

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 30. 6. 2023. godine, broj 14/XV-3/3-MB, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„ Učestalost i faktori rizika za infekciju *T. gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi i trudnica “

kandidata dr Milene Blagojević, zaposlene na odeljenju pedijatrija, Dom zdravlja Zvezdara u Beogradu. Mentor je prof. dr Ljiljana Marković-Denić, a komentor je V. N. Sar. dr Tijana Štajner

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. N. Sav. dr Branko Bobić, Institut za medicinska istraživanja, Univerzitet u Beogradu
2. N. Sar. dr Vesna Mioljević, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. dr Suzana Otašević, Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Milene Blagojević napisana je na ukupno 115 stranica i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 36 tabela, 17 grafikona i 7 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o komisiji.

U **uvodu** su jasno definisani morfologija i životni ciklus jednog od najuspešnijeg parazita na planeti, *Toxoplasma gondii*, kojim je inficirana gotovo trećina čovečanstva, sa posebnim osvrtom na epidemiologiju i kliničke entitete koje parazit izaziva u humanoj populaciji. Takođe, u uvodu su opširno opisani mogući putevi prenosa infekcije ističući posebno značaj prenosa putem transfuzije krvi kao značajnog predmeta istraživanja doktorske disertacije, ali i uticaja

infekcije *T. gondii* u pojedinim vulnerabilnim grupama (trudnice), koje su takođe bile predmet ispitivanja.

Ciljevi rada su precizno definisani i odnose se na određivanje prevalencije infekcije *T. gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi kao predstavnika opšte, zdrave populacije i trudnica kao specifično ugrožene grupe, kao i na određivanje faktora rizika za infekciju *T. gondii* u obe populacije, sa posebnim osvrtom na one koje je moguće modifikovati.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o hibridnoj studiji sastavljenoj od dve studije prevalencije (preseka) realizovanoj u periodu od decembra 2017. do februara 2019. godine. Prvom studijom prevalencije bili su obuhvaćeni dobrovoljni davaoci krvi (1095 ispitanika), oba pola, sa prebivalištem na teritoriji Beograda koji su u periodu od decembra 2017. do jula 2018. godine darivali krv u Institutu za transfuziju krvi Srbije u sklopu redovnih akcija darivanja krvi. Drugu studiju preseka činilo je 300 (konsekutivno odabranih) trudnica sa prebivalištem na teritoriji Beograda, koje su u periodu od novembra 2018. godine do februara 2019. godine dolazile u Institut za transfuziju krvi Srbije zbog rutinskog ispitivanja krvne grupe i Rh faktora pre porođaja. U obe populacije kriterijumi za isključivanje i uključivanje u istraživanje su bili jasno definisani. Definisana je i metodologija (dizajn upitnika) i tehnika laboratorijskog rada kao i način statističke analize dobijenih rezultata.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 271 reference.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa **iThenticate** kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije. „Učestalost i faktori rizika za infekciju *Toxoplasma gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi i trudnica”, autora Milene Blagojević, konstatujem da utvrđeno podudaranje teksta iznosi **5%**. Ovaj stepen podudarnosti posledica je prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja u vezi sa napisanom doktorskom disertacijom i citiranja drugih autora, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika o postupku provere

originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

C) Kratak opis postignutih rezultata

Istraživanje je pokazalo da u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi, predstavnika zdrave odrasle populacije Beograda, prevalencija toksoplazmoze iznosi 20,5%, odnosno 16,5% u ukupnoj populaciji žena (trudnice i negravidne žene, davaoci krvi) i 12,7% u populaciji trudnica. Multivarijantnom regresionom analizom u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi potvrđeno je da su uzrast ispitanika (**OR=1,9, 95% CI: 1,13-3,28; OR=3,2, 95% CI: 1,91-5,35; OR=4,6, 95% CI: 2,71-7,89; OR=6,8, 95% CI: 3,27-14,24**), opština stanovanja (**OR=2,2, 95% CI: 1,43-3,34**) kao i kontakt sa zemljom nezavisni prediktori infekcije (**OR=1,4, 95% CI: 1,01-1,9**). Sa povećanjem godina života ispitanika rizik od infekcije *T. gondii* raste linearno sa 1,9 na 6,8 puta od najmlađe uzrasne grupe (18-29 godina) do nastarije (>60 godina). Takođe, osobe koje žive u prigradskim opštinama Beograda imaju 2,2 puta veću šansu da dobiju toksoplazmozu u odnosu na one koju žive u gradskim opštinama Beograda. Ispitanici koji imaju kontakt sa zemljom imaju 1,4 puta veću šansu da se inficiraju *T. gondii* u odnosu na one koji ne dolaze u kontakt sa zemljom. Dok je u populaciji trudnica multivarijantnom regresionom analizom potvrđeno je da su uslovi stanovanja trudnica (**OR=0,4, 95% CI: 0,19-0,83**), i konzumiranje pilećeg mesa (**OR=0,3, 95% CI: 0,94-0,83**) nezavisni prediktori infekcije. Trudnice imaju 60% manju šansu da obole od toksoplazmoze ukoliko žive u stanu/kući bez dvorišta u odnosu na one koje žive u kući sa dvorištem. Takođe, verovatnoća da trudnice obole od toksoplazmoze je 70% manja ukoliko jedu piletinu u odnosu na druge vrste mesa. S druge strane, u ukupnoj populaciji žena nezavisni faktori rizika su, prema multivarijantnoj analizi, samo stariji uzrast i kontakt sa zemljom. Odnosno, žene starije od 40 godina su češće inficirane *T. gondii* u odnosu na mlađe ispitanice (**OR=2,7, 95% CI: 1,33-5,51**). Takođe, ispitanice koje su u kontaktu sa zemljom imaju veću šansu da obole od toksoplazmoze u odnosu na one koje nisu imale kontakt sa zemljom (**OR=1,5, 95% CI: 1,03-2,32**). Konzumiranje nedovoljno termički obrađenog mesa više nije značajan faktor rizika za infekciju *T. gondii* kao što je prethodnih decenija bio slučaj. Tokom istraživanja u populacijama davalaca krvi i trudnica nije otkriven nijedan slučaj akutne infekcije *T. gondii*. U obe populacije, svi seropozitivni ispitanici su bili u hroničnoj fazi infekcije *T. gondii*. Svi uzorci ispitanika koji su bili pozitivni u HSDA, takođe su bili pozitivni u TXG VIDAS testu, a od 224 seropozitivna davaoca krvi, 220 je imalo visok indeks aviditeta specifičnih IgG antitela. Samo 4 ispitanika (1,8%) imala su graničan indeks aviditeta specifičnih IgG antitela, u potpunom odsustvu specifičnih IgM antitela. Dok je

u populaciji trudnica, od 38 seropozitivnih žena, 36 imalo visok indeks aviditeta specifičnih IgG antitela. Jedna ispitanica je imala nizak indeks aviditeta i jedna je imala graničan indeks aviditeta specifičnih IgG antitela, obe sa potpunim odsustvom specifičnih IgM antitela, i obe serološki praćene do porođaja.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Ovo je prvo istraživanje rađeno u Srbiji u kojem su se određivale prevalencija toksoplazmoze i faktori rizika za infekciju *T. gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi, predstavnika zdrave odrasle populacije Beograda i zdravih trudnica. Prevalencija toksoplazmoze određena u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi iznosi 20,5%, odnosno 16,5% u ukupnoj populaciji žena (gravidne i negravidne) i 12,7% u populaciji trudnica. Dobijene prevalencije u ovom istraživanju su očekivane i u skladu sa višedecenijskim trendom opadanja prevalencije infekcije *T. gonii* u svetu (Pappas i sar., 2009; Jones i sar., 2018) kao i u Srbiji (Bobić i sar., 2003; Bobić i sar., 2007, Kovačević i sar., 2023).

Ovim istraživanjem, u kome su se uzorci krvi ispitivanih grupa prikupljali skoro dvanaest meseci nismo otkrili nijedan akutni slučaj infekcije, odnosno nije pokazano da postoji rizik od prenosa parazita putem transfuzije krvi. Ovaj rezultata je u skladu sa rezultatima *American Association of Blood Banks* (AABB) koji su ukazali na minimalan rizik prenosa infekcije putem transfuzije krvi.

