

# УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

## ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

### КРАГУЈЕВАЦ

#### Одлука Наставно-научног већа

Одлуком Наставно-научног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, број 01-4816/3-5 од 11.07.2012.године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидаткиње др Даре Јовановић, под називом: „ Испитивање фактора ризика за настанак инфекције бактеријом *Campylobacter jejuni* код деце узраста до 2 године”.

Чланови комисије су:

1. Проф. др Биљана Миљковић-Селимовић, ванредни професор Медицинског факултета, Универзитета у Нишу, ужа научна област Микробиологија и имунологија, председник
2. Проф. др Биљана Вулетић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област - Педијатрија, члан
3. Доц. др Зоран Тамбур, доцент на Стоматолошком факултету у Панчеву, ужа научна област- Микробиологија и имунологија, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу следећи

#### **ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Кандидаткиња, др **Дара Јовановић**, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

## 2.1 Кратка биографија кандидата

Дара Јовановић рођена је 01.08.1972. године у Прокупљу. Завршила је основну школу и Гимназију у Блацу. На Медицинском факултету Универзитета у Београду дипломирала је 1999.године. Након завршеног Медицинског факултета 2001. године уписује специјализацију - Микробиологија са паразитологијом на Војномедицинској Академији у Београду, коју завршава 2004. године. Од 2005.године ради као лекар специјалиста у Градском заводу за јавно здравље у Београду. Академске студије – изборно подручје – Народно здравље на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, уписала је 2007. године, а усмени докторски испит положила је у октобру 2008. године.

## 2.2 Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

*Наслов:*

" Испитивање фактора ризика за настанак инфекције бактеријом *Campylobacter jejuni* код деце узраста до 2 године"

*Предмет:*

Ова студија ће се бавити истраживањем учесталости, клиничких манифестација, као и анализом ризичних група и предикторних фактора за инфекцију *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) код деце узраста до 2 године.

*Хипотезе:*

1. Учесталост налаза антитела према *C. jejuni* у Шумадијском округу, код деце узраста до 2 године се не разликује од учесталости у земљама у развоју
2. Деца са налазом антитела према *C. jejuni* чешће испољавју симптоме ентероколитиса у односу на децу код којих ова антитела нису доказана.
3. Концентрације серумских *IgM*, *IgG* и *IgA* према *C. jejuni* су статистички значајно више код деце са дијарејом у односу на децу без дијареје.
4. Ризичне групе деце за појаву ентероколитиса изазваног *C. jejuni* су: 2. година живота, порођај царским резом, деца која нису дојена.
5. Предикторни фактори за настанак *C. jejuni* ентеритиса су узраст и начин порођаја.
6. Постоји статистички значајно већа учесталост атопије код *C. jejuni* серопозитивне деце у односу на серонегативну децу.

### 2.3 Подобност кандидата

Кандидаткиња је објавила један рад у целини у часопису са рецензијом, у коме је први аутор, чиме је испунила услов за пријаву докторске тезе:

*Jovanović D, Ilić N, Đokić D, Tošović S, Relić T, Baskić D. IgM serokonverzija Campylobacter jejuni u prve dve godine života kod dece sa gastrointenstinalnim simptomima. Med čas 2011; 45 (1):24-8.*

M52 – 1,5 бодова

### 2.4. Преглед стања у подручју истраживања

*Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) је најчешћа бактерија изолована узорковањем намирница и сматра се најчешћим узрочником акутних дијареја код људи у свим узрастима. У земљама у развоју здрава деца и одрасли су у свом окружењу константно изложени антигенима *C. jejuni*, што за последицу има појаву серумских антитела веома рано у животу, а утврђени су и блажи клинички облици болести у односу на развијене земље. Утврђено је, да је ниво антитела на *C. jejuni* много виши код деце која живе у земљама у развоју у односу на децу из развијених земаља.

На основу истраживања Светске Здравствене Организације (СЗО) утврђено је да је стопа изолације *C. jejuni* из столице код деце узраста до 2. године са дијарејом 4 до 38.8%. У земљама у развоју, у групи деце без симптома, *C. jejuni* је изолован у 14.9%, док је у развијеним земљама то био случај у 0.5%. Сматра се да групе асимптоматских пацијената са изолованим *C. jejuni* представљају инфекције у фази опоравка, а њихова учесталост од око 15% тумачи се лошијим хигијенским статусом и контактом са животињама, што је карактеристика земаља у развоју.

