

Рецензия
на дисертационен труд

**Жълтеница при доносени новородени деца – честота,
етиология, профилактика, проследяване**

Автор: **Д-р Татяна Димитрова Итова**

Рецензент: **Доц. д-р Христо Мумджиев, дм**
Началник на Клиника по неонатология,
УМБАЛ „Проф. д-р Ст. Киркович” - АД, гр. Стара Загора,
Тракийски Университет – Стара Загора, Медицински Факултет

Относно избора на темата.

Жълтеницата е един от най-честите клинични проблеми при доносените новородени деца. В преобладаващата си част тя е транзиторна и е съчетана изява на физиологичните процеси на следродова адаптация на нивата на хемоглобина, чернодробните функции (ензимни, синтетични, екскреторни), храносмилането и др. В по-редки случаи при доносените новородени се изявяват патологична и/или пролонгирана жълтеници, които могат да са симптоми на сериозна подлежаща патология. Признаците на патологичната жълтеница са известни, като най-честите са: анамнеза за анемични заболявания или жълтеници в семейството, начало на иктера преди 24-ия час или след 4-5-ия ден, наличие на пролонгиран иктер, стойности над 220-240 $\mu\text{mol/l}$, преобладаване на директния билирбин, патологична оцветка на урината и изпражненията, патологичен оттенък на жълтеницата, наличие на хепато-спленомегалия и др. Макар и известни, групите заболявания с

жълтеница у новороденото са доста, а описаните по-горе симптоми твърде неспецифични. Това обяснява защо установяването на точната диагноза понякога изисква време и затруднява даже опитни клиницисти, ползващи съвременни лабораторни методи. От особено значение е и факта, че изявата на жълтеницата търпи развитие в първите дни след раждането, когато ангажирани с проследяване на детето са не само лекарите в неонатологичните звена, но и последващите общопрактикуващи лекари и специалистите от доболничната помощ. Задачите на здравната система по отношение на жълтениците у новороденото могат да се обобщят в следните направления:

1. Отличаване на патологичната от физиологичната жълтеница, както и от състоянията на пролонгиран иктер (напр. жълтеница от майчина кърма), които са с доброкачествен ход и не изискват лечение.
2. Точно диагностициране на редките случаи, в които жълтеницата е изява на тежко заболяване.
3. Своевременно лечение на тежките жълтеници и профилактика на рядката понастоящем билирубинова енцефалопатия.

Решаването на тези задачи не винаги е лесно и изисква, индивидуална информираност и отдаденост на всички нива на медицинския персонал, обслужващ новороденото. Необходимо е добро функциониране и бързо взаимодействие на звената от здравната система, тъй като решаването на проблеми при новородените често се извършва в условията на спешност.

Настоящата дисертация **„Жълтеница при доносени новородени деца – честота, етиология, профилактика, проследяване”** цели проучване на честотата, етиологията и динамиката на индиректната хипербилирубинемия у доносени деца, ефектът от профилактичното приложение на пробиотични щамове върху еволюцията ѝ, както и отражението на пролонгираната неонатална жълтеница върху физическото и нервно-психичното развитие до 6 месечна възраст.

Представя ни се един важен научно-практически проблем, винаги актуален и втъкан в ежедневието на лекарите, занимаващи се с новородени деца и малки кърмачета. Акцентите на настоящия научен труд са: 1. Установяване на честотата и етиологичната структура на патологичния и пролонгиран иктер. 2. Изучаване влиянието на демографски и перинатални фактори върху изявата на жълтениците при доносени деца. 3. Отражение на пробиотичното приложение върху честотата и протичането на жълтениците. 4. Проследяване на динамиката на общия билирубин при доносени с цел изработване на номограма. 5. Проследяване на физическото и НПР до 6 месечна възраст при деца с пролонгиран иктер. Тези

теми, обособени като отделни задачи, са развити след обстоен анализ на особеностите на жълтеницата в неонаталния период: обмяна, класификация, рискови, фактори, методи за лечение и профилактика и др.

Обем на труда. Дисертацията съдържа 176 страници. Литературният обзор обхваща 46 страници - 26% от общия обем, глава „Материал и методи” – 10 стр., глава “Резултати и обсъждане” е 72 страници (41% от общия обем), като обсъждането последва изнесените резултати по отделните задачи.

Книгописът включва 306 заглавия. От тях на кирилица са 14, като 11 са на български автори. Цитирани са 6 български автори, публикували в последните 5 години. Сред българските публикации четири са обзори на проблема на неонаталната жълтеница, а три обсъждат особеностите на чревната микробиота у новороденото и въздействието върху нея на про и постбиотиците – проблем особено дискутиран понастоящем. Публикациите по конкретната тема на дисертацията за жълтениците у доносени деца – патологични и пролонгирани в нашата литература са единични, предимно глави в учебници.

Ползваната литература е съвременна, като 84 от общо 306 публикации (27%) са от последните 5 години. Цитираните чужди данни коректно са свързани с имената на авторите им и при проверка се намират в базите данни. Резултатите са описани подробно, като е наблегнато на графичното представяне на резултатите, отразени в 46 цветни фигури, илюстриращи данни, изнесени в 26 таблици. В двете приложения са изведени ползваните две анкетни карти, съответно за нивата на билирубина и за психомоторното и физическото развитие на обследваните деца.

Литературният обзор (Глава II) съдържа няколко подраздела. Всеобхватно и стегнато са отразени обмяната на билирубина у новороденото, класификацията на неонаталните жълтеници, съществуващите методи за измерване и номограми. Подробно са описани рисковите фактори за развитие на иктер, както и методите за лечение и профилактика на жълтениците у новороденото. Не са пренебрегнати основополагащи трудове от 30-те и 60-те години, описващи същността на феталната еритробластиоза (Diamond LK et al. 1932, 1947.), фототерапията като лечебен метод (Cremer RJ et al. 1958), първото описание на жълтеница от майчина кърма от 1964г. Задълбочено са изучени трудовете на Bhutani VK и Maisels MJ, от края на XX и началото на XXI век, определящи съвременното поведение при жълтеници у новороденото. Ползваната литература може да бъде разделена на такава, описваща жълтениците (222 статии, от които 56 от последните 5 години), описващи микрофлората и въздействието на пробиотиците върху жълтеницата (31

и 5 от последните 5 години) и 28 статии, описващи частни проблеми, като напр. изявата на жълтеници при уроинфекции у новороденото. Литературният обзор е насочен към темата на дисертацията без да е разводнен с излишни публикации. Подробно, върху четвърт от литературния обзор са описани методите за лечение и профилактика на жълтениците у новороденото.

Глава III е отредена на **Цел и задачи**. Формулирана е следната цел:

„Да се проучи при доносени новородени честотата, етиологията и динамиката на неонаталната жълтеница, дължаща се на индиректна хипербилирубинемия, да се оцени ефектът от профилактичното приложение на пробиотични щамове върху еволюцията ѝ и да се проследи влиянието на пролонгираната неонатална жълтеница върху нервно-психичното развитие до 6 месечна възраст.“

Целта е в съответствие със заглавието на труда и логично го уточнява: изследват се индиректните хипербилирубинемии у доносените новородени и въздействието на пробиотични щамове върху протичането им. Поставените 5 задачи, цитирани по-горе, са ясни и конкретни и способстват постигането на поставената цел.

Материалът и методите на изследване са разгледани в глава IV.

Проучването е ретро и проспективно и е проведено лично от дисертанта в болницата на основната му месторабота – УМБАЛ „Медика Русе“ в периода 2017-2020г. Налице е необходимото одобрение за провеждане на изследването от Комисията по медицинска етика към МУ-Плевен и УМБАЛ „Медика Русе“. Представеният окончателен текст е съобразен с направената от мене препоръка в главата „Материал и методи“ да намери място описанието на контингента обследвани деца, критериите за подбор на обектите на проучване, както и групирането на пациентите съобразно вида на неонаталната жълтеница, механизма на раждане, начина на хранене, пол, тегло и гестационна възраст при раждане. От табл. 6 е видно, че новородените на смесено хранене са изключени от проучването, а обекти са само изключително кърмените или тези, хранени само заместители на кърмата. Вероятно това е направено с цел да се обособят по-добре отделните групи, но пък е свързано с изключване на една част от новородените, или с нежелания им бърз преход към изкуствено хранене.

На Фиг 1.1 (глава „Резултати“) е отразен подборът на обследваните деца, който е 919, първоначално обхванати, от които са отпаднали 65 деца, които са с

г.в. под 37 г.с. или тегло под 2500гр. Считам че критерият телесна маса не е следвало да се има предвид, тъй като общоприетата дефиниция за доносени деца касае само гестационната възраст между 37 и 42 г.с. Причина за включването на критерия „телесна маса“ вероятно се обяснява с наличието му в наши нормативни и работни документи, като клинични пътеки и др. За съжаление в тях, а и в практиката ни, разбирането за значимостта на показателя гестационна възраст е недостатъчно. Изключването от проучването на доносени деца (37-42 г.с.) с ниска телесна маса (<2500g) би могло да повлияе, в известна (макар и малка) степен, резултатите. Прави впечатление и сравнително големият брой (283 новородени) отпаднали от проучването, поради непълна информация. Обекти на проучването остават 566 новородени, преценени като достатъчен брой за постигане на сигнификантни резултати. Те са подразделени на групи, съответно: 372 деца с патологична, 227 с физиологична и 82 с пролонгирана жълтеници. Тъй като общият брой надхвърля 566, вероятно това се дължи на факта, че част от децата са едновременно и с патологична и с пролонгирана жълтеница, но това не е упоменато изрично в текста.

Основно внимание в тази глава е обърнато на диагностичните методи, прилагани при неонатални жълтеници. Подробно е описана транскутанната билирубинометрия като метод за оценка на жълтениците у новороденото. Съответствието и верифицирането на показанията на транскутанните и кръвните измервания на билирубина са отразени на табл. 7, като не е установена статистически значима разлика в стойностите на билирубина, измерени по двата метода (с едно изключение, P е ≤ 0.001). Следва да се отбележи, че транскутанното измерване на билирубина е скринингов метод за отсяване на децата с патологичен иктер, а решението за евентуално лечение се взема след изследване на кръвна проба. Ограниченията на транскутанното изследване са оценени от автора а именно: значение на кожната зона, която се изследва, приложение на фототерапия, като е направено нужното резултатите да са максимално достоверни (калибровка, трикратно измерване и др). Следва да се има предвид, че за точността вероятно има значение на вида на апарата, тъй като в практиката се ползват такива от различни производители. Независимо от тези ограничения, считам че резултатите които са представени могат да бъдат приети за достатъчно достоверни и съответно да бъдат обсъждани.

За анализ на резултатите са ползвани обичайни и утвърдени статистически платформи и методи. Не е упоменато дали при статистическата обработка е ползвана помощта или консултацията на квалифициран статистик.

Глава V. „Резултати” е разделена на 5 части, съдържащи резултатите (с последващо обсъждане) на всяка от поставените 5 задачи. По Задача-1 се установява, че в етиологичната структура на патологичните жълтеници водещи са кръвноруповата несъвместимост (предимно ABO) и интраамниотичната инфекция, съответно с 35.9% и 23.2% от описаните случаи. Водеща причина за пролонгиран иктер е изключителното кърмене (57% от случаите). В нашата литература терминът, описващ това състояние е „жълтеница от майчина кърма” (англ. Breastmilk jaundice)(Г. Панчев, „Жълтеници у новороденото и малкото кърмаче”, 1993г. ИК Вега-Диа- София; Неонатология, 2018, Лаксбук). Добре би било и да се спомене, че тя следва да се отличава от „жълтеницата при кърмени деца” (англ. Breastfeeding Failure Jaundice), която се изявява с пролонгиран иктер предимно при недоносени, които се кърмят, но приемат недостатъчно кърма. (Fanaroff and Martin’s Neonatal-Perinatal Medicine, 11th ed. Elsevier, 2020).

