

РЕЦЕНЗИЯ

От доц. Виктория Стефанова Левтерова, д.м.,

Зав. НРЛ „Молекулярна микробиология”, отдел „Микробиология” при НЦЗПБ, София,

На дисертационен труд представен пред научно жури, сформирано със заповед №426/29.11.2017г. на Директора на НЦЗПБ, за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР” по научната специалност „Микробиология” – шифър 01.06.12. В област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика”. Професионално направление 4.3. „Биологически науки”

Тема на дисертационния труд: Проучвания върху възможностите за диагностика и типизиране на *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium* с молекулярно-генетични методи

Автор на дисертационния труд: д-р Ива Огнянова Филипова, докторант към Отдел Микробиология на Националния Център по Заразни и Паразитни Болести.

Научен ръководител: проф. д-р Тодор Кантарджиев, дмн

Научен консултант:

Проф. Магнус Унемо, дмн

Представеният ми за официална защита дисертационен труд на тема „Проучвания върху възможностите за диагностика и типизиране на *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium* с молекулярно-генетични методи” на д-р Ива Огнянова Филипова ми дава основание да формулирам рецензията си както следва:

Представяне на докторанта с акцент върху биографични данни във връзка с процедурата

Д-р Филипова завършва медицина през 2010 г. в Медицински университет София.

От 2010 г. работи в лаборатория по микробиология и вирусология в УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ“ София.

От 2013 г. работи в НРЛ Микози и СПИ, НЦЗПБ, София. Специалност по микробиология придобива през 2016 г. Владее три чужди езика.

Следдипломното и обучение включва две специализации в националната референтна лаборатория по патогенни найсерии в университета в Йорекбру, Швеция и европейски колабориращ център на СЗО за гонорея и други сексуално предавани инфекции. - "Диагностика, типизиране и изпитване на антибиотичната резистентност на *Neisseria gonorrhoeae*" и "Целогеномно секвениране на *Neisseria gonorrhoeae*", успешно завършени курс "Молекулярно типизиране и целогеномно секвениране на сексуално предавани инфекции", организиран от Европейския център за контрол на заболяванията (ECDC) и агенцията за обществено здраве във Великобритания (PHE) и курс за напреднали „Сексуално предавани инфекции“, организиран от европейския клон на международното дружество за сексуално предавани инфекции IUSTI.

Актуалност на тематиката

Както е известно, бактериалните сексуално предавани инфекции остават един от основните проблеми на общественото здраве в световен мащаб. Световната здравна организация (СЗО) съобщава в доклада си за 2012г - 214 млн. нови случаи глобално за три от лечимите бактериални половопредавани инфекции: урогенитална хламидийна инфекция (*Chlamydia trachomatis*), гонорея (*Neisseria gonorrhoeae*) и сифилис (*Treponema pallidum subspecies pallidum*) сред хората в репродуктивна възраст (15-49 години).

Увеличаването на случаите с бактериални сексуално предавани инфекции е свързано и с тенденция на появата и разпространението на случаи с трудно лечими, полирезистентни бактериални щамове.

През 21 век се наблюдава възход на новите технологии при диагностиката на тези инфекции, а именно нови молекулярни тестове, като полимеразно верижна реакция в реално време и секвениране.

Дисертационният труд на д-р Ива Филипова се отличава с оригинален подход и методическа подготвеност, насочени към диагностиката и типизирането на бактериалните сексуално предавани инфекции. Проблемът е важен и все още много актуален.

Апробирани, въведени и приложени са генетични методи чрез Real Time PCR и секвениране за **идентификация и типизиране** на три от най-честите причинители на бактериалните сексуално предавани инфекции, в клиничен материал за целите на

рутинната диагностика – *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium*.

Съществено значение имат апробираните, въведени и приложени за първи път в страната генетични методи за типизиране на *C.trachomatis* и на *N.gonorrhoeae* едни от най-честите причинители на бактериалните сексуално предавани инфекции. За *C.trachomatis* това са методите ДНК секвениране на гена *ompA* и молекулярно-генетичният метод HRMA (анализ с висока резолюция на кривите на топене).

Това позволява да бъде проучена честотата на циркулиране и разпространението на различните геногрупи на *C. trachomatis*.

Дисертантката също така е направила сравнение на конвенционално ДНК секвениране на *ompA* ген и HRMA като методи за типизиране на *C.trachomatis*.

Проведено е молекулярно епидемиологично типизиране и на *N.gonorrhoeae* чрез NG-MAST метода. Този метод произвежда цифров алелен профил на всеки гонококов щам чрез секвениране на вътрегени нуклеотидни последователности от два хипервариабилни домена на два външномембранни гена, *porB* и *tbpB*.

Това позволява да бъде проучена честотата на циркулиране и разпространението на различните геногрупи на *N.gonorrhoeae*.

Проведено е ретроспективно проучване на молекулярните механизми на резистентност на гонококови изолати с намалена чувствителност и резистентност към цефалоспорини от трета генерация за голям период от време – 2002 – 2016г.

Основната насоченост на разработката е да се създаде научна база за бърза диагностика и подобряване на контрола на бактериалните сексуално предавани инфекции причинени от *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium*.

Така фокусирана, основната насоченост определя дисертабилността на темата и предлага възможности за оригинални приноси.

Познаване на проблема

Дисертационният труд е конструиран в традиционна форма със съответните раздели. Написан е на 134 компютърни страници и е онагледен с 8 таблици и 18 фигури. Една част от тях са включени в раздели „Литературен обзор” и „Материали и методи” и подпомагат читателя при възприемане на текста. Книгописът включва 205 източника (8 на български автори и 197 международни)

На базата на литературните източници използвани в дисертацията, докторантката е направила задълбочен **литературен обзор** на 52 страници.

