

До Председателя на Научното жури,
назначено със заповед №З-85/07.03.2025г.
на Директора на УСБАЛО „Проф. Иван Черноземски“, ЕОД, София
доц. д-р Димитър Димитров, дм

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Теменуга Жекова Стоева, дмн
Медицински Университет, Варна
Катедра „Микробиология и вирусология“
Външен член на Научното жури, определено
със заповед №З-85/07.03.2025г.

по процедура за придобиване на НС „Доктор на Науките“
в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт,

Професионално направление 7.1. Медицина и

Научна специалност „Онкология“

от проф. д-р Стефана Донева Събчева, дм

с дисертационен труд на тема:

**„Проучвания върху резистоста на ентеробактериални патогени
при онкологично болни“**

Биографични данни

Проф. д-р С. Събчева завършва медицина във Висшия медицински институт, Санкт-Петербург, Русия през 1983г. От 1983г. работи последователно като ординатор-микробиолог в ХЕИ, Перник и в Микробиологичната лаборатория на Първа Градска болница в София. От 1989г. и до сега е Ръководител на Лабораторията по микробиология към УСБАЛО по онкология „Проф. Иван Черноземски“ ЕАД, София. През 1989г. придобива специалност „Микробиология“. През 2003г. успешно защитава дисертационен труд на тема „Фенотипно и генотипно характеризиране на бета-лактамази с разширен спектър в клинични щамове *Enterobacteriaceae*, изолирани от онкологично болни“ за придобиване на ОНС „Доктор“ по научна специалност „Микробиология“. През 2010г. е избрана за доцент, а през 2017г. за професор по научна

специалност „Онкология“ към Националния онкологичен център, където и до настоящия момент осъществява своята лечебно-диагностична и научно-изследователска дейност.

Проф. Събчева има проведени множество специализации в чужбина (Франция, Япония, Русия) по въпроси касаещи микробната резистентност, инфекции и рак и имунология на туморите. В периода 2005 – 2007г. тя е стипендиант с докторска степен на Японското общество за развитие на науката, като изследователската ѝ работа е върху гени кодиращи плазмидно-медирирани 16S рРНК метилази, бета-лактамази с разширен спектър и плазмидно-медирирана хинолонова резистентност в Грам-отрицателни бактерии към Медицински университет „Тохоку“, Сендай, Япония.

Проф. Събчева е участник в 4 проекта, два, от които национални и един европейски, в който тя е координатор и национален изпълнител за България.

Проф. Събчева е член на престижни научни организации като Българската асоциация на микробиолозите, Европейското дружество по клинична микробиология и инфекциозни болести, Съюз на учените в България, Европейската асоциация за ракови изследвания и Дружеството за рационално прилагане на антибиотиците.

Научните интереси на проф. С. Събчева са в областта на клиничната микробиология, микробната резистентност и инфекциите при имунокомпрометирани пациенти.

Актуалност на дисертационния труд:

През 2019г. Световната Здравна Организация обявява „Антибиотичната резистентност“ като една от 10-те заплахи за общественото здраве. През 2023г. ООН дефинира таргет от 10% редуция на смъртността, свързана с този феномен до 2030г. Мащабно проучване върху глобалната смъртност, свързана с бактериалната антибиотична резистентност през 2019г., съобщава за около 5 млн. смъртни случая в целия свят, като над 3.5 млн. от тях са свързани с 6 основни патогена - *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*. Последователно през 2017г. и 2024г. СЗО поставя резистентните на цефалоспорини от трета генерация и карбапенеми *Enterobacterales* в списъка с микроорганизми, които са с „критичен приоритет“ за проучване и създаване на нови, ефективни антибиотици заради проблемна им резистентност.

Медицинският напредък и възможностите за лечение на редица заболявания води до непрекъснато нарастване групата на имунокомпрометирани пациенти, вкл. такива с онкологични заболявания. В последните години в световен мащаб е налице ясна тенденция за увеличаване честотата на инвазивните, животозастрашаващи инфекции, причинени от множествено-резистентни *Enterobacterales* и в тази специфична група, като тези микроорганизми са сред водещите причини за смъртност.

