

ISSN 1849-6741

Ključni naslov: DDD i ZUPP ...

ZBORNİK RADOVA

37. ZNANSTVENO - STRUČNO - EDUKATIVNI SEMINAR
S MEĐUNARODNIM SUDJELOVANJEM
DDD i ZUPP 2026

**DJELATNOST DEZINFEKCIJE, DEZINSEKCIJE,
DERATIZACIJE I ZAŠTITE USKLADIŠTENIH
POLJOPRIVREDNIH PROIZVODA**

PROCEEDINGS

37th SCIENTIFIC and EDUCATIONAL SEMINAR
with INTERNATIONAL PARTICIPATION
DDD and ZUPP 2026

**DISINFECTION, DISINSECTION, DERATIZATION AND
PROTECTION OF STORED AGRICULTURAL PRODUCTS**

Biograd na Moru, 21. do 24. travnja 2026.

Biograd na Moru, 21 to 24 April 2026

Uz manje dopune i izmjene koje nisu utjecale na stručni dio teksta te s lektorskim, korekturnim i tehničkim uređenjem sukladno zahtjevima izdavača, u ovom Zborniku radova tiskani su izvorni tekstovi autora.

Mihaela Kavran^{*1}, Tamaš Petrović², Aleksandra Ignjatović-Ćupina¹, Nađa Kukić¹, Branislava Lalić¹, Gospava Lazić², Vladimir Gajdov², Jelena Konstantinov¹, Dušan Petrić¹, Sara Šiljegović¹, Ana Firanj Sremac¹

¹ Centar izvrsnosti za vektore, zdravlje ljudi i životinja te klimatske promjene, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, 21000 Novi Sad, Srbija

² Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", 21000 Novi Sad, Srbija

Primjena FTA kartica u programu rane detekcije virusa Zapadnog Nila u AP Vojvodina, Srbija

Sažetak

Virus Zapadnog Nila (VZN) smatra se veoma opasnim patogenom čiji se nadzor zasniva na više činbenika. Nadzor ovog virusa uključuje praćenje u komarcima, pticama, ljudima, konjima, ali i drugim životinjama koje mogu oboljeti od ovog virusa. U Srbiji ovaj virus cirkulira u humanoj populaciji još od 2012. godine i od tog perioda stavlja se akcenat na praćenje epidemija koje se u Srbiji bilježe svake godine. Imajući u vidu da visoko efikasan program nadzora zahtijeva veoma velika financijska ulaganja, koja nisu uvijek dostupna, od krucijalnog je značaja optimiziranje postojećeg validiranog programa rane detekcije VZN. Cilj ovog istraživanja bio je testiranje FTA kartica za sakupljanje salive vektorske vrste *Culex pipiens* i ocjena mogućnost primjene u budućim praćenjima virusa. Tijekom 2024. analizirano je 10 lokaliteta s dugogodišnjom pozitivnošću na VZN. Na svakom su postavljene NS2 klopke za ženke zasnovane na privlačenju koristeći CO₂. Na mrežicu klopke stavljene su FTA kartice koje su premazane medom i hranidbenom bojom i okrenute tako da samo ženke koje su ušle u mrežicu klopke mogu da se hrane ovim medom i ostavljajući svoju salivu ostavljaju i virus (ukoliko su inficirane). Uzorkovanja su provedena jednom tjedno od 20. travnja do 26. rujna, a nakon uzorkovanja je urađena molekularna analiza svih uzoraka (ženki i FTA kartica). Detektiran je VZN i u odraslim ženjkama i na FTA karticama. Prve pozitivne ženke zabilježene su sredinom svibnja, a virus na FTA karticama pojavljuje se otprilike tjedan kasnije. Najveći broj pozitivnih uzoraka zabilježen je u kolovozu i rujnu.

Glavne riječi: *Culex pipiens*, FTA kartice, rana detekcija, virus Zapadnog Nila, vektori.

