

Humana bruceloza u Hrvatskoj u razdoblju od 2007. do 2020. godine: epidemiologija, dijagnostika i terapija

Human Brucellosis in Croatia in the period from 2007 to 2020: Epidemiology, Diagnostic Methods and Therapy

Ivana Ferenčak¹, Hrvojka Janković², Josip Bago³, Dinko Puntarić⁴, Suzana Bukovski^{1,4,5}

¹ Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb, Hrvatska

² Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

³ Zavod za javno zdravstvo Varaždinske županije, Varaždin, Hrvatska

⁴ Hrvatsko katoličko sveučilište, Odjel za sestrinstvo, Zagreb, Hrvatska

⁵ Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Hrvatska

Ključne riječi:

bruceloza
zoonoza
epidemiologija
dijagnostika

Keywords:

brucellosis
zoonosis
epidemiology
diagnostics

Primljeno: 17-12-2021

Received: 17-12-2021

Prihvaćeno: 18-01-2022

Accepted: 18-01-2022

✉ Adresa za dopisivanje:

Hrvojka Janković
Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Rockefellerova 7,
10 000 Zagreb
E-mail: h.m.jankovic@gmail.com

Sažetak

Uvod: Svrha ovog rada bila je podsjetiti na osnovne karakteristike bakterije iz roda *Brucella* te prikazati podatke o pacijentima hospitaliziranim u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u razdoblju od 2007. do 2020. godine. Dobiveni su rezultati uspoređeni s dostupnim podacima iz Bosne i Hercegovine i podacima iz elektronske baze Europskog centra za kontrolu bolesti za razdoblje od 2007. do 2019. godine.

Metode: Anamnestički su podaci prikupljeni iz povijesti bolesti pacijenata Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“. Uspoređeni su podaci prikupljeni iz godišnjih izvještaja za Republiku Hrvatsku te izvještaja Europskog centra za kontrolu i prevenciju bolesti za europske zemlje.

Rezultati: U razdoblju od 2007. do 2020. godine u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, od bruceloze je liječeno 25 pacijenata. Podaci o oboljelima od bruceloze Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo i Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ ne podudaraju se za 2008., 2014. i 2020. godinu. Bosna i Hercegovina bilježi značajno višu incidenciju bruceloze u usporedbi sa zemljama u regiji. Mediteranske zemlje imaju značajno više slučajeva novooboljelih nego što je to zabilježeno u Hrvatskoj.

Zaključak: Brucelozu u Hrvatskoj karakteriziraju sporadični slučajevi, najčešće importirani iz Bosne i Hercegovine. Potrebna je daljnja provedba, kao i razvitak preventivnih mjera s ciljem održavanja povoljne epidemiološke situacije.

Summary

Introduction: The purpose of this paper was to review the basic characteristics of bacteria from the genus *Brucella* and present original data on patients hospitalized at the University Hospital for Infectious Diseases „Dr. Fran Mihaljević“ in the period from 2007 to 2020. The obtained results were compared with available data from Bosnia and Herzegovina and data from the electronic database of the European Centre for Disease Prevention and Control for the period from 2007 to 2019.

Methods: Anamnestic data were collected from the medical histories of patients at the University Hospital for Infectious Diseases „Dr. Fran Mihaljević“. The compared data were collected from the annual reports for Croatia and the reports of the European Centre for Disease Prevention and Control for European countries.

Results: In the period from 2007 to 2020, 25 patients were treated for brucellosis in the University Hospital for Infectious Diseases „Dr. Fran Mihaljević“. The data on brucellosis patients of the Croatian Institute of Public Health and the University Hospital for Infectious Diseases „Dr. Fran Mihaljević“ do not match for 2008, 2014, and 2020. Bosnia and Herzegovina had a significantly higher incidence of brucellosis compared to countries in the region. Mediterranean countries have significantly more cases of newly infected people, compared to Croatia.

Conclusion: Brucellosis in Croatia is characterized by sporadic cases, mostly imported from Bosnia and Herzegovina. Further implementation and development of preventive measures with the aim of maintaining a favorable epidemiological situation are necessary.

Uvod

Bakterija roda *Brucella* uzrokuje bolest brucelozu, poznatu i pod nazivom Mediteranska groznica^[1]. Klinička bruceloza ljudi i životinja poznata je pod mnoštvom sinonima, kao što su groznica u valovima, malteška groznica te Bangova bolest^[2].

Bruceloza se smatra najproširenijom zoonozom, s više od 500 000 slučajeva infekcije godišnje. Bolest je zajednička ljudima i životinjama i može se prenositi sa životinje na čovjeka i obratno^[3,4,5]. Pripada skupini profesionalnih bolesti, a glavni izvor zaraze za čovjeka su inficirane životinje: krave, koze, ovce i svinje. Uzročnik se prenosi kontaktom sa zaraženom životinjom ili kontaminiranim produktima životinja kroz oštećenu kožu ili sluznicu te udisanjem aerosola^[6].

Bakterije roda *Brucella* dugotrajno se zadržavaju u okolišu te je dokazano da u gnoju mogu preživjeti i do 2 godine, u vlažnom tlu do 70 dana, sirevima do 6 mjeseci, onečišćenju vodi do 60 dana i prašini do 40 dana. Ovisno o temperaturi, vrsta *Brucella abortus* može opstati čak do 114 dana u vodovodnoj vodi^[7].

Endemska područja bruceloze uključuju mediteranske zemlje, Bliski istok, područje središnje Azije, Kinu, indijski potkontinent, subsaharsku Afriku te dijelove Srednje i Južne Amerike^[5, 8].

Klinička slika

U patogenezi bolesti, bitnu ulogu ima sposobnost bakterije da dugotrajno perzistira unutar endotelne stanice te aktivira endotelni protuupalni odgovor^[9].

Klinička slika nije tipična i može sličiti drugim bolestima te se, stoga, naziva *velikim imitatorom*. Nespecifičnost kliničke slike, ponekad zahtjevna kultivacija uzročnika te kompleksnost interpretacije seroloških nalaza često otežavaju diferencijalnu dijagnostiku kao i pravovremeno postavljanje ispravne dijagnoze^[10 - 15].

Klinička slika započinje jutarnjim febrilitetom te općom slabosti. Febrilitet može potrajati i do nekoliko tjedana. Potom se javljaju i ostali simptomi, poput jakog znojenja, gubitka apetita, glavobolje, malaksalosti te bolova u cijelom tijelu, pogotovo u području zglobova. Oporavak može trajati nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci. Smrtni se ishod bilježi u oko 2 % slučajeva^[16 - 20].

Dijagnostika

Dijagnoza bruceloze se postavlja na temelju detaljne epidemiološke anamneze i kliničke slike uz potvrdu odgovarajuće mikrobiološke pretrage.

S obzirom da se bruceloza prenosi inhalacijom aerosola, najviše tijekom aktivnosti koje uključuju manipulaciju bakterijskim kulturama, postupak labora-

torijske obrade kod uzoraka sa sumnjom na infekciju odvija se u laboratorijima za biosigurnost razine 3 (engl. Biosafety Level 3, BSL - 3). Najveća mogućnost izloženosti je prilikom uzgoja brucele iz uzoraka tkiva, pune krvi ili plazme^[21, 22].

Zlatni standard mikrobiološke identifikacije vrsta roda *Brucella* je izolacija bakterije iz uzorka krvi. S obzirom da bakterijemija kod bruceloze može biti intermitentna, preporučuje se uzeti više setova hemokultura u različitim vremenskim periodima. Hemokulture oboljelih od bruceloze pozitivne su kod 53,4% do 90% bolesnika^[23 - 25]. Iako se najčešće izolira iz uzoraka krvi, brucela se rijetko može identificirati i iz primarno sterilnih uzoraka, kao što su cerebrospinalni likvor te iz pleuralnog punktata ili uzorka ascitesa^[26].