Задача 2 със състои в изследване влиянието на демографски и перинатални фактори върху изявата на патологична или пролонгирана неонатална жълтеница. Резултатите са отразени подробно (върху 27 страници) и адекватно онагледени. От клинично значение е твърдението, че „Съчетанието на различни фактори – вагинално раждане, по-малка г.в., по-ниско тегло, асфиксия, по-млада възраст на майката, патология на бременността (заплашващо преждевременно раждане, инфекция на половата и отделителната системи), изключително кърмене, е предпоставка за изява на хипербилирубинемия при новородените”. От изводите по тази задача прави впечатление установения протективен ефект на прееклампсията и хипертонията по отношение на хипербилирубинемията.

Динамиката на общия билирубин до достигане на референтни граници се изследва съобразно Задача 3. В резултат от проведени общо 2636 транскутанни измервания на билирубина (1685 в болнични и 951 в амбулаторни условия) са усреднени стойностите на билирубина за първите 5 дни, 14-ия и 28-ия ден. Въз основа на тези данни авторът изработва номограма на транскутанния билирубин за доносени деца в неонаталния период (Фиг 3.3), която има научно-приложно значение. Клинично значим е и установеният от дисертанта факт, че нарастване на билирубина над 4.3 $\mu\text{mol/l/h}$ на 3-ия ден е предпоставка за пролонгиране на жълтеницата.

Задача 4 проучва ефектът от профилактичното приложение на пробиотици за превенция на неонаталната жълтеница. Следва да се отбележи, че макар броят на проучванията върху многобройните ефекти на пробиотиците да нараства лавинообразно, по-голямата част от тях имат множество ограничения. Затрудненията идват от голямото разнообразие от пробиотични щамове и техните

комбинации, прилагани в състава на млеката за кърмачета, или като хранителни добавки, или и двете заедно. В настоящето изследване са включени 3 пробиотични щама: Лактобацилите *Rhamnosus* и *Reuteri*, както и *Bifidobacterium animalis*, прилагани перорално, като добавка за 5 и 30 дни. по 5 капки. Изключение прави група Е (табл. 4.1) където 30 дни на децата е давано по 100 мл мляко за кърмачета, съдържащо *L.Reuteri*. Не е изрично упоменато, че ползваните стандартни формули не съдържат други пробиотици, с изключение на група G. Дисертантът установява статистически значими разлики в нивата на билирубина, като те са по-ниски през първите 5 дни при новородените приемащи пробиотици, в сравнение с тези, получаващи стандартна формула без пробиотик. Подобни са резултатите и в групите D,E F и G, когато пробиотикът е прилаган 30 дни. Дисертантът заключава че, профилактичната употреба на Лактобацилите *Rhamnosus* и *Reuteri*, както и *Bifidobacterium animalis* значително намаляват честотата и продължителността на неонаталната жълтеница, като този ефект е най-значим за *Bifidobacterium animalis*. Според мене добре би било да се споменат фабричните наименования на прилаганите препарати, тъй като различните производители, предлагащи един и същ пробиотик, обосновават безопасността и ефикасността му с различни, често собствени проучвания, които са с различна стойност. Проблем при обследване ефекта на пробиотиците е липсата на стандартизация на препаратите относно: количеството съдържащи се в 1 доза от препарата микроорганизми, трайността на препарата, приложението на мултикомпонентни препарати и др. В резултат от това рандомизираните проучвания по въпроса са единични. Цитиран от дисертанта автор (№ 263 Teran, 2021) заключава, че липсват ползи или икономическа изгода от приложението на един от разпространените пробиотици – *L. Reuteri*. Повечето автори изтъкват необходимостта от допълнителни проучвания относно влиянието на пробиотиците върху протичането на неонаталната жълтеница. Неслучайно липсва и официална позиция по въпроса от страна на ESPGHAN.

При обследване на физическото и нервно-психическото развитие (задача 5) се установява очаквана връзка между неадекватният тегловен прираст и пролонгиране на неонаталната жълтеница, а КоР при децата с пролонгиран иктер е значимо по-нисък, в сравнение с тези с физиологичен иктер, но само в течение на първите 6 месеца.

Удачни са приложените към обсъждането на всяка отделна задача заключения.

