću. Specifičnost cijepanja RNaze H važna je jer se krajevi linearne virusne DNA sekvence za integraciju skromno razlikuju od primarne sekvence, ali se mogu upotrijebiti za integraciju retrovirusne DNA (12).

Prijelazni oblik virusnog genoma - provirus nastaje kada se virusna jednolančana DNA udvostručuje u dvolančanu DNA. Provirus se premješta u jezgru stanice domaćina zajedno s enzimom integrazom koja katalizira brojne reakcije, nakon kojih se virusna DNA ugrađuje u stanicu domaćina. HIV tvori i velike količine neugrađenih DNA koje se ne prepisuju uspješno i svojom prisutnošću mogu pridonijeti citopatičnom učinku virusa, dok ugrađena provirusna DNA može natjerati stanicu na njezino prepisivanje pri čemu rabi stanične RNA polimeraze. Transkripcijom provirusne DNA tvore se kompletni lanci virusne RNA i nekoliko mRNA koje sadrže *gag*, *pol* ili *env* nizove. Dio novonastalih virusnih RNA spaja se s kapsidom koja se oblikuje u blizini stanične membrane. U citoplazmi virusne proteaze cijepaju poliproteinske tvorbe *gag* i *pol-gag* mRNA u funkcionalne proteine. U završnoj fazi umnožavanja virusa, kapsida pupa kroz staničnu membranu pri čemu se sjedinjuje s postojećim staničnim proteinima i glikoproteinima, a HIV pupanjem kroz membranu istodobno dobiva lipidnu ovojnica i izlazi iz stanice. Produkt regulacijskog gena *vif* ima aktivnu ulogu u konačnoj fazi umnažanja HIV-a. Brza replikacija HIV-1 i pogreške tijekom virusne replikacije uzrokuju brzu evoluciju virusa kod bolesnika, što je osobit problem prilikom razvoja cjepiva i terapije lijekovima, a nedostatku učinkovitog cjepiva, lijekovi su jedina korisna terapija (13).

#### 1.4. Tijek HIV-infekcije

Tijek infekcije, ishod infekcije i vrijeme koje će proteći do razvoja bolesti s kliničkim simptomima, varira među pojedincima i uglavnom napreduje prilično sporo. Infekcija HIV-om uzrokuje kroničnu bolest koja kulminira destrukcijom gotovo čitave populacije CD4+ limfocita i ima tri glavna stadija: 1) akutna infekcija, 2) latentna faza, 3) AIDS.

Prema klasifikaciji američkog CDC-a, HIV-infekcije se klasificiraju na temelju razine CD4 limfocita i kliničkih simptoma u tri stadija :

Stadij 1 -  $CD4 \geq 500$  stanica/ $\mu$ l, bez znakova AIDS-a

Stadij 2 -  $CD4$  200 - 500 stanica/ $\mu$ l, bez znakova AIDS-a

Stadij 3 -  $CD4 \leq 200$  stanica/ $\mu$ l ili znakovi AIDS-a.

Potrebno je više godina kako bi se od primarne infekcije razvila bolest uzrokovana virusom HIV-a i imunosupresija koju on uzrokuje. Vrijeme između trenutka infekcije prve stanice i trenutka kada se virus može detektirati u krvi naziva se *window period* (WP) ili

dijagnostički prozor. Ta faze približno traje 7 - 21 dan, ovisno o osjetljivosti dijagnostičkog testa. Tijekom tog perioda, dolazi do neprimjetnog umnožavanja virusa u mucosi (sluznici), submucosi (podsluznici) i limfnom tkivu virus je nemoguće detektirati, a simptomi infekcije nisu još izraženi.

Akutna infekcija se razvija nakon 2 - 4 tjedna, povećava se broj virusnih kopija (107 ili više kopija virusne RNA po mililitru krvi), raste udio inficiranih CD4 T limfocita u krvi i limfnim čvorovima. U limfnim čvorovima pojavljuje se velika količina replikacija HIV-virusa, nastaje primarna viremija i javljaju se prvi simptomi (bolna limfadenopatija, glavobolja, mučnina, pojava groznice i ostali simptomi slični gripi). Afinitet virusa za CD4 receptore razlog je sve većeg broja virusa zbog imunog odgovora domaćina i velikog broja aktiviranih CD4 T- limfocita koji su ujedno i „mete“ replikacije HIV-a. Na kraju akutne faze, dolazi do uspostavljena nadzora imunskog sustava domaćina, kratkotrajnog pada CD4+ T limfocita, a ujedno i smanjenog broja „meta“ replikacije HIV-a, to rezultira naglim padom viremije (14).

U latentnoj infekciji koja traje prosječno 8 godina (može trajati od 1 do 20 godina), broj CD4 T-limfocita je blizu referentnim granicama. Infekciju karakterizira polagan rast kopija HIV-a, ali i djelomičan oporavak CD4 T-limfocita, što doprinosi stvaranju veće količine virusa, jer HIV-virus na taj način sam stvara svoje „mete“. U toj asimptomatskoj „latentnoj“ fazi pacijenti obično nisu svjesni infekcije koja je sve samo ne „latentna“, jer velik broj CD4 T- limfocita svakoga dana umire i biva zaražen.

Čimbenici koji utječu na brojnost CD4 T-limfocita u latentnoj fazi:

- 1) izravan citopatski učinak
- 2) HIV-om posredovano stvaranje sincicija
- 3) specifični citotoksični odgovor
- 4) autoimunosni mehanizami
- 5) anergija zbog neodgovarajućeg signala preko međudjelovanja gp120/CD4,
- 6) superantigeno djelovanja HIV-a
- 7) apoptoza
- 8) defekt u regeneraciji CD4+ limfocita.

U završnoj fazi bolesti, kada pojedinci razviju simptome AIDS-a, broj CD4 T limfocita je ispod 200 stanica/ $\mu$ l, količina virusa je povećana i izražen je ukupan pad citotoksičnih limfocita. U limfnim čvorovima povećana je virusna replikacije uz istovremenu destrukciju limfoidnih stanica i limfoidnog tkiva. Zbog gubitka imuniteta dolazi do oportunističkih infekcija.

### 1.5. Imunološki odgovor na infekciju HIV-om

Glavni su pokretač HIV-infekcije stanice koje na svojoj membrani imaju CD4 receptore, a ulaz se odvija u interakciji gp120, CD4, kofaktora i kemokinskog receptora. Gp120 se veže za integrin  $\alpha$ 4 $\beta$ 7 i aktivira LFA-1 (eng. Lymphocyte function-associated antigen 1). LFA-1 se veže za ICAM-1 na antigen-prezentirajućim stanicama i služi kao adhezijska molekula. U toj interakciji LFA-1 je glavni integrin koji služi za uspostavljanje veza među stanicama (15).

