

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 15.03.2018. godine, broj 5940/15, imenovana je komisija za ocenu završne doktorske disertacije pod naslovom:

**„Ispitivanje efikasnosti peroralno primenjenog teikoplanina u farmakoterapiji teških, komplikovanih i refraktarnih oblika *Clostridium difficile* infekcije “**

kandidata dr Nataše Popović, zaposlene u Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog Centra Srbije u Beogradu. Mentor doktorske disertacije je Prof. dr Miloš Korać, a komentor Prof. dr Zorica Nešić.

Komisija za ocenu završne doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Ljiljana Gojković-Bukarica, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Doc. dr Ivana Milošević, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Nataša Katanić, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Prištini sa sedištem u Kosovskoj Mitrovici

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

**IZVEŠTAJ**

**A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije**

Doktorska disertacija dr Nataše Popović pod nazivnom „Ispitivanje efikasnosti peroralno primenjenog teikoplanina u farmakoterapiji teških, komplikovanih i refraktarnih oblika *Clostridium difficile* infekcije“ napisana je na ukupno 168 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, bolesnici i metode, rezultati, diskusija, zaključci i reference. U disertaciji se nalaze ukupno 23 tabele, 35 grafikona, 2 sheme i 3 slike. Doktorska

disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** su iznete osnovne mikrobiološke karakteristike i faktori virulencije *C. difficile*, podaci o patogenezu i karakterističnoj kliničkoj prezentaciji *C. difficile* infekcije (CDI) kao i klasifikacija prema težini bolesti. Na adekvatan način su opisane metode laboratorijske i endoskopske dijagnostike CDI, a naročito temeljno i iscrpno je prikazana terapija CDI, sa osvrtom na najsavremenije lekove i terapijske postupke koji se danas primenjuju u lečenju ove bolesti u svetu. Detaljnije su prikazane farmakodinamske i farmakokinetičke osobine teikoplanina, njegov spektar dejstva i podaci o dosadašnjoj primeni u lečenju CDI.

**Ciljevi istraživanja** su precizno definisani. Osim prikaza demografskih, kliničkih, laboratorijskih i radioloških karakteristika bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom, cilj je bio i da se utvrdi koji su ribotipovi *C. difficile* prisutni u Srbiji. Drugi cilj bio je da se ispita i uporedi ishod *C. difficile* infekcije kod bolesnika sa teškom formom bolesti lečenih teikoplaninom i vankomicinom u pogledu postignutog kliničkog izlečenja, vremena od početka terapije do prestanka proliva, smrtnosti kao i učestalosti recidiva nakon 8 nedelja praćenja. Treći cilj je bio da se utvrdi efikasnost peroralno primenjenog teikoplanina (u pogledu stope kliničkog izlečenja, smrtnosti, vremena od početka primene teikoplanina do prestanka proliva i stope recidiva) u lečenju bolesnika kod kojih je nakon 10-14 dana standardne terapije izostalo kliničko izlečenje.

U poglavlju **bolesnici i metode** je navedeno da je istraživanje sprovedeno u Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog Centra Srbije u Beogradu u periodu od 1. avgusta 2013. do 31. jula 2015. godine i da su njime obuhvaćeni bolesnici sa dokazanom prvom epizodom ili prvim recidivom CDI koji su imali tešku ili komplikovanu formu bolesti, ali nisu bili neposredno vitalno ugroženi pri prijemu u bolnicu. Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna opservaciona kohortna studija. Precizno su navedeni kriterijumi za uključenje i isključenje iz istraživanja. Bolesnici su bili podeljeni u dve grupe i to na bolesnike koji su lečeni teikoplaninom *per os* i na one lečene vankomicinom *per os*. Detaljno su objašnjeni svi sprovedeni istraživački postupci, način dodeljivanja terapijskog režima, pripreme leka i praćenja bolesnika po završenom lečenju i otpustu iz bolnice, kao i metode prikupljanja, obrade podataka i tumačenja rezultata koji su korišćeni za dobijanje odgovora na postavljena pitanja. Analizirani su osnovni demografski podaci, komorbiditeti, simptomi i znaci oboljenja,

laboratorijski i radiološki nalazi i komplikacije kod bolesnika sa CDI, kao i ishod bolesti na kraju terapije i pojava recidiva nakon perioda praćenja od 8 nedelja.

