

РЕЦЕНЗИЯ

От Проф. д-р Людмила Боянова Георгиева, дм, дмн

Професор в Катедра медицинска микробиология

на Медицински университет-София

Тел. 08877 39 086; e-mail l.boyanova@hotmail.com

Научна специалност - микробиология

Член на научното жури (заповед 14/ 18.01.2016)

Относно

дисертационния труд на

ДОЦ. СТЕФАН ВЪЧЕВ ПАНАЙОТОВ, ДМ

на тема „МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИ

ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ ЕТИОЛОГИЯТА НА

ТУБЕРКУЛОЗАТА В БЪЛГАРИЯ”

за придобиване на научната степен „Доктор на науките”

по научна специалност „Микробиология”

Декларирам, че нямам конфликт на интереси от научно и друго естество с Доц. Стефан Въчев Панайотов, дм.

АКТУАЛНОСТ НА РАЗРАБОТВАНИЯ ПРОБЛЕМ

Туберкулозата остава тежък и все още неразрешен медицински проблем, като се има предвид, че инфекцията убива около 2 милиона души годишно по света.

Още по-тревожно е, че в последните 20 години са наблюдавани появата на туберкулоза с множествена лекарствена резистентност (MDR-TB), туберкулоза с екстензивна лекарствена резистентност (XDR-TB) и напоследък са съобщавани вече и щамове резистентни към всички

антитуберкулозни антибиотици, т. нар. тотално лекарствено резистентни, TDR щамове.

В допълнение, тъй като нашата страна е в листата на държавите с висока честота на MDR-TB щамове *Mycobacterium tuberculosis*, актуалността на разработвания от Доц. Панайотов проблем е безспорна в глобален и в национален план.

РАЗДЕЛИ НА ПРЕДСТАВЕНИЯ ТРУД

Представеният материалът е написан на 258 страници както следва: Въведение (4 стр.), Литературен обзор (35 стр.), Цел и задачи (1 стр.), Материали и методи (14 стр.), Резултати и обсъждане (142 стр.), Изводи (4 стр.), Приноси (2 стр.), Публикации във връзка с дисертацията и участие в научни проекти (4 стр.) и Приложения. Дисертацията е много добре илюстрирана и включва 39 фигури и 38 таблици.

ВЪВЕДЕНИЕТО и **ЛИТЕРАТУРНИЯТ ОБЗОР** са написани не само подробно и адекватно, но и много увлекателно за четене.

ЦЕЛТА и свързаните с нея **4 ЗАДАЧИ** фокусират изследването на генотипното биоразнообразие, разпространение и еволюция на щамовете *M. tuberculosis* у нас за период от 10 години.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ

В работата са използвани голям брой (694) щамове *M. tuberculosis*, от които 253 мултирезистентни щамове в период от над 10 години. Впечатляващо е, че MDR-TB щамовете представляват около три четвърти от микробиологично доказаните в цялата страна в периода 2002-2014 г. Освен това, проучванията на дисертанта са свързани с тясна колаборация с НРЛ по "Туберкулоза" и всички лаборатории извършващи диагностика на туберкулоза от страната. Всичко това дава много големи достоверност и актуалност на труда.

Генотипирането на туберкулозните бактерии е най-важният лабораторен подход за разбиране на епидемиологията на инфекцията. Така напр. за генотипиране на *M. tuberculosis* се счита, че методът IS6110-RFLP има най-голяма дискриминативна сила, но е трудоемък и изисква култивиране на бавно растящите микобактерии, което забавя резултатите, като методът има и някои други ограничения според

характеристиката на изследваните щамове и интерпретацията на резултатите.

Доц. Панайотов използва съвременни и използвани от международни специалисти методи за проучване на микобактериалните щамове, напр. сполиготипирането като един бърз, стабилен и икономичен метод базиран на полиморфизма в локусите на хромозомните директни повтори и **MIRU-VNTR** като метод за типирание чрез амплификация на вариабилни тандемни повтори на *M. tuberculosis*. Сполиготипирането, освен като бърз дискриминативен тест, е основа и за създаването на голяма генотипна база данни за *M. tuberculosis*. Един негов недостатък е по-ниската му дискриминативна сила от тази на IS6110 типирането, когато се проучват щамове с висок брой копия.

Когато сполиготипирането и **MIRU-VNTR** се комбинират, има голямо значение, че освен тяхната комбинирана дискриминативна сила, която е сравнима и дори може да надхвърли тази на RFLP, тези два метода определят и някои важни филогенетични връзки на щамовете.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите и обсъждането са представени и анализирани съответно на поставените цели и задачи и са много добре илюстрирани.

На мен лично ми направи впечатление **5.4. Динамика на сполиго и MIRU-VNTR профила в хода на лечението на пациенти с мултирезистентна туберкулоза**, относно относителната стабилност на профилите на щамовете в хода на дълготрайната комбинирана терапия на инфекцията.

Силно впечатление ми направи и **5.10. Доказване на доминантен генотип сред MDR щамовете на *M. tuberculosis* в България**, относно високата степен на адаптиране на генотипа SIT41(TUR) със склонност да развива множествена резистентност в хода на индивидуалната терапия на пациента, тъй като този генотип е рядък между чувствителните щамове, но представлява половината от тези с множествена резистентност в нашата страна.

