

**НА ВНИМАНИЕТО НА ЧЛЕНОВЕТЕ
НА НАУЧНОТО ЖУРИ, ОПРЕДЕЛЕНО
СЪС ЗАПОВЕД N P-109-342/29.05.2018 г. НА
РЕКТОРА НА МЕДИЦИНСКИ
УНИВЕРСИТЕТ „ПРОФ.Д-Р ПАРАСКЕВ
СТОЯНОВ“, г. ВАРНА**

РЕЦЕНЗИЯ

от Проф. д-р Радка Младенова Аргирова, дмн, вирусолог, Болница
„Токуда“ - София, Клинична лаборатория, Сектор „Имунология и
молекулярна диагностика“

ОТНОСНО: Дисертационен труд на Живка Стойкова Демирева-Калчева, докторант на самостоятелна подготовка, за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ в област на висше образование:
4. Природни науки, професионално направление 4.3. “Биологични науки” по научна специалност “Вирусология”

ТЕМА: Сероепидемиологични и молекулярно-генетични проучвания на цитомегаловирусната инфекция при рискови групи

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ: Доц. Д-р Лилия Иванова, д.м.

Предложеният ми за рецензиране труд е написан на 190 стр., онаяден е с 3 фигури, 12 графики и 44 таблици, цитирани са 352 литературни източника, от които – 7 на кирилица и 345 – на латиница. Трудът е организиран съгласно общоприетите стандарти и съдържа Увод, Литературен обзор, Цел и задачи, Резултати и обсъждане, Заключение, Изводи, препоръки и приноси, използвани литературни източници, Приложения - авторска справка за публикации и участия в научни прояви по темата на дисертационния труд, участия в научни проекти. Приложен е и автореферат на дисертационния труд.

Живка Стойкова Демирева-Калчева е родена през 1977 г. Магистър по медицина – диплома от МУ „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ – Варна. Участвала е в 12 курса по следдипломна квалификация, организирани от Отдела по вирусология – НЦЗПБ и МБАЛ „Св. Марина“, Варна. Има специалност по вирусология. Успешно издържала докторантски минимум по вирусология през 2016 г.

Дисертационният труд на д-р Живка Стойкова Демирева-Калчева е посветен на съвременна и особено актуална тема – инфекцията с цитомегаловирус (CMV) вирус у нас, в частност, в Североизточна България. Подчертавам, че у нас все още не се прилагат всички известни знания за профилактиране, ранно откриване и лечение на тази инфекция. А тя има ключово етиологично значение в редица области – инфекциозни болести, трансплантология, интраутеринни инфекции и неонатология, не на последно място често се проявява при имунокомпрометирани пациенти. Въпреки, че съществуват общоприети /световни, американски и др./ указания за ранно откриване, правилно диагностициране и поведение при CMV инфекцията, тези указания на практика у нас се спазват рядко или твърде късно. В този смисъл дисертационният труд на д-р Живка Демирева е актуален и навременен.

В литературния обзор, заемащ около една трета от дисертационния труд, са дадени най-съвременни данни за историята на откриването, строежа, морфологичната и антигенна структура на CMV, пътищата за трансмисия на вируса и по-специално – за възникването на конгениталната инфекция и заразяването при органна и тъканна трансплантация. Особено ми допадна разглеждането на вирус-кодираните механизми за избягване на клетъчно-медиирания имунитет. Подробно са описани методите за диагностика – серологични, вирусологични, генетични - с техните предимства и недостатъци, както и оптималните клинични материали за тази диагностика. Не е пропусната и разработката на експресни методи за скрининг (SMAP). Съвременното лечение и предизвикателствата в областта на имунопрофилактиката също са обект на обзора. Литературният обзор е много богат – с най-съвременни данни и автори, вкл. български. Докторантката демонстрира знания и разбиране за репликацията на CMV, за патогенезата на инфекцията, прогреса, повлияването от терапията, вирусната трансмисия, получаването на ваксини. Всичко това има пряко отношение към вирусологичната и епидемиологичната цел на съвременната терапия – т.е. не само лечение, но и профилактика и минимизиране разпространението на вируса. Общо взето, обзорът е много подробен, съвременен и убеждава в необходимостта за провеждане на изследванията от дисертационния труд. Показани са ясно произтичащите от съвременното ни ниво на знания цел и задачи на дисертационния труд.

