

До членовете на научно жури
Определено със Заповед № Р-1247/ 02.12.2020 г.
на Ректора на МУ-Пловдив

РЕЦЕНЗИЯ

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
ПЛОВДИВ

х. № Р-10058 / 3.0.12.2020 г.

От проф. д-р Ива Стефанова Христова, д.м.н.
Национален Център по Заразни и Паразитни Болести

На дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен
„ДОКТОР” по докторска програма „Микробиология“

Автор на дисертационния труд: д-р Йордан Иванов Калчев

Форма на докторантура: самостоятелна подготовка

Катедра: „Микробиология и имунология“, ФФ, МУ-Пловдив

Тема: „Микробиологични и имунологични подходи за бърза етиологична
диагностика при остри инфекции на централната нервна система“

Научен ръководител: проф. Д-р Мариана Мурджева, дм, мзм

Общо представяне на процедурата и докторанта

Представен е комплект материали на електронен носител, който е в съответствие с Чл. 115 (1) от Процедурата за придобиване на ОНС „Доктор“ в МУ-Пловдив и Правилника на МУ-Пловдив от 06.11.2014 г. и включва необходимия списък с документи.

Кратки биографични данни за докторанта

Д-р Йордан Иванов Калчев завършва медицина в Медицинския факултет на МУ-Пловдив през 2014 г. с отличен успех от курса и пълно отличие от държавните изпити. Започва докторския си стаж като лекар в Катедрата по нервни

болести към УМБАЛ „Св. Георги“ през 2015 г., от 2016 г. е асистент към Катедра „Микробиология и имунология“, МУ-Пловдив, а от 2017 г. – специализант по микробиология. Така, комбинирайки интересите си в неврологията и микробиологията, докторантът логично прави избор на тема за дисертационен труд върху подходи за диагностика на остри инфекции на ЦНС. Следват голям брой стажове и курсове по клетъчна биология, енцефалити, инфекции на ЦНС и тяхната молекулярна диагностика в престижни европейски университети. Всички те са ценната основа, върху която д-р Калчев надгражда, за да постигне впечатляваща теоретична и практическа подготовка.

Д-р Йордан Калчев владее английски и немски език. Член е на престижни научни организации: Европейско дружество по клинична микробиология и инфекциозни болести, Българска асоциация на микробиолозите, Българско микробиологично дружество. Ръководи практически упражнения по микробиология и имунология на английски и на български език.

Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Дисертационният труд на д-р Калчев е изключително актуален. Инфекциите на ЦНС са тежки, инвалидизиращи и често водещи до летален изход. За тях е необходима надеждна и експресна диагностика с цел бързо започване на адекватно етиологично лечение. Медиаторите на възпалението при тях все още са недостатъчно проучени. Насоченото проучване на основните биомаркери при инфекциите на ЦНС е стратегическо с цел те да се използват в практиката в диференциално-диагностичен план.

Общото ми впечатление от дисертационния труд е, че той представлява един отлично замислен, прецизно изпълнен на високо методично ниво и отлично оформен труд, написан много интелигентно, с изчерпателна информация във всичките му раздели, с много достойнства и приноси. Съдържа богат доказателствен и много добре онагледен с 29 таблици, 89 фигури и 14 приложения материал от собствените проучвания.

Трудът съдържа 181 страници. Основната част от експерименталната работа е извършена в Катедра „Микробиология и имунология“ при МУ-Пловдив.

УМБАЛ „Свети Георги“-Пловдив и Научноизследователския институт на МУ-Пловдив, а част от микробиологичните изследвания са извършени или потвърдени в НЦЗПБ и МУ-София.

На базата на 213 литературни източника, докторантът прави задълбочен литературен обзор на 35 страници. Обзорът е едно от големите достойнства на работата, направен е отлично и бих препоръчала да се издаде отделно, за да бъде в помощ на специалистите. Много хубаво впечатление прави, че няма излишна информация, включена е само тази, която касае собствените проучвания. Информацията е детайлно описана и в същото време стегната.

Литературният обзор завършва с обобщение на нерешените проблеми, което логично извежда до целта на дисертационния труд: да се анализират сравнително микробиологични и имунологични методи за бърза етиологична диагностика при пациенти с остри инфекции на ЦНС. Задачите за изпълнение на тази цел са 5, формулирани са ясно и очертават конкретните области на изследване.

