

ДО Г-н ПРЕДСЕДАТЕЛЯ и ЧЛЕНОВЕТЕ
НА НАУЧНОТО ЖУРИ, ОПРЕДЕЛЕНО
СЪС ЗАПОВЕД № 3-85 от 07.03.2025
УСБАЛО "ПРОФ. ИВАН ЧЕРНОЗЕМСКИ"
ДОЦ. Д-Р ДИМИТЪР ДИМИТРОВ, ДМ

СТАНОВИЩЕ

ОТ проф. д-р Светла Трифонова Данова, дбн
Институт по микробиология, „Стефан Ангелов“ - БАН

ОТНОСНО дисертационен труд, на тема: **ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ РЕЗИСТОМА НА ЕНТЕРОБАКТЕРИАЛНИ ПАТОГЕНИ ПРИ ОНКОЛОГИЧНО БОЛНИ**

представен за получаване на научна степен «Доктор на науките» в област
на висшето образование: *Здравеопазване*, по професионално направление
7.1. Медицина и спорт, научна специалност *Онкология*

Автор на дисертациония труд: **д-р Стефана Донева Събчева, дм**

1. По процедурата:

Настоящата процедура по научна специалност Онкология се провежда в съответствие с чл. 13 от ЗРАСРБ и Правилниците към него, на основание чл. 24 от Правилника за устройството, дейността и вътрешния ред на УСБАЛ по онкология „Проф. Иван Черноземски“ ЕАД, гр. София и Програмна акредитация №1021/01.08.2019 г. на НАОА, във връзка с чл. 87, чл. 89 и чл. 90 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в УСБАЛ по онкология ЕАД, раздел II – придобиване на НС „Доктор на науките“.

На основание Заповед № 3-85/07.03.2025 на Изпълнителния директор на УСБАЛ по онкология „Проф. Иван Черноземски“ ЕАД, гр. София, издадена на основание Заповед №3-45/10.02.2025 г. и Заповед №3-45#3/19.02.2025 г. на Изпълнителния директор на УСБАЛ по онкология „Проф. Иван Черноземски“ ЕАД, гр. София; Доклад №344/27.02.2025 г. и Протокол от заседание на Разширен научен колегиум от 21.02.2025 г.; Доклад №3731/05.03.2025 г. и Протокол №21/04.03.2025 г., т. 1 от заседание на Научния съвет съм избрана за член на научното жури по процедурата за присъждане на НС „Доктор на науките“ на проф. д-р Стефана Донева Събчева, д.м.

Декларирам, че с кандидата нямам общи публикации или конфликт на интереси от друг характер по смисъла на ал. 1, т. 3 и 5 от ЗРАСРБ.

2. Актуалност и значимост на дисертационната тема:

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е модерно и иновативно научно изследване на генетични механизми на резистентност на ентеробактериални патогени, базирани на дългогодишно проучване при онкоболни пациенти. Антимикробната резистентност (АМР) е глобален проблем, растящ с бързи темпове особено след най-тежката световна пандемия с коронавирусна болест 2019 (COVID-19). Не случайно през 2019 г. Световната здравна организация обяви антимикробната резистентност за една от десетте най-големи заплахи за общественото здраве, пред които е изправено човечеството. През юли 2022 г. Комисията и държавите от ЕС също се присъединиха определяйки АМР като една от трите най-големи заплахи за здравето, от основен приоритет. Независимо от факта, че таргетната група е специфична – онкоболни, всичко това ми дава основание да оценя като изключително актуална представената за оценка научна разработка.

3. Оценка на структурата и съдържанието на дисертационния труд

Дисертацията е обемен труд, изложен на 292 стандартни страници текст, на 1.5 рт. Спазена е общоприетата схема и препоръчителните съотношения между отделните части на труда, както следва: *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., Приноси – 2 стр., Цитирани и използвани източници – 51 стр.* Полезно за читателя е изведените на 1 стр. съкращения. Авторката е добавила към дисертационния труд списък с публикации и списък с участия в научни форуми във връзка с дисертацията, в обем от 8 стр.

