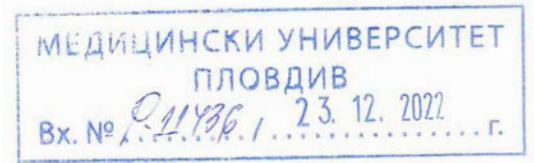


До Председателя на Научното жури, назначено с
Заповед Р-2855/14.11.22г на Ректора на МУ-
Пловдив



Рецензия

на представения дисертационен труд на д-р Гергана Ботева Ленгерова, асистент в Катедра по микробиология и имунология, на тема „Проучване на съвременни микробиологични методи за бърза диагностика при пациенти с бактериемии и фунгемии“ за придобиване на образователна и научна степен ”ДОКТОР” в докторска програма по “Микробиология”, в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки с Научен ръководител Доц. д-р Михаил М. Петров, дм, мзм и Консултант по статистиката: Доц. Ралица Райчева.

от проф.д-р Тодор Кантарджиев,дмн

Нямам общи публикации или конфликт на интереси от друг характер по смисъла на ал.1, т.3 и 5 от ДР на ЗРАСРБ с докторанта

I. Общи данни за процедурата

Дисертационният труд е написан на 197 страници и включва 14 таблици, 68 фигури и 6 приложения. Оформен е в 13 глави. Библиографската справка обхваща 375 литературни източника, от които по-голямата част са публикувани след 2015г. Спазени са всички законови изисквания по процедурата.

II. Актуалност и значимост на изследвания проблем

Темата на дисертацията е актуална, т. като през последните тридесет години у нас не са провеждани задълбочени проучвания, касаещи оптимизацията и ускоряването на микробиологичната диагностика при септични състояния. Последните дисертационни трудове в Р България правеха сравнение на конвенционалните и апаратни методи за ускоряване на лабораторния резултат чрез колориметрични и турбидиметрични подходи за биохимична идентификация и отчитане на микробен растеж. Въвеждането на генетичните и спектрометрични методи в страната налагат цялостна оценка на техните практически и клинични възможности. Правилно подбраната тема прави дисертацията значима и полезна.

Литературният обзор е структуриран правилно на 31 страници и проследява на кратко историческото развитие на лабораторно-диагностичния проблем при бактериемите и фунгемиите. Особено внимание е обърнато на дефинициите, което придава задълбоченост и яснота на последващото изложение. В цялост работата дава възможност на докторантката за кратко да измине историческото развитие на диагностиката на фунгемиите и бактериемите от светлинномикроскопските методи, хемокултурите, биохимичната идентификация до генетичната амплификация, хибридизацията и спектралния анализ. Това предполага сериозна основа на теоретичните и практически познания на д-р Ленгерова. Представеното в обзора показва възможност за работа с литературните източници, голяма осведоменост и възможност за правилни и аргументирани изводи. Анализирани са какви са противоречията и празнотите в литературните данни, неизвестното за нашата микробиология и е подчертано на кои

въпроси дисертационният пруд ще даде отговори. От обобщението произлиза целта и последователните задачи на дисертацията. Постигната е пълна корелация между задачите и изводите на края на труда. Текстът е придобил по-голяма убедителност и доказва възможностите на докторанта да работи с научната литература и да прави правилни научни изводи.

Материалите и методите на работата са представени последователно и подробно. Критериите за включване и изключване са обсъдени аргументирано. Не може да не се отбележи, че ръководството на катедрата е предоставило уникална за страната ни, съвременна апаратура за генетични и спектрометрични изследвания. По този начин е осигурило изпреварващи с години възможности на докторантката за съвременна научна разработка. При подбора на пациентите може да се обърне внимание на някои особености на лечебното заведение по което то се различава от другите в страната.

УМБАЛ „Св. Георги“ е най-голямото лечебно заведение в страната – 1490 броя легла 59 от които интензивни. Броят на леглата е сравним с повечето болници по света, което дава възможност на докторантката да работи с голям брой клинични материали от клиники с много легла, което е невъзможно при повечето лечебни заведения у нас с няколко стотин лежачо болни. По традиция в тази болница от години се полагат усилия за спазване на антибиотична политика, която от три години е възприета като модел и пример за другите лечебни заведения в страната (до колкото се спазва). Това дава отражение върху етиологичната структура и антимикробната лекарствена резистентност и ги прави по-различни от голяма част от болниците у нас. На това лечебно заведение не са чужди и хроничните слабости на нашата система на здравеопазване, по отношение етиологичната диагностика и етиотропната терапия на сепсисите и системния възпалителен отговор: малкия брой вземани хемокултури, липса на пълно клинично микробиологично мониториране на рисковите пациенти с цел ориентиране за етиологията на възникващия сепсис, недостатъчни усилия за изясняване етиологичната стойност на коагулаза негативните стафилококови изолати и много още. Изместването на етиологичната структура към грам-позитивните микроби говори за по-добро хигиенно състояние на болницата, но трябва да се изключат коагулаза-негативните стафилококи, обсъждани като евентуален контаминант в голямото си мнозинство. Пропуски в преданалитичната фаза на

