

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ
Др Мирјана Хаднађев

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију 10.02.2015.год Наставно-научно веће Медицинског факултета у Новом Саду</p> <p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива ужо научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>1. Проф. др Весна Милошевић, редовни професор, ужа научна област Микробиологија са паразитологијом и имунологијом, изабрана у звање редовног професора 26.01.2012. године, Медицински факултет Универзитета у Новом Саду, Институт за јавно здравље Војводине, председник комисије</p> <p>2. Проф. др Лазар Ранин, редовни професор, ужа научна област Микробиологија, изабран у звање редовног професора. 25.10.2005. године, Медицински факултет Универзитета у Београду, Институт за микробиологију и имунологију, Београд, члан</p> <p>3. Проф. др Илија Андријевић, ванредни професор, ужа научна област Здравствена нега, изабран у звање ванредног професора 10.10.2014. године, Медицински факултет Универзитета у Новом Саду, Институту за плућне болести Војводине, Сремска Каменица, члан</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Мирјана (Цветко) Хаднађев</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 27.02.1973.године; Тузла, општина Тузла, Босна и Херцеговина</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив: Медициски факултет Универзитета у Новом Саду, доктор медицине</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија: Година уписа: 2007. Студијски програм: јавно здравље.</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:</p>

6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:

III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ: „Фенотипске и генотипске карактеристике макролид резистентног *Streptococcus pneumoniae*“

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација је прегледно написана на 124 стране. Садржи све неопходне делове научног рада. Докторска дисертација садржи 8 слика, 18 табела, 11 графикана и 546 литературних навода у 7 поглавља:

1. **Увод** у којем је дефинисана мотивација за истраживањем.
2. **Циљеви** и хипотезе истраживања су јасно дефинисани и научно оправдани.
3. **Материјал и методе** су подељени у целине у којима су детаљно описане методе изолације и идентификације сојева *Streptococcus pneumoniae* резистентних на макролиде, методе коришћене за одређивање фенотипова и генотипова резистенције, као и серотипизације инвазивних сојева.
4. **Резултати** су подељени у више целина у оквиру којих су приказане основне особине узорка, потом фенотипови и генотипови резистенције сојева *Streptococcus pneumoniae* на антибиотике из групе макролида. Приказани су резултати испитивања резистенције пнеумокока на остале антибиотике као и серотипизација инвазивних сојева.
5. **Дискусија**. Сви резултати истраживања су дискутовани уз упоређивање са резултатима из литературе.
6. **Закључци** обједињују најважнија научна сазнања произашла из испитивања и тумачења резултата ове докторске дисертације.
7. **Литература** даје преглед коришћених литературних навода.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов рада је јасно формулисан, прецизан и у складу са тематиком и садржајем дисертације.

Увод је написан систематично и даје јасан приказ проблема у области резистенције сојева *S.pneumoniae* на антибиотике из групе макролида. У почетном делу увода описане су основне карактеристике пнеумокока са факторима вируленције, болестима које пнеумокок узрокује као и епидемиолошки подаци. Посебан осврт је дат на превенцију пнеумококних болести. Наставак увода се односи на антибиотике који се користе у лечењу пнеумококних болести и на механизме резистенције пнеумокока на поменуте антибиотике. Крај увода анализира развој резистенције пнеумокока са посебним освртом на антибиотике из групе макролида као и бета-

лактамске антибиотике. Комисија сматра да је у уводу јасно наговештена и оправдана тема испитивања, исти је написан разумљиво и систематски, и пружа целокупан приказ актуелне проблематике истраживања.

Циљеви истраживања су јасно дефинисани. **Радне хипотезе** су логичне, прецизно дефинисане и имају научно оправдање. Комисија сматра да су циљеви истраживања и хипотезе у овој дисертацији коректно и реално постављени.

