

№ 1997  
10.06.2013 г.

бул. „Янко Сакъзов“ № 26  
София 1504, тел: 9446990

## СТАНОВИЩЕ

по процедура за защита на дисертационния труд на главен асистент д-р Димитър

Георгиев Нашев – Завеждащ национална референтна лаборатория по патогенни коки и дифтерия на тема „Микробиологична характеристика на метицилин-резистентни *Staphylococcus aureus*, изолирани в България“ с научен ръководител проф. д-р Тодор Веселов Кантарджиев, дмн, за придобиване научно-образователната степен „ДОКТОР“ в област висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, направление 4.3 Биологически науки и научната специалност „Микробиология“

от проф. д-р Иван Гергов Митов, дмн, Ръководител Катедра по медицинска микробиология при Медицински факултет при МУ-София

*Staphylococcus aureus* е един от разпространените бактерии, откриван често под формата на носителство, но и като причинител на редица локални и системни инфекции. Особено голямо е неговото значение като причинител на вътреболнични инфекции. Благоприятстващи фактори за разпространението му са значителната му преживяемост в околната среда и развитието на антибиотична резистентност. Класически е примерът за развитието на резистентност към първия открит и използван в лечението на стафилококовите тежки инфекции антибиотик – пеницилина. Смъртността в случаите на сепсис в преантибиотичната ера е била над 80%. С приложението на пеницилина в началото на 1940-те години смъртността намалява драматично. За съжаление още през 1942 г. се откриват първите пеницилин-резистентни стафилококи. Много бързо към 1948 г., в болници с масивното приложение на пеницилина, β-лактамаза продуциращите стафилококи достигат 65-85%. В същия темп се развива резистентността на тези бактерии и към повечето от навлизящите в практиката антибиотици – първоначално в болниците и впоследствие разпространявани в обществото.

През 1959 г. се открива нов, много по-опасен механизъм на резистентност, дължащ се на мутация кодиращ транспептидазата PBP 2a, която е мишена на β-лактамовите антибиотици при метицилин (оксацилин, нафцилин) резистентните стафилококи, MRSA. Със структурната промяна на мишлената множество β-лактамни антибиотици, устойчиви на стафилококовите β-лактамази стават безполезни. Понастоящем MRSA са едни от най-опасните причинители на ВБИ. В България първите щамове са открити през 1965 г. за да

достигне през 2011 г. по данни на BulSTAR до 22% от инвазивните и до 5,6% при всички изолати. Проследяването на разпространението на MRSA, характеризирането и епидемиологичното типиране на щамовете със съвременни молекулярно-биологични и генетични методи, което е основна цел в труда на д-р Нашев, е от голямо значение за диагностиката, надзора и контрола на този важен причинител в страната. Референтната стафилококова лаборатория от дълги години следи разпространението на патогенните стафилококи в страната. Дисертационният труд на д-р Нашев е актуален и обобщава натрупания богат материал от изследвания, извършвани с широк набор класически и съвременни методи.

Трудът е написан на 113 стр., от които 97 текст и 13 литературна справка. Заглавието точно отразява същността на работата. Изложението е съразмерно разпределено в общоприетите раздели за списване на дисертационен труд. Онагледен е с 10 фигури и 8 таблици. Литературна справка включва с 164 заглавия, основна на водещите чуждестранни автори, но само 5 труда на кирилица по проблема от родни изследователи.

Обзорът е изчерпателен и отразява съвременното състояние на проблема. Описва последователно откриването, епидемиологичните особености на разпространението на проблемните щамове и клонове по света и в страната и причините за това. Много подробно са описани генетичните механизми на резистентност и е анализирано приложението и стойността на генетичните и други методи за изследване и епидемиологично типиране на циркулиращите щамове MRSA.

Представените в обзора генетични методи с техните големи възможности за проучване и епидемиологично типиране генетични методи естествено води към прецизно формулираните цел и задачи, насочени към характеризиране на MRSA, изолирани в болниците и обществото в България с оглед подобряване диагностиката, контрола и лечението на инфекциите, причинени от тях.

В изследванията са използвани 320 прецизно подбрани по произход и клинични данни щамове MRSA, 293 от които с болничен произход от цялата страна. Изолатите са събрани за достатъчно представителен период, 2005 – 2011 г., за да може да се направят изводи за циркулиращите в страната клонове.

За провеждане на дългогодишните изследвания са използвани голям набор класически и съвременни методи за определяне антибиотичната резистентност на изолатите, различни варианти на PCR; single locus sequence typing (*spa*-SLST) и мултилокусно секвенционно типизиране (MLST), електрофорезни методи. Използвана е софтуерна

програма Staph type v.2.2.1, за анализ на получените резултати и групиране на *spa*-типовете в клонални групи.

Извършена е значителна по обем и разнообразна по характер експериментална работа. Получените резултати имат приносен характер за определяне със съвременните молекулярно-генетични методи типовете MRSA, циркулиращи в България и профилите им на резистентност. Доказано е, че в различните болници причинители на инфекции са стафилококите от две клонални групи (Бразилски/Унгарски клон). Изолират се и спорадични *spa*-типове, включително продуциращи важния фактор на вирулентност левкоцидин, което е предпоставка за появя на нови клонове. Откриват се *spa*-типове, изолирани както в болниците, така и в обществото, което е предпоставка за по-широкото им разпространение. Резултатите показват, че до днешно време страната е предпазена от ванкомицин-резистентни MRSA. Използваната система за генетично типизиране позволява както проучване на епидемични взривове, така и дългосрочен надзор и проследяване клоналните и филогенетичните връзки между щамовете. Резултатите имат значение и за подобряване лечението и контрола на MSSA инфекции. Настоящият труд е база за по-нататъшно наблюдение върху разпространението и еволюцията на причинителите на стафилококови инфекции със съвременни методи, отговарящи на изискванията на водещите международни изследователски центрове.

Резултатите от дългогодишната изследователска работа на д-р Нашев са публикувани в 12 статии – 6 в международни, и 6 в български списания. В 3 от статиите е водещ автор. Три статии с участието на д-р Нашев са публикувани в списания с висок импакт фактор (26,511). Изследванията във връзка с дисертационния труд са представени и на 3 научни форума в страната и чужбина.

Познавам д-р Нашев от постъпването му в НЦЗПБ. Споделям напълно общото мнение за него като задълбочен и компетентен микробиолог и изследовател, с интерес не само в областта на стафилококите и други патогенни коки инфекции, но и в клиничната микробиология. Той е авторитетен последовател на основателят на лабораторията ст.н.с. М. Григорова, и ст.н.с. д-р К. Тошкова като със своята работа поддържа изследванията върху стафилококите и други патогенните коки на високо научно ниво и в полза на практическата медицина.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Дисертационният труд на д-р Нашев представлява задълбочено изследване върху епидемиологичното типиране и генетичните характеристики на циркулиращите в България метицилин резистентни *S. aureus*. Достойнство на труда е постигането на оригинални приноси с научен и приложен характер, които имат важно

значение за контрола и антимикробната терапия на инфекциите, причинени от тези опасни причинители. Резултатите от изследванията са публикувани в престижни списания с висок импакт фактор, с което изпълнява и надхвърля значително изискванията за защита на дисертационен труд. Всичко това ми дава основание да подкрепя и да препоръчам на научното жури да гласува положително за присъждане научно-образователната степен "Доктор" по научната специалност „Микробиология" на д-р Димитър Георгиев Нашев.

РЕЦЕНЗЕНТ:



(Проф. д-р И. Митов, дмн)

05.06.2013 г.