



**ДО ПРЕДСЕДАТЕЛЯ  
НА НАУЧНОТО ЖУРИ  
НАЗНАЧЕНО СЪС ЗАПОВЕД N 304/20/12/2021  
НА ДИРЕКТОРА НА НЦЗПБ**

**СТАНОВИЩЕ**

**от доц. д-р Росица Стефанова Вачева-Добревска, дм,мзм**

началник на лаборатория „Микробиология и вирусология“  
УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“ ЕАД, гр. София

член на научното жури, определено със заповед на директора на НЦЗПБ №304/20.12.2021г.

**ОТНОСНО:** дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ в област на висшето образование: 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление: 4.3. Биологически науки, Научна специалност: Микробиология

**на тема „Микробиологични проучвания върху нетуберкулозните микобактерии в България“**

**на Юлияна Асенова Атанасова,**  
докторант на самостоятелна подготовка към Отдела по микробиология на  
Националния Център по Заразни и Паразитни Болести, София

Научни ръководители:

**Проф. д-р Годор Веселов Кангарджиев, дмн, мзм**  
**Доц. д-р Елизабета Василева Бачийска, дм**

Декларирам, че нямам общи публикации и нямам  
конфликт на интереси от друг характер по смисъла  
на ал.1, т.3 и т. 5 от ДР на ЗРАСРБ с докторанта

Докторантът Юлияна Асенова Атанасова е завършила през 1991г. Биологическия факултет на Софийски университет „Св. Климент Охридски“, с диплома на магистър по биология. През 1994 г. специализира „Оценка въздействието на околната среда“ в Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ и Технически университет София. През 1993 г. започва работа в микробиологичната лаборатория на Специализирана белодробна болница „Цар Фердинанд I“ ЕООД, с. Искрец, като биолог. До 2005 г. работи последователно , като учител по „Биология и здравно образование“ в гимназия „Отец Паисий“, гр. Своге; експерт в Международен отдел на Държавна сортова комисия в Министерство на земеделието, горите и

аграрната реформа и като биолог в Българска академия на науките в Института по биоразнообразие и екосистемни изследвания. През 2005 г. постъпва на работа в Национална референтна лаборатория по туберкулоза, НЦЗПБ, където работи и до настоящия момент. Била е консултант по няколко програми по проблемите на туберкулозата в периода 2010-2018г.: „Подобряване на контрола на туберкулозата в България”, „Укрепване на Националната програма по туберкулоза в България” и „Подобряване на устойчивостта на Националната програма по туберкулоза“. Учасствала е в първото „Национално проучване на резистентността към противотуберкулозни лекарствени продукти в България”. Преминала е следните обучения във водещи институции в чужбина, по проблемите на туберкулозата, като: Institute of Virology, Georg-August Universität в гр. Гьотинген, Германия; в гр. Томск, Руска федерация; в Istituto Superiore di Sanita, в Супранационална референтна ТБ лаборатория, гр. Рим, Италия и в СЗО, гр. Копенхаген, Дания. През 2014г. е зачислена за докторантура на самостоятелна подготовка, с научен ръководител проф. д-р Тодор Кантарджиев, дмн и доц. д-р Елизабета Бачийска, дм , след хабилитирането ѝ.

Дисертационният труд е посветен на един изключително актуален , както за страната, така и в световен мащаб проблем- нетуберкулозните микобактерии (НТМ) . НТМ представляват важна група от екологично сапрофитни и потенциално патогенни бактерии, които могат да причинят сериозни микобактериози при хора и животни. Източниците на инфекции често остават неоткрити, с изключение на случаите на инфекции, пренасяни с вода, водопроводни инсталации в бита, а също така пренасяни в почвата патогени -сапронози. Понастоящем има нарастващ интерес към микобактериозите, диагностицирани при хора и при животни (особено прасета), причинени от видове НТМ, присъстващи в торфени блата, почва за саксии и др. Много клинично значими НТМ видове се разглеждат, като постоянни, периодични, преходни и случайни сапронози. НТМ присъстват и в прахови частици , в аерозол, като представляват сериозни рискови фактори по време на аерогенна инфекция в имунокомпетентни и имunosупресирани организми .Те са считани за опортюнистични патогени за хора и животни, срещани в околната среда, които се появяват със сериозно въздействие върху общественото здраве, особено при лица със синдроми на придобита имунна недостатъчност. Последните научни доказателства водят до преминаване на НТМ, от традиционни екологични организми, към сериозни патогенни микроорганизми , както при животните, така и при хората. При хората се приема, че факторите , на които се дължи това, са свързани главно с вируса на човешкия имунодефицит , пандемията на синдрома на придобитата имунна недостатъчност, а така също с нарастващия брой хора с някаква форма на имunosупресия поради терапия на онкологични заболявания, кортикостероидна терапия, инвазивни медицински процедури, трансплантирани пациенти и др. Както е известно, през последните години се наблюдава увеличение на мултирезистентната туберкулоза и се смята, че НТМ могат да бъдат фактор в този процес.

