

До Председателя на Научно Жури,

Доц. д-р Л. Иванова, дм

СТ А Н О В И Щ Е

по процедура за придобиване на образователна и научна степен “доктор”

по научна специалност “Вирусология” от д-р Живка Стойкова Демирева - Калчева с дисертационен труд на тема: „Сероепидемиологични и молекулярно-генетични проучвания на Цитомегаловирусната инфекция при рискови групи пациенти”.

от доц. д-р Теменуга Жекова Стоева, дм

Вътрешен член на Научното жури, определено със заповед № Р-109-357/13.06.2018г.,

Настоящото становище е изготвено въз основа на заповед № Р-109-342/29.05.2018г. на Ректора на МУ - Варна (определяща състава на научното жури) и заповед № Р-109-357/13.06.2018г. на Ректора на МУ - Варна (определяща официалните рецензенти). Представените материали по процедурата отговарят на изискванията на Закона за развитието на академичния състав на Република България и Правилника за развитието на академичния състав на МУ “Проф. Д-р П. Стоянов” – Варна за присъждане на образователна и научна степен “доктор”.

Биографични данни и кариерно развитие. Д-р Живка Стойкова Демирева - Калчева завършва висшето си образование по медицина в Медицински Университет – Варна. От 2003г. до 2006г. работи последователно като лекар-ординатор в ЦСМП – Добрич и Варна. В периода юли 2006г. – март 2007г. работи в Отдел Микробиология и Вирусология на РИОКОЗ – Варна. От 2007г. и понастоящем е лекар-асистент към катедра Микробиология и Вирусология на МУ – Варна, а от 2009г. работи като клиничен вирусолог в Лабораторията по вирусология на УМБАЛ “Света Марина”. Има призната специалност по вирусология. Допълнителната ѝ следдипломна квалификация включва курсове и обучения в молекулярно-генетични методи за диагностика на инфекциозни заболявания.

Актуалност на разработваната тема. Дисертационният труд на д-р Ж. Стойкова е свързан със съвременен и много актуален въпрос в клиничната вирусология и медицинска практика изобщо, а именно цитомегаловирусната инфекция в рискови групи пациенти под имуносупресия, имунокомпрометираните, бременните жени и новородени. Проблемът е още по-актуален с развитието на трансплантологията и нарастване броя на тези пациенти в клиничната практика. Инфекцията с CMV при тази рискова група предизвиква както директни (CMV синдром, тъканно инвазивно заболяване), така и индиректни ефекти – отхвърляне на

трансплантанта, намаляване преживяемостта на присадката и на пациента и предразполага към развитие на опортюнистични инфекции и малигнизации.

Дисертационния труд на д-р Ж. Стойкова е задълбочен научен труд, който проучва разпространението на CMV инфекция сред населението (в общата популация) на Североизточна България за 12 годишен период, както и сред рискови групи пациенти.

Структура на дисертационния труд. Дисертационният труд е написан на 190 компютърни страници с 44 таблици, 12 графики, 3 фигури и структуриран по общоприетата схема: увод – 1стр., литературен обзор – 48стр., цел и задачи – 2 стр., материали и методи – 12стр., резултати и обсъждане – 102стр., изводи – 2стр., приноси – 2стр. Литературният указател съдържа 352 заглавия, от които на кирилица - 7.

Оценка на качествата на литературния обзор. Литературният обзор е написан компетентно и на високо научно ниво. В обзора са включени и публикации на български автори, работили през годините по проблема. Всичко това е доказателство за богатата литературна осведоменост на д-р Ж. Стойкова. Много детайлно и актуално са представени основните научни данни отнасящи се до класификацията, структурата, механизмите на репликация на CMV, епидемиологията и начините за трансмисия на вируса. В подробности е изяснена патогенезата и са представени съвременните разбирания за имунитета при CMV инфекция, както и особеностите в клиничната картина при различни рискови групи пациенти. Съществено място в обзора е отделено на лабораторната диагностика на CMV инфекция с целия спектър от диагностични методи, като е обърнато специално внимание на основните аспекти на диагностичния подход по време на бременност, в случаите на конгенитални инфекции при новородени, при трансплантирани и имunosупресирани пациенти. Заедно с детайлната информация, отнасяща се до клиничната презентация и лабораторната диагностиката, особено ценен в практически план е и раздела, посветен на лечението и профилактиката на CMV инфекция в съответните рискови групи.