Uvod

Virus Zapadnog Nila (VZN) je najrasprostranjeniji flavivirus (Flaviviridae, Flavivirus) iz skupine serokompleksa japanskog encefalitisa u svijetu. Virus je prvi put izoliran 1937. godine u okrugu Zapadnog Nila u Ugandi u krvi žene s neurološkim poremećajima (Smithbum i sur., 1940.). Veliki broj vrsta divljih i domaćih ptica ima ulogu rezervoara ovog virusa iz kojih se dalje prenosi vektorskim vrstama komaraca. Komarci roda *Culex* smatraju se glavnim, tj. primarnim vektorima VZN širom svijeta (Becker i sur., 2010.). Osim ptica, mnogo životnjskih vrsta kao npr. konji, mačke, zečevi, može se prirodno ili eksperimentalno zaraziti ovim virusom (Özer, 2005.; Schwarz, 2025.). Infekcija ljudi je također nerijetka pojava, međutim čovjek ne može učestvovati u diseminaciji virusa jer je krajnji domaćin (*engl. dead-end host*), s koje se virus dalje ne može prenijeti usljed niskog titra virusa i kratkog trajanja viremije. Kod čovjeka

* E-adresa: mihaela.kavran@polj.edu.rs

infekcija je u većini slučajeva asimptomatska. Kliničke manifestacije mogu se kretati od nekomplikirane febrilne bolesti do fatalnog meningitisa ili encefalitisa (Campbell i sur., 2002.). Teški neurološki slučajevi zabilježeni su u oko 1% zaraženih pacijenata (Mostashari i sur., 2001.).

Srbija je već dulji niz godina endemsko područje za VZN. Prvi podaci koji svjedoče o prisustvu VZN u Srbiji potječu iz 1972. godine (Bordoški i sur., 1972.), nakon čega je ovaj virus bio zanemaren dulji niz godina u Srbiji. Nakon toga, prva potvrda prisutnosti cirkulacije VZN u Srbiji dobivena je nalazima u konjima pozitivnim na neutralizirajuća antitijela protiv VZN, uzorkovanih tijekom 2009.-2010. godine u sjevernom dijelu zemlje (Lupulović i sur., 2011.). Virus je u humanoj populaciji prvi put detektiran u 2012. godini (Petrić i sur., 2012.) nakon čega je cirkulacija virusa u godinama koje su sljedile redovito potvrđena u konjima, pticama i komarcima (Petrić i sur. 2017.; Petrović i sur., 2024a, 2024b; Petrović et al., 2022.). Prisustvo virusa detektirano je i na divljim životinjama u Srbiji kao što su divlje svinje, nutrije, zlatni šakali, jeleni i sme (Veljović i sur., 2025.).

Od 2014. godine postoje dva paralelna programa nadzora virusa Zapadnog Nila na nacionalnoj razini, od strane Ministarstva zdravstva (MZ; 2012.-2019.) i Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva, Uprave za veterinarstvo (VD; 2014., 2015., 2017., 2018.). Osim njih, neke lokalne samouprave (npr. gradovi Novi Sad i Loznica) imaju neovisne programe na svojim područjima (Petrić i Petrić, 2024.). Aktivni, gore pomenuti nadzor VZN u Vojvodini podrazumijeva praćenje virusa u komarcima, pticama, sentinel životinjama i u ljudima. Efikasan program nadzora VZN predstavlja kompleksnu proceduru praćenja, uzorkovanja i analiza te zahtijeva visoka financijska ulaganja. Neophodna je optimizacija programa nadzora VZN u cilju smanjenja troškova kojima je Srbija izložena svake godine.

Nadzor VZN u vektorima (komarcima) u Vojvodini se sprovodi uzorkovanjem odraslih ženki vrste *Cx. pipiens*, koristeći NS2 klopke na bazi CO₂. Ovo zahtijeva pažljivo rukovanje uzorcima jer je u pitanju virusni materijal koji mora ostati sačuvan u tijelu komarca do detekcije, a također zahtijeva i iskustvo eksperata u procesu identifikacije komaraca, stoga što se u programu nadzora koristi samo primarni vektor *Cx. pipiens*. Alternativni način uzorkovanja virusa je primjena FTA (Flinders Technology Associates) kartica. Ove kartice sakupljaju salivu ženki, a ukoliko se radi o inficiranoj ženki, virus će zajedno sa salivom dospjeti na FTA karticu. Proizvođač FTA kartica (Quiagen, 2024.) navodi da kemikalije koje se koriste za FTA kartice razgrađuju stanice, oslobađaju RNK, denaturiraju proteine i štite nukleinske kiseline od degradacije (nukleaze, UV zračenje, oksidacija). Korišćenjem kartica uzorci postaju neinfektivni, smanjujući rizike od biološke opasnosti i uklanjajući uvozne dozvole za transport. Za razliku od transportovanja uzoraka ženki komaraca za koje je neophodan suhi led, logistika korišćenja FTA kartica je pojednostavljena, jer su tanke, lagane i mogu se slati poštom, smanjujući troškove i složenost transporta. Lakše i efikasnije se skladište, jer RNK ostaje stabilna dulje vrijeme na sobnoj temperaturi, a rok valjanosti se produljuje kada je kartica zamrznuta. Kartice predstavljaju dobar potencijal za unapređenje nadzora VZN, što je potvrđeno i u ranijim istraživanjima (Fynmore i sur., 2021., 2022.; Krambrich i sur., 2022.; Davis i sur., 2022.; Manzi i sur., 2023.).

