

**УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ФАКУЛТЕТ:**



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊА ЛУЦИ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ БАЊА ЛУКА

Примљено: 2.3.2023.
Орг. јед. **Образац** Пр2лог

Heidoj

ИЗВЈЕШТАЈ

о оијени подобности теме, кандидата и ментора за израду докторске дисертације

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Орган који је именовао комисију: Научно-наставно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, наредовној сједници, те Сенат Универзитета у Бањој Луци на 78.сједници

Датум именовања комисије: 05.03.2022. године (Научно-наставно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци) и 24.03.2022. године (Сенат Универзитета у Бањој Луци)

Број одлуке: 18/3.230/2022 Научно-наставно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, те 02/04-3.379-46/22 Сенат Универзитета у Бањој Луци

Састав комисије:

1.	Проф. др Душан Шкиљевић	редовни професор	Дерматовенерологија
	Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
	Медицински факултет Универзитета у Београду		Предсједник
	Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
2.	Проф.др Мирјана Милинковић	редовни професор	Дерматовенерологија
	Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
	Медицински факултет Универзитета у Београду		члан
	Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
3.	Проф. др Лазар Ранин	редовни професор	медицинска микробиологија
	Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
	Медицински факултет Универзитета у Београду		члан
	Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
4.			
	Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
	Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
5.			
	Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област

Установа у којој је запослен-а

Функција у комисији

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

1. Име, име једног родитеља, презиме: Сања (Маринко) Умичевић Шипка
2. Датум рођења: 04.03.1984. Мјесто и држава рођења: Бања Лука БиХ, РС

Основне студије

Година уписа: 2003 Година завршетка: 2012 Просјечна оцјена током студија: 8,05

Универзитет: Универзитет у Бањој Луци

Факултет/и: Медицински факултет

Студијски програм: општи

Звање: доктор медицине, специјалиста дерматовенерологије

Мастер или магистарске студије

Година уписа: Година завршетка: Просјечна оцјена током студија:

Универзитет:

Факултет/и:

Студијски програм:

Звање:

Научна област:

Наслов завршног рада:

Докторске студије

Година уписа: 2016/17

Факултет/и: Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци

Студијски програм:

Број ЕЦТС до сада остварених: 120

Просјечна оцјена током студија: 9.6

Приказ научних и стручних радова кандидата

P. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија 1
1.	Umičević-Šipka Sanja , Balaban Jagoda, Bijelić Radojka Association between skin manifestations and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus; Vojnosanitetski pregled 2021;78:323-330.	

Кратак опис садржине: Uvod/Cilj. Dijabetes mellitus (DM) može biti udružen sa brojnim kožnim bolestima. Cilj naše studije bio je da se ustanovi uzorak i frekvencija kožnih manifestacija kod bolesnika sa DM tipa 2 i njihova povezanost sa glikemijskom kontrolom. Metode. Ova studija preseka sprovedena je na Klinici za kožne i polne bolesti, Univerzitetskog Kliničkog centra Republike Srpske, Banja Luka, Bosna i Hercegovina, u periodu od januara 2016. do januara 2018. godine. U studiju su bili uključeni odrasli bolesnici oba pola koji su imali kožne bolesti i DM tip 2. Glikemijska kontrola posmatrana je prema ciljnoj vrijednosti glikoliziranog hemoglobina (HbA1c) od 7%. Rezultati. U studiju je bilo uključeno 105 bolesnika (46% muškaraca i 54% žena), srednje dobi od $68,4 \pm 10$ godina, sa prosečnom vrednosti HbA1c od $8,3 \pm 1,6\%$. Nezadovoljavajuća glikemijska kontrola utvrđena je kod 74,3% bolesnika koji su imali prosečnu vrednost HbA1c $8,9 \pm 1,4\%$, a zadovoljavajuća kod 25,7% bolesnika sa prosečnom vrednosti HbA1c $6,7 \pm 0,2\%$ ($p < 0,001$). Među kožnim manifestacijama najzastupljenija je bila infekcija (43,4%). Bakterijska infekcija je bila najčešća (26,7%), a zatim gljivična infekcija (24,8%), kseroza kože (17,1%), psorijaza (15,2%), meki fibromi (14,3%), dijabetično stopalo (7,7%), prurigo (6,7%) i stazni dermatitis (5,7%). Druge kožne manifestacije uočene su sa manjom zastupljenosću. Utvrđena je značajna povezanost nezadovoljavajuće glikemijske kontrole sa infekcijama kože ($p = 0,09$). Zaključak. Najčešće kožne manifestacije kod bolesnika sa DM tipa 2 su infekcije. One su češće kod bolesnika sa nezadovoljavajućom glikemijskom kontrolom.

Рад припада проблематици докторске дисертације: ДА НЕ ДЈЕЛИМИЧНО

P. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
2.	Radojka Bijelic,Jagoda Balaban, Snjezana Milicevic, Sanja Umicevic Sipka . The Association of Obesity and Microvascular Complications with Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus; Med Arch. 2020 Feb; 74(1): 14–18.	

Кратак опис садржине: **Aim:** The aim of the study is to determine the association of obesity, microvascular complications with glycemic control in patients with type 2 diabetes. **Methods:** The study was prospective, involving 105 patients with type 2 diabetes. It was conducted at the University Clinical Center of the Republic of Srpska from January 2016 to January 2018. The patients were adults, of both sexes, suffering from type 2 diabetes, in whom complications of this disease are present. Glycemic control was evaluated based on a target HbA1c value of 7%. **Results:** Out of the 105 patients in the study, 45.8% were male, 54.2% female. The mean age of the patients was $68.3\% \pm 10.7$ years. The mean HbA1c level was

1 Категорија се односи на оне часописе и научне скупове који су категорисани у складу са Правилником о публиковању научних публикација („Службени гласник РС“, бр. 77/10) и Правилником о мјерилима за остваривање и финансирање Програма одржавања научних скупова („Службени гласник РС“, бр. 102/14).

$8.32 \pm 1.57\%$. Of the total number of patients, in 25.7% the HbA1c levels were $\leq 7.0\%$, while in 74.3% the HbA1c were $\geq 7.0\%$ ($p < 0.001$). There were 57.1% of obese patients, of whom 37.0% had HbA1c $\leq 7.0\%$, and 64.1% had HbA1c $\geq 7.0\%$ ($p < 0.014$). Depending on the duration of diabetes, the study found that $\geq 7.0\%$ HbA1c was more present in patients with an diabetes duration over 20 years (24.4%) compared with those who had had the diabetes for less than 20 years (3.8%) ($p < 0.037$). Microvascular complications were present in 58 patients (55.2%), of which 33.3% had normal HbA1c values, while unregulated glycemia had 62.8% ($p < 0.008$). Retinopathy was present in 40.9%, polyneuropathy 37.1% and nephropathy 32.4% from which the unregulated glycemia (HbA1c $\geq 7.0\%$) was present in 39.7% of patients compared to normal glycemic values in 11.1 % of respondents ($p < 0.006$). In 88 patients, certain diseases were present: hypertension in 76.2% of patients, cardiovascular disease 58.0% and hyperlipidemia 35.2%. **Conclusion:** Glycemia control in obese patients with type 2 diabetes mellitus is important especially for the prevention of serious microvascular complications that significantly affect the quality of life of patients.

