

РЕЦЕНЗИЯ

на представения от д-р НИКОЛАЙ ЗЛАТКОВ КЪЛВАЧЕВ – редовен докторант в
лаб. „Кърлежово/векторно преносими инфекции”, сектор Арбовируси, НЦЗПБ,
**ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ОЗАГЛАВЕН „РАЗРАБОТВАНЕ И
УСЪВЪРШЕНСТВАНЕ НА RT-PCR СИСТЕМИ ЗА ДИАГНОСТИКА НА
НЯКОИ НАЙРО-, ХАНТА- И ФЛАВИ-ВИРУСИ” за получаване на
образователната и научна степен „Доктор” по научната специалност
„вирусология” с шифър 01.06.13**

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ: ДОЦ. Д-Р ИВА ХРИСТОВА, дм

НАУЧЕН КОНСУЛТАНТ: ДОЦ. Д-Р БОЖИН КАМАРИНЧЕВ, дмн

РЕЦЕНЗЕНТ: ПРОФ. Д-Р РАДКА АРГИРОВА, дмн, Зав. Лаб. „Херпесни и онкогенни
вируси”, Отдел „Вирусология”, НЦЗПБ,
съгласно Заповед №53 от 19.05.2011 на Директора на НЦЗПБ

Представеният ми за рецензиране труд е стандартно структуриран, написан на 147 страници, съдържа Въведение – 2 стр., Обзор на литературата – 35 стр., Цел и задачи – 2 стр., Материал и методи – 26 стр., Резултати и обсъждане – 42 стр. Отделно е обособена Обща дискусия – 6 стр., Декларация за оригиналеност (принеси) – 3 стр., Резюме на резултатите (изводи) – 2 стр. Приложени са публикации и участия в научни прояви свързани с дисертацията, Теоретично-практически курсове и стажове във връзка с дисертационния труд и обучението по вирусология, Списък на реализираните научни проекти във връзка с дисертационния труд – 1 стр., Списък на използваната литература – 10 стр., Резюме на дисертационния труд – 3 стр.

АКТУАЛНОСТТА на разработения дисертационен труд е безспорна, защото засяга разработване и въвеждане в диагностичната практика на молекуларно-биологични методи – PCR системи, които до момента въобще не са използвани у нас. А България е ендемичен район за ККХТ и ХТБС, а КЕ е най-разпространеното арбовирусно заболяване в Европа, нашия регион и България, като при това броят на заболелите бавно, но постоянно нараства. И трите изследвани вируса са причинители на тежки, често с фатален край, инфекции, които се отнасят към възникващите и нововъзникващите инфекции. Някои от тях могат да станат причина за разпространение на вътреболнични инфекции, както и да бъдат използвани за целите на биотероризма. А прилаганите към момента серологични методи - РСК, ИФМ, РН и РЗХА са нестандартизирани, невалидизирани и най-важното – за да се даде категоричен резултат, най-често са необходими двойни вирусни проби. Ясно е, че лечението се забавя, настъпват тежки не обратими прояви в организма, а ако става дума за тероризъм или вътреболнична инфекция – последните могат да завършат фатално преди въобще да е ясна диагнозата. И друго – изброените серологични методи характеризират единия от участниците в битката „вирус – хазиян (в случая човек)”, но не и състоянието и развитието на втория участник – вируса. Точно оттук идва важността на настоящата работа. **АКТУАЛНОСТТА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД ИДВА ИМЕННО ОТ СЪВРЕМЕННИЯ МЕТОДИЧЕН ПОДХОД КЪМ ВЕКТОР-ПРЕНОСИМИТЕ НАЙРО-, ХАНТА- И ФЛАВИВИРУСИ.**

ЛИТЕРАТУРНИЯТ ОБЗОР е обстоен, пълен, добре е подчертана връзката с клиничната симптоматика, много добре се познават постиженията на бълг. и световната

вирусология, както и историята на приложението на новите диагностични методи. Като цяло приемам литературния обзор без забележки.

