

ДО  
ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НА НАУЧНОТО ЖУРИ,  
НАЗНАЧЕНО СЪС ЗАПОВЕД  
№ Р-109-473/20.11.2025 г.  
НА РЕКТОРА НА МЕДИЦИНСКИ  
УНИВЕРСИТЕТ  
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ”–  
ВАРНА

## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Стефана Донева Събчева  
ръководител на Лаборатория по микробиология в  
УСБАЛ по онкология „Проф. Иван Черноземски” ЕАД, София

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен  
„Доктор” в областта на висшето образование: 4. Природни науки, математика и  
информатика по професионално направление: 4.3. Биологически науки и  
научна специалност „Микробиология“

на тема: „Микробиологични проучвания върху механизмите на  
резистентност към бета-лактами и вътреболничното разпространение на  
клинични изолати *Serratia marcescens*”

от д-р Стефани Димитрова Радева  
докторант в редовна форма на обучение към Катедра „Микробиология и  
вирусология” на Факултет по медицина в МУ – Варна

Научен ръководител:

Доц. д-р Милена Красимирова Божкова, д.м.

Декларирам, че нямам общи научни трудове с докторанта.

## Актуалност на дисертационния труд

*Serratia marcescens* принадлежи към специфична група *Enterobacterales*, съставена от *Enterobacter* spp., *S. marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Providencia* spp. и *Morganella morganii*, наречена ESCPM. Тези бактерии продуцират видовоспецифични, хромозомно кодирани, индуцибелни AmpC  $\beta$ -лактамази, принадлежащи към клас C по Ambler (група 1 по Bush). Ниското ниво на експресия на тези ензими е достатъчно за хидролизата на аминопеницилини, комбинации от аминопеницилини/ $\beta$ -лактамазни инхибитори, цефамицини, първа и втора генерация цефалоспорини. Свръхпродукция на AmpC може да възникне чрез индукция от някои  $\beta$ -лактами или селекция на дерепресирани мутанти по време на терапия с третогенерационни цефалоспорини, което води до тяхната хидролиза. Освен това *S. marcescens* е с вродена резистентност към colistin, което допълнително ограничава терапевтичните опции и допринася за нарастващата им разпространеност. В допълнение към този вроден набор от гени за резистентност *S. marcescens* може да придобива, чрез мобилни генетични елементи, детерминанти на резистентност към  $\beta$ -лактами, аминогликозиди и флуорохинолони, често асоциирани на един и същи плазмид. Така например в щамове *S. marcescens*, изолирани у нас, са идентифицирани CTX-M-3 в асоциация с ArmA метилтрансфераза, кодирани на конюгативни IncM плаزمиди, и три вида карбапенемази (OXA-48, кодирана на конюгативен IncL плазмид; NDM-1, кодирана на конюгативни IncX3 или IncM плазмиди и хромозомно кодирана VIM-4), които често са асоциирани с CTX-M-3, ArmA и плазмидно-медирирани детерминанти на хинолонова резистентност. Освен това *S. marcescens* се характеризира с устойчивост към факторите на околната среда и дезинфектанти, поради което е широко разпространена в болничната среда. Изключителната приспособимост на *S. marcescens* към условията в болничните екосистеми и множеството механизми на антибиотична резистентност ѝ отреждат място сред десетте най-често изолирани бактериални патогени, причиняващи животозастрашаващи инфекции, свързани с медицинското обслужване, особено сред рискови пациенти – имунокомпрометирани, новородени, деца и хоспитализирани в интензивни отделения.

Всичко това обуславя актуалността на дисертационния труд и необходимостта от проведените микробиологични и епидемиологични

прочувания върху механизмите на резистентност към  $\beta$ -лактамните антибиотици и разпространението на клинични изолати *Serratia marcescens* в УМБАЛ „Света Марина” – Варна.

### **Структура на дисертационния труд**

Дисертацията е написана на 165 страници и е структурирана по общоприетата схема със съразмерно разпределение на текста в отделните раздели както следва: увод – 2 стр., литературен обзор – 38 стр., цел и задачи – 1 стр., материали и методи – 16 стр., резултати и обсъждане – 59 стр., изводи – 2 стр., приноси – 1 стр., и литература – 40 стр. Към дисертационния труд е приложен и списък с публикации и участия в научни форуми във връзка с дисертацията. Изложението е оптимално онагледено с 42 прецизно изработени материали (32 фигури и 10 таблици). В дисертацията са цитирани 364 литературни източника: 3 са на кирилица и 361 – на латиница, като повечето са от последните 10 години – доказателство за актуалността на разработвания дисертационен труд.