Глава VI „Изводи“ съдържа 5 извода, показващи изпълнението на поставените задачи, а оттам и на зададената в дисертацията цел. Извод № 2 дефинира най-важните фактори, увеличаващи риска от развитие на патологична жълтеница. Оптимистичен е извод № 5, който установява че прогнозата на пролонгираният иктер е благоприятна в 96.7% от случаите.

Съгласен съм с описаните в **Глава VIII** приноси. Особено ценни са приносите с научно-приложен характер, сред които е предложената номограма за нивата на транскутанния билирбин в неонаталния период. Наблюденията относно ефекта от приложението на пробиотици за профилактика на жълтеницата изискват допълнително уточнение и конкретизиране.

Авторът представя 4 публикации, свързани с темата на дисертационния труд, от които 3 са в чуждестранни списания, 5 съобщения на чуждестранни научни форуми и 4 участия на научни форуми у нас.

Критичните ми бележки са изложени в текста на рецензията. Те не повлияват съществено качеството на предложеният дисертационен труд, осветляващ изчерпателно проблема на жълтениците при доносени новородени деца.

Считам, че представеният дисертационен труд има качества и достойнства, предполагащи успешна защита и последващо присъждане на Д-р Татяна Димитрова Итова на образователната и научна степен “Доктор”.

На основание чл. 59 от ЗЗЛД

19.10.2023г.

(Доц. д-р Христо Мумджиев, дм)

**Review
of dissertation**

**Jaundice in full-term newborns –
frequency, etiology, prophylaxis, follow-up**

Author: **Dr. Tatyana Dimitrova Itova**

Reviewer: **Assoc. Prof. Dr. Hristo Mumdzhev, MD, PhD**
Head of Neonatology Clinic,
University Hospital "Prof. Dr. St. Kirkovich" Stara Zagora,
Trakia University – Stara Zagora, Faculty of Medicine

About choosing the theme.

Jaundice is one of the most common clinical problems in full-term newborns. In its predominant part, it is transient and is a combined manifestation of the physiological processes of postpartum adaptation of hemoglobin levels, liver functions (enzymatic, synthetic, excretor), digestion, etc. In rare cases, full-term newborns have pathological and/or prolonged jaundice, which might be a symptom of serious underlying pathology. The most common signs of pathological jaundice are: history of anemic diseases or jaundice in the family, onset of jaundice before the 24th hour or after the 4-5th day, presence of prolonged icterus, values above 220-240 $\mu\text{mol} / \text{l}$, prevalence of direct bilirubin, pathological discoloration of urine and feces, pathological tint of jaundice, presence of hepato-splenomegaly, etc. Although known, the groups of diseases with jaundice in the newborn are quite a lot, and the symptoms described above are non-specific. This explains why establishing an accurate diagnosis sometimes takes time and makes it even difficult for the experienced clinician using modern laboratory methods. Of particular importance is the fact that the manifestation of jaundice develops in the first days after birth, when not only doctors in the neonatal units are engaged in tracking the child, but also

subsequent general practitioners and outpatient specialists. The tasks of the health system with regard to jaundice in the newborn can be summarized in the following directions:

1. Distinguishing pathological from physiological jaundice, as well as from conditions of prolonged icterus (e.g. jaundice from breast milk) that are benign and do not require treatment.
2. Accurate diagnosis of cases in which jaundice is a manifestation of a serious disease.
3. Timely treatment of severe jaundice and prevention bilirubin encephalopathy.

Solving these tasks is not always easy and requires individual awareness and dedication at all levels of medical personnel serving the newborn. Timely intervention from all parts of the health system is necessary, since solving problems in newborns is often carried out as urgency.

The present dissertation "**Jaundice in full-term newborns – frequency, etiology, prophylaxis, follow-up**" aims to study the frequency, etiology and dynamics of indirect hyperbilirubinemia in full-term children, the effect of prophylactic application of probiotic strains on its evolution, as well as the impact of prolonged neonatal jaundice on physical and neuropsychological development up to 6 months of age.