Ciljevi neutralizirajućeg protutijela na HIV-1 su opsežno proučavani, više od bilo kojeg drugog lentivirusa. Prvi identificirani epitop je varijabilna regija 3 (V3), površinskog glikoproteina gp120. U nekih zaraženih pojedinaca, čini se da je barem dio HIV-1 neutralizirajućeg djelovanja usmjeren na V3 petlju. Neutralizirajuća antitijela na V3 petlji često prepoznaju linearne epitope, ali neki V3 epitopi u prirodi mogu biti konformacijski ili diskontinuirani. Zbog velikog broja varijacija V3 slijeda potrebne su dodatne studije kako bi se pojasnio taj problem i moguća neutralizirajuća protutijela (16). Druga vrsta neutralizirajućeg protutijela blokira vezanje gp120 na CD4. Ta protutijela su, čini se, složena skupina koja može blokirati interakciju CD4 s bilo kojim od brojnih epitopa na gp120. CD4 blokirajuća antitijela su reaktivnija od anti-V3 protutijela, a identificirana su i neutralizacijska antitijela koja vežu epitope koji su bolje izloženi nakon što se gp120 veže na CD4 (17).

Antitijela ovisna o citotoksičnosti ADCC (eng. Antibody-dependent cytotoxicity), interferirajuća antitijela i povećana antitijela također su otkrivena u lenti virusnim infekcijama. Protutijela mogu lizirati zaražene stanice i virione putem ADCC posredovanog komplementa. Interferirajuća antitijela mogu se vezati na virione ili zaražene stanice i tako blokirati djelovanje protutijela i neutralizirati infektivnost. Neka se antitijela mogu vezati na virione i tako povećati virusnu infekciju. Povećana virusna infekcija može biti posredovana s komplementom ili Fc receptorima. Važnost poboljšanja antitijela jasno je dokumentirana u infekciji denga groznice; prethodna izloženost jednom serotipu denga može povećati infekciju i bolest tijekom

sekundarne infekcije drugim serotipom. Sve veći broj dokaza pokazuje kako ADCC antitijela treba pažljivo razmotriti u razvoju HIV-cjepiva, ali moraju se potpuno istražiti kako bi se ostvario njihov puni potencijal za HIV-cjepiva (18).

Stanični imuno-specifični odgovor za antigen uključuje aktivnosti T limfocita koji liziraju ciljane stanice koje eksprimiraju strani antigen i T limfocite koji pružaju pomoć za B stanice i efektorske T stanice. Iako neki CTL mogu imati CD4 + fenotip, velika većina CTL-ova su CD4-, CD8+. CD4+ T limfociti daju pomoć nekim CTL i B stanicama u obliku izlučenih limfokina, čimbenika rasta i drugih olakšavajućih molekula. Specifičnost odgovora T-stanica određuje specifičnost TCR i MHC molekula koje se nalaze na većini vrsta stanica koje prezentiraju peptidne antigene i koji se prerađuju iz viralnih proteina za prepoznavanje TCR-om (15).

#### 1.5.1. AIDS - bolest uzrokovana HIV-om

Nakon 35 godina od otkrića virusa, o virusu znamo mnogo, ali i dalje ne dovoljno kako bi odgovorili na pitanje: kako točno HIV-1 uzrokuje AIDS? Iako se odgovor čini očit jer virus inficira i ubija CD4 T limfocite, a AIDS je rezultat gubitka CD4 T-limfocita koje ubija HIV, mehanizam kojim se to događa i dalje je kontroverzan. Postoje tri mogućnosti: ubijanje stanica posredovano virusom, njihova smrt zbog djelovanja imunskog sustava, naročito HIV-specifičnih CD8 T limfocita ili posredovanjem antitijela odnosno jednim ili više raznih indirektnih efekata (19).

HIV je zarazna i neizlječiva bolest koja tijekom vremena od asimptomatske bolesti, koju mogu otkriti samo specifični i osjetljivi laboratorijski testovi, prelazi u stanje potpunog uništenja imunskog sustava, što rezultira pojavom AIDS-a. AIDS je kompleksna bolest, kod koje je apsolutni pad razine CD4 limfocita ispod 200 stanica/ $\mu$ l, jedan od dijagnostičkih kriterija koje koristi Centar za kontrolu i prevenciju bolesti CDC (20). Bolest se klinički manifestira oštećenjem živčanog sustava, pojavom oportunističkih infekcija i malignih bolesti. Neurološki simptomi povezani s AIDS-om očituju se kao HIV-demencija, neuropatije, vakuolarna mijelopatija, aseptički meningitis itd. Najčešće maligne neoplazme, povezane u osoba koje boluju od AIDS-a su B stanični limfom i Kaposijev sarkom. Oportunističke infekcije su infekcije koje ne uzrokuju bolesti imunokompetentnim osobama, ali su za osobe oboljele od AIDS-a, potencijalno fatalne. To su različite virusne, bakterijske, parazitarne i gljivične



infekcije, a povezane su s razinom CD4+ limfocita u krvi. Novije studije pokušavaju predvidjeti morbiditet oportunističkim infekcijama među HIV-pozitivnim osobama (21).

### 1.5.2. Rizični čimbenici i putevi prijenosa HIV-a

Rizični čimbenici i putevi prijenosa HIV-a danas su dobro poznati. Put prijenosa možemo podijeliti: na spolni i nespolni prijenos te horizontalni i vertikalni, od kojih su najznačajniji; spolni put prijenosa, transmisija s majke na dijete i infekcija putem krvi (22). Glavni rizični čimbenik horizontalnog prijenosa HIV-a je spolni kontakt bez zaštite. Na različitim područjima svijeta, razlikuju se i čimbenici rizika, tako na području Istočne Europe, Azije, Subsaharske Afrike i u nerazvijenim afričkim zemljama, najznačajniji i najčešći način spolnog prijenosa je nezaštićeni heteroseksualni kontakt sa zaraženom osobom, dok je u Zapadnom svijetu, Sjevernoj Americi i Zapadnoj Europi, češći spolni prijenos homoseksualnim kontaktom. Faktori koji mogu povećati uspješniju transmisiju virusa uključuju: izraženu viremiju, kasniji stadij imunodeficijencije zaraženog partnera, akutnu primarnu infekciju, opetovani analni ili traumatski snošaj, koitus za vrijeme menstruacije i prisutnost popratnih spolnih bolesti, kao što su sifilis, herpes i gonoreja. Razina virusa u krvi pokazala se ključnim faktorom za uspješnost prijenosa infekcije. Vertikalna transmisija s majke na dijete globalni je problem, procjenjuje se kako godišnje 420 000 djece u cijelom svijetu biva zaraženo HIV-om, a 9 od 10 vertikalnih transmisija događa se u Subsaharskoj Africi. Tri su načina vertikalne transmisije: transplacentarno za vrijeme trudnoće, intrapartalno za vrijeme poroda i dojenjem. Prijenos krvlju moguć je putem transfuzija i među intravenskim ovisnicima, zbog zajedničkog upotrebljavanja pribora za uštrcavanje droge. Prijenos transfuzijama u razvijenom svijetu u konstantnom je padu, zbog rutinskog testiranja krvi i plazme, dok u nerazvijenom svijetu transfuzija i dalje nije sigurna. Mnogo rjeđi, ali mogući načini prijenosa su ubodni incident, transplantacija organa i donacija sperme (23).

