

НАЗИВ ФАКУЛТЕТА МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

## ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

-обавезна садржина- свака рубрика мора бити попуњена

(сви подаци уписују се у одговарајућу рубрику, а назив и место рубрике не могу се мењати или изоставити)

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
<p>1. Датум и орган који је именовао комисију 24.10.2017. године, Наставно-научно веће Медицинског факултета у Новом Саду</p> <p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>проф. др Ивана Хрњковић Цвјетковић, редовни професор, Микробиологија - вирусологија, 26.01.2017., Медицински факултет Нови Сад, председник комисије</p> <p>проф. др Александра Кнежевић, ванредни професор, Микробиологија, 28.10.2014., Медицински факултет Београд, члан комисије</p> <p>др сци. вет. Тамаш Петровић, научни саветник, Микробиологија и заразне болести, 26.04.2016., Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“, члан комисије</p>
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Александра (Владимир) Патић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 18.09.1981. Нови Сад, Нови Сад, Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Медицински факултет Нови Сад, Академске студије медицине – општа медицина, доктор медицине</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2009. година, Академске докторске студије, област Јавно здравље</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: Медицински факултет Нови Сад, мастер рад „Аденовирусне инфекције у нашој средини“, Микробиологија - вирусологија, 06.07.2009. године</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: Микробиологија – вирусологија (мастер рад)</p>
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b> „Значај молекуларне дијагностике у доказивању вирусног гастроинтестиналног синдрома у Војводини“
<b>IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b> Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикона и сл. Докторска дисертација има све потребне делове тачно, прецизно и аргументовано написане,

према правилима. Постављеним циљевима било је планирано да се утврди инциденца вирусног гастроинтестиналног синдрома у војвођанској популацији и учесталост епидемијског и спорадичног јављања болести, што је у потпуности постигнуто. Вирусни гастроинтестинални синдром доказан је код 709 оболелих (70,69%). Анализирана је и учесталост оболевања према старости оболелих (од неколико месеци до преко 90 година). Дијагностика је рађена молекуларним *real-time RT-PCR* тестом (за рота, норо и астровирусе) и *real-time PCR* тестом (за аденовирусе). Осим брзе и тачне дијагностике, тест омогућава да се докаже вирусни узрочник и када је присутан у сасвим малом броју у дијареалном узорку. Овај тест је проверена и препоручена дијагностичка метода, која треба да буде редовно коришћена у доказивању вирусних узрочника гастроинтестиналног синдрома. Урађен је и приказан алгоритам примене *real-time RT-PCR* теста за доказивање рота, норо и астровируса, као и алгоритам примене *real-time PCR* теста за доказивање аденовируса у будућем раду. Извршена је и молекуларна анализа вирусних генома, секвенцирањем репрезентативних узорака. Након молекуларне обраде вирусних генома, урађено је поређење вирусних изолата, добијених овим истраживањем, са нуклеотидним секвенцама вируса из банке гена. Направљена су филогенетска стабла за рота, норо, астро и аденовирусе.

У петогодишњем истраживању (од 2012. до 2016. године) прегледана су 1003 узорка дијареалне столице оболелих особа са симптомима гастроентеритиса, старости од неколико месеци до преко 90 година. Узорци су узети од оболелих особа упућених на прегледе из различитих делова Војводине. Извршена је дијагностика на рота, норо, астро и ентеричне аденовирусе, као најзначајније узрочнике вирусног дијареалног синдрома. Велик узорак прегледан молекуларним тестом (*real-time RT-PCR* и *real-time PCR* тестом) и извршена анализа на 4 најчешћа вирусна узрочника, довели су до тачног приказа инциденце вирусног гастроинтестиналног синдрома у Војводини, о чему до сада није било детаљних података. Тако је на узорку од 1003 оболеле особе различите старости, у петогодишњем периоду, инфекција неким од 4 вируса доказана код 709 особа (70,69%). Висока инциденца вирусног гастроинтестиналног синдрома у Војводини указује на неопходност да се убудуће редовно примењује молекуларна дијагностика ради брзог спровођења терапије оболелих и предузимања противеписидемијских мера. Према анкетама и историјама болести, оболевање у склопу епидемија доказано је код 206 болесника (29,06%) и то статистички значајно најчешће код најстаријих особа. Доказане су 22 епидемије у колективима и 9 епидемија у породицама. Спорадичне инфекције су утврђене код 503 оболеле особе (70,94%) и то статистички значајно најчешће код деце.