Pripadnici roda *Brucella* su Gram negativni kokobacili ili kratki štapići, veličine 0,6 - 1,5 µm. Brucela raste na obogaćenim podlogama, a najčešće se koristi krvni agar^[27]. Identifikacija uzročnika može se potvrditi pomoću komercijalnih biokemijskih testova uz upotrebu odgovarajućih uređaja (primjerice VITEK) koji, na temelju biokemijskih osobina, daju konačnu identifikaciju bakterijske vrste^[28].

Dijagnostika bruceloze tradicionalno se oslanja na serološku dijagnostiku, koristeći pritom različite varijante aglutinacijskih testova. Temelj testova je detekcija pacijentovih protutijela usmjerenih protiv O-lipopolisaharida (O-LPS) na površini bakterijske stanice^[29,30]. S obzirom na antigensku srodnost brucele s Gram-negativnim bakterijama, kao što su *Yersinia enterocolitica* 0:9, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* O:157 i *Francisella tularensis*, križna reakcija protutijela s antigenima različitih bakterijskih vrsta povećava mogućnost lažno pozitivnog testa^[31].

Rose Bengal (RB) test koristi se kao probirni test, a zatim se rezultat potvrđuje testom aglutinacije seruma^[32, 33].

Wrightov test aglutinacije seruma u tubi (engl. serum agglutination test, STA) istovremeno je kvantitativan i kvalitativan jer u serumu detektira protutijela za brucelu te određuje titar protutijela. Vrijednosti titra $\geq 1/160$ pokazuju pozitivan rezultat i potvrđuju rezultat dobiven RB testom^[34, 35].

Test reakcije vezanja komplementa (RVK) ili complement fixation test (CFT) primjenjuje se kao potvrdna metoda kod uzoraka koji su dali pozitivan ili sumnjiv rezultat Rose Bengal testa. Postupkom RVK-a dokazuje se prisutnost kompleksa antigen-protutijelo pomoću aktiviranog komplementa^[27].

Imunoenzimni testovi za dokazivanje protutijela, ELISA (eng. Enzyme-linked immunosorbent assay) također se koriste za serološku dijagnostiku bruceloze^[36].

U dijagnostici bruceloze sve se više nastoji upotrebljavati dostupne brze testove koji su jednostavniji za izvedbu i lakši za interpretaciju (eng. point of care test, POC) s mogućnošću široke primjene u raznim uvjetima. Ovakvi su testovi od osobite važnosti u zdravstvenim centrima siromašnih zemalja, gdje je bolest endemska. Primjeri takvih testova za dokazivanje bruceloze su test fluorescentne polarizacije (eng. fluorescence polarization assay, FPA) te test bočnog protoka (eng. lateral flow assay, LFA). Osjetljivost i specifičnost LFA metode je iznad 95% te se može koristiti tijekom svih faza bolesti. Prednost LFA testa pred FPA testom je što ne zahtjeva reagense i specifičnu opremu te ga je, stoga, moguće koristiti u epidemijskim situacijama, kod bolesnika za potvrdu bolesti te praćenja kontakata [37 - 41].

Lančana reakcija polimeraze (eng. polymerase chain reaction, PCR) temelj je molekularne dijagnostike bruceloze^[42, 43]. Mitka i suradnici postigli su gotovo 100% osjetljivosti PCR metode neovisno je li se upotrijebio uzorak pune krvi ili trombocitno-leukocitni međusloj (eng. „buffy coat”)^[44]. Prednost molekularnih metoda je brzina detekcije uzročnika kod infekcije središnjeg živčanog sustava^[45].

Terapija

Antimikrobnu terapiju treba započeti što prije i provoditi je šest tjedana, što je osobito važno zbog izbjegavanja mogućih komplikacija bolesti i relapsa bolesti. Prema preporukama Svjetske zdravstvene organizacije (World Health Organisation, WHO) u terapiji se koristi kombinacija 200 mg doksiciklina i 600 - 900 mg rifampicina jednom dnevno tijekom šest tjedana ili kombinacija 200 mg doksiciklina i 15 mg/kg streptomicina jednom dnevno tijekom prva dva do tri tjedna liječenja^[46].

Mogućnost korištenja bakterija iz roda *Brucella* kao bioterorističkog agensa

Prema Centru za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC, Centres for Disease Control and Prevention), biološke agense svrstavamo u 3 kategorije: A, B i C. Na temelju tih karakteristika, bakterije iz roda *Brucella* svrstane su u B kategoriju^[47].

Cilj

Svrha istraživanja bila je prikazati podatke o oboljelima od bruceloze liječenima u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević” od 2007. do 2020. godine. Analizirani su podaci o bolesnicima prema dobi, spolu, načinu transmisije infekcije te profesionalnoj

izloženosti pacijenata. Cilj je bio prikazati mikrobiološke metode korištene za potvrdu kliničke dijagnoze, kliničku sliku sa spektrom svih simptoma kod svakog pojedinog bolesnika, komplikacije bolesti i antimikrobnu terapiju koja je korištena u liječenju bolesnika. Također, cilj je bio usporediti podatke o učestalosti bruceloze s dostupnim podacima zemalja iz regije te izvještajem Europskog centra za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control) o brucelozi.

Metode

Anamnestički podaci o dobno-spolnoj strukturi, migracijama, profesionalnoj izloženosti te mogućim putevima prijenosa bruceloze prikupljeni su iz povijesti bolesti pacijenata, uz odobrenje Etičkog povjerenstva Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević”. Mikrobiološka dijagnostika obuhvaćala je uzgoj bakterija iz hemokultura, serološku dijagnostiku te dijagnostiku molekularnim metodama. Od seroloških metoda, korišteni su Rose-Bengal test, test reakcije vezanja komplementa, Wrightov test i ELISA te PCR, kao molekularna metoda. Za razdoblje od 1990. do 2006. godine, podaci o broju oboljelih u Republici Hrvatskoj i Bosni i Hercegovini dobiveni su iz rada „Rasprostranjenost bruceloze u Republici Hrvatskoj s osvrtom na stanje u Bosni i Hercegovini”, a koji rad je objavljen u Infektološkom glasniku iz 2008. godine^[48]. Na godišnjoj su razini u BiH objavljeni Epidemiološki bilteni s informacijama o nizu zaraznih bolesti, uključujući brucelozu te su iz njih dobiveni podaci za razdoblje od 2007. do 2020. godine^[49 - 52]. Na temelju podataka u Godišnjim izvješćima o zoonozama Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) prikazani su slučajevi bruceloze od 2007. do 2020. godine.^[53 - 55] Izvještaj Europskog centra za kontrolu i prevenciju bolesti (ECDC) bio je izvor podataka o brucelozi u europskim zemljama od 2007. godine do 2019. godine^[56, 57].

Rezultati

U razdoblju od 2007. do 2020. godine u KZIB (Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević”), od bruceloze je liječeno 25 pacijenata, dok se kod dva bolesnika radilo o mogućem recidivu, s obzirom da su prvi puta oboljeli prije našeg promatranog razdoblja (lipanj i listopad 2008. godine); oboljeli su češće muškarci (16 muškaraca; 64%). Većina je bolesnika bila u dobi od 13 do 70 godina, najčešće u dobi od 20 - 40 godina (48 %). Četvrtina pacijenata, njih 6 (24 %) oboljelo je tijekom profesionalne izloženosti, dok ih se 18 (72 %) inficiralo konzumacijom kontaminirane hrane.

Jedan je pacijent negirao kontakt sa životinjama i konzumaciju životinjskih proizvoda. Pet slučajeva bruceloze 2008. godine bilo je iz epidemije s Kosova, gdje su

se bolesnici zarazili konzumacijom svježeg kozjeg sira, a dva slučaja su bila iz epidemije iz Hercegovine nakon konzumacije sirnice (Tablica 1).

