



НА ВНИМАНИЕТО НА ЧЛЕНОВЕТЕ
НА НАУЧНОТО ЖУРИ, ОПРЕДЕЛЕНО
СЪС ЗАПОВЕД № 510/16.12.2019 г. НА
ДИРЕКТОРА НА НЦЗПБ

СТАНОВИЩЕ

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“
в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика,
профессионално направление 4.3. Биологични науки
по научна специалност „Вирусология“, шифър 01.06.13

Автор на дисертационния труд: **Силвия Емилова Волева** - докторант на самостоятелна подготовка в Отдел „Вирусология“ към НЦЗПБ, гр. София

Тема на дисертационния труд: „Сероепидемиологично и молекулярио-генетично проучване на разпространението на парвовирус B19 сред бременни жени в детеродна възраст в България“

Научни ръководители:

1. доц. д-р Любомира Николаева Крумова-Гломб, дм, Зав. Отдел „Вирусология“, Зав. НРЛ „Ентеровируси“, НЦЗПБ, гр. София
2. доц. Стоян Ангелов Шишков, дб, Декан на Биологически факултет, СУ „Св. Климент Охридски“, гр. София

Научен консултант: доц. Стефка Крумова Иванова, дб – Зав. НРЛ „Морбили, паротит, рубеола“, Отдел „Вирусология“, НЦЗПБ, гр. София

Становище от: доц. Петя Динкова Генова-Калу, дб, Зав. НРЛ „Клетъчни култури, рикетсии и онкогенни вируси“, Отдел „Вирусология“, НЦЗПБ, гр. София, член на Научното жури назначено със Заповед № 510/16.12.2019 г. на Директора на НЦЗПБ

I. Общо представяне на процедурата

Рецензията е изгответа според Закона за развитие на академичния състав в България (ЗРАСРБ), Правилника за приложение на ЗРАС и Правилника за приложение на ЗРАС при НЦЗПБ, гр. София. Представеният комплект материали на електронен носител е в съответствие с всички изисквания на процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ и Правилника за приложение на ЗРАСРБ.

Декларирам, че нямам общи публикации с докторанта Силвия Волева и нямам конфликт на интереси от друг характер по смисъла на ал. I, т.3 от ДР на ЗРАСРБ.

II. Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд е структуриран съгласно Правилника за приложение на ЗРАСРБ (ЗРАСРБ). Представен е на 173 страници и следва общоприетата схема: заглавна страница; използвани съкращения (1 стр.); списък на таблици и фигури (3

стр.); съдържание (2 стр.); въведение (3 стр.); литературен обзор (36 стр.); цели и задачи (1 стр.); материали и методи (21 стр.); резултати и обсъждане (41 стр.); обща дискусия (13 стр.); изводи (2 стр.); декларация за оригиналност (научни приноси) (1 стр.); библиография (36 стр.); приложение (8 стр.); публикации, свързани с темата на дисертацията (2 стр.); научни проекти, свързани с дисертационния труд (1 стр.). Включени са 358 литературни источника (голяма част са от последните 10 години). От тях 357 источника са на английски език, а един е на кирилица. Дисертационният труд е представен и насочен за защита на разширен научен колегиум на Отдел „Вирусология“ на НЦЗПБ.