U statističkoj obradi podataka korišćene su metode deskriptivne i analitičke statistike. Za prikaz verovatnoće prestanka dijareje i ileusa, verovatnoće smrtnog ishoda ili razvoja recidiva bolesti u zavisnosti od terapijskog režima primenjena je Kaplan-Meier-ova analiza preživljavanja, a poređenje verovatnoće je učinjeno *log rank* testom. Za procenu značajnosti razlike u ishodu lečenja ili uticaja različitih faktora rizika korišćene su metode univarijantne analize, a radi eliminacije mogućeg uticaja pridruženih faktora na određeni ishod korišćena je multivarijantna logistička regresija. Od metoda univarijantne analize korišćeni su odgovarajući testovi za parametrijske (Student-ov t-test) i neparametrijske varijable ( $\chi^2$ -test, Fisher-ov test tačne verovatnoće i Mann-Whitney U test). Određivan je odnos šansi OR („odds ratio“) sa 95% intervalom poverenja (95% CI). Nivo značajnosti je bio 0,05.

Istraživanje je sprovedeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobreno je i od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Poglavlje **Rezultati** obuhvata detaljan prikaz nalaza dobijenih u sprovedenom istraživanju. Rezultati istraživanja su izloženi jasno, pregledno i sistematično.

**Diskusija** je napisana jasno i pregledno, potkrepljena je značajnim i savremenim navodima iz literature, uz uporedni pregled dobijenih rezultata doktorske disertacije sa rezultatima istraživanja drugih autora.

**Zaključci** prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 323 reference.

## **B) Kratak opis postignutih rezultata**

U istraživanje je uključeno ukupno 287 bolesnika, od čega je 107 bolesnika lečeno teikoplaninom, a 180 vankomicinom. Prosečna starost svih bolesnika iznosila je  $73,5 \pm 10,6$  godina, a bolesnici stariji od 65 godina činili su 78%. Nije bilo statistički značajne razlike u prosečnim godinama starosti niti u procentu starijih od 65 godina između bolesnika lečenih vankomicinom i teikoplaninom. Od ukupnog broja analiziranih bolesnika njih 65 (22,6%) je imalo komplikovanu formu bolesti, pri čemu nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u distribuciji bolesnika prema težini bolesti između dve terapijske grupe. Među svim bolesnicima, kod 186 (64,8%) se radilo o prvoj epizodi infekcije, a kod 101 (35,2%)

bolesnika o prvom recidivu. Udeo bolesnika sa prvim recidivom bolesti bio je nešto veći u grupi bolesnika lečenih vankomicinom, ali bez statističke značajnosti. Prosečan broj leukocita pri prijemu kod ukupnog broja bolesnika iznosio je  $15\ 800 \pm 8\ 200/\text{mm}^3$ . Nije bilo statistički značajne razlike u broju leukocita između dve terapijske grupe. Rezultati ribotipizacije učinjene kod 45 bolesnika pokazali su ubedljivu dominaciju ribotipa 027 koji je nađen u 43/45 (95,6%) uzoraka, dok su u po jednom uzorku nađeni ribotip 001/072 i 014/020.

Kliničko izlečenje postignuto je kod 97 (90,7%) bolesnika lečenih teikoplaninom i 143 (79,4%) bolesnika lečenih vankomicinom. Bolesnici lečeni teikoplaninom imali su statistički značajno veću učestalost kliničkog izlečenja u odnosu na bolesnike lečene vankomicinom, a značajno manju učestalost refraktarnosti na terapiju [ $p=0,013$ , OR (95% CI) 2,51 (1,19-5,28) i  $p=0,020$ , OR (95% CI) 0,12 (0,02-0,94), respektivno]. Nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti kliničkog izlečenja, smrtnog ishoda, niti refraktarnih slučajeva kod bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom u grupi bolesnika sa komplikovanom bolešću.

Prosečno vreme do prestanka proliva nakon početka terapije iznosilo je  $6,0 \pm 3,1$  dana kod bolesnika lečenih teikoplaninom i  $6,2 \pm 3,4$  dana kod bolesnika lečenih vankomicinom, pri čemu nije bilo statistički značajne razlike u zavisnosti od terapijskog režima.

Smrtni ishod je nastupio kod ukupno 29 (10,1%) bolesnika. Nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti smrtnog ishoda između bolesnika lečenih teikoplaninom i vankomicinom. Takođe, iako je smrtni ishod bio češći kod bolesnika lečenih vankomicinom kako u grupi sa nekomplikovanom tako i u grupi bolesnika sa komplikovanom formom bolesti, razlika u smrtnosti nije bila statistički značajna ni u jednoj od kategorija bolesti u zavisnosti od terapijskog režima.

