



## СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Стефана Донева Събчева, д.м.,  
член на научното жури определено със заповед № 506/16.12.2019 г. на Директора на  
Националния център по заразни и паразитни болести

Относно: дисертационен труд на тема „Молекулярни методи за проучване на  
серотиповата принадлежност на *Streptococcus pneumoniae*, колонизиращи назофаринкса  
при деца” за присъждане на образователна и научна степен „Доктор” по научна  
специалност 01.06.12 Микробиология

на Мария Руменова Малчева, редовен докторант в отдел  
Микробиология на НЦЗПБ

Научен ръководител: доц. Виктория Левтерова, д.м.

*Streptococcus pneumoniae* принадлежи към групата на условно-патогенните микроорганизми, които колонизират назофаринкса в ранна детска възраст, откъдето се изолират в 25-50% от здрави носители. При определени условия, свързани най-вече със състоянието на имунитета и наличието на други респираторни инфекции, пневмококите могат да причинят редица инфекции в околните органи (отит, синусит, бронхит, конюнктивит) както и тежки системни заболявания (бактериемия, пневмония, ендокардит, менингит) с висока смъртност особено в детска възраст. Всичко това обуславя актуалността на дисертационния труд и необходимостта от проведените микробиологични и молекулярно-генетични проучвания на серотиповата принадлежност на щамове *S. pneumoniae*, колонизиращи назофаринкса при деца.

Дисертацията е написана на 123 страници и е структурирана по общоприетата схема със съразмерно разпределение на текста в отделните раздели. Изложението е оптимално илюстрирано с 46 прецизно изработени нагледни материали (19 таблици и 27 фигури). Библиографията включва 242 литературни източника, които показват добрата литературна осведоменост на дисертанта и отразяват хронологията и съвременното състояние на проблема у нас и в световен мащаб.

Литературният обзор е изчерпателен, като включва необходимата като обем и анализ информация за епидемиологията, трансмисията, патогенезата, клиниката, диагностиката и лечението на пневмококовите инфекции. Много подробно е описан етиологичният причинител – *S. pneumoniae*, неговата морфология, физиология,

културелни особености, антигенна структура, фактори на вирулентност и серотиповете пневмококи. Детайлно е анализирана серотипната епидемиология на пневмококите: взаимовръзките между серотипове и носителство, серотипове и пневмококови заболявания при деца и възрастни. Съществена част от обзора е посветена на пневмококовите конюгатни ваксини, чрез които ефективно се контролират пневмококовите инфекции в световен мащаб. Разгледани са ефектите от ваксинациите – замяната на ваксинални серотипове с неваксинални и как мониторирането на серотиповете при носителство и последващи инфекции е допринесло за създаване последователно на PVC10 и PVC13 на базата на PVC7 чрез добавяне на допълнителни серотипове с инвазивен потенциал. Следва анализ на методите за серотипиране на пневмококи и на проучванията в тази област у нас. Това позволява да се обоснове необходимостта от провеждане на мащабно проучване на серотиповото разпределение на щамове *S. pneumoniae*, изолирани от назофаринкса на ваксинирани деца чрез съвременни молекулярни методи – цел на дисертационния труд.

За осъществяване целта на проучването са формулирани четири основни задачи, а именно: (1) изследване на назофарингеални секрети от ваксинирани деца за носителство на *S. pneumoniae*; (2) определяне на антибиотичната чувствителност на щамовете *S. pneumoniae*, изолирани от тези деца; (3) разработване и оценка на амплификационни методи за доказване и серотипизиране на пневмококова ДНК и серотипиране на пневмококова култура; (4) анализиране на установените пневмококови серогрупи и серотипове.

За провеждане на проучването са използвани назофарингеални секрети от голям брой деца (834) на възраст от 6 месеца до 8 години, взети от февруари 2017 г. до март 2019 г. Пробите са изследвани едновременно с фенотипни и молекулярни методи по унифицирана методика, предпоставка за достоверността на резултатите.

Извършена е значителна по обем и разнообразна по характер изследователска работа. Получените резултати и тяхното обсъждане следват стриктно поставените задачи. Установени са: (1) Висок процент носителство на *S. pneumoniae* при изследваните деца – 21% (174/834) от култури и 53% (446/834) общо от пневмококова ДНК. В 79% (353/446) от случаите децата са в организирани колективи; (2) Понижена резистентност към  $\beta$ -лактами при колонизиращите щамове; (3) Въведените молекулярни методи за серотипиране са чувствителни, специфични и с 90% ефективност при извършените анализи; (4) Идентифицирани са над 30 серотипове/серогрупи като неваксиналните 6C/D, 3 и 19A доминират при

пневмококките, колонизиращи назофаринкса на изследваните деца. Водещ е серотип 6С като повечето щамове са MDR.

В дисертационния труд Мария Малчева е постигнала значителни оригинални и потвърдителни научно-теоретични и практически приноси, сред които бих открила следните:

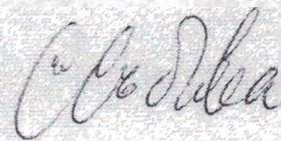
- установена е серотиповата принадлежност на пневмококките при ваксинирани деца на възраст до 8 години;
- получени са данни в подкрепа на серотиповата замяна след имунизация с PCV10, доминирана от неваксиналните серотипове 6С/D, 3 и 19А;
- установена е появата в България на мултирезистентен клон на неваксиналния серотип 35В, способен да причинява инвазивни инфекции с висока смъртност;
- изработен е алгоритъм за изследване на назофарингеални секрети за *S.pneumoniae* и определяне на серотипа с молекулярни методи от култура и директно от пневмококова ДНК.

Резултатите от обемната изследователска работа на Мария Малчева са отразени в 5 публикации. В 3 от публикациите тя е първи автор, което свидетелства за нейния водещ и съществен принос в изследванията. Дисертантът има и 6 конгресни участия (3 в български научни форуми и 3 – в международни) като във всички тя е първи автор – представящ научните резултати.

В заключение смятам, че темата е актуална и клинично значима. Представената от автора дисертация е завършен и задълбочен труд със съществен принос в областта на серотипната епидемиология на пневмококките при деца в България. Дисертацията надхвърля изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за неговото приложение на НЦЗПБ. Това ми дава основание с положителната си оценка да подкрепя присъждането на образователната и научна степен „Доктор“ по научната специалност 01.06.12 - Микробиология на Мария Руменова Малчева.

10.01.2020

Изготвил становището:



/Проф. д-р Стефана Събчева, д.м./