Cilj ovog istraživanja je bio ispitivanje mogućnosti primjene FTA kartica u Srbiji usporedbom standardizirane metode detekcije VZN u komarcima s novom metodom detekcije virusa u FTA karticama.

Materijal i metod

Ovo istraživanje rađeno je na teritoriju Autonome Pokrajine Vojvodina, pri čemu su odabrani lokaliteti na kojima je sproveden nadzor VZN od 2014. godine. Inicijalno je odabrano

10 lokaliteta gdje je VZN bio detektiran tijekom nekoliko uzastopnih godina. Odabrani lokaliteti na kojima je sprovedeno uzorkovanje bili su: Petrovaradin, Bukovac, Sefkerin, Starčevo, Glogonj, Jabuka Melenci, Lukino Selo i dva lokaliteta u Novom Bečeju (na Tisi i u naselju). Sredinom ljeta uključena su još tri lokaliteta jer je tijekom redovitog nadzora VZN u Vojvodini, virus detektiran u komacima na tim lokalitetima. Tri dodata lokaliteta su: Kikinda, Bašaid i Kanjiža. Uzorkovanje je provedeno tijekom 2024. godine od 20. travnja do 26. rujna na tjednoj bazi.

Uzorkovanje ženki *Cx. pipiens*: Komarci su sakupljeni NS2 klopka (Slika 1). Klopke su bile operativne tijekom 24 h. Sakupljeni komarci stavljeni su na suhi led i držani u uvjetima "hladnog lanca" do detekcije virusne RNA. Identificirani su do razine vrste (Becker i sur., 2010), prebrojani i združeni prema datumu, lokalitetu i vrsti, s maksimalnim brojem od 50 primjeraka po skupini koji su poslani na daljnju analizu. Komarci su pakirani pojedinačno (1 ženka u 1 tubicu). Komarci su pohranjeni u zamrzivač na -80°C do daljnje analize. Molekularna analiza komaraca opisana je u Petrić i sur. (2017.). Molekularna analiza ženki provedena je na Naučnom institutu za veterinarstvo "Novi Sad" (NIV NS) u Novom Sadu (Srbija).

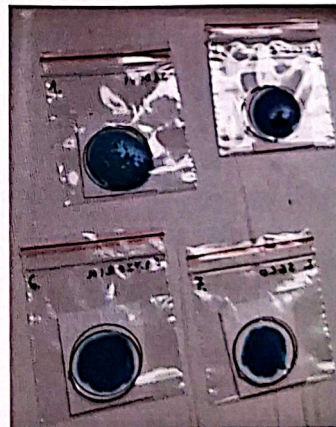
Uzorkovanje salive FTA karticama: Za ovaj dio istraživanja korištene su FTA kartice pod nazivom QIAcard FTA Classic (Qiagen, Njemačka). Priprema FTA kartica provodi se 24 sata prije upotrebe kartica. Krug označen kao dio kartice koji se analizira premazan je tekućim medom pomiješanim s plavom bojom za hranu (Slika 2). Bojanje meda korišteno je za označavanje ženki koje su se hranile na FTA karticama. Tijekom postavljanja NS2 klopki za odrasle ženke, kartice su pričvršćene iglicama na mrežu klopke (Slika 1) tako da je premazani dio kartice bio okrenut prema unutrašnjosti mreže gdje će se nalaziti ženke. Na ovaj način med je bio lako dostupan za konzumaciju. Kartice s medom su bile na raspolaganju ženka sve dok su klopke bile u funkciji. Tijekom sakupljanja klopki, s mrežica su skinute kartice i transportirane na ambijentalnoj temperaturi zraka u Laboratoriju za medicinsku i veterinarsku entomologiju (LME) na Poljoprivrednom fakultetu Univerzitet u Novom Sadu (Srbija). Kartice su pakirane u ependorf tubice (jedna kartica u jednu tubicu), a poslije smještene u zamrzivač na -80°C do daljnje analize. Kemijska priprema uzorka (kartice) je pripravljena u NIV NS prema preporuci proizvođača, gdje je dalje provedena molekularna analiza uzoraka. Molekularna analiza FTA kartica provedena je prema istoj proceduri kao i analiza ženki komaraca.



