

До Научното жури

Определено със Заповед № Р-109-373/18.11.2019

на Ректора на МУ-Варна

СТАНОВИЩЕ

по процедура за придобиване на образователна и научна степен „доктор”

по научна специалност „Микробиология” от д-р Гергана Неделчева Куюмджиева с дисертационен труд на тема: „Епидемиологично типизиране и механизми на антибиотична резистентност в клинично значими *Klebsiella pneumoniae*, изолирани в УМБАЛ „Света Марина”-Варна”

от доц. д-р Калинка Динева Божкова, д.м.

Вътрешен член на Научното жури, определено със Заповед № Р-109-373/18.11.2019 на Ректора на МУ-Варна. Представените материали по процедурата отговарят на изискванията на Закона за развитието на академичния състав на Република България и Правилника за развитието на академичния състав на МУ „Проф. Д-р П. Стоянов”-Варна за присъждане на образователна и научна степен „доктор”.

Биографични данни и кариерно развитие. Д-р Гергана Неделчева Куюмджиева завършва висше образование по медицина в Медицински университет-Варна през 1992 г. В периода 1992-2007 г. работи като педиатър и от 2007 г. започва работа в микробиологичната лаборатория на РЗИ-Варна. От 2015 г. и понастоящем е лекар-асистент към катедра Микробиология и вирусология на МУ-Варна, както и клиничен микробиолог във ВМА-МБАЛ - Варна.

Актуалност на разработваната тема. Дисертационният труд на д-р Гергана Неделчева е посветен на проучвания върху чувствителността и механизмите на резистентност към бета-лактами и хинолони на 159 изолата *Klebsiella pneumoniae* селектирани за период от четири години от пациенти на УМБАЛ „Света Марина”-Варна. Избраната тема прави разработката особено актуална, важна и навременна. Съвсем закономерно видът *Klebsiella pneumoniae* е включен в т.нар. група ESKAPE-патогени с изключително значение за човешката патология. От една страна, изолати *Klebsiella pneumoniae* се доказват все по-често като причинители на тежки инфекции при пациенти в критично състояние и такива със сериозни хронични заболявания, предимно свързани с медицинското обслужване. От друга страна, повсеместното разпространение на клинични изолати, резистентни на трета генерация цефалоспорини, едновременно кръстосана резистентност към други антибиотични групи и появилите се опасни за общественото здраве карбапенем-резистентни *Klebsiella pneumoniae*, ограничават избора на

подходящи препарати за терапия. В нашата страна проучванията върху болничната епидемиология на мултирезистентни *Klebsiella pneumoniae* и разшифроването на генетичните им механизми все още са предизвикателства пред лекуващите лекари и пред клиничните микробиолози. Недостатъчни са системните научни данни за локалните нивата на резистентност, както и за механизмите на резистентност сред множествено резистентни клинични изолати *Klebsiella pneumoniae*.

Дисертационният труд на д-р Гергана Неделчева представлява един съвременен подход за епидемиологичното типизиране и доказване механизмите на антибиотична резистентност на *Klebsiella pneumoniae*, което го определя като много актуален и значим за клиничната микробиология и болничната епидемиология.

Структура на дисертационния труд. Дисертационният труд е в обем 188 стандартни машинописни страници, от които 151 стр. текст, 37 стр. литературни източници, 2 стр. справка за приносите и 1 стр. списък на публикациите. Заглавието отразява същността на работата. Трудът е структуриран логично в 7 раздела: Увод - 2 стр., Литературен обзор - 46 стр., Цел и задачи - 1 стр., Материали и методи - 17 стр., Резултати и Обсъждане - 75 стр., Изводи - 2 стр. Онагледен е оптимално с 22 фигури и 21 таблици.

Оценка на качествата на литературния обзор. Литературната справка включва общо 482 литературни източници, от които 6 на кирилица и останалите 476 на латиница. Преобладават публикации от последните години. Това е доказателство за отличната литературна осведоменост на д-р Неделчева и отразява хронологията и съвременното състояние на проблема у нас и в световен мащаб.

Структурата на обзора корелира с поставените цел и задачи в дисертационния труд. В литературната справка са разгледани подробно въпросите и проблемите относно клиниката, диагностиката и лекарствената резистентност при инфекции, асоциирани с *Klebsiella pneumoniae*, механизмите на антибиотичната резистентност към различни групи антибактериални средства, епидемиологичният профил на вътреболничните инфекции и взривове причинени от множествено резистентни *Klebsiella pneumoniae*. Обзорът завършва със заключение, мотивиращо целта и задачите на дисертационния труд.

Цел и задачи на дисертационния труд. Целта на дисертационния труд е формулирана точно. За нейната реализация са поставени 5 задачи, които са научно обосновани и включват последователно изпълнението на основните етапи в проучването.

