

СТАНОВИЩЕ

от Доц. д-р Лилия Вакрилова, дм

Началник на Клиника по неонатология,

СБАЛАГ „Майчин дом“, Медицински университет, София

Относно дисертационен труд на тема:

ВЪТРЕБОЛНИЧНИ ИНФЕКЦИИ ПРИ НОВОРОДЕНИ – ЧЕСТОТА, РИСКОВИ ФАКТОРИ, ЕТИОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА И ИЗХОД

Автор: **ПРЕСЛАВА РАДОСЛАВОВА ГАЦЕВА** - докторант в редовна форма на обучение в докторска програма „Педиатрия“ към катедра Педиатрия, МУ гр. Плевен, в Област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт; Професионално направление 7.1. Медицина, Научна специалност „Педиатрия“ за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“. Съгласно заповед 1823 от 01.07.2025г. на основание ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ, чл. 2, ал (2) и ал. (3) от Правилника за развитие на академичния състав на МУ-Плевен и Решение на Академичния съвет (Протокол №2 от 30.06.2025г.) съм избрана за член на Научното жури и съм определена да изготвя становище.

Актуалност на темата. Вътреболничните инфекции (ВБИ, нозокомиални инфекции) са сериозен проблем в неонаталните интензивни отделения (НИО) и значим фактор за повишена заболяемост и смъртност сред новородените, удължен болничен престой и увеличени разходи. По литературни данни те варират в широки граници: 6 до 25% от популацията на НИО и обосновават нуждата от рутинни и нови методи за ранна диагностика. Това определя темата на настоящия дисертационен труд, разработен от Д-р Преслава Гачева, като актуална и със значима практическа стойност.

Обем на труда. Дисертацията съдържа 175 страници. Литературният обзор обхваща 42 страници - 24% от общия обем. Най-обширна е глава „Резултати и обсъждане“, която е 81 страници или 46% от общия обем на дисертацията. Резултатите са описани подробно и ясно в 22 таблици. Онагледяването включва 43 фигури. Книгописът включва 159 заглавия, 12 от които са на български автори и са свързани с темата на дисертацията. Цитираните източници са съвременни: 23% са от последните 5 години (2020-2025г), 47% са от периода 2010-2019г.

Глава I. Литературният обзор съдържа 5 раздела. Първият дефинира понятията ВБИ/нозокомиална инфекция/инфекция, свързана с медицинското обслужване и дефинициите на ВБИ според Център за контрол и превенция на заболяванията (CDC, Centers for Disease Control and Prevention), както и българските дефиниции според НАРЕДБА № 3 от 08.05.2013 г. за утвърждаването на медицински стандарт по превенция и контрол на ВБИ в България. Дискутира се увеличението на ВБИ, в частност на LOS, като резултат на нарасналата преживяемост на предтерминно родените деца с много и екстремно ниски тегло и гестационна възраст (г.в.) - ELBW, ELBW, които са подложени на продължително интензивно лечение и грижи на фона на незряла имунна система и редица предразполагащи към инфекция фактори. Обсъждат се вариантите и причинителите на LOS, разглеждат се и други тежко протичащи ВБИ, най-чести от които са: катетер-свързаните инфекции, вентилатор-асоциирани пневмонии (ВАП), уроинфекции, НЕК, перитонит, инфекции на хирургичното място. **Раздел 2** от литературния обзор е посветен на рисковите фактори за ВБИ при новородени: ниски тегло и г.в, перинатални рискови фактори, интензивната терапия и инвазивни процедури, пренатовареност на НИО, широкото, често необосновано приложение на антибиотици, водещо до селектиране на мултирезистентни щамове. **Раздел 3** е посветен