Slika 1. Klopka NS2 namijenjena za uzorkovanje ženki komaraca

Figure 1. Trap NS2 aimed for adult female mosquito sampling

(Foto/Photo: Kavran M.)



Slika 2. FTA kartice premazane medom i plavom hranidbenom bojom

Figure 2. FTA cards coated with honey and blue food dye

(Foto/Photo: Kavran M.)

Rezultati

Tijekom ovog istraživanja sakupljeno je i identificirano ukupno 22 949 ženki vrste *Cx. pipiens* complex. Na prisustvo VZN analizirano je 5 874 ženki. Ukupno su analizirana 174 pula ženki. Sakupljeno je i analizirano 208 FTA kartica (Tablica 1).

Najmanji broj ženki (76) sakupljen je u Bukovcu, dok je najveća brojnost ove vrste bila u banji u Melencima iznoseći 4 487 ženki.

Od ukupnog broja sakupljenih ženki vrste *Cx. pipiens*, 555 je imalo plavi abdomen ukazujući na ishranu medom na FTA kartici, iznoseći 2,42% nahranjenih ženki na svim lokalitetima. Broj nahranjenih ženki po lokalitetu iznosio je od jedan do 119, a postotak nahranjenih u odnosu na ukupan broj bio je od 0,05 do 10,37 ženki (Tablica 1).

Virus je detektiran i u odraslim ženkama i na FTA karticama (tj. u salivi ženke komaraca). Prve pozitivne ženke zabilježene su sredinom svibnja, a tjedan dana kasnije virus je detektiran i na FTA karticama. Najveći broj pozitivnih uzoraka zabilježen je u kolovozu i rujnu. Tijekom cijelog razdoblja uzorkovanja, 7 od 13 odabranih lokaliteta u Srbiji bilo je pozitivno na WNV, s 10 pozitivnih ženki unutar 7 pozitivnih skupina. Od 174 analizirana pula komaraca, bilo je 5,75% pozitivnih pulova. Četiri od 208 analiziranih kartica bile su pozitivne (1,92%).

Tablica 1. Ukupan broj ženki vrste *Cx. pipiens*, broj analiziranih ženki na prisustvo VZN, broj prikupljenih i analiziranih FTA kartica, ukupan broj i postotak ženki hranjenih FTA karticama, prikupljeno na 13 lokaliteta tijekom 2024. godine

Table 1. Total number of *Cx. pipiens* females, number of females analyzed on WNV presence, number of FTA cards used and analysed, total number and percentage of females fed with FTA cards, collected at 13 locations during 2024.

Lokaliteti	∑ Cx.pip/ klopci	Testiranih pulova	∑ FTA kartica	∑ testiranih ženki	∑ plavih ženki*	% plavih ženki
Petrovaradin	1760	19	21	611	12	0,68
Bukovac	76	12	19	38	1	1,32
Starčevo	3755	17	19	637	67	1,78
Jabuka	3469	18	19	770	112	3,23
Glogonj	1819	16	19	562	1	0,05
Sefkerin	608	13	19	249	15	2,47
Lukino selo	1496	14	19	470	9	0,60
Melenci banja	4487	19	19	820	119	2,65
NB_Karčika	1616	17	18	612	97	6,00
NB_Tisa	1915	16	19	605	65	3,39
Kikinda	376	4	6	164	39	10,37
Bašaid	1321	5	6	204	17	1,29
Kanjiza	251	4	5	132	1	0,40
Ukupno	22949	174	208	5874	555	2,42