We are presented with an important scientific and practical problem, which is always on the agenda and woven into the daily life of doctors dealing with newborn children and young infants. The highlights of this scientific work are: 1. Establishing the frequency and etiological structure of pathological and prolonged jaundice. 2. Study the influence of demographic and perinatal factors on the manifestation of jaundice in full-term children. 3. The impact of probiotic administration on the frequency and course of jaundice. 4. Tracking the dynamics of total bilirubin in full-term patients in order to produce a nomogram. 5. Follow-up of the physical and neuropsychological development up to 6 months of age in children with prolonged icterus. These topics, differentiated as separate tasks, are developed after a thorough analysis of the peculiarities of jaundice in the neonatal period: exchange, classification, risk, factors, methods of treatment and prevention, etc.

Structure of the dissertation. The dissertation contains 176 pages. The literature overview covers 46 pages - 26% of the total volume, chapter "Material and Methods" - 10 pages, chapter "Results and discussion" is 72 pages (41% of the total volume), and the discussion follows the results on the individual tasks.

The work includes 306 titles. Of these, 14 are in Cyrillic, 11 of which are by Bulgarian authors. Six Bulgarian authors, who have publications in the last 5 years, have been cited. Four of those publications are overviews of the problem of neonatal jaundice, and three discuss the peculiarities of the intestinal microbiota in the newborn and the impact of pro and postbiotics on it – a problem especially discussed at present. Publications on the specific topic of the dissertation on jaundice in full-term children – pathological and prolonged in our literature are single, mostly chapters in textbooks.

The literature used is contemporary, with 84 out of 306 publications (27%) from the last 5 years. The cited foreign data are correctly related to the names of their authors and can be found in the databases when checked. The results are described in detail, emphasizing the graphical presentation of the results reflected in 46 colorful figures illustrating the data given in 26 tables. In both applications are displayed the two questionnaires used, respectively for the levels of bilirubin and for the psychomotor and physical development of the examined children.

The literature overview (Chapter II) contains several subsections. The metabolism of bilirubin in the newborn, the classification of neonatal jaundice, existing methods of measurement and nomograms are presented comprehensively and concisely. The risk factors for the development of icterus are described in detail, as well as methods of treatment and prevention of jaundice in the newborn. Pivotal studies from the 1930s and 1960s describing the nature of erythroblastosis fetalis have not been overlooked (Diamond LK et al. 1932, 1947,), phototherapy as a method of treatment (Cremer RJ et al. 1958), the first description of jaundice from breast milk from 1964. The works of Bhutani VK and Maisels MJ, from the end of the XX and the beginning of the XXI century, defining the modern behavior of jaundice in the newborn, have been thoroughly studied. The literature which is used can be divided into parts describing the jaundice (222 articles, of which 56 from the last 5 years), describing the microflora and the impact of probiotics on jaundice (31 and 5 of the last 5 years) and 28 articles describing private problems, such as the manifestation of jaundice in urinary tract infections in the newborn. The literature overview is focused on the topic of the dissertation without being diluted with redundant publications. In detail, a quarter of the literature review describes the methods of treatment and prevention of jaundice in the newborn.

Chapter III is assigned to **Purpose and Objectives**. The following objective is formulated:

"To study in full-term newborns the incidence, etiology and dynamics of neonatal jaundice due to indirect hyperbilirubinemia, to assess the effect of prophylactic administration of probiotic strains on its evolution, and to trace the influence of prolonged neonatal jaundice on the neurophysiological development up to 6 months of age."

The aim is in accordance with the title of the work and logically specifies it: indirect hyperbilirubinemia in full-term newborns and the impact of probiotic strains on their course are studied. The 5 tasks cited above are clear and specific and contribute to the achievement of the set goal.