<i>Рад припада проблематици докторске дисертације:</i>	ДА	НЕ	ДЈЕЛИМИЧНО
--	----	----	------------

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
1.		

Кратак опис садржине:

<i>Рад припада проблематици докторске дисертације:</i>	ДА	НЕ	ДЈЕЛИМИЧНО
--	----	----	------------

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
1.		

Кратак опис садржине:

<i>Рад припада проблематици докторске дисертације:</i>	ДА	НЕ	ДЈЕЛИМИЧНО
--	----	----	------------

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
1.		

Кратак опис садржине:

<i>Рад припада проблематици докторске дисертације:</i>	ДА	НЕ	ДЈЕЛИМИЧНО
--	----	----	------------

Да ли кандидат испуњава услове?

ДА

НЕ

III ПОДАЦИ О МЕНТОРУ/КОМЕНТОРА

Биографија ментора/коментора (до 1000 карактера):

Доц. др Мирјана Гајић-Вељић

Медицински факултет у Београду, Катедра дерматовенерологије, Универзитетски клинички центар Србије, Клиника за дерматовенерологију, од 2017- до данас: доцент

Стручна биографија дипломе и звања:

1.Основне студије: Медицински факултет у Београду, 1989-1996.

2.Последипломске магистарске студије: Медицински факултет у Београду 2004.

Назив магистарског рада: „Аутоимунске булозне дерматозе са субепидермалним расцепом у дечијем узрасту – корелација клиничких, хистопатолошких и имунопатолошких параметара”

3.Докторске студије: Медицински факултет у Београду 2016.

Наслов докторске дисертације: „Антинеутрофилна цитоплазматска антитела – значај за дијагнозу и процену активности системског лупуса и лупуса индукованог леком“

4.Последипломске специјалистичке студије: Медицински факултет у Београду 2020.

Назив специјалистичког рада: „Системски лупус еритематозус у дечијем узрасту – клиничке и имуносеролошке карактеристике и ток болести“

Учешће на пројектима:

Пројекат Министарства за науку Републике Србије „Клинички значај поређења урођене и стечене имуности код имуноинфламаторних и имунодефицијентних оболења“, бр. 175065, руководилац пројекта проф. др Милош Николић (од 2011. године)

Предавач по позиву:

1. ANCA in lupus erythematosus: Is it important for the patient management? 11th Spring Symposium of the European Academy of Dermatology and Venereology. Belgrade, 2014.
2. Tinea capitis код деце – клиничке и епидемиолошке карактеристике. Трећи симпозијум Дијагноза и терапија гљивичних оболења. Друштво медицинских миколога, 2012.
3. Аутоимунске булозне дерматозе дечијег доба. Симпозијум Аутоимунске булозне дерматозе, 2014.
4. Condylomata acuminata kod dece. 1st Balkan cluster meeting, Belgrade, 2016.
5. Novine u pedijatrijskoj dermatologiji: Hand-foot-mouth disease i morbus Kawasaki. Центар за научноистраживачки рад, образовно наставну делатност и људске ресурсе, КЦС, Београд, 2016.
6. Болест "шака, стопало, уста" (енгл. hand-foot-and-mouth disease), Гениталне брадавице (condylomata acuminata) код деце, Педијатријска школа Србије, 2017.
7. Аногениталне брадавице у пременархалном узрасту, Конгрес дечије и адолосцентне гинекологије Србије, 2018.
8. Childhood acne, 20. Београдски дерматолошки дани, 2018.
9. Spectrum of SLE. 28th Congress of European Academy of Dermatology and Venereology, Madrid, 2019
10. Congenital ichthyosis: What is already known and new insight? 21. Београдски дерматолошки дани, 2019.
11. Аутоимунске булозне дерматозе у дечијем узрасту, Конгрес Удружења за превентивну педијатрију Србије, 2019.
12. Psoriasis in children, IV Конгрес Удружења дерматолога Црне Горе, 2019.
13. Spectrum of SLE. European Academy of Dermatology and Venereology (EADV) Virtual Congress, 2021.

14. Псоријаза у дечијем узрасту: изазови у дијагностици и лечењу, Конгрес Удружења за превентивну педијатрију Србије, 2020.
15. Витилиго и друге хипопигментације Конгрес Удружења за превентивну педијатрију Србије, 2021.
16. Аутоимунске булозне дерматозе, Школа дерматологије Удружења дерматовенеролога Србије, 2020.
17. Аутоимунске булозне дерматозе, Школа дерматологије Удружења дерматовенеролога Србије, 2021.
18. Фотодерматозе у дечијем узрасту, 2. Регионални Конгрес Интернационалног Удружења Превентивне педијатрије и 24. Јесењи стручни састанак Удружења педијатара Републике Српске, 2021.
19. Атопијски дерматитис: како га препознати и лечити према савременим терапијским водичима. Симпозијум Алергија и ја, Београд, 2021.

Радови из области којој припада приједлог докторске дисертације:

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница
1.	Gajic-Veljic M., Lekic B., Nikolic M. et al. Level and avidity of antineutrophil cytoplasmic antibodies specific to lactoferrin are useful biomarkers in systemic lupus erythematosus. <i>Clin Rheumatol</i> (2021). https://doi.org/10.1007/s10067-021-05926-x
2.	Gajic-Veljic M, Bonaci-Nikolic B, Lekic B, Skiljevic D, Cirić J, Zorić S, Stojimirović B, Nikolic M. Importance of low serum DNase I activity and polyspecific anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in propylthiouracil-induced lupus-like syndrome. <i>Rheumatology (Oxford)</i> 2015;54:2061-70.
3.	Lalosevic J, Gajic-Veljic M, Bonaci-Nikolic B, Stojkovic-Lalosevic M, Nikolic M. Combined intravenous pulse and topical corticosteroid therapy for severe alopecia areata in children: comparison of two regimens. <i>Derm Ther</i> , October 2019, DOI: 10.1111/dth.13092
4.	Gajic-Veljic M, Nikolic M, Peco-Antic A, Bogdanovic R, Andrejevic S, Bonaci-Nikolic B. Granulomatosis with polyangiitis (Wegener's granulomatosis) in children: report of three cases with cutaneous manifestations and literature review. <i>Pediatr Dermatol</i> . 2013;30:e37-42.
5.	Gajic-Veljic M, Nikolic M, Medenica L. Juvenile bullous pemphigoid: the presentation and follow-up of six cases. <i>J Eur Acad Dermatol Venereol</i> . 2010;24:69-72.

Да ли ментор испуњава услове?