Nakon perioda praćenja od 8 nedelja kod 9,3% bolesnika lečenih teikoplaninom i 34,3% lečenih vankomicinom došlo je do pojave recidiva. Bolesnici sa CDI lečeni teikoplaninom imali su statistički značajno manju učestalost recidiva bolesti [ $p<0,001$ , OR (95%CI) 0,20 (0,09-0,42)]. Kod bolesnika sa komplikovanim oblikom bolesti iako su bolesnici lečeni teikoplaninom imali manju učestalost recidiva nego bolesnici lečeni vankomicinom, razlika nije bila statistički značajna. Multivarijantnom analizom primena teikoplanina pokazala se kao nezavisan faktor povezan sa manjom učestalošću recidiva bolesti ( $p=0,001$ ).

Primena teikoplanina bila je povezana sa značajno manjom učestalošću recidiva u odnosu na primenu vankomicina i u grupi bolesnika starijih od 65 godina i onih sa prvim recidivom bolesti, ali ne i u grupi bolesnika sa pridruženom antibiotskom terapijom. Učestalost postignutog kliničkog izlječenja bila je statistički značajno veća pri primeni teikoplanina kod bolesnika starijih od 65 godina, ali ne i kod onih sa prvim recidivom i pridruženom antibiotskom terapijom.

Analizirana su ukupno 24 bolesnika sa *C. difficile* infekcijom refraktarnom na primenu standardne terapije. Svi bolesnici su inicijalno kao i u momentu započinjanja terapije teikoplaninom imali tešku formu bolesti. Kod 22/24 (91,6%) bolesnika učinjena je fleksibilna rektosigmoidoskopija nakon 14 dana standardne terapije i kod njih 21 (95,5%) su i tada videne pseudomembrane. U momentu započinjanja terapije teikoplaninom komplikovanu bolest imalo je 5 (20,8%) bolesnika. Kod 22/24 (91,7%) bolesnika postignuto je kliničko izlječenje. Smrtni ishod kao i refraktarnost na primenu teikoplanina zabeleženi su kod po 1/24 (4,2%) bolesnika. Recidiv je nastupio kod 1/22 (4,5%) bolesnika.

### **C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

Tokom poslednjih 15 godina učestalost CDI je u značajnom porastu širom sveta, a kao razlog veće učestalosti CDI, težih oblika bolesti i sve češće pojave slučajeva refraktarnih na standardnu terapiju navodi se pojava hipervirulentnog soja *C. difficile*, ribotipa NAP1/BI/027. Rezultati ribotipizacije u ovom istraživanju pokazali su ubedljivu dominaciju ribotipa 027 koji je izolovan u 95,6% uzoraka. Istraživanje Rupnik i saradnika sprovedeno od 2008-2015. godine već je pokazalo dominaciju ribotipa 027 na ovim prostorima koji je izolovan u 65,8% slučajeva u Srbiji i Bosni i Hercegovini (Rupnik i sar. 2016). Ribotip 027 bio je najčešće izolovan i u velikoj EUCLID studiji sprovedenoj u Evropi tokom 2012. i 2013. godine gde je izolovan u 19% slučajeva, dok su ribotip 001/072 i 014/020 bili izolovani u 11% i 10% uzoraka (Davies i sar. 2016).

Prema podacima iz literature kliničko izlječenje nastupa kod oko 74-97% bolesnika sa CDI lečenih vankomicinom (Cornely i sar, 2012; Musher i sar 2009; Zar i sar. 2007; Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) DIFICLIR 2011). U istraživanju u okviru disertacije do izlječenja je došlo kod 79,4% bolesnika lečenih vankomicinom i 90,7% lečenih teikoplaninom. De Lalla i saradnici u dva različita istraživanja pokazali su da je teikoplanin bio efikasan u lečenju pseudomembranoznog kolitisa u 96,2% i 100% slučajeva (De Lalla i sar. 1989; De Lalla i sar 1992). U studiji Wenish-a i saradnika kliničko izlječenje je postignuto

kod 96% bolesnika lečenih teikoplaninom (Wenish i sar. 1996). U studiji Davido i sar. iz 2017. godine, izlečenje je postignuto kod 90,9% bolesnika lečenih teikoplaninom (Davido i sar. 2017).

Bolesnici sa komplikovanom formom bolesti imaju najveći rizik za nepovoljan ishod CDI, ali uprkos tome predstavljaju grupu bolesnika o čijoj terapiji postoji najmanje literaturnih podataka. Dobijeni procenat kliničkog izlečenja u ovom istraživanju od 73,9% kod bolesnika sa komplikovanom CDI lečenih kombinovanom terapijom teikoplaninom i metronidazolom je među najvećim opisanim u literaturi. U studiji Malamood i saradnika izlečenje je postignuto kod 58,3% pacijenata sa komplikovanom CDI lečenih standardnom terapijom i 54% onih kojima je uz standardnu terapiju dodat vankomicin putem klizme (Malamood i sar. 2015). Pri primeni tigeciklina u kombinaciji sa standardnom terapijom, kliničko izlečenje je postignuto kod 6/7 (85,7%) bolesnika sa komplikovanom CDI (Britt i sar. 2014).