В контекста на тези факти, настоящият дисертационен труд е изключително актуален. Посветен е на най-значимия в медицинско отношение аспект, касаещ клинично значими представителите на разред *Enterobacterales*, изолирани в случаи на инфекции при онкологично болни пациенти, а именно - резистентността им към най-често използваните антимикробни

лекарствени средства (бета-лактами, аминогликозиди, хинолони), вкл. стратегически препарати (карбапенеми и колистин).

Структура на дисертационния труд:

Дисертационният труд, написан на 292 страници, е структуриран по общоприетата схема и е с адекватно разпределение на текста в отделните раздели, както следва: Използвани съкращения - 1 стр.; Въведение – 3 стр.; Литературен обзор - 75 стр.; Цел и задачи – 1 стр.; Материали и методи - 35 стр.; Резултати и обсъждане – 113 стр.; Изводи – 3 стр.; Справка за научните приноси – 2 стр.; Научни публикации и участия, свързани с дисертационния труд – 8 стр. и Библиография - 51 стр. Дисертацията е отлично онагледена с 32 таблици и 36 фигури. Използвани са 432 литературни източника, от които 10 на кирилица.

Оценка на литературния обзор

Много високо оценявам качествата на литературния обзор - отлично структуриран, написан компетентно, на високо научно ниво, задълбочен, изчерпателен, представящ най-новата научна информация по темата на дисертационния труд.

Проучвайки над 400 източника, литературният обзор разглежда в детайли всички най-важни от медицинска гледна точка причинителите на инфекциозните усложнения при онкологични пациенти, отнасящи се към разред *Enterobacterales*, техните механизми на резистентност, фенотипната им изява, както и разнообразието от методи за детекция им (фенотипни и молекулярно-генетични) за всяка една от най-често използваните антимикробни лекарствени средства в случаите на инфекции при пациенти със злокачествени заболявания. Коментирани са в детайли предимствата и недостатъците на тези методи. Литературният обзор завършва с представяне на проучвания проблем в България, а в заключението се отбелязват най-сериозните и нерешени до момента проблеми, касаещи специфичната група пациенти, което много логично води до целта на този дисертационен труд.

Цел и задачи

Целта, която си поставя авторът чрез разработването на този дисертационен труд, е ясно формулирана и се отнася до проучвания върху резистомата на ентеробактериални патогени, изолирани от онкологично болни. Следвайки тази цел, проф. Събчева си поставя 4 задачи, а именно: 1. проспективно фенотипно характеризиране на клинични изолати *Enterobacterales*, изолирани през периода 2000 - 2024г. и селекция на множество-резистентни изолати за генетични изследвания. 2. доказване на генетичните механизми на резистентност и геномен анализ на ентеробактериални патогени, продуциращи 16S rRNA метилтрансферази. 3. доказване на генетични механизми на резистентност и геномен анализ на карбапенемаза-продуциращи ентеробактериални патогени. 4. Доказване на генетични механизми на резистентност и геномен анализ на colistin-резистентни, *mcr-1*-позитивни клинични изолати *Enterobacterales*.

Оценка на раздел “Материали и методи”

В дисертационния труд са включени 14 233 неповтарящи се клинични *Enterobacterales*, изолирани последователно от 2000 до 2024г. от амбулаторни и хоспитализирани пациенти в УСБАЛО «Проф. Иван Черноеземски». Големият брой изолати прави получените резултати, представителни за състоянието на разглежданите проблеми в таргетираната група пациенти,

каквито са тези с онкологични заболявания в национален мащаб. За целите на реализирането на всички заложи в дисертационния труд задачи, авторът използва много широк спектър от методи, както класически микробиологични, така и съвременни молекулярно-генетични и геномни техники (PCR, MLST, целогеномно секвениране), както и статистически методи.