Višegodišnja epidemiološka istraživanja pokazala su kako se HIV ne prenosi uobičajenim međuljudskim kontaktima; rukovanjem, kašljanjem, uporabom javnih zahoda i bazena, niti ga prenose životinje i kukci.

## 2. CILJ RADA

Ciljevi istraživanja bili su:

- ispitati postoji li povezanost HIV-pozitivnih osoba sa spolom
- povezanost HIV-pozitivnih osoba s načinom zaraze
- koje su to rizične skupine i rizični faktori među HIV-pozitivnim ispitanicima.

### 3. ISPITANICI I METODE

Centar za besplatno i anonimno testiranje na HIV i savjetovanje (CTS) svoju djelatnost obavlja od 1. ožujka 2005. u okviru Službe Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije. Otvaranjem centara u Osječko-baranjskoj županiji postala je dostupna usluga HIV- savjetovanja i testiranja koja je istovremeno i besplatna i anonimna. Centar za dobrovoljno HIV-savjetovanje i testiranje je mjesto gdje se mogu testirati svi oni koji žele saznati svoj HIV- status i gdje im savjetnik kroz povjerljiv razgovor pomaže u suočavanju sa stresom, pronalaženju rješenja za individualni rizik od infekcije HIV-a, usvajanju zaštitnih ponašanja i upućivanju na daljnju pomoć (medicinsku, psihosocijalnu). U Centru rade stručne osobe koje korisniku pomažu pronaći individualno rješenje za rizik od infekcije HIV-om. Cilj dugogodišnjeg rada CTS-a je povećati dostupnost dobrovoljnog, anonimnog i besplatnog testiranja i savjetovanja cijeloj populaciji, pogotovo mladim osobama i osobama u skupinama rizičnog ponašanja. Radom CTS-a želi se poboljšati usvajanje pozitivnih stavova i stilova života (odgovorno spolno ponašanje, nekorištenje droga), održati nisku razinu oboljelih od HIV- a/AIDS-a te smanjiti rizik od povećanog širenja bolesti u budućnosti.

#### 3.1. Ispitanici

Ispitanici su u ovom istraživanju osobe evidentirane u Centru za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije (ZZJZOBŽ) od 2005. godine do 2018. godine. Ispitanici prilikom upisa u evidenciju ispunjavaju unaprijed pripremljeni upitnik. Upitnik je podijeljen na dva dijela, u prvom dijelu su demografski podatci i suglasnost za besplatno testiranje, dok drugi dio ima dvadeset i tri pitanja koja su povezana s općepoznatim rizicima ponašanja HIV pozitivnih osoba. Neka od pitanja su: spolna opredijeljenost, broj spolnih partnera, korištenje kondoma prilikom spolnih aktivnosti i subjektivna procjena rizika od HIV infekcije. Subjektivna procjena boduje se od 1(ne postoji nikakav rizik) do 5(vrlo visok rizik). Nakon ispunjenog upitnika i potpisane suglasnosti ispitanici odlaze u prijemnu ambulantu na vađenje krvi. Anketa je evidentirana u elektroničkoj bazi ZZJZOBŽ-a, a uzorci ispitanika testirani su serološkom dijagnostikom, testom ELISA (engl. Enzyme-linked immunosorbent assay) i CMIA u mikrobiološkom laboratoriju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije. Uzorci testiranih ispitanika pozitivni na HIV

poslani su u Zagreb i naknadno su potvrđeni u Referentnom centru za dijagnostiku i liječenje HIV-a u Zagrebu, testom Western blot.

#### 3.2. Metode

Za potrebe istraživanja korišteni su podaci od 2005. do 2018. godine o HIV-pozitivnim osobama dobiveni iz arhivske građe i elektroničke baze podataka Centra za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije.

Osobama koje su se dobrovoljno odlučile na testiranje, krv je uzeta u SST epruvetu od 8,5 ml, vacutainer sistemom, iglom 0,08 x 38 mm. Krv se nakon uzimanja centrifugira te se serum obrađuje kemiluminiscentnom imunoanalizom s mikročesticama CMIA (eng. Chemiluminescence microparticle immunoassay) i imunoenzimnim testom ELISA (engl. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ), a pozitivni rezultati potvrđuju se u Referentnom centru za dijagnostiku i liječenje HIV-a u Zagrebu testom Western blot.

ELISA i CMIA su osjetljive i specifične metode dokazivanja infekcije HIV-om, osim tijekom prvih nekoliko tjedana od infekcije. Testovi ponekad mogu dati i lažno pozitivan rezultat, iz tog razloga svaki pozitivan nalaz mora se potvrditi specifičnijim testom kakav je Western blot. U današnje vrijeme bogatije zemlje koriste novije i brže testove (engl. rapid tests) kojima se infekcija HIV-om dokazuje iz krvi ili sline. To je brza dijagnostika koja dokazuje infekciju bez potrebe za složenom dijagnostičkom opremom ili postupcima. Testiranje je jednostavnije, brže i pristupačno na većem broju mjesta. Svaki takav pozitivan nalaz mora se potvrditi specifičnijim testom iz krvi (24).

##### 3.2.1. ELISA imunoenzimni test

Uvođenju ELISA metode u rutinsku laboratorijsku dijagnostiku prethodilo je otkriće vezanja topivog AG ili AT na čvrstu podlogu, kako se oni ne bi isprali prilikom faze odvajanja, dodavanja puferirane otopine. ELISA se radi na polistirenskim mikrotitarskim pločama, četvrtastog oblika, koje obično imaju 96 (12 x 8) jažica.

ELISA je osjetljiva i selektivna metoda kojom se određuje prisutnost i količina stranog AG u vrlo niskoj koncentraciji u istraživanom uzorku. Reakcija ELISA temelji se na vezanju

AG i AT uz prisutnost enzima, gdje se u završnoj fazi kolorimetrijski mjeri enzimska aktivnost. ELISA metoda uključuje imobilizaciju jedne ili dviju komponenti, što uklanja problem separacije, jer nakon reakcije jedna komponenta ostaje pričvršćena na čvrstu podlogu mikrotitarske ploče, a ostatak se jednostavno uklanja ispiranjem. Vezani reaktant ostaje u obliku u kojem ga je lako izmjeriti uz dodatak određenog supstrata i inkubacijom. Nakon toga mijenja se absorbancija koja je razmjerna aktivnosti enzima ili s obzirom na princip kompetencije, obrnuto razmjerna koncentraciji AG u uzorku.