Целта и задачите са ясно, пълно и добре формулирани, нямам забележки по тях. Нестандартно задачите са представени поотделно за ретроспективния и проспективния анализ, но напълно съответстват на целите на изследването.

В раздела „Материал и методи“ са описани изчерпателно изследваните пациенти за целите на ретроспективния и проспективния анализ. Този раздел е високо информативен, съвременен, убеждава, че използваните подходи и методи са надеждни и резултатите, получени чрез тях, ще бъдат надеждни и достоверни. Освен това, именно тук се вижда личното участие, както и усвояването от докторанта на използваните методи и интерпретацията им. **Към този раздел имам въпрос : защо не е описана обработката на пробите урина от новородените за целите на PCR диагностиката, въпреки, че в обзора правилно се подчертава високият вирусен товар в урината и слюнката.**

Резултати и обсъждане – е най-важният раздел в дисертационния труд. Получените резултати са разгледани по трансмисионни групи – всяка поотделно, със собствено обсъждане и заключения. Одобрявам този начин на представяне поради многообразието на засегнатите групи, механизми и патогенеза на трансмисия. Много ясно и точно се вижда на Табл.1 разпределението на 7879 изследвани лица по пол, възраст и наличие на CMV IgG за периода 2003 – 2015 г. Серопревалентността за CMV IgG за този период е 78.4%, близка до тази, докладвана за други страни и малко по-висока от откритата при предишни изследвания – 69.87%. Във всички възрастови групи делът на жените с данни за остра активна и/или реактивирана инфекция е по-висок от този на мъжете с изключение на възрастовата група 0 – 6 мес. Още веднаж се доказва, че първичното заразяване с CMV започва в ранно детство и до навършване на 1 год. са заразени вече 36.7% от децата, като в юношеска възраст не се бележи втори пик. Важно заключение е, че серопозитивността по CMV IgG при бебетата до 6 мес. /82.9%/ съответства на тази при жените в детеродна възраст /84.5%/. Тъй като тези данни поставят България с по-висока степен на заразеност сред жените от Европа, това заключение директно води към необходимост от рутинно тестване сред бременни и жени, възнамеряващи да забременеят. Такова рутинно изследване би било много важно и за определяне на риска от вертикална трансмисия, тъй като авторката изчислява, че хипотетичният популационен риск за вертикална трансмисия сред инфектирани е 0.8% за разлика от неинфектирани жени - 6.2% /Табл.6/. **Считам тези данни за сериозен практически принос на дисертантката.**

Следващата рискова група, обект на изследване от докторантката, са пациентите с онкохематологични заболявания /Табл. 12 и Табл.13/. Тук бих отбелязала високия процент /93%/ на инфектираността с CMV (CMV_IgG) сред възрастните пациенти с онкохематологични заболявания на фона на нисък процент /16%/ на CMV_IgM. **Интересно е да се знае дали CMV_IgM антителата са изследвани едновременно в тези пациенти и ако е така – кога по отношение на имunosупресивните медикаменти е проведено изследването. И дали някои от останалите пациенти (само с CMV_IgG) не реактивират инфекцията на друг етап от лечението? Същият въпрос отправям и по отношение на лицата, живеещи с HIV /Табл. 14/.**

В проспективното проучване на бременни давам висока оценка на изследването за anti CMV_IgG avidity и препоръчването на теста за авидност при всички бременни жени с изразена както CMV_IgG, така и CMV_IgM реактивност. Напълно споделям и одобрявам предложения алгоритъм за изследване при бременност – той е съвременен и важен, за да се постигне действително намаляване на пагубното въздействие на CMV върху плода и новороденото. **Защо в раздел «Проспективно проучване на CMV инфекцията при суспектни деца до 3 мес. възраст» /стр. 111/ CMV-DNA е измервана в плазмени проби и при двете групи изследвани деца, след като разполагате със слюнчени и уринни проби?** В този раздел са приведени случаи от практиката, чието интерпретиране напълно одобрявам. **За първи път у нас чрез PCR е определен относителния дял (24%) на CMV в неонаталната и ранната кърмаческа патология, като този дял, за съжаление, не бележи тенденция към спадане.**