Оценка на раздел “Резултати и Обсъждане”

Резултатите от извършената много голяма по своя обем и разнообразие научно-изследователска работа, са отлично представени в 3 основни раздела, подходящо илюстрирани с множество таблици и фигури и стриктно следвайки поставените задачи. Получените резултати, базирани на над 14 000 изследвани клинично значими изолата, са анализирани задълбочено, като са сравнявани с подобни проучвания от научната литература.

От получените резултати бих откряла следните най-важни:

1. С multiplex PCR са идентифицирани *armA rmtB*, *rmtB* и *rmtF* гени в 195 (1.6%) клинични случаи с продуценти на 16S rRNA метилтрансферази, обхващащи 13 бактериални вида. Доказва се доминация на *armA* гена (83.5%).
2. Метилтрансферазните гени са кодирани в различни конюгативни плаزمиди (IncL/M, IncA/C, IncR, IncFIB и IncFII), което предполага различен произход и източници на придобиване.
3. Всички 16S-PMТ-продуциращи *Enterobacterales* изолати са едновременно резистентни във високо ниво към amikacin, gentamicin и tobramycin, което съответства на наличието на 16S рPHK метилтрансферазни гени. Почти всички изолати демонстрират резистентност към цефалоспорини, а повечето изолати – към флуорохинолони, което се асоциира с ESBLs с или без карбапенемази и на детерминанти на хинолонова резистентност. Над 90% от изолатите са чувствителни на cefiderocol. Резистентността към карбапенеми се асоциира с присъствието на карбапенемазни гени при около една трета от продуцентите на 16S рPHK метилтрансферази, докато резистентността към ceftazidime/avibactam, imipenem/relebactam и meropenem/vaborbactam е обусловена от наличието на метало-β-лактамазни гени.
4. С multiplex PCR са идентифицирани KPC, OXA-28-like, VIM и NDM карбапенемазни гени в 184 (1.8%) клинични случаи с продуценти на 16S rRNA метилтрансферази, обхващащи 8 бактериални вида. Пикове в разпространението на такива изолати се отбелязват през 2014г., 2018г. и 2023г.
5. NDM-1 (57.3%), следвана от VIM-1 карбапенемазата (17.3%) са доминиращите карбапенемази в проучването, като най-засегнат е вида *K. pneumoniae*.
6. Всички карбапенем-продуциращи изолати демонстрират резистентност към пеницилини, комбинации пеницилин/инхибитор, цефалоспорини, цефамицини, ертапенем, дорипенем, хинолони, и тобрамицин, но проявяват разнообразни резултати по отношение на имипенем, меропенем, цефтазидим-авибактам, азтреонам, амикацин, гентамицин, колистин, тигециклин, фосфомицин, триметоприм-сулфаметоксазол и цефидерокол. Цефидерокол е с най-висока активност сред всички тествани антимикробни средства

(78%), следван от амикацин с 42% чувствителност. Ceftazidime-avibactam демонстрира *in vitro* активност, ограничена до продуцентите на OXA-48.

7. Гените кодиращи карбапенемази се асоциират с различни конюгативни плаزمиди (IncL/M, IncA/C, IncX3 и IncT), което предполага различен произход и източници на придобиване.
8. С multiplex PCR е идентифициран *mcr-1* гена в 3 скринирани colistin-резистентни клинични изолата *E. coli* (0.1%) от урини на амбулаторни пациенти, като е доказана хромозомна и плазмидна локализация на гена.

Оценка на приносите на дисертационния труд

От получените резултати и направени изводи са формулирани общо 13 приноса, които напълно приемам. Не малка част от резултатите са първите съобщения за България.

