

До Научното жури, назначено със заповед
426/29.11.2017 г. на Директора на НЦЗПБ

Становище

за Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „Доктор” в Област на висшето образование: 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление: 4.3. Биологически науки, Научна специалност: „Микробиология”, шифър 01.06.12. на Д-р Ива Огнянова Филипова, специалист по микробиология, Ръководител на НРЛ „Микози и СПИ” на НЦЗПБ на тема „Проучвания върху възможностите за диагностика и типизиране на *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium* с молекулярно-генетични методи“

Имам общи публикации и съм научен ръководител на докторската дисертация, нямам конфликт на интереси от друг характер по смисъла на ал.1, т.3 и 5 от ДР на ЗРАСРБ с докторанта

Трите сексуално предавани инфекции с бактериална етиология представляват един от най-важните проблеми на общественото здравеопазване у нас, на фона на разразяваща се демографска криза, защото са най-честата причина за репродуктивни неудачи при българските семейни двойки. В нашата страна не се проучват механизмите на лекарствена резистентност на бактериите причинители на СПИ. Въпреки известния факт, че причинителят на гонореята е най-бързо придобиващият гени на резистентност микроб, у нас изследванията на дисертантката не само са пионерни, а са и единствените. До тази разработка у нас не са извършвани изследвания за определяне на серотиповете на причинителите, особено и чрез генетични методи. Малко са изследванията на новооткрития етиологичен причинител на гениталната микоплазмоза, заболяване с клиниката и последствия за репродуктивните функции като хламидиозата. Всичко това прави дисертацията актуална и със значителни приноси за нашето здравеопазване.

Дисертационният труд е собствено дело на авторката, конструиран в традиционна форма според изискванията публикувани в NEJM, със съответните раздели в пропорционален обем. Представен е в обем на 134 стандартни страници и е онагледен с 8 информативни таблици и 18 показателни фигури. Една част от тях са включени в раздели „Литературен обзор” и „Материали и методи” и подпомагат възприемането на текста. Списъкът на цитираните литературни източници включва 205 заглавия на журнални научни статии, като 8 са на български автори и 197 на учени от чужбина. Обзорът на

литературата завършва с изводите на докторантката за необходимостта от молекулярно-генетична диагностика на бактериалните сексуално предавани инфекции и генетичното маркиране за епидемиологично типизиране на техните причинители. По този умел начин обзорът логично извежда до целта на дисертационния труд, което доказва умението на авторката да работи със съвременната литература и да прави правилни изводи. Целта на настоящата дисертация е формулирана точно и категорично. Тя е: апробиране и въвеждане на молекулярно-биологични методи за диагностика, типизиране и охарактеризиране на причинителите на бактериалните сексуално предавани инфекции: *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium*. Задачите последователно водят до постигане на целта. Те са четири на брой. Следващият раздел – Материали и методи представлява доказателство за лабораторно-методичната подготвеност на авторката. Впечатляващи са бройките на клиничните материали - 1124 и изследваните 3884 щамове. Щамове са предоставени за лабораторен анализ от Националната референтна лаборатория за патогенни найсерии на университетската болница в Йорекбу, Швеция. Авторката свободно владее и използва съвременните молекулярни методи като Real Time PCR, ДНК секвениране, както и анализ с висока резолюция на кривите на топене / HRMA/, като приложението им на тези микробни модели са пионерни за страната ни.

Резултатите на собствените проучвания са представени в 7 самостоятелни раздела, които кореспондират с поставените задачи.

В началния раздел са представени разпределението на генотиповете *C. trachomatis*, определени чрез ДНК секвениране на гена *ompA*, което е оригинално и не е провеждано в нашия географски ареал на разпространение на тази СПИ.

Втори и трети раздел обсъждат разпределението на генотиповете *C. trachomatis*, определени чрез HRMA генотипизиране. Прави се анализ на чувствителността и специфичността на метода, което е необходимо, защото този метод е въведен от докторантката по отношение микробните причинители на СПИ у нас.

Следващите два раздела са посветени на проучвания за разпространението на *Mycoplasma genitalium* и *Neisseria gonorrhoeae* при пациенти. Пионерно се проучва антибиотична чувствителност на гонококовите изолати с помощта на разработените диагностични подходи.

Последните два раздела засягат молекулярно епидемиологична маркиране на етиологичните причинители. Определят се детерминанти на цефалоспориновата резистентност на гонококовите изолати с *in vitro* намалена чувствителност и резистентност към цефалоспоринони от трета генерация. При изследваните изолати докторантката идентифицира 85 различни NG-MAST секвенционни типа, отговарящи на 77 различни алела *porB* и 19 различни *tbpB* алела. Факт подчертаващ оригиналния характер на проучването е, че 29 от тези осемдесет и пет секвенционни типове не са били описвани

преди това в световната научна литература. Оригинално и с приносен научно-теоретичен характер е заключението че, през последното десетилетие резистентността към азитромицин при изолати *N. gonorrhoeae* значително се увеличава. Принос е и описанието на появява на *in vitro* намалена чувствителност и резистентност към цефалоспорини от трета генерация при този микроб. Чрез научните си резултати докторантката категорично доказва, че *NG-MAST ST1407* и еволюционно свързаните с него *ST5533*, *ST3431* и *ST3378* отговарят до голяма степен за *in vitro* намалената чувствителност и проявена резистентност към цефалоспорини от трета генерация при тези бактерии. Освен това всичките изолати съдържат допълнителни генетични детерминанти за резистентност към цефалоспорини от трета генерация.

Представени са шест научни публикации на авторката, които са свързани с дисертацията, това са журнални статии в издания с академична редколегия и са реферирани в международно-признати електронни научни търсачки. Две от статиите са в списания с импакт фактор- JAC с IF 5,071 и AMPIS , IF 1,933. Първи автор е в пет от статиите, което доказва водещата ѝ роля.

Заключение: Докторската работа е актуална, достатъчна по методичен и научен обем и изпълнява напълно изискванията на ЗРАСРБ, Правилника към него и Правилника на НЦЗПБ. Изследванията са широкомащабни с пионерен и иновативен характер. Проведени са методично правилно. Получените резултати са достоверни и са солидна база за следващи научни разработки. Дисертацията решава важни проблеми на здравеопазването. Приемам оригиналните научно-теоретични и научно-приложни приноси и представените публикации на докторантката, свързани с дисертацията.

Всичко това ми дава основание за крайна висока оценка на дисертационния труд, въз основа на която поддържам присъждането и предлагам на уважаваното научно жури да присъди образователната и научна степен ДОКТОР по МИКРОБИОЛОГИЯ на д-р Ива Огнянова Филипова, Ръководител на НРЛ Микози и СПИ.

Проф.Д-р Тодор Кантарджиев,дм,дмн