Методика на изследването

Материалите и методите на дисертационния труд са представени изчерпателно и стегнато. Те са в обем общо 19 страници и включват описание на проучения огромен брой клинични материали ликвор (1775 бр.), бактериални и гъбични патогени (211 бр.), пациенти (114 бр. по задача 3 и 80 бр. по задача 4), представяне на признаците на наблюдение: клинични данни, резултати от клинично-лабораторните и инструменталните изследвания. Вниманието е отделено на подбора на пациентите, за които са описани всички включващи и съответно изключващи критерии, което е основа за получаване на надеждни резултати. Стегнато са представени използваните методи за конвенционална микробиологична диагностика: директно микроскопиране, култивиране и определяне на чувствителност на изолатите към антимикробни средства. Изчерпателно е представен използвания *film agar* молекулярно-генетичен подход за бърза детекция на патогени в ликвор. Допълнително, докторантът е овладял и използвал богат набор имунологични техники, включващи латекс-аглутинация ензимно-свързан имуносорбентен тест (ELISA) за определяне на нивата на

citoкини в серум и в ликвор, ензимно-свързан флуоресцентен тест (ELFA) за измерване на стойностите на прокалцитонин в серум и имунотурбидиметричен метод за измерване на стойностите на С-реактивен протеин в серум. Прави впечатление и огромният набор от статистически методи, използвани за оценка и анализ на получените резултати.

Начинът на представяне на използваните разнообразни техники говори за отличната методична подготвеност на д-р Калчев.

Характеристика и оценка на дисертационния труд

Резултатите от собствените изследвания са представени и обсъдени на 73 страници. Описанието на резултатите е точно и информативно. Резултатите са представени в 5 раздела, като следват логичната последователност на поставените задачи.

По задача 1 са представени актуални данни за етиологичната структура и епидемиологичните особености на изолати от ликвор, включващи 24 вида бактерии и гъбички, общо 211 изолата от територията на област Пловдив за период от 7 години (2013-2019 г.). Прави впечатление, че освен бактерии, са търсени и патогенни гъбички и затова резултатите са интересни. Изолирани са представители на *Candida* spp., *Cryptococcus* spp. и *Aspergillus* spp. Направена е демографска характеристика на пациентите в зависимост от изолираните от ликвора им патогени. Анализирани са резултатите по пол и възраст за най-честите причинители на инфекции, придобити в обществото – пневмококовите и листериозните невроинфекции.

По задача 2 е анализирана антимикуробната чувствителност на успешно култивираните изолати от ликвор – както бактериални, така и гъбични. Установени са важни данни по отношение на тенденциите на развитието на антимикуробната чувствителност в нашата страна.

По задача 3 е направена сравнителна оценка на диагностичната стойност на най-често прилаганите методи за бърза етиологична диагностика при пациенти с остри инфекции на ЦНС. Изследвани са 114 ликворни проби едновременно с директна микроскопия, латекс-аглутинация, рахикултура и мултиплексна PCR. При 42 от пациентите етиологичната диагноза е установена микробиологично: 23

бактериални патогена, 17 вирусни и 2 случая на патогенни гъбички. Изчислени са чувствителност и специфичност, позитивна и негативна предиктивна стойност на използваните микробиологични методи. С най-висока чувствителност закономерно се оказва мултиплексният PCR.

По задача 4 е направено пионерно за нашата страна проучване върху ролята на цитокините IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α и на нивата на серумните CRP и прокалцитонин в етиологичната диагностика на острите инфекции на ЦНС. Представени са демографските характеристики на 80 изследвани пациенти и етиологията на доказаните патогени. Нивата на цитокините са изследвани паралелно в серум и в ликвор. Установени са по-високи нива на IL-6 и IL-8 в ликвора спрямо серума при вирусните, бактериалните и етиологично неизяснените остри невроинфекции, както и на IL-10 и TNF- α само при бактериалните невроинфекции. Единствено нивата на IL-12 са по-високи в серум, отколкото в ликвор при вирусните невроинфекции. Сигнификантно по-високи нива на CRP и прокалцитонин в серум са установени при бактериалните невроинфекции спрямо вирусните, етиологично неизяснените и контролната група. С помощта на ROC криви за всеки изследван цитокин е анализирано значението му. Аналогично е направен ROC анализ за серумните концентрации на CRP и прокалцитонин. Нивата на IL-12 в ликвор и CRP в серум са установени с най-висока дискриминираща стойност за разграничаване на бактериална от вирусна етиология.

По задача 5 е изготвен примерен диагностичен алгоритъм за подпомагане на бързата етиологична диагностика при пациенти с остри инфекции на ЦНС. Алгоритъмът е изготвен на базата на анализа на получените в дисертационния труд резултати. Той е центриран върху комбинацията от нивата на IL-12 в ликвор и CRP в серум, ориентирани за вероятна вирусна или бактериална инфекция на ЦНС. за ликворни проби, при които стандартните микробиологични и молекулярни методи не са доказали патоген.

Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Получен е голям обем от ценни експериментални данни. Постигнати са значими научно-теоретични и приложни приноси. От съществено значение са

приносител с оригинален характер, сред които са високата диагностична стойност на мултиплексния PCR в диагностиката на острите инфекции на ЦНС; пионерните за страната проучвания върху дискриминиращата стойност на цитокини, CRP и прокалцитонин за отграничаване на бактериална от вирусна невроинфекция, въз основа на които е изведено значението на съчетаното изследване на ликворния IL-12 и серумния CRP.

Високо оценявам и приносител с потвърдителен и научно-приложен характер, а именно: установяване дискриминиращата роля на цитокини за отграничаване на бактериална от вирусна инфекция на ЦНС, определяне на диагностичната стойност на стандартните микробиологични методи и мултиплексния PCR, както и предложени практически алгоритъм в помощ на бързата етиологична диагностика на острите невроинфекции.

Оценка на публикациите по дисертационния труд

Приложен е списък с 6 публикации и 12 участия в научни форуми (7 национални и 5 в чужбина), свързани с дисертацията. Показателен е фактът, че на 4 от 6 представени публикации, както и на 7 от 12 представени участия в научни форуми д-р Калчев е първи автор, което приемам като доказателство за неговата активна водеща роля в научната разработка. Нещо повече, докторантът е водещият автор в публикация върху серумните нива на прокалцитонин при пациенти с остри инфекции на ЦНС, приета за печат в престижното издание *Cytokones* с висок IF (2.952 за 2019 г.).

Лично участие на докторанта

Докторантът има самостоятелна заслуга при разработването на цялото проучване, при получаването и обработването на данните, при дизайна на научното изследване и анализа на резултатите от него, при извеждането на изводите и научните приноси.

Анореферат

Анорефератът е написан на 52 страници и представя в резюме структурата и съдържанието на дисертационния труд. Резултатите са илюстрирани с 57

фигури и 9 таблици. Авторефератът представя целта, задачите, основните изследвания, резултати, изводи и приноси на дисертацията.

Критични забележки и препоръки

Нямам критични забележки към дисертационния труд. Считам, че е планиран, разработен и написан отлично. Моята препоръка е д-р Йордан Калчев да популяризира резултатите от своя дисертационен труд, за да се оптимизира бързата диагностика на острите инфекции на ЦНС в страната.

Лични впечатления

Познавам д-р Калчев от участията му в националните конгреси по клинична микробиология и инфекции и съм с отлични впечатления от него. Интелигентен, мотивиран да се изгради като клиничен микробиолог, винаги готов да се отзове там, където има нужда. Той е първият доброволец за работа в COVID лабораторията към МУ-Пловдив.

Заклучение

Дисертационният труд на д-р Йордан Калчев е на много високо методично ниво, използвани са съвременни техники за етиологично доказване на патогени в ликвор и за проследяване нивата на основни цитокини в серум и ликвор. Получени са много ценни резултати, направени са съответните анализи за един много съществен по своето значение проблем, свързан с нуждата от модернизиране на методите и ускоряване на диагностиката на острите инфекции на ЦНС. Темата е дисертабилна, поставените цели и задачи са постигнати и много добре отразени в направените изводи и научни приноси. Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката.

Считам, че рецензираният дисертационен труд напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България, Правилника за неговото приложение и Правилника на МУ-Пловдив. Като давам положителната си оценка, убедено предлагам на членовете на научното жури да

присъдят на д-р Йордан Иванов Калчев образователната и научна степен „Доктор” по докторска програма „Микробиология”.

София

Рецензент:



26.12.2020 г.

проф. д-р И. Христова, дмн