* ženke koje su imale tekućinu plave boje u abdomenu jer su se hranile obojenim medom s FTA kartica; NB = Novi Bečej / * females with the blue fluid in their abdomen because they were feeding on colored honey from FTA cards; NB = Novi Bečej

Tablica 2. Pozitivni uzorci ženki vrste *Cx. pipiens* i FTA kartica na kojima su se hranile ženke
 Table 2. Positive samples of *Cx. pipiens* females and the FTA cards on which the females were feeding

Lokaliteti	Tip uzorka	Datum postavljanja	Datum
<u>Melenci</u>	adult	20-Jun	21-Jun
	adult	07-Avgust	08-Avgust
Jabuka	adult	14- Avgust	15-Avgust
	adult	14- Avgust	15-Avgust
Petrovaradin	adult	14- Avgust	15-Avgust
<u>Novi Bečej Karčika</u>	FTA	22-Maj	23-Maj
	adult	16-Maj	17-Maj
<u>Novi Bečej Tisa</u>	adult	23-Avgust	24-Avgust
	adult	23-Avgust	24-Avgust
	FTA	23-Avgust	24-Avgust
	adult	11-Septembar	12-Septembar
<u>Glogoni</u>	FTA	25-Septembar	26-Septembar
<u>Starčevo</u>	adult	25-Septembar	26-Septembar
	FTA	25-Septembar	26-Septembar

Rasprava

Ova studija predstavlja prvi uspješan primjer korištenja FTA kartica za detekciju VZN u Srbiji što potvrđuje prethodno istraživanje u Njemačkoj kada su četiri FTA kartice bile pozitivne na PCR testu za flavivirusse koje prenose komarci, od kojih su dvije potvrđene kao VZN, a preostale dvije kao Usutu virus od ukupno 14 testiranih kartica (Fynmore i sur., 2021.). Naše istraživanje potvrdilo je prisustvo VZN u četiri od ukupno 208 kartica. Broj pozitivnih uzoraka ženki je bio veći u odnosu na broj pozitivnih kartica, što je u saglasnosti s rezultatima autora Fynmore i sur. (2021.) čija je studija rezultirala s 3% pozitivnih komaraca i 14,3% FTA kartica RNA virusa Zapadnog Nila. Nasuprot tome, 2019. godine, od 306 pulova sastavljenih od 2 241 komaraca, samo 2,3% ili sedam pulova bilo je pozitivno (Kampen i sur., 2020.). U našem istraživanju pozitivnih pulova ženki je bilo 5,75%.

Utvrđen je dobar potencijal za brzi sustav FTA kartica s atraktantom. Ovaj način nadzora virusa bez analize uzorkovanih komaraca, koji bi se koristio slično kao i kod sentinel životinja pokazao je dobar potencijal u našem istraživanju. U terenskom ispitivanju pasivnih klopki uz FTA kartice s atraktantom od meda u Australiji, VZN izoliran je čak i prije serokonverzije u sentinel pilićima, što sugerira da bi metoda mogla biti osjetljivija od onih koje koriste sentinel životinje (Van Den Hurk i sur., 2014.).

Za utvrđivanje osjetljivosti ove metode neophodno je odrediti kontrolni način uzorkovanja. Autori Flies i sur. (2015.) i Wipf i sur. (2019.) predložili su testiranje uzorkovanih komaraca na virus kao oblik kontrolne grupe ili uključivanje testiranja vektora onda kada je FTA kartica pozitivna. Međutim, Hall-Mendelin i sur. (2010.) periodično su pronalazili pozitivne komarce u klopka u kojima nisu bile pozitivne FTA kartice te njihova studija pokazuje da se ne može pretpostaviti da će negativna FTA kartica značiti negativan skup komaraca, niti da će negativan skup komaraca odgovarati negativnoj FTA kartici. Ova je razlika važna kada se razmatraju ciljevi programa ranog upozoravanja i nadzora, koji zahtijeva otkrivanje inficiranih komaraca koji mogu doprinijeti ciklusu prijenosa. U istraživanju provedenom na teritoriju Vojvodine zabilježeni su slični rezultati. Kartice su bile pozitivne u klopka u kojima ženke nisu bile pozitivne i suprotno. Tijekom cijele sezone uzorkovanja, samo su dva puta na dva lokaliteta i FTA kartica i ženke bile pozitivne u istom uzorku (po jedan put na svakom lokalitetu).

