

ДО
ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НА НАУЧНОТО ЖУРИ
ПО МИКРОБИОЛОГИЯ ПРИ
СУ „ СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ”,
БИОЛОГИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ, СОФИЯ
ОПРЕДЕЛЕНО СЪС ЗАПОВЕД № РД 38-379/
08.06.2016г НА РЕКТОРА НА СУ - СОФИЯ

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Енчо Запрянов Савов дмн

Началник Катедра Военна Епидемиология и Хигиена при ВМА

върху дисертационния труд на тема „ Фенотипно и генотипно изследване на металобеталактамази в клинични изолати на Грам-отрицателни неферментиращи бактерии” на д-р Мустафа Гюзел за присъждане на ОНС „ Доктор”,
професионално направление 4.3. Биологически науки / Микробиология/

Неферментиращите глюкозата Грам-отрицателни бактерии /НФГБ/ заемат едно от първите места между причинителите на нозокомиални инфекции / НИ/ и представляват значителен диагностичен и терапевтичен проблем. Благодарение на интензивните изследователски проучвания през последните години се внесе известна яснота по въпросите на таксономията, както и в разработването и внедряването в бактериологичната практика на методи за идентифициране на тези микроорганизми. Регистрираната в края на 90те години на миналия век и началото на 21 век значителна резистентност / множествена резистентност/ на някои от представителите на тази група микроорганизми като *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и др. към използваните понастоящем в клиничната практика антимикробни средства, изисква особено терапевтично внимание, лабораторен и епидемиологичен контрол. Данните от литературата показват, че резистентността на тези микроорганизми към карбапенеми е нараснала значително през последните 5-7 години, със стойности между 80-90%. Поради проблемите в диагностиката, включваща използването от специалистите на различни фенотипни и генотипни

методи за оценка продукцията на карбапенемази и в частност на металобеталактамази считам, че темата и съдържанието на представения ми за рецензия дисертационен труд са твърде актуални и важни за епидемиологията и клиничната практика и в значителна степен оправдават усилията на дисертанта за провеждане на едно сериозно проучване в тази област.

Дисертацията съдържа общо 104 страници и е структурирана съгласно изискванията за един дисертационен труд: увод 3 страници, литературен обзор 47 страници, цел и задачи 1 страница, материали и методи 8 страници, резултати 19 страници, обсъждане 10 страници, изводи и приноси на дисертационния труд – 3 страници. Онагледена е с 17 таблици и 19 фигури. Библиографията е от 12 страници и включва 133 литературни източника, от които 1 на кирилица и 132 на латиница.

В литературния обзор са изложени данни относно някои от механизмите на резистентност на микроорганизмите към антимикробни препарати – естествена и придобита, хромозомно кодирана или свързана с трансфера на плазмиди и транспозони. Представени са подробно основните моменти от знанието ни за проблема резистентност на *P.aeruginosa* и *A.baumannii* към карбапенеми, които са избор за третиране на инфекции, причинени от тези микроорганизми. Обърнато е внимание върху ролята и значението на метало-беталактамазите - група В в класификацията на карбапенемазите за възникването на резистентност към тази група антибиотици. Дискутират се подробно възможностите за откриване на металобеталактамази с шест фенотипни метода – двойно-дискос синергистичен тест с дипиколинова киселина, комбиниран EDTA дисково-дифузионен тест, модифициран Hodge тест, E-тест, ROSCO бърз скринингов тест за карбапенемаза и ROSCO потвърдителен тест за металобета-лактамаза, както и използването на Real-time PCR за идентифицирани на гени, кодиращи продукцията на металобеталактамази.

Целта на дисертационния труд е правилно формулирана.

Поставените за проучване задачи – пет на брой, са точно дефинирани и отразяват основните моменти от съдържанието на дисертационния труд.

В главата “Материали и методи” са описани изследваните в дисертацията щамове – общо 90 щама НФГБ, използваните хранителни среди за изолиране, тестовете и системи за идентификация. Подробно са описани фенотипните методи

за определяне на антибиотичната чувствителност и тези за доказване синтезата на метало-беталактамази и използваните материали / праймери и др/ за реализирането на Real-time PCR като „златен” стандарт да изследване продукцията на метало-беталактамази. Авторът използва и някои статистически методи като средство за сравняване на възможностите на отделните фенотипни методи и избор на метод/ методи за докзването на карбапенемази.