изследването са характерен белег на нашата система, както и пълната незаинтересованост на финансиращият орган към качеството на медицинското обслужване и особено в областта на инфекциите. Деескалираща антимикробна лекарствена терапия се прилага рядко и обикновено не с евтини тясноспектърни антибиотици, за да търсим икономическа изгода при бърза етиологична диагностика. Обикновено при много тежки клинични случаи се търси бърза диагностика с модерни методи, а при тежка патология престоя е по-дълъг и по-скъп. Фаталният изход скъсява болничния престой и трябва да се анализира предотвратимата смърт при ускоряване на етиологичната диагноза и деескалиране на етиотрапната терапия.

Добре са представени възможностите на методите за изследвания и докторантката демонстрира добра, както практическа, така и теоретична подготовка. Лабораторно-икономическият анализ е направен с вещина и е пионерен за нашата страна, където дори НЗОК няма разчети за заплащаните разходи в клиничната микробиология вече повече от 20 (двадесет) години.

Резултатите са представени подробно и отразяват огромния обем свършена работа (54 стр-125 стр). Задълбочено се обсъжда видовия състав и антимикробната лекарствена резистентност на причинителите. Заключениеята на докторантката са логични и отговарят на натрупания от нея опит. Проучените три лабораторно-диагностични, качествено нови, метода (FISH, mPCR, MALDI-TOF MS) имат предимства пред конвенционалните методи на изследване, използвани дълги години рутинно в микробиологичните лаборатории за диагностика на инфекции на кръвта и ускоряват и прецизират заключенията. Високата чувствителност, специфичност, ефективност и бързина на прилаганите методи позволява внедряването им в рутинната практика в повечето микробиологични лаборатории на големите болнични заведения. По-малките лечебни бази трябва да търсят обединение и делегиране на изследванията в по-големи лаборатории. Въвеждането на новите методи FISH и mPCR дава бързи и надеждни резултати за откриване на най-честите причинители на бактериемии и фунгемии веднага след позитивирането на хемокултурата, при автоматизирано изследване. Поради относително ограничените си спектри за идентификация на микроорганизми FISH и mPCR могат да бъдат прилагани като

допълнение на рутинното микробиологично изследване с цел по-ранното доказване на причинителя и адекватна преценка относно терапията и състоянието на пациент с последващо доуточняване. Широкият спектър на възможни за доказване микроорганизми (>2000 вида), бързината, високата чувствителност и ниската цена на самата проба налагат MALDI-TOF MS като потенциален рутинен метод за микробна идентификация (ако не се вземат предвид капиталовите разходи). Директната идентификация на микроорганизми от хемокултури чрез MALDI-TOF MS има съществени предимства за доказване на Грам-отрицателни бактерии и гъбички и би могла да влезе като препоръчителен алгоритъм за работа в рутинната микробиологична лабораторна практика. За периода 2015–август 2020 година Грам-позитивните бактерии доминират като изолати от хемокултури над Грам-отрицателните, а при гъбичките най-честият изолат е *C. albicans*, но като причинители на фунгемии превалира групата на *non-albicans* видовете.

Изводите на докторантката са правилни: Отчита се намаляване честотата на MRSA, но повишаване нивата на ванкомицин-резистентните ентерококи, ESBL-продуцентите и KPC щамовете, изолирани от хемокултури. *A. baumannii* и *P. aeruginosa* остават проблемни вътреболнични патогени с развитие на резистентност към всички таргетни антибиотици без колистин, условно.

Въведените нови методи редуцират леглодните на пациентите в много тежко състояние при навременна смяна на антимикробното лечение (25.5 дни срещу 34 дни!), подобряват изхода от заболяването, както и намаляват значително преките и непреки разходи за лечение (приблизително 12500 лв. на пациент!) и водят до по-ниско общо разходване на финансов ресурс за лечебното заведение.