### **Оценка на литературния обзор**

Литературният обзор е изчерпателен, като включва необходимата като обем и анализ информация за таксономията на род *Serratia* и видовите характеристики на *S. marcescens*, резистентността към антибактериални средства и инфекциите, причинени от *S. marcescens*. В детайли са разгледани механизмите на резистентност към основните групи антибиотици и инфекциите от *S. marcescens*. Обоснована е необходимостта от бърза микробиологична идентификация и своевременно прилагане на антимикробна терапия, основана на генетичните характеристики, обуславящи антибиотичната резистентност. Изводите от литературния обзор са конкретни и обосновават целта и задачите на научната разработка.

Систематично и задълбочено авторът подхожда към набелязаните задачи в съответствие с **целта на дисертационния труд**: да се проучат механизмите на резистентност към  $\beta$ -лактамните антибиотици и да се анализират основните аспекти на вътреболничното разпространение на клинични изолати *S. marcescens*.

За осъществяване целта на проучването са поставени **5 задачи**, които следват последователността на планираните изследвания, а именно: (1) Да се

проучи епидемиологията на инфекциите, причинени *S. marcescens* чрез: определяне на честотата и динамиката на изолиране във времето; анализ на връзката между честотата на изолиране и консумацията на colistin; разпределение на изолатите според вида на клиничния материал; характеризиране на водещите клинични синдроми; идентифициране на рисковите фактори за развитие на инфекции от *S. marcescens* и оценка на тяхното влияние върху 30-дневния леталитет. (2) Да се анализира динамиката в антибиотична резистентност на 488 клинични изолата *S. marcescens* и да се оцени връзката на резистентността с леталитета, както и влиянието на терапевтичните подходи върху клиничния изход. (3) Да се определи и анализира *in vitro* чувствителността на колекция от 200 изолата *S. marcescens* към набор от антимикробни средства. (4) Да се установи разпространението на гени, кодиращи придобити  $\beta$ -лактамази, сред селектирани изолати *S. marcescens*. (5) Да се оцени ефективността на RAPD и ERIC като методи за епидемиологично типизиране на клинични изолати *S. marcescens*.

### **Оценка на раздела „Материали и методи”**

За провеждане на изследванията са използвани голям набор класически микробиологични и съвременни молекулярно-генетични методи за фенотипно и генотипно характеризиране на клинични щамове *S. marcescens*, изолирани от хоспитализирани болни в УМБАЛ „Света Марина” – Варна от 2016 г. до 2023 г. Дизайнът на проучването включва ретроспективен анализ на данните, свързани с десет променливи величини, при 488 пациенти с клинично проявена инфекция от *S. marcescens*. От тях са селектирани 200 щамове по критерий инвазивност и резистентност към трета генерация цефалоспорини, които са подложени на изпитване на антимикробна чувствителност към унифициран набор от антимикробни средства. Допълнително са приложени фенотипни методи за откриване на ESBL и карбапенемазна активност. Присъствието на гени, кодиращи най-разпространените ESBL (*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>) и карбапенемази (*bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>) е доказано чрез PCR. За целите на епидемиологичното типизиране на изолати *S. marcescens* са използвани PCR-базирани техники (RAPD и ERIC). Статистическата обработка е извършена с високоинформативни и подходящи за решаване на поставените задачи методи.

## Оценка на раздела „Резултати и обсъждане“

Извършена е значителна по обем и разнообразна по характер изследователска работа. Получените резултати и тяхното обсъждане следват стриктно поставените задачи.