ДА

НЕ

III ПОДАЦИ О КОМЕНТОРУ

Биографија коментора (до 1000 карактера):
проф. др Александра Шмитран

позиција:

ванредни професор на катедри за микробиологију и имунологију Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци,
професор на Вишој медицинској школи у Приједору

Образовање:

1. Доктор наука у области медицинских наука Медицински факултет Универзитета у Београду, 2013. године,
2. Специјалиста медицинске микробиологије са паразитологијом, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, 2009. године,
3. Магистар медицинских наука Медицински факултет Универзитета у Београду, 2006. године,
4. Доктор медицине, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, 2002. године,

Професионалне вјештине и компетенције:

Поље експертизе:

1. медицинска микробиологија
2. јавно здравље
3. наночестице и нанокомпозити

Докази професионалне компетенције:

1. учешће у пројектима Министарство за научнотехнолошки развој, високо образовање и информационо друштво и Хоризонт 2020
2. предавач по позиву на скуповима у Републици Српској и иностранству (Србија): до сада је одржала 1 предавање по позиву у Републици Српској и 5 предавања у Републици Србији
3. цитираност и X индекс: објавила је 39 радова у домаћим и иностраним индексираним часописима (19 радова на WOS листи), има 79 цитата и X-индекс 6.
4. чланство у Удружењу микробиолога Републике Српске и Удружењу микробиолога Србије
5. компјутерске вјештине: добро радно знање програма пакета MS Office (MS Word, MS Excel, MS PowerPoint, MS Access)

Радови из области којој припада приједлог докторске дисертације:

P. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница
1.	Šmitran A, Vuković D, Opavski N, Gajić I, Marinković J, Božić L, Živanović I, Kekić D, Popović S, Ranin L. Influence of subinhibitory antibiotic concentration on <i>Streptococcus pyogenes</i> adherence and biofilm production. <i>Acta Microbiol Immunol Hung.</i> 2018;65(2):229-240.
2.	Šmitran A, Vuković D, Gajić I, Marinković J, Ranin L. Effects of penicillin and erythromycin on adherence of invasive and noninvasive isolates of <i>Streptococcus pyogenes</i> to laminin. <i>Mem Inst Oswaldo Cruz.</i> 2015;110(5):684-6.
3.	Šmitran A, Božić Lj, Đermanović M, Bojanjić LJ, Jelić D. Nanocomposite (clay based) as a suitable carriers for bioactive molecules: stability and antimicrobial aspect. <i>JHED</i> 2021;45:34-41.
4.	Bubic Pajic N, Nikolic I, Mitsou E, Papadimitriou V, Xenakis A, Randjelovic D, Dobricic V, Šmitran A, Cekic N, Calija B, Savic S. Biocompatible microemulsions for improved dermal delivery of sertaconazole nitrate: Phase behavior study and microstructure influence on drug biopharmaceutical properties. <i>J Mol Liq.</i> 2018;272:746-758.

5.	Radovanovic RS, Savic NR, Ranin L, Smitran A, Opavski NV, Tepavcevic AM, Ranin J, Gajic I. Biofilm Production and Antimicrobial Resistance of Clinical and Food Isolates of <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Curr Microbiol.</i> 2020;77(12):4045-4052.
6.	Šmitran A, Opavski N, Marinković J, Gajić In, Ranin L. Adherence and biofilm production of invasive and noninvasive isolates of <i>Streptococcus pyogenes</i> after hyaluronidase treatment. <i>Arch Biol Sci Belgrade</i> 2013;65(4):1353-1361.
7.	Božić L, Jovanović T, Šmitran A, Janković M, Knežević A. Comparison of HPV detection rate in formalin-fixed paraffin-embedded tissues of head and neck carcinoma using two DNA extraction kits and three amplification methods. <i>Eur J Oral Sci.</i> 2020;128(6):501-507.

Да ли коментор испуњава услове?

ДА

НЕ

IV ОЦЈЕНА ПОДОБНОСТИ ТЕМЕ

Формулација назива тезе (наслова)

- 1) Повезаност диверзитета микробиома дигестивног тракта и генотипова кожних изолата *Staphylococcus aureus* са атопијским дерматитисом дјече

Наслов тезе је подобан?

ДА

НЕ

Предмет истраживања

Атопијски дерматитис (АД) је хронична рецидивирајућа упална болест коже која се јавља код особа са атопијском конституцијом. АД захвата око 20% дјече, те око 1-3% одраслих. Иако се код готово 70% дјече успоставља ремисија до пунолетности, уочено је да ће се у каснијем току живота код 50% дјече са АД јавити астма, односно код 75% алергијски ринитис. АД има изузетно велики значај на квалитет живота и оболјелог дјетета и читаве породице. Иако ово оболење није смртоносно, рани почетак и хроничан ток болести, висока учесталост у педијатријској популацији, значајни финансијски трошкови неопходни за лијечење и за прилагођавање свакодневном животу малих пацијената, утицај на квалитет живота и психосоцијални развој дјетета, сврстава АД међу један од водећих јавноздравствених проблема и најзначајније хронично кожно оболење.

Патогенеза АД је изузетно комплексна и мултифакторијална, и сматра се да настаје као посљедица генетске предиспозиције и утицаја средине. Атопијска конституција се односи на удруженост са другим атопијским болестима, као и на повећан ниво имуноглобулина Е и проинфламаторних цитокина (интерлеукини 4, 5 и 10) на ниву кожне баријере. Генетска предиспозиција подразумијева поремећај у регулацији експресије ензима који локално доводе до трансепидермалног губитка воде и смањене влажности коже, као и до смањеног лучења масних киселина (гамалиноленска и дигамалиноленска киселина) са заштитном улогом. Посебно је истакнут поремећај у стварању филагрина, кожног протеина, који доводи до прекида кожног интегритета и перутања (љускања). Фактори средине најчешће имају улогу окидача који доводе до настанка прве епизоде болести, а касније могу изазвати рецидиве и погоршања ове хроничне упалне реакције. Од фактора средине се наводе инхалаторни и алиментарни алергени, као и микроорганизми који кожу и слузнице обольеле особе. Најновија истраживања дају посебан утицај саставу микроорганизама који се налазе на кожи и слузницама човјека, а који се сматра једном цјелином и назива микробиом. Иако су одређени дијелови тијела међусобно мање или више удаљени, микроорганизми својим присуством или дејством својих структурних и секреторних фактора вируленције могу дјеловати синергистички у циљу покретања упалног процеса. Кад је у питању АД, доказано је постојање дисбиозе кожног микробиома, као и интеракција цријевног микробиома на упални процес у кожи и успостављање кожно-циријевне осовине преко продуката микроорганизама који се преносе крвљу и лимфом. С обзиром на изузетно комплексну патогенезу болести, истраживачи широм свијета се концентришу на појединачне факторе и детаљно испитују њихов појединачан утицај на АД.

Предмет истраживања је подобан?

ДА

НЕ

Најновија истраживања познавања предмета дисертације на основу изабране литературе са списком литературе

АД је хронично упално оболење коже код којег се генетски поремећај у стварању филагрина сматра најзначајнијим предиспонирајућим фактором, који има улогу и у настанку болести, као и у њеном току и прогнози (13). Филагрин је структурни протеин рожнаторог слоја епидерма који везује кератин, стварајући компактан интрацелуларни матрикс, неопходан за правилно функционисање коже. Ген за протеин је смештен у саставу комплекса за епидермалну диференцијацију на кратком краку првог хромозома (1q21). Поремећај у експресији филагрина може да варира од комплетног одсуства експресије, до стварања различитих генских полиморфизама са некомплетном или нефункционалном експресијом, која доводи до примарног дефекта у стварању кератиноцита и оштећења кожног интегритета, што олакшава колонизацију и продор алергена и микроорганизама и покретање упалног процеса (14). Утврђено је да су одређене мутације гена за филагрин удружене са тежом клиничком сликом и лошијом прогнозом за даљи ток болести у каснијем животу (13). Због тога је веома важно утврдити да ли код испитаника постоји мутација у гену за филагрин, као и најчешћи типови мутација (полиморфизми) који се јављају у Европи. У околним земљама су утврдили да постоји удруженост одређених полиморфизама код дјече са АД (15, 16), те би овим истраживањем први пут била урађено овакво испитивање и код нас.

