



До членовете на научно жури  
Определено със Заповед № 430/ 12.12.2016 г.  
на Директора на НЦЗПБ

## РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Ива Стефанова Христова, д.м.н., НЦЗПБ, София, член на научно жури съгласно заповед № 430/ 12.12.2016 г. на Директора на НЦЗПБ

На дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР” по научната специалност „Микробиология”

В област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика”

Професионално направление 4.3. „Биологически науки”

**Тема на дисертационния труд:** МОЛЕКУЛЯРНА ДИАГНОСТИКА НА БАКТЕРИАЛНИТЕ МЕНИНГИТИ, ПРИЧИНЕНИ ОТ *NEISSERIA MENINGITIDIS*, *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* И *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* В БЪЛГАРИЯ

**Автор на дисертационния труд:** Иван Маринов Симеоновски, докторант към Отдел Микробиология на Националния Център по Заразни и Паразитни Болести  
**Научен ръководител:** проф. д-р Тодор Кантарджиев, дмн

### Актуалност и значимост на дисертационния труд

Дисертационният труд на Иван Симеоновски се отличава с иновативност, методическа подготвеност и оригинален подход, насочени към диагностиката на бактериалните менингити.

Първо, трябва да се има предвид тежестта на заболяването, честия му фатален изход, особено в детската възраст. Проблемът е изключително важен и много актуален. Абсолютно необходима и навременна е намесата на НЦЗПБ в

помощ на изясняване на етиологичната структура на причиняващите го бактерии. При това с високата специфичност, надеждност и бързина на молекулярно-генетичните техники.

Второ, разработеният дисертационен труд има изследователска и методична насоченост. Разработени, апробирани, въведени и приложени са **генетични методи за идентификация** на трите най-чести причинителя на бактериален менингит – *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* и *H. influenzae*. Използвани са real time PCR реакции за трите причинителя и допълнително бримковата изотермична амплификация LAMP за *N. meningitidis*. До момента в нашата страна липсваше подобен подход за молекулярна диагностика на бактериалните менингити. А при недостатъчно ефективните културелни методи, надеждната лабораторна диагностика на бактериалните менингити определено беше проблем. И това е една от големите заслуги на дисертационния труд на Иван Симеоновски.

Трето, още по-съществено и много по-трудоемко е разработването, апробирането и приложението на **генетичните методи за типизиране** на трите най-чести причинители на бактериален менингит. Използвани са real time PCR за *N. meningitidis* и *H. influenzae* и мiltиплекс PCR за генотипизиране на *S. pneumoniae*.

Четвърто, на базата на въведените генетични методи за типизиране на *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* и *H. influenzae* докторатът проучва честотата на циркулиране на отделните серотипове.

### **Литературна осведоменост**

На базата на 168 литературни източника докторантът е направил много задълбочен литературен обзор на 46 страници. Обзорът се чете с удоволствие, защото е стегнат и информативен. Развити са две основни теми – едната е микробиологичната характеристика на трите най-чести причинители на бактериален менингит, а другата е възможностите на фено- и генотипните методи за диагностика на бактериалните менингити и за типизиране на техните причинители. Изяснен е принципът на всеки метод, възможностите му за

типизиране и приложението му. Прави впечатление отличната осведоменост на докторанта.

### **Цел и задачи**

Целта е добре формулирана. Задачите са пет и очертават конкретните стъпки за изпълнение на целта на разработката.

### **Материал и методи**

Раздел Материали и методи е написан прекрасно на 35 страници. В него проличава пионерният характер на дисертационния труд, който заслужава адмирации. Описани са използваните клинични материали и метода за екстракция от тях на бактериална ДНК с Cheelex 100, който позволява бърза, ефективна и много икономична екстракция на ДНК. С изключителна вещина и познаване на материята са описани разработените генетични методи за идентификация и типизиране на *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* и *H. influenzae* заедно с техните условия, праймерни двойки и сонди.

### **Резултати**

Постигнати са важни и съществени резултати, представени и обсъдени на 26 страници. Илюстрирани са богато с 29 таблици и 33 фигури. Описанието на резултатите е точно и ясно. Резултатите са представени в 5 раздела, като отговарят на поставените задачи.

В първия раздел са представени резултатите от разработването и изпитването на **PCR методи за диагностика и за типизиране** на *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* и *H. influenzae* на базата на конвенционалния и real time PCR.

Следващите три раздела са посветени на епидемиологични проучвания съответно върху възрастовите особености, засягането на двата пола и разпространението на територията на България на доказаните случаи на бактериални менингити, потвърдени с помощта на разработените диагностични подходи.

Последният раздел съдържа изключително важна информация, базирана на иновативния подход от разработването и прилагането на бримковата изотермична амплификация LAMP и сравняването на LAMP и конвенционалния PCR. Подчертани са предимствата на LAMP методиката – бързина, не изисква скъпа апаратура, лесно и бързо отчитане, могат да се използват необработени или частично обработени проби.

### **Приноси**

Разработеният дисертационен труд има съществени приноси, по-важните от които са:

1. Разработването, апробирането и въвеждането на молекулярно-генетични методи за доказване на трите най-чести причинители на бактериалните менингити.
2. Разработването и въвеждането на генетични методи за тяхното типизиране.
3. Установяване на таргетната възрастова група и разпространението им.
4. Разработването и оптимизирането на LAMP техника за идентификация на *N. meningitidis*.

Това са безспорни успехи на дисертационния труд и правят чест на неговия автор и научен ръководител.

### **Публикационна активност**

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 6 журнални статии. Данните са представени и на 5 научни форума, сред които е Европейската научна конференция по приложна епидемиология на инфекциозните болести (ESCAIDE). Трябва да се подчертае, че на 5 от бте си публикации и на 3 от 5те си научни участия, Иван Симеоновски е първи автор, което е доказателство, че докторантът има личен принос и основно участие за тяхното осъществяване.

## Заклучение

Дисертационният труд на Иван Симеоновски е един пионерен, иновативен и много стойностен труд, изпълнен на високо методично ниво, с постигнати съществени резултати и приноси. В него той се представя като изследовател, способен да разработва, изпитва и прилага в лабораторната практика модерни молекулярно-генетични методи за диагностика и типизиране.

Считам, че рецензираният дисертационен труд отговаря напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България, Правилника за неговото приложение и Правилника на НИЦЗПБ за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“. Като давам положителната си оценка, убедено подкрепям присъждането на образователната и научна степен „Доктор“ по научна специалност Микробиология на Иван Маринов Симеоновски.

Рецензент:



(проф. д-р И. Христова, дмн)

24.12.2016 г.