Код највећег броја оболелих је узрочник инфекције био ротавирус (код 28,81% болесника). Ротавирус је утврђен у свим старосним групама оболелих, али статистички значајно најчешће код деце (млађе од 5 година у 38,90%). Код њих је била и статистички значајно најтежа клиничка слика, што је утврђено на основу Весикари скале. Статистички значајно најчешће су имали температуру, најчешће су били хоспитализовани и болест је код њих статистички значајно најдуже трајала.

Одрасли болесници и старије особе имали су статистички значајно чешће норовирусну инфекцију у односу на децу. Норовирусна инфекција је доказана у 23,03% оболелих на укупном узорку. Норовируси су доказани статистички значајно најчешће као узрочници епидемија. Код оболелих од норовируса статистички значајно најчешће су били утврђени као симптоми мука, повраћање и болови у стомаку.

Астровируси су доказани знатно ређе (код 2,29% оболелих на целокупном узорку) и то само код деце.

Аденовируси су доказани код 13,36% оболелих на целокупном узорку и то у свим старосним групама, али статистички значајно најчешће код деце до 14 година. Оболели од аденовирусне инфекције имали су блажу клиничку слику болести што је утврђено на основу Весикари скале.

Удружена инфекција са два вируса доказана је код 3,19% оболелих и то углавном код особа послатих на преглед у оквиру епидемија. Код ових болесника клиничка слика болести била је тежа, што је утврђено према Весикари скали.

Оболевање од вирусног дијареалног синдрома дијагностиковано је целе године, али значајно чешће у хладним месецима (касна јесен, зима и рано пролеће).

Клинички показатељи код оболелих детаљно су анализирани према врсти вирусних узрочника. Закључено је да разлике у симптомима болести нису биле довољно значајне, тако да је неопходна вирусолошка дијагностика.

За детаљнију анализу идентификованих вирусних узрочника вршено је одређивање геногрупа норовируса и ротавируса. У циљу потврде тачности детекције вируса у испитиваним узорцима *real-time RT-PCR* и *real-time PCR* тестом, генотипизације, као и детаљније молекуларне анализе, изабрани су узорци позитивни на рота, норо, астро или аденовирусе. Делови генома ових узорака су амплификовани, а затим секвенцирани. У циљу молекуларне карактеризације испитиваних вируса, који циркулишу на подручју АП Војводине, у филогенетску анализу су биле укључене секвенце изолата ових вируса из Европе и осталих географских подручја, као и референтни сојеви

испитиваних вируса. Филогенетска анализа, добијена на основу нуклеотидних секвенци ротавируса, показала је припадност групи А и типовима G1P[8], G2P[4], G3P[8] и G9P[8]. Секвенцирани изолати норовируса припадају геногрупи I типу 2, затим геногрупи II типовима 1, 2, 4 и 17. Изолати астровируса, који су секвенцирани, припадају групи класичних астровируса и типовима 1, 4 и 5. Секвенцирани изолати аденовируса припадају групи Ф и типовима 40 и 41, као и групи Ц типу 2. Припадност добијених секвенци у овом истраживању, додатно је потврђена изградом филогенетског стабла за секвенце позитивне на рота, норо, астро или аденовирусе.

Докторска дисертација „Значај молекуларне дијагностике у доказивању вирусног гастроинтестиналног синдрома у Војводини“ написана је на 197 страна текста, од чега је садржај тезе подељен у следећа поглавља:

- Увод (Сагледавање проблема, врсте вирусних узрочника, дијагностичке, терапијске и превентивне мере) - 47 страна
- Циљеви и хипотезе истраживања – 1 страна
- Материјал и методе – 18 страна
- Резултати – 75 страна
- Дискусија – 25 страна
- Закључци – 2 стране
- Литература – 21 страна
- Прилози – 8 страна

У докторској тези се налазе листа скраћеница, садржај, као и кључне документацијске информације на српском и енглеском језику. Рад садржи 40 слика, 49 табела, 19 графикона и 272 литературна навода.

#### **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Докторска дисертација има све потребне делове тачно, прецизно и аргументовано написане, према упутствима.