Људско тијело је асоцијација човјека и микробиома коју чине популација бактерија, паразита, вируса и гљивица који нас насељавају, а заједно граде један недјељив систем назван хумани микробиом. Утврђено је да састав микробиома на рођењу може утицати на јављање оболења касније у животу. Састав микробиома на рођењу је директна посљедица састава мајчиног микробиома, начина порода и начина прехране новорођенчета (мајчино или адаптирано млијеко) (17). С обзиром да микробиом представља живи систем, мијењање његовог састава током живота има имуномодулаторну улогу у активацији упалних процеса у организму. Цријевни микробиом може да дјелује на кожу и ток АД на три различита начина: метаболички, имуномодулаторно и неуроендокрино (18). По питању састава цријевног микробиома, доказано је да дјече са АД имају измијењен састав (доминирају бактерије из родова *Bacteroides* и *Clostridium*) у односу на здраву дјецу из сличне популације, где доминирају бактерије из родова *Prevotella*, *Xylanibacter* и *Streptococcus* (18, 19). Због тога су фармацеутске компаније почеле да синтетишу и пробиотике специфичног састава у циљу измјене састава цријевног микробиома и смањења упалног процеса са мањим или већим успјехом, зависно од састава испитиваног пробиотика (20). Најновији неконвенционални начин терапије АД је спроведен трансплантијом фекалне микробиоте, као покушајем дјеловања на дисбиозу цријевног микробиома, а у циљу смањења упалног процеса на нивоу коже преко кожно-циријевне осовине (21). Нашим истраживањем би се по први пут у Републици Српској спровеле метагеномске анализе и напредне молекуларно-биоинформатичке технике следеће генерације, које представљају најновије достигнуће на пољу генетике. Помоћу ових анализа бисмо поредили састав цријевног микробиома оболелих од АД са цријевним микробиомом њихових браће и сестара који не болују од АД.

Осим цријевног микробиома, значајну улогу у настанку АД имају бактерије у саставу

кожног микробиома, који је у односу на цријевни микробиом значајно сиромашнији. Утврђено је да пациенти са АД често имају инфекцију или колонизацију са бактеријом *Staphylococcus aureus*, која својим присуством на кожним промјенама појачава упалну реакцију на локалном нивоу, највјероватније дејством токсина, ензима и суперантигена који покрећу продукцију проинфламаторних цитокина на мјесту колонизације или инфекције (22). *Staphylococcus aureus* има изузетно велики број различитих фактора вируленције који омогућавају ефикасну адхеренцију, инвазију у ткива и активацију имунског одговора. У доступној литератури постоје подаци о повезаности АД са неким од стафилококних фактора вируленције, попут ентеротоксина А и Б, те фактора агрегације Б (*clumping factor B*), као и корелацију одређених генотипова (клоналних комплекса) ове бактерије са егзацебацијом оболења код одраслих (23, 24). Наше испитивање би обухватило секвенцирање читавог генома изолата *Staphylococcus aureus* добијених са различитих дијелова тијела оболелих од АД. На овај начин би се испитао већи број фактора вируленције одговорних за адхеренцију и инвазивност као што су адхезини одговорни за везивање протеина екстрацелуларног матрикса (*FnBPA*, *FnBPB*, *ClfA*, *ClfB*, *IsdA*, *Ebp*, *Lbp*, *Can*, *Bbp*), токсини ексфолијатин, ентеротоксини А-Е, токсини слични ентеротоксинима *K-Q* (*SEIK*, *SEIL*, *SEIM*, *SEIN*, *SEIO*, *SEIR*, *SEIP*, *SEIQ*), стафилококни токсични шок синдром токсин, ензими хијалуронидаза и ДНазаБ, који су неопходни за успостављање колонизације и оштећење хуманих кератиноцита, чиме се покреће инфламаторни процес (25-28). Такође, биће додатно анализирано присуство ове бактерије и у групи здравих испитаника контролне групе, у циљу утврђивања евентуалног циркулисања ове бактерије унутар чланова исте породице. Овим истраживањем ће се разјаснити да ли исти генотипови колонизују и здраве и оболеле сроднике, чиме ће се утврдити директна повезаност одређених *Staphylococcus aureus* генотипова као окидача упалне реакције у кожи оболелих испитаника педијатријске популације.

Поред наведених фактора вируленције који учествују у успостављању колонизације и каснијем оштећењу кератиноцита, најновији подаци указују да је продукција биофилма значајан фактор вируленције неопходан за дуготрајан опстанак ове бактерије на површини коже (29, 30). Биофилм представља сесилну заједницу микроорганизама који су иреверзибилно везани међусобно, као и за супстрат који колонизују, захваљујући продукцији екстрацелуларног полисахаридног матрикса. Поласахаридни матрикс производе бактерије, и то тек након што добију сигнал да пређу из планктонског вида живота у заједнички, сесилни начин током којег стварају биофилм. Унутар биофилма се бактерије фенотипски и генетски разликују у односу на планктонске сојеве од којих су потекле (31). Једанпут успостављена инфекција бактеријом која има способност продукције биофилма, најчешће је дуготрајна и веома тешко изљечива. Због тога се продукција биофилма као доминантног фактора вируленције доводи у везу са око 65% инфекција, које су најчешће хроничног карактера или повезане са страним тијелима или вјештачким имплантима на којима се биофилм одлично успоставља и одржава током дужег временсог периода. Способност продукције биофилма *Staphylococcus aureus* изолата је доказана и испитана код различитих група пацијената (32, 33). Кад је у питању однос између АД и колонизације кожних промјена са *Staphylococcus aureus* изолатима, утврђено је да сојеви са способношћу продукције биофилма значајно погоршавају клиничку слику оболелих (29). Један од циљева овог истраживања ће бити и испитивање способности продукције биофилма код изолованих *Staphylococcus aureus* сојева, да би се уочило постојање евентуалне разлике у продукцији биофилма између контролне и експерименталне групе, као и разлике у формирању биофилма везано за различите локализације изолата (брис носа, аксиле и кожних промјена код контролне и експерименталне групе).

