

РЕЦЕНЗИЯ

от

Проф. Красимир Георгиев Нейков

Началник Урологична клиника, Специализирана Болница за Активно

Лечение по Онкология -ЕАД, София,

специалист по урология, онкология и здравен мениджмънт, определен за член на научно жури съгласно заповед 3-390/19.09.2016 год. на Изпълнителния Директор на СБАЛ по Онкология - ЕАД

По конкурс за „ПРОФЕСОР” в Област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт; Професионално направление: 7.1. „Медицина” по научната специалност „Онкология”, с шифър 03.01.46, обявен в ДВ, бр.41 от 31.05.2016 год., за нуждите на Лаборатория по микробиология на СБАЛ по онкология – ЕАД, при единствен кандидат, подал необходимите документи в законно установения срок на обявата и допуснат до конкурса – доц. Стефана Донева Събчева, дм

Доц. Събчева завършва МУ – гр. Ленинград /Петербург/, след което работи за кратко като лекар-ординатор. Началото на професионалната и кариера в областта на микробиологията е поставено през 1986 година. През 1987 година започва работа като ординатор – микробиолог към НОЦ /сега СБАЛ по онкология/, като завежда микробиологична лаборатория. От 1989 година досега е началник на микробиологична лаборатория, а от 2010 год. е и доцент. Ежедневната и работа в микробиологична лаборатория към СБАЛ по онкология е свързана с непрекъснатата клинично-диагностична и консултативна дейност на случаи за идентификация и интерпретация на микроорганизмите и тяхната чувствителност към антибиотици. Анализата и контрола на микробната резистентност, както и предотвратяването на нозокомиалните инфекции при онкологично болните е нейна първостепенна задача. Цялостната дейност на ръководената от нея микробиологична лаборатория е съобразена с Националния стандарт по микробиология и изискванията на съвременната микробиологична диагностика за трето ниво на компетентност.

Защитеният от нея през 2003 год. дисертационен труд, с който придобива образователната и научна степен „ДОКТОР” е на тема „Фенотипно и генотипно характеризирание на бета-лактамази с разширен спектър в клинични щамове

Enterobacteriaceae, изолирани от онкологично болни.” С това тя очертава едно от основните си направления на развитие в микробиологичната теория и практика.

Общ импакт – фактор от публикации в списания = 43.287

Впечатляващ е броя на цитиранията при кандидата. След направена справка в ЦМБ са намерени 48 цитации в български списания, 154 в системата SCOPUS и 56 в Web of Knowledge.

Научна и преподавателска дейност

Участва като научен ръководител на трима докторанти,

Има учебна натовареност която включва лекции, касаещи фенотипно и генотипно характеризирани на нови плазмидно-медирирани механизми на резистентност от семейство *Enterobacteriaceae* изолирани при онкологично болни. Важна част от лекционния курс са и тази за инфекциите при имунокомпрометирани болни, механизмите на батериалната резистентност, което е от голяма практическо значение в ежедневната практика. Значителен дял от преподавателската и дейност заемат и лекциите, посветени на практическото откриване на бета-лактамазите, както и практическото разчитане на бактериограми. Бета-лактамазната резистентност е един от основните механизми за блокиране действието на беталактамните антибиотици в клиничната практика. Значението на откриването на този механизъм е от изключително значение при онкологично болни, при които априори има компрометиране на имунния статус.

Участие в проекти и контактни групи по специалността

Доц. Събчева участва активно като член на контактна група за взаимодействие с Европейски център за контрол и профилактика на болестите. Основната и задача е свързана отново с антимикробната резистентност и употребата на антимикробни средства.

Членства в научни и професионални организации

Доц. Събчева е член на Българската Асоциация на Микробиолозите, Съюз на учените в България, член на ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) и член на Научния съвет на СБАЛ по Онкология

Седем пъти участва като член на научно жури за откриване на процедура и провеждане на защита за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”. Веднъж е член на жури по научната специалност „Онкология” и шест пъти по научната специалност „Микробиология”. Два пъти участва в научно жури за присъждане на академична длъжност „ДОЦЕНТ” по специалност „Микробиология”.

РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА НАУЧНИТЕ ТРУДОВЕ

на доц. д-р Стефана Донева Събчева, д.м.

| РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ | Включени в дисертацията | Включени в конкурса за „доцент” | Представени в конкурса за „професор” | ОБЩО |
|-----------------------------------|-------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|-----------|
| 1. Реални публикации | | | | |
| Статии на български | 4 | 17 | 16* | 37 |
| Статии на английски | 2 | 8 | 14 | 24 |
| Статии в български списания | 6 | 22 | 25 | 53 |
| Статии в международни списания | - | 3 | 5 | 8 |
| Общ брой публикации | 6 | 25 | 30 | 61 |
| [самостоятелен или първи автор] | [6] | [16] | [18] | [40] |
| [втори автор] | - | [7] | [9] | [16] |
| 2. Участия в научни форуми | | | | |
| в България | 6 | 11 | 31 | 48 |
| | 1 | 13 | 10 | 24 |

| | | | | |
|---|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| в чужбина | | | | |
| Общо | 7 | 24 | 41 | 72 |
| 3. Импакт фактор [IF] | | | | |
| Статии в списания с импакт фактор [IF от статии] | 2 [0,034] | 3 [9,468] | 5 [17,994] | 10 [27,496] |
| Резюмета в сп. с импакт фактор [IF от резюмета] | 1 [3,296] | - - | 3 [13,338] | 4 [16,634] |
| Общ импакт фактор [IF] | [3,330] | [9,468] | [31,332] | [44,130] |

* от които 1 в монография

В представените публикации специално внимание е отделено на механизмите на възникване на резистентност към антибиотици чрез хромозомна и плазмидна генетична детерминираност. Обстойно са проучени бета-лактамазите, тяхната класификация, типовете, механизмите на действие, методите за доказване, инхибиторите им. Обсъдени са и механизмите на резистентност към карбапенеми.

Научно - теоретичните приноси на Доц. Събчева са свързани с:

Нов механизъм на резистентност към аминокликозидите в изолати от *Pseudomonas aeruginosa* от онкологично болни, медиран от уникална за страната ни 4'-0-аденилилтрансфераза ANT(4')-IIb. Той е описан за първи път в страната и досега не са описани подобни шамове в други страни. Това определя аминокликозид-модификацията ензим ANT(4')-IIb като ендемичен за България. Освен това генът не е открит в други бактериални изолати. Ензимът притежава необичаен спектър: инактивира чрез модифициране амикацина и тобрамицина, но не и гентамицина, нетилмицина и дибекацина. Откриването на този механизъм има голямо практическо приложение при онкологично болни, като селектира подложените на антибиотично лечение с аминокликозиди болни.

С голяма практическа насоченост са и следващите два приноса в научно-практическата дейност на Доц. Събчева, а именно:

Описването на генетичния произход на QnrB протеина, който детерминира плазмидно-медирана хинолонова резистентност (ПМХР) в клинични щамове *Enterobacteriaceae*. Откриването на този протеин играе ключова роля за определяне на терапевтичното поведение при болни с уроинфекции от горепосочените щамове. Както е добре известно от клиничната практика някои антибиотици от хинолоновата група са избор на лечение при инфекции на долните пикочни пътища. Сред първите в света са проучванията и върху български щамове *Citrobacter freundii* на ПМХР, детерминирана от същия протеин. Установено е, че 4.3% (7/163) от ESBL-позитивните *Enterobacteriaceae*, изолирани от онкологично болни през 2000 г.- 2005 г. продуцират QnrB протеина, и че те съставляват 70% от ESBL-позитивните щамове *Citrobacter freundii*.

Проучванията и се насочват и към български щамове *Enterobacteriaceae* на ПМХР, детерминирана от AAC(6')-Ib-cr ацетилтрансферазата, които се явяват и като едни от първите в световен мащаб. Установено е, че 60.7% от ESBL-позитивните ентеробактерии, изолирани от онкологично болни през 2000 г.- 2005 г. продуцират аминокликозид-модифициращия ензим AAC(6')-Ib, който инактивира амикацина, тобрамицина, нетилмицина и канамицина. Половината от тези щамове притежават cr (ciprofloxacin) варианта на ензима AAC(6')-Ib-cr, който допълнително инактивира ципрофлоксацина и норфлоксацина. Чрез плазмиден анализ и генотипиране е доказано, че установената висока честота на cr варианта сред ESBL-позитивните *Enterobacteriaceae* се дължи на дисеминиране на *aac(6')-Ib-cr* гена чрез CTX-M-15 плазмиди.