Сред формулираните приносите бих отличила следните:

1. За първи път в страната е направено дългосрочно системно проучване (2000-2024) на механизмите на резистентност към β -лактами, аминогликозиди и хинолони чрез фенотипни и молекулярно-генетични методи в клинично значими *Enterobacterales*, изолирани от онкологично болни.
2. Проведено е първото в страната геномно проучване върху панаминогликозидната резистентност, медирана от 16S рибозомни РНК метилтрансферази в изолати *Enterobacterales* от онкологично болни, изолирани последователно от 2003 до 2024 г.
3. Доказано е, че метилтрансферазните гени са локализиращи в конюгативни плазмиди от разнообразни групи на несъвместимост (IncL/M, IncA/C, IncR, IncT, IncFIB и IncFII), които кодират резистентност и към β -лактамите, хинолоните, сулфонамидите и други антибиотици.
4. Проведено е първото в страната геномно проучване върху карбапенемаза-продуциращи *Enterobacterales* от онкологично болни, изолирани последователно от 2005 до 2024 г.
5. Резистентността към карбапеними в изолати от 8 различни бактериални вида (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. marcescens*, *C. freundii*, *M. morgani*, *P. mirabilis*, *E. hormaechei* и *P. stuartii*) е свързана с *bla*_{KPC-2/3}, *bla*_{OXA-48/232}, *bla*_{VIM-1/4/86} и *bla*_{NDM-1/5} гени.
6. Създаден е културелен метод със 100% чувствителност и специфичност за скрининг на резистентни към colistin изолати, напълно приложим в рутинната практика.
7. Характеризирани са първите *mcr*-позитивни изолати *E. coli* от човешки произход в България.
8. Разработени са терапевтични схеми за лечение на проблемни инфекции, причинени от MDR и XDR *Enterobacterales* в пациенти с онкологични заболявания.

Наукометрични показатели

Резултатите от научно-изследователската дейност, свързана с дисертационния труд, са отразени в общо 31 публикации и 1 глава от колективна монография, в 11 от които проф. Събчева е първи и втори автор (35%), в 3 (9%) - последен, а в 15 (48.4%) е част от екипа на престижни Европейски научни групи като ESAC-Net Study Group и EARS-Net Study Group, което доказва нейния водещ принос. Двадесет и една от публикациите (67.7%) са направени в реномирани научни списания с IF, като общият IF е 135.697, а 90% (28/31) са реферирани в

Scopus и *Web of Science*. Проф. Събчева участва в 4 научни проекта, свързани с дисертационния труд, един от които Европейски, в който тя е координатор и главен изпълнител за България.

В допълнение, във връзка с дисертационния труд, проф. Събчева представя и 30 участия в научни форуми (национални и международни) с публикувани резюмета.

Осъществените публикации във връзка с дисертацията, както и представените цитирания (228 в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация) по категоричен начин доказват значимостта на получените резултати и представят проф. Събчева като утвърден учен с национално и Европейско признание, със съществен принос за развитието на медицинската микробиология в България и за натрупване на научни познания, касаещи антибиотичната резистентност в някои от най-важните в медицинско отношение бактериални видове, асоцииращи се с трудни за лечение инфекции, генетичните й механизми и консумацията на антимикробни лекарствени средства в обществото.

Официалната академична справка показва, че наукометричните показатели, с които проф. Събчева участва - 3917.3 точки - многократно надхвърлят минимално изискуемите за присъждане на научна степен „Доктор“ (350т.)

Заклучение

Дисертационният труд на проф. д-р Стефана Събчева представлява обширно и задълбочено проведено проучване по един от най-важните клинични, микробиологични и епидемиологични проблеми на съвременната медицина, със съществени научни приноси в национален и Европейски мащаб. По структура, съдържание и обем дисертацията отговаря и многократно надхвърля изискванията на Закона за Развитие на Академичния Състав на Република България, Правилника за неговото приложение и правилника на УСБАЛО “Проф. Иван Черноеземски“, ЕОД, София. Въз основа на гореизложеното убедено давам положителна оценка на дисертационния труд и предлагам на членовете на научното жури да гласуват положително за присъждане на Научна Степен “Доктор на Науките” по научна специалност „Онкология” на проф. д-р Стефана Донева Събчева.

20.03.2025г.


проф. д-р Т. Стоева, дмн