

До Председателя на научното жури  
Определено със Заповед № Р109-388/ 28.08.2023 г.  
на Ректора на МУ-Варна

## РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Ива Стефанова Христова, д.м.н.  
Национален Център по Заразни и Паразитни Болести

На дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен  
„ДОКТОР НА НАУКИТЕ” по специалност „Микробиология“

**Тема на дисертационния труд:**  
АНТИБИОТИЧНА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА НАЙ-ЧЕСТИТЕ ПРИЧИНИТЕЛИ НА  
БАКТЕРИЕМИИ И ЛЕТАЛИТЕТ, СВЪРЗАН С ТЯХ

**Автор на дисертационния труд: проф. д-р Теменуга Жекова Стоева, дм**

Дисертационният труд на проф. Теменуга Стоева е впечатляващ със своята задълбоченост и прецизност. Посветен е на най-актуалната за СЗО тематика в областта на микробиологията, а именно нарастващата в глобален мащаб антибиотична резистентност, категоризирана от СЗО сред десетте най-големи заплахи за човешкото здраве. Свръхупотребата и неправилната употреба на антимикробни средства е основна причина за появата на резистентни микробни патогени.

Трудът обхваща проучвания върху ESKAPEEс патогените: *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, *E. coli*, като причинители на бактериемии при хоспитализирани пациенти за 10-годишен период. Това са патогени с нарастваща значимост, причинители на тежки нозокомиални инфекции. Световна е тенденцията към бързо увеличаване честотата на инфекциите, причинени от ESKAPEEс патогени, както и за развитие

на множествена резистентност при тях. Ето защо задълбочените проучвания на проф. Стоева върху етиологичната структура, рисковите фактори и леталитета на причинените от тези патогени инфекции са от изключително значение за надзора и антибиотичната политика.

Общото ми впечатление от дисертационния труд е, че той представлява един мащабен, отлично замислен, прецизно изпълнен на високо методично ниво и отлично оформен труд, написан много интелигентно, с изчерпателна информация във всичките му раздели, с много достойнства и приноси. Съдържа богат доказателствен и добре онагледен материал от собствените проучвания.

Дисертационният труд е обемен, написан е на 295 страници заедно с използваната литература и приложенията. Изследванията са проведени в Катедра „Микробиология и вирусология“ при МУ-Варна.

Литературният обзор е сред основните достойнства на дисертационния труд. Написан е на 73 стр. на базата на огромен брой литературни източници, от които 77 % са от последните 10 години. Литературният обзор е написан отлично, задълбочено и изчерпателно. Представена е съвременна информация, детайлно описана и в същото време стегната поднесена.

Обзорът дава представа за отличната теоретична подготвеност на проф. Стоева. Удачно започва с дефиниране на понятието инфекции на кръвта, техните варианти и критерии за разграничаване, представя и класификацията им. Разгледани са особеностите в епидемиологията на инфекциите на кръвта – факторите, повлияващи тяхната честота, източниците на инфекция, рисковите фактори и честота на неблагоприятен изход в зависимост от конкретния микробен патоген. Основно място логично е отделено на етиологията на бактериалните инфекции на кръвта – задълбочено и с познаване на многогодишни международни популационни и болнични проучвания са представени най-честите бактериални етиологични агенти, повечето от които отнасящи се към групата ESKAPEс. Особено ценно е представянето на етиологичния спектър на инфекциите на кръвта според засегнатата популация пациенти – пациенти над 65 г., пациенти с чернодробна цироза, пациенти с HIV, пациенти със солидни тумори, пациенти след трансплантация, пациенти в интензивни клиници. Детайлно са представени инфекциите на кръвта при пациенти с онкохематологични заболявания – тяхната

честота, етиологичен спектър, леталитет в зависимост от причиняващия патоген. С вещина и познание са описани съвременната микробиологична диагностика на инфекциите на кръвта, методите за изпитване на чувствителността с акцент върху молекулярно-генетичните методи – PNA FISH (Peptide Nucleic Acid Fluorescens In Situ Hybridization), PCR, multiplex PCR, ДНК секвениране, както и генетичните механизми на резистентност към антимикробни средства сред водещите причинители на бактериални инфекции на кръвта.

Литературният обзор много удачно завършва с обобщение на значимостта на инфекциите на кръвта и необходимостта от провеждане на болнични епидемиологични и микробиологични проучвания върху етиологичния спектър на инфекциите на кръвта, антибиотичната резистентност на най-честите причинители, рисковите фактори и леталитета за продължителен период от време, което логично извежда до целта на дисертационния труд. Формулирани са 5 мащабни задачи, които очертават основните области на изследване.

