

NAUČNOM VEŠTAČENJU U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veštačenja Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 25.12.2014. godine, broj 4600/12, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Uporedno ispitivanje klasičnih i molekularnih metoda u dijagnostici pneumonije izazvane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* kod dece“

kandidata mr dr Biljane Meo, zaposlene na Univerzitetnoj dečjoj klinici u Beogradu i na Medicinskom fakultetu u Beogradu kao klinički asistent na katedri za pedijatriju. Mentor je Prof. dr Slobodanka Čukić, a komentor je Doc. dr Marina Atanasković-Marković.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Doc. dr Dimitrije Nikolić, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Doc. dr Ivana Čirković, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Gordana Radosavljević-Ašić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu, u penziji

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veštačenju u Medicinskom fakultetu sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija mr dr Biljana Meo napisana je na 126 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i

literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 35 grafikona i 2 tabele. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korištenih u tekstu.

U **uvodu** su prikazane opšte osobine mikoplazmi, patogeneza respiratorne infekcije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* i imunski odgovor koji nastaje tokom infekcije. Navedene su epidemiološke karakteristike pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*, kliničke manifestacije, kao i vanplućne komplikacije. Detaljno je opisana dijagnostika pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*. Opisani su radiografski nalaz, laboratorijska dijagnostika i patološki nalaz kod bolesnika sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom. Takođe, prikazana je mikrobiološka dijagnostika pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*: metoda kultivisanja, serološka metoda i reakcije lančane polimerizacije (PCR). Pored toga opisano je i lečenje *Mycoplasma pneumoniae* pneumonije.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od određivanja proporcije pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* kod dece i utvrđivanja kliničkih, laboratorijskih i radiografskih karakteristika pneumonije uzrokovane ovom bakterijom. Pored toga ciljevima je obuhvaćeno određivanje nivoa IL-4 i IL-410 u krvi bolesnika sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom i poređenje sa vrednostima citokina kod bolesnika koja imaju pneumoniju uzrokovanu drugim mikroorganizmima. Kao cilj navedeno je i utvrđivanje senzitivnosti i specifičnosti serološke metode, real-time PCR metode i metode kultivisanja bakterija u dijagnostici pneumonije izazvane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*.

U poglavlju **Materijal i metode** navedeno je da je istraživanje obavljeno na Univerzitetskoj Dejoj Klinici u Beogradu i u Institutu za mikrobiologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Precizno je navedeno koji su bolesnici uključeni u istraživanje i koje su laboratorijske i biohemijske analize učinjene kod bolesnika sa vanplućnom pneumonijom. Detaljno je opisana mikrobiološka dijagnostika: izolacija i identifikacija bakterije *Mycoplasma pneumoniae*, real-time PCR metoda i serološka metoda -

određivanje specifičnih IgM i IgG antitela. Jasno su definisani kriterijumi za dijagnozu akutne respiratorne infekcije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*. Pored toga opisana je metodologija određivanja IL-4 i IL-410 u krvi kod bolesnika sa pneumonijom.

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 187 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Ovo istraživanje je pokazalo da je *Mycoplasma pneumoniae* uzročnik pneumonije kod 14,5% bolesnika sa vanbolnišničnom pneumonijom, kao i da je učestalost *Mycoplasma pneumoniae* pneumonije veća kod bolesnika uzrasta 5 do 15 godina, u odnosu na bolesnike uzrasta do pet godina i veća kod dečaka u odnosu na devojčice.

Pokazano je da bolesnici sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom češće imaju kašalj, glavobolju i vizing u poređenju sa bolesnicima sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima. Daljom analizom je utvrđeno da su glavobolja, vizing, muški pol i uzrast preko 5 godina značajno udruženi sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*.

Pored toga, ovo istraživanje je pokazalo da se laboratorijske analize i radiografski nalaz značajno ne razlikuju kod bolesnika sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom u odnosu na bolesnike sa pneumonijom koja nije uzrokovana bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*.

Tako e, pokazano je da povišena temperatura, kašalj i hospitalizacija zna ajno duže traju kod bolesnika sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom u pore enju sa bolesnicima koji imaju pneumoniju uzrokovanu drugim mikroorganizmima.