Д-р Ж. Стойкова си поставя две ясно формулирани цели, свързани с установяване разпространението на CMV инфекция сред населението на Североизточна България по възраст, пол и рискови групи в ретроспективно проучване и определяне на относителния дял и клиничната значимост на инфекцията при рискови групи – бременни жени, новородени деца и имунонекомпетентни пациенти в проспективно проучване.

Оценка на материала и методите. Дисертационният труд на д-р Ж. Стойкова е проучване върху голям брой серумни проби (7879 за ретроспективното и 296 за проспективното проучване), извършено чрез използване на разнообразие от серологични имуноензимни (ELISA) и съвременни молекулярно-биологични методи, както и на статистически методи, подробно описани в раздела “Материали и методи”.

Оценка на резултатите. Получените резултати и тяхното обсъждане представляват съществен раздел от работата, добре илюстрирана с 44 таблици, 12 графики и 3 фигури. Подробно са обсъдени резултатите от мащабното ретроспективно проучване, където в детайли са анализирани сероепидемиологичния CMV статус на населението в Североизточна България, относителния дял на заразеност на жените в детеродна възраст и новородени деца, както и

относителния дял на заразеност при имunosупресирани и имунокомпрометирани пациенти, вкл. такива живеещи с HIV инфекция. Установено е широко разпространение на CMV инфекция в региона, с тенденция за повишаване; ранно начало на първичната CMV инфекция (с пик във възрастта 2 - 5г.); по-голямо засягане на женския пол, вкл. при жени в детородна възраст; значителен дял на неинфектирани жени в детородна възраст и свързания с това по-висок общ популационен риск за CMV трансмисия към плода. На базата на резултатите от използването на серологични методи за диагностика е идентифициран висок относителен дял на вродената инфекция при голям брой симптоматични новородени деца до 1 мес. и висок относителен дял на вероятно интранатално или ранно постнатално инфектирани деца до 3 месечна възраст. Инфектираността сред възрастни пациенти с онкохематологични заболявания е изключително висока и надвишава тази в общата популация от съответните възрастови групи. Получените резултати дават основание на д-р Ж. Стойкова да препоръча серологичен скрининг при рискови групи пациенти – бременни жени, симптоматични новородени деца и имунонекомпетентни по различни поводи индивиди.

Особено важни и полезни в практическо отношение са резултатите, получени в хода на проспективното серологично проучване върху CMV инфекция при рискови групи пациенти – бременни жени, суспектни деца до 3 мес. и пациенти с различни лимфоми, извършено в периода 2016 – 2018г. 13.2% от проследените бременни се идентифицират като неинфектирани и респективно в пряка опасност от развитие на първична майчина инфекция. Потвърдена е надеждността на теста за авидност на anti CMV IgG антителата за определяне давността на инфекцията и дефиниране на риска за трансмисия на вируса към плода. На базата на тези резултати докторантката предлага реално приложим диагностичен алгоритъм за скрининг на бременни жени и мониторинг на рискови бременности.