С обзиром да је патогенеза АД изузетно сложена и мултифакторијална, сви они

заједничким дејством у још увијек недовољно разјашњеним корелацијама доводе до скретања имунског одговора у правцу Tx2 ћелијског одговора са изразитом експресијом и продукцијом цитокина карактеристичних за ове ћелије, а то су интерлеукини *IL-4*, *IL-5* и *IL-13*, те према најновијим истраживањима и *IL-31* (34). *IL-4* смањује продукцију церамида, који имају заштитну улогу на површини епидермиса, те олакшава колонизацију *Staphylococcus aureus* сојева индукцијом експресије његових адхезина (35). Колики је њихов значај најбоље говори чињеница да се њихови инхибитори користе у лијечењу оболјелих од АД, као комерцијални или експериментални лијекови (36, 37). С обзиром на разјашњену улогу ових цитокина, наш циљ је да у овом истраживању укључимо и испитивање једног од наведених цитокина, *IL-4*, који истовремено има улогу и у егзацербацији клиничке слике и у олакшавању колонизације *Staphylococcus aureus* на захваћене дијелове коже. Покушаћемо да анализирамо евентуалну корелацију између повећане продукције овог цитокина у циркулацији, тежине клиничке слике изражене преко *Severity scoring of atopic dermatitis* (*SCORAD* индекса) и колонизације са одређеним генотиповима *Staphylococcus aureus*.

13. Drislane C, Irvine AD. The role of filaggrin in atopic dermatitis and allergic disease. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2020 Jan;124(1):36-43. doi: 10.1016/j.anai.2019.10.008.
14. Irvine AD, McLean WH. Breaking the (un)sound barrier: filaggrin is a major gene for atopic dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2006 Jun;126(6):1200-2. doi: 10.1038/sj.jid.5700365. PMID: 16702964.
15. Jurakic Toncic R, Kezic S, Jakasa I, Ljubojevic Hadzavdic S, Balic A, Petkovic M, Pavicic B, Zuzul K, Marinovic B. Filaggrin loss-of-function mutations and levels of filaggrin degradation products in adult patients with atopic dermatitis in Croatia. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020 Aug;34(8):1789-1794. doi: 10.1111/jdv.16232.
16. Smieszek SP, Welsh S, Xiao C, Wang J, Polymeropoulos C, Birznieks G, Polymeropoulos MH. Correlation of age-of-onset of Atopic Dermatitis with Filaggrin loss-of-function variant status. *Sci Rep.* 2020 Feb 17;10(1):2721. doi: 10.1038/s41598-020-59627-7. PMID: 32066784; PMCID: PMC7026049.
17. Gołębiewski M, Łoś-Rycharska E, Sikora M, Grzybowski T, Gorzkiewicz M, Krogulska A. Mother's Milk Microbiome Shaping Fecal and Skin Microbiota in Infants with Food Allergy and Atopic Dermatitis: A Pilot Analysis. *Nutrients.* 2021 Oct 14;13(10):3600. doi: 10.3390/nu13103600. PMID: 34684601; PMCID: PMC8537811.
18. Dou J, Zeng J, Wu K, Tan W, Gao L, Lu J. Microbiosis in pathogenesis and intervention of atopic dermatitis. *Int Immunopharmacol.* 2019 Apr;69:263-269. doi: 10.1016/j.intimp.2019.01.030. Epub 2019 Feb 8. PMID: 30743202.
19. Mahdavinia M, Rasmussen HE, Botha M, Binh Tran TD, Van den Berg JP, Sodergren E, Davis E, Engen K, Gray C, Lunjani N, Hlela C, Preite NZ, Basera W, Hobane L, Watkins A, Engen P, Mankahla A, Gaunt B, Thomas F, Tobin MC, Landay A, Weinstock GM, Keshavarzian A, Levin ME. Effects of diet on the childhood gut microbiome and its implications for atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2019 Apr;143(4):1636-1637.e5. doi: 10.1016/j.jaci.2018.11.034. Epub 2018 Dec 19. PMID: 30578881.
20. Climent E, Martinez-Blanch JF, Llobregat L, Ruzafa-Costas B, Carrión-Gutiérrez MÁ, Ramírez-Boscá A, Prieto-Merino D, Genovés S, Codoñer FM, Ramón D, Chenoll E, Navarro-López V. Changes in Gut Microbiota Correlates with Response to Treatment with Probiotics in Patients with Atopic Dermatitis. A Post Hoc Analysis of a Clinical Trial. *Microorganisms.* 2021 Apr 15;9(4):854. doi: 10.3390/microorganisms9040854. PMID: 33921166; PMCID: PMC8071520.
21. Kim JH, Kim K, Kim W. Gut microbiota restoration through fecal microbiota transplantation: a new atopic dermatitis therapy. *Exp Mol Med.* 2021 May;53(5):907-916. doi:

- 10.1038/s12276-021-00627-6. Epub 2021 May 20. PMID: 34017060; PMCID: PMC8178377.
22. Byrd AL, Deming C, Cassidy SKB, et al. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strain diversity underlying pediatric atopic dermatitis. *Sci Transl Med*. 2017;9(397):eaal4651. doi:10.1126/scitranslmed.aal4651
23. Rustad, Andrea M.; Nickles, Melissa A.; Lio, Peter A. Atopic Dermatitis and *Staphylococcus aureus*, *Journal of the Dermatology Nurses' Association*: 5/6 2021; 13 (3):162-167. doi: 10.1097/JDN.0000000000000619
24. Clausen ML, Edslev SM, Andersen PS, Clemmensen K, Krogfelt KA, Agner T. *Staphylococcus aureus* colonization in atopic eczema and its association with filaggrin gene mutations. *Br J Dermatol*. 2017;177(5):1394-1400. <https://doi.org/10.1111/bjd.15470>
25. Formosa-Dague C , Fu ZH , Feuillie C , Derclaye S , Foster TJ , Geoghegan JA , Dufrêne YF . Forces between *Staphylococcus aureus* and human skin. *Nanoscale Horiz*. 2016 Jul 20;1(4):298-303. doi: 10.1039/c6nh00057f. Epub 2016 May 6. PMID: 32260649.
26. Nowrouzian FL, Dauwalder O, Meugnier H, Bes M, Etienne J, Vandenesch F, Lindberg E, Hesselmar B, Saalman R, Strannegård IL, Aberg N, Adlerberth I, Wold AE, Lina G. Adhesins and superantigen genes and the capacity of *Staphylococcus aureus* to colonize the infantile gut. *J Infect Dis*. 2011 Sep 1;204(5):714-21. doi: 10.1093/infdis/jir388. PMID: 21844297.
27. Nowrouzian FL, Ljung A, Nilsson S, Hesselmar B, Adlerberth I, Wold AE. Neonatal gut colonization by *Staphylococcus aureus* strains with certain adhesins and superantigens is negatively associated with subsequent development of atopic eczema. *Br J Dermatol*. 2019 Jun;180(6):1481-1488. doi: 10.1111/bjd.17451. Epub 2019 Jan 15. PMID: 30474111.
28. Hwang J, Thompson A, Jaros J, Blackcloud P, Hsiao J, Shi VY. Updated understanding of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: From virulence factors to commensals and clonal complexes. *Exp Dermatol*. 2021 Oct;30(10):1532-1545. doi: 10.1111/exd.14435. Epub 2021 Jul 30. PMID: 34293242.
29. Gonzalez T, Stevens ML, Baatyrbek Kyzy A, Alarcon R, He H, Kroner JW, Spagna D, Grashel B, Sidler E, Martin LJ, Biagini Myers JM, Khurana Hershey GK, Herr AB. Biofilm propensity of *Staphylococcus aureus* skin isolates is associated with increased atopic dermatitis severity and barrier dysfunction in the MPAACH pediatric cohort. *Allergy*. 2020 Jul 8. doi: 10.1111/all.14489. Epub ahead of print. PMID: 32640045.
30. Blicharz L, Michalak M, Szymanek-Majchrzak K, Mlynarczyk G, Skowroński K, Rudnicka L, Samochocki Z. The Propensity to Form Biofilm in vitro by *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from the Anterior Nares of Patients with Atopic Dermatitis: Clinical Associations. *Dermatology*. 2020 Oct 28:1-7. doi: 10.1159/000511182. Epub ahead of print. PMID: 33113538.
31. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002 Apr;15(2):167-93. doi: 10.1128/cmrr.15.2.167-193.2002. PMID: 11932229; PMCID: PMC118068.
32. Schilcher K, Horswill AR. Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2020 Aug 12;84(3):e00026-19. doi: 10.1128/MMBR.00026-19.
33. Luther MK, Parente DM, Caffrey AR, Daffine KE, Lopes VV, Martin ET, LaPlante KL. Clinical and Genetic Risk Factors for Biofilm-Forming *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018 Apr 26;62(5):e02252-17. doi: 10.1128/AAC.02252-17.
34. Bodoor K, Al-Qarqaz F, Heis LA, et al. IL-33/13 Axis and IL-4/31 Axis Play Distinct Roles in Inflammatory Process and Itch in Psoriasis and Atopic Dermatitis. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2020;13:419-424. doi:10.2147/CCID.S257647).
35. Brauweiler AM, Goleva E, Leung DYM. *Staphylococcus aureus* Lipoteichoic Acid Initiates a TSLP-Basophil-IL4 Axis in the Skin. *J Invest Dermatol*. 2020;140(4):915-917.e2. doi:10.1016/j.jid.2019.09.004.