III. Актуалност и значимост на дисертационния труд

Дисертационният труд на Силвия Волева е свързан със съвременен и актуален въпрос, както за клиничната вирусология, така и за акушеро-гинекологичната медицинска практика, а именно разпространението/циркулацията на парвовирус B19 (B19V) и възможните клинични усложнения в следствие на тази инфекция, както за майката, така и за плода по време на бременност. Макар че често при възрастни пациенти B19V инфекция да протича безсимптомно или с нетипична клинична картина, последиците от нея, настъпили по време на бременност, могат да бъдат тежки и дори фатални за фетуса, сред които най-чести са фетална анемия, хидропс феталис, миокардит и/или вътрематочна смърт и спонтанен аборт. Разнообразната трансмисия на B19V, трансплацентарният път на предаване на инфекцията и индикативните показатели за връзка с тежки фетални ефекти при високорискови серонегативни жени във всеки тримесец от бременността, обуславя необходимостта от въвеждане и популяризиране на интензивни скринингови програми и разработването на методи за бърза и надеждна диагностика, характеризиращи се с висока специфичност и чувствителност спрямо този патоген. Безспорно достойнство на настоящият труд е разработването на надежден диагностичен алгоритъм, включващ широк набор от серологични и молекулярно-генетични методи, в помощ на добрите лечебни практики при високорискови пациентки в различен тримесец от бременността. В страната са малко сероепидемиологичните данни за разпространението на B19V инфекцията в общата популация и особено сред рискови контингенти, което прави дисертацията особено актуална и съвременна, стъпвайки на досега известни факти от редица проучвания. Високата положителна оценка на това проучване е подкрепена от възможността B19V скоро да бъде включен към панела от инфекции със задължително изследване по време на бременност или преди забременяване.

Всичко изложено до тук ми дава основание да определя тематиката на дисертационния труд като актуална и значима, с широко практическо приложение в съвременната медицина.

IV. Литературна осведоменост и оценка на литературния материал

Литературният обзор (около 1/4 от дисертацията) е изключително подробно развит, в който дисертантката много задълбочено и умело е представила основните литературни данни, отнасящи се до съвременната класификация на семейство *Parvoviridae*, морфология, антигенен строеж и репликативен цикъл. В подробности е

представена информацията касаеща патогенезата, имунен отговор, епидемиологията, клиничните прояви терапията и превенцията при B19V инфекция. Информацията от този раздел е подкрепена от голям брой чуждестранни литературни източници, което показва добрата осведоменост на докторантката по проблема и помага по-нататък в правилното интерпретиране на получените резултати, в обсъждането и формулировката на изводите.

Докторантката си поставя една ясно формулирана цел, която точно кореспондира с основните направления в експерименталната работа. Поставените 5 задачи на дисертационния труд са добре аргументирани, така че напълно да съответстват на поставената цел и да подкрепят напълно експерименталната постановка, получените резултати и изводи.

V. Методология

Настоящият дисертационен труд е задълбочено проспективно проучване (в периода 2015 – 2019 г.), което включва анализиране на 305 серумни преби, от които 250 бременни пациентки с данни за патологична бременност; 19 жени претърпели спонтанен аборт до 20 гестационна седмица, 25 жени с репродуктивни проблеми и 11 новородени деца (с данни за конгенитална анемия и конгестивни сърдечни прояви).

В дисертацията докторантката е използвала съвременни молекулярно-генетични и класически имуноензимни методи, съобразени с изпълнението на поставената цел и задачи. Те включват готови търговски ELISA китове, екстракция на ДНК от серум и/или плазма и полимеразно-верижна реакция (PCR) (стандартен и вмъкнат (nested) PCR), секвенционен и филогенетичен анализ на положително амплифицираните NS1/VP1u PCR продукта, съвременни биоинформационни програми и статистическа обработка на получените резултати. Използваните методи са описани ясно и подробно до степен, позволяваща възпроизвеждост на получените резултати.

VI. Резултати и обсъждане

Получените резултати и тяхното обсъждане представляват съществен раздел от работата, добре онагледен с 32 таблици и 22 фигури. След всяка изпълнена задача е направено задълбочено обсъждане на получените резултати, което улеснява възприемането на обемния фактологичен материал.

Подробно са обсъдени резултатите от машабното проспективно проучване, където в детайли са анализирани динамиката в B19V-IgG серопревалентността при 294 жени в детеродна възраст и е направена оценка на относителния дял на инфектиралите с B19V лица (с тенденция на завишиване на броя им) (43,5%). Особено ценна част от дисертационния труд представляват резултатите от проспективното изследване на потенциално рискови пациенти, извършено с широк набор от серологични методи и интерпретацията на резултатите. На база на тези резултати докторантката предлага реално приложим диагностично-профилактичен алгоритъм при жени с патологична бременност в първия тримесец от бременността за търсене на anti-B19V IgM и anti-B19 IgG антитела, както и молекулярно-генетични методи. Доказана етиологичната роля на парвовирус B19 в развитието на патологична бременност при жени с: анемичен синдром (14,85%), неймунен хидропс феталис