Особен интерес представляват резултатите от молекулярно-биологичните изследвания в проспективното проучване, извършени чрез RT PCR. Доказана е съществената роля на CMV в патологията на новородените деца, като е установено, че относителният дял на CMV инфекцията в неонаталния и ранния кърмачески период при симптоматични деца не бележи тенденция за намаляване, а показва устойчивост в годините. Критично са оценени диагностичните възможности на ELISA-базираните тестове за дефиниране на активна инфекция при новородени като не достатъчно индикативни, а RT PCR е определен като задължителното съвременно изследване при всички суспектни новородени. Чрез този метод за първи път у нас е установена и честотата на безсимптомната конгенитална CMV инфекция при клинично здрави новородени деца в материал слюнка. Получените данни и извършеният детайлен анализ са основание да бъде изработен и препоръчан полезния за практиката алгоритъм за проследяване на новородени деца с данни за фетално страдание и недоносеност.

Сред главните достойнства на дисертацията са определените в частта от проспективното проучване чрез RT PCR, честота на реактивация на CMV инфектираните пациенти с различни видове лимфоми (11.4%), реципиенти на бъбрек (16.6%) и такива след ТХСТ (100% след алогенна и 20% след автоложна). Изключително полезно, както за лабораторни специалисти, така и за клиницисти, е сравнителното разглеждане, коментар и оценка на резултатите от

молекулярно-генетичните и серологични изследвания в тези групи пациенти. Д-р Ж. Стойкова доказва средно време от 40.5 дни след алогенна ТХСК до поява на първия позитивен PCR резултат. Провеждането именно на молекулярно-генетичните изследвания в хода на проспективното проучване правят реално въвеждането рутинно в лабораторната практиката в УМБАЛ“Света Марина“ - Варна на този съвременен метод (QRT PCR), позволяващ оценка на вирусната реактивация след органна и тъканна трансплантация и определяне на момента за започване на преемптивна терапия.

Обсъждането на резултатите е много важна част от дисертационния труд. Всички получени резултати, касаещи ретро- и проспективното проучване са анализирани задълбочено и в детайли, като са сравнявани с подобни проучвания от научната литература.

Изводи. На базата на получените резултати докторантът прави 17 извода, които са логично и правилно формулирани, следват данните от резултатите и отговарят на поставените цел и задачи. Приемам релевантността на тези изводи, които са обосновани със сравняване на собствените данни. Въз основа на резултатите от проучванията и направените изводи д-р Ж. Стойкова формулира 14 приноса: 7 с оригинален, 2 с потвърдителен и 5 с приложен характер, които напълно приемам.

Наукометрични критерии. Д-р Ж. Стойкова прилага списък с три публикации в три авторитетни научни български списания, в които тя е първи автор. Това говори за водещата ѝ роля в проведените и описани в дисертацията изследвания. С резултати от дисертацията, д-р Ж. Стойкова е участвала в 4 научни форума, два от които международни. През 2016г. докторантът спечелва проект към Фонд Наука на МУ – Варна на тема, свързана с дисертационния ѝ труд.

В заключение, предственият ми за становище дисертационен труд представлява широко мащабно проучване, извършено със серологични и най - съвременни генетични методи. Темата на дисертационния труд е изключително актуална, съответства на научните приоритети на МУ – Варна по направление “Онкология и редки болести” и прави реалност въвеждането в лабораторната практика на съвременните методи за дефиниране и оценка на вирусна реактивация след органна и тъканна трансплантация, което дава възможност за преемптивна терапия, намаляване на усложненията и болничния престой и не на последно място – има положително финансово измерение. Работата съдържа множество резултати, които са в съответствие и изпълняват поставените цели и конкретни задачи. Тези резултати са задълбочено обсъдени и са формулирани няколко основни приноса, които са лично дело на дисертанта. По структура, съдържание и обем дисертацията отговаря на всички нормативни изисквания и правилника на МУ - Варна за присъждане на научна степен “доктор”.

Преценявайки обосноваването изводи на дисертацията и приносите ѝ, с пълна убеденост давам положителна оценка и предлагам на членовете на научното жури да гласуват положително за присъждане на образователна и научна степен “доктор” по шифър 01.06.13 “Вирусология” на д-р Живка Стойкова Демирева - Калчева.

Варна, 04.07.2018г.

доц. д-р Теменуга Жекова Стоева, дм