The material and research methods are discussed in Chapter IV. The study is retrospective and prospective and was conducted personally by the PhD student at the hospital at his main place of work – University Hospital "Medica Ruse" from 2017 to 2020. The approval to conduct the study from the Committee of Medical Ethics at MU-Pleven and University Hospital "Medica Ruse" is obtained. The final text which is presented is in line with the recommendation I made - in the chapter "Materials and methods" to have the description of the contingent examined children, the criteria for selecting the objects of study, as well as the grouping of patients according to the type of neonatal jaundice, the mechanism of birth, the way of eating, sex, weight and gestational age at birth. From table 6 it is evident that the mixed fed newborns were excluded from the study, and subjects were only exclusively breastfed or those fed only with breastmilk substitutes. Perhaps this was done in order to better differentiate the individual groups, but it is related to the exclusion of some of the newborns, or to their unwanted rapid transition to artificial feeding.

Fig 1.1 (chapter "Results") reflects the selection of the examined children, which is 919, initially covered, of which 65 children dropped out because they were less than 37 weeks of age or with weight less than 2500 g. I believe that the body weight criterion should not have been taken into account, since the generally accepted definition of full-term children concerns only the gestational age between 37 and 42 years of age. The reason for including the criterion "body weight" is probably explained by the presence of it in our normative and working documents, such as clinical pathways, etc. Unfortunately, in them, and in our practice, the understanding of the importance of the indicator gestational age is insufficient. The exclusion from the study of full-term children (37-42 weeks.) with a low body mass (<2500g) could influence, to some (albeit small) extent, the results. It is also noteworthy that the relatively large

number (283 newborns) dropped out of the study due to incomplete information. The subjects of the study remain 566 newborns, which is enough to achieve significant results. They are subdivided into groups, respectively: 372 children with pathological, 227 with physiological and 82 with prolonged jaundice. Since the total number exceeds 566, this is probably due to the fact that some of the children have both pathological and prolonged jaundice, but this is not explicitly mentioned in the text.

Main attention in this chapter is paid to the diagnostic methods applied to neonatal jaundice. Transcutaneous bilirubinometry as a method for assessing jaundice in the newborn is described in detail. The compliance and verification of the readings of transcutaneous and blood measurements of bilirubin are reflected in Table 7, and no statistically significant difference was found in the bilirubin levels measured by both methods (with one exception, $p \leq 0.001$). It should be noted that transcutaneous measurement of bilirubin is a screening method for children with pathological icterus, and the decision on possible treatment is made after testing a blood sample. The limitations of the transcutaneous study are assessed by the author: importance of the skin area being examined, application of phototherapy, making sure that the results are as reliable as possible (calibration, triple measurement, etc). It should be borne in mind that the type of apparatus is probably important for the accuracy, as in practice devices from different manufacturers are used. Notwithstanding these limitations, I believe that the results presented can be considered sufficiently reliable and be discussed accordingly.

Usual and established statistical platforms and methods were used to analyze the results. It is not stated whether the assistance or consultation of a qualified statistician was used in the statistical processing.

Chapter V. "Results" is divided into 5 parts, containing the results (with subsequent discussion) of each of the 5 tasks. Task-1 found that in the etiological structure of pathological jaundice blood group incompatibility (mainly ABO) and intra-amniotic infection were leading with 35.9% and 23.2% of the cases described, respectively. Leading cause of prolonged jaundice is exclusive breastfeeding (57% of cases). In our literature, the term describing this condition is "jaundice from breast milk." (Breastmilk jaundice)(G. Panchev, "Jaundices in the newborn and the little infant", 1993 Vega-Dia-Sofia Publishing House; Neonatology, 2018, Laxbuk). It would also be good to mention that it should be distinguished from "jaundice in breastfed children" (English. Breastfeeding Failure Jaundice), which manifests itself with

prolonged icterus mainly in premature babies who are breastfed but take insufficient breast milk. (Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine, 11th ed. Elsevier, 2020).

Task 2 consists of examining the influence of demographic and perinatal factors on the manifestation of pathological or prolonged neonatal jaundice. The results are reflected in detail (on 27 pages) and adequately illustrated. Of clinical importance is the statement that "The combination of different factors – vaginal birth, lower weight, asphyxia, younger age of the mother, pathology of pregnancy (threatening premature birth, infection of the reproductive and excretory systems), exclusive breastfeeding, is a prerequisite for the manifestation of hyperbilirubinemia in newborns." From the conclusions on this task is noticeable the established protective effect of preeclampsia and hypertension in terms of hyperbilirubinemia.