Проучването е ретроспективно, като са обхванати всички доказани микробиологично и установени клинично епизоди на бактериемия в УМБАЛ „Света Марина“ Варна за 10-годишен период (2011-2020 г.) и съответно 11-годишен период (2010-2020 г.) при пациенти с онкохематологични заболявания. Допълнително, при 798 пациента с бактериемии за периода 2016-2020 г. е анализирана информация за 27 променливи (демографски, клинични, микробиологични). Използваният в дисертационния труд богат набор от методи е представен изчерпателно, ясно, стегнато. Включва микробиологични методи за доказване на патогени в кръв, видова идентификация, изпитване на чувствителност към антимикробни средства и статистически методи. Впечатляващ набор от генетични методи е използван за епидемиологично типизиране (ERIC-PCR, RAPD-PCR, REP-PCR, MLST) и за доказване на гени, кодиращи ESBLs (TEM, SHV, CTX-M, KPC, VIM, IMP, NDM, OXA-23/24/51/58/143/235). Богатият набор от съвременни методи и начинът на тяхното представяне са доказателство за високото методично ниво, на което е изпълнен дисертационният труд.

Резултатите от собствените изследвания са представени и обсъдени на 100 страници. Дисертацията е богато илюстрирана с 36 таблици и 27 фигури.

Описанието на резултатите е точно, ясно и информативно. Полученият огромен обем многостранни резултати заедно с обсъждането им вешо е разпределен в 5 раздела, следвайки логичната последователност на поставените задачи.

Първият раздел на дисертационния труд е посветен на резултатите и анализа на етиологичния спектър на бактериалните инфекции на кръвта при хоспитализирани болни за периода 2011-2020 г. Установен е нарастващ дял на Грам-положителните бактерии (от 33,3% през 2011 г. на 45,7% през 2020 г.) и намаляване дела на Грам-отрицателните (от 57,4% през 2011г. на 50,7% през 2020 г.). Делът на ESKAPEЕс изолатите при това проучване е 66,8% от общия брой инвазивни изолати за 10-годишния период. Направен е анализ на постигнатите резултати в светлината на публикуваните данни от двете най-големи международни мрежи за надзор на антимикробната резистентност – EARS Net за Европа и глобалната SENTRY Antimicrobial Surveillance Program.

Вторият раздел на дисертационния труд е най-обширният. В него проф. Стоева анализира антибиотичната резистентност на най-честите причинители на бактериемии, сравнявайки получените резултати с европейските и световни данни.

По отношение на изолатите *S. aureus* тя установява близък до средния за Европа дял на MRSA в унисон с трайната тенденция за намаляване относителния им дял в страната. От всички 462 изследвани *S. aureus* изолата гликопептидните антибиотици са активни при 99,8% от тях. Отчита обаче нарастваща резистентност към гентамицин, макролиди и клиндамицин.

При *E. faecium* установява статистически значим тренд за повишаване на резистентността към гликопептидната група антибиотици, като всички ванкомицин-резистентни щамове са и тейкопланин-резистентни, което предполага, че резистентността се кодира от *vanA* гена. При такива щамове множествената резистентност към всички тествани групи антибиотици, без линезолид, го правят последен избор за терапия. Значително по-ниска резистентност към гликопептидни антибиотици установява при *E. faecalis* в сравнение с *E. faecium*, в унисон с данните от Южна и Източна Европа и в същото време доказва много високи нива на хинолонова и HLAR (high level aminoglycoside resistance).

При *E. coli* очаквано установява много високо ниво на резистентност към 3-генерационни цефалоспорици, значително по-високо от средното за Европа. По данни на ECDC в България е най-високото ниво на тази резистентност, като в годините на COVID-пандемията в останалите европейски държави това ниво се понижи. Проф. Стоева установява ниско ниво на карбапенем-резистентни *E. coli*, но висок дял на резистентните към аминопеницилици *E. coli*, което е в съответствие с националните данни, както и по-висока от европейската резистентност към флуорохинолони, макар и с тенденция за спад през последните 5 години от проучването.

При проучване резистентността към цефалоспорици 3-та генерация и карбапеницилици на щамове *K. pneumoniae*, умело са приложени генетични техники. С PCR и последващо секвениране за доказване на най-често срещаните гени, кодиращи ESBLs, се установява висока честота на гените *bla*<sub>CTX-M-15</sub> и *bla*<sub>KPC-2</sub>. От голямо значение е и епидемиологичното типизиране на тези щамове с ERIC PCR и MLST и установяването на основните клонове. Проучването демонстрира ST15 като доминиращ тип, асоцииран с карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* и KPC-2 карбапенемазата като най-честата карбапенемаза, медираща резистентността към карбапеницилици.

При *Enterobacter* spp. проучването установява високо ниво на резистентност към цефалоспорици 3-та генерация, гентамицици и флуорохинолони. С генетичните техники е установен един изолат *E. cloacae*, продуцент на NDM-1 метало-карбапенемаза, CTX-M-3 ESBL и ACT-68 AmpC, отнесен към MLST тип ST23.

При изолатите *P. aeruginosa* делът на резистентните към карбапеницилици варира силно през годините на проучването, докато за страната делът им се повишава непрекъснато, надхвърляйки значително средния за Европа. Над 25% от изследваните щамове са резистентни към анти-псевдомонадните средства, с изключение на амикацици.

При *Acinetobacter baumannii* – *calcoaceticus* complex с генетични техники са проучени механизмите на резистентност към карбапеницилици. С multiplex PCR са търсени гените за най-честите OXA-карбапенемази. Направено е епидемиологично типизиране чрез *gyrB* PCR и са идентифицирани 4 клъстера.

В самостоятелен раздел са обособени проучванията върху етиологията на бактериемии при пациенти с онкохематологични заболявания за 11-годишен период. Това са пациенти със значителна неутропения и повишен риск от развитие на тежки инфекции. Установено е доминиране на Грам-отрицателните бактерии – най-често *E. coli*, следвани по честота от *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. Получени са интересни резултати, показващи намаляване дела на *S. aureus* и повишаване дела на CoNS и на *Enterococcus spp.* през втория петгодишен период на проучването.

Логично следващият раздел е посветен на антибиотичната резистентност на най-честите причинители на бактериемии при пациенти с онкохематологични заболявания. Тук проф. Стоева извежда редица зависимости. Установява тенденция за стабилно повишаване дела на инфекциите, причинени от MDR бактерии, което следва световните трендове. Получените в проучването резултати показват висок относителен дял на резистентни ентеробактерии към трета генерация цефалоспорини, като най-висок е дялът на *K. pneumoniae*, следвани от *E. cloacae* и *E. coli*. При проследяване във времето дялът на *E. cloacae*, резистентни на 3-генерация цефалоспорини нараства, а се намалява този на *E. coli*. Проф. Стоева доказва и високи нива на резистентност на ентеробактериите към флуорохинолони и установява трайна тенденция към повишаване на тази резистентност при изолатите *E. cloacae* complex, най-вероятно обусловена от широката употреба на тези антибиотици с профилактична цел. И към друга ключова група антибиотици – карбапенемите – проф. Стоева установява висока и нарастваща резистентност при изолатите *A. baumannii - calcoaceticus* complex. Прави извода, че тези изолати са с висока резистентност към почти всички антибактериални препарати. Алармира и за висока множествена резистентност при изолатите *E. faecium*.

Последният, пети раздел, е посветен на оценка на 30-дневния леталитет при хоспитализирани пациенти с бактериемии, причинени от ESKAPEEs групата бактерии. Проучването доказва висок 30-дневен леталитет (26%). При оценяване на 30-дневния леталитет спрямо комбинацията микроорганизъм/антибиотик, проф. Стоева установява, че с най-висок дял в групата на починалите са тези с инфекции на кръвта, причинени от аминокликозид, хинолон и меропенем-

резистентни *A. baumannii - calcoaceticus* complex, следвани от ампицилин-резистентни *E. coli* и *K. pneumoniae*, резистентни на 3-генерация цефалоспорини. Направен е регресионен анализ за установяване връзката между вероятността за преживяване до 30 ден и 7 рискови фактори и е конструиран модел, включващ специфични водещи рискови фактори за инфекция с конкретен патоген, което е интересен, новаторски подход и представлява несъмнен принос.

Обобщавайки всичко написано до тук, убедено мога да заявя, че е получен и анализиран голям масив от ценни данни. Постигнати са значими приноси. От съществено значение са приносите с оригинален характер, сред които са изясняване и анализ на етиологичния спектър на бактериемии при не-селектирана група пациенти и при пациенти с онкохематологични заболявания; задълбочени проучвания върху антимикробната резистентност на най-честите причинители на бактериемии при двете групи пациенти; регресионен анализ и моделиране на рисковите фактори – проучвания, които оценявам като съществен принос към общественото здравеопазване. Високо оценявам и приносите с потвърдителен и с научно-приложен характер.

Приложен е списък с 18 публикации, свързани с дисертацията, 12 от които в реномирани международни издания с импакт фактор или импакт ранг.

В заключение, дисертационният труд на проф. Теменуга Стоева прави впечатление със своята задълбоченост, прецизно изпълнение и анализ, с прилагане на модерни молекулярно-генетични методи за епидемиологично типизиране и доказване гени на резистентност. Получени са много съществени резултати, направени са брилянтни анализи за един много съществен по своето значение и недостатъчно проучен проблем, какъвто са инфекциите на кръвта.

Считам, че рецензираният дисертационен труд напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България и Правилника за неговото приложение. Като давам положителната си оценка, убедено предлагам на членовете на научното жури да присъдят на проф. Теменуга Жекова Стоева научната степен „Доктор на науките”.

Рецензент:

(проф. д-р И. Христова, дмн)

