

Узр. №. 157
05.11.2018г.

СТАНОВИЩЕ

от

проф. д-р Грозданка Томова Лазарова, дм

Ръководител Катедра Микробиология, Тракийски Университет - Медицински факултет,
Стара Загора

на

Дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ на **АДИЛЕ АКИФОВА МУХТАРОВА**, Докторант в Професионално направление 4.3. Биологически науки по Докторска програма: Микробиология на тема:

“Микробиологични и генетични проучвания върху клинични изолати *Streptococcus pyogenes*, с научен ръководител: доц. д-р Райна Цветанова Гергова, Катедра Микробиология и имунология, МУ – София.

Биографични данни и професионална дейност

Адиле Акифова Мухтарова е Магистър - специалност Биология на развитието в Софийски университет „Св. Климент Охридски“. Завършена редовна докторантура през 2018г. към Катедрата по медицинска микробиология, МУ София. Дисертанката е положила изпит за кандидатски минимум по специалността с оценка „отличен“ /протокол на Изпитна комисия от 2018г. Работи като биолог-специализант от 2018г. и като хоноруван асистент към Катедрата по мед. микробиология, МУ София. Участва в 5 научни проекта по проблеми на вирулентността и антибиотичната резистентност на *Streptococcus pyogenes* като водещ изследовател и участник в научния екип. Владее английски език- Ниво Intermediate - Upper Intermediate- (B2).

Представената ми за становище дисертация е структурирана както следва: **въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и обсъждане, обобщение, изводи и препоръки, приноси, библиография, приложение и списък на научни публикации.**

Дисертацията съдържа **188** страници, **28** таблици и **38** фигури. Библиографията включва **287** заглавия, от които 12 на кирилица и **275** на латиница. Експерименталната работа е извършена в Катедрата по медицинска микробиология, Медицински факултет на Медицински университет - София.

Литературният обзор отразява задълбоченото проучване на дисертанката по проблемите на разглежданата тематика. Проучени са важни въпроси, отнасящи се до методите за идентификация, определяне на серотиповете *S. pyogenes*, генетични механизми, кодиращи експресията на факторите на вирулентност, механизмите на резистентност към антимикробни средства. Анализирани са данни за токсигенния арсенал, мутагенният потенциал, определящ нови механизми на антибиотична резистентност, както и клоналният произход на българските изолати през последните пет години. Едновременно с изследванията на молекулярно ниво, развитието на резистентността се мониторира и с фенотипни методи като се дава комплексна оценка на състоянието на проблема.

Целта на дисертационния труд е формулирана точно и ясно и е насочена към оптимизиране на диагностичния алгоритъм за бърза етиологична диагностика, определяне на факторите на вирулентност и резистентност към антибиотични средства на клинично значими изолати *S. pyogenes*, и типизиране на циркулиращите щамове.

За осъществяване на целта са поставени 3 основни задачи, включващи определяне на фактори на вирулентност, проучване на антибиотичната резистентност, типизиране на клинично значимите щамове (*emm*- генотипове и MLST – типизиране), както и връзката между клоновете и експресията на гени на резистентност.

В раздела за използваните **материали и методи**: Проучени са общо 445 изолата *S. pyogenes* за 5 годишен период от амбулаторни пациенти (323), и от хоспитализирани болни. Използвани са и 5 еталонни щамове: *S. pyogenes*, *S. mutans*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis*, *S. aureus* от ATCC.

Към методите са включени **конвенционални методи** за изолиране и идентификация, и определяне на серогрупа, **бърз имунохроматографски тест** за доказване на група А бета-хемолитични стрептококи в клинични проби, **молекулярно-генетични техники** за изолиране на бактериална ДНК, PCR, RT-PCR, Multiplex PCR за идентифициране на GAS в клинични проби, както и детекция на гени на вирулентност и резистентност към MLS- групи антибиотици (*tef(A)*, *erm(A)*, *erm(B)*). За определяне на принадлежността на изолатите *S. pyogenes* към съответния секвенционен тип е използван MLST анализ. За обработка на получените резултати и сигнификантност на данните са използвани адекватни **статистически методи**.

Разделът „**Резултати и обсъждане**“ представя данни за **разпространението на инфекциите**, причинени от *S. pyogenes* в част от страната за проучвания период.