Оценка на раздел „Материали и методи“. В представената научна разработка са включени 159 клинични изолата *Klebsiella pneumoniae*. Използвани

са голям брой съвременни микробиологични и молекулярно-генетични методи за идентификация, изпитване на чувствителността към антимикробни средства, фенотипни методи за доказване на продуценти на бета-лактамази, конюгационно предаване на плазмиди, детерминиращи продукцията на ESBL_s и гени за хинолонова резистентност - плазмидна и хромозомна, PCR и епидемиологичен анализ. Всички опитни постановки са проведени в съответствие с изискванията за научни изследвания.

Оценка на раздел „Резултати“. Извършена е значителна по обем и разнообразна по характер експериментална работа. Получените резултати и тяхното обсъждане следват стриктно поставените задачи.

Установено е, че: (1) Резистентността към 3-та генерация цефалоспорини е 54.8% сред проучваната колекция от 1084 изолата *Klebsiella pneumoniae*, корелираща във висока степен и с резистентност към други антибиотични групи. (2). Нивата на резистентност са по-високи в изолираните *Klebsiella pneumoniae* от клиничните материали кръв и урина, в сравнение с тези от раневи секрети и секрети от респираторния тракт. (3) Двойно-дисковият синергичен тест за детекция на ESBL в изолати *Klebsiella pneumoniae* и модифицираният Hodge тест са показали сравнително добра чувствителност. (4) Доказани са разнообразни ензими от ESBL_s както и ко-продукция на няколко ензима. Потвърдена е продукцията на два вида ESBL_s. В част от изолатите са доказани различни карбапенемази. (5) В представената колекция *Klebsiella pneumoniae* ESBL_s е основният механизъм на резистентност към цефалоспорини от трета генерация, като най-чести са CTX-M бета лактамази. KPC-2 е най-често продуцираната бета лактамаза с карбапенемазна активност. (6) Доказани са хромозомни мутации в гени за хинолонова резистентност. (7) Докладва се за широка вътреболнична дисеминация и трайно присъствие на няколко клона множествено резистентни *Klebsiella pneumoniae* с изразен инвазивен потенциал.

Обсъждането на резултатите е направено компетентно, задълбочено и изчерпателно. Всички резултати са анализирани и съпоставени с данните от литературата, което е доказателство за отлично познаване на проблема. Д-р Неделчева е формулирала 8 извода, които са в пълно съответствие с получените научни данни.

Приноси на дисертационния труд. Като цяло, дисертационният труд има приноси за обогатяване на съществуващите знания в областта на *Klebsiella pneumoniae* и за приложение на получените резултати в лабораторната практика при идентификацията на клиничните изолати и определяне на тяхната чувствителност, както и за избора на адекватна антибактериална терапия. Д-р Неделчева формулира два приноса с оригинален характер, които се отнасят до детайлния анализ на плазмидните и хромозомни механизми на резистентността към хинолони и проучване на MLST структурата на колекцията от клинични изолати *Klebsiella pneumoniae*.

С потвърдителен характер са пет приноса, касаещи доминиращото участие на ESBLs за развитие на резистентността към цефалоспорините от трета генерация, широкото разпространение на CTX-M бета-лактамази, резистентността към карбапенемите, която се медира от различни класове карбапенемази, като водеща са KPC-2 ензимите, потвърдена е ролята на хоризонталното вътревидово плазмидно предаване за разпространението на ESBLs гените и гените, кодиращи карбапенемазите, потвърдено е значението на клоналното вътреболнично разпространение на *Klebsiella pneumoniae* в епидемиологията на инфекциите, причинени от този микроорганизъм.

Приносите с научно-приложен характер са два и се основават на оценката на чувствителността на фенотипните тестове за детекция на ESBLs при изолати *Klebsiella pneumoniae*, резистентни на 3-та генерация цефалоспоринови, както и на анализираната чувствителност на колекцията от карбапенем-резистентните изолати *Klebsiella pneumoniae* към ceftazidime-avibactam, colistin и tigecycline, очаквани алтернативни средства за лечение на инфекциите, причинени от мултирезистентни *Klebsiella pneumoniae*.

Резултатите от изследователската работа на д-р Неделчева са отразени в три публикации. Дисертантът представя и две съобщения, изнесени на научни форуми. В четири от пет публикации и съобщения д-р Неделчева е водещ автор, което е безспорно доказателство, че дисертационният труд е нейно лично дело.

Заключение. Представеният дисертационен труд от д-р Гергана Неделчева е върху актуален за медицинската микробиология проблем, със съществени приноси в областта на клиничната микробиология, антибактериалната терапия и болничната епидемиология. Считам, че дисертационният труд отговаря по актуалност, обем и съдържание на изискванията на Закона за развитие на академичния състав на Р. България и Правилника за неговото приложение. Давам положителна оценка на дисертационния труд и предлагам убедено на членовете на научното жури да присъдят образователна и научна степен „Доктор“ на асистент д-р Гергана Неделчева Куюмджиева.

Изготвил становището: _____



/Доц. д-р Калинка Божкова, д.м./

29. 11. 2019