Analizom demografskih podataka u grupi davalaca krvi u istraživanju, uočeno je da sa uzrastom raste i broj hronično inficiranih ispitanika. Dobijeni rezultati pokazuju linearni porast prevalencije davalaca krvi od 8,7% u najmlađoj uzrasnoj grupi (18-29 godine) do 39,6% u najstarijoj (>60 godina). Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima drugih istraživanja sprovedenih kod davalaca krvi (Pinlao i sar., 2000; Foroutan-Rad i sar., 2016; Bobić i sar., 2016; Lachkhem i sar., 2020) kao i sa prethodno sprovedenim istraživanjima u Srbiji u kojima je najviše inficiranih bilo upravo u najstarijem uzrastu (Bobić i sar., 1998; Bobić i sar., 2003; Kovačević i sar., 2016). Takođe, u populaciji svih ispitanika ženskog pola (negravidne žene, davaoci krvi i trudnice) najviša prevalencija je bila u grupi najstarijih ispitanica (>40 godina).

U prethodnim istraživanjima sprovedenim u populaciji žena generativnog perioda u Srbiji (Bobić i sar., 2003; Bobić i sar., 2007) infekcija se češće javljala kod ispitanica koje su živele u ruralnim sredinama, slično sadašnjem rezultatu koji ukazuje da je infekcija *T. gondii* češće detektovana u populaciji davalaca krvi koji žive u prigradskim opštinama. Sličan rezultat

zabeležen je u nedavnom multicentričnom istraživanju kada je kao jedan od globalno vodećih faktora rizika za toksoplazmozu kod davalaca krvi identifikovan upravo život u ruralnim sredinama (Foroutan-Rad i sar., 2016). Takođe, kao značajan prediktor infekcije u ovom istraživanju pored života u ruralnoj sredini, istakao se kontakt sa zemljom, posebno u populaciji davalaca krvi ali i u populaciji svih ispitanika ženskog pola (negravidnih žena, davalaca krvi i trudnica), bilo da je u pitanju direktan kontakt sa zemljom (rad u bašti, voćnjaku, povrtnjaku), ili život u kući sa dvorištem. Naime, rezultati brojnih istraživanja ukazuju na kontakt sa zemljom kao značajan faktor rizika za infekciju *T. gondii* u različitim populacijama (trudnice, HIV obolele osobe, zdravi pojedinci) (Spalding i sar., 2005; Jumaian i sar., 2005; Uneke i sar., 2005; Jones i sar., 2006).

Rezultati istraživanja su pokazali da konzumiranje pilećeg mesa u populaciji svih žena, posebno kod trudnica, povezano sa manjim rizikom od infekcije *T. gondii* u odnosu na konzumiranje drugih vrsta mesa (goveđe, jagnjeće, svinjsko). U Srbiji nemamo novije dostupne podatke o prisustvu *T. gondii* u pilećem mesu jer su istraživanja uglavnom, kao i u svetu, više bila bazirana na ostalim vrstama mesa (goveđe, svinjsko, jagnjeće) (Bobić i sar., 2007). Poslednje poznato istraživanje rađeno je u periodu od 2000-2001. godine kada je u 32,3% (75/256) ispitanih uzoraka pilećeg mesa dokazano prisustvo cista *T. gondii* (Pavlović i sar., 2002).

Analizirajući ginekološko-akušerske podatke ispitanika ženskog pola u grupi davalaca krvi, primećeno je da je toksoplazmoza češće detektovana ako su ispitanice kao ishode prethodnih trudnoća navodile spontani pobačaj i/ili prevremeni porođaj što nije bio slučaj u prethodno rađenom istraživanju u Srbiji (Bobić i sar., 2003). Za razliku od njih, u populaciji trudnica nije nađena povezanost infekcije *T. gondii* i ishoda prethodnih trudnoća (spontani pobačaj, prevremeni porođaj i mrtvorodenost) slično rezultatima drugih istraživanja (Alvarado-Esquivel i sar., 2016; Sandoval-Carrillo i sar., 2020).

Takođe, u ovom istraživanju je pokazano da je u III trimestru trudnoće bilo manje trudnica koje su bile u kontaktu sa parazitom *T. gondii* u odnosu na ranije trimestre trudnoće i u odnosu na negraviditet. Iako malobrojna, postoje istraživanja čiji su rezultati u skladu sa zapažanjem ovog istraživanja (Petersen i sar., 2022).