U istraživanju u okviru disertacije u grupi bolesnika sa prvim recidivom CDI izlečenje je postignuto kod 83,3% bolesnika lečenih teikoplaninom i 84,6% bolesnika lečenih vankomicinom. U ovoj podgrupi bolesnika u studiji Cornely-ja i saradnika, izlečenje je postignuto kod 91,6% bolesnika lečenih vankomicinom (Cornely i sar. 2012).

Prosečno vreme do prestanka proliva u disertaciji bilo je  $6,1 \pm 3,2$  dana i nije se statistički značajno razlikovalo između dve terapijske grupe. Prema studijama iz literature vreme do prestanka proliva bilo je kraće, sa medijanom od 58-96 sati (De Lalla i sar. 1992; Wenish i sar. 1996; Cornely i sar. 2012; Louie i sar. 2011). U studiji De Lalla i saradnika iz perioda od 1989. do 1991. godine vreme do prestanka proliva iznosilo je  $3,4 \pm 1,4$  dana kod bolesnika sa pseudomembranoznim kolitisom i dijarejom vezanom za *C. difficile* lečenih teikoplaninom i  $3,6 \pm 1,7$  dana kod bolesnika lečenih vankomicinom, dok je u studiji Wenish-a i saradnika to vreme iznosilo je 2,8 dana u slučaju lečenja teikoplaninom i 3,1 dan kod lečenja vankomicinom (De Lalla i sar 1992; Wenish i sar 1996).

Učestalost smrtnog ishoda bila je 11,7% kod bolesnika lečenih vankomicinom i 7,5% kod lečenih teikoplaninom. Posmatrano prema težini bolesti smrtni ishod je nastupio kod 4% i 8% bolesnika sa nekomplikovanom odnosno kod 17,4% i 23,8% bolesnika sa komplikovanom CDI lečenih teikoplaninom i vankomicinom, respektivno. Bishara i saradnici u studiji sprovedenoj u Izraelu utvrdili su smrtnost od CDI od 12,4% (Bishara i sar. 2008). Sličnu smrtnost od 13,2% imali su i bolesnici iz studije Pant i autora, dok je stopa mortaliteta u istraživanju Jansena i saradnika iznosila 19% kod bolesnika sa teškom CDI (Pant i sar. 2012;

Jansen i sar. 2010). U studiji Moshkowitz-a i autora smrtnost kod bolesnika sa pseudomembranoznim kolitisom bila je 29% (Moshkowitz i sar. 2004). Patel i saradnici su prikazali smrtnost od 18,5% kod bolesnika sa teškom CDI i 37,5% bolesnika sa komplikovanom CDI lečenih u skladu sa aktuelnim terapijskim vodičima (Patel i sar. 2017). U drugim studijama koje su analizirale ishod lečenja bolesnika sa teškom odnosno komplikovanom CDI lečenih u Jedinicama intenzivne nege smrtni ishod je nastupio kod 27,6%, 36,7% i čak 52,7% bolesnika (Marra i sar. 2007; Kenneally i sar. 2007; Lamontagne i sar. 2007). Isključivanje kritično obolelih sa neposredno životno-ugrožavajućom CDI pri prijemu iz istraživanja u okviru disertacije moglo bi biti objašnjenje za nešto niži procenat smrtnosti bolesnika sa komplikovanom CDI u odnosu na podatke iz literature.

Učestalost recidiva u ovom istraživanju kod bolesnika lečenih vankomicinom iznosila je 30,4% i 35% kod bolesnika sa komplikovanom i teškom nekomplikovanom formom bolesti, respektivno. Prema podacima iz drugih radova kod bolesnika lečenih vankomicinom učestalost recidiva iznosi i do 38%, dok kod bolesnika sa prethodnom epizodom CDI može dostići čak 40-65% (Cornely i sar. 2012; Mc Farland i sar. 2002). Dobijene učestalosti recidiva među bolesnicima sa teškom CDI iznosile su 29,4%, 28%, 25%, 26,6% i 33% (Di Bella i sar. 2012; Lee i sar. 2016; Young i sar. 1985; Cornely i sar. 2012; Louie i sar. 2011). Nasuprot velikoj učestalosti recidiva zabeleženoj kod bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI lečenim vankomicinom, učestalost recidiva nakon lečenja teikoplaninom bila je samo 9,3%. U ranijim istraživanja o primeni teikoplanina u lečenju CDI recidiv je nastupio kod 0%, 7% i 7,7% bolesnika (De Lalla i sar. 1989; De Lalla i sar. 1992; Wenish i sar. 1996).