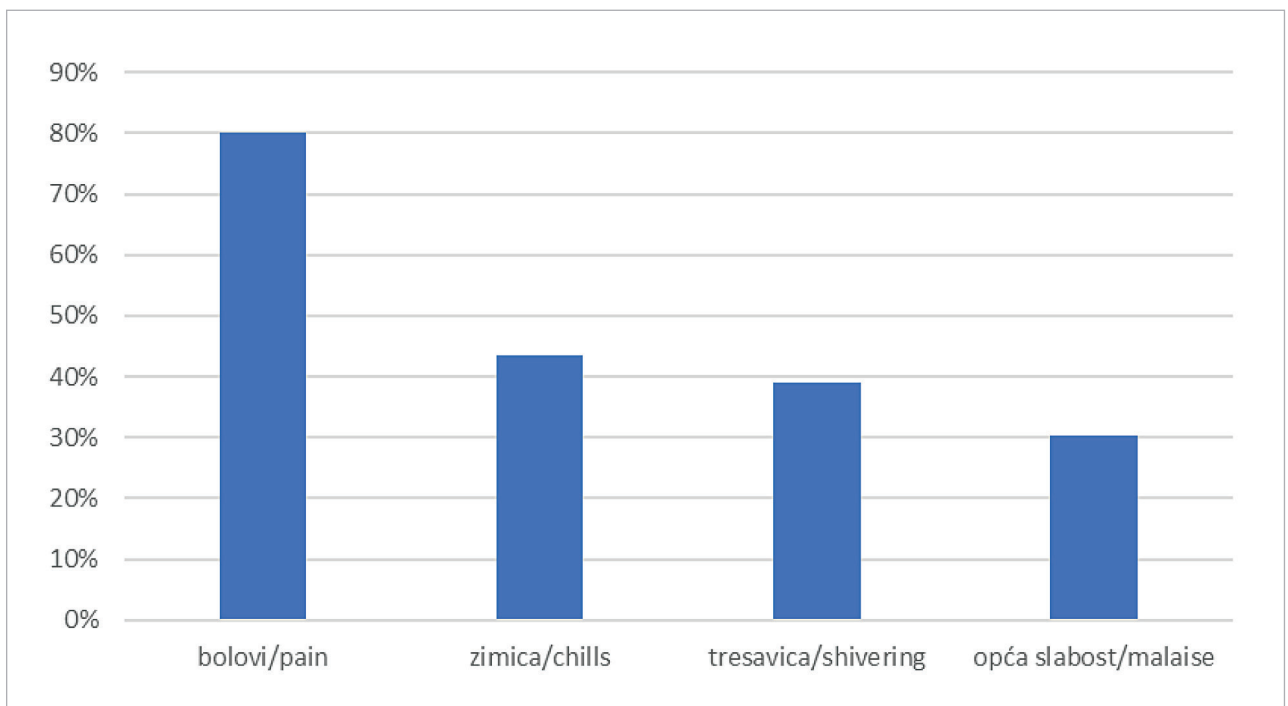
TABLICA 1. SLUČAJEVI BRUCELOZE U KLINICI ZA INFJEKTIVNE BOLESTI „DR. FRAN MIHALJEVIĆ“ U RAZDOBLJU OD 2007. DO 2020. GODINE S PRIKAZOM PODATAKA: SPOL, DOB, ZANIMANJE I NAČIN ZARAZE TE REZULTATI BAKTERIOLOŠKE, SEROLOŠKE I MOLEKULARNE DIJAGNOSTIKE
 TABLE 1. BRUCELLOSIS CASES IN THE UNIVERSITY HOSPITAL FOR INFECTIOUS DISEASES „DR. FRAN MIHALJEVIĆ“ (UHID) IN THE PERIOD FROM 2007 TO 2020, WITH CORRESPONDING DATA: SEX, AGE, PROFESSION, WAY OF INFECTION AND RESULTS OF BACTERIOLOGICAL, SEROLOGIC AND MOLECULAR DIAGNOSTICS

SLUČAJ/ CASE	GODINA/ YEAR	SPOL/ SEX	DOB/ AGE	ZANIMANJE/ OCCUPATION	NAČIN INFJEKCIJE/WAY OF INFECTION	HEMOKULTURA/ BLOOD CULTURE	Rose Bengal	Wright	RVK/COM PLEMENT FIXATION TEST	ELISA	PCR
Slučaj 1/Case 1	2007	M/M	20	Elektrotehničar/ Electrotechnician	Konzumacija mesa i mliječnih proizvoda domaće proizvodnje/Consumption of homemade meat and dairy products	+	+	+	/	/	/
Slučaj 2/Case 2	2007	Ž/F	33	Stomatolog/Sto matologist	Negira kontakt sa životinjama i konzumaciju životinjskih produkata/Denies contact with animals or consumption of animal-source food	+	+	+	/	/	/
Slučaj 3/Case 3	2008	M/M	46	Veterinar/Veteri narian	Kontakt sa zaraženim životinjama- profesionalna izloženost/Professional exposure to infected animals	+	+	/	+	/	/
Slučaj 4/Case 4	2008	M/M	22	Student/Student	Konzumacija kajmaka u Sarajevu/Consumption of sour cream in Sarajevo	+	+	/	+	/	/
Slučaj 5/Case 5	2008	Ž/F	44	Domaćica/Hous ewife	Epidemija Kosovo- svježi kozji sir/Kosovo epidemic - fresh goat cheese	+	/	/	/	/	/
Slučaj 6/Case 6	2008	M/M	68	Umirovljenik/Pe nsioner	Epidemija Kosovo- svježi kozji sir/Kosovo epidemic - fresh goat cheese	+	-	/	-	/	/
Slučaj 7/Case 7	2008	M/M	19	Ovčar/Shepherd	Kontakt sa životinjama/Animal contact	-	+	+	/	/	/
Slučaj 8/Case 8	2008	Ž/F	12	Učenica/Student	Epidemija Kosovo- svježi kozji sir/Kosovo epidemic - fresh goat cheese	/	/	/	+	/	/
Slučaj 9/Case 9	2008	M/M	70	Umirovljenik/Pe nsioner	Epidemija Kosovo- svježi kozji sir/Kosovo epidemic - fresh goat cheese	+	+	+	-	/	/
Slučaj 10/Case 10	2008	M/M	26	Stolar/Carpente r	Svadba- Hercegovina - sirnica/Wedding in Herzegovina - cheese pastry	+	+	/	+	/	/
Slučaj 11/Case 11	2008	Ž/F	26	med. Sestra/Nurse	Epidemija Kosovo- svježi kozji sir/Kosovo epidemic - fresh goat cheese	+	/	+	/	/	/
Slučaj 12/Case 12	2008	Ž/F	13	Učenik/Student	Svadba Hercegovina- sirnica, česti kontakt s govedima i svinjama/Wedding in Herzegovina - cheese pastry, frequent contact with cattle and pigs	+	/	/	/	/	+
Slučaj 13/Case 13	2008	M/M	37	Veterinar/Veteri narian	Kontakt sa zaraženim životinjama- profesionalna izloženost/Professional exposure to infected animals	+	/	/	/	/	/
Slučaj 14/Case 14	2008	M/M	20	Nepoznato/Unk nown	Konzumacija mliječnih proizvoda – Sarajevo/Consumption of dairy products – Sarajevo	+	+	/	+	/	/
Slučaj 15/Case 15	2009	M/M	47	Veterinar/Veteri narian	Kontakt sa zaraženim životinjama- mogući recidiv/Contact with infected animals, possible recidive	/	/	/	/	/	/
Slučaj 16/Case 16	2009	M/M	38	Veterinar/Veteri narian	Kontakt sa zaraženim životinjama- mogući recidiv- prvi put 10/08.	+	/	/	/	/	/
Slučaj 17/Case 17	2009	M/M	31	Vozač/Driver	Nepoznat/Unknown	+	-	/	/	/	/
Slučaj 18/Case 18	2014	Ž/F	51	Umirovljenik/Pe nsioner	Putovanje u Tursku/Travel to Turkey	-	-	/	/	/	/
Slučaj 19/Case 19	2014	M/M	29	Broker/Broker	Konzumacija svježih kravljih sireva s tržnice, HR vrlo vjerojatno, ne zna se/Consumption of fresh cow cheese from market, probably in Croatia, not certain	+	+	+	/	/	/