Данните от проспективното изследване на CMV инфекция/реактивация при трансплантирани пациенти са от особен интерес, тъй като броят на трансплантациите

неминуемо ще се увеличава в бъдеще и в този смисъл опитът на дисертантката е много стойностен. Изследванията в този раздел са проведени и интерпретирани напълно коректно. Подкрепям предложението за обосновано приемане на праг на CMV вирусния товар в бъбречната и клетъчно-стволовата трансплантология, след който да се започва антивирусно лечение.

Общите заключения и изводи от ретроспективното и проспективното проучване дават ценна информация не само за Североизточна България, но те могат да се считат значими за цялата страна. Очертават се важни тенденции:

1. Устойчивост и стабилност на относителния дял на CMV в неонаталната и ранната кърмаческа патология, като няма тенденция този дял да намалява.
2. Важно заключение е, че серопозитивността по CMV IgG при бебетата до 6 мес. /82.9%/ съответства на тази при жените в детеродна възраст /84.5%/ и също не се наблюдава тенденция към намаляване.
3. И двете заключения изискват обучение и повишаване на здравната култура на бъдещите родители.

С изводите и приносите съм съгласна, ценно е, че повечето от тях потвърждават предшестващи резултати за по-малки периоди от време – т.е. тенденциите се потвърждават. С тази дисертация, богата на собствени изследвания и резултати данни, се потвърждава дългогодишния опит на Катедрата по микробиология и вирусология към МУ-Варна в най-съвременно профилактиране, диагностициране, проследяване и лечение на вирусите от сем. *Herpesviridae*. Още по-ценно би било запознаването на заинтересованата медицинска общественост с резултатите от този дисертационен труд и бъдещото им прилагане.

Фигурите и таблиците са отлично изпълнени / малко изключение е Графика 10, която не е особено ясна и демонстративна/ и носят информация за резултатите от изследването. Списъкът на литературните източници е пълен, съвременен и допълнително говори за познаване на съвременните знания за инфекцията.

Авторефератът отразява основните изследвания, изводите и заключенията от дисертационния труд.

Д-р Живка Демирева-Калчева е първи автор и съавтор на 3 статии на английски език по темата. Участник и докладчик е в 4 научни форуми – 2 от тях в чужбина, както и в 1 научен проект по темата, финансиран от Фонд „Наука“ на МУ – Варна.

В заключение, дисертационният труд на Д-р Живка Демирева-Калчева разработва важни въпроси на клиничната вирусология на CMV инфекцията. Получените резултати са до голяма степен нови или с потвърдителен характер относно съществуващи тенденции и допълнителни данни за разпространението на CMV в България. За първи път е представена характеристика на прясната/остра и хроничната инфекция по трансмисивни групи. Считаю, че работата е продължение на дългогодишната научно-изследователска последователна дейност на Катедрата по микробиология и вирусология към МУ – Варна. Уверена съм, че основните насоки на тази работа ще продължат, тенденциите, очертани от

Д-р Живка Демирева-Калчева ще се изясняват и обогатят с нови факти. Дисертационният труд ще послужи за актуализиране на епидемиологичните и молекулярно-вирусологичните данни за разпространението на CMV у нас, както и за целево пренасочване на националните и местните усилия за превенция към трансмисивните групи, които се нуждаят от това. В този смисъл дисертационният труд на Д-р Живка Демирева-Калчева заслужава най-висока оценка, а авторът му – напълно заслужава да придобие научната и образователна степен „доктор“, за което призовавам и останалите членове на уважаемото научно жури.

София, 10.07.2018 г.

Рецензент:
/Проф. Д.м.н. Радка Аргирова/