на етиологията на ВБИ в НИО. В **раздел 4** д-р Гацева прави анализ на методите за диагностика на ВБИ. Микробиологичните култури (кръв, секрети) дават бавни и не винаги точни резултати поради ниското микробно, което пък води до продължителна, често „профилактична“ антибиотична терапия и е предпоставка за гъбични инфекции. Анализират се клиничните прояви на инфекция, които при новородени, особено недоносени, са неясни. Комплекс от клинични признаци, оценени по стандартизиран начин, може да даде яснота за поставяна на диагноза „клиничен сепсис“. Направен е обзор на възможните лабораторни маркери за инфекция при новородени като се подчертава липсата на маркер с достатъчно висока чувствителност, специфичност и приемлива цена, поради което се търсят комбинации от маркери и се разработват предиктивни скали за прогнозиране на риска от неонатална инфекция. В **раздел 5** д-р Гацева разглежда проучванията върху ВБИ при новородени в България. Тук са цитирани редица български източници и проучвания относно ВБИ в НИО: LOS, вентилатор-асоциирани пневмонии, катетер свързан сепсис; клиничната симптоматика, методите за диагностика и лечение.

В **Глава II** д-р Преслава Гацева ясно формулира целта на дисертационния си труд: анализ на честотата, епидемиологичната структура, рисковите фактори, клиничните симптоми, профилактиката и диагностиката на нозокомиалните инфекции в „Звено за Интензивно лечение“ към Клиника по Неонатология на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“, Плевен. За постигане на тази цел тя си поставя **5 основни задачи** с точна формулировка.

Глава III „Пациенти и методи“.

Изследваният контингент обхваща всички новородени, постъпили в „Звено за Интензивно лечение“ (ЗИЛ) и лекувани в Клиниката повече от 72 часа за период от 2г. 6 месеца: 519 пациента, при 60 от които са изследвани комплекс от серумни биомаркери и е изготвен прогностичен модел за риск от LOS.

Разпределението на децата по групи в зависимост от етапа на проучване и различните задачи става ясно от фиг. 2. Дефинирани са критериите за основните групи: 1 – инфектирани, 2 – неинфектирани; подгрупите с индикаторни ВБИ: 1А с установен или 1В, без установен микробиологичен причинител. Пациентите, при които са изследвани новите маркери за инфекция, са разпределени в гр.А - симптоматични инфектирани (с клиничен и/или микробиологичен сепсис) и гр.В (симптоматични неинфектирани) и са сравнявани с контролна група 0 - асимптоматични пациенти. Изследваните нови биомаркери за инфекция са: IL-6, IL-8, PCT, ендокан (ESM-1).

Приложените изследователски методи – документални, лабораторни и статистически, са подробно описани в подразделение 2 на тази част.

Глава IV. „Резултати и обсъждане“ съдържа 5 раздела, които съответстват на поставените задачи. Обсъждане се прави във всеки раздел, като по този начин става ясна съпоставката на собствените резултати с тези от подобни проучвания.

По задача 1. Представени са резултатите за честотата и структурата на неонаталните ВБИ за изследвания период. Те са съпоставими с тези на други европейски и български проучвания, като според автора различията се дължат на различните критерии за оценка на ВБИ. Авторът установява, че значими предразполагащи фактори за ВБИ са ниското тегло, г.в. и продължителен болничен престой, дефицит на персонал и пренатовареност на звеното. В този раздел се обсъжда и нозологичната структура на ВБИ с положителна или негативна микробиология, в която водещи са сепсисът и ВАП. Сред потвърдените микробиологично ВБИ като най-чести причинители се доказват Грам негативни щамове (*Kl.pneumoniae* ESBL(+), *E.coli*), следвани от болнични щамове *Staph.spp*.

По задача 2 се анализират рисковите фактори за ВБИ в НИО. Тук отново се установява по-висока честота на инфектиране на пациентите в групите с по-ниски тегло и г.в. Други значими рискови фактори, установени от автора, са ИВК, асфиксията при раждане, апаратната вентилация (АВ, с инвазивен или неинвазивен режим) и нейната продължителност, ЦВК (в умбиликална вена) и периферни венозни канюли, продължителност на парентералното хранене (ПХ) или хранене през гастрална сонда, заболявания като анемия и БПД, провеждано АВ-лечение с 2 или повече препарата преди инфектиране. За всеки един от тези рискови фактори д-р Гацева прави съпоставка на собствените резултати с публикуваните в литературата. Сигнификантни прагови стойности имат седемте показателя: тегло, г.в, АВ, ЦВК, ПХ, ентерално захранване (ден след раждането), продължителност на АВ-лечение. Като недостатък на проучването д-р Гацева отчита липсата на данни за захранване с майчина кърма, която се явява протективен фактор срещу ВБИ.