Повезаношћу између настанка атопије и смањене учесталости инфекција у најранијем узрасту бави се "хипотеза хигијене", која објашњава повећање инциденције атопијских болести, животом у добрим хигијенским условима, без инфекција. У оквиру данске студије показано је да налаз антитела према већем броју цревних бактерија, међу којима је и *C. jejuni*, утиче на повећану појаву атопије. Постоје и мишљења да атопија штити дете нарочито у најранијем узрасту од настанка гастроинтестиналних инфекција.

## 2.5 Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области

*Циљеви:*

1. Утврдити преваленцу антитела према *C. jejuni* у Шумадијском округу код деце узраста до 2 године.
2. Утврдити факторе ризика за појаву ентероколитиса изазваног *C. jejuni* код деце узраста до 2 године
3. Утврдити значај налаза антитела према *C. jejuni* као детерминанте настанка атопије код деце узраста до 2 године

*Значај:*

Специфичност и захтевност кампилобактера, као и неопремљеност микробиолошких лабораторија, утицали су на недовољну проученост кампилобактериоза на овом поднебљу. Студија треба да допринесе утврђивању инфекције *C. jejuni* као јавно-здравственог проблема у Шумадијском округу код деце узраста до 2 године. Наиме, студија ће дати прве резултате о учесталости кампилобактериоза, њиховој клиничкој манифестацији, као и о факторима ризика за настанак тежих облика болести са дефинисањем ризичних група, које су и циљне групе деце за евентуалну здравствено-едукативну интервенцију. Истраживање ће тиме постати основа превентивног програма не само ове цревне инфекције, већ и атопије уколико постоји позитивна корелација ових стања у најранијем узрасту.

## 2.6 Веза са досадашњим истраживањима

Иако би се учесталост *C. jejuni* ентеритиса у Шумадијском округу, који се испољавао дијарејом, могла кретати на нивоу развијених земаља (око 4%-8%), евентуална висока учесталост асимтоматских или блажих облика болести одговарала би нивоу земаља у развоју. Фактори ризика за настанак инфекције *C. jejuni* код деце су контакт са животињама, лоши хигијенски услови и начин исхране у одојачком периоду. Деца која у току порођаја нису дошла у контакт са лактобацилусима који се физиолошки налазе у вагиналном секрету наводе се као вулнерабилна група за настанак цревних инфекција. Наиме, мукозни имунитет као и нормална колонизација цревном флором имају велики значај у неспецифичној заштити одојчета од цревних инфекција. Такође,

деца се у другој години живота налазе на вештачкој исхрани, те нису заштићена протективним факторима мајчиног млека, што их због одсуства стеченог имунитета, могуће контаминације хране и одсуства контроле намирница на присуство *C. jejuni*, чини осетљивим за обољевање од инфекције *C. jejuni*. Садашња сазнања указују на велику варијабилност симптома удружених са овим инфекцијама, мада се о патогенези кампилобактериозе и развоју последичног протективног имунитета у току инфекције ипак не зна довољно. Повезаност цревних инфекција и атопије је непознаница у стручној јавности, обзиром да постоје мишљења да оштећење цревне слузнице бактеријском инфекцијом може олакшати сензибилизацију код деце у раном узрасту са једне стране, док, са друге стране, постоје ствови да стимулација протективног *Th1* имунолошког одговора према „хипотези хигијене“, може спречити развој атопије.

## 2.7 Методе истраживања

Врста студије - Истраживање представља епидемиолошку студију преваленце и клиничку опсервациону студију пресека са експерименталним делом на материјалу хуманог порекла *in vitro*.