SLUČAJ/ CASE	GODINA/ YEAR	SPO/ SEX	DOB/ AGE	ZANIMANJE/ OCCUPATION	NAČIN INFEKCIJE/WAY OF INFECTION	HEMOKULTURA/ BLOOD CULTURE	Rose Bengal	Wright	RVK/COM PLEMENT FIXATION TEST	ELISA	PCR
Slučaj 20/Case 20	2017	Ž/F	29	Veterinar/Veteri narian	Mikrobiološki laboratorij- kontakt s izlučevinama zaraženih životinja- profesionalna izloženost/Microbiology laboratory-contact with excretions from infected animals-professional exposure	+	+	/	+	+	/
Slučaj 21/Case 21	2018	Ž/F	68	Umirovljenik/Pe nsioner	Konzumacija kozjeg mlijeka- BIH/Consumption of goat milk in Bosnia and Herzegovina	+	+	+	/	/	/
Slučaj 22/Case 22	2018	M	44	Trgovac/Retaile r	Konzumacija svježeg kozjeg sira-u Bosni kod tetke/Consumption of fresh goat cheese at his aunts place in Bosnia	+	/	/	/	/	/
Slučaj 23/Case 23	2018	M/M	42	Pjevač/Singer	Konzumacija domaćeg kozjeg mlijeka i sira, Kupres, BIH/Consumption of homemade goat milk and cheese, Kupres, Bosnia and Herzegovina	+	-	/	/	/	+
Slučaj 24/Case 24	2019	Ž/F	15	Učenik/Student	Konzumacija sira i mliječnih proizvoda- BIH/Consumption of cheese and other dairy, Bosnia and Herzegovina	-	+	/	/	/	/
Slučaj 25/Case 25	2020	M/M	46	Trgovac/Retaile r	Konzumacija kravljeg sira u Bosni, obiteljska anamneza- tetka pozitivna/Consumption of cow cheese in Bosnia. His aunt was also positive	/	+	graničan/ borderline	/	/	/

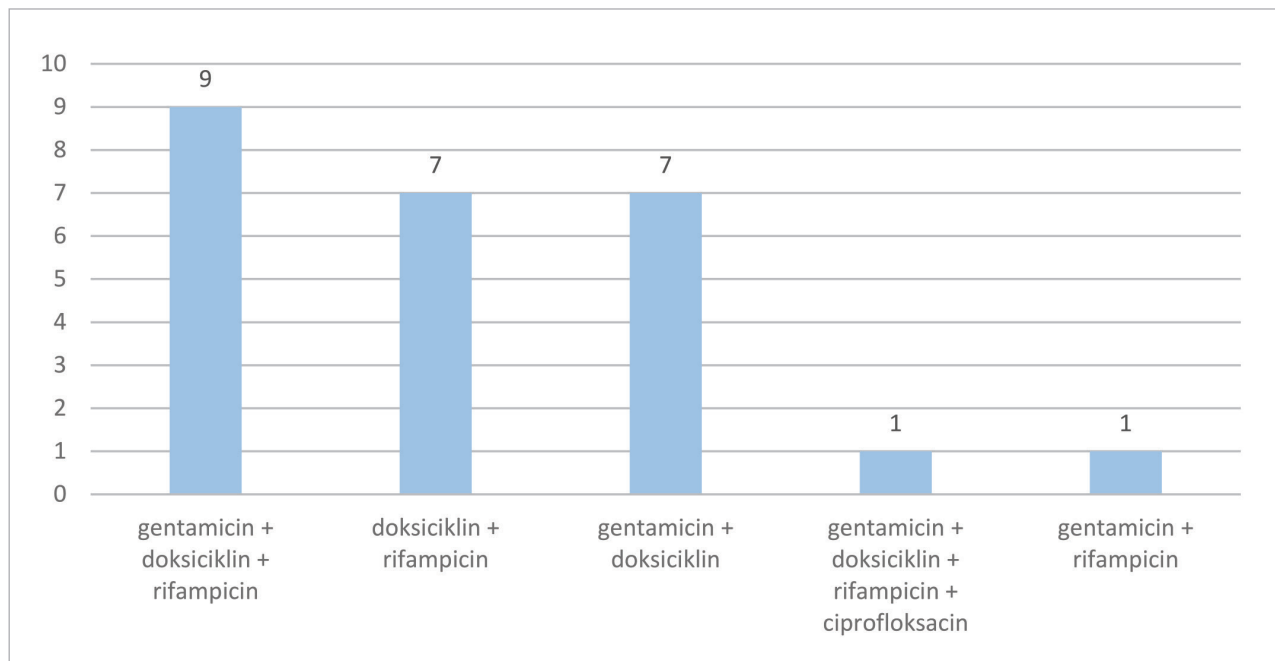
SLIKA 1. PREVALENCIJA POJEDINIH SIMPTOMA KOD OBOLJELIH OD BRUCELOZE, LIJEČENIH U KLINICI ZA INFEKTIVNE BOLESTI „DR. FRAN MIHALJEVIĆ“ U RAZDOBLJU OD 2007. DO 2020. GODINE

FIGURE 1. PREVALENCE OF INDIVIDUAL SYMPTOMS IN BRUCELLOSIS PATIENTS TREATED AT THE UNIVERSITY HOSPITAL FOR INFECTIOUS DISEASES „DR. FRAN MIHALJEVIĆ“ IN THE PERIOD FROM 2007 TO 2020



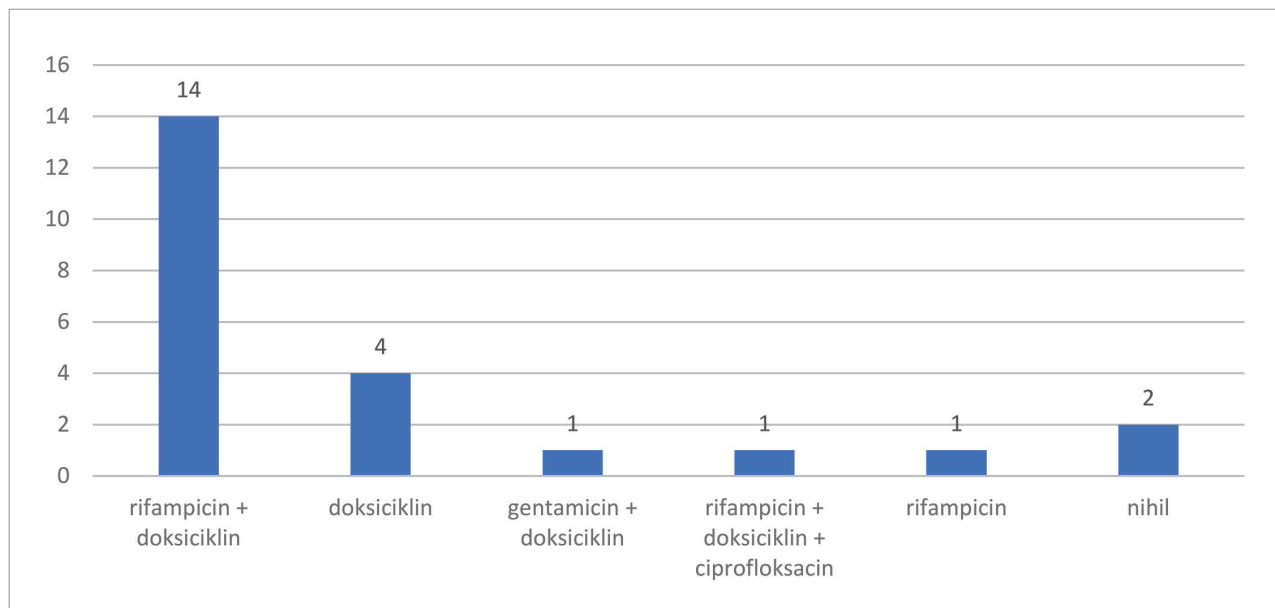
SLIKA 2. ANTIMIKROBNA TERAPIJA ZA VRIJEME BORAVKA U BOLNICI PACIJENATA OBOLJELIH OD BRUCELOZE LIJEČENIH U KLINICI ZA INFEKTIVNE BOLESTI „DR. FRAN MIHALJEVIĆ” U RAZDOBLJU OD 2007. DO 2019. GODINE