По задача 3 се прави анализ на началните клинични симптоми на ВБИ, микробиологичните причинители, протичането, изхода и най-честите лабораторни отклонения. От клиничните симптоми с най-голям относителен дял са: невиреене, тегловен спад, следван от нужда от респираторна поддръжка или повишени кислородни нужди, апнея, диспнея. Направен е анализ на тежестта на заболяване, изхода и отражението им върху продължителността на болничния престой. Данните на автора показват, че най-честите лабораторни отклонения при диагностика на ВБИ са: абнормен I:T-index, следван от повишени стойности на С-реактивен протеин. Промените в левкоцитния и тромбоцитен брой са с по-ниско диагностично значение. Проучването показва, зависимост между причинителя на ВБИ и тежестта на заболяване по-тежко протичане или летален изход е налице при ВБИ, причинени от Е.коли, следвани от Клебсиела.

По задача 4 се изследват и анализират серумни биомаркери на възпалението – прокалцитонин, интерлекин-6, интерлевкин-8 и ендокан, като тяхната диагностична стойност се сравнява с рутинните лабораторни методи. Резултатите на автора доказват, че **РСТ** има висока чувствителност, специфичност и отрицателна прогностична стойност, поради което е препоръчително да бъде въведен в рутинно като част от скрининга за инфекции. Резултатите за **IL-6** също показват добра чувствителност (78%) и отрицателна прогностична стойност (87%). Сравнителният анализ по отношение на **IL-8** и **ендокан** не доказва статистически значима разлика между групите. Но се отбелязва, че са необходими повече проучвания в тази насока, тъй като данните от литературата ги определят като надеждни биомаркери за инфекция. Комбинираното изследване на индекса I/T и броя на тромбоцитите, паралелно с РСТ и IL-6 би довело до подобрена ранна диагноза на LOS.

По задача 5 д-р Гацева разработва и предлага прогностичен модел за оценка на риска и ранна диагностика на инфекциите, в частност за LOS – NeolInfectCalc с посочен в текста интернет адрес. Представени са примери за използване на NeolInfectCalc (фиг. 42 и 43) за изчисляване на прогнозния риск от развитие на ВБИ на база 4 кръвни показателя (РСТ, IL-6, I:T index, PLT) и на база 4 рискови/протективни фактори (ПХ-дни, БПД, Тегло при раждане). С въвеждане на съответните данни калкулаторът автоматично дава прогнозния риск за индикаторни ВБИ.

В резюме за Глава „Резултати и обсъждане“ може да се посочи, че са изследвани голям брой рискови за ВБИ фактори, значимостта на стандартни лабораторни и микробиологични показатели, както и нови възможности за ранна диагностика и прогноза на риска от ВБИ. Забележка: В обсъждането понякога излишно се повтаря информация, съдържаща се в литературния обзор. Като позитивна страна отчитам, че авторът е

наблегнал върху съответствията или противоречията на собствените данни и тези от литературата.

Глава V „Изводи“: съдържа 10 ясни и точни извода, отговарящи на установените резултати, оттам и на зададената в дисертацията цел. *Забележка:* Изводите могат да се групират в съответствие с поставените 5 основни задачи със съответни подточки.

Глава VI Приноси. Напълно съм съгласна и адмиравам представените приноси, подразделени на приноси с оригинален, научно-теоретичен и приложен характер, и са в съответствие с резултатите и изводите. Особено високо оценявам създаването на двата прогностични модела за изчисляване на вероятност от развитие на инфекция, обединени в инструмента NeoInfectCalc.

Глава VII Приложения: Първите 2 приложения представляват Клинична карта на пациента, съответно за наблюдателното проучване (по задачи 1 до 4) и за маркерите за диагностика на ВБИ (по задачи 4 и 5). В **Приложение 3** е списъкът с публикации на докторанта във връзка с дисертацията. Д-р Гацева представя списък от 3 публикации, в които е първи автор, 2 от тях са в реферирани и индексирани в Scopus и Web of Science списания; по 3 участия в наши и чуждестранни научни форуми. Част от дисертационния труд е научният проект „Маркери за ранна диагностика на ВБИ при новородени деца“, МУ –Плевен Вх. №D/2022г.