Imunoenzimski testovi dolaze u mnogim oblicima i danas imaju brojne primjene, jedna od njih je i rutinska dijagnostika HIV-a (25).

#### 3.2.2. CMIA kemiluminiscentna imunoanaliza s mikročesticama

CMIA pripada skupini nekompetitivnih dvostranih (sendvič) kemiluminiscentnih metoda. Provodi se u dva stupnja i omogućuje vezanje dvaju protutijela na analit, bez steričkih zapreka. Analit je većinom antigen (Ag). Analit se veže za protutijelo (Pt) koje je adsorbirano na magnetnim mikročesticama. Nakon dodatka Pt obilježenih luminokromom i završnog ispiranja, u reakciju se dodaje smjesa natrijeva hidroksida i vodikova peroksida. Nakon toga dolazi do oslobađanja „bljeskajućeg“ signala koji se mjeri luminometrom. Jačina mjerenog signala je proporcionalna količini prisutnog analita u uzorku. Prilikom dijagnostike HIV-a, kvalitativno se određuje HIV p24 antigen i antitijela HIV-1 i HIV-2 u serumu pacijenta (26).

#### 3.2.3 Western blot potvrđni test

Proteinske čestice prije identifikacije potrebno je prvo odvojiti, a odvajanje se radi SDS- PAGE elektroforezom, koja odvaja proteine prema veličini odnosno Mr masi. Nakon toga u električnom polju izvršava se trajno fiksiranje prijenosom na membranu, zatim „identifikacija“ proteina.

Natrij dodecil sulfat-poliakrilamid gel elektroforeza (SDS-PAGE) SDS-PAGE najšire je korištena elektroforetska tehnika za analizu proteina. Većina proteina može vezati 1,4 g SDS/g proteina, maskirajući naboj polipeptidnih lanaca tako da neto naboj po jedinici mase bude približno konstantan. Elektroforetsko razdvajanje ovisi samo o efektivnom promjeru

molekule, koji odgovara relativnoj molekularnoj masi. Koncentracija poliakrilamida u gelu prilagodi se rasponu molekularnih masa proteina koje želimo razdvojiti. Zagrijavanjem uzoraka u odgovarajućem puferu osigurava se optimalna reakcija sa SDS-om. Pri nanošenju uzorka na gel važno je jažice ne pretrpati i ne nanositi velike volumene razrijeđenih uzoraka. Za bojenje bojom Coomassie Brilliant Blue G-250 nanosi se 20 - 60 µg proteina po jažici, a za bojenje srebrom, koje je osjetljivije, dovoljno je svega 5 - 15 µg proteina.

Nakon razdvajanja molekula, molekule od dijagnostičkog značaja prenose se na membranu, inkubiraju, zatim se nanose specifična primarna AT, nakon toga sekundarna mišja AT. Slijedi fiksiranje i ispiranje, zatim vizualizacija koja ovisi o laboratorijskom protokolu, a može biti kolorimetrijska, kemiluminiscentna, radioaktivna ili fluorescentna (27).

### 3.3 Statističke metode

Kategorijski podatci predstavljani su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički podatci opisani su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom. Testiranje razlika u zastupljenosti prema sociodemografskim obilježjima i karakteristika zdravstvenog stanja testirno je Hi kvadrat testom. Kod numeričkih vrijednosti testirana je normalnost distribucije upotrebom Kolmogorov-Smirnov testa. Trend je ocijenjen metodom linearnog trenda.

Analiza je rađena programom STATISTICA 12 ( StatSoft ) te se zaključci donose pri razini signifikantnosti od 5 %.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Rezultati i tablice

U Centru za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije od 2005. godine do 2018. na savjetovanju i testiranju bilo je ukupno 1914 osoba, od toga 1313 muškog spola i 601 ženskog spola. Broj testiranih ispitanika muškog spola u Centru za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije je za 712 veći u odnosu na broj testiranih ispitanica te se može utvrditi da je statistički značajno veći broj ispitanika muškog spola ( $\chi^2$  test  $p < 0001$ ).

Ukupan broj HIV-pozitivnih je 37 osoba, od toga 34 muškog spola i 3 ženskog spola. Prevalencija HIV-pozitivnih ispitanika muškog spola je 2,6 %, dok je među ispitanicama prevalencija 0,5 %. Kod ispitanika je utvrđena i statistički značajno veća prevalencija HIV-pozitivnih u odnosu na ispitanice ( $\chi^2$  test  $p < 0,001$ ); (Tablica 1.).

Tablica 1. Opći podatci o ispitanicima

		<b>n</b>	<b>(%)</b>	<b>p*</b>
Spol	M	1313	(68,6)	< 0,001
	Ž	601	(31,4)	
Ukupno		<b>1914</b>		
HIV-pozitivni	M	34	(91,9)	< 0,001
	Ž	3	(8,1)	
Ukupno		<b>37</b>		

\*  $\chi^2$

Zbog malog broja i statističke neznačajnosti HIV-pozitivnih ispitanica, sva daljnja obrada podataka i promatranje odnosi se na ispitanike muškog spola.

U Centru za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije od 2005. godine do 2018. aritmetička sredina dobi promatranih HIV-pozitivnih muških ispitanika je 33,7 godina sa standardnom devijacijom 2,5. Iako je broj

pacijenata sa završenom OS/SSS za 6 veći u odnosu na pacijente sa završenom VSS, značajna razlika nije utvrđena ( $\chi^2$  test  $p = 0,30$ ).

Prema mjestu prebivališta, najveći broj promatranih pacijenata je iz grada (23 pacijenta; 67,4 %) te je utvrđena statistički značajna razlika ( $\chi^2$  test  $p < 0,001$ ).

Iskustvo prethodnog testiranja je imalo 11 pacijenata, što je za 12 manje u odnosu na broj pacijenata koji se nisu prethodno testirali. Testiranjem je utvrđeno da je riječ o statistički značajnoj razlici ( $\chi^2$  test  $p = 0,04$ ).

Prosječna razina rizika prema subjektivnoj procjeni je 2,4 s prosječnim odstupanjem od aritmetičke sredine 1,0 (Tablica 2.).