Много добро впечатление илюстративния материал от 36 фигури и 32 таблици и особено хитмап и диаграмите обобщаващи резултатите от биоинформатичните анализи.

3. 1. Литературен обзор

Литературният обзор е изцяло фокусиран върху важния проблем на АМР. Написан е в много добър стил, последователно разгръща значимостта на проблема като въвежда в логическа последователност отделните аспекти и литературните данни за тях. С оглед обекта на изследване в началото е направен анализ на персистиращите

инфекции при болни със злокачествени заболявания. Подчертана е водещата роля на Грам-отрицателните бактерии и по-специално бактериите от разред *Enterobacterales* в етиологичния спектър на инфекциозните усложнения при болни със солидни тумори. Това логически води към целта на дисертацията – целенасочени научните проучвания върху механизмите на резистентност при тях. Обстойно са представени механизмите на резистентност, фенотиповете на резистентност и методите за тяхното откриване при всяка една от антибиотичните групи с антибактериална активност. Обзора завършва с анализ на фенотипния и генетичния репертоар на АМР. Подчертавайки предимствата на последния, обуславя необходимостта от проучване на генетичните основи на лекарствената резистентност в тяхната съвкупност, обозначени като резистом. Цялостно обзора води към целта и задачите.

3.2. Цел и задачи на дисертацията

Целта е добре формулирана и конкретна: „*Проучвания върху геномните характеристики, обуславящи лекарствената резистентност (резистом) при ентеробактериални патогени, изолирани от онкологично болни за изясняване механизмите на резистентност, динамиката на предаване на детерминантите на антибиотичната резистентност и подобряване на терапията на инфекциите причинени от тях*“. За постигането на тази цел са ясно дефинирани 4 експериментални задачи. Работата е обемна и обхваща период от 25 години проучвания на клинични изолати. Задачите са амбициозни и в обхвата влизат, както фенотипната оценка с подбора на множествено-резистентни щамове за генетични изследвания, така и доказване на генетични механизми на резистентност и геномен анализ на ентеробактериални патогени продуциращи 16S рРНК метилтрансферази, карбапенемази до colistin-резистентни, *mcr-1*-позитивни, клинични щамове *Enterobacterales*

3.3. Материали и методи в дисертационния труд

Проф. Събчева е подбрала за изследване 14,233 клинични щама *Enterobacterales* (един изолат/пациент), изолирани последователно от 2000 до 2024 от амбулаторни и хоспитализирани пациенти в УСБАЛО «Проф. Иван Черноземски. Прави впечатление широкият набор от методични подходи. Основополагащи са класическите фенотипни методи – диск дифузионния метод на Бауер Кърби и методи за определяне на бета-лактамази и широк набор от комерсиални панели за МПК. Правилно са избрани китовете за Екстракция на нуклеинови киселини (*Екстракция на ДНК - Chelex 100*,

PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific), *NucleoSpin Plasmid Mini kit*; и *Екстракция на РНК – FACTS*). Оценявам като важен за постигане целта на дисертацията панела от методи, базирани на PCR:

- PCR за детекция на карбапенемази от клас А, В и D;
- PCR за детекция *armA*, *rmtA-F* и *npmA* метилтрансферазни гени
- PCR за детекция *mcr* гени
- MLVA+ за типизиране на *K.pneumoniae*
- Плазмидно репликационно типизиране;

Високо оценявам двата подхода използвани при пълногеномното секвениране – Illumina и Nanopore long reads.

Така подбрани и приложени, тези модерни молекулярни методи създават една логическа последователност и възможности за разкриване на нови механизми на резистентност.

Всички експерименти са правилно методично поставени и са в унисон с най-новите и модерни методични подходи, с висока дискриминативна способност и повторяемост.