Материјал и методе рада. Поглавље садржи детаљан опис када, где и како је спроведено истраживање. Истраживање је изведено као проспективна студија у коју је укључено 326 сојева *Streptococcus pneumoniae*, резистентних на макролидне антибиотике. Изолати су сакупљани са целе територије Републике Србије. Коришћени материјал и методе за испитивање су одговарајући савременим методама и у складу са постављеним циљевима и задацима. У Националној референтној лабораторији за стрептокок је извођена идентификација пнеумокока на основу морфолошких и биохемијско-физиолошких особина. За инвазивне сојеве пнеумокока је урађена потврда идентификације детекцијом гена као и типизација свих инвазивних сојева. Фенотипска експресија резистенције на макролиде код сојева *S.pneumoniae* је испитана помоћу еритромицин-клиндамицин двоструког диск дифузионог теста а вредности минималних инхибиторних концентрација еритромицина и клиндамицина су одређене комбинованим дифузионо-дилуционим методом антибиограма. Гени резистенције на еритромицин, *ermB* и *mefA*, код изолованих сојева пнеумокока су детектовани реакцијом ланчаног умножавања (PCR). Тест осетљивости на антибиотике је изведен дифузионом методом као и аутоматизованим VITEK 2 системом. Комисија сматра да су изабране методе адекватне, одговарају постављеним циљевима и омогућавају добијање актуелних и квалитетних научних резултата.

Резултати – Резултати испитивања су уверљиво, прегледно и стручно приказани табеларно, графички и у виду слика. Подељени су у више целина због разумљивости и јасно демонстрирају претходно текстуално објашњене елементе. Резултати произилазе из примењене методологије уз коришћење савремених статистичких метода. Најпре су приказане основне особине узорка. Изоловано је укупно 958 сојева *S.pneumoniae*. Од тога је 34% сојева било резистентно на макролиде (МРСП). На макролидне антибиотике је било резистентно 48 инвазивних и 278 неинвазивних изолата, потом 247 педијатријских и 79 сојева добијених од одраслих пацијената. У наставку резултата су приказани фенотипови резистенције пнеумокока на макролиде, са доминацијом MLS_b фенотипа. Сојеви са MLS_b фенотипом резистенције на макролиде су се одликовали високим, а сојеви са М фенотипом умереним степеном резистенције на еритромицин. Потом су приказани генотипови резистенције пнеумокока на макролиде. *ermB* ген је идентификован код 78,5%, док је присуство *mefA* гена доказано код 65,3% сојева. Присуство оба гена резистенције је потврђено код 43,9% изолата. Сви сојеви код којих су потврђена оба гена резистенције су имали MLS_b фенотип. У наредном делу резултата је приказана учесталост резистенције пнеумокока на остале антибиотике. Међу МРСП сојевима 16% сојева је било неосетљиво на пеницилин, а 6,5% на трећу генерацију цефалоспорина. Међу МРСП сојевима је изоловано 81,3% сојева резистентних на тетрациклине а неинвазивни изолати су били резистентнији. Резистенција на триметоприм-сулфаметоксазол је износила 74,3%. Мултирезистенцију је испољило чак 66,1% сојева. Заступљеност истовремене резистенције је била значајно већа код педијатријске популације у односу на одрасле. Сви испитивани сојеви МРСП су били осетљиви на ванкомицин, линезолид, пристинамицин и рифампицин, а највећи број изолата је показивао осетљивост и на имипенем, телитромицин и квинупрестин-

далфопристин. Такође су скоро сви испитивани сојеви били осетљиви на новије хинолоне. У последњем делу су приказани резултати типизације инвазивних сојева пнеумокока. Међу сојевима пнеумокока резистентним на макролиде, изолованим из крви и ликвора, је било заступљено 12 различитих серотипова: Најзаступљени серотипови су били 19F (25%) и 14 (23%). Може се закључити да су резултати по постављеним задацима јасно приказани, научно значајни и потпуно разумљиви. Комисија сматра да су резултати оригинални и реално приказани, јасни за интерпретацију и свеобухватни. Примењене методе статистичке обраде података су сврсисходне, прецизне и адекватне.