Tablica 2. Opći podatci HIV-pozitivnih ispitanika

		<b>Muškarci</b>	<b>p*</b>
<b>Dob</b> [aritmetička sredina (standardna devijacija)]		33,7 (2,5)	
<b>Stručna sprema n (%)</b>			
	OS/SSS	20 (58,8)	0,30
	VSS	14 (41,2)	
<b>Mjesto prebivališta n (%)</b>			
	Selo	7 (20,6)	< 0,001
	Malo mjesto	4 (11,8)	
	Grad	23 (67,4)	
<b>Prethodno testiranje n (%)</b>			
	Da	11 (32,4)	0,04
	Ne	23 (67,6)	
<b>Procjena rizika</b> [aritmetička sredina (standardna devijacija)]		2,4 (1,0)	

\*  $\chi^2$  test

U promatranom četrnaestogodišnjem razdoblju (2005. – 2018.), broj novodijagnosticiranih HIV-pozitivnih infekcija kod osoba muškog spola, kretao se u rasponu od 0 do 6, koliko je zabilježeno 2016. godine. U prvih sedam godina ostvaren je manji broj infekcija (12), dok su u drugih sedam godina utvrđene nove 22 HIV-infekcije. Postojanje trenda testirana je upotrebom linearnog trend modela, metoda najmanjih kvadrata, gdje parametar beta



ukazuje na potencijalnu prisutnost trenda. Procijenjena vrijednost parametra smjera nije statistički značajan, pa se može utvrditi da trend nije prisutan u modelu. ( $p = 0,53$ ); (Tablica 3.)

Tablica 3. Učestalost HIV-pozitivnih infekcija po godinama kod muških ispitanika

godina	HIV	p*
2005.	0 (0,0)	
2006.	4 (11,8)	
2007.	1 (2,9)	
2008.	2 (5,9)	
2009.	1 (2,9)	
2010.	2 (5,9)	0,53
2011.	2 (5,9)	
2012.	5 (14,7)	
2013.	3 (8,8)	
2014.	1 (2,9)	
2015.	2 (5,9)	
2016.	6 (17,6)	
2017.	4 (11,7)	
2018.	1 (2,9)	

\*linearni trend

Među HIV-pozitivnim ispitanicima muškog spola u Centru za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije od 2005. do 2018. godine aritmetička sredina dobi promatranih ispitanika je 33,7 godina sa standardnom devijacijom 2,5. Promiskuitet je iskusilo 8 HIV-pozitivnih ispitanika, dok 24 HIV-pozitivna ispitanika nisu iskusila promiskuitet. Testiranjem je utvrđeno da većina HIV-pozitivnih ispitanika nije iskusila promiskuitet ( $\chi^2$  test  $p < 0,001$ ).

Broj HIV-pozitivnih ispitanika koji su iskusili homoseksulani kontakt je za 8 veći u odnosu na broj HIV-pozitivnih ispitanika koji homoseksulani kontakt nisu iskusili. Razlika nije statistički značajna ( $\chi^2$  test  $p = 0,17$ ). Odnos bez zaštite iskusila su 23 HIV-pozitivna ispitanika, dok 10 HIV-pozitivnih ispitanika nije iskusilo odnos bez zaštite. Testiranjem je utvrđena statistički značajna razlika ( $\chi^2$  test  $p < 0,001$ ) (Tablica 4).

Tablica 4. Opće poznati rizični faktori povezani s rizičnim ponašanjem za HIV-infekciju kod muških HIV-pozitivnih ispitanika

		<b>P*</b>
<b>Dob (godine)</b>	33,7 (2,5)	
<b>Promiskuitet</b>		
Da	8 (23,5)	
Ne	24 (70,6)	< 0,001
Nema podataka	2 (5,9)	
<b>Homoseksualni kontakt</b>		
Da	21 (67,76)	
Ne	13 (38,24)	0,17
<b>Odnos bez zaštite</b>		
Da	23 (67,6)	
Ne	10 (29,5)	< 0,001
Nema podataka	1 (2,9)	

\*  $\chi^2$  test

Dvadeset pet HIV-pozitivnih ispitanika (73,53 %) muškog spola nije dulje boravilo u inozemstvu, dok je 7 ispitanika (20,59 %) boravilo dulje u inozemstvu te je razlika statistički značajna ( $\chi^2$  test  $p < 0,001$ ). Dvanaest HIV-pozitivnih ispitanika (35,29 %) je homoseksualne spolne opredijeljenosti, dok je jednak broj ispitanika (11 ispitanika; 32,35 %) heteroseksualne odnosno biseksualne spolne opredijeljenosti. Razlika nije utvrđena ( $\chi^2$  test  $p = 0,08$ ). Veći broj HIV-pozitivnih ispitanika (23 ispitanika; 67,65 %) nije koristilo zaštitu pri zadnjem spolnom odnosu, u odnosu na 10 ispitanika (29,41 %) koji su koristili zaštitu pri zadnjem spolnom odnosu. Utvrđena je statistički značajna razlika ( $\chi^2$  test  $p < 0,001$ ). Većina HIV-pozitivnih ispitanika (32 ispitanika; 94,12 %) nije nikada plaćalo za odnos ( $\chi^2$  test  $p < 0,001$ ) te nije koristilo opijate putem injekcije proteklih mjesec dana (28 ispitanika; 82,35 %). Riječ je o statistički značajnoj većini ( $\chi^2$  test  $p < 0,001$ ); (Tablica 5.).

Tablica 5. Rizični faktori HIV-pozitivnih muških ispitanika

	<b>Broj (%)</b>	<b>p*</b>
<b>Dulji boravak u inozemstvu</b>		
Da	7 (20,6)	
Ne	25 (73,5)	< 0,001
Nema podataka	2 (5,9)	
<b>Spolna orijentacija</b>		
Heteroseksualni	11 (23,4)	
Homoseksualni	12 (35,3)	0,08
Biseksualni	11 (32,4)	
<b>Zaštita pri zadnjem spolnom odnosu</b>		
Da	10 (29,4)	
Ne	23 (67,3)	< 0,001
Nema podataka	1 (32,4)	
<b>Plaćao za odnos</b>		
Nikad	32 (94,1)	
Povremeno	2 (5,9)	< 0,001
Uvijek	0 (0,0)	
<b>Koristio opijate</b>		
Da	1 (2,9)	
Ne	28 (82,4)	< 0,001
Nema podataka	5 (14,7)	

\*  $\chi^2$  test

## 5. RASPRAVA

Prema javno dostupnim podatcima Registra za HIV/AIDS od 1985. godine, kada su zabilježeni prvi slučajevi zaraze HIV-om, u Hrvatskoj je do kraja 2017. godine zabilježeno ukupno 1540 osoba kojima je dijagnosticirana HIV-infekcija. Incidencija slučajeva infekcije HIV-om u 2017. godini bila je 2 na 100 000 stanovnika (106 slučajeva). Incidencija se odnosi na nove dijagnosticirane slučajeve HIV/AIDS-a u Hrvatskoj. Posljednjih pet godina u Hrvatskoj je prosječno godišnje 100 novodijagnosticiranih osoba s HIV-om. Stopa od 2 % Hrvatsku svrstava među zemlje s niskom učestalošću HIV-infekcije (6/100 000 prosjek je za zemlje EU/EEA u 2016. g.). Broj oboljelih i umrlih od AIDS-a u Hrvatskoj ima stabilan trend ili pad pojavnosti, zahvaljujući dostupnosti anti-retrovirusne terapije koja omogućuje HIV-pozitivnim osobama gotovo isto očekivano trajanje života kao i osobama koje nisu zaražene HIV-om (28).