(30,00%), фетален асцит (1,98%), фебрилно-обривен синдром (3,96%) и при жени претърпели спонтанен аборт (5,94%). При 18,5% от изследваните здрави бременни жени е доказана персистираща с парвовирус B19 (ELISA IgM/IgG и/или вирусна нуклеинова киселина) инфекция. При 27,3% от новородените с клинична манифестация на хидропс и анемия, перикарден излив и тромбоцитопения е доказана остра парвовирус B19 инфекция чрез имуноензимни (ELISA IgM/IgG) и молекуларно-биологични (B19V PCR) методи. Проведеният филогенетичен анализ на B19V секвенции от здрави бременни, жени с патологична бременност и от такива, претърпели спонтанен аборт, базиращ се на NS1/VP1u регион, показва, че всички анализирани секвенции принадлежат към генотип 1a, доминантно циркулиращ в Европа. Направеният филогенетичен анализ показва, че малък брой аминокиселинни замени в 21 български секвенции от бременни жени с парвовирус B19 са установени в сравнение с прототипния щам B19-Au (Pybaua). Молекуларно-генетичният анализ показва висока степен на идентичност между българските парвовирус B19 секвенции и значително сходство с прототипния вирус.

Обобщен завършек на целия раздел „Резултати и обсъждане“ е предложеният диагностичен алгоритъм за проследяване на бременността при доказана B19V инфекция, с практическа насоченост към специалистите акушер-гинеколози.

VII. Обща дискусия

Разделът „Обща дискусия“ отразява цялостния завършек на дисертационния труд и дава яснота и сравнимост с резултати от международни научни изследвания по проблема. В тази глава докторанта критично обсъжда получените си резултати и докладва за подобни случаи в световната практика.

VIII. Изводи и приноси

На базата на получените резултати са направени 10 извода. Приемам формулировката на изводите от дисертационния труд и смяtam, че те отразяват правилно същността на получените резултати. Въз основа на резултатите от проучванията са формулирани общо 5 научни приноса, от които 3 са с приложен характер и които приемам. Разработен е диагностичен алгоритъм за проследяване на бременността при наличие на парвовирус B19 инфекция в първите месеци от бременността и последващо мониториране на тези пациенти с набор от серологични и молекуларно-диагностични методи.

IX. Публикации и научна дейност

В дисертационния труд на Силвия Волева са включени резултатите от 10 научни публикации, 3 от които са с импакт фактор (IF = 3,651). Тя е първи автор в 8 от публикациите, които отразяват актуалността на тематиката. Резултатите са представени на 4 научни форума в чужбина и в 8 национални научни прояви. Дисертантката е участвала в авторския колектив на два научни проекта, по темата на дисертацията, финансиран от Конкурс „ГРАНТ-2016, 2017“ на Медицински Университет – София.

Авторефератът отразява обективно получените резултати и е изготвен в съответствие с общоприетите изисквания.

Х. Заключение

Дисертационният труд на Силвия Волева на тема: „Сeroепидемиологично и молекуларно-генетично проучване на разпространението на парвовирус B19 сред бременни жени в детеродна възраст в България“ е посветен на важен за медицинската наука и практика проблем. Представени са резултати със съществен научно-приложен принос в изследването на B19V инфекция. Дисертационният труд е изработен на високо методично ниво и характеризира автора си като висококвалифициран изследовател, който има знанията и компетентностите да решава самостоятелно научни проблеми в областта на вирусологията. Силвия Волева изпълнява критериите на Закона за развитието на академичния състав в Р. България, Правилника за прилагане на Закона за развитието на академичния състав в Р. България и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени в НЦЗПБ, гр. София.

Всичко това ми дава основание да препоръчам на научното жури да присъди на Силвия Емилова Волева образователната и научна степен „Доктор“ в професионално направление 4.3. Биологически науки по научна специалност „Вирусология“, шифр 01.06.13.

22.01.2020 г.
Гр. София

Изготвил становището:.....
(доц. Петя Генова-Калу, дб)