Сред първите в света са проучванията върху:

Молекулярно-биологичните проучвания на пан-аминокликозидната резистентност, медирана от 16S рибозомни РНК метилтрансферази (16S-RMTases) в щамове *Enterobacteriaceae* от онкологично болни. Установено е, че първите 16S-RMTase-позитивни щамове възникват през 2001-2003 г. Чрез системен фенотипен скрининг, PCR и ДНК секвениране първоначално е установена пан-аминокликозидна резистентност свързана с *armA* метилазния ген в щамове от 6 вида *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* и *Klebsiella oxytoca*). Установено е, че всички 16S-RMTase-

позитивни щамове продуцират лактамази с разширен спектър (ESBLs) и, че съставляват около 22% от ESBL продуцентите, изолирани от онкологично болни. Доказано е, че *armA* гена е локализиран най-често в IncL/M плазмиди на множествена резистентност, които кодират резистентност и към триметоприма, сулфонамидите, стрептомицин-спектиномицина и β -лактамите, като е изяснено естеството на съответните гени - *dfxXII*, *sull*, *ant3*⁹ и *bla*_{TEM-1}, *bla*_{CTX-M-3}. Намереното разнообразие на бактериални видове и техни генотипове е доказателство, че разпространението на този тип резистентност се извършва предимно чрез генетично сродни плазмиди. Установено е, че бързото дисеминиране на полирезистентни бактерии, продуциращи едновременно *armA* метилтрансферази и CTX-M-3 ESBLs е свързано с Tn1548 транспозона.

Като описаните по-горе са и проучванията върху български щамове *Enterobacteriaceae*, експресиращи едновременно метилазни и плазмидно-медирирани хинолонови гени. Установено е, че 26% от 100 метилаза-позитивни щамове, изолирани от онкологично болни през 2004-2013 г. са и *aac(6')-Ib-cr*-позитивни, а 11% - са и *qnr*-позитивни. ПМХР, детерминирана от AAC(6')-Ib-cr ацетилтрансферазата е доказана в щамове *K. pneumoniae* (48%), *E. cloacae* (43%), *S. marcescens* (42%), *C. freundii* (43%) и *E. coli* (14%). ПМХР, детерминирана от *qnrB* гени е идентифицирана в щамове *E. cloacae*, *C. freundii* и *K. pneumoniae*, докато ко-продукция на QnrS и ArmA е установена само при *E. cloacae*.

Сред първите в света е направеното системно проучване върху български щамове *Enterobacteriaceae*, които продуцират едновременно карбапенемази и 16S рибозомни РНК метилтрансферази. Установена е ендемичната за страната комбинация от VIM-1 карбапенемаза и ArmA метилтрансфераза при 15/16 *Proteus mirabilis*, изолирани от онкологично болни през периода 2004-2013 г. Единичен щам *E. coli* продуцираше RmtB метилтрансфераза и NDM-1 карбапенемаза.

Описани са първите случаи на пан-аминогликозидна резистентност, медирирана от 16S рРНК метилтрансферази в европейски и японски щамове.

За първи път в литературата е описана продукцията на ESBL от клиничен щам *Escherichia hermannii*, изолиран от хемокултура на болна с рак на гениталиите. За първи път у нас е описана продукцията на PER-1 ESBL от *Providencia rettgeri* и продукцията на TEM-15 ESBL от *Enterobacter aerogenes*. Характеризирани са първите хромозомно-медирирани CMY-4 цефалоспориномицинови гени в клинични щамове *P. mirabilis*, изолирани от онкологично болни през 2000-2005 г..

Приноси с предимно национално значение и клинично приложение при онкологично болни:

За първи път у нас е описана продукцията на OXA-48 карбапенемаза в *K. pneumoniae* ST530, изолиран от болна с левкемия след усложнена с перитонит спленектомия. Доказано е, че кодиращият ген е локализиран в Tn1999.1 транспозон, който е част от необичаен 29-kb плазмид, трансфериран само чрез трансформация.

Описан е първият случай на уроинфекция, причинена от NDM-продуциращ *K. pneumoniae* щам, изолиран в онкологичната болница, както и първите случаи - в 2 други болници в София.

Направено е национално епидемиологично проучване на карбапенемаза-продуциращи *Enterobacteriaceae* в рамките на европейски надзорен проект за 2015 г. Установено е нарастване на NDM-, VIM- и KPC-продуцентите в национален мащаб.

За първи път в страната е направено дългосрочно системно проучване (1994-2015) чрез фенотипни и молекулярно-генетични методи на плазмидно-медираните ESBLs в клинично значими *Enterobacteriaceae*, изолирани от онкологично болни. Намерено е специфично разпределение на молекулярните типове ESBLs, което се различава съществено от това в другите страни.