FIGURE 2. ANTIMICROBIAL THERAPY OF BRUCELLOSIS PATIENTS HOSPITALIZED AT THE UNIVERSITY HOSPITAL FOR INFECTIOUS DISEASES „DR. FRAN MIHALJEVIĆ” IN THE PERIOD FROM 2007 TO 2019



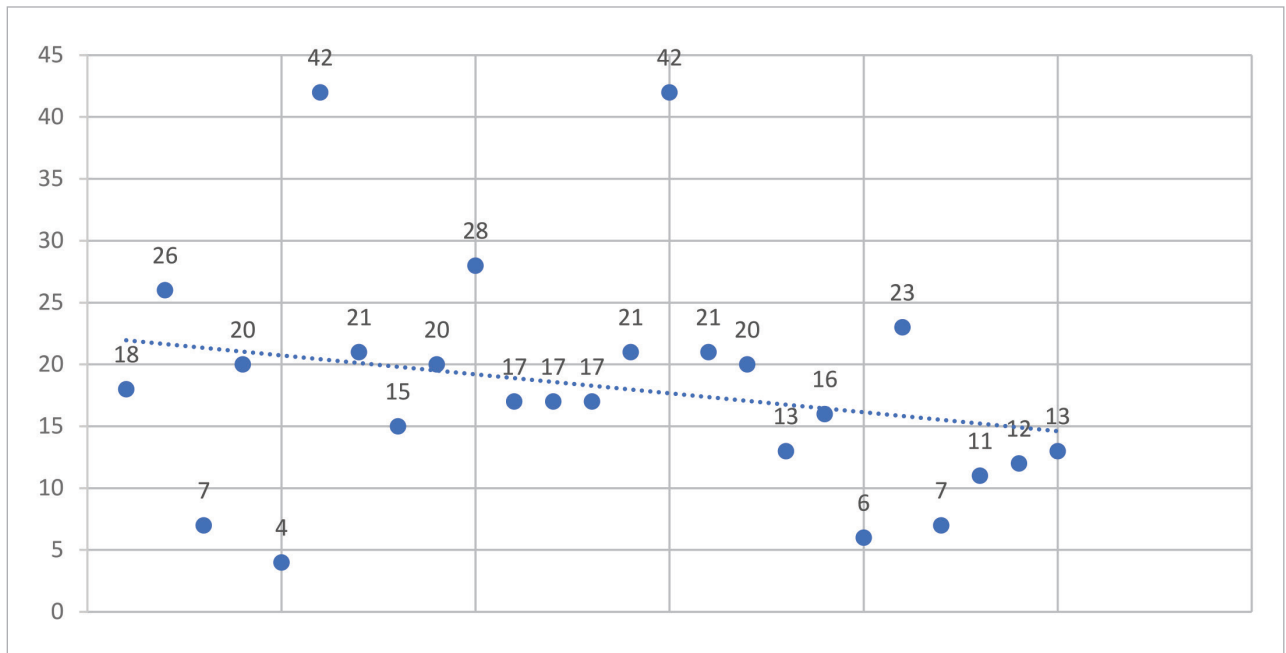
SLIKA 3. PRIKAZ TERAPIJE NAKON OTPUSTA BOLESNIKA IZ KLINIKE ZA INFEKTIVNE BOLESTI „DR. FRAN MIHALJEVIĆ” OBOLJELIH OD BRUCELOZE U RAZDOBLJU OD 2007. DO 2020. GODINE

FIGURE 3. THERAPY AFTER DISCHARGE OF BRUCELLOSIS PATIENTS FROM THE UNIVERSITY HOSPITAL FOR INFECTIOUS DISEASES „DR. FRAN MIHALJEVIĆ” IN THE PERIOD FROM 2007 TO 2020



SLIKA 4. PRIKAZ BROJA DANA HOSPITALIZACIJE PACIJENATA LIJEČENIH OD BRUCELOZE U KLINICI ZA INFektivNE BOLESTI „DR. FRAN MIHALJEVIĆ” U RAZDOBLJU OD 2007. DO 2020. GODINE

FIGURE 4. LENGTH OF STAY (IN DAYS) OF PATIENTS TREATED FOR BRUCELLOSIS AT THE UNIVERSITY HOSPITAL FOR INFECTIOUS DISEASES „DR. FRAN MIHALJEVIĆ” IN THE PERIOD FROM 2007 TO 2020



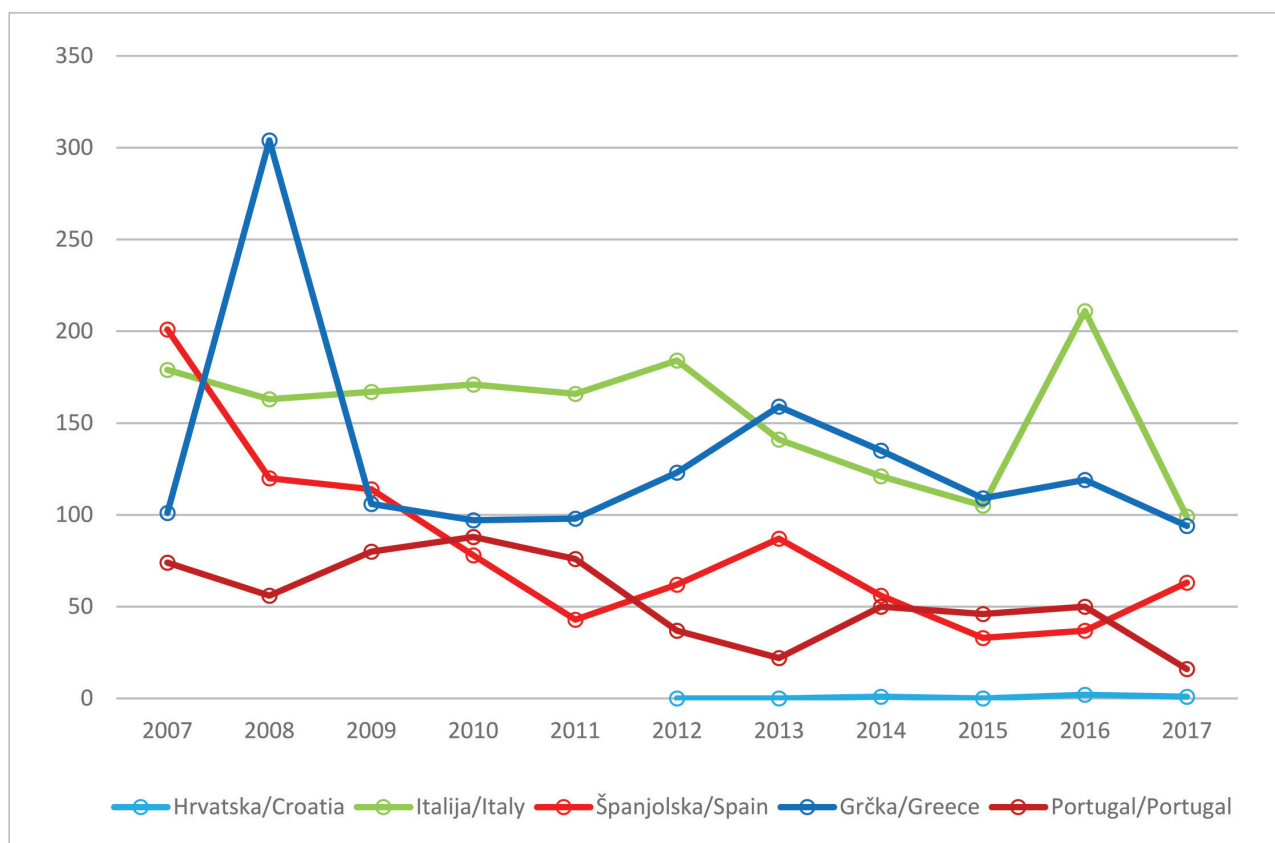
TABLICA 2. PODACI O INCIDENCIJI BRUCELOZE IZ REGISTRA HRVATSKOG ZAVODA ZA JAVNO ZDRAVSTVO U RAZDOBLJU OD 2007. DO 2019. G. [53 - 55]