Критичните ми бележки са малко и са изложени в текста на становището в шрифт *Italic*. Те не повлияват високото качество на предложения дисертационен труд, осветляващ рисковите фактори и диагностични методи за ВБИ.

Авторефератът, като част от дисертационния труд, е изготвен по правилата и отразява добре изследвания материал, резултатите и изводите от проучването.

Считам, че представеният дисертационен труд, с приложените към него автореферат и публикации, отговарят на Правилника и изискванията на МУ- Плевен и имат качества и достойнства, предполагащи успешна защита и последващо присъждане на Д-р Преслава Радославова Гацева на образователната и научна степен “Доктор”.

01.09.2025 г.

На основание чл. 59 от ЗЗЛД

(Доц. д-р Лилия Вакрилова, дм)

Адрес и контакти:

Доц. Лилия Вакрилова, Клиника по неонатология, СБАЛАГ „Майчин дом“, София
ул. «Здраве» № 2, гр. София, 1431
email: lilia_vakrilova@mail.bg GSM 0887 857 297

POSITION

by **Assoc. Prof. Dr. Liliya Vakrilova, PhD**

Head of the Neonatology Clinic,

Specialized Obstetrics and Gynecology Hospital for Active Treatment "Maichin Dom",

Medical University, Sofia

Subject: NOSOCOMIAL INFECTIONS IN NEWBORNS – FREQUENCY, RISK FACTORS, ETIOLOGY, DIAGNOSIS AND OUTCOME

Author: **PRESLAVA RADOSLAVOVA GATSEVA** - PhD student in the doctoral program "Pediatrics" at the Department of Pediatrics, Medical University of Pleven, in the Field of Health and Sports 7; Professional field 7.1. Medicine, Scientific specialty "Pediatrics" for awarding the educational and scientific degree "PhD". According to Order No. 1823 of July 1, 2025, of MU-Pleven, and Decision of the Academic Council (Protocol No. 2, dated June 30, 2025), I have been elected as a member of the Scientific Jury and have been appointed to prepare a position.

Topic relevance. Nosocomial infections (NCI) are a serious problem in neonatal intensive care units (NICUs) and a significant factor for increased morbidity and mortality among newborns, prolonged hospital stays, and increased costs. According to literature data, the prevalence varies widely, ranging from 6 to 25% of the population in NICUs. This defines the topic of the current dissertation, developed by Dr. Preslava Gatseva, as relevant and of significant practical value.

The **literature review** spans 42 pages, accounting for 24% of the total volume. The most extensive is the chapter "Results and Discussion", which covers 81 pages or 46% of the total volume of the dissertation. The results are described in detail and clearly in 22 tables. The illustration includes 43 figures. The bibliography comprises 159 titles, >10 of which are authored by Bulgarian authors and relate to the dissertation's topic. The cited sources are contemporary, with 23% from the last 5 years (2020-2025) and 47% from the period 2010-2019.

Chapter I. The literature review contains 5 sections. The first one defines the concepts of NCI/infection related to medical care and the definitions of NCI according to the Centers for Disease Control and Prevention (CDC), as well as the Bulgarian definitions according to REGULATION No. 3 of 08.05.2013 on the approval of a medical standard for the prevention and control of VBI in Bulgaria. The increase of NCIs, in particular LOS in the NICUs, as a result of the increased survival of preterm and extremely low birth weight and gestational age (ELBW, ELBW) infants, who are subjected to prolonged intensive care and several predisposing factors, is discussed. The LOS and other severe NCIs are also considered, the most common of which are: catheter-related infections, ventilator-associated pneumonia (VAP), urinary tract infections, NEC, peritonitis, and surgical site infections. **Section 2** of the literature review is devoted to the risk factors for NCIs in newborns: low birth weight and gestational age (g.a.), perinatal risk factors, intensive care and invasive procedures, overload of NICUs, often unjustified use of antibiotics, leading to selection of multi-resistant strains. **Section 3** is devoted to the etiology of NCIs in the NICU. In **section 4**, Dr. Gatseva analyzes the methods for diagnosing NCI. Microbiological cultures (blood, secretions) give slow and not always accurate results, which in turn leads to prolonged, often "prophylactic" antibiotic therapy and is a predisposition for fungal infections. The clinical manifestations of infection are analyzed, emphasizing that in newborns, especially premature ones, they are often unclear. A complex of clinical signs can provide clarity for a diagnosis of clinical sepsis. An overview of possible laboratory markers for infection in newborns has been