За първи път у нас е установена продукцията на PER-1 ESBL от *Acinetobacter* spp. и продукцията на VEB-1 ESBL от *Pseudomonas aeruginosa*, изолирани от онкологично болни. В последвало национално проучване е установено широко разпространение на клинични щамове *P. aeruginosa*, продуциращи VEB-1 ESBL в българските болници. Доказана е интегронна локализация на *bla*_{VEB-1} гена в *P. aeruginosa*, което е основна причина за дисеминирането му сред изолатите от болни със злокачествени заболявания.

С особена роля е проучената роля на резидентната микрофлора в развитието на лъчевите мукозити, възникващи в хода на лъчелечението при болни със злокачествени тумори на главата и шията. Установено е съответствие между увеличаването на дозата на облъчване, засилването на тежестта на мукозита и нарастването на колонизацията на устната лигавица с Грам-отрицателни аеробни бактерии (ГОАБ) - *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* и *Acinetobacter* spp. Тези данни са основание за прилагането на локални препарати с активност към изолираните ГОАБ за провеждане на етиопатогенетично лечение на лъчевия мукозит.

Научно-практически приноси

1. Разработен е протокол за рутинно диференциране на бета-лактамазите и бързо откриване на ESBL при *Enterobacteriaceae* и неферментативни бактерии чрез използване на минимален брой антибиотични дискове, подходящ за приложение в лабораториите по клинична микробиология в страната.
2. Разработени са бързи методи за фенотипно откриване на OXA-48-позитивни/ESBL-негативни щамове *Enterobacteriaceae*, за фенотипно откриване AAC(6')-Ib-cr-продуциращи ентеробактерии, както и за фенотипен скрининг на бактерии продуциращи 16S рРНК метилтрансферази чрез рутинната антибиограма.
3. Направено е сравнително проучване на търговски методи с комбинирани дискове върху български щамове *Enterobacteriaceae*, продуциращи карбапенемази. Установено е, че някои от методите не откриват VIM-продукцията в щамове *S. marcescens*, и че нито един от методите не открива широко разпространените у нас VIM-продуциращи щамове *P. mirabilis*. Тези проучвания също допринасят в значителна степен за избора на антибиотично лечение при болни с подобни щамове, изолирани от урина.
4. Направено е сравнително проучване на критериите за откриване на ESBL продуценти, заложен в CLSI и EUCAST стандартите за определяне на микробна лекарствена чувствителност. Установено е, че европейският стандарт по-надеждно открива ESBL продуцентите в български щамове *Enterobacteriaceae*.
5. Проучена е етиологията на възпалителните усложнения при болни с различна локализация на злокачествените тумори и е потвърдена ролята на клинично-микробиологични проучвания на локално ниво за провеждане на адекватна антимикробна терапия.
6. Установена е антибиотичната чувствителност на полирезистентните бактерии, изолирани от болни с различна локализация на злокачествените тумори и са направени препоръки за съответна емпирична химиотерапия на причинените от тях инфекции.

Доц. Събчева е придобила научната степен „ДОКТОР”. В продължение на повече от 5 години заема академичната длъжност „ДОЦЕНТ”, през което време е и хоноруван преподавател. Представила е необходимите публикации в специализирани научни издания в областта на микробиологията, които не повтарят представените за научната степен „Доктор” и академичната длъжност „Доцент”.

Тя участва активно в учебно-преподавателската дейност на отдел Микробиология на НЦЗПЗ. Изнася периодично лекции в курсовете за следдипломно обучение, осъществява консултанска, методична и експериментално-организационна дейност на зачислените докторанти, специализанти и дипломанти.

Въз основа на обявените от Доц. Събчева приноси и основната и работа в здравно заведение за болнична помощ може да се каже, че тя е завършен микробиолог – експерт, с насоченост в областта на бела-лактамазната резистентност на бактериите към едни от най-често приложимите антибиотици. С познанията с в тази област тя допринася в значителна степен за правилното микробиологично диагностициране и съответно определяне на адекватно антибиотично лечение.

Направеният анализ в рецензията на научната, преподавателската и диагностично-лечебната дейност на доц. д-р Стефана Събчева показва, че кандидатът отговаря напълно на условията по чл.29 от ЗРАСРБ и качествените и количествени критерии за развитие на академичния състав посочени в раздел 3 и 4 на Правилника на СБАЛО-ЕАД, София за придобиване на академичната длъжност „ПРОФЕСОР”.

Всичко това ми дава основание напълно убедено да предложа на научното жури да избере доц д-р Стефана Донева Събчева дм, да заеме академичната длъжност „ПРОФЕСОР” в област 7.„Здравеопазване и спорт”, по професионално направление 7.1. „Медицина” и научна специалност по „Онкология”.

София,

24.10.2016 год.

Рецензент:

Проф. Красимир Нейков