Въз основа на съществуващите литературни данни и факта, че този въпрос не е достатъчно проучен в страната към момента, считам, че дисертационният труд се отличава с особена актуалност и научна значимост за изясняване на един важен проблем на общественото здраве , при това с натрупване на сериозен брой научни резултати, свързани и обхващащи регионите на цялата страна, проучвани за продължителен период от време.

Представеният ми за становище дисертационен труд е написан на 164 страници и е оформен в съответствие с изискванията на Закона за развитие на Академичния състав в Р България, правилника за приложението му и Правилника на НЦЗПБ. Включва: въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и обсъждане, изводи, приноси, литература и приложения с публикации и участия в научни форуми на докторанта. Дисертационният труд съдържа 19 таблици, 44 фигури и.

В уводната част са представени актуалността на темата и мотивировката за разработване на дисертационния труд. Те са свързани с редица фактори водещи до увеличение на имunosупресираното население в глобален мащаб, като: увеличение на онкологичните, автоимунните и хроничните заболявания, увеличение на HIV/AIDS пациенти, диабетно болни, застаряващо население и др. и с отсъствието на цялостна информация, относно ситуацията с микробиологична диагностика на нетуберкулозните микобактерии (НТМ) в България.

В литературния обзор, който съдържа 307 литературни източника, от които 8 на кирилица и 299 на латиница, са анализирани класификацията, морфологията и физиологията на НТМ и тяхното значение за човешката патология.

Обхванати са всички аспекти, вкл. класифицирането на НТМ, според степента на биориск, роля на способността за образуване на биофилм, характеристика на генома, методи, лабораторна диагностика и т.н. В обобщение, изтъквайки значимостта на разглеждания проблем, са формулирани **целта** на дисертационния труд и конкретните задачи за реализацията ѝ: да се представи и оцени степента на изолация на НТМ видове от клинични проби в България, да се регистрират географските различия на територията на цялата страна и да се определи тяхната клинична роля. Начинът на представяне на литературния обзор, представя много добрата професионална информираност, задълбоченост и способност за оценяване на научна информация на дисертанта.

В **материали и методи** подробно са представени планът за реализиране на проучването, реализиран за един сериозен период от осем години 2010-2017, използваните в дисертационния труд материали и методи: класически фенотипни и PCR базирани – молекулярно-биологични методи (GenoType Mycobacterium CM/AS). Те са ясно онагледени с 15 фигури и 5 таблици. Подборът на научна цел, задачи, методи и цялостната организация и реализиране на дисертационния труд, свидетелстват за отличната подготовка на дисертанта, както и за висококompетентно ръководство на двамата научни ръководители.

Представените в дисертационния труд **резултати и техният анализ** са доказателство за много добрата теоретична и практическа подготовка на докторанта в областта на микобактериологията. В рамките на изключително обширно проучване в периода 2010-2017 г., са изолирани и идентифицирани 586 НТМ щамове. Преобладаващи са белодробните материали в 97% (n=567) сред пациенти със средна възраст над 47 години, като честотата сред мъжете е по-висока – 58,5% (n=343). Успешно е реализирано отдиференциране на изолатите на НТМ от *M. tuberculosis* complex, чрез прилагане на комплекс от фенотипни и имунохроматографски методи.

С използване на молекулярно генетичен метод на принципа на обратна хибридизация, щамовете са идентифицирани до вид НТМ във висок процент, а именно 80% от клиничните изолати, принадлежащи към род *Mycobacterium*. Най-често изолираните видове НТМ са: *M. gordonae* (17%), *M. lentiflavum* (15%), *M. fortuitum* (11%), *M. intracellulare* (9%), *M. chelonae* (8%) и *M. avium* (7%). Доминиращи през периода са били бавно растящите видове и докато *M. gordonae* и *M. lentiflavum* са