Promatrajući Europski kontinent kao referentno geografsko područje prema javnodostupnim podatcima Europskog centra ECDC-a, u 2017. godini je 25 353 novodijagnosticiranih osoba s HIV-om. Zemlje s najvećim brojem novodijagnosticiranih infekcija HIV-om u 2017. godini, bile su Latvija (18,8; 371 slučaj) i Estonija (16,6; 219 slučajeva), a najnižu stopu izvijestile su Slovačka (1,3; 70 slučajeva) i Slovenija (1,9; 39 slučajeva). Stopa novodijagnosticiranih HIV-pozitivnih osoba bila je veća među muškarcima (9,0 na 100 000 stanovnika), nego među ženama (2,8 na 100 000 stanovnika). Ukupni muško-ženski omjer bio je 3,1. Taj je omjer bio najveći u Hrvatskoj (20,2) i Sloveniji (18,5).

Prema podatcima WHO-a u 2017. godini u Europskoj je regiji oko 160 000 novodijagnosticiranih osoba s HIV-om, što je još jedna godina s alarmantnim brojem HIV-a u regiji. Međutim, iako se dinamika rasta usporava u usporedbi s prethodnim godinama, nastavlja se negativan trend Istočne regije koji traje posljednje desetljeće. Većina (82 %; više od 130 000) novodijagnosticiranih osoba u 2017. godini bili su iz istočnog dijela Europskog kontinenta, što je najveći broj ikada. Od preostalih HIV-pozitivnih, 14 % je iz Zapadnog dijela, a 4 % iz središnjeg dijela Europskog kontinenta. Istovremeno, zemlje Europske unije i Europskog gospodarskog prostora (EU/EEA) izvijestile su o padu stope novih HIV-pozitivnih osoba.

Broju od 2,3 milijuna ljudi koji danas žive s HIV-om u regiji, doprinosi i loša samosvijest o riziku, što dokazuje osobna procjena rizika 1 od 5. Prema toj procjeni vidljivo je

kako osobe rizičnog ponašanja nisu svjesne velikog rizika od HIV-infekcije, što je rezultat otkrivanja HIV-infekcije u kasnom stadiju, kod više od polovice HIV-pozitivnih osoba.

U državama Europe među HIV-pozitivnim osobama uvelike prevladavaju muške osobe, a prema godišnjem izvješću za 2017. godinu o prijenosu HIV-a u slučajevima gdje je poznat put prijenosa, najčešće je evidentiran prijenos u homoseksualnom odnosu – 60 %, 33 % zaraženo je u heteroseksualnom odnosu, 5 % među intravenskim ovisnicima i manje od 1 % vertikalnim prijenosom tijekom trudnoće ili dojenja (29).

Zemlje EU-a gdje je put prijenosa HIV-a homoseksualni u više od 60 % su Austrija, Hrvatska, Češka, Mađarska, Irska, Nizozemska, Poljska, Slovačka, Slovenija i Španjolska. Korištenje droga bilo je put prijenosa za jednu četvrtinu ili više slučajeva u Litvi (62 %), Islandu (33 %) i Latviji (33 %) (30).

U trinaest godina pokazalo se kako je Osječko-baranjska županija područje niske incidencije. Ispitanici su većinom iz gradske sredine i sa završenom srednjom stručnom spremom. Od nastanka Centra za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije ukupno je bilo 37 HIV-pozitivne osobe na području Osječko-baranjske županije, no unatoč niskoj incidenciji i relativno konstantnom periodu, vidljiv je blago pozitivan trend porasta HIV-pozitivnih osoba, od kojih je najveći broj otkriven tijekom 2012. i 2016. godine.

Prema dostupnim podacima iz Centra za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije vidljivo je kako su osobe Istočne Hrvatske po svojim rizičnim karakteristikama sličnije Zapadnom svijetu, nego Istočnoj Europi. Poražavajući je podatak o porastu HIV-pozitivnih osoba od 10 % u nekim zemljama Istočne Europe i Azije. U Osječko-baranjskoj županiji kao i u zemljama EU-a prevladavaju HIV-pozitivne muške osobe, a kao put prijenosa nije statistički značajan prijenos među homoseksualnim i biseksualnim osobama, tako se Istočna Hrvatska i po ovim karakteristikama razlikuje od EU-a. HIV-pozitivni ispitanici Centra za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije kao i HIV-pozitivne osobe u EU prilikom subjektivne procjene, pokazuju nisku razinu svijesti o količini rizika i samim tim ne koriste adekvatnu zaštitu, što je veliki rizik za širenje HIV-infekcije. Međutim, unatoč vidljivim sličnostima Istočne Hrvatske i EU-a i dalje postoje nedostaci. Nedostatak je teško dostupna eksperimentalna skupina i sukladno tome, mali uzorak HIV-pozitivnih osoba. Nedostaci bi mogli biti i u velikoj migraciji stanovništva zbog napuštanja Istočne Hrvatske, jer osobe koje

su po godinama najzastupljenije među HIV-pozitivnim ispitanicima su u velikom broju napustile Istočnu Hrvatsku. Potencijalnu opasnost predstavljaju migracije stanovništva preko Istočne Hrvatske i migracije vezane uz nedostatak radne snage, gdje bi dolazak osoba iz zemalja Istočne Europe s visokom prevalencijom HIV-pozitivnih osoba mogao promijeniti trenutnu nisku incidenciju HIV-pozitivnih osoba kako u Hrvatskoj tako i u Istočnoj Hrvatskoj. Nastavkom rada CST-a, ustrajnim prikupljanjem podataka i rada na terenu moguće je u budućnosti stvaranje većeg uzorka koji bi bio usporediv i dao adekvatnu sliku infekcije HIV-om u Osječko-baranjskoj županiji.

Od izuzetnog značaja je poboljšanje postojećih i stvaranje novih javnozdravstvenih akcija te povećanje svijesti o riziku i zarazi od HIV-infekcije među mlađim populacijama, koje sve ranije stupaju u spolne odnose. Izuzetno je važno povećanje svijesti o važnosti prevencije, korištenju zaštite prilikom spolnog odnosa (posebno HIV-pozitivnih osoba) i povećanje svijesti o troškovima cjeloživotne terapije. Na svim nadležnim ustanovama, pojedincima i HIV- pozitivnim osobama, velika je odgovornost da zbog više razloga održe HIV-infekciju na minimumu i onemoguće širenje HIV-a u epidemijske razmjere, jer pravovremena edukacija, pravovremena prevencija i adekvatna zaštita jedino mogu spriječiti širenje HIV-infekcije.