Увод садржи сагледавање проблема са свих аспеката (клиничких, епидемиолошких и дијагностичких) и детаљан опис свих карактеристика вируса, узрочника гастроинтестиналног синдрома. Наведени су поступци при епидемијском и спорадичном јављању болести, дијагностичке методе и њихова специфичност и осетљивост, као и неопходне мере терапије и превенције дијареалног синдрома.

После постављених циљева и хипотеза за спровођење овог петогодишњег истраживања, детаљно су наведени и прецизно описани материјал и методе истраживања, избор узорака, потребни анкетни упитници, обрада узорака за *real-time PCR* тест, изолација нуклеинских киселина и коначна дијагностика *real-time RT-PCR* и *real-time PCR* методом. За детаљнију анализу идентификованих вирусних узрочника вршено је одређивање геногрупа норовируса и ротавируса. У циљу генотипизације и детаљније молекуларне анализе, изабрани су узорци позитивни на рота, норо, астро и аденовирусе. Делови генома ових узорака су амплификовани, а затим секвенцирани.

Резултати истраживања су приказани детаљно. Статистички су обрађени, табеларно и графички приказани. Тежина болести је одређена према Весикари методи. Утврђена је молекуларна карактеризација испитиваних вируса, који циркулишу на подручју АП Војводине. Добијене нуклеотидне секвенце рота, норо, астро и аденовируса у овом истраживању упоређиване су са најсличнијим изолатима из Банке гена, као и са секвенцама референтних изолата. Формирано је филогенетско стабло за рота, норо, астро и аденовирусе и утврђено је порекло и сличност испитиваних вируса, који циркулишу на подручју АП Војводине, са изолатима ових вируса из Европе и осталих делова света. Направљен је алгоритам примене *real-time RT-PCR* и *real-time PCR* теста у дијагностици сваког од испитиваних вируса. У дискусији су сви резултати, добијени током овог истраживања, упоређивани са резултатима добијеним у истраживањима спроведеним у земљама у окружењу, као и у удаљеним земљама. На основу свеобухватног петогодишњег истраживања вирусних узрочника гастроинтестиналног синдрома на територији Војводине, изведени су закључци, који ће допринети будућем дијагностичком, епидемиолошком и клиничком раду.

**Комисија позитивно оцењује све делове докторске дисертације.**

#### **VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРској ДИСЕРТАЦИЈИ**

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе

министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01.јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

#### **M23**

**Patić A**, Milošević V, Hrnjaković Cvjetković I, Petrović V, Šeguljev Z, Stefan-Mikić S et al. Viral gastrointestinal syndrome in our environment. Arch Biol Sci 2014;66(1):29-35.

#### **M34**

**Patić A**, Hrnjaković Cvjetković I, Ilić S, Nikolić N, Kovačević G, Jovanović Galović A, Radovanov J, Milošević V. Rota, Noro and Astroviruses as Causes of Gastroenteritis. Book of abstracts. 48th Days of Preventive Medicine (International Congress); 2014 Sept 23-26; Niš, Serbia. p.38.

#### **M44**

Jerant-Patić V, Milošević V, Hrnjaković Cvjetković I, **Patić A**, Kovačević G, Radovanov J, Jovanović Galović A. Učestalost nekih virusnih infekcija u Vojvodini – uzročnici virusnog gastrointestinalnog sindroma. U: Jerant-Patić V, urednik. Virusologija na početku XXI veka. Novi Sad: Akademija medicinskih nauka Srpskog lekarskog društva; 2014. p. 27–36.

#### **M64**

**Patić A**, Petrović V, Šeguljev Z, Milošević V, Hrnjaković Cvjetković I, Kovačević G, Radovanov J, Elez I, Jovanović-Galović A. Virusni gastrointestinalni sindrom u Vojvodini. Zbornik sažetaka u formatu CD-a. IX Kongres mikrobiologa Srbije (Mikromed 2013); 2013; Beograd, Srbija.

- Била едукатор на курсу/радионици „Значај вируса у безбедности хране (вирусни узрочници гастроентеритиса“ (Пољопривредни факултет у Новом Саду, април 2015. године)

### **VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА**

На основу резултата овог истраживања изведени су следећи закључци:

- У петогодишњем периоду на територији Војводине *real-time RT-PCR* и *real-time PCR* методом на узорку од 1003 болесника са симптомима акутног гастроентероколитиса (старости од месец дана до преко 90 година), инфекција рота, норо, астро и аденовирусима доказана је код 709 оболелих (70,69%).
- Ротавирусна инфекција је утврђена код 28,81% оболелих, норовирусна инфекција код 23,03%, астровирусна инфекција код 2,29% прегледаних болесника, а аденовирусна инфекција код 13,36% оболелих. Удружена инфекција са два вируса у узорцима столице утврђена је код 3,19% болесника. Статистички значајно највише ових инфекција доказано је 2015. године.
- Статистички значајно највише пацијената заражених ротавирусом било је код деце узраста до 5 година (38,90%), али честе су биле и код деце старе 6 до 14 година (24,83%).
- Норовирусне инфекције дијагностиковане су статистички значајно чешће код одраслих особа старијих од 20 година (36,63%).
- Астровирусне инфекције су дијагностиковане само код деце узраста до 5 година (у 2,44%) и 6 до 14 година (6,90%).
- Аденовирусне инфекције су статистички значајно најчешће доказане код деце старости 6 до 14 година (код 17,24%) и код деце узраста до 5 година (16,70%).
- Анализом података добијених Весикари методом, доказано је да је статистички значајно више пацијената са тешком клиничком сликом било код мале деце узраста до 5 година.
- Оболели од ротавируса имали су статистички значајно тежу клиничку слику, са статистички

значајно чешће утврђеном повишеном температуром и болест је статистички значајно дуже трајала код ових болесника.

- Мука и повраћање су утврђени статистички значајно чешће код болесника са норовирусном инфекцијом у односу на особе оболеле од других вирусних узрочника дијареалног синдрома.
- Норовирус је статистички значајно најчешће био узрочник епидемија (код 43,29% прегледаних особа). Епидемијско јављање болести било је статистички значајно најчешће код најстаријих болесника, старих 50 и више година (код 71,43% оболелих).
- Спорадичне инфекције статистички значајно најчешће су се јављале код деце до 5 година (код 86,30%), а биле су статистички значајно чешће и код деце узраста 6 до 14 година (код 73,45%).
- Филогенетска анализа нуклеотидних секвенци детектованих аденовируса, показала је припадност групи Ф и типовима 40 и 41, и групи Ц типу 2.
- Секвенцирани и молекуларно типизирани изолати астровируса припадају групи класичних астровируса и типовима 1, 4 и 5.
- Изолати норовируса, који су секвенцирани и молекуларно типизирани, припадају геногрупи I типу 2, и геногрупи II типовима 1, 2, 4 и 17.
- Филогенетском анализом нуклеотидних секвенци изолата ротавируса утврђена је припадност групи А и типовима G1P[8], G2P[4], G3P[8] и G9P[8].
- Две секвенце аденовируса типа 41 из узорак столице оболеле деце у овом истраживању (од којих је један узорак узет током епидемије) показале су 100% поклапање са секвенцом аденовируса изолованом из реке Дунав у Новом Саду, а секвенца аденовируса типа 40 из узорка столице оболелог детета показала је 100% поклапање са секвенцом аденовируса изолованог из Палићког језера, што потврђује присуство ових вируса, не само у популацији, него и у спољашњој средини.
- Предложени алгоритам за дијагностику вирусних узрочника гастроинтестиналног синдрома препоручује да се „брзи тестови“ користе у случају да постоји епидемија. Сваки негативан налаз захтева проверу молекуларном дијагностиком. У спорадичним случајевима метод избора је молекуларна дијагностика. Детаљна анализа генома вируса има епидемиолошки и клинички значај (утврђивање почетка инфекције, начина ширења итд.)

#### **VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА**

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Резултати су у овој докторској дисертацији приказани на адекватан, разумљив и прегледан начин. Сви добијени резултати детаљно су анализирани, статистички обрађени, табеларно и графички приказани, а тежина болести је утврђена према Весикари скали. Добијени резултати су објективно, аналитички и критички упоређивани са резултатима сличних истраживања других аутора, узимајући у обзир најновије литературне податке. Упоређивани су са другим истраживањима у земљама нашег окружења, као и у удаљеним регионима. Резултати су прецизно са свих аспеката и критички продискутовани, на основу чега су изведени закључци, који дају одговоре на постављене циљеве ове докторске дисертације.

**Комисија даје позитивну оцену за начин на који је кандидат приказао и тумачио резултате истраживања.**

#### **IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Докторска дисертација је написана потпуно у складу са наведеним образложењима, постављеним циљевима и по предвиђеним правилима. Детаљно су обрађени и анализирани сви добијени резултати и испуњени су сви постављени циљеви. Резултати, добијени на великом узорку (1003 оболеле особе) и прегледом на 4 вируса у петогодишњем периоду, детаљно су анализирани и упоређивани са подацима из литературе. Након свестраних анализа у дискусији, могли су да буду донети битни закључци, неопходни за тачно сагледавање проблема и за будући редовни дијагностички рад

*real-time RT-PCR* и *real-time PCR* тестом.

**Комисија оцењује да је докторска дисертација у потпуности урађена и написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.**

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Дисертација садржи све битне делове, према правилима. Увод приказује значај рада на дијагностици вирусног гастроинтестиналног синдрома у Војводини, што је објашњено са свих аспеката: дијагностичких, клиничких и епидемиолошких. Дат је преглед досадашњих литературних података и постојећих истраживања. Наведени су циљеви истраживања и хипотезе, као и детаљан приказ методологије рада, избора и обраде узорака, молекуларне дијагностике *real-time RT-PCR* и *real-time PCR* тестом, као и накнадне детаљне молекуларне анализе вирусних генома. Резултати су прецизно приказани, статистички обрађени и анализирани. У дискусији су добијени резултати објашњени и упоређивани са истраживањима у земљама нашег окружења, као и у удаљеним регионима. Закључци су правилно изведени и представљају битне препоруке за будућу дијагностику вирусног гастроинтестиналног синдрома у Војводини.

**Комисија закључује да дисертација садржи све битне елементе.**

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Ова дисертација и њени резултати представљају битан и оригиналан допринос вишеструком сагледавању проблема у вези са вирусним гастроинтестиналним синдромом у Војводини. О учесталости и значају гастроентеритиса, изазваних рота, норо, астро и аденовирусима у војвођанској популацији до сада нема података. Добијени резултати указују на значај примене молекуларне дијагностике *real-time RT-PCR* и *real-time PCR* методом у будућем раду, што је од велике користи и за клиничаре и епидемиологе. Сачињен је алгоритам примене *real-time RT-PCR* и *real-time PCR* теста у дијагностици ових узрочника.

Посебан значај и допринос научним сазнањима има урађена детаљна молекуларна анализа вирусних генома, секвенцирањем изабраних позитивних узорака, као и поређење добијених нуклеотидних секвенци са изолатима из окружења и удаљених делова света, на основу чега је израђено филогенетско стабло за сваки од испитиваних вируса. Анализом и поређењем добијених нуклеотидних секвенци са изолатима широм света може се сагледати њихова генетска сличност, али и променљивост. Чак и мале промене у геному могу да утичу на вирулентност вируса и његове епидемиолошке карактеристике, односно на брже ширење вируса у популацији, настанак већих епидемија и теже клиничке слике код оболелих.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

**Комисија оцењује да дисертација не садржи формалне нити суштинске недостатке који би могли утицати на резултате истраживања.**

**X ПРЕДЛОГ:**

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

**Да се докторска дисертација „Значај молекуларне дијагностике у доказивању вирусног гастроинтестиналног синдрома у Војводини“ прихвати, а кандидату асистенту др Александри Патић одобри одбрана.**

У Новом Саду, 18.12.2017.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈ

др Ивана Хрњаковић Цвјетковић, редовни професор, Медицински факултет Нови Сад

---

др Александра Кнежевић, ванредни  
професор, Медицински факултет Београд

---

др сци. вет. Тамаш Петровић, научни саветник,  
Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.

**ИЗВЕШТАЈ СЕ ПОДНОСИ У 10 ПРИМЕРАКА**

**(два извештаја са оригиналним потписима)**

**КАНДИДАТ ЈЕ ОБАВЕЗАН ДА ДОСТАВИ ИЗВЕШТАЈ И У ЕЛЕКТОРНСКОЈ ФОРМИ**

**У PDF формату на ЦД-у**

**НАПОМЕНА: Уз извештаје студенти морају да предају и попуњен образац бр. 7 у два примерка и на ЦД-у у PDF формату**