Испитивана популација и узорковање - У истраживање се укључују здрава деца узраста од 5 до 24 месеца са територије града Крагујевца и околине. Испитивану групу чиниће деца са дијарејом према подацима добијеним из анкете и подацима Дома здравља у Крагујевцу, а контролну групу деца код којих нема података о дијареји. Сматраће се да су деца са налазом најмање две класе антитела (*IgG+IgA* или *IgG+IgM*) имала инфекцију *C. jejuni*. Подаци о симптомима гастроинтестиналне болести и њиховом испољавању биће добијени из анкетног упитника. Из базе података Дома здравља биће праћене дијагнозе по Међународној класификацији болести (МКБ) из групе А – инфекције црева у којима није идентификован узрочник, изузев А04.5 - *Enteritis campylobacteriali*, који ће бити укључен у студију, као и из групе К – неинфективне болести црева које су се манифестовале дијарејом и повраћањем. У групу деце са атопијом биће сврстана деца код којих су доказане алергијске болести посредоване *IgE* антителима, детекцијом специфичних *IgE* антитела на протеине: беланца, крављег млека, кикирикија, рачића, длаке мачке и пса, гриње, полена сребрне брезе, мачијег репка, амброзије и коприве. У

групу деце без атопије биће сврстана деца код којих ова антитела нису доказана. Венска крв узима се деци у јутарњим часовима, након 2 сата се центрифугира, а серум се чува на -75°Ц до извођења теста.

Утврђивање присуства антитела према *C. jejuni* - Присуство *IgM*, *IgG* и *IgA* на *C. jejuni* у серуму деце биће одређивано квантитативним имуноензимским тестом (*Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA*) (*SERION ELISA classic, Institut Virion/Serion GmbH, Würzburg, Germany*), а концентрације ће бити аутоматски израчунате на основу вредности оптичке густине применом софтверског програма *SERION easy base 4PL-Softwarey evaluate*.

Утврђивање атопије - Концентрације специфичних *IgE* (*Phadiatop infant*) антитела на протеине биће одређиване *in vitro* имунофлуоресцентном техником (*Fluorescent Immunassay*) на *Immunocap-100* апарату (*Phadia AB, Uppsala, Sweden*).

Снага студије и статистичка обрада података

На основу тестова који захтевају већи узорак, утврђена је величина испитиване групе од 160 испитаника, тако да је у испитиваној групи број испитаника за једно обележје (нпр присуство антитела према *C. jejuni*) потребно 34 деце, док је у групама које подразумевају два обележја повезана великим утицајем (нпр. присуство антитела према *C. jejuni* и дијареје) минимални број потребних испитаника 12.

За статистичку обраду добијених резултата ће се користити комерцијални програмски пакет *SPSS 13.0 for Windows*. Подаци о присуству антитела према *C. jejuni* описаће се дескриптивним статистичким параметрима и учесталашћу испитаника са и без *C. jejuni* налаза ових антитела у категоријама индивидуалних (пол, узраст, телесна маса на рођењу, тип порођаја), социо-демографских обележја (место живљења), као и обележја начина исхране (природна исхрана, дужина дојења), обележја здравственог стања (атопија, симптоми и дијагнозе гастроинтестиналних болести).

За испитивање зависности категоријских променљивих биће коришћен  $\chi^2$  тест. За утврђивање повезаности између варијабли биће коришћен тест корелације у зависности од нормалности расподеле варијабли. За упоређивање концентрација серумских *IgM*, *IgA* и *IgG* према *C. jejuni* између категорија наведених обележја биће коришћени параметријски *t* тест или непараметријски тестови - *Mann Vitney* и *Kruskal Wallis* тест. У анализи главних компонената (*PCA principal component analysis*)

утврдиће се факторске компоненте са утицајем на испитивану зависну варијаблу. Логистичком регресијом утврдиће се модели повезаности између зависне варијабле, на једној страни и сетова варијабли (фактора) који су изабрани применом факторске анализе као независних варијабли, док ће линеарном регресијом бити испитан утицај факторских компоненти на концентрацију серумских *IgM*, *IgA* и *IgG* на *C. jejuni*.

## **2.8 Очекивани резултати докторске дисертације**

Очекује се да се докаже учесталост налаза антитела према *C. jejuni* код деце узраста до 2 године у Шумадијском округу од око 20%, са ниском учесталošћу ентеритиса који се испољавао дијарејом и високом учесталošћу асимтоматских или блажих облика болести. Ризичне групе за клиничко испољавање инфекције *C. jejuni* су деца узраста од две године, деца која нису дојена и деца рођена царским резом. Очекује се да и постојање инфантилних колика, као симптома физиолошке дисфункције црева услед поремећаја нормалне цревне флоре, буде један од предикторних фактора за настанак инфекције *C. jejuni* код деце узраста до две године. Постојање инфекције *C. jejuni* код деце овог узраста у позитивној је корелацији са атопијом.