ИЗВОДИ

Изводите са написани подробно и освен обобщаване на резултатите и обсъждането дават и някои насоки за все по-необходимия **подобрен контрол** на тази живото застрашаваща инфекция, напр. задължителното

генотипиране на щамовете на пациентите и нуждата от индивидуална терапия на свързаната с SIT41 генотип туберкулоза.

КНИГОПИС

Дисертацията цитира над 300 литературни източника, от които повечето на латиница.

ОЦЕНКА НА НАУЧНИТЕ И НАУЧНО-ПРИЛОЖНИТЕ ПРИНОСИ

❖ ПРИНОСИ С ОРИГИНАЛЕН НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕН ХАРАКТЕР,

1. Интересен резултат е, че различният географски произход на хазяина не винаги е свързан с биоразнообразие сред щамовете *M. tuberculosis*, което се обяснява с конкурентно противопоставяне на локалните генотипове, които могат да „изместят“ импортираните. Определени са специфични само за България генотипове напр. SIT2042, SIT2049, SIT2050 и SIT2051.
2. Много важно е проучването на силната степен на приспособимост и акумулиране на мутации на генотипа SIT41, който сред чувствителните щамове SIT41 е само 2% срещу >49% за мултирезистентните щамове. Този генотип се явява като маркер за мултирезистентна туберкулоза у нас.

❖ ПРИНОСИ С ПОТВЪРДИТЕЛЕН ХАРАКТЕР ЗА НАШАТА СТРАНА.

1. Направено е подробно проучване на циркулиращите генетични групи и подгрупи на *M. tuberculosis* в нашата страна, определени са 6 най-често срещани сполиготипа сред чувствителните щамове, и което е особено важно, наличието на SIT41 (TUR) в половината мултирезистентни щамове.
2. Определена е еволюционната динамика на генотиповете на *M. tuberculosis* в България при сравнение с характеристиките на щамовете в съседни държави. Като предшественик на генотиповете у нас е установен сполиготип SIT53.
3. Определени са приблизително годините на импортиране на някои генотипове *M. tuberculosis* в нашата страна, напр. между 2006 и 2008 г. за генотип Пекин.

4. За контрол на инфекцията е важно, че сполигопрофилът на щамовете се запазва **идентичен в хода на лечението**, като в някои случаи MIRU-VNTR профилът се променя в хода на лечението обикновено с нарастване на VNTR повторите.

❖ ПРИНОСИ С ПРИЛОЖЕН ХАРАКТЕР

1. Направено е картиране на географското разпространение на актуално разпространените групи от чувствителни и мултирезистентни щамове *M. tuberculosis* у нас.
2. Разработен е метод за масово скриниране на маркера за мултирезистентни щамове- генотипът SIT41- на базата на 4 локуси.
3. Установен е локусът VNTR4052(QUB26) с най-добра дискриминативност за MIRU-VNTR типирането. Създадени са правила за групиране на щамовете към няколко подгрупи съответно на преобладаващите вариабилни стойности на MIRU-VNTR локусите.

ПУБЛИКАЦИИ И ДРУГИ НАУЧНИ АКТИВНОСТИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА

Доц. Панайотов представя **21 публикации** във връзка с темата на дисертацията, от които:

- 12 в списания с импакт фактор, на които той е първи автор в 5 публикации и
- 9 публикации в списания без импакт фактор, от които той е първи автор в 7.
- В допълнение, дисертантът има участие в две глави в **монографии** на английски език.

Импакт факторът на статиите, публикувани след защита на докторска дисертация е много добър, над 44.

Доц. Панайотов има активно участие в **11 научноизследователски проекти**, от които 8 са международни, а от тях той е ръководител от българска страна на 5 проекта.

ЦИТИРАНИЯ:

Публикациите на доц. Панайотов привличат вниманието на научната общественост, като цитиранията на неговите трудове (без да се включват

автоцитирания) са **значителен брой (190)**. Това още веднъж подчертава значимостта на неговите изследвания, получени резултати и тяхното обсъждане.

ПРЕПОРЪКИ: Моите препоръки не засягат естеството и стойността на дисертацията. Референциите би трябвало да бъдат дадени като отделна секция в края на дисертационния труд, а не на всяка страница и да не се повтарят. Някои думи биха могли да се заменят напр. подгрупи вместо субгрупа. Изводите - 26 на брой- биха могли да бъдат окрупнени в 4-6 точки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Въз основа на всички по-горни съображения, считам, че дисертационния труд на доц. Панайотов визира един сериозен, тревожен и все още неразрешен в национален и глобален план медицински проблем за една древна и непобедена инфекция.

Работата на дисертанта предоставя **оригинални приноси** и успоредно важни приноси с **приложен характер** с потенциал за подобряване на контрола на тази инфекция в национален план и същевременно за подобрена терапия на индивидуалния пациент, като отговаря напълно на изискванията на **ЗРАСРБ** и правилника на неговото прилагане.

Работата на дисертанта е интересна, важна и значима за специалисти от различни медицински специалности. Поради това с **дълбоко убеждение** мога да препоръчам на уважаемите членове на Научното жури да присъдят на **Доц. Стефан Въчев Панайотов, дм** научната степен «Доктор на медицинските науки».



Проф. д-р Людмила Боянова Георгиева, дм, дмн

Катедра медицинска микробиология
на Медицински университет-София

София, 07.03.2016 г.