Литературният обзор представя микробиологичната характеристика, факторите на вирулентност при отделните патогени, както и подробен преглед на методите за диагностика и типизиране на разглежданите микроорганизми. Развити са няколко основни теми – едната е микробиологичната характеристика на трите най-чести причинители на бактериалните сексуално предавани инфекции, друга тема е възможностите на фено- и генотипните методи за диагностика на тези инфекции и за типизиране на техните причинители. Изяснен е принципът на всеки метод, възможностите му за типизиране и приложението му. Застъпена е и темата за антибиотична терапия на трите причинителя, както и темата за възникване на антибиотична резистентност при *Neisseria gonorrhoeae*.

Включения в обзора материал е доказателство, че д-р Филипова много добре познава поставения проблем. В обзора са отразени общо 165 литературни източника. Всички те изцяло кореспондират с поставените задачи. Над 45% от статиите са от последните 10 години, а над 20% от последните 5, което подчертава още веднъж неговата актуалност.

Обзорът завършва с извод за необходимостта от молекулярно-генетична диагностика на бактериалните сексуално предавани инфекции и типизиране на техните причинители. По този начин обзорът логично извежда до целта на дисертационния труд.

Въз основа на този задълбочен анализ е изведена целта на настоящата дисертация, а именно: апробиране и въвеждане на молекулярно-биологични методи за диагностика и типизиране на причинителите на бактериалните сексуално предавани инфекции: *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium*.

Задачите са четири и очертават конкретните стъпки за изпълнение на целта на разработката.

Разделът **„Материали и методи“** е информативен и методически издържан. Изследвани са 1124 клинични проби от страната взети за период от 3 години и 3884 изолата, които са предоставени от Националната референтна лаборатория за патогенни найсерии на университетската болница в Йорребру, Швеция, изолирани през периода 2002 – 2016 година. Всички тези проби са изследвани за период от 3 години.

Използвани са съвременни молекулярни методи като Real Time PCR, ДНК секвениране, както и анализ с висока резолюция на кривите на топене / HRMA/.

Постигнати са важни и съществени резултати, представени и обсъдени на 20 страници. Илюстрирани са с 7 фигури и 5 таблици. Описанието на резултатите е точно и ясно и е направено на добър научен език.

Резултатите са представени в 7 раздела, като следват логичната последователност на поставените задачи.

В първия раздел са представени разпределението на генотиповете *C. trachomatis*, определени чрез ДНК секвениране на гена *ompA*.

Във втория и третия раздел са представени разпределението на генотиповете *C. trachomatis*, определени чрез HRMA генотипизиране, като в същото време се прави анализ на чувствителността и специфичността на метода. Следващите два раздела са посветени на засягането на двата пола и разпространението на *Mycoplasma genitalium* и *Neisseria gonorrhoeae*, както и на антибиотична чувствителност на гонококовите изолати потвърдени с помощта на разработените диагностични подходи.

Последните два раздела засягат молекулярно епидемиологична характеристика, както и определяне на детерминанти на цефалоспориновата резистентност на гонококовите изолати с *in vitro* намалена чувствителност и резистентност към цефалоспорини от трета генерация. След изследваните изолати дисертантката идентифицира 85 различни NG-MAST секвенционни типа, отговарящи на 77 различни алела *porB* и 19 различни *tbpB* алела. Интересен е факта, че 29 от тези осемдесет и пет секвенционни типове не са били описвани преди това. Дисертантката прави заключение че, през последното десетилетие резистентността към азитромицин при изолати *N. gonorrhoeae* значително се увеличава и се появява *in vitro* намалена чувствителност и резистентност към цефалоспорини от трета генерация. Чрез резултатите си д-р Филипова показва, че NG-MAST ST1407 и еволюционно свързаните с него ST5533, ST3431 и ST3378 отговарят до голяма степен за *in vitro* намалената чувствителност и резистентност към цефалоспорини от трета генерация. Всички тези изолати съдържат допълнителни детерминанти за резистентност към цефалоспорини от трета генерация.

Изводите са коректно формулирани и обобщават основните акценти в работата. Дисертантката представя пет научно-теритични приноса с оригинален характер и четири научно-приложни приноса с които съм напълно съгласна.

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 6 журнални статии, всички са на английски език. Четири от тях са представени в реферирано българско списание - Problems of Infectious and Parasitic Diseases, а другите две в списания с висок импакт фактор – Journal of Antimicrobial Chemotherapy IF 5,071 и AMPIS IF 1,933. Данните са представени също така и на 4 научни форума, два от които са в чужбина. Трябва да се подчертае, че в 5 от шестте си публикации, д-р Филипова е първи автор, което е доказателство, че тя има личен принос и основно участие за тяхното осъществяване.

В заключение, дисертационният труд на д-р Ива Филипова отразява високо професионално ниво на извършените изследвания, той е иновативен и много стойностен труд, изпълнен на високо методично ниво, с постигнати съществени резултати и приноси. Чрез него тя се представя като изследовател, способен да разработва, изпитва и прилага в лабораторната практика модерни молекулярно-генетични методи за диагностика и типизиране.

Поради гореизложеното считам, че рецензираният дисертационен труд отговаря напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България (ЗРАСРБ), Правилника за неговото приложение и Правилника на НЦЗПБ за присъждане на образователната и научна степен „Доктор”.

Давам положителната си оценка и убедено подкрепям присъждането на образователната и научна степен „Доктор” по научна специалност Микробиология на д-р Ива Филипова.

04.02.2018 г.

Рецензент:



доц. Виктория Левтерова