## **2.9. Оквирни садржај дисертације**

Стопа инфекција изазвана бактеријом *C. jejuni* широм света је у порасту, а открива се и широк спектар болести које су узроковане овим микроорганизмом, те је неопходно утврдити прецизне епидемиолошке податке, клиничке манифестације и факторе ризика, у циљу развоја превентивних мера контроле инфекције.

Циљеви овог истраживања су утврђивање учесталости, клиничких манифестација, фактора ризика и ризичних група у популацији деце узраста до 2 године на територији Шумадијског округа, као и повезаност ове инфекције са атопијом.

Истраживање представља епидемиолошко-клиничку опсервациону студију пресека са експерименталним делом на материјалу хуманог порекла *in vitro*, а спроводи се испитивањем здраве деце узраста 5-24 месеца. Подаци о симптомима ентероколитиса до тренутка уласка у студију, биће добијени из анкетног упитника и базе података Дома здравља Крагујевац. Квантитативном *ELISA* методом биће одређене концентрације серумских имуноглобулина (*Ig M*, *IgG* и *IgA* према *C.jejuni*. За децу са

налазом две класе антитела према *C.jejuni* сматраће се да су имала инфекцију овом бактеријом.

Очекује се да учесталост присуства антитела на *C. jejuni* код деце узраста до 2 године у Шумадијском округу износи око 20%. Иако би се учесталост ентеритиса изазваног *C. jejuni* који се манифестовао дијарејом, могла кретати на нивоу развијених земаља (око 4%-8%), висока учесталост асимтоматских или блажих облика болести од око 15% одговарала би нивоу земаља у развоју. Ризичне групе за клиничко испољавање инфекције *C. jejuni* су друга година живота, изостанак дојења и начин порођаја. Постоји позитивна корелација ове цревне инфекције са атопијом код деце узраста до 2 године.

### **2.10. Име ментора**

За ментора ове докторске тезе Комисија предлаже проф. др Биљану Миљковић-Селимовић, ванредног професора Медицинског факултета, Универзитета у Нишу, за ужу научну област Микробиологија и имунологија . Проф. др Биљана Миљковић-Селимовић поседује стручне и научне компетенције, које су комплементарне са предметом и методологијом истраживања.

### **2.11 Научна област дисертације**

Медицина. Изборно подручје: Народно здравље

### **2.12 Научна област чланова комисије**

1. Проф. др Биљана Миљковић-Селимовић, ванредни професор Медицинског факултета, Универзитета у Нишу, ужа научна област Микробиологија и имунологија, председник
2. Проф. др Биљана Вулетић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област - Педијатрија, члан
3. Доц. др Зоран Тамбур, доцент на Стоматолошком факултету у Панчеву, ужа научна област- Микробиологија и имунологија, члан

### **ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ**

1. На основу досадашег научног рада и публикованих радова др Дара Јовановић испуњава све услове прописане Статутом Факултета медицинских наука, Статутом Универзитета у Крагујевцу и Законом о високом образовању за одобрење теме и израду докторске дисертације;



2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу где се анализирају фактори ризика за инфекцију кампилобактером код деце узраста до 2 године
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза бити од особитог научног и практичног значаја, да се дефинишу учесталост, клиничке манифестације, ризичне групе и предикторни фактори за инфекцију *C. jejuni* код деце узраста до 2 године, као и повезаност ове инфекције са атопијом.
4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидаткиње др Даре Јовановић под називом „ Испитивање фактора ризика за настанак инфекције бактеријом *Campylobacter jejuni* код деце узраста до 2 године" и одобри њену израду.

У Крагујевцу, 30.08.2012. год.

#### ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. **Проф. др Биљана Миљковић-Селимовић**, ванредни професор Медицинског факултета, Универзитета у Нишу, ужа научна област Микробиологија и имунологија, председник
2. **Проф. др Биљана Вулетић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област - Педијатрија, члан
3. **Доц. др Зоран Тамбур**, доцент на Стоматолошком факултету у Панчеву, ужа научна област-Микробиологија и имунологија, члан