Ovim istraživanjem je utvr eno da nema zna ajne razlike u vrednostima IL-4 u krvi kod bolesnika *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom i kod bolesnika sa pneumonijom koja nije uzrokovana bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*. Nije utvr ena ni zna ajna razlika u vrednostima IL-4 kod bolesnika sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom u odnosu na prisustvo vizinga. Me utim, ovim istraživanjem je pokazano da bolesnici sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom imaju zna ajno više vrednosti IL-10 u krvi u odnosu na bolesnike sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima, kao i da bolesnici sa *Mycoplasma pneumoniae* infekcijom i vizingom imaju zna ajno više vrednosti IL-10 u krvi u odnosu na bolesnike sa infekcijom koji nemaju vizing.

U ovom istraživanju je utvr eno da u pore enju sa IgG serološkom metodom u parnom serumu (zlatni standard), IgM serologija, real-time PCR metoda i kultura imaju jednaku senzitivnost od 82%, dok specifi nost svake od ovih metoda ima vrednost 100%, 99% i 100%. Pored toga pokazano je da se kombinacijom IgM serologije u serumu u akutnoj fazi bolesti i real-time PCR metodom dijagnostikuje 92% bolesnika sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom.

Navedeni podaci mogu biti od klini kog zna aja u smislu da pojedine klini ke karakteristike kao što su glavobolja i vizing kod bolesnika sa pneumonijom mogu da ukažu na *Mycoplasma pneumoniae* infekciju. Pored toga navedeni podaci pokazuju da kombinacija IgM serologije i real-time PCR metode omogu ava ranu i pouzdanu dijagnozu *Mycoplasma pneumoniae* pneumonije kod bolesnika u akutnoj fazi bolesti.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

U toku ovog istraživanja utvr eno je da je *Mycoplasma pneumoniae* bila uzro nik pneumonije kod 14,5% pedijatrijskih bolesnika. Bolni ka istraživanja sprovedena u drugim

Evropskim zemljama tako e su pokazala da je *Mycoplasma pneumoniae* uzro nik pneumonije u 10-14% van bolni ki ste enih pneumonija (Nadal D. i sar.,2001; Puljiz I. i sar., 2006; Defilippi A. i sar., 2008; Almasri M. i sar., 2011; Kicinski P. i sar., 2011).

Rezultati u ovom istraživanju pokazuju da je tri etvrtine bolesnika sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom bilo uzrasta pet do 15 godina. Autori drugih studija su tako e prikazali da je pneumonija uzrokovana bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* eš a kod bolesnika uzrasta starijeg od pet godina u odnosu na bolesnike mla eg uzrasta (Defilippi A. i sar., 2008; Almasri M. i sar., 2011; Sidal M. i sar., 2007). U ovom istraživanju, utvr eno je da je infekcija bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* eš a kod de aka u odnosu na devoj ice, a sli nim rezultati dobijeni su drugim studijama (Puljiz I. i sar., 2006; Lieberman D I sar., 1996)

Klini ka prezentacija bolesnika sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom se u ovoj studiji nije zna ajno razlikovala u odnosu na druge studije (Defilippi A. i sar., 2008; Almasri M. i sar., 2011). Utvr eno je da su glavobolja, vizing, muški pol i uzrast preko 5 godina zna ajno udruženi sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*, što su svijim zapažanjima potvrdili i drugi autori (Esposito S. i sar., 2000).

Dobijeni rezultati u ovom istraživanju pokazuju da su laboratorijski i radiografski nalazi kod bolesnika sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom nespecifi ni. Do istog zaklju ka došli su i drugi autori (Esposito S. i sar., 2001; Almasri M. i sar., 2011).

