

от проф. д-р Тания Василева Стратева, дм – Катедра по медицинска микробиология,
Медицински факултет, Медицински университет – София
(Член на Научното жури, назначено със Заповед № Р-2855 / 14.11.2022 г. на Ректора на
Медицински университет – Пловдив)

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“,
професионално направление **4.3. Биологически науки** в област на висше образование

4. Природни науки, математика и информатика,
докторска програма: „Микробиология“

Автор: Д-р Гергана Ботева Ленгерова

Форма на докторантурата: самостоятелна подготовка

Катедра по медицинска микробиология и имунология „Проф. д-р Елисей Янев“

Тема: Проучване на съвременни микробиологични методи за бърза диагностика при пациенти с бактериемии и фунгемии

Научен ръководител: доц. д-р Михаил Михайлов Петров, дм – Катедра по медицинска микробиология и имунология „Проф. д-р Елисей Янев“, Фармацевтичен факултет, Медицински университет – гр. Пловдив

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на електронен носител е в съответствие с чл. 70 (1) от I. Раздел. Придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“ и научна степен „ДОКТОР НА НАУКИТЕ“ в МУ – Пловдив; Правилник на МУ – Пловдив от 28.01.2021 г. и включва всички необходими документи.

Докторантката е приложила 4 пълнотекстови публикации.

Нямам критични бележки по документите.

Д-р Гергана Ботева Ленгерова завършва висше образование през 2016 г. в Медицински университет – гр. Пловдив, където придобива образователна степен „магистър“ и професионална квалификация „лекар“. От януари 2017 г., след спечелен конкурс, тя е асистент в Катедрата по медицинска микробиология и имунология „Проф. д-р Елисей Янев“ към Фармацевтичния факултет на МУ – Пловдив, а от 01.2020 г. – специализант по Клинична микробиология към Лаборатория по микробиология в УМБАЛ „Св. Георги“. В периода 2017–2022 г. е провела стажове в микробиологични лаборатории в Латвия, Германия, Турция и Португалия, по програма ERASMUS+.

Д-р Ленгерова е докторант на самостоятелна подготовка по докторска програма „Микробиология“ към Катедра по медицинска микробиология и имунология „Проф. д-р Елисей Янев“, считано от 12.07.2021 г. Водещ изследовател е на Вътреуниверситетски проект ДПДП-5/2018 г. „Сравнително проучване върху микробиологични методи за бърза

диагностика на патогени от хемокултури“, в рамките на който е извършена голяма част от експерименталната работа по дисертационния труд.

2. Актуалност на тематиката

В Европа ежегодно се регистрират над 1 200 000 епизода на инфекции на кръвта, свързани с дългосрочни последици и висока смъртност, което ги превръща в сериозна заплаха за общественото здраве. Важен фактор при овладяването им е бързото диагностициране и стартирането на ефективна антимикробна терапия. Традиционният подход в диагностиката на тези инфекции включва клинични и лабораторни маркери, както и изолиране на микробен причинител от хемокултура. През последните години, с цел намаляване времето за идентификация на патогени от положителните хемокултури, се използват техники, базирани на *in situ* хибридизация, молекулярно-генетични методи, маспектрометрия и др. Те са бързи и надеждни поради високата си специфичност и чувствителност. В тази връзка, считам, че темата на дисертационния труд е изключително актуална и интересна, фокусирана върху сравнителен анализ на възможностите на три съвременни метода за бърза етиологична диагностика на инфекциите на кръвта. Понастоящем подобни проучвания не са провеждани в България.

3. Познаване на проблема

Д-р Ленгерова е изготвила литературен обзор по темата на дисертационния труд, който се базира на голям брой литературни източници – 375, от които 16 на кирилица и 359 на латиница. Броят на библиографските заглавия от последните 10 години е 264, което представлява 70% от всички цитирани източници.

Литературният обзор е много задълбочен и написан с изключителна компетентност. Той е свидетелство за отличната теоретична подготовка на автора. В този раздел не присъства излишна научна информация, а е включена само тази, която касае собствените проучвания. Д-р Ленгерова е структурирала обзора в 5 подраздела, както следва: 1. Инфекции на кръвта (бактериемия, фунгемия, септично състояние) – история, епидемиология, определение и клинични форми; 2. Етиология на инфекциите на кръвта; 3. Антимикробна лекарствена резистентност при изолати от положителни хемокултури; 4. Микробиологична диагностика на кръв; 5. Обобщение на литературния обзор. В обобщението се посочват нерешените към момента въпроси, касаещи микробиологичната диагностика на инфекциите на кръвта в България, както и мотивацията на д-р Ленгерова за разработване на настоящия дисертационен труд. Този интересен подход се явява логичен преход към раздела „Цел и задачи“.