3.4. Резултати и обсъждане

Докторската дисертацията на проф. С. Събчева представлява целево съвременно молекулярно-генетично и биоинформатично изследване по проблема на АМР при специфична група пациенти – онкоболни и във връзка с борбата в вътреболничните Грам (-) патогени. Тя използва модерен индуктивен подход, категорично доказвайки, че изследването на АМР е възможно само чрез умело съчетаване на мащабно фенотипна оценка изследване на 14254 клинични изолата с последващи съвременни молекулярно-генетични анализи (пълногеномно секвениране, оценка на резистома и биоинформатични). Създаден е комплексен методичен подход системно приложен към огромна група изолати и анализиран с най-новите биоинформатични анализи. Оценявайки факта, че бактериалната рибозома е мястото на протеиновия синтез и мишената за много химически различни класове антимикробни агенти, д-р Събчева изследва фенотипа при 12048 изолата и търси генетичните основи на множествена лекарствена резистентност, медиран от 16S рРНК метилтрансферази. Фенотипът на множествена лекарствена резистентност, медиран от 16S рРНК метилтрансфераза е доказан с последващ PCR анализ, който открива наличие на метилтрансферазни гени при всички изолати 195 изолата подбрани по фенотип. Много добро впечатление прави

показаната връзка между откритите генетични детерминанти на АМР и произхода на изолатите, с оглед тяхната значимост за клиниката и терапията на пациентите. Добре илюстрирани са етиологичната структура на инфекциите и геномното разнообразие и резистома на карбапенемаза-продуциращите *Enterobacterales*. Оригинални резултати са получени по задачата за идентифициране на асоциирани 16S рРНК метитрансферазни гени и плазмидно-медирирани гени за хинолонова резистентност. Изключително ценни са получените данни посредством пълногеномното секвениране на мултирезистентните щамове. В България все още не се прилага системен геномен надзор чрез WGS, но увеличаването на капацитета за секвениране ще осигури по-надеждно и по-широко разбиране на плазмидното разнообразие и гените на резистентност на карбапенемаза-продуциращите *Enterobacterales*.

Резултатите са обсъдени в стегната дискусия подчертавайки най-важните.

3.5. Изводи и приноси

Докторската дисертация на проф. Събчева представлява целево съвременно молекулярно-генетично и биоинформатично изследване по проблема на АМР при специфична група пациенти – онкоболни и във връзка с борбата в вътреболничните Грам (-) патогени. Получени са оригинални резултати с научно и приложно значение. Те са обобщени в 11 извода и 13 приноса, които отразяват изпълнението на всички поставени задачи.

Публикации във връзка с дисертационния труд

Проф. Д-р С. Събчева се представя с 31 статии, публикувани в периода 2017-2025 г. в наши тематични и международни реферирани научни списания, вкл. с висок импакт фактор. Представен списък от 30 участия в научни форуми у нас и в чужбина.

Дисертантката покрива минималните национални изисквания за придобиване на научната степен „Доктор на науките” в научна област 7. Здравеопазване и спорт с формираните 3917.3 точки при нужни 350. Изпълнени са и показателите съгласно изискванията на Правилника на УСБАЛО.

4. Заключение:

В заключение искам да подчертая, че материалът е обемен, дисертабилен и представя важни научни резултати. Темата е изключително актуална, д-р Събчева търси отговорите на важни научни предизвикателства посредством широк набор от модерни молекулярно-генетични и биоинформатични методи. Експериментите са

поставени методично правилно, получените резултати са достоверни и са база за следващи научни и приложни разработки. Открояват се оригинални научни и приложни приноси.

Въз основа на гореизложеното, оценявайки достойнствата на разработката и пълното съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България, Правилника за неговото прилагане и Правилника на УСБАЛО давам своята отлична оценка въз основа на която предлагам на уважаваното научно жури да присъди образователната и научна степен „Доктор на науките ” на проф. Стефана Събчева, в научна област Онкология.

22.03.2025 г.

Рецензент:.....
(проф. д-р Светла Данова, дбн)