В глава „ Резултати” д-р Гюзел коректно представя данните от направените изследвания за реализирането на целта и поставените за изпълнение задачи в дисертацията. Използуваните в работата 90 щама НФГБ са идентифицирани като *P.aeruginosa* – 53 щама, 1 – *Pseudomonas fluorescens*, 1 – *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter baumannii* 33 щама и 2 – са идентифицирани като *Burkholderia serapia* с конвенционални методи и автоматизираната система Phoenix 100 / Becton Dickinson, USA/. Проучена е епидемиологията на изследваните микроорганизми и тяхната чувствителност към 15 антимикробни средства. Оценено е, че тези микроорганизми са множественорезистентни, като щамове *A.baumannii* са резистентни между 90 и 100% към изследваните препарати. Подробно са представени и обобщени резултатите от използването на 6-те фенотипни методи за доказване продукцията на металобеталактамази в изследваните щамове, резистентни на карбапеними. Получените данни са илюстрирани с таблици и фигури, които са убедително доказателство за извършената достатъчно по обем експериментална работа и показват фамилиарността на автора към проучвания проблем. Анализът от използването на Real-time PCR показва, че само в три щама са идентифицирани гени, кодиращи продукцията на МБЛ, като два от щамове *P.aeruginosa* №№ 27 и 64 съдържат гени за IMP продукция и един щам – *P.fluorescens* № 36 – ген за VIM продукция. В края на тази глава, д-р Гюзел прави сравнителен анализ на резултатите от използването 6 фенотипни метода в сравнение с данните, получени с Real-time PCR за избор на подходящ фенотипен метод за диагностика на продукцията на метало-беталактамази.

В глава „ Обсъждане” авторът прави анализ на резултатите за резистентността на изследните в дисертацията микроорганизми и тези, проучени в различни региони на света. Разгледани са подробно възможностите за оптимизиране доказването на карбапенемази / в частност на металобеталактамази/ в изследваните множественорезистентни микроорганизми. Въз основа на направения сравнителен анализ, авторът приема, че използваните

фенотипни методи се различават по своята чувствителност и специфичност, като при някои от тях се отчита значителен процент фалшиво-положителни резултати. Д-р Гюзел счита, обаче, че използваните като златен стандарт молекулярно-генетични методи – PCR и секвениране не са практично решение за рутинно лабораторно приложение при доказване на МБЛ, тъй-като са скъпи и изискват специално оборудване и обучен персонал, поради което изборът на подходящ фенотипен метод с висока чувствителност и специфичност би бил от голямо значение за рутинната микробиологична лаборатория. В този смисъл, като резултат от сравняването на изследваните фенотипни методи, д-р Гюзел предлага като възможност за доказване на МБЛ в щамове *P.aeruginosa* да бъде използван модифицирания Hodge тест, за изследваните щамове *A.baumannii* – двойнодисковия синергистичен тест IMP+DPA и MEM+DPA. Като най-добър метод за доказване на МБЛ едновременно в щамове *P.aeruginosa* и *A.baumannii* е посочен ROSCO потвърдителен тест IMP+DPA.

Предложените изводи - 11 на брой, отразяват основните моменти от разработването на дисертационния труд. Съгласен съм със справката за приносите към дисертацията, които са предимно научно-приложни.

Трябва да се отбележи, че откриването продукция на МБЛ с помощта на Real-time PCR само в три от проучените 90 щам в никакъв случай не минимизира резултатите, получени с използваните фенотипни методи, тъй-като представените данни от литературата в това отношение, както и направената статистическа обработка на получените от дисертанта резултати, са достатъчно основание да приемем направените изводи, че приложимостта на фенотипните методи в практиката е предимно за скрининг, а за окончателната идентификация на МБЛ трябва да бъдат използвани молекулярно-генетични методи.

Направените критични бележки в рецензията ми при разкриване на процедурата за защита са отстранени в окончателния вариант на дисертацията.

В списъка на научните публикации и съобщения във връзка с дисертационния труд са представени 2 публикации в турския периодичен печат и 2 съобщения, изнесени на научни форуми в Анталия.

Представеният за оценка автореферат отговаря на изискванията и включва основните моменти от дисертационния труд.

Заключение:

Адмирирам усилията на д-р Гюзел не само за фактологията, но и за добрия български език, на който е написана дисертацията. Предложеният за рецензия труд напълно отговаря на критериите и допълнителните критерии за придобиване на научни степени и академични длъжности в Биологическия факултет на СУ.

Имайки предвид достойнствата на дисертационния труд, направените научни и научно-приложни приноси, предлагам на уважаемите членове на Научното жури по Микробиология при Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ да бъде присъдена на д-р Мустафа Гюзел образователната и научна степен “доктор”.

22.06 2016г

С О Ф И Я

Изготвил рецензията

проф / Енчо З. Савов / дмн