Klopke koje su korištene u našem istraživanju sakupljaju se nakon 24 sata od postavljanja, pri čemu komarci ostaju živi sve do anesteziranja na suhom ledu. Da bi se virus sačuvao u komarcima neophodno je da komarci prije smiještanja na suhi led budu živi jer dugotrajno izlaganje virusa sobnoj temperaturi u komarcima koji nisu živi smanjuje vjerojatnoću detekcije VZN. S obzirom da se RNA inaktivira i čuva nekoliko dana na FTA karticama, to pruža mogućnost da se klopke ostave u funkciji dulje vrijeme na terenu (Hall-Mendelin i sur., 2010). Hipoteza autora Flies i sur. (2015.) je da bi dulje razdoblje izlaganja kartice moglo poslužiti za povećanje osjetljivosti metode FTA kartica osiguravajući vrijeme za završetak vanjskog razdoblja inkubacije, omogućujući vrijeme za povećanje virusnog opterećenja u vektoru i povećavajući vrijeme koje komarci imaju pristup karticama za ponovljeno ispitivanje i količinu potencijalno zaraženog izlučenog materijala na karticama.

Laboratorijskim eksperimentom autora Hall-Mendelina i sur. (2010.) utvrđeno je da se virusi mogu otkriti na FTA karticama čak i ako kod komaraca nije zabilježena plava boja u tijelu. Ovakav podatak ide u prilog tomu da unatoč relativno malom broju obojanih komaraca koji su se hranili na FTA karticama, ne znači nužno da je mala vjerojatnoća za detekciju VZN.

Sustav nadzora temeljen na komarcima u Srbiji već godinama unazad obezbjeđuje detektiranje cirkulacije virusa prije nego što rezultira slučajevima kod ljudi (Petrić i sur., 2017.). Važno je da takav sustav bude osjetljiv, ali da omogućuje brzo vrijeme obrade i naknadnu provedbu kontrolnih mjera kako bi se smanjili budući rizici za zdravlje ljudi i životinja, npr. informiranje zavoda za transfuziju krvi o provjeri donacija ili provođenju mjerenja kontrole vektora. Uvođenje FTA kartica povećalo bi vjerojatnoću detektiranja virusa na odabranim lokalitetima, predstavljajući potencijal u ulozi efikasne alternative analizi odraslih ženki komaraca.

Zaključak

Virus Zapadnog Nila uspješno je detektiran u ženkama komaraca vrste *Cx. pipiens* u periodu od 16. svibnja do 26. rujna. Kartice FTA na kojima je bila prisutna saliva ženki u klopama također su obezbijedile pozitivan rezultat, tj. ukazale na prisustvo VZN u salivi ženki počevši od 23. svibnja do 26. rujna i potvrdile mogućnost korišćenja FTA kartica u nadzoru VZN u Srbiji. Sustav FTA kartica je jednostavna metoda nadzora koja omogućuje brzi skrining te se preporučuje za implementiranje u sustav ranog upozorenja u područjima s visokim rizikom od infekcija.

Zahvala

Ovo istraživanje podržali su Europska Komisija (projekt 101046133 - ISIDORe - HORIZONINFRA-2021-EMERGENCY-02: JRA ID: ISID_JRA_zj0y), Ministarstvo nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije (ugovori br. 451-03-136/2025-03/20031 i 451-03-137/2025-03/200117) i Pokrajinski sekretarijat za urbanizam i zaštitu okoliša, Vojvodina, Srbija.

Literatura

- Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, et al. Mosquitoes and their control. Springer Heidelberg Dordrecht London New York 2010; pp579.
- Bordjoski, M., Gligic, A., Boskovic, R. Arbovirusne infekcije u SR Srbiji. *Vojnosanit Pregl* 1972; 29(4):173-175.
- Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(9):519-529.
- Davis, E.H., Velez, J.O., Russell, B.J., Basile, A.J., Brault, A.C. and Hughes, H.R., 2022. Evaluation of Whatman FTA cards for the preservation of yellow fever virus RNA for use in molecular diagnostics. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 16(6), p.e0010487.