TABLE 2. DATA ON BRUCELLOSIS INCIDENCE FROM THE CROATIAN INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH (CIPH) REGISTER FROM 2007 TO 2019 [53 - 55]

Godina/Year	Broj oboljelih iz podataka HZJZ/Number of infected from CIPH data	Broj liječenih u KZIB/Number of patients treated at the UHID
2007.	2	2
2008.	25	12
2009.	3	3
2010.	3	0
2011.	0	0
2012.	0	0
2013.	0	0
2014.	1	2
2015.	0	0
2016.	2	0
2017.	1	1
2018.	3	3
2019.	3	1
2020.	0	1

SLIKA 5. PODACI ECDC-A O INCIDENCIJI BRUCELOZE U HRVATSKOJ, ITALIJI, ŠPANJOLSKOJ, GRČKOJ I PORTUGALU ZA RAZDOBLJE OD 2007. DO 2019. GODINE

FIGURE 5. ECDC DATA ON BRUCELLOSIS INCIDENCE IN CROATIA, ITALY, SPAIN, GREECE AND PORTUGAL FROM 2007 TO 2019



Usporedba podataka HZJZ-a i ECDC-a iz 2012. godine pokazuje sukladnost rezultata (Tablica 2, Slika 5).

Rasprava

Republika Hrvatska ne pripada endemskim područjima bruceloze, unatoč svom geografskom smještaju te sličnim klimatskim i socioekonomskim karakteristikama s ostalim zemljama Mediterana.

Bruceloza je dijagnostički zahtjevna, kako liječnicima kliničarima, tako i kliničkim mikrobiolozima. Impresivnom sposobnošću zahvaćanja gotovo svih organskih sustava velik je izazov u dijagnostici na temelju kliničke slike, stoga su anamnestički podaci često ključni. Vodeći simptom kod oboljelih od bruceloze u ovom istraživanju bio je febrilitet, prisutan kod svih slučajeva. Zatim su slijedili bolovi kod 20 (80,0 %) bolesnika, zimica kod 14 (43,5 %) bolesnika, tresavica kod 9 (39,1 %) i opća slabost u 7 (30,4 %) bolesnika (Slika 1).

Iako je hemokultura zlatni standard dijagnostike bruceloze zbog visoke specifičnosti i osjetljivosti, i druge dijagnostičke metode imaju ulogu u postavljanju

i potvrdi dijagnoze. Serološka dijagnostika obuhvaća dvije varijante testova: probirne (screening) testove te potvrdne testove, uz sve veću primjenu ELISA testova. Osjetljivost i specifičnost probirnog (screening) Rose Bengal testa su visokih vrijednosti, stoga su lažno pozitivni i lažno negativni rezultati izuzetno rijetki^[32, 33]. Dopuna rezultata nakon screening testa moguća je potvrdnim testovima, primjerice Wrightovim testom kojim se dobiva informacija o kvalitativnim i kvantitativnim vrijednostima^[34, 35].

Širokom primjenom sve dostupnijih brzih testova (point of care - POC) omogućit će se jednostavnija detekcija bruceloze te efikasnije praćenje kontakata oboljelog u slabije razvijenim zemljama, gdje su laboratoriji nedostupni i osoblje slabije educirano. Molekularna dijagnostika sve je više prisutna u dijagnostici infektivnih bolesti, pri čemu bruceloza nije iznimka. Individualizacija dijagnostičkog pristupa uz suradnju s kliničarima svakako će doprinijeti bržoj i kvalitetnijoj identifikaciji patogena, uz posljedično pravovremeni terapijski pristup, a time i bolji klinički ishod.

Naši podatci su pokazali da je u promatranom razdoblju u dijagnostici bruceloze u liječenih bolesnika u

KZIB zlatni standard bio hemokultivacija te da su druge metode, uglavnom serološke, bile samo potvrdne. Iako u dijagnostici nije često korištena ELISA niti PCR i iako smo imali mali broj korištenih testova može se zaključiti da bi te dvije metode u budućnosti mogle ponekad biti adekvatna zamjena za zlatni standard.

Svjetska zdravstvena organizacija je 1986. godine objavila izvještaj stručnog povjerenstva o epidemiološkom postupanju, dijagnostici i terapiji bruceloze. Umjesto dotadašnjeg terapijskog režima kombinacije oralnog tetraciklina i intramuskularnog streptomocina, bolje rezultate pokazala je dualna terapija rifampicina i doksiciklina primjenjena u jednoj dozi čime je poboljšana suradljivost pacijenata. Kotrimoksazol je pokazao djelotvornost, no pokazalo se kako je učestalost relapsa visoka, čak i uz produljeno vrijeme primjene^[46]. Rifampicin je antimikrobni lijek na kojeg je rezistencija, zbog učestalosti upotrebe u liječenju endemske tuberkuloze, u porastu, stoga su novija istraživanja usmjerena na trojnu terapiju (doksiciklin, rifampicin i amikacin) kako bi se smanjila mogućnost relapsa bruceloze. Česti relapsi bruceloze objašnjeni su dugotrajnim zadržavanjem bakterije u endotelnim stanicama. Predložena trojna terapija je zasada pokazala ohrabrujuće inicijalne rezultate^[58].

Ordinirana terapija kombinacijom gentamicina, rifampicina i doksiciklina kod 9 (56%) pacijenata iz ovog rada u skladu je s novim istraživanjima koja su pokazala inicijalno dobar terapijski odgovor pacijenata trojnom terapijom naspram dugogodišnjih preporuka i prakse dvojne terapije (Slika 2).

U suvremenom svijetu brzog razvitka tehnologije i političkih razlika ne smije se zanemariti moguća upotreba infektivnih agensa u bioterorističke svrhe. Centar za kontrolu i prevenciju bolesti smjestio je bakterije iz roda *Brucella* u B kategoriju zbog karakteristika koje ih odlikuju.

Prema istraživanju provedenom u Republici Hrvatskoj za razdoblje od 1999. do 2007. godine serološkim testovima je utvrđena bruceloza najčešće u koza (0,5 %), ovaca i svinja (po 0,4 %) te znatno rjeđe u goveda (0,002 %) i ljudi (0,005 %)^[48]. U susjednoj Bosni i Hercegovini je tijekom 2007. godine 2,9% testiranih životinja bilo pozitivno na brucelozu. Od 335 slučajeva humane bruceloze čak 197 bilo je iz područja Unsko - sanskog kantona. Jasno je iz toga da je u Bosni i Hercegovini brucela značajniji humani patogen nego u Hrvatskoj, s obzirom da je u jednoj godini (2007. godini) bilo 335 slučajeva bruceloze u BiH, dok je tijekom razdoblja od 1999. godine do 2007. godine u Hrvatskoj prijavljeno 48 slučajeva bruceloze kod ljudi^[48]. Noviji podaci koji obuhvaćaju razdoblje od 2007. do 2018. godine pokazuju sličnu distribuciju bruceloze u regiji.