Univarijatnom analizom su se najznačajnijim pokazali muški spol homoseksualni kontakt, a jednako tako značajna je bila i spolna orijentacija, gdje su homoseksualne i biseksualne osobe imale veće šanse za HIV-infekcijom iako ona nije statistički značajna. Uzimajući to u obzir, mala je poveznica između spolne orijentacije i kontakta, dok promatrajući spol zasebno, možemo reći da su muškarci skloniji infekciji u odnosu na žene, a žene uvelike mogu doprinijeti širenju HIV-infekcije u slučaju promiskuitetnog ponašanja i nekorištenja zaštite pri spolnom odnosu.

Ispitanici Centra za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije kao i Europski ispitanici većinom ne koriste zaštitu pri spolnom odnosu i nisu svjesni rizika prilikom neodgovornog ponašanja u spolnom odnosu, što brojčano pokazuje samostalna procjena od 2,4.

Do sada je rađeno jedno istraživanje u kojem se istraživalo rizično ponašanje korisnika Centra u Osječko-baranjskoj županiji, a uspoređujući rezultate, jasno je vidljivo kako su rezultati konzistentni, bez značajnijih promjena tijekom godina (31).

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedene analize podataka iz elektroničke baze podataka Centra za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije utvrđeno je sljedeće:

1. U Centru za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije testirano je 1914 osoba, od toga je 1313 osoba muškog spola što je statistički značajno veći broj od ispitanica ženskog spola. Aritmetička sredina dobi promatranih ispitanika je 33,7 godina sa standardnom devijacijom 2,5.

2. Kod muških ispitanika je statistički značajno veća prevalencija HIV pozitivnih u odnosu na ispitanice, ali nema statistički značajne povezanosti HIV pozitivnih muških osoba i homoseksualne spolne orijentacije kao jednog od opće poznatih visoko rizičnih faktora.

3. Statistički značajan broj HIV pozitivnih ispitanika nije koristio zaštitu pri spolnom odnosu, što ovaj rizični faktor svrstava u najčešći put zaraze HIV-om i ujedno najvećim rizikom za širenje virusa u Osječko-baranjskoj županiji.

4. Brojem od 2,4 HIV pozitivni ispitanici, prikazali su subjektivnom procjenom osobni rizik od HIV infekcije, što ukazuje da nisu u mogućnost adekvatno procijeniti stupanj svoje rizičnosti.

## 7. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Ispitati postoji li povezanost HIV pozitivnih osoba sa spolom, načinom zaraze HIV-om, koje su to rizične skupine i rizični faktori među HIV-pozitivnim ispitanicima.

**Ispitanici i metode:** Ispitanici u ovom istraživanju su osobe evidentirane u Centru za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije (ZZJZOBŽ) od 2005. godine do 2018. godine.

Ispitanicima koji su se odlučili na dobrovoljno i anonimno testiranje, nakon vađenja krvi i obrade, krv je testirana serološkim metodama ELISA i CMIA. To su osjetljive i specifične metode dokazivanja infekcije HIV-om, osim tijekom prvih nekoliko tjedana od infekcije. Testovi ponekad mogu dati i lažno pozitivan rezultat, iz tog razloga svaki pozitivan nalaz mora se potvrditi specifičnijim testom kakav je Western blot.

**Rezultati:** Ukupno je testiranih 1914 osoba (1313 M i 601 Ž), odnosno 712 više muških osoba, što čini statističku značajnost ( $\chi^2$  test  $p < 0001$ ). Ukupno je HIV-pozitivnih 37 osoba od kojih je 34 muške osobe što čini statističku značajnost ( $\chi^2$  test  $p < 0,001$ ). Kod HIV-pozitivnih muških osoba više parametara ima statistički značaj ( $\chi^2$  test  $p < 0,005$ ); (mjesto prebivališta - grad, ispitanici nisu prethodno testirani na HIV, nisu promiskuitetni, imaju spolni odnos bez zaštite, nisu duže boravili u inozemstvu). Statistički značaj nije utvrđen u homoseksualnom kontaktu, koji je jedan od najčešćih općepoznatih rizičnih faktora HIV pozitivnih muških osoba.

**Zaključak:** U Centru za dobrovoljno savjetovanje i testiranje Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, testirano je više muških osoba s aritmetičkom sredinom dobi 33,7 godina sa standardnom devijacijom 2,5. Nije bilo statistički značajne povezanosti HIV pozitivnih muških osoba i homoseksualne spolne orijentacije. Statistički je značajan broj HIV pozitivnih osoba koje su imale spolni odnos bez zaštite.

**Ključne riječi:** AIDS, HIV, Istočna Hrvatska, javno zdravstvo, pandemija



## 8. SUMMARY

Risk factors for HIV infection in users of the Center for Voluntary Counseling and HIV / AIDS testing in Osijek-Baranja County

**Objective:** The aim of this research is to determine whether there is a correlation between HIV positive persons with sex, HIV infection and to investigate the risk groups and risk factors in HIV positive respondents.

**Participants and Methods:** Respondents in this study are persons registered in the Center for Voluntary Counseling and Testing of the Public Health Institute of Osijek-Baranja County (Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije – ZZJZOBŽ) from 2005 to 2018.

ELISA and CMIA serological methods were been used to test the blood of anonymous volunteers. They are sensitive and specific methods of detecting HIV infection, except during the first few weeks after the infection. Tests may sometimes give false positive results. Because of that each positive finding must be confirmed by a more specific test such as Western blot

**Results:** 1914 persons were tested (1313 M, 601 F). There were 712 more male respondents, which is statistically significant ( $\chi^2=264.86$ ;  $p<0001$ ). There was a total of 37 HIV positive persons, 34 of whom were male, which is statistically significant ( $\chi^2 =9.32$ ,  $p<0.001$ ). In HIV positive men, multiple parameters are statistically significant with  $p<0.005$ ; (Residency, Not having been previously tested for HIV, Not promiscuous, Not having sex without protection, Not staying abroad for a long period of time). ). Statistical significance has not been established in homosexual contact, which is one of the most commonly known risk factors of HIV positive male subjects.

**Conclusion:** In the Center for voluntary counseling and testing of the Public Health Institute of Osijek-Baranja County, several males with an arithmetic mean age of 33.7 were tested with a standard deviation of 2.5. There was no statistically significant association between HIV positive male and homosexual sexual orientation. There is a statistically significant number of HIV positive persons who had sex without protection.