The dynamics of total bilirubin until reference limits are reached is tested according to Task 3. As a result of a total of 2636 transcutaneous bilirubin measurements (1685 in hospital and 951 on an outpatient basis) bilirubin values were averaged for the first 5 days, 14th and 28th days. Based on these data, the author produces a nomogram of transcutaneous bilirubin for full-term children in the neonatal period (Figure 3.3) which has a scientific and applied importance. Clinically significant is also the fact established by the PhD student that an increase in bilirubin above $4.3 \mu\text{mol/l/h}$ on the 3rd day is a prerequisite for prolonged jaundice.

Task 4 studies the effect of prophylactic administration of probiotics for the prevention of neonatal jaundice. It should be noted that although the number of studies on the multiple effects of probiotics increases exponentially, the majority of them have many limitations. The difficulties come from the wide variety of probiotic strains and their combinations applied in the composition of infant milks, either as food additives or both together. The present study included 3 probiotic strains: *Lactobacilli Rhamnosus* and *Reuteri*, as well as *Bifidobacterium animalis*, administered orally, as a supplement for 5 and 30 days. 5 drops each. An exception was group E (Table 4.1) where for 30 days the children were given 100 ml of infant milk containing *L.Reuteri*. It is not explicitly stated that the standard formulas that are used do not contain other probiotics except group G. The PhD student found statistically significant differences in bilirubin levels, which were lower in the first 5 days in the newborns who were given probiotics compared to those receiving a standard formula without probiotic. The results were similar in the groups D,E,F and G when the probiotic was administered for 30 days. The dissertation

student concludes that the prophylactic use of *Lactobacillus Rhamnosus* and *Reuteri*, as well as *Bifidobacterium animalis* significantly reduces the frequency and duration of neonatal jaundice, this effect being most significant for *Bifidobacterium animalis*. In my opinion, it would be good to mention the brand names of the applied products, since different manufacturers offering the same probiotic justify its safety and efficacy with different, often their own studies, which are of different value. A problem when examining the effect of probiotics is the lack of standardization of the products regarding: the amount of microorganisms contained in 1 dose, the durability of the probiotic, the application of multicomponent products, etc. As a result of that the randomized trials on the matter are single. Cited by the PhD student, the author (No. 263 Teran, 2021) concludes that there are no benefits or economic benefits from the application of one of the common probiotics – *L. Reuteri*. Most authors point out the need for further studies on the influence of probiotics on the course of neonatal jaundice. It is no coincidence that there is no official position on the issue by ESPGHAN.

When examining the physical and neuropsychological development (task 5), an expected relation between inadequate weight gain and prolongation of neonatal jaundice was found, and development coefficient in children with prolonged icterus was significantly lower than those with physiological icterus, but only during the first 6 months.

The conclusions attached to the discussion of each task are appropriate.

Chapter VI "Conclusions" contains 5 conclusions showing the implementation of the tasks assigned and hence the goal set in the dissertation. Conclusion No. 2 defines the most important factors increasing the risk of developing pathological jaundice. Optimistic is conclusion No. 5, which finds that the prognosis of prolonged icterus is favorable in 96.7% of cases.

I agree with the contributions described in **Chapter VIII**. Particularly valuable are the scientifically applied contributions, among which is the proposed nomogram for the levels of transcutaneous bilirubin in the neonatal period. Observations on the effect of the use of probiotics for the prevention of jaundice require further clarification and specification.

The author presents 4 publications related to the topic of the dissertation, of which 3 are in foreign magazines, 5 reports at foreign scientific forums and 4 participations in scientific forums in Bulgaria.

My critical remarks are set out in the text of the review. They do not significantly affect the quality of the proposed dissertation, which shines a light on the problem of jaundice in full-term newborn children.

I believe that the presented dissertation work has qualities and merits presupposing a successful defense and subsequent awarding of the educational and scientific degree "Doctor" to Dr. Tatiana Dimitrova Itova.

19.10.2023

На основание чл. 59 от ЗЗЛД

(Assoc. Prof. Dr. Hristo Mumdzhiiev, MD, PhD)