- Flies EJ, Toi C, Weinstein P, Doggett SL, Williams CR. Converting mosquito surveillance to arbovirus surveillance with honey-baited nucleic acid preservation cards. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015;15:397-403.
- Fynmore, N., Lühken, R., Kliemke, K., Lange, U., Schmidt-Chanasit, J., Lurz, P.W. and Becker, N., 2022. Honey-baited FTA cards in box gravid traps for the assessment of Usutu virus circulation in mosquito populations in Germany. *Acta Tropica*, 235, p.106649.
- Fynmore, N., Lühken, R., Maisch, H. *et al.* Rapid assessment of West Nile virus circulation in a German zoo based on honey-baited FTA cards in combination with box gravid traps. *Parasites Vectors* 14, 449 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04951-8>
- Hall-Mendelin S, Ritchie SA, Johansen CA, Zborowski P, Cortis G, Dan-drige S, et al. Exploiting mosquito sugar feeding to detect mosquito-borne pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:11255-9.
- Kampen H, Holicki CM, Ziegler U, Groschup MH, Tews BA, Werner D. West Nile virus mosquito vectors (Diptera: Culicidae) in Germany. *Viruses.* 2020;12:493.
- Krambrich, J., Bringeland, E., Hesson, J.C., Hoffman, T., Lundkvist, Å., Lindahl, J.F. and Ling, J., 2022. Usage of FTA® Classic cards for safe storage, shipment, and detection of arboviruses. *Microorganisms*, 10(7), p.1445.
- Lupulović, D.; Martín-Acebes, M.; Lazić, S.; Alonso-Padilla, J.; Blázquez, A-B.; Escribano-Romero, E.; Petrović, T.; Saiz, J-C. First Serological Evidence of West Nile Virus Activity in Horses in Serbia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 2011, 11(9), 1303-05. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0249>
- Manzi, S., Nelli, L., Fortuna, C., Severini, F., Toma, L., Di Luca, M., Michelutti, A., Bertola, M., Gradoni, F., Toniolo, F. and Sgubin, S., 2023. A modified BG-Sentinel trap equipped with FTA card as a novel tool for mosquito-borne disease surveillance: a field test for flavivirus detection. *Scientific Reports*, 13(1), p.12840.
- Mostashari F, Bunning ML, Kitsutani PT, Singer DA, et al. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey. *Lancet* 2001; 358(9278):261-264
- Özer N. Emerging vector – borne diseases in a changing environment. *Turk J Biol* 2005; 29:125-135.
- Petric, D., Hrnjakovic Cvjetkovic, I., Radovanov, J., Cvjetkovic, D., Jerant Patric, V., Milosevic, V., Kovacevic, G., Zgomba, M., Ignjatovic Cupina, A., Konjevic, A. and Marinkovic, D., 2012. West Nile virus surveillance in humans and mosquitoes and detection of cell fusing agent virus in Vojvodina province (Serbia). *HealthMED*, 6(2), pp.462-68.
- Petrić, D., Petrović, T., Cvjetković, I.H., Zgomba, M., Milošević, V., Lazić, G., Čupina, A.I., Lupulović, D., Lazić, S., Dondur, D. and Vaselek, S., 2017. West Nile virus 'circulation' in Vojvodina, Serbia: Mosquito, bird, horse and human surveillance. *Molecular and cellular probes*, 31, pp.28-36.
- Petrić, M., Petrić, D. 2022. National Adaptational Plan for Serbia: Vectors and Vector-borne Diseases. (<https://adaptacije.klimatskepromene.rs/wp-content/uploads/2022/03/Health-Vectors-and-Vector-borne-Diseases-1.pdf>)
- Petrović, T., Petrić, D., Vidanović, D., Živulj, A., Kisin, B., Filipović, S., Janku, Đ., Lazić, G., Lupulović, D., Kavran, M. and Samojlović, M., 2022. State WNV surveillance program in the Vojvodina Province—the concept and results. *International Symposium “Avian influenza and West Nile virus – global treats for emerging and re-emerging diseases” PROCEEDINGS* 10-11 March 2022, Novi Sad. ISBN: 978-86-82871-45-3.
- Petrović, T., Vidanović, D., Lazić, G., Kavran, M., Gajdov, V., Ignjatović-Čupina, A., Šekler, M., Labus, T. and Đurić, B., 2024a. WNV surveillance program in Serbia in 2023: the results in Vojvodina province. *Xxvi Symposium of Epizootiologist and Epidemiologist.* 10-12 April 2024 Banja Koviljača. ISBN-978-86-83115-52-5
- Petrović, T., Vidanović, D., Petrić, D., Lazić, G., Samojlović, M., Lupulović, D., Kavran, M., Gajdov, V., Konstantinov, J., Savić, S. and Potkonjak, A., 2024b. Some of the zoonotic viruses that have circulated in Serbia in the last 20 years. *The second international symposium, Power of Viruses*, September 25-28, 2024, Zadar, Croatia. ISBN 978-953-7778-20-0.
- Quiagen (2024). QIAcard FTA Formats. <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/sample-collection-stabilization/qiacard-fta/qiacard-fta-formats>
- Schwarz, E.R. (2025). West Nile Virus in Birds, Mammals, and Other Vertebrate Species. In: Wang, L. (eds) *Veterinary Virology of Domestic and Pet Animals*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-54690-7_23-1

- Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 1940; 20:47-192 2.
- Van Den Hurk AF, Hall-Mendelin S, Townsend M, Kurucz N, Edwards J, Ehlers G, et al. Applications of a sugar-based surveillance system to track arboviruses in wild mosquito populations. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014;14:66-73.
- Veljović, L., Paunović, M., Glišić, D., Šolaja, S., Zurovac Sapundžić, Z., Maletić, J., Milovanović, B. and Miličević, V., 2025. Wild Mammals as Sentinels for West Nile Virus Circulation: Evidence from Serbia. *Pathogens*, 14(11), p.1167.
- Wipf NC, Guidi V, Tonolla M, Ruinelli M, Müller P, Engler O. Evaluation of honey-baited FTA cards in combination with different mosquito traps in an area of low arbovirus prevalence. *Parasit Vectors.* 2019;12:554.

Mihaela Kavran^{1*}, Tamaš Petrović², Aleksandra Ignjatović-Čupina¹, Nada Kukić¹, Branislava Lalić¹, Gospava Lazić², Vladimir Gajdov², Jelena Konstantinov¹, Dušan Petrić¹, Sara Šiljegović¹, Ana Firanj Sremac¹

¹ One Health Vectors and Climate Center of Excellence, University of Novi Sad, Serbia, Faculty of Agriculture, 21000 Novi Sad, Serbia (mihaela.kavran@polj.edu.rs)

² Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", 21000 Novi Sad, Serbia

Application of FTA cards in the early detection program of West Nile Virus in AP Vojvodina, Serbia

Abstract

West Nile virus (WNV) is considered a highly complex pathogen whose surveillance relies on multiple components. Surveillance of this virus includes monitoring of virus in mosquitoes, birds, humans, horses, as well as other animal species that may become infected. In Serbia, WNV has been circulating in the human population since 2012, and since then many activities and efforts have been made to monitor this pathogen which has been recorded annually. Regarding that highly efficient surveillance program requires substantial financial investment, which is mainly not affordable, optimization of the existing confirmed and approved early detection program for WNV is of crucial importance.

The aim of this study was to evaluate the use of FTA cards for the collection of saliva from the vector species *Culex pipiens* and to assess its potential application in future WNV surveillance programs. During 2024, ten locations with a long history of WNV positivity were selected. At each site, NS2 traps based on CO₂ were deployed to capture female mosquitoes. FTA cards coated with honey and food dye were placed on the trap net and positioned in a way that only the females that have entered the trap could feed on the honey and deposit the saliva (potentially containing the virus) onto the cards. Sampling was conducted once per week from April 20 to September 26, followed by molecular analysis of all collected samples (female mosquitoes and FTA cards).

West Nile virus was detected in adult females and on FTA cards. The first WNV-positive females were recorded in mid-May, while viral detection on FTA cards occurred approximately one week later. The highest number of positive samples was recorded in August and September.

Key words: *Culex pipiens*, FTA cards, early detection, West Nile virus, vectors.

* E-address: mihaela.kavran@polj.edu.rs