

НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР
ПО ЗАРАЗНИ И
ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ

№ 623
25.03 2013 г.
бул. „Янко Сакъзов“ № 26
София 1504, тел: 9446999

ДО НАУЧНОТО ЖУРИ

За присъждане на образователна
и научна степен „Доктор“
на Елина Георгиева Добрева

СТ А Н О В И Щ Е

от Доц. д-р Росица Вачева-Добревска, д.м.
член на Научното жури съгласно Заповед N 539/28.12.2012
на Директора на НЦЗПБ, гр. София

относно Дисертационния труд на Елина Георгиева Добрева за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ на тема: **Молекулярно-биологични проучвания за характеризиране на клинични изолати *Clostridium difficile* Научна специалност „Микробиология“ 01.06.12**

Национален център по заразни и паразитни болести, гр.София

Дисертационният труд на Елина Добрева е посветен на един от нарастващите проблеми в областта на инфекциите, свързани с медицинското обслужване през последните години, особено след 2006 г., а именно *Clostridium difficile*. Клиничният спектър на инфекциите, причинени от *C. difficile*, означавани, като *Clostridium difficile* – асоциирана болест (*Clostridium difficile* – associated disease, CDAD), обхваща случаите от умерено изразена диария, най-често нозокомиална, антибиотик-свързана, до тежък, живото- застрашаващ псевдомембранозен колит. Влиянието на инфекциите, причинени от *C. difficile* върху съвременното здравеопазване е сериозно, както по отношение на заболяемост и смъртност, така и относно високите разходи за лечение. Проблемът се утежнява след 2003 г., когато се съобщава за зачестяване на случаите от CDAD в Канада и САЩ с по-тежко протичане, по-висока смъртност и повече усложнения. При тях е установен като причинител високовирулентен щам *C. difficile*, продуциращ по-високи количества токсин, резистентен на хинолонови препарати и отнасящ се към определен PCR риботип 027, токсинотип III и PFGE NAP1 тип и с висока смъртност сред пациентите. От 2005 година с нарастващо разпространение в европейските страни.

Дисертантката си поставя за цел апробиране, оптимизиране и прилагане на молекулярно-биологични методи за характеризиране на клинични изолати *C. difficile* в България. За постигането ѝ ясно и точно са формулирани седем задачи.

Направен е задълбочен литературен обзор, основан на 165 литературни източника, от които 160 на латиница и 5 на кирилица. В него се представя хетерогенната група на клостридиите, последвано от детайлно характеризиране на *Clostridium difficile* (CD). Направена е обща характеристика и исторически преглед на културелната изолация на ентеоропатогена. Специално внимание е отделено на токсините, като основни фактори на патогенност при CD и тяхното генетично детерминиране. Рисковите фактори за

възникване на *C. difficile* инфекция (CDI/CDAD), клиничните прояви, както и случаи на вътреболнични взривове са последователно представени. В частта , анализираща диагностика на CDI детайлно са проследени научните публикации, свързани с молекулярни методи за типирание на изолати CD

Приложен е комплекс от методи за изследване на 120 проби от значим брой пациенти (108) от девет болници в страната. Изолиране и характеризиране на CD е извършено с помощта на културелен метод, имуно-емзимен тест за доказване на токсини А/В на CD и латекс-аглутинация за доказване на причинителя. Молекулярно-биологични методи са използвани, както за идентификация, така и за доказване на токсин-кодиращите гени на CD: Duplex EvaGreen Real time PCR метод за доказване на гените *gluD* и *tcdB*; EvaGreen Real time PCR метод за доказване на *tcdA*, PCR метод за доказване делеция в *tcdA* гена, PCR метод за доказване *tcdA* и *tcdB*. За типирание на CD изолатите са приложени PCR – риботипирание и Мултилокусен анализ на Тандемно Повторени последователности (MLVA). Детайлно са представени принципите и техническото изпълнение на експериментите.

Извършени са задълбочени проучвания на клинични изолати CD и получените значими резултати са представени детайлно, последователно и убедително, в съчетание с обсъждането им.

Бих искала да акцентувам върху някои от най-важните научно-теоретични приноси с оригинален характер и възможност за приложение , а именно:

1. За пръв път е разработен и апробиран EvaGreen Real time PCR метод за едновременна идентификация на *C. difficile* и синтез на токсин В чрез доказване на гените *gluD* и *tcdB*;

2. За пръв път в страната се отдиференцират и се характеризира разпространението на четирите токсигенни варианта сред клиничните изолати: А+В+ CDT- в 53,1%; А-Б+ CDT- в 28,1% ; А+В+ CDT+ и А-Б- CDT-, съответно в по 9,4%.

3. Доказани са неописвани в България до момента риботипове, като 001, 002, 012, 014/20, 017, 023, 046, 070, 078, като са определени риботиповете 017 и 014/20, като доминиращи сред проучените изолати.

Приносителите с научно-потвърдителен характер включват:

1. Разработване и апробиране на генотипни методи с по-висока специфичност, в сравнение с фенотипните методи.

2. Потвърдено е доказването на неактивен токсин А в клинични щамове *C. difficile*. Научно-практически принос има модифицирането и въвеждане на два метода за молекулярно типирание на *C. difficile* изолати, с изключително важно значение при характеризиране на взривове от инфекции, свързани с медицинското обслужване, както и на епидемичното разпространение на клинично значими щамове.

Реализираните проучвания и получените резултати от дисертантката бележат напредък в търсенето на решения за навременна и точна диагноза на CDAD, доказване продукцията на токсини при *C. difficile*, характеризиране на епидемичната ситуация и овладяване на взривове.

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 5 научни статии, при 2 от които Елина Добрева е първи автор и са представени в 8 научни съобщения, изнесени на научни форми у нас и в чужбина. Първи автор е на 4 от научните съобщения, представени на конгреси. Общ Импакт фактор на публикациите е 0.420. Има спечелена награда за най-добър постер на български конгрес, както и спечелен грант за участие на специализиран *C. difficile* международен форум .

Предоставените ми за конкурса материали напълно отговарят на условията и реда за придобиване на образователната и научна степен «доктор».

Цялостните качества на работата, както и направените приноси и научните постижения на дисертантката са основание с пълна убеденост да препоръчам на членовете на уважаемото Научно жури да присъдят на Елина Георгиева Добрева образователната и научна степен «доктор» в областта на висше образование: 4. “Природни науки, математика и информатика”, Професионално направление: 4.3. “Биологически науки”, Научна специалност: “Микробиология”, шифър 01.06.12

23.03.2013 г.

Гр. София

Доц. Д-р Росица Вачева-Добревска, д.м.