При пациентите, изследвани само с културелните методи, се установи, че това води до 34% увеличаване на средния болничен престой, също така повишава средната продължителност на антибиотичната емпирична терапия с 6%, както и добавя 35% към директните и индиректните разходи и разходите за КПр. Тези отрицателни тенденции се премахват с рационалното и оптимизирано приложение на новите диагностични методи.

Внедряването на нова апаратура в микробиологичната практика обезпечава тежкия квалифициран дефицит и хроничен липсата на медицински кадри в страната чрез спестяване на финансовоемки човешки ресурси, време, труд и консумативи за определяне и диагностициране на окончателната диагноза при пациентите с бактериемии/фунгемии

III. Оценка на резултатите и научните приноси на кандидата

Научно-теоретични приноси

Пилотно в България се прави сравнителна оценка на диагностичната стойност на бързи методи за диагностика на положителни хемокултури – FISH, мултиплексен PCR и MALDI-TOF MS при пациенти с инфекции на кръвта. Това е сравнение на най-авангардните методи в микробиологията с утвърдените от години.

Пионерен за нашето здравеопазване е създаденият алгоритъм при който се оценяват възможностите на MALDI-TOF MS за диагностика на микроорганизми директно от положителни хемокултури, което да сега не е правено.

Извършен е цялостен анализ (шестгодишно амбиспективно проучване) на динамиката и тенденцията при промените на етиологията и еволюцията на антимикуробната лекарствена резистентност на изолатите от положителни хемокултури на най-голямата университетска болница в страната и са посочени водещите патогени и типове на антимикуробната лекарствена резистентност.

Извършен е първият мащабен финансов анализ на преките разходи за лечение на пациентите в КАИЛ, диагностицирани с бактериемия/фунгемия по време на престой за интензивно лечение и оценка от ефективността на прилаганите методи за етиологична диагностика на положителни хемокултури

Научни приноси с приложен характер са следните:

Разработен и апробиран е лабораторен фиш, чрез който се заявява искане за молекулярно-генетичен анализ (mPCR) от клиниката, в която е хоспитализиран пациентът. В него се отразяват както клиничните данни на пациента от лекуващия лекар, така и се

вписват установените лабораторни отклонения (Приложение No1). В приложение No2 се отразява резултатът от извършения мултиплексен PCR, който се изпраща обратно на звеното, поискало изследването, като резултатът се прилага към историята на заболяването на пациента. Внедрени са FISH, мултиплексен PCR и MALDI-TOF MS за бързата микробиологична диагностика при пациенти с данни за бактериемия или фунгемиа, като е преценена ефективността им, сравнена с класическите методи. Предложен и апробиран е практичен алгоритъм за оптимизиране на диагностичния процес при състояния на бактериемия или фунгемиа.

Разработен и внедрен е модифициран алгоритъм за директна идентификация чрез MALDI-TOF MS на патогени от хемокултури, веднага след позитивирането им, което не е правено до сега у нас.

За първи път в нашата страна се оценяват диагностичната значимост и икономическият ефект от прилагането на експресни методи за диагностика на патогени от положителни хемокултури

V. Заключение

На докторантката са предоставени отлични възможности като уникална апаратура и възможност за сравняване на иновативни методи с класическите, което е пионерно за нашата страна. Прекрасни са възможностите за включване в голям брой научни програми за финансиране, което е заслуга на ръководството на университета. Много малко в страната са работните места за докторантури по клинична микробиология, обезпечени с такива големи апаратни, финансови и лабораторни ресурси. Личи методическата помощ на ръководителя, както и на завеждащ Катедрата и на помощта на академичния състав за предоставяне и оползотворяване на тези възможности.

От приетите научно-теоретични и научно-практически приноси и поради факта, че дисертацията е лично дело на д-р Гергана Ботева Ленгерова, асистент в Катедра по микробиология и имунология, считам че трудът покрива изискванията на ЗРАСРБ,

Правилника за приложението му и Вътрешните правила за развитие на академичния състав на МУ Пловдив, относно присъждане на ОНС „Доктор“ . Всичко това ми дава основание за крайна висока оценка на дисертационния труд, въз основа на която поддържам присъждането и предлагам на уважаваното научно жури да присъди образователната и научна степен ДОКТОР на асистент д-р Гергана Ленгерова .

Заличено на основание

Чл.5 §1, б. "В" Регламент (ЕС)2016/679

Проф.д-р Тодор Кантарджиев, дм, дмн

Лекар - специалист по клинична микробиология,
клинична имунология и епидемиология на
инфекциозните болести