Kada je reč o analizi uspešnosti teikoplanina u lečenju bolesnika sa teškom i komplikovanom CDI refraktarnom na primenu vankomicina i metronidazola, po uvodjenju teikoplanina u terapiju kod svih bolesnika došlo je do izvesnog poboljšanja, a kod 91,7% bolesnika postignuto je kliničko izlečenje. Smrtni ishod, refraktarnost na primenu teikoplanina i recidiv nakon 8 nedelja praćenja nastupili su kod po jednog bolesnika. Iako refraktarna bolest predstavlja značajan problem u lečenju CDI, jasne smernice za njeno lečenje ne postoje, a od potencijalnih terapijskih opcija najčešće se pominju intravenski imunoglobulini, tigeciklin i fekalna transplantacija.

## D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. **Popović N**, Korać M, Nešić Z, Milošević B, Urošević A, Jevtović Đ, Mitrović N, Marković A, Jordović J, Katanić N, Barać A, Milošević I. Oral teicoplanin versus oral vancomycin for the treatment of severe *Clostridium difficile* infection: a prospective observational study.

*Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018; 37(4): 745-754. doi: 10.1007/s10096-017-3169-3. Epub 2018 Jan 3. IF 2,727, kategorija M 22.

2. **Popović N**, Korać M, Nešić Z, Milošević B, Urošević A, Jevtović Đ, Pelemiš M, Delić D, Prostran M, Milošević I. Oral teicoplanin for successful treatment of severe refractory *Clostridium difficile* infection. *J Infect Dev Ctries* 2015; Oct 29;9(10):1062-7. IF 1,139, kategorija M 23.

## E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Ispitivanje efikasnosti peroralno primenjenog teikoplanina u farmakoterapiji teških, komplikovanih i refraktarnih oblika *Clostridium difficile* infekcije“ dr Nataše Popović je originalni naučni rad i predstavlja do sada najveću sprovedenu studiju u svetu, a prvu u epidemijskoj eri, o primeni teikoplanina u lečenju CDI i njegovom poredjenju sa vankomicinom u pogledu ishoda bolesti. Poseban značaj istraživanja je u tome što su u njega uključeni isključivo bolesnici sa teškom formom bolesti uključujući i one sa komplikovanom CDI koji su uglavnom isključeni iz velikih randomizovanih kliničkih studija, a predstavljaju veliki problem u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Na osnovu rezultata dobijenih ovim istraživanjem, teikoplanin bi mogao biti jedna od terapijskih opcija za lečenje bolesnika sa teškom, komplikovanom i refraktarnom CDI, a pokazao se kao efikasan u lečenju CDI i kod najznačajnijih i najproblematičnijih grupa bolesnika tj. starijih od 65 godina, onih sa prethodnom epizodom CDI, kao i bolesnika koji istovremeno primaju i drugu antibiotsku terapiju zbog neke pridružene infekcije. Bolesnici lečeni teikoplaninom imali su ubedljivo manju učestalost recidiva bolesti u odnosu na one lečene vankomicinom. S obzirom na to da su u istraživanju dominirali bolesnici oboleli od ribotipa 027 *C. difficile* možemo zaključiti da je teikoplanin efikasan u lečenju i postizanju niže stope recidiva i u toj podgrupi bolesnika, što je posebno značajno imajući u vidu da se ovaj ribotip povezuje se težim, refraktarnim formama CDI i visokom stopom recidiva. S obzirom na to da je problem rekurentne bolesti jedan od najvećih u lečenju CDI, pronalaženje terapijske opcije koja dovodi do značajno manje učestalosti recidiva važan je doprinos ovog istraživanja.



Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučno-istraživačkog rada. Izuzev aktuelnosti obrađene teme koja je pravilno istaknuta u uvodu, ciljevi istraživanja su jasno postavljeni, a metodologija pregledno i detaljno opisana. Rezultati su precizno prikazani i praćeni odgovarajućom analizom iz koje su proizašli logički, ispravno izvedeni zaključci.

Na osnovu svega navedenog i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati pozitivnu ocenu doktorske disertacije dr Nataše Popović i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 03.05.2018.

Mentor

Članovi Komisije:

---

Prof. dr Miloš Korac

---

Prof. dr Ljiljana Gojković-Bukarica

Komentor

Doc. dr Ivana Milošević

---

Prof. dr Zorica Nešić

---

Prof. dr Nataša Katanić