Разпределението на инфекциите според клиничната диагноза показва висок относителен дял на щамове, изолирани от пациенти с тонзилофарингит (70%). С помощта на Multiplex PCR и RT-PCR са доказани гени за вирулентност .

Разработените 2 нови молекулярно-генетични метода доказват *S. pyogenes* директно в клинични материали. С помощта на PCR, RT-PCR , в 100% от изолатите е доказано наличието на гени , кодиращи важни фактори на вирулентност (протеази, ДНК-аза и стрептолизин О). Гени , кодиращи продукцията на суперантигени са установени с по-висока честота сред инвазивни изолати .

Проучени са механизмите на резистентност на *S.pyogenes* към макролиди . Най-чест механизъм на резистентност се детерминира от експресия на *mefA* ген (самостоятелно) и комбинация с други два гена : . Установени са 15 различни *emm*-типа , разпределени в 8 различни *emm*-кълъстера : За първи път в света са открити 2 нови субтипа : *emm* 3.132 и *emm* 3.133. Наличието на *emm3*-генотип се асоциира с инвазивни инфекции , докато *emm12* е по-често сред кожните и мукозните изолати. Важни резултати са отбелязани и в проучване разпространението на циркулиращите генотипове *S.pyogenes* и ваксиналното им покритие с наличните експериментални ваксини. Извършеното с MLST типизиране установява 8 секвенционни типа (ST) сред циркулиращите в страната щамове *S. pyogenes*.

В раздела Изводи : са посочени 11 извода , които синтезирано показват резултатите от мащабната и многопланова изследователска дейност на кандидата. И представляват важни достижения в научноизследователската и диагностична дейност в областта на клиничната микробиология.

Сред приносите с научно-приложен характер бих искала да подчертая огромния по обем проучвания (445 клинични изолата *S.pyogenes*) и уникалността на по-голямата част от приложените методики. За първи път в България с молекулярно-генетични методи е охарактеризиран вирулентния потенциал на колекция от 445 клинични изолати *S. pyogenes*. Проучени са механизмите на резистентност на 140 макролид - резистентни шама *S. pyogenes*. За първи път в изследваните изолати е доказан генът, кодиращ метилази – *ermB*. За първи път е извършено епидемиологично типизиране на клинични изолати *S. pyogenes* и определяне на *emm*-кълъстери и е доказана връзка между най-разпространения кълъстер (А-С3) и суперантигените . За първи път в България е извършено типизиране чрез MLST на клинични изолати *S. pyogenes* (ST) .Потвърждавам и приемам приносите с оригинален характер като изключително значими, както и тези с научно - приложен и потвърдителен характер.

В раздела **Приложение** са представени голям брой таблици със статистически обработени данни, които удостоверяват и илюстрират получените резултати и следващите от тях изводи и препоръки, а така също и приносите на дисертационния труд.

Въз основа на всичко изложено, считам, че дисертационния труд **напълно отговаря на изискванията за присъждане на образователната и научна степен „доктор“**, поради : **актуалност** на проблема, пряка връзка с **диагностиката** и терапията на инфекциите , **обем** на проучената литература, **оригинални методи** и техники и **интерпретация** на проблемите в литературата, добре структурирано съдържание на темата, точна аргументация и добросъвестно цитиране. Посочените постижения могат да се определят като основни достойнства на представената дисертация .

В заключение : оценявам положително избора на темата и получените резултати в колосално по обем и оригиналност проучване , анализа на използваните материали и литература, оригиналните интерпретации и нововъведените методи и техники. Впечатляващи са и предложените оригинални, основани на научно-доказателствения материал резултати за комплексен диагностичен алгоритъм.

Предвид на всичко казано, **давам своята категорично положителна оценка** за представения ми дисертационен труд, постигнатите резултати и приноси, автореферата, както и коплексната преценка за преподавателската, диагностична , научна дейност и езикова култура , и **предлагам на почитаемите членове на научното жури, да присъди на Адиле Акифова Мухтарова образователна и научна степен „Доктор“**

01.11.2018

Стара Загора

Изготвил становището :

/.....

Проф. Д-р Грозданка Т. Лазарова, д.м.
Р-л катедра Микробиология,
Мед.факултет, ТУ-Стара Загора