ЦЕЛТА И ЗАДАЧИТЕ са поставени правилно, произтичат логично от литературните данни, диагностичните необходимости и изисквания, както и ситуацията у нас.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ - изрядно написана глава, може да служи за пример как се пише такъв материал. Отлично са описани методите, с които е възможна груповоспецифична и/или видово-специфична идентификация на отделните родове вируси. Всички методи са поднесени така, че да е възможно възпроизвеждането им и внушават достоверност и доверие.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ – много добре написан раздел. Основните постижения на автора в дисертационния труд са: разработените и внедрени (използвани и в момента) разновидности на PCR – техниките със собствени конструирани праймерни двойки за всеки от трите сегмента на вируса на ККХТ, малкия сегмент на хантавирус DOBV, както и тези за вируса на KE, новоизолираните и генетично охарактеризирани щамове ККХТ (4 броя), принадлежащи към линия V, където се обединяват изолати от Европа и Турция, бълг. щам хантавирус DOBV – V 36/10, най-близък до Добраша щамовете, изолирани в Гърция, сравнението между серологичните и молекулярно-биологични резултати от 194 проби. Прави впечатление, че освен този раздел има и „Обща дискусия“. Въпреки, че във всеки подраздел има кратко обсъждане на получените данни, одобрявам общата дискусия поради това, че на практика се борави с представители на три различни рода вируси, обединяващи се от факта, че се пренасят от членестоноги и в нея се прави логична връзка между вирусологичните резултати, епидемиологията на изучаваните вирусни инфекции у нас, както и сравняване на генетичните варианти на изучаваните български клинични изолати с подобни от близки и далечни географски локализации. Намерените еволюционни сходства са постижение, но и потвърждение на разпространението на тези вируси в тази част на света, както и сериозно допълнение към световните данни в това отношение, за което говорят и трите публикации в GENBANK. Намирам представените резултати и обсъждане за достатъчни и ясни като обем и описание. Основните приноси и постижения на автора са много добре формулирани в Декларацията му за оригиналност, която приемам с някои допълнения, посочени в „**КРИТИЧНИ БЕЛЕЖКИ**“. Приносите са от научен, методичен и практически характер, много добре онагледени с 16 таблици и 41 фигури – като тези, които представляват RT-PCR са в оригиналните си цветове и са безупречни. Важен принос с практически характер е и изготвената Инструкция за изпращане на клинични материали - стр. 49 – важен елемент за гарантиране на резултатите от изследването.

КРИТИЧНИ БЕЛЕЖКИ. В текста на дисертацията, а и в общата дискусия не се вижда никакво обсъждане на отрицателния резултат (не е открита ККХТ РНК) от 226-те пула кърлежи. Дали това има връзка с времето, мястото и сезона на събирането на кърлежите? Важен момент в общата дискусия е заключението, а и данните от табл.13 - сравнението между серологичните и молекулярно-биологичните методи. Това сравнение бих добавила към приносите – той не би бил възможен без да са разработени и внедрени разновидностите на PCR-техниките. Пълното съвпадение между серологичните и молекулярно-биологичните техники само на пръв поглед успокоява – серологичните методи изискват втора проба – 2 седмици след първата, която болните често не доживяват. Това е именно предимството на PCR-техниките - диагностициране в острата фаза на инфекцията, към него се добавя и времето за диагностициране, както и огромното му значение за лечението на инфекциите с тези вируси и тяхната профилактика. За мен това е важен принос, който би трябвало да намери място в Декларацията за оригиналност.

ИЗВОДИ: В изводите, макар и скромно, се подчертава приносния и оригинален характер на изследването. В извод N5 ясно се вижда предимството на PCR-техниките в острата фаза на инфекцията. Извод N6 показва филогенетичните връзки на новоизолираните щамове KKXT и хантавирус V 36/10 с обикновените циркулиращи вируси – този извод позволява да се говори за бълг. изолати. Целият дисертационен труд и изводите са предпоставка и откриват път не само към бърза диагностика, но и към задълбочено количествено изучаване на патогенетични механизми, свързани с изучаваните вируси – нещо, за което досега не сме и мечтали.

На места в текста има правописни грешки свързани с пунктуацията, но те не изменят и не омаловажават текста.

ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД. Д-р Николай Кълвачев има 13 публикации във връзка с дисертационния труд – 6 на бълг. език, 2 – на английски език в бълг. списания (C.R. de l Academie Bulgare des Sciences, Probl. Infectious and Parasitic Dis.) и 4 – на англ. език в чуждестранни научни списания. Две от международните списания са с IF – общо – 6,669. До момента са забелязани 15 цитата на 3 от публикациите в сериозни международни издания. Отделно са представени 3 публикации в GENBANK. Д-р Кълвачев е участвал в 13 национални и международни конференции, както и в 3 научни проекти, два от тях – финансирали от МУ-София, а третият – от ЕК по Оперативна Програма «Развитие на човешките ресурси». Тези факти са свидетелство за резултатна научна дейност, публикационна активност и обществена ангажираност към проблема.

АВТОРЕФЕРАТЪТ отразява пълно и точно съдържанието на дисертационния труд, публикациите, изводите и приносите. Добре и достатъчно онагледен, той дава ясна и концентрирана представа за извършената работа.

Имам лични впечатления от работата на д-р Кълвачев и с удоволствие отбелязвам неговата отзивчивост и компетентност. Наскоро в процеса на диагностициране, се убедих, че протоколите, описани в дисертационния труд, действително работят и се прилагат на практика.

В ЗАКЛЮЧЕНИЕ, дисертационният труд, представен от д-р Николай Кълвачев, има пълен и завършен вид, добре очертани приноси в научно, методично и приложно отношение, пряко отношение към инфекциозната патология и терапия чрез рязко ускоряване и усъвършенстване на диагностиката на тежките вирусни инфекции, преносими с кърлежови вектори. От изводите се виждат оригиналността и собствените приноси, които откриват път не само към бърза диагностика, но и към задълбочено количествено изучаване на патогенетични механизми, свързани с изучаваните вируси. Като добавим и забележителната публикационна активност на докторанта, предлагам на членовете на научното жури да присъдят по достойнство научната степен „доктор“ по научната специалност „вирусология“ – шифър 01.06.13.

София, 30.06.2011 г

Рецензент:

