

СТАНОВИЩЕ

от Професор д-р Анастасия Георгиева Тренова, дмн

Катедра по Неврология, Медицински Университет - Пловдив

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

професионално направление 4.3 Биологически науки

докторска програма *МИКРОБИОЛОГИЯ*

Автор: Д-р Йордан Иванов Калчев

Форма на докторантурата: самостоятелна подготовка

Катедра: Микробиология и имунология, Медицински Университет - Пловдив

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

Научен ръководител: Проф. д-р Мариана Атанасова Мурджева, дм, мзм, Медицински Университет - Пловдив

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на електронен носител е в съответствие с изискванията на Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ – Пловдив и Правилник на МУ-Пловдив.

Докторантът е приложил 6 публикации.

Д-р Йордан Иванов Калчев е роден през 1989г. Завършва висше образование по медицина през 2014г. с отличен успех. От 2016г. е асистент в Катедра Микробиология и имунология на МУ- Пловдив и започва разработването на дисертационния си труд като докторант на самостоятелна подготовка. Специализацията по Нервни болести в периода май. 2015г. – февруари. 2016г. разширява и обогатява съществено професионалните умения на Д-р Калчев и допринася за задълбочения подход при изследване на диагностичните аспекти на невроинфекциите. Той е участвал в 7 обучителни курса, главно в чужбина, по време на които се е запознал със световните достижения в изследваната област. Има седем участия със съобщения в научни форуми в България и пет в чужбина. Водещ изследовател е на два вътреуниверситетски проекта.

2. Актуалност на тематиката

Дисертационният труд на д-р Калчев е посветен на методите за етиологична диагностика на острите инфекции на нервната система. През последните години се установява тенденция за нарастване на честотата на инфекциозните заболявания, в т.ч. на невроинфекциите в световен мащаб, а повишаващата се антибиотична резистентност прави овладяването им по-трудно. Високият легалитет и резидуалният неврологичен дефицит, инвалидизиращ в значителна степен преболелите, са другите фактори, определящи социалната тежест на инфекциите на нервната система. Ключова роля за развитието и изхода от заболяването има ранното прилагане на адекватна етиологична терапия. От такъв аспект дисертационният труд на д-р Калчев, който е фокусиран върху разработването на подход за бързо идентифициране на причинителя на невроинфекцията е изключително актуален и необходим. Установяването

на етиологичната структура и епидемиологичните особености на невирусните изолатите от ликвор на територията на Пловдивска област за периода 2013-2019 г. предоставя актуални данни, които да се използват за разработване на стратегии за контрол на острите инфекции на нервната система.

3. Познание на проблема

Литературният обзор, представен в 25 стандартни страници, обобщава съществуващите до момента данни в научната литература относно клинично-епидемиологичния спектър на острите инфекции на нервната система и тяхната етиология в зависимост от възрастта на болелите. Аналитично са разгледани съвременните методи за етиологична диагностика, като са изтъкнати предимствата и ограниченията на всеки от тях. Данните от проучванията в изследваната област са представени в логична последователност, ясно са очертани основните противоречия и неизяснените аспекти на проблема, което показва задълбочено познание на темата и умения за творческо оценяване на научните публикации. Направените изводи от литературния обзор адекватно мотивират работната хипотеза на проучването и необходимостта от неговото провеждане.

4. Методика на изследването

Целта на проучването е ясна и точно формулирана, а именно - да се съпоставят микробиологичните и имунологични методи за бърза етиологична диагностика при пациенти с остри инфекции на ЦНС. За решаването ѝ са изведени пет задачи, които в логична последователност определят и отделните етапи на научното изследване.

Дизайнът на проучването е адекватен на поставената цел. За оценка на етиологичната структура и епидемиологичните особености на острите невроинфекции са анализирани 1775 проби от ликвор, антимикуробната чувствителност на невирусните изолатите е изследвана при 211 изолирани бактериални и гъбични патогени, при 114 случая са съпоставени микробиологичните методи за бърза етиологична диагностика – директна микроскопия, латекс-аглутинационен тест и mPCR и при 80 пациенти са определени серумните и ликворните концентрации на IL-6, IL-8, IL-10, IL-12(p40) и TNF- α , серумните нива на C-реактивен протеин и прокалцитонин. Клиничният и лабораторният материал са напълно достатъчни за получаване на валидни резултати и постигане на целта на проучването. Заложени са прецизни включващи и изключващи критерии за подбор на пациентите, което също е предпоставка за достоверност и надеждност на резултатите. Избраните лабораторни методи - директна микроскопия, рахикултурелни методи, дисково-дифузионен метод на Bauer-Kirby за бързорастящите бактерии, E-тест за определяне на минималните потискащи концентрации при по-бавно растящите микроорганизми и автоматизирани методи за определяне на антимикуробната чувствителност на изолатите, мултиплексна полимеразна верижна реакция (mPCR) за бърза in-vitro молекулярно-генетична диагностика, латекс-аглутинация, ензимно-свързан имunosорбентен тест (ELISA) и ензимно-свързан флуоресцентен тест, са напълно адекватни и позволяват решаването на поставените задачи. Събраните данни са анализирани със съвременни и правилно приложени статистически методи.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е представен на 181 стандартни машинописни страници, съдържа 11 глави и е достатъчен по обем. Онагледен е много добре с 29 таблици, 89 фигури и 14 приложения. Библиографската справка обхваща 213 литературни източника, 12 от които на кирилица и 201 на латиница. Собствените резултати, които заемат най-голям относителен дял в целия труд, са представени в логична последователност, съответстваща на дефинираните