**Keywords:** AIDS, HIV, Eastern Croatia, public health, pandemic

## 9. LITERATURA

1. Gottlieb MS, Schanker HM, Fan PT, Saxon A, Weisman JD, Pozalski I, et al. Pneumocystis pneumonia--Los Angeles. MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report. 1981;30(21):250-2.
2. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, AxlerBlin C, Vézinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L. Isolation of a Tlymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science. 1983;220(4599):868–71.
3. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, Shearer GM, Kaplan M, Haynes BF, Palker TJ, Redfield R, Oleske J, Safai B, White G, Forster P, Markham P: Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLVIII) from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science 1984, 224:500-503.
4. World Health organization. Global Health Observatory (GHO), dostupno na adresi : <http://www.who.int/gho/hiv/en/> ; preuzeto 07.srpnja 2018.
5. Saldanha VP, Buse K. AIDS in eastern Europe and central Asia: time to face the facts. Lancet. 2016;388(10061):2737-8.
6. Ashley T, Haase, Patogenesis of lentivirus infection, Nature international jurnal of science ; volume322, pages130–136 (10 July 1986).
7. Sodora DL, Allan JS, Apetrei C, Brenchley JM, Douek DC, Else JG i sur. Toward an AIDS vaccine: lessons from natural simian immunodeficiency virus infections of African nonhuman primate hosts. Nat Med. 2009 Aug; 15(8): 861–865.
8. The university of Britisk Columbia, dostupno na adresi: <https://open.library.ubc.ca/cIRcle/collections/ubctheses/24/items/1.0167457>; preuzeto dana 21. srpnja 2018.
9. Pancera M, Majeed S, Ban YE, Chen L, Huang CC, Kong L, et al. Structure of HIV-1 gp120 with gp41-interactive region reveals layered envelope architecture and basis of conformational mobility. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107(3):1166-71.
10. Seitz R, Human Immunodeficiency virus (HIV), Transfus Med Hemother. 2016 May; 43(3): 203–222.
11. Wilen CB, Tilton JC, Doms RW. HIV: cell binding and entry. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012;2(8).

12. Hu WS, Hughes SH. HIV-1 reverse transcription. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(10).
13. Sarafianos SG, Marrshand B, Das K, Himmel D, Parniak MA, Huges SH, Arnold E. Structure and function of HIV-1 reverse transcriptase: molecular mechanisms of polymerization and inhibition. *J Mol Biol.* 2009 Jan 23; 385(3): 693–713.
14. Coffin J, Swanstrom R. HIV pathogenesis: dynamics and genetics of viral populations and infected cells. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013;3(1):a012526.
15. Arthos J, Cicala C, Martinelli E, Macleod K, Van Ryk D, Wei D, et al. HIV-1 envelope protein binds to and signals through integrin  $\alpha 4\beta 7$ , the gut mucosal homing receptor for peripheral T cells. *Nat Immunol.* 2008;9(3):301-9.
16. Dettin M, Ferranti P, Scarinci C, Picariello G, Di Bello C. Is the V3 loop involved in HIV binding to CD4? *Biochemistry.* 2003;42(30):9007-12.
17. Carrillo J, Molinos-Albert LM, Rodriguez de la Concepcion ML, Marfil S, Garcia E, Derking R, et al. Gp120/CD4 blocking antibodies are frequently elicited in ART-naive chronically HIV-1 infected individuals. *PLoS One.* 2015;10(3):e0120648.
18. Lee WS, Kent SJ. Anti-HIV-1 antibody-dependent cellular cytotoxicity: is there more to antibodies than neutralization? *Curr Opin HIV AIDS.* 2018;13(2):160-6.
19. Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE, *Retroviruses*, Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997 . dostupno na adresi: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21433340](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21433340); preuzeto 24. 7.2018.
20. Li R, Gossman WG, *CD4 Count*: StatPearls Publishing LLC, dostupno na adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470231>; preuzeto 30. 7.2018.
21. Rubaihayo J, Tumwesigye NM, Konde-Lule J, Makumbi F. Forecast analysis of any opportunistic infection among HIV positive individuals on antiretroviral therapy in Uganda. *BMC Public Health.* 2016;16(1):766.
22. Black V, Davies N, Williams BG, Rees HV, Schwartz SR. Establishing conception intentions and safer conception services for eliminating the vertical, and reducing the horizontal, transmission of HIV. *BJOG.* 2016;123(10):1585-8.
23. Kariuki SM, Selhorst P, Arien KK, Dorfman JR. The HIV-1 transmission bottleneck. *Retrovirology.* 2017;14(1):22.
24. Thomas RK, Amanda RB-Marusich; *Point-of-Care Testing for Infectious Diseases: Past, Present, and Future*; *Journal of Clinical Microbiology*; August 2017; Volume 55; Issue 8.

25. University of California, San Francisco; Hiv in site; dostupno na adresi:  
<http://hivinsite.ucsf.edu/InSite?page=kb-02-02-01#S5.1X>; preuzeto 01.04.2019.
26. Luigi C, Desré EF, Nicola B; Chemiluminescent immunoassay technology: what does it change in autoantibody detection?; Auto Immun Highlights. 2017 Dec; 8(1): 9. Published online 2017 Jun 24.
27. Hailu M, Dawit W, Arnaud F, Aster T, Tesfaye T, Mathias A, Eduard S, and Tobias FR De Wit; Indeterminate Human Immunodeficiency Virus Western Blot Profiles in Ethiopians with Discordant Screening-Assay Results; Clin Diagn Lab Immunol.; 2002 Jan; 9(1): 160–163.
28. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, dostupno na adresi:  
<https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/epidemiologija-hiv-infekcije-i-aids-a-u-hrvatskoj/>; preuzeto 28. 3.2019.
29. Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti, dostupno na adresi:  
<https://ecdc.europa.eu/en/hiv-infection-and-aids>; preuzeto 28. 3.2019.
30. Svjetska zdravstvena organizacija, WHO, dostupno na adresi:  
<https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/hiv-aids-surveillance-europe-2018.pdf>; preuzeto 28. 3.2019.
31. Kožul K, Stevanović R, Medić A, Pristaš I, Kolarić B, Samardžić S, et al. Risk behavior of customers in centers for free voluntary HIV counselling and testing in two Croatian cities—Osijek and Zadar. Coll antropol. 2010;34(2):509-13.

## 10. ŽIVOTOPIS

IME I PREZIME :                    Marijana Koić  
ADRESA:                                Ilirska 72, 31000 Osijek  
MOBITEL:                             0912543000  
E-MAIL:                                mkoic72@gmail.com  
DATUM ROĐENJA:                    27. 3. 1972.

OBRAZOVANJE:                    2010. – 2014.  
    Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku,  
    Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

POSljednje RADNO ISKUSTVO: veljača 2018. do travanj 2019.

POSLODAVAC:                    Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije  
    Služba za mikrobiologiju

RADNO MJESTO:                    Zdravstveno laboratorijski tehničar