36. D'Ippolito D, Pisano M. Dupilumab (Dupixent): An Interleukin-4 Receptor Antagonist for Atopic Dermatitis. *P T*. 2018;43(9):532-535.
37. Guttman-Yassky E, Blauvelt A, Eichenfield LF, et al. Efficacy and Safety of Lebrikizumab, a High-Affinity Interleukin 13 Inhibitor, in Adults With Moderate to Severe Atopic Dermatitis: A Phase 2b Randomized Clinical Trial. *JAMA. Dermatol.* 2020;156(4):411–420. doi:10.1001/jamadermatol.2020.0079

Избор литературе је одговарајући?

ДА

НЕ

Циљеви истраживања

- 1) утврдити да ли поремећен састав цијевног микробиома, те колонизација коже одређеним *Staphylococcus aureus* генотиповима има улогу у перзистенцији упалне реакције у кожи код пацијената са атопијским дерматитисом.
- 2) одредити састав и разлике у цијевном микробиому код испитаника експерименталне и контролне групе,
- 3) анализирати да ли постоји разлика у колонизацији код испитаника експерименталне и контролне групе одређеним генотиповима сојева *Staphylococcus aureus*,
- 4) одредити присуство, односно одсуство специфичних фактора вируленције код сојева *Staphylococcus aureus* изолованих од испитаника експерименталне и контролне групе
- 5) утврдити евентуално присуство генског полиморфизма за филагрин код испитаника експерименталне и контролне групе
- 6) уочити, евентуално, присутне разлике у лабораторијским биохемијским и имунолошким анализама (укупни и специфични нутритивни и инхалаторни IgE, комплетна крвна слика, интерлеукин 4) код испитаника експерименталне и контролне групе
- 7) утврдити да ли код испитаника експерименталне групе постоји повезаност повишене вриједности интерлеукина 4 са тежином клиничке слике (SCORAD индекс) и колонизације одређеним генотиповима *Staphylococcus aureus* сојева

Циљеви истраживања су одговарајући?

ДА

НЕ

Хипотезе истраживања: главна и помоћне хипотезе

Главна хипотеза:

Састав цијевног микробиома и генотипови *Staphylococcus aureus* изоловани са коже код дјеце обольеле од атопијског дерматитиса су карактеристични и различити у односу на здраве сроднике из исте породице.

Помоћне хипотезе:

X1. Обольели од атопијског дерматитиса имају различит састав цијевног микробиома у односу на здраве особе исте доби са којима нису у сродству.

X2. Присуство карактеристичних адхезина и токсина код *Staphylococcus aureus* изолата су директно повезани са упалном реакцијом у кожи обольелих од атопијског дерматитиса.

X3. Изражена продукција биофилма код сојева *Staphylococcus aureus* изолованих са

промјена на кожи пацијената са атопијским дерматитисом се доводи у корелацију са тежом клиничком сликом оболелих.

Хипотезе истраживања су јасно дефинисане?

ДА

НЕ

Очекивани резултати хипотезе

Очекивани резултати који се односе на статистички значајну разлику у присуству и факторима вируленције *Staphylococcus aureus* сојева у брисевима испитаника са АД у односу на контролну групу ће омогућити да се код оваквих пацијената дају препоруке за трагањем за овим сојевима код свих АД пацијената у циљу превенције преноса ове бактерије из носа/ аксила на дијелове тијела са АД и смањена инфламаторног одговора. Како се претпоставља да микробиом дигестивног тракта у великој мјери утиче на микробиом коже и упални процес током АД, познавање састава цријевног микробиома код сваког пацијента понаособ ће омогућити индивидуални приступ у третирању сваког пацијента са одређеним врстама пробиотских бактерија. Индивидуална терапија се данас сматра најсавременијим приступом, а с обзиром да су у питању дјеца, њен допринос је немјерљив и у садашњости и током њихове будућности. Такође, подаци добијени из епидемиолошког упитника ће дати одговоре на значај одређених социјално- епидемиолошких фактора који ће моћи да се касније у раду примијене као савјети у циљу квалитетнијег живота оболелих од АД.

Очекивани резултати представљају значајан научни допринос? **ДА** **НЕ**

План рада и временска динамика

1. фаза: формирање експерименталне и контролне групе испитаника током првих шест мјесеци 2022. године; кандидат ће у овом периоду да одреди који кандидати испуњавају услове да уђу у састав експерименталне и контролне групе током прегледа на Клиници за кожне болести УКЦ Бањалука; том приликом ће родитељи испитаника бити упознати са истраживањем, потписати информисани пристанак и дати сагласност за учешће у истраживању и испунити епидемиолошки упитник, а од испитаника бити узети узорци за истраживање.
2. фаза: током првих шест до осам мјесеци 2022. године вршиће се обрада узорака (екстракција, култивација и замрзавање екстраховане ДНК) узетих од испитаника у Лабораторији за микробиологију Биомедицинског центра. Након обраде свих узорака, у Лабораторији за генетику и Лабораторији за микробиологију ће се урадити испитивање продукције биофилма и молекуларне анализе које су доступне у нашој установи (детекција филагринског генотипа).
3. фаза: током друге половине 2022. године ће се одрадити софицициране молекуларне методе сљедеће генерације (одређивање састава цријевног микробиома и секвенцирање читавог генома кожних изолата *Staphylococcus aureus*) у установама ван наше државе, које располажу оваквим биомедицинским и биоинформатичким апаратима.
4. фаза: крајем 2022. године ће се вршити анализа добијених резултата помоћу одговарајућих статистичких тестова и софтвера.

Прву, другу и четврту фазу ће изводити кандидат уз активан надзор и консултације

ментора и коментора. Трећа фаза подразумијева рад на високо софистицираним уређајима који изводе молекуларни биолози који су стручно оспособљени за рад на овим машинама.

План рада и временска динамика су одговарајући?

ДА

НЕ

Метод и узорак истраживања

А) Испитаници:

Испитаници ће бити дјеца старости од 2 до 18 година са дијагнозом атопијског дерматитиса- 30 испитаника експерименталне групе. Контролну групу ће чинити 30 здравих испитаника педијатријске популације који су браћа или сестре испитаника експерименталне групе, а који су без симптома атопијског дерматитиса или неке друге алергијске болести (алергијски ринитис, алергијски конјуктивитис, астма). Током првог прегледа и разговора и испитаник и родитељ/старатељ ће бити додатно информисани о могућности укључивања у студију. У случају заинтересованости за учешће у студији родитељ/старатељ ће потписати Информисани пристанак. Информисани пристанак је дио документације који смо предали Етичком одбору УКЦ Републике Српске, и који је одобрен у октобру 2021. године. Такође, експериментално истраживање ће се спроводити у складу са дозволом Етичке комисије Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци.

Испитаницима са атопијским дерматитисом је постављена дијагноза на основу: клиничке слике, односно најчешће кориштених критеријума Ханифин и Рајка,. Да би особа добила дијагнозу атопијског дерматитса, неопходно је да има 3 или више главних и 3 или више споредних критеријума.

Процјене тежине клиничке слике помоћу *Severity scoring of atopic dermatitis (SCORAD индекс)*, лабораторијских биохемијских и имунолошких анализа (укупни и специфични нутритивни и инхалаторни имуноглобулини Е, комплетна крвна слика, интерлеукин 4, урађени у претходних мјесец дана). Од нутритивних алергена радиће се алергени који се најчешће доводе у везу са АД: млијеко и протеини крављег млијека, бјелањак и жумањак јајета, соја, бијело брашно, кикирики, риба). Од инхалаторних алергена ће се радити гриње кућне прашине (2 врсте), микс трава, епител мачке и пса, бреза, споре плијесни.

Критеријуми за укључивање у студију:

1. пациенти узраста 2 до 18 година са клиничком slikom атопијског дерматитиса који имају млађе или старије сроднике (браћу и сестре) без дијагнозе атопијског дерматитиса или неке друге атопијске болести (атописки марш)
2. пациенти који имају претходно урађене лабораторијске биохемијске и имунолошке анализе (укупни и специфични нутритивни и инхалаторни имуноглобулин Е, комплетна крвна слика, интерлеукин 4),

Критеријуми за неукључивање:

1. пациенти узраста 2 до 18 година са клиничком slikom атопијског дерматитиса који имају једнојајчане близанце,
2. пациенти који су користили топикалну антибиотску и/или имуносупресивну (кортикостероиди) терапију у претходних 15 дана,
3. пациенти који користе оралну антибиотску и/или имуносупресивну (кортикостероиди, метотрексат, циклоспорин, биолошки лијекови) терапију,

4. пациенти који су се прије прегледа купали или туширали у претходних 8 часова.

Б) Узорци од пацијената:

Узорци који ће бити узети од обје групе испитаника ће бити: брис букалне слузнице, брис носа и брис аксила, те узорак стомије. Експерименталној групи ће бити узет и брис кожних промјена које одговарају клиничком налазу атопијског дерматитиса, док ће испитаницима контролне групе бити узет брис са истог мјеста који одговара подручју атопијског дерматитиса код испитаника експерименталне групе.

В) Анкетни упитник

Анкетни упитник није стандардизован већ је дизајниран у сврху овог истраживања, а по узору на слична истраживања, како би се добиле информације о предиспонирајућим факторима ризика за настанак АД код дјече. Ови фактори ризика се наводе као значајни у доступној литератури.

2) Методологија рада

А) Култивација и идентификација *Staphylococcus aureus* изолата

Брисеви аксила, носа и подручја захваћених АД ће се засијавати на неселективну бактериолошку подлогу - крвни агар и инкубирали током 24 сата на 37 степени Целзијуса. Карактеристичне колоније ће се идентификовати на основу биохемијских и културелних особина.

Б) Детекција филагринског генотипа

Екстракција гена за филагрин из бриса букалне слузнице ће се радити помоћу комерцијалног сета за екстракцију ДНК према упутствима производјача (*Gentra Systems, Minneapolis, Minn*). Након екстракције ће се приступити детекцији три најчешће мутације за филагрин (*R501X, 2282del4, R2447X*) помоћу *Real time PCR* методе..

В) Одређивање састава цијевног микробиома

Оdređivanje sastava cijevnog mikrobioma podrazumiјева софистицирану методу *whole metagenome shotgun sequencing* koja spada u molekularnu tehniku sljedeće generacije. Uzorak stomične mukozne površine će se isti dan dostaviti u Laboratoriju za mikrobiologiju Biomedicinskog centra i pomoći kiti za ekstrakciju genetskog materijala *Quick-DNATM Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit* (Zymo Research, SAD) pripremiti za analizu. Izolovana DNA će se čuvati na -20°C do konacnog analiziranja. Pirosekvencioniranje (PCR i TRFLP) će se obaviti po metodama *Sila* i saradnika. Prajmieri za umnožavanje bakterijske 16sRNA (27-F (6-FAM-5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3') i 1492R (5'GGTTACCTTGTACGACTT-3')) će biti obilježeni karboksifluorescincijom. Kao restriktionski enzimi za umnoženu 16sRNA će se koristiti *HhaI* i *MspI* enzimi. Određivanje dužine restriktionskih fragmenata će biti urađeno sa *ABI PRISM 310* genetičkim analizatorom, a identifikacija bakterijskih grupa unutar cijevnog genoma će se vršiti sa biomedicinskim instrumentalnim tehnikama (*Local Southern Method GeneMapper 3.7* i *T-REX software*).

Г) Sekvenciranje citavog genoma *Staphylococcus aureus*

Екстракција бактеријског генома за секвенционирање читавог генома ће бити одрађена помоћу кита за екстракцију *Invitrogen Easy-DNATM Kit* (*Invitrogen, Carlsbad, CA, USA*) према упутствима произвођача. Секвенционирање читавог генома ће бити урађено по методи *Nakamura* и сарадника. *KAPA HyperPlus Kit* (*Kapa Biosystems*) ће се користити за припрему изоловане ДНК за секвенционирање и формирање банке гена. Након тога ће се чистоћа и квантитација добијене ДНК одредити са *Agilent 2100 Bioanalyzer* (*Agilent Technologies*) и *Qubit* (*Life Technologies*). Даљне анализе добијених секвенци захтијевају формирање банке гена на одговарајућој платформи кориштењем кита *Nextera XT Library Preparation*, а добијени резултати ће се упоредити са већ постојећим и доступним резултатима других аутора у циљу добијања коначних података о присуству тражених гена у нашим изолатима.

Д) Продукција биофилма

Сакупљеним изолатима ће бити испитана способност формирања биофилма у микротитрационим плочама методом по Степановић и сарадници.

Према способности производње биофилма изолати ће бити подијељени у четири категорије: непродукторе, слабе, умјерене и јаке продукторе биофилма, према следећој формули:

$OD < OD_c$ непродуктори

$OD_c < OD < 2 \times OD_c$ - слаби продуктори

$2 \times OD_c < OD < 4 \times OD_c$ - умјерени продуктори

$4 \times OD_c < OD$ - јаки продуктори.

Метод и узорак су одговарајући?

ДА

НЕ

Мјесто, лабораторија и опрема за експериментални рад

Клиника за дерматологију Универзитетско-клиничког центра Републике Српске, Бања Лука

Лабораторије за генетику и микробиологију, Биомедицинског центра Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци

Лабораторији за метагеномска испитивања Fisabio Института, Валенсија, Шпанија

Услови за експериментали рад су одговарајући?

ДА

НЕ

Методе обраде података

Добијени резултати истраживања анализираје се анонимно. Дескриптивна статистика користиће се за описивање и континуираних и категоријских обиљежја, и то за континуирана аритметичка средина и медијана заједно са одговарајућом мјером варијабилитета (СД, *IQR*) док ће се у случају категоријских варијабли користити мод, биномна варијанса и одговарајући проценти. Такође ће се испитати постојање типа расподјеле исходних варијабли примјеном Колмогоров-Смирновљевог теста. Резултати присуства различитих фактора вируленције код изолованих бактеријских сојева, као и састава цријевног микробиома код двије групе испитаника ће бити испитани параметарским тестовима у случају нормалне расподјеле података, односно непараметарским тестовима у случају неправилне расподјеле података. Испитивање повезаности анкетних података са учесталостија изолације *Staphylococcus aureus*, и саставом цријевног микробиома обавиће се кориштењем корелационих и регресионих анализа. У свим анализама ниво

Екстракција бактеријског генома за секвенционирање читавог генома ће бити одрађена помоћу кита за екстракцију *Invitrogen Easy-DNATM Kit* (*Invitrogen, Carlsbad, CA, USA*) према упутствима произвођача. Секвенционирање читавог генома ће бити урађено по методи *Nakamura* и сарадника. *KAPA HyperPlus Kit* (*Kapa Biosystems*) ће се користити за припрему изоловане ДНК за секвенционирање и формирање банке гена. Након тога ће се чистоћа и квантитација добијене ДНК одредити са *Agilent 2100 Bioanalyzer* (*Agilent Technologies*) и *Qubit* (*Life Technologies*). Даљне анализе добијених секвенци захтијевају формирање банке гена на одговарајућој платформи кориштењем кита *Nextera XT Library Preparation*, а добијени резултати ће се упоредити са већ постојећим и доступним резултатима других аутора у циљу добијања коначних података о присуству тражених гена у нашим изолатима.

Д) Продукција биофилма

Сакупљеним изолатима ће бити испитана способност формирања биофилма у микротитрационим плочама методом по Степановић и сарадници.

Према способности производње биофилма изолати ће бити подијељени у четири категорије: непродукторе, слабе, умјерене и јаке продукторе биофилма, према следећој формулацији:

$OD < OD_c$ непродуктори

$OD_c < OD < 2 \times OD_c$ - слаби продуктори

$2 \times OD_c < OD < 4 \times OD_c$ - умјерени продуктори

$4 \times OD_c < OD$ - јаки продуктори.

Метод и узорак су одговарајући?

ДА

НЕ

Мјесто, лабораторија и опрема за експериментални рад

Клиника за дерматологију Универзитетско-клиничког центра Републике Српске, Бања Лука

Лабораторије за генетику и микробиологију, Биомедицинског центра Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци

Лабораторији за метагеномска испитивања Fisabio Института, Валенсија, Шпанија

Услови за експериментали рад су одговарајући?

ДА

НЕ

Методе обраде подата

Добијени резултати истраживања анализираје се анонимно. Дескриптивна статистика користиће се за описивање и континуираних и категоријских обиљежја, и то за континуирана аритметичка средина и медијана заједно са одговарајућом мјером варијабилитета (СД, *IQR*) док ће се у случају категоријских варијабли користити мод, биномна варијанса и одговарајући проценти. Такође ће се испитати постојање типа расподјеле исходних варијабли примјеном Колмогоров- Смирновљевог теста. Резултати присуства различитих фактора вирулентије код изолованих бактеријских сојева, као и састава цијевног микробиома код двије групе испитаника ће бити испитани параметарским тестовима у случају нормалне расподјеле података, односно непараметарским тестовима у случају неправилне расподјеле података. Испитивање повезаности анкетних података са учесталостију изолације *Staphylococcus aureus*, и саставом цијевног микробиома обавиће се кориштењем корелационих и регресионих анализа. У свим анализама ниво значајности учених разлика односно повезаности биће на нивоу вјероватноће $p=0.05$. Резултати ће бити приказани табелама, а за графички приказ користиће се стубасти бар и други одговарајући дијаграми.

Предложене методе су одговарајући?

ДА

НЕ

В ЗАКЉУЧАК

Кандидат је подобан	ДА	НЕ
Тема је подобна	ДА	НЕ

Образложение (до 500 карактера):

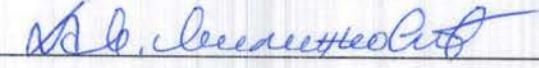
Предложена тема "Повезаност диверзитета микробиома дигестивног тракта и генотипова кожних изолата *Staphylococcus aureus* са атопијским дерматитисом дјече" испитује једну од глобално најактуелнијих тема у области дерматологије, уз кориштење најсавременијих метода за постизање научних резултата, који ће се касније моћи имплементирати у стручни рад. Наслов, хипотеза и методологија истраживања су јасно и прецизно дефинисани. Предмет и циљеви су добро струкурисани и усаглашени са предложеним насловом. Литература је одговарајућа и директно указује на актуелност теме.

На основу анализе пријаве теме докторске дисертације и биографије кандидата др Сање Умићевић Шипка, једногласно сматрамо да кандидат испуњава све неопходне услове за одобрење и израду докторске дисертације који су прописани Законом о високом образовању и Статуом Универзитета у Бањој Луци.

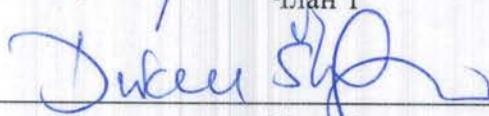
Ментор, доц. др Мирјана Гајић-Вељић, доцент Медицинског факултета Универзитета у Београду, својим научним и стручним радом, као и многобројним објављеним публикацијама у водећим светским часописима из области дерматологије, потврђује да испуњава услове за менторство.

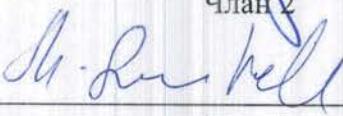
Коментор, проф. др Александра Шмитран, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, својим дугогодишњим истраживањима у микробиологији, поготово у области бактеријског биофилма, публикованим у водећим светским часописима и монографијама, потврђује да испуњава услове за коменторство.

Датум: 23. 3. 2023.


Предсједник комисије


Члан 1


Члан 2


Члан 3