

**ДО ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НА НАУЧНОТО
ЖУРИ НАЗНАЧЕНО СЪС ЗАПОВЕД
I.57/14.05.19
на Директора на ИМ на БАН**

С Т А Н О В И Щ Е

относно процедура за придобиване на ОНС „Доктор“ с кандидат **Иво Тодоров Ганчев**, докторант в редовна форма на обучение в ИМ на БАН, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, по научната специалност „Микробиология”

Тема на дисертационния труд: „КО-АГРЕГАЦИЯ МЕЖДУ ЩАМОВЕ *BACILLUS SUBTILIS* И *ESCHERICHIA COLI* К-12 И ОБРАЗУВАНЕ НА СМЕСЕНИ БИОФИЛМИ“

Научен ръководител: Доц. д-р Стоянка Стоицова, дб

Изготвил становището: Доц. Иван Николаев Иванов, дм завеждащ Национална референтна лаборатория по контрол и мониториране на антимикробната резистентност, отд. Микробиология, Национален център по заразни и паразитни болести

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

Представените ми документи са изготвени коректно и в съответствие със Закона за развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), и правилника за прилагането му в ИМ на БАН.

Актуалност на темата. Дисертационният труд на Иво Ганчев третира един съвременен актуален въпрос, а именно факторите влияещи в процеса на образуване и структуриране на биофилми с полимикробен характер. С експоненциалното нарастване на антимикробната резистентност през последното десетилетие, все по-активно се търсят нови терапевтични и профилактични подходи, които да намалят антибиотичния натиск върху бактериите. В този смисъл, ролята на микробните биофилми генерирани по повърхността на лигавиците, катетри ендопротези и импланти, е водеща за неуспеха на антибиотичната терапия при инфекции от микроби с иначе запазена ин-витро

чувствителност. Съвременните проучвания сочат, че честотата на имплант-асоциираните хирургични инфекции достига до 5% в хуманната медицина, а във ветеринарната до 10%. Агресивната комплексна терапия, включваща многократни дебридман процедури и/или ревизиране на импланта, продължителен прием на антибиотици във високи дози, често се оказва неефективна, води до допълнителни усложнения, и в последна сметка до отхвърляне на импланта. Особен интерес представляват смесените биофилми, които поради изразения синергизъм на микроорганизмите в тях, се характеризират с далеч по-сложна организация, уникални свойства и антибиотична устойчивост. Едва през последните години, благодарение на валидирането на няколко лабораторни модела, стана възможно по-детайлното изучаване на характеристиките на тези съобщества. Така например, през 2018г., бе създаден модел за изучаване на смесени биофилми от гъбички и бактерии (*Candida albicans* и *Streptococcus gordonii*) с ключово значение за денталната имплантология.

Считам че от посоченото до тук е видно, че темата е избрана много умело от научния ръководител, и притежава безспорна научна актуалност и значимост.

Структура на дисертационния труд и библиография. Дисертацията е с обем от 173 страници и е структурирана стандартно, но не балансирано както следва: Въведение - 2 стр.; Литературен обзор – 54 стр.; Цел и задачи – 1 стр.; Материали и методи 10 стр.; Резултати и обсъждане - 75 стр., Изводи и Справка за приносите по 1 стр. Включва 68 фигури и 46 таблици както и 300 литературни източника, 3 от които на кирилица. Библиографската справка сочи, че над 80% от цитираните статии са публикувани през последните 10 години, което подчертава още веднъж актуалността на работата.

Литературен обзор. Докторантът представя **компетентно написан, съвременен и информативен обзор.** Изчерпателно са разгледани всички аспекти на проблема: процесите и етапите на образуване, влиянието на средата, ролята и значението на биофилмите и процеса ко-агрегация в природата и медицината. Детайлно са описани гените, молекулите и взаимодействията обуславящи структурирането на биофилма при *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* обект на работата. Специално внимание е отделено на ролята на quorum-sensing системите и различните автоиндукторни съединения в

регулацията на биофилм-образуването. Въпреки, че антибиотичната резистентност не е акцент в работата, считам че обема от информация в обзора (на една стр.) е доста оскъден, предвид значението ѝ за здравеопазването. Подробно обаче са разгледани известните „анти-биофилм“ агенти и техните механизми на действие. Обобщени са и най-новите проучвания касаещи влиянието на щамове с пробиотичен потенциал върху ко-агрегацията и инхибиране формирането на смесени биофилми.

В заключението на обзора, дисертантът извежда и систематизира най-важните изводи като акцентира върху нерешените проблеми и необходимостта от нови и по-задълбочени проучвания, логично насочвайки към целта на дисертацията.

Цел и задачи. Целта и четирите задачи и подзадачи са прецизно формулирани, отразявайки основните аспекти и същността на дисертационния труд.

Материалите и методите са детайлно и коректно описани, от което личи високото ниво на компетентност на кандидата. Много добро впечатление прави умелото използване на значителен набор от традиционни микробиологични, микроскопски, биохимични, физико-химични и статистически методи, които докторантът е усвоил. Към този раздел имам някои дребни забележки : 1) на места в текста са използвани чуждици като „пелет“ и „солубилизира“, които определено имат български аналози ; 2) не става ясно точно кой от трите типа Triton, е използван (X-100, X-114 или X-405.) и в каква концентрация.

Резултати и обсъждане. Разделът логично започва с изясняване на авто-агрегационните и ко-агрегационни свойства на изследваните щамове *B. subtilis* и *E. coli*, след което са анализирани факторите влияещи върху индекса на ко-агрегация (рН, температура, детергенти, протеолитични агенти и др.), като наблюдаваните резултатите са дискутирани задълбочено в контекста на наличните литературни данни и вероятните механизми. В следващия етап са установени и подбрани две щамови двойки с най-силна продукция на смесен биофилм, като те са изпитани и спрямо променящи се условия на средата (вид и концентрация на захарите). Установено, е че най-значимо е формирането на смесен биофилм при концентрация на глюкоза от 0,5%, което е съпътствано и със значителна степен на спорообразуване за разлика от моновидовите биофилми при същата концентрация. По подобен начин е установена зависимостта на формирането