задачи. Получени са следните доказателства по основните насоки на изследователската дейност:

- В Пловдивски регион от ликвор най-често се изолират Gram (+) бактерии, като преобладават коагулазо-негативни стафилококи (с несигурна етиологична роля), *Streptococcus pneumoniae* и *Listeria monocytogenes*, от вирусите най-често се откриват ентеровируси, а сред микотичните изолати род *Candida* и *Cryptococcus* са еднакво представени.
- Специфична възрастова характеристика на засегнатия контингент е установена за пневмококовите и листериозните менинго-енцефалити, а сезонност при *N. meningitidis*, коагулазо-негативните стафилококи и групата на зеленеещите стрептококи.
- Използването на мултиплексен PCR значително повишава честотата на доказване на етиологичен причинител.
- При бактериалните невроинфекции се регистрират значително по високи нива на IL-6, IL-8, IL-10, IL-12(p40), TNF- α в ликвор и CRP и прокалцитонин в серум в сравнение с вирусните.
- Комбинираното тестване на ликворния IL-12(p40) и серумния CRP показва висока сензитивност при разграничаване на бактериалните от вирусните невроинфекции, като е определена оптимална дискриминираща абсолютна стойност от показателите 144.

В раздел „Обсъждане“ задълбочено и последователно са анализирани получените резултати, като собствените данни са съпоставени с постиженията на други автори. Ясно са очертани различията и са предложени научно аргументирани хипотези за тяхното съществуване. Изводите са ясно и точно формулирани и логично произтичат от получените резултати и тяхната адекватна интерпретация. Оригинален научен принос на дисертационния труд с предимно теоретично значение е изследването на дискриминиращата стойност на някои цитокини, CRP и прокалцитонин за разграничаване на бактериални от небактериални остри инфекции на ЦНС. Особено ценна е определената комбинирана абсолютна стойност 144, получена от сумирането на ликворната концентрация на IL-12(p40) и серумното ниво на CRP, която може да намери приложение и в клиничната практиката. Много съществен принос с приложен характер е внедряването на мултиплексния PCR в бързата микробиологична диагностика при пациенти с остри невроинфекции, аргументирано от установената значимо по-висока честота на доказване на микробния причинител в сравнение с рутинните методики. Ценен за практиката е изведеният на базата на получените данни, оптимизиран алгоритъм за бърза етиологична диагностика на острите невроинфекции. Дисертационният труд на д-р Калчев очертава и насоки за бъдещи проучвания, които да определят референтни нива на цитокините и техния диагностичен потенциал при острите социално значими инфекциозни заболявания, а чрез това да се оптимизира лечебно-диагностичният процес и да се намали честотата на усложненията при тези пациенти.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Д-р Калчев има шест публикации свързани с темата на дисертацията, една от които е в процес на рецензиране в списание с IF. Докторантът е първи автор на 4 от статиите. Резултатите, получени от проведеното изследване са представени на 7 научни форума в България и на 5 в чужбина. Съпоставката с изискванията на действащия в момента ЗРАСРБ и Правилника на МУ-Пловдив показва, че д-р Калчев **изпълнява и дори надхвърля заложените минималните наукометрични показатели за ОНС „Доктор“**.

След като се запознах в детайли с дисертационния труд и представените документи убедено считам, че проведеното изследване, получените резултати, както и формулираните изводи и приноси са лична заслуга на докторанта.

Нямам критични забележки и препоръки.

7. Автореферат

Представеният автореферат е в обем от 52 страници и е структуриран съобразно изискванията. Съдържанието му отразява в достатъчна степен основните резултати от дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд **съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички** изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на МУ - Пловдив.

Дисертационният труд показва, че докторантът Д-р Йордан Калчев **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Микробиология, като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен 'ДОКТОР'** на Д-р Йордан Иванов Калчев в докторска програма по Микробиология.

4.01. 2021 г.

Изготвил становището:



Проф. д-р Анастасия Г. Тренова, дмн