U Republici Hrvatskoj su, u razdoblju od 2007. do 2020. godine, u Klinici za infektivne bolesti liječena 25 bolesnika, s tim da se kod dvojice pacijenata smatralo da se radi o relapsu bolesti. Stoga se može govoriti o 27 slučajeva bruceloze. Najviše novooboljelih bilo je 2008. godine, što se povezuje s importacijom bruceloze s tada epidemijskog područja Kosova, a i Hercegovine.

Prema dostupnim podacima registra BiH u istom razdoblju, najviše oboljelih bilo je 2008. godine, a najmanje novooboljelih bilo je 2012. godine. Za navedeno razdoblje Unsko - sanski kanton prednjači brojem zabilježenih novih slučajeva, na drugom mjestu je Zeničko - dobojski kanton. Posavski, Hercegovačko - neretvanski i Zapadnohercegovački nisu imali niti jedan zabilježen slučaj u navedenom razdoblju^[49 - 52].

Uzroci visokog broja zabilježenih slučajeva bruceloze u Bosni i Hercegovini (pogotovo u Unsko - sanskom kantonu) obzirom na zemlje regije ne mogu se sa sigurnošću zaključiti. Moguće da je u pozadini tradicionalan način pripreme mliječnih proizvoda, nedovoljno razvijena epidemiološko - veterinarska mreža, migracije stanovništva s posljedičnom importacijom stanovništva ili neki drugi razlozi. Svakako je potrebno daljnje praćenje te problematike obzirom na povezanost RH i BiH, kao i primjerena reakcija u vidu preventivnih mjera koje bi doprinijele smanjenju broja novih slučajeva.

Prema Zakonu o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti Republike Hrvatske, slučajevi bruceloze prijavljuju se nadležnim zavodima za javno zdravstvo i Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo^[59]. U usporedbi s europskim zemljama čiji su rezultati zabilježeni u ECDC izvještaju za razdoblje od 2007. godine do 2019. godine, Republika Hrvatska godišnje ima jednoznačenaste slučajeve bruceloze. Najčešće se govori o importiranim slučajevima s područja susjednih zemalja, pogotovo Bosne i Hercegovine.

Podaci o liječenima u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević” ne poklapaju se u potpunosti s registrom HZJZ-a. Godine 2014. zabilježena su 2 slučaja liječenja, ali je u registru HZJZ-a zabilježen 1 slučaj. Godine 2016. u registru HZJZ-a zabilježena su 2 slučaja, a može se pretpostaviti da su pacijenti liječeni u drugoj bolničkoj ustanovi. Ostali podaci o oboljelima od bruceloze se podudaraju^[49 - 55].

Izvještaj ECDC-a o brucelozu za razdoblje od 2007. do 2019. godine pokazuje najveći broj oboljelih zabilježen u Italiji, Grčkoj, Španjolskoj i Portugalu što samo potvrđuje tvrdnju veće incidencije bruceloze u mediteranskim zemljama. Iako pojedine zemlje nemaju prijavu u podacima ECDC-a o oboljelima od bruceloze, ne možemo isključiti mogućnost infekcije u praćenom razdoblju koje pritom nisu dokumentirane (Slika 5).

Zaključak

Prema izvještaju Europskog centra za prevenciju i kontrolu bolesti, mediteranske zemlje bilježe najveću incidenciju bruceloze. Iako Hrvatska svojim brojnim karakteristikama pripada Mediteranu, bruceloza je zoonoza koja se pojavljuje sporadično, najčešće tijekom epidemija s područja susjedne Bosne i Hercegovine.

Od 2007. do 2020. godine hospitalizirano je 25 pacijenata s brucelozom u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“. Identifikacijski testovi primjenjeni u mikrobiološkom radu te antimikrobna trojna terapija odgovaraju aktualnim istraživanjima i smjernicama. Iako zasada govorimo o pojedinačnim i rijetkim slučajevima bruceloze u Hrvatskoj, potrebno je daljnje provođenje i razvitak preventivnih mjera s ciljem održavanja povoljne epidemiološke situacije.

Daljnijim razvitkom dijagnostičkih i POC testova, skratit će se vrijeme od trenutka uzorkovanja do identifikacije bakterije, što je od posebne važnosti u zemljama gdje je bruceloza endemska.

LITERATURA:

- [1] Rubach MP, Halliday JE, Cleaveland S, Crump JA. Brucellosis in low-income and middle-income countries. *Curr Opin Infect Dis.* 2013;26(5):404-12.
- [2] Moreno E. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. *Front Microbiol.* 2014;5:213.
- [3] Corbel MJ. Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis.* 1997; 3(2):213-21.
- [4] Godfroid J, Cloeckaert A, Liautard JB, Kohler S, Fretin D, Walravens K, et al. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Vet Res.* 2005;36(3):313-26.
- [5] Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(2):91-9.
- [6] Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 2007;7(12):775-86.
- [7] Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals. World Health Organization. 2006.
- [8] Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. Brucellosis: a re-emerging zoonosis. *Vet Microbiol.* 2010;140(3-4):392-8.
- [9] C. Baldi P, H. Giambartolomei G. Immunopathology of Brucella Infection. *PRI.* 2013;8(1):18-26.
- [10] Hasanjani Roushan MR, Ebrahimipour S. Human brucellosis: An overview. *Caspian J Intern Med.* 2015;6(1):46-7.
- [11] Kokoglu OE, Hosoglu S, Geyik ME, Ayaz C, Akalin S, Buyukbese MA, et al. Clinical and laboratory features of brucellosis in two university hospitals in Southeast Turkey. *Trop Doct.* 2006;36(1):49-51.
- [12] Mantur BG, Biradar MS, Bidri RC, Mulmani MS, K V, Kariholu P, et al. Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults: 16 years' experience in an endemic area. *J Med Microbiol.* 2006;55(Pt 7):897-903.
- [13] Barroso García P, Rodríguez-Contreras Pelayo R, Gil Extremera B, Maldonado Martín A, Guijarro Huertas G, Martín Salguero A, et al. Study of 1,595 brucellosis cases in the Almeria province (1972-1998) based on epidemiological data from disease reporting. *Rev Clin Esp.* 2002;202(11):577-82.
- [14] Giannakopoulos I, Nikolakopoulou NM, Eliopoulou M, Ellina A, Kolonitsiou F, Papanastasiou DA. Presentation of childhood brucellosis in Western Greece. *Jpn J Infect Dis.* 2006;59(3):160-3.
- [15] Mantur BG, Akki AS, Mangalgi SS, Patil SV, Gobbur RH, Peerapur BV. Childhood brucellosis--a microbiological, epidemiological and clinical study. *J Trop Pediatr.* 2004; 50(3): 153-7.
- [16] Liu C, Suo B, Zhang Y. Analysis of Clinical Manifestations of Acute and Chronic Brucellosis in Patients Admitted to a Public General Hospital in Northern China. *Int J Gen Med.* 2021;14:8311-6.
- [17] Young EJ. Brucellosis: current epidemiology, diagnosis, and management. *Curr Clin Top Infect Dis.* 1995;15:115-28.
- [18] Spink WW. What is chronic brucellosis. *Ann Intern Med.* 1951 Aug;35(2):358-74.
- [19] Heymann DL. Control of communicable diseases manual. 20th ed. American Public Health Association, 2015.
- [20] Bosilkovski M, Krteva L, Caparoska S, Dimzova M. Osteoarticular involvement in brucellosis: study of 196 cases in the Republic of Macedonia. *Croat Med J.* 2004;45(6):727-33.
- [21] Robichaud S, Libman M, Behr M, Rubin E. Prevention of laboratory-acquired brucellosis. *Clin Infect Dis.* 2004; 38(12):e119-22.
- [22] Brucellosis Reference Guide: Exposures, Testing and Prevention. Centers for Disease Control and Prevention. 2017.
- [23] Rodriguez-Torres A, Feroso J, Landinez R. Brucellosis. *Medicine.* 1983;48:3126-3136
- [24] Gotuzzo E, Carrillo C, Guerra J, Llosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis--the value of bone marrow culture. *J Infect Dis.* 1986;153(1):122-5.
- [25] Ruiz J, Lorente I, Pérez J, Simarro E, Martínez-Campos L. Diagnosis of brucellosis by using blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1997;35(9):2417-8.
- [26] Etemadi H, Raissadat A, Pickett MJ, Zafari Y, Vahedifar P. Isolation of Brucella spp. from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 1984;20(3):586.
- [27] Murray P, Baron E. Manual of clinical microbiology. ASM Press. 2007.
- [28] Kang Y, Li X, Piao D, Tian G, Jiang H, Jia E, et al. Typing Discrepancy Between Phenotypic and Molecular Characterization Revealing an Emerging Biovar 9 Variant of Smooth Phage-Resistant B. abortus Strain 8416 in China. *Front Microbiol.* 2015;6:1375.
- [29] Ruiz-Mesa JD, Sánchez-Gonzalez J, Reguera JM, Martín L, Lopez-Palmero S, Colmenero JD. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(3):221-5.
- [30] Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis--a review of the literature. Part II: serological tests for brucellosis. *Clin Lab.* 2003;49(11-12):577-89.
- [31] Nielsen K, Smith P, Widdison J, Gall D, Kelly L, Kelly W, et al. Serological relationship between cattle exposed to Brucella abortus, Yersinia enterocolitica O:9 and Escherichia coli O157:H7. *Vet Microbiol.* 2004;100(1-2):25-30.