4. Методика на изследването

Докторантката представя дизайна на проучването и критериите за включване/изключване на пациентите в настоящия дисертационен труд стегнато и точно. Използвани са както рутинни методи за микробиологична диагноза, така и съвременни методи за идентификация на етиологичните агенти на установените инфекции на кръвта, в това число: бърза *in vitro* диагностика чрез мултиплексна полимеразна верижна реакция (mPCR) с апарат FilmArray; флуоресцентна *in situ* хибридизация (FISH) чрез QuickFISH BC тест и MALDI-TOF MS анализ (маспектрометрия) посредством апарат Vitek[®]MS. С удоволствие отбелязвам, че част от резултатите са валидирани в Националния център по заразни и паразитни болести – София, което е гаранция за прецизната работа на докторантката. Заслужава внимание изключително добре направеният статистически анализ, за който д-р Ленгерова използва специализиран софтуер и професионална консултация с експерт от Катедрата по социална медицина и обществено здраве, Факултет по обществено здраве към МУ – Пловдив.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е написан на 197 компютърни страници и е богато онагледен с 14 таблици, 68 фигури и 6 приложения, отличаващи се с отлично качество. Работата е добре балансирана и структурирана както следва: Титулна и въвеждаща страници – 2 стр., Списък на използваните съкращения и символи – 2 стр., Съдържание – 3 стр., Увод – 2 стр., Литературен обзор – 32 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 13 стр., Резултати – 67 стр., Обсъждане – 27 стр., Заключение – 2 стр., Изводи и приноси – 3 стр., Библиография – 22 стр., Списък на публикациите и научните съобщения по темата на дисертационния труд – 3 стр., и Приложения – 18 стр.

Целта на дисертацията е аргументирана. За нейното реализиране ясно и точно са формулирани 5 задачи.

Резултатите са последователно изложени, следвайки точно преди това поставените задачи. Обсъждането е задълбочено и включва публикуваните до момента проучвания от български и чуждестранни автори. Оригиначните резултати демонстрират предимствата на избраните от докторантката методи за етиологична диагностика на бактериемии и фунгемии (FISH, mPCR и MALDI-TOF MS) пред конвенционалните, масово използвани в диагностичните микробиологични лаборатории в страната. Д-р Ленгерова препоръчва използването на FISH и mPCR като допълнение към рутинното микробиологично изследване на кръв, с цел по-ранното доказване на причинителя и адекватна преценка относно терапията на пациента. Бързината, високата чувствителност и ниската цена на проба представят MALDI-TOF MS като потенциален рутинен метод за микробна идентификация, особено за Грам-отрицателни бактерии и гъбички. За периода 2015–2020 г. в етиологичната структура на бактериемии в Пловдивски регион доминират Грам-положителните бактерии, а при фунгемии – видовете *Candida non-albicans*. Отчетено е намаляване честотата на methicillin-резистентните *Staphylococcus aureus*, но повишаване нивата на vancomycin-резистентни ентерококи, ESBL- и KPC-продуциращи Грам-отрицателни бактерии. Обичайно *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* са сред водещите етиологични агенти и се характеризират с проблемна резистентност, включваща всички таргетни антибиотици без colistin.

В обобщение на извършената експериментална дейност са направени 8 извода, които са логични, следват получените резултати и отговарят на поставените цел и задачи.

Приемам формулираните от докторантката приноси, общо 9, които са разпределени в две категории: с оригинален характер и обогатяващи съществуващите до момента данни, и с приложен характер. Като най-значими бих искала да отлича следните:

1. Направено е пилотно за България проучване, което оценява диагностичната стойност на FISH, mPCR и MALDI-TOF MS при пациенти с инфекции на кръвта.
2. Извършен е цялостен анализ (шестгодишно амбиспективно проучване) на динамиката и тенденциите при етиологията и антимикробната лекарствена резистентност на изолатите от положителни хемокултури в най-голямата университетска болница в страната.
3. Извършен е първият 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 диагностика на положителни хемокултури.
4. Разработен и внедрен е модифициран алгоритъм за директна идентификация чрез MALDI-TOF MS на патогени от хемокултури, веднага след позитивирането им.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Д-р Ленгерова прилага списък от 4 пълнотекстови публикации, в три от които е първи автор. Чудесно впечатление прави нейното активно участие с постери и доклади в национални и международни научни форуми, като от 2018 г. до днес тя е представила резултатите от направените проучвания на единадесет форума, при това на повечето съобщения е първи автор. Всичко това е недвусмислено доказателство за водещото участие на д-р Ленгерова в направените разработки.

7. Автореферат

Нямам критични бележки относно структура, съдържание, онагледяване и качество на автореферата. Изготвен е според общоприетите изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на д-р Гертана Ленгерова на тема „Проучване на съвременни микробиологични методи за бърза диагностика при пациенти с бактериемии и фунгемии“ е фокусиран върху актуален за медицинската микробиология проблем и носи оригинални и научно-приложни приноси в областта на клиничната микробиология и болничната епидемиология.

Считам, че дисертацията отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на МУ – Пловдив. Докторантката притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Микробиология“, като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Предвид гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното научно изследване, описано в рецензираните от мен дисертационен труд и автореферат, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“** на д-р Гертана Ботева Ленгерова в докторска програма по микробиология.

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

12.12.2022 г.

Изготвил становището:

/Проф. д-р Таня Стратева, дм/