1) Установено е, че в 97.5% от случаите инфекциите, причинени от *S. marcescens* възникват по време на болничното лечение, което определя хоспитализацията като най-значимия рисков фактор за развитието на тези инфекции. Във тази връзка е динамиката в честотата на изолиране на *S. marcescens*, която достига най-високи стойности през 2018 г., последвана от отчетливо намаляване през 2021 г., което съвпада с периода на ограничаване на плановата хоспитализация по време на пандемията от COVID-19, и умерено покачване в периода 2022–2023 г., което съвпада с възстановяване на обичайната болничната дейност. Установени са и другите рискови фактори, сред които водещи са наличието на чуждо тяло (80.0%), инвазивните процедури (16.0%) и интубация/механична вентилация (7.9%); възрастовата група 70–79 години, сърдечно-съдовите (65.8%), ендокринологичните (31.6%) и урологичните (13.9%) придружаващи заболявания също са доказани като значими допълнителни рискови фактори. Установено е, че престоят в интензивно отделение е съществен предиктор, както за възникване на инфекция, така и за летален изход. Най-висок леталитет е наблюдаван при пациенти с неврологични (28.6%) и злокачествени заболявания (17.1%). Установено е също, че видът на инфекцията от *S. marcescens* е независим прогностичен фактор за продължителността на болничния престой, като най-дълга хоспитализация е наблюдавана при инфекции на кръвта, а най-кратка – при уринарни инфекции.

2) Не е установена статистически значима връзка между продукцията на ESBLs и леталния изход при инфекции, причинени от *S. marcescens*. Установено е, че приложението на amikacin, gentamicin и levofloxacin е независим протективен фактор за намаляване на 30-дневния леталитет, докато резистентността към amikacin се асоциира със статистически значимо повишен риск от неблагоприятен изход.

3) Статистически значима е установената връзка между резистентността към цефалоспорини и антибиотици от други групи, като gentamicin (85.3%), ciprofloxacin (79.8%), levofloxacin (77.0%), piperacillin/tazobactam (72.5%) и trimethoprim-sulfamethoxazole (69.7%). Imipenem, meropenem и amikacin са

препаратите с най-добра активност, което ги прави подходящи за емпирично лечение в случаите на инвазивни инфекции от *S. marcescens*.

4) Установен е основният механизъм на резистентност към трета генерация цефалоспорини – продукция на CTX-M ESBL. Карбапенемната резистентност се обуславя от *bla<sub>TEM</sub>* и *bla<sub>KPC</sub>*, който се идентифицира за първи път в *S. marcescens* в България и вероятно е свързан с ендемичното разпространение на KPC продуцентите в болницата.

5) Установено е, че епидемиологичното типизиране чрез RAPD-PCR и ERIC-PCR притежава ограничена дискриминационна способност по отношение на *S. marcescens*. Генетичната стабилност и ниската вариабилност на вида редуцират ефективността на тези техники в рутинната практика, което обуславя необходимостта от прилагането на високодискриминационни методи като PFGE или WGS за установяване на генетичното родство между изолатите.

### **Оценка на изводите и приносите на дисертационния труд**

Дисертационният труд завършва с 11 извода и 10 приноса, които са формулирани много подробно и ясно. Така представени са информативни и дават тежест на всеки получен резултат. Приносите са с висока значимост поради факта, че това е първото клиничко-микробиологично и епидемиологично проучване на инфекции от *S. marcescens*, което обхваща последователни клинични случаи за дълъг период от време (2016-2023).

### **Публикации, свързани с дисертационния труд**

Резултатите от обемната изследователска работа на д-р Стефани Радева са отразени в 4 публикации, в три от които тя е първи автор, а в четвъртата – втори автор. Публикациите са на английски език (2 в наши списания и 2 – в международни), като 3 от списанията са индексирани в Scopus със SJR от 0.154 до 0.410. Дисертантът е представил своите постижения на 2 научни форума. Тези наукометрични показатели представят дисертанта като изграден изследовател със съществен принос в развитието на клиничната микробиология и познанията за диагностиката, антибиотичната резистентност и епидемиологията на бактериалните инфекции при хоспитализирани пациенти.

### **Заклучение**

Представеният десертационен труд е върху актуален за медицинската наука и практика проблем със значими научни и научноприложни приноси,

свързани с клинико-микробиологичните и епидемиологични аспекти на нозокомиалните инфекции, причинени от *S. marcescens* в България. Дисертацията многократно надхвърля изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника на МУ – Варна. Това ми дава основание убедено да подкрепя присъждането на образователната и научна степен „Доктор” по научната специалност „Микробиология” на д-р Стефани Димитрова Радева.

11.12.2025 г.

Рецензент:

|                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------|
| Заличено на основание чл. 5,<br>§1, б. „В” от Регламент (ЕС)<br>2016/679 |
|--------------------------------------------------------------------------|

/Проф. Стефана Събчева /