

## Становище

# за защита на дисертационен труд на МАРИЯ РУМЕНОВА МАЛЧЕВА

за присъждане на образователна и научна степен  
"Доктор"

Област на висшето образование: 4.Природни науки, математика и  
информатика

Професионално направление: 4.3.Биологически науки

Научна специалност: Микробиология, шифър 01.06.12.

Научен ръководител:

доц. Виктория Левтерова, дм

**Молекулярни методи за проучване на серотиповата  
принадлежност на *Streptococcus pneumoniae*,  
колонизиращи назофаринкса при деца**

**Рецензент: Проф. Д-р Людмила Боянова Георгиева, дм, дмн**

**Професор в Катедра медицинска микробиология  
на Медицински университет-София**

**Тел. 029172724; e-mail l.boyanova@hotmail.com**

**Научна специалност – микробиология**

Член на Научното жури със заповед № 505/16.12.2019 г. на Директора на НЦЗПБ

Мария Руменова Малчева има квалификацията Молекулярен биолог – бакалавър от 2009 г. и от 2011 г. магистър по микробиология и микробиологичен контрол. От 2013 до 2016 г. е асистент в Медицински университет-Варна. От 2017 г. е редовен докторант в Катедра "Микробиология" на НЦЗПБ.

#### **Актуалност на труда**

*Streptococcus pneumoniae* е един от честите причинители на бактериална пневмония, менингит, отит и синусит и продължава да бъде съществена причина за заболяемост и смъртност при хората, често при децата. Освен това нарастването на антибиотичната резистентност на тези бактерии е сериозен проблем в последните години. След въвеждането на конюгираните ваксини е наблюдавано изместване на носителството от неваксинални щамове, някои от които с множествена резистентност. Тези процеси могат най-добре да се определят посредством молекулярни методи. Всичко това подчертава актуалността и значимостта на темата разработена от Мария Малчева под ръководството на доц. Левтерова.

#### **Структура и раздели на представения труд**

Представеният ми дисертационен труд съдържа 123 страници и е оформен в както следва – въведение (1 стр.), литературен обзор (42 стр.), цел и задачи (1 стр.), материал и методи (29 стр.), резултати и обсъждане (29 стр.), заключение (1 стр.), изводи (1 стр.), приноси и декларация за оригиналност (2 стр.), списък на публикациите и участия в конгреси (2 стр.) и литература (15 стр.).

**Обзорът** е написан подробно и подробно проследява историческия ход, динамиката и съвременното състояние на пневмококовото носителство, особено при деца, на свързаните заболявания, както и на методите за диагностика и профилактика на инфекциите. Добре е илюстриран с 3 таблици и 7 фигури.

**Целта и задачите** са актуални и правилно фокусирани. Проучването на серотиповата „епидемиология“ и антибиотична чувствителност на *S. pneumoniae* в нашата страна при най-уязвимата група, децата, както и на степента на защита от ваксините е важно за здравеопазването. За тази цел оптимизирането на молекулярните методи да доказване и типирание на бактериите, заложено в целта и задачите, е необходим съвременен подход.

**Материали и методи.** Проучването е върху много голям брой деца (834) на възраст 6 мес. до 8 г. с един или няколко курса на ваксинация с PCV10, което обуславя достоверността на резултатите. Използваните методи включват класически методи като посеви, микроскопиране и антибиограми, определяне на минималната потискаща концентрация на антибиотиците с микроразреждания в бульон, така и

молекулярни методи. От молекулярните методи са използвани стандартна и мултиплекс PCR, PCR в реално време, както и търговският кит „S. PneumoStrip“ за определянето на 76 серотипа, или серогрупи на *S. pneumoniae* в ДНК проби с една амплификация. Всичко е изключително подробно описано и илюстрирано.

**Резултати и обсъждане.** В резултатите и обсъждането ще се спира на нещата, които ми направиха най-голямо впечатление:

- Установена е ролята на дневните центрове (детски градини и училища) за колонизацията с пневмококи у нас, като повечето (85%) от изолатите са били от деца от детските центрове.
- Намерено е често наличие на циркулиращи щамове пневмококи с множествена резистентност, над 40% от изолатите. Най-честите тройни резистентности са били към erythromycin, tetracycline и clindamycin, или trimethoprim-sulfamethoxazole.
- Намерен е за първи път и у нас множествено резистентен клон на серотип 35B, който е нечувствителен и към бета-лактами.
- Използаните молекулярни методи са били успешни за типизирането на повечето положителни случаи.

**Приноси.** В дисертационния труд се разкрива актуалната картина на серотиповото разпространение и антибиотичната резистентност на пневмококите в следващия период у нас, като също така има полезни научно-приложни приноси.

#### **Научно-теоретични приноси**

- ✓ Установено е често носителство на пневмококи при изследваните деца, понастоящем, след ваксинацията с PCV10, главно с неваксинални серотипове и групи като 6C/D, 3, 19A, някои от които с множествена резистентност.
- ✓ Проучена е връзката на детските заведения с пневмококовото носителство при децата.
- ✓ Определени са актуалните серогрупи и серотипове с множествена резистентност: 6C, 24B/F, 15A/F, 23A и 19A.

#### **Научно-приложни приноси:**

- ✓ Сравнени са и оптимизирани методите за изолиране и пречистване на ДНК от пневмококите.
- ✓ Направен е алгоритъм за проучването на носителството и типизирането на изолатите.
- ✓ Използваните в проучването молекулярните методи за типизиране са показали висока акуратност около 90%, като серотипова принадлежност не е установена

само за <8% от положителните случаи и само при директно изолиране на ДНК от клинични проби.

**Публикации свързани с дисертационния труд.** Мария Малчева представя 5 публикации, от които е първи, или единствен автор на три публикации, както и 6 участия в научни форуми, от които 3 в други държави.

**Литературни източници.** Използваната литература обхваща 242 литературни източници, всички на латиница, като включва и проучванията на други автори от нашата страна по проблема. Над 90 (около 40%) от цитираните статии са от последните 5 години, което показва познанията на дисертанта върху съвременното състояние на проблема.

### **Препоръки за дисертационния труд**

Имам някои бележки, които по никакъв начин не намаляват стойността на дисертационния труд:

Имената на антибиотиците следва да се пишат в един и същи стил, или на кирилица както на стр. 30, или само на латиница както на стр. 31. Аз лично считам, че е по-добре да се пишат на латиница.

Някои термини биха могли да се преведат другояче, напр. вместо „мултилекарствената резистентност“ (стр. 30) е по-добре да се каже множествена резистентност.

Стр. 37: вместо „Пневмококовият растеж изисква въглероден диоксид“ би било по-добре да се каже: „Пневмококовият растеж е най-добър при наличие на въглероден двуокис“.

### **Заключение**

Представеният дисертационен труд третира важен и актуален за здравеопазването у нас проблем в областта на микробиологията, а именно серотиповата характеристика на пневмококите колонизиращи децата и високата акуратност на молекулярните методи, необходими за нейното проследяване.

Работата отговаря на критериите на ЗРАСРБ и Правилника за прилагане на ЗРАСРБ на НЦЗПБ за присъждане на образователната и научна степен „доктор“. Като имам предвид актуалността и резултатите на разработения проблем, както и посочените приноси както с научно-теоретичен, така и с практически приложен характер, предлагам за бъде заслужено присъдена на **Мария Руменова Малчева** образователната и научна степен „доктор“.

Проф. Д-р Людмила Боянова Георгиева, д.м.н.

София, 6.01.2020 г.