made, emphasizing the lack of a single marker with sufficiently high sensitivity, specificity, and acceptable price, which is why combinations of markers are used and predictive scales are developed to predict the risk of neonatal infection. **In Section 5**, Dr. Gatseva examines the studies on NCIs in newborns in Bulgaria. A number of Bulgarian sources and studies are cited here: LOS, ventilator-associated pneumonia, catheter-associated sepsis; clinical symptoms, methods of diagnosis, and treatment.

In Chapter II, Dr. Preslava Gatseva clearly formulates the purpose of her work: analysis of the frequency, epidemiological structure, risk factors, clinical symptoms, prevention, and diagnosis of nosocomial infections in the NICU of the Neonatology Clinic at the University Hospital "Dr. Georgi Stranski", Pleven. To achieve this goal, she sets **5 main tasks** with a precise formulation.

Chapter III "Patients and methods".

The study population includes all newborns admitted to the Intensive Care Unit (ICU) and treated in the NICU for more than 72 hours for a period of 2.5 years: 519 patients, 60 of whom had a complex of serum biomarkers examined, and a prognostic model for LOS risk was prepared.

The distribution of infants into groups depending on the stage of study and the different tasks is presented in Fig. 2. The criteria for the main groups are defined: 1 – infected, 2 – uninfected; subgroups with NCI: 1A with an established or 1B, without an established microbiological agent. The patients in whom the new markers of infection were examined were divided into group A - symptomatic infected (with clinical and/or microbiological sepsis) and group B - symptomatic non-infected, and compared with the control group 0 - asymptomatic patients. The new biomarkers of infection studied are: IL-6, IL-8, PCT, and endocan (ESM-1).

The applied research methods – documentary, laboratory, and statistical are described in detail in this chapter.

Chapter IV. "Results and discussion" contains 5 sections that correspond to the tasks set. Discussion is done in each section, thus making it clear the comparison of one's own results with those of similar studies.

On task 1. The results on the frequency and structure of neonatal NCIs for the studied period are presented. They are comparable to those of other European and Bulgarian studies, and according to the author, the differences are due to the different criteria for assessing NCI. The author finds that significant predisposing factors for NCI were low birthweight, gestational age and prolonged hospital stay, staff deficiency, and overwork of the unit. This section also discusses the structure of NCI with positive or negative microbiology, in which sepsis and VAP were leading. Among the microbiologically confirmed NCIs, the most common agents were Gram-negative strains (*Kl. pneumoniae* ESBL(+), *E. coli*), followed by hospital strains of *Staph.spp*.

Task 2 analyzes the risk factors for NCI in the NICU. Here, again, there was a higher incidence of infection in patients with lower birthweight and g.a. Other significant risk factors identified by the author were intraventricular hemorrhage (IVH), intrapartum asphyxia, mechanical ventilation (MV, invasive or non-invasive) and its duration, central venous catheters (CVC, in the umbilical vein) and peripheral venous cannulas, duration of the parenteral nutrition (PN) or feeding through a gastric tube, diseases such as anemia and BPD, and 2 or more antibiotic courses before NCI. For each of these risk factors, Dr. Gatseva compares her own results with those published in the literature. Seven indicators showed significant threshold values: weight, gestational age, MV, CVC, PN, enteral feeding (day after birth), and duration of antibiotic treatment. As a disadvantage of the study, Dr. Gatseva notes the lack of data on breast milk feeding, which is a protective factor against NCI.