Дискусија критички анализира добијене резултате уз уверљиво упоређивање са резултатима из литературе. Дискусија је свеобухватна и јасно написана. Кандидат систематично дискутује сваку целину из поглавља, уз јасна тумачења сопствених резултата и извођења правилних закључака. Кандидат је показао завидно познавање литературе у оквиру проблематике којом се бави ова дисертација, уз критички одабране и уверљиве литерарне податке. У дискусији нису утврђене нелогичности. Комисија сматра да је дискусија исцрпна, прецизна и свеобухватна, уз критички осврт у односу на актуелну литературу, те значајно доприноси вредности ове дисертације.

Закључци наводе најважнија научна сазнања произашла из ове докторске дисертације и потврђује полазне хипотезе.

Литература даје јасан и прецизан приказ коришћених литературних навода. Кандидат је користио литературу која је повезана са предметом истраживања и која са различитих аспеката проучава описану проблематику у дисертацији.

Комисија сматра да је литература актуелна, прецизно цитирана и адекватна потребама ове дисертације.

Комисија позитивно оцењује све делове докторске дисертације.

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

M23-Међународни часопис:

1. **Hadnadev M**, Gajić I, Mijac V, Kurucin T, Považan A, Vulin A, Opavski N. Phenotypes and genotypes of macrolide resistant *Streptococcus pneumoniae* in Serbia. Arch Biol Sci., Belgrade. 2014; 66 (1): 99-105.
2. Gajić I, Mijač V, Opavski N, Stanojević M, Lazarević I, Šmitran A, **Hadnadev M**, Ranin L. Distribution of macrolide-resistant genes among isolates of macrolide resistant *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae* in Serbia. Arch Biol Sci., Belgrade. 2014; 66 (1): 99-105.
3. Považan A, Vukelić A, Kurucin T, **Hadnadjev M**, Djordje P. The most common isolates from pleural infections. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. 2012; 59:375-385.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Резултати добијени из истраживања ове докторске дисертације се могу резимирати у оквиру следећих закључака:

- У нашем испитивању смо нашли да је укупна резистенција пнеумокока на макролиде, у периоду од 2010-2012. год у Србији износила 34%
- Сојеви *S.pneumoniae* резистентни на макролиде су чешће били изоловани код деце (36%) у односу на одрасле (29%) особе, и чешће су изоловани из неинвазивних (35,5%) у односу на инвазивне (27,4%) материјале.
- Доминантан фенотип резистенције на макролиде је био MLS_b фенотип (78,5%). Конститутиван MLS фенотип је био заступљен код 73,9%, а индуцибилан MLS код 4,6% МРСП изолата.
- Потврђена је удруженост *mefA* гена и М фенотипа; *ermB* гена и iMLS фенотипа, као и *ermB* гена и cMLS фенотипа. Присуство оба *ermB* и *mefA* гена резистенције је потврђено код 43,9 % изолата. Сви изолати који су имали оба гена резистенције су испољили MLS_b фенотип.
- Истовремена неосетљивост на пеницилин је била заступљена код 16% МРСП сојева. Висок ниво резистенције на пеницилин је имало свега 5,82% МРСП изолата.
- Међу МРСП сојевима је био присутан висок ниво резистенције на тетрациклин (81,3%) и триметоприм-сулфаметоксазол (74,3%). Мултирезистентни сојеви, који су били резистентни на тетрациклине и триметоприм-сулфаметоксазол су представљали две трећине (66,1%) МРСП изолата. Заступљеност удружене резистенције МРСП на тетрациклин и триметоприм-сулфаметоксазол је била већа код сојева са MLS фенотипом (73,1%) у односу на сојеве са М фенотипом (36,7%).
- Заступљеност истовремене резистенције на макролиде и друге антибиотике међу којима су пеницилин, амоксицилин, цефотаксим, тетрациклин, триметоприм-сулфаметоксазол и мултирезистентни сојеви је била већа код педијатријских изолата пнеумокока у односу на сојеве добијене код одраслих.
- Учесталост истовремене резистенције на макролиде и друге антибиотике међу којима су тетрациклин и офлоксацин је била више присутна међу неинвазивним у односу на инвазивне МРСП изолате.
- Инвазивни МРСП изолати из ликвора су показивали већу резистенцију на бета лактамске антибиотике у односу неинвазивне сојеве.
- МРСП сојеви су показали веома висок ниво осетљивости на левофлоксацин (99,65%), телитромицин (98,4%), цефотаксим (93,5%), имипенем (97,3%). МРСП сојеви су у потпуности били осетљиви на ванкомицин, линезолид, моксифлоксацин, спарфлоксацин, рифампицин и пристинамицин.
- Међу инвазивним сојевима *S.pneumoniae* резистентним на макролиде је нађено 12 различитих серотипова. Половина изолата је припадала серпотиповима 19F (25%) и 14 (23%), док су следећи по учесталости били 6A (10,41%) и 23F (8,3%). Истовремена резистенција на макролиде, пеницилин, тетрациклине и триметоприм-сулфаметоксазол је нађена код серотипова 19F, 14 и 23F, док су серотипови 12F и 31 били неосетљиви само на макролиде. Наше истраживање представља прву детаљну анализу фенотипских и генотипских особина сојева пнеумокока резистентних на макролидне антибиотике у Србији. Добијени резултати указују на потребу за активним надзором над

пнеумококним инфекцијама у Србији.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Резултати су, графички и табеларно, јасно и прегледно приказани. Тумачење резултата је студиозно и детаљно уз поређења са резултатима другим истраживања из ове области. Интерпретација резултата је стручна и у складу са подацима из најновије литературе. Закључци су адекватни, научно оправдани и логично произилазе из добијених резултата рада, што указује да кандидат добро познаје тематику дисертације.

Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачење резултата истраживања.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

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

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

Докторска дисертација је написана у складу са образложењем које је кандидат доставио приликом пријаве теме и садржи све елементе који су значајни за овакав рад.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

На основу укупне оцене дисертације, комисија утврђује да је докторска дисертација др Мирјане Хаднађев урађена у складу са принципима савремених медицинских истраживања и да садржи све битне елементе који су подељени у јасно дефинисаним поглављима, и да су у потпуности остварени постављени циљеви истраживања. Рад је написан разумљиво и концизно, а резултат је самосталног истраживања кандидата.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Дисертација др Мирјане Хаднађев представља прву детаљну анализу фенотипских и генотипских особина сојева *S.pneumoniae* резистентних на макролидне антибиотике на територији Републике Србији. Оригиналан допринос науци ове докторске дисертације огледа се у свеобухватности истраживања у поменутом домену. Ови резултати могу да представљају основу епидемиолошке базе података, на коју би се надовезало даље праћење учесталости резистенције пнеумокока на макролиде, као и промене у дистрибуцији серотипова и гена резистенције. Анализе изолата пнеумокока резистентних на макролиде су од посебног значаја с обзиром да је преваленција резистенције пнеумокока на макролиде у Србији висока.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Детаљним увидом Комисија није уочила недостатке који би, евентуално, утицали на резултате истраживања у току израде докторске дисертације.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

- да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана

Полазећи од позитивне оцене докторске дисертације др Мирјане Хаднађев, Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета и Сенату Универзитета у Новом Саду да одобри одбрану докторске дисертације под називом „Фенотипске и генотипске карактеристике макролид резистентног *Streptococcus pneumoniae*“.

датум: 16.03.2015.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Проф др Весна Милошевић, редовни професор,
председник комисије

Проф др Лазар Ранин, редовни професор, члан

Проф др Илија Андријевић, ванредни професор,
члан