- [32] Bosilkovski M, Spasovska K, Sopova Z, Vidinic I. The role of Brucellacapt test for follow-up patients with brucellosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2010;33(5):435-42.
- [33] Roushan MRH, Amiri MJS, Laly A, Mostafazadeh A, Bijani A. Follow-up standard agglutination and 2-mercaptoethanol tests in 175 clinically cured cases of human brucellosis. *Int J Infect Dis*. 2010;14(3):250-3.
- [34] Blasco JM, Garin-Bastuji B, Marin CM, Gerbier G, Fanlo J, Jiménez de Bagués MP, et al. Efficacy of different Rose Bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Vet Rec*. 1994;134(16):415-20.
- [35] Pabuccuoglu O, Ecemis T, El S, Coskun A, Akcali S, Sanlidag T. Evaluation of serological tests for diagnosis of brucellosis. *Jpn J Infect Dis*. 2011;64(4):272-6.
- [36] Mantecón MA, Gutiérrez P, del Pilar Zarzosa M, Dueñas AI, Solera J, Fernández-Lago L, et al. Utility of an immunocapture-agglutination test and an enzyme-linked immunosorbent assay test against cytosolic proteins from *Brucella melitensis* B115 in the diagnosis and follow-up of human acute brucellosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2006;55(1):27-35.
- [37] Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Paulo PS, Nielsen K. Fluorescence polarization assay for diagnosis of human brucellosis. *J Med Microbiol*. 2003;52(Pt 10):883-7.
- [38] Alsubaie S, Almuneef M, Alshaalan M, Balkhy H, Albanyan E, Alola S, et al. Acute brucellosis in Saudi families: Relationship between brucella serology and clinical symptoms. *Int J Infect Dis*. 2005;9(4):218-24.
- [39] Irmak H, Buzgan T, Evirgen O, Akdeniz H, Demiroz AP, Abdoel TH, et al. Use of the *Brucella* IgM and IgG flow assays in the serodiagnosis of human brucellosis in an area endemic for brucellosis. *Am J Trop Med Hyg*. 2004;70(6):688-94.
- [40] Hasanjani Roushan MR, Amin MS, Abdoel TH, Smits HL. Application of a user-friendly *Brucella*-specific IgM and IgG antibody assay for the rapid confirmation of Rose Bengal-positive patients in a hospital in Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2005;99(10):744-750.
- [41] Abramson O, Rosenvasser Z, Block C, Dagan R. Detection and treatment of brucellosis by screening a population at risk. *Pediatr Infect Dis J*. 1991;10(6):434-8.
- [42] Zerva L, Bourantas K, Mitka S, Kansouzidou A, Legakis NJ. Serum is the preferred clinical specimen for diagnosis of human brucellosis by PCR. *J Clin Microbiol*. 2001;39(4):1661-4.
- [43] Gartzonika C, Kostoula A, Boboyianni C, Papadopoulou C, Levidiotou S, Vrioni G. Application of a Polymerase Chain Reaction Enzyme Immunoassay in Peripheral Whole Blood and Serum Specimens for Diagnosis of Acute Human Brucellosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23(3):194-9.
- [44] Mitka S, Anetakis C, Souliou E, Diza E, Kansouzidou A. Evaluation of different PCR assays for early detection of acute and relapsing brucellosis in humans in comparison with conventional methods. *J Clin Microbiol*. 2007;45(4):1211-8.
- [45] Colmenero JD, Queipo-Ortuño MI, Reguera JM, Baeza G, Salazar JA, Morata P. Real time polymerase chain reaction: a new powerful tool for the diagnosis of neurobrucellosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76(7):1025-7.
- [46] FAO-WHO Expert Committee on Brucellosis, 6th report. WHO technical report series, no 740. 1986;56-57
- [47] CDC. Emergency Preparedness and Response. Bioterrorism Agents/Diseases. Available from: <https://emergency.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp> [Accessed 20 September 2022].
- [48] Cvetnic Z, Velic R, Spisic S, Duvnjak S, Zdelar-Tuk, M, Majnarić D, Aleraj B. Rasprostranjenost bruceloze u Republici Hrvatskoj s osvrtom na stanje u Bosni i Hercegovini. *Croat J Infect* 2008;28(3):117-23.
- [49] Zavod za javno zdravstvo Federacije Bosne i Hercegovine. Epidemiološki bilten za 2009. godinu [Internet]. 2009. Available from: <https://www.zzjzfbih.ba/wp-content/uploads/2019/10/ZARAZNE-2009god.-Web.pdf>
- [50] Zavod za javno zdravstvo Federacije Bosne i Hercegovine. Epidemiološki bilten za 2010. godinu [Internet]. 2010. Available from: <https://www.zzjzfbih.ba/wp-content/uploads/2010/02/Epidemioloski-bilten-29-god-2010.pdf>
- [51] Zavod za javno zdravstvo Federacije Bosne i Hercegovine. Epidemiološki bilten za 2011. godinu [Internet]. 2011. Available from: https://www.zzjzfbih.ba/wp-content/uploads/2019/01/ZB_bilten_2011.pdf
- [52] Zavod za javno zdravstvo Federacije Bosne i Hercegovine. Epidemiološki bilten za 2012. godinu [Internet]. 2012. Available from: <https://www.zzjzfbih.ba/wp-content/uploads/2019/01/GODISNJI-izvj.-2012.pdf>
- [53] Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Godišnje izvješće o zoonozama u Hrvatskoj za 2015/16. godinu [Internet]. 2018 Mar. Available from: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/godisnje-izvjesce-o-zoonozama-u-hrvatskoj/>
- [54] Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Zarazne bolesti u Hrvatskoj 2016. godine [Internet]. 2016. Available from: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/zarazne-bolesti-u-hrvatskoj-2016-godine/>
- [55] Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Zarazne bolesti u Hrvatskoj 2017. godine [Internet]. 2017. Available from: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/zarazne-bolesti-u-hrvatskoj-2016-godine/>
- [56] European Centre for Disease Prevention and Control. Brucellosis – Annual Epidemiological Report for 2017 [Internet]. 2019. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/brucellosis-annual-epidemiological-report-2017>
- [57] The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. EFS2. 2021;19(12)
- [58] Ranjbar M, Keramat F, Mamani M, Kia AR, Khalilian Fo, Hashemi SH, et al. Comparison between doxycycline-rifampin-amikacin and doxycycline-rifampin regimens in the treatment of brucellosis. *Int J Infect Dis* 2007;11(2):152-6.
- [59] Zakon o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti (Narodne novine 79/07, 113/08, 43/09, 130/17, 114/18, 47/20, 134/20)