Task 3 analyzes the initial clinical symptoms of NCI, microbiological agents, clinical course, outcome, and the most common laboratory abnormalities. The most important clinical symptoms in the study were: failure to thrive, weight loss, followed by need for respiratory support or increased oxygen needs, apnea, dyspnea. It was found out that the most common laboratory abnormalities in the diagnosis of NCI were: abnormal I:T-index, followed by increased values of C-reactive protein. Changes in leukocyte and platelet counts are of lower diagnostic value. The study showed a relationship between the microbiological agent and the severity of the disease: more severe or fatal outcomes were present in NCI caused by *E. coli*, followed by *Klebsiella*.

In Task 4, serum biomarkers of inflammation: procalcitonin (PCT), interleukin-6, interleukin-8, and endocane, are examined and analyzed, and their diagnostic value is compared with routine laboratory methods. The author's results prove that **PCT** had high sensitivity, specificity and negative prognostic value; therefore, it is advisable to introduce it in routine as part of screening for infections. Comparative analysis of **IL-8** and **endocane** did not prove a statistically significant difference between the groups, but it is noted that more studies are needed in this direction, as the literature data identify them as reliable biomarkers of infection. A combined study of the I/T ratio and platelet count, in parallel with PCT and IL-6, would lead to an improved early diagnosis of LOS.

Under task 5, Dr. Gatseva develops and proposes a prognostic model for risk assessment and early diagnosis of infections, in particular for LOS – NeoInfectCalc, with a web address indicated in the text. Examples of the use of NeoInfectCalc (Figs. 42 and 43) for calculating the estimated risk of developing HAI based on 4 blood parameters (PCT, IL-6, I:T index, PLT) and based on 4 risk/protective factors (PX-days, BPD, Birth weight, Probiotic prophylaxis). By entering the relevant data, the calculator automatically gives the forecast risk for indicator HAIs.

In summary, it can be pointed out that a large number of risk factors for NCI, the importance of standard laboratory and microbiological indicators, as well as new opportunities for early diagnosis and prognosis of the risk of NCI have been studied. *Note: In the discussion, information contained in the literature review is sometimes unnecessarily repeated.* On the positive side, I note that the author has emphasized the correspondence or contradictions between his own data and those from the literature.

Chapter V "Conclusions": contains 10 clear and precise conclusions corresponding to the established results, hence to the goal set in the dissertation. *Note: The conclusions can be grouped according to the 5 main tasks with the corresponding sub-points.*

Chapter VI Contributions. I fully agree and admire the submitted contributions, divided into original contributions, scientific-theoretical and practical contributions, and they are in accordance with the results and conclusions. I especially appreciate the creation of the two prognostic models for calculating the likelihood of developing an infection, combined in the NeoInfectCalc tool.

Chapter VII Appendices: The first 2 appendices are a Clinical Chart of the patient, respectively for the observational study (under tasks 1 to 3) and for the markers for the diagnosis of NCI (under tasks 4 and 5). In **Appendix 3** is the list of publications of the PhD student in connection with the dissertation. Dr. Gatseva presents a list of 3 publications in which she is the first author, 2 of which are in refereed and indexed journals in Scopus and Web of Science; 3 participations at Bulgarian and 3 at foreign scientific conferences. Part of the dissertation is the scientific project "Markers for early diagnosis of NCI in newborn infants", Medical University – Pleven Ent. No D/2022r.

My critical remarks are few and are set out in the text in an *Italian* font. They do not affect the high quality of the dissertation, highlighting the risk factors and diagnostic methods for NCI.

The abstract, as part of the dissertation, is prepared according to the rules and reflects well the researched material, the results, and the conclusions of the study.

I believe that the presented dissertation, with the abstract and publications attached to it, meets the Regulations and the requirements of MU-Pleven and has qualities and merits that imply a successful defense and subsequent awarding of Dr. Preslava Radoslavova Gatseva to the degree PhD.

01.09.2025

На основание чл. 59 от ЗЗЛД
.....

(Assoc. Prof. Dr. Liliya Vakrilova, PhD)

Address and contacts:

Assoc. Prof. Liliya Vakrilova, Clinic of Neonatology, Specialized Obstetrics and Gynecology Hospital for Active Treatment "Maichin Dom", Sofia

Zdrave 2 str, Sofia. Sofia, 1431

email: lilia_vakrilova@mail.bg

GSM +359 887 857 297