Rezultati in vitro studija u vezi sa sekrecijom citokina kod *Mycoplasma pneumoniae* infekcije su kontraverzni. Relativno mali broj klini kih studija je ispitivao sekreciju citokina kod bolesnika sa pomenutom infekcijom. U ovom istraživanju je pokazano da nema zna ajne razlike u serumskim vrednostima IL-4 kod bolesnika *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom i kod bolesnika sa pneumonijom koja nije uzrokovana bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*, što je do sada pokazano samo u studiji Michelowa i saradnika (Michelow IC. i sar., 2007). Pored toga, pokazano je da bolesnici sa *Mycoplasma pneumoniae* pneumonijom imaju zna ajno više vrednosti IL-10 u krvi u odnosu na bolesnike sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima, Autori nedavno sprovedene studije su pokazali da bolesnici sa

Mycoplasma pneumoniae pneumonijom u bronhoalveolarnom lavatu imaju ve u koncentraciju IL-10 u odnosu na bolesnike koji nemaju pneumoniju, zaklju uju i da bi IL-10 mogao imati zna ajnu ulogu u patogenezi *Mycoplasma pneumoniae* pneumonije (Pang HG. i sar., 2011), što je tako e u saglasnosti sa rezultatima u ovom istraživanju.

U ovom istraživanju dobijena je viša senzitivnost i specifi nost serološke metode u pore enju sa rezultatima drugih studija (Nadal D. i sar., 2001; Chang HY. i sar., 2014). Senzitivnost serologije u velikoj meri zavisi od vremena uzimanja uzorka, odnosno od toga da li je od po etka infekcije prošlo dovoljno vremena za stvaranje antitela. Dobijena viša senzitivnost IgM serologije u ovoj studiji objašnjava se injenicom da su serumi za IgM serologiju uzeti prose no devetog dana od po etka bolesti, kada su ve nastala antitela. Prema podacima iz literature odre ivanje IgG antitela u parnom serumu je metod koji ima najvišu senzitivnost (Atkinson TP. i sar., 2008) što je i pokazano u ovoj studiji. Pored toga u ovom istraživanju pokazano je da real-ime PCR metoda tako e ima visoku senzitivnot i specifi nost. Rezultati prethodno sprovedenih studija su heterogeni (Morozumi M. i sar., 2006; Martinez MA. i sar., 2008; Qu. J i sar.2013) što može da se objasni injenicom da senzitivnost ove metode zavisi od tipa PCR, gena koji se koriste kao prajmeri, vrste klini kog uzroka koji se koristi za PCR i vremena uzimanja uzorka. Pored toga ovim istraživanjem je pokazano da odre ivanje IgM antitela u serumu u akutnoj fazi bolesti u kombinaciji sa real-time PCR metodom omogu avaju ranu i pouzdanu dijagnozu *Mycoplasma pneumoniae* pneumonije. U do sada publikovanim radovima mali broj autora ispitivao je kombinaciju dve metode u dijagnostici pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*.

D) Objavljeni radovi koji ine deo doktorske disertacije

1. **Medjo B**, Atanaskovic-Markovic M, Radic S, Nikolic D, Lukac M, Djukic S.
Mycoplasma pneumoniae as a causative agent of community-acquired pneumonia in children: clinical features and laboratory diagnosis. Ital J Pediatr. 2014 ;40:104.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Uporedno ispitivanje klasičnih i molekularnih metoda u dijagnostici pneumonije izazvane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* kod dece**“ dr Biljane Meo predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju kliničkih, laboratorijskih i radioloških karakteristika pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*. Ovim istraživanjem prvi put je u Srbiji određena proporcija pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* kod pedijatrijskih bolesnika, a da su pri tome korišćene sve tri dijagnostičke metode. Rezultati ove doktorske disertacije pokazuju da određivanje IgM antitela u serumu u akutnoj fazi bolesti u kombinaciji sa real-time PCR metodom omogućava ranu i pouzdanu dijagnozu *Mycoplasma pneumoniae* pneumonije kod bolesnika u akutnoj fazi bolesti, a samim tim blagovremeno započinjanje antibiotske terapije.

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 Biljana Meo i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 15.02.2015.

Mentor:

Prof. dr Slobodanka Ćukić

Članovi Komisije:

Doc. dr Dimitrije Nikolić

Komentor:

Doc. dr Marina Atanasković -Marković

Doc. dr Ivana Ćirković

Prof. dr Gordana Radosavljević -Ašić
