

НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР
ПО ЗАРАЗНИ И
ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ

бх. № 1652
08.06.2013 г.
бул. „Янко Сакъзов“ № 26
София 1504, тел: 9446999

До Доц. д-р Мая Марина, д.м.

Председател на научното жури за
откриване на процедура за
защита на ОНС „Доктор“

Заповед № 143/26.04.2013 г.

Директора на НЦЗПБ-София

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по научната специалност „Микробиология“ шифър 01.06.12 на гл. ас. д-р Димитър Георгиев Нашев, завеждащ Национална референтна лаборатория по патогенни коки, дифтерия и анаероби при Национален център по заразни и паразитни болести, София

ТЕМА: *Микробиологична характеристика на метицилин-резистентни Staphylococcus aureus, изолирани в България*

Рецензент: Проф. д-р Мария Петрова Георгиева-Средкова, д.м., ръководител на Катедра по микробиология, вирусология и медицинска генетика при Медицински университет-Плевен

Актуалност на дисертационния труд

Появата на метицилин-резистентни *S. aureus* през 60-те години на миналия век е ключово събитие в еволюцията на резистентността при Грам-положителните бактерии. Разпространението на епидемични клонове на MRSA с резистентност не само към β-лактамите, но и към повечето други класове антибиотици представлява сериозен проблем. Това наложи изграждането на системи за надзор на този тип резистентност в отделни болници и отделни страни, а в края на 90-те години беше изградена и Европейска система за

надзор на инвазивни изолати на MRSA. Нашата страна участва в надзора на MRSA в рамките на BuISTAR и EARSS. Липсват, обаче, проучвания за клоналната структура на циркулиращите в страната щамове MRSA. Изясняването на клоналното разпространение на MRSA в страната би допринесло за по-ефективен контрол на причиняваните от тях инфекции. В този смисъл темата на дисертационния труд на д-р Нашев е върху изключително актуален за клиничната микробиология и болничната епидемиология проблем.

Структура на дисертационния труд

Представеният за рецензия дисертационен труд в обем 113 машинописни страници е конструиран логично и е написан много стегнато и точно. Трудът включва: кратко Въведение, Литературен обзор - 35 стр., Цел и задачи - 1 стр., Материали и методи - 9 стр., Резултати и обсъждане - 34 стр., Изводи - 2 стр., Литература - 20 стр. и Научни приноси - 2 стр. Онагледен е със сравнително малко на брой таблици (8 бр.) и фигури (10 бр.) съдържащи, обаче, данни с висока информативна стойност.

Оценка на литературния обзор

Библиографската справка включва общо 163 източници, от които 5 на български и 158 на английски език. Сто и шест (65.0 %) от използваните източници са от последните 10 години, 57 (35.0 %) са от последните 5 години и 32 (19.6 %) са от последните 3 години. Това е доказателство за задълбочено и цялостно познаване на проблема в неговото развитие в света и страната.

Структурата на обзора корелира с поставените цел и задачи в дисертационния труд. Хронологично е проследена появата и разпространението на MRSA в глобален мащаб и в страната. Публикуваните данни за нашата страна са проследени от средата на 60-те години до момента и състоянието на проблема MRSA у нас е представено много коректно. Детайлно са представени генетичните детерминанти на метицилиновата резистентност. Описан е произхода на mecA гена и специално внимание е отделено на стафилококовата хромозомна касета (SCCmec). Много добре са разгледани характеристиките на SCCmec типовете и субтиповете и е посочена необходимостта от тяхното определяне като задължителен елемент от генетичното характеризиране на MRSA.

В съответствие с поставената цел специално внимание е отделено на методите за типизиране на MRSA. Описани са различни молекулярно-генетични методи за генетично типизиране. Отделните методи са анализирани задълбочено и критично с акцент върху тяхната възпроизвежданост, дискриминираща способност и възможността за обработка, съхраняване и обмен на получените данни. Направен е извода, че нито един от големия брой методи за генетично типизиране на MRSA не отговаря на всички изисквания и са представени основните характеристики на 5-те най-често използвани към момента методи.

Хронологично е проследено разпространението на епидемичните щамове MRSA в света и в синтезиран вид са представени характеристиките на болничните щамове. Специален акцент е поставен върху ендемичните MRSA. Изключително компетентно и задълбочено е представена молекулярната еволюция на MRSA и формирането на пандемични клонове.

Безспорно най-голям интерес представлява разделът върху епидемиологията на придобитите в обществото MRSA. Описани са техните основни характеристики и специално място е отделено на Panton-Valentine левкоцидина. Подчертана е неговата роля при развитието на некротичните кожни лезии. Охарактеризирани са преобладаващите клонове и техните варианти в различните географски региони. Специален коментар е посветен на еволюцията на CA-MRSA в Европа и появата и разпространението на клонове MRSA сред животните.

Като цяло обзорът отразява съвременното състояние на проблема MRSA и показва отличната осведоменост на д-р Нашев. Критичният анализ на литературните данни с подчертаването на нерешените въпроси дава възможност да се намери нишата за нови изследвания, от което произлиза целта на настоящия дисертационен труд.

Целта и задачите на дисертационния труд са много добре формулирани. Поставени са достатъчен брой задачи, за да се осъществи целта на проучването.

Оценка на раздел „Материал и методи”

Изследвани са над 300 изолати на MRSA, изолирани в продължение на 7-годишен период в над 30 лаборатории в страната от разнообразни клинични

материалите на хоспитализирани пациенти и болнична среда и малка част от тях придобити в обществото. Тук трябва да се отбележи прецизния избор на придобитите в обществото MRSA и подбора на щамовете подложени на генетично типизиране. Така подбрани изследваните изолати представляват репрезентативна извадка за страната и това позволява да се получи представа за преобладаващите у нас клонове. Методите за изследване са описани точно и ясно. Специално трябва да се подчертава използването на разнообразни молекулярно-генетични методи и на съществуващите бази данни, което дава възможност за задълбочена интерпретация на резултатите. Опитните постановки са проведени в съответствие с изискванията за научни изследвания с използването на контроли, което осигурява достоверност на получените резултати.

Оценка на раздела „Резултати и обсъждане”

Резултатите от собствените проучвания са изложени в логическа последователност в 7 раздела. Обсъждането представлява задълбочен и компетентен сравнителен анализ на получените резултати с данните от литературата. При генетичното типизиране на MRSA изолатите се установени 21 spa типа. Чрез кълстър анализ са дефинирани 3 групи клонално свързани помежду си spa-комплекси. Основната част от изолатите принадлежат към известните пандемични Бразилски/Унгарски клон (42.7 %) и Педиатричен клон (41.2 %). Малка част (9.2 %) принадлежат към комплекс без родоначалник и само 6.1 % са клонално несвързани. Анализът на данните за най-често срещаните болнични и придобити в обществото spa типове, клонални комплекси и секвенционни типове е направен изключително професионално и аргументирано и е доказателство за отлично познаване на проблема в глобален мащаб. Изказва се тезата за необходимостта от по-нататъшни проучвания за генетично характеризиране на spa t010 за проверка на възможността за възникване на нов локален клон.

Доказано е, че най-често установяваните spa типове са широко разпространени в страната. Някои spa типове са изолирани многоократно спорадично и при епидемични взривове, което дава основание те да бъдат определени като епидемични щамове. Единични spa типове са изолирани само в отделни болници и могат да се определят като локални щамове.

Аргументирано е обосновано становището, че spa типизирането е основен инструмент за мониториране на MRSA и обмен на данни.

Получените резултати от изпитването на чувствителността към антимикробни средства показват връзка на определени фенотипове на антибиотична резистентност и определени spa типове. Изключителен интерес представляват данните от изпитването на чувствителността към гликопептиди и доказването на повишени стойности на МПК на ванкомицин (2 изолата) и тейкопланин (1 изолат). Последният изолат по критериите на EUCAST попада в категорията „резистентен“ (МПК = 4 μ g/ml), което е изключително тревожен факт.

От извършените проучвания много коректно са формулирани 9 изводи, които съответстват на получените резултати и отразяват най-важните приноси на дисертационния труд. Като цяло дисертационният труд има съществен принос за обогатяване на съществуващите знания за MRSA и изясняване на тяхното клонално разпространение в нашата страна. Най-голямото достижение на дисертацията е проведеното генетично проучване върху репрезентативна извадка на циркулиращите в страната щамове за 7-годишен период, което позволява да се изгради реална представа за разпространението на епидемичните щамове MRSA у нас и тяхната клонална принадлежност. Получените резултати могат да послужат като база данни и да бъдат понататък използвани за проследяване на еволюцията на съществуващите български клонове и тяхната връзка с международните, а така също и за подобряване контрола върху разпространението на MRSA. Внедрените методи за генетично типизиране на MRSA ще бъдат използвани пряко при надзора на стафилококовите инфекции.

Във връзка с дисертационния труд е представен списък с 12 публикации, от които 6 в авторитетни чуждестранни списания, и 3 участия в научни форуми (2 международни и 1 национален конгрес). В 3 от публикациите и в 3-те научни съобщения д-р Нашев е първи автор. Общийт импакт фактор от публикациите е 26. 421, което е доказателство за значимостта на проучвания проблем.

Представеният дисертационен труд носи специфичния почерк на д-р Нашев. Написан е много стегнато и пестеливо, без излишни подробности и „пъlnеж“, и с подчертана логическа последователност. Всички получени резултати са обсъдени аналитично, което е доказателство за неговата ерудиция и висок професионализъм. Единствената ми критична забележка е

липсата на списък със съкращенията, който би допринесъл за по-лесното възприемане на изложния материал.

Заключение

Представеният дисертационен труд е върху изключително актуален за медицинската наука и практика проблем със существени научни и научно-приложни приноси в клиничната микробиология и в болничната епидемиология. Това ми дава основание убедено да препоръчам на уважаемото Научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на д-р Димитър Георгиев Нашев.

28.05.2013 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:

/Проф. д-р М. Георгиева-Средкова, д.м./