квалифицирани като контаминанти, то следващите по честота на изолация *M. intracellulare* and *M. avium* (представители на MAC групата) са най-често асоциирани с микобактериози при пациенти. Средното ниво на изолация на бързорастящите микобактерии в България е установено да е по-високо от това, в останалите европейски страни и по-близо до това в азиатските държави. Преобладава *M. fortuitum* (42%), който е доминирал в Северна и Южна България, следван от *M. chelonae* (32%), *M. peregrinum* (13%), *M. abscessus* (7%) и *M. mucogenicum* – (6%). Разпространението на НТМ е било с неравномерно разпределение на територията на цялата страна. Най-урбанизираните региони, като София, Пловдив и Варна са сред най-засегнатите. Приложени са два утвърдени метода – за определяне нивата на изолация на НТМ и за честота на микобактериозите. Отчита се, че и в двата случая тежестта на микобактериозите остава ниска в сравнение с туберкулозата и тенденцията е честотата на изолиране на НТМ е да се повишава. В дисертационния труд е установено, че в България изолацията на НТМ е силно свързана с възрастта, както и че по-често са засегнати мъжете. Анализът установява, също така, че има значително различие в разпространението на видовете НТМ между регионите Северна и Южна България, както и междустолицата и останалите населени места по региони.

**Приемам направените от докторанта изводи.** Интерпретацията на получените резултати е логична, като те са съответно сравнени с публикуваните в научната литература данни и интерпретации.

**Приемам приносите с научен характер:**

1. Принос на дисертанта е доказване разпространението на НТМ в клинични материали на пациенти в страната, като е установено, че те са съпоставими с най-често изолираните НТМ видове в Европа.

2. За пръв път е направена характеристика на видовете на НТМ изолирани от клинични материали в страната и е изготвен анализ на географското им разпространение в страната, както и картиране на най-често изолираните НТМ по области.

3. За точната видова идентификация на НТМ, са приложени молекулярни методи за линейна хибридизация.

4. С получените от дисертанта резултати е формирана база данни, с цел проследяване на тенденциите на разпространение на НТМ щамове по видове в страната и определяне на тяхното клинично значение.

**Приемам приносите с научно-приложен характер:**

1. Изработен е и въведен работещ алгоритъм при изолиране и определяне на НТМ видовете в България.

2. Установено е видовото разнообразие на асоциираните с човешката патология НТМ щамове в страната.

3. Чрез установяване на видовото разнообразие на асоциираните с човешката патология НТМ щамове, дисертантът дава своя принос и подпомага клиницистите в изработването им на терапевтична комбинация, съблюдавайки международните консенсуси за лечение на тези заболявания. В национален мащаб това предполага да подобри качеството на живот на засегнатите категории от българското население,

осигурявайки им продължаване на работоспособността и като цяло един по-здрав и пълноценен живот.

4. Направено е и изчисление на евентуалната заболеваемост от микобактериоза, при положение, че се приеме съответствието между пациент с изолат на НМТ и заболяване. Определена е като 1/ 100 000 души средно за периода 2010 – 2017 година.

5. При прилагане на микробиологичните критерии на ATS за разграничаване на възможно от вероятно заболяване, микобактериозата в страната за осемгодишния период се определя като 0,23/ 100 000 души.

6. Изготвена е първата биобанка с колекция от български клинично значими НМТ щамове.

Резултатите от проведените изследвания на докторанта, свързани с дисертационния ѝ труд са представени в пет публикации в реномирани научни списания, три от които са на английски език, а една е в списание с импакт фактор. Докторантът е първи автор в две от публикациите и втори автор в останалите три публикации. Резултатите са докладвани на девет научни форума: два международни и седем национални.

### **Заклучение**

Дисертационният труд на Юлияна Атанасова е задълбочено, широкомащабно изследване на важен, особено актуален проблем за общественото здраве , а именно проучване, представяне и оценка степента на изолация на НМТ видове от клинични проби в България, регистриране на географските различия на територията на цялата страна и да се определяне тяхната клинична роля. Изследванията са извършени с най-съвременни методи, прецизно и компетентно. Изложеното до тук, съответно методичните постановки, обемът и качеството на осъществените изследвания, теоретичният анализ, качеството на направените изводи и формулираните приноси, ме убеждават, че представеният ми за становище дисертационен труд напълно съответства на изискванията на ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ на НЦЗПБ за присъждане на научна и образователна степен „доктор“ в професионално направление: Биологически науки и научна специалност: Микробиология.

Давам висока, положителна оценка на докторската работа и предлагам на уважаемото научно жури, да присъди на докторанта Юлияна Асенова Атанасова образователната и научна степен „доктор“ в област на висшето образование: 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление: 4.3. Биологически науки, Научна специалност: Микробиология.

17.01.2022г.  
Гр. София

(Доц. д-р Росица Вачева-Добревска, д.м.)