Sa druge strane, istraživanje nije pokazalo povezanost infekcije *T. gondii* sa konzumiranjem termički nedovoljno obrađenog mesa, iako je prethodne tri decenije upravo ovo bio vodeći faktor rizika za nastanak toksoplazmoze u našoj sredini prema rezultatima istraživanja (Bobić i sar., 1998; Bobić i sar., 2003; Bobić i sar., 2007; Bobić i sar., 2010) kao i u svetu (Cook i sar.,

2000). Iako u našoj zemlji nikada nije sprovedeno istraživanje koje bi imalo za cilj utvrđivanje prevalencije infekcije *T. gondii* kod mačaka, rezultatima ovog ali i epidemioloških istraživanja prethodno sprovedenih u Srbiji, utvrđeno je da kontakt sa mačkom (uličnom ili kućnom) nije put širenja infekcije u humanoj populaciji (Bobić i sar., 1998; Bobić i sar., 2003; Bobić i sar., 2010).

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Stopić M, Štajner T, Marković-Denić Lj, Nikolić V, Djilas I, Srzentić S, Djurković-Djaković O, Bobić B. Epidemiology of Toxoplasmosis in SERBIA: A Cross-Sectional Study on Blood Donors. *Microorganisms*. 2022; 10(3):492. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030492>

Stopić M, Štajner T, Marković-Denić Lj. Prevalencija infekcije parazitom *Toxoplasma gondii* u svetu i Srbiji. *Medicinski podmladak*. 2024; 75(1). <https://doi.org/10.5937/mp75-42549>

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija pod nazivom „Učestalost i faktori rizika za infekciju *Toxoplasma gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi i trudnica” autora Milene Blagojević imala je za cilj određivanje prevalencije toksoplazmoze i faktora rizika u opštoj populaciji sa sagledavanjem faktora rizika koje je moguće modifikovati, posebno kod trudnica kao specifično ugrožene grupe. Osim podataka da je prevalencija toksoplazmoze zdrave odrasle populacije i zdravih trudnica u skladu sa svetskim trendom višedecenijskog pada prevalencije infekcije *T. gondii*, kao i podatak da za gotovo godinu dana istraživanja nisu otkriveni slučajevi akutne infekcije *T. gondii*, istraživanjem su definisani pojedini faktora rizika za infekciju *T. gondii* u našoj sredini. Primećeno je da pored faktora rizika na koje se ne može delovati (uzrast, mesto stanovanja), postoje i oni koji se u budućnosti mogu modifikovati (kontakt sa zemljom, konzumiranje pilećeg mesa) što upućuju na brojne mogućnosti prevencije ove infekcije. Na osnovu dobijenih rezultata, mere primarne prevencije toksoplazmoze bi se najviše odnosile na izbegavanje kontakta sa zemljom, prevashodno putem nošenja lične zaštitne opreme. U okviru mera sekundarne prevencije, skrining program namenjen dobrovoljnim davaocima krvi i pacijentima pre uvođenja u jatrogeni imunosupresiju bi bio od izuzetnog značaja jer bi omogućio da se pravovremeno otkrije akutna infekcija *T. gondii* koja primaocu krvi/krvnih produkata može ugroziti život, odnosno rizik od reaktivacije hronične infekcije kod imunosuprimiranih pacijenata. Takođe, dostupnost tačnim informacijama, kao i edukacija ugroženih grupa, posebno trudnica i onih žena koje planiraju trudnoću o značaju pravovremenog serološkog skrininga na toksoplazmozu, o indikacijama za dijagnostiku kongenitalne infekcije ali i

terapijskih opcija, bi doprinela trendu daljeg smanjenja prevalencije infekcije *T. gondii* u našoj zemlji.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Milene Blagojević i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 7. 7. 2023. godine

Članovi Komisije:

N. Sav. dr Branko Bobić

N. Sar. dr Vesna Mijljević

Prof. dr Suzana Otašević

Mentor:

Prof. dr Ljiljana Marković-Denić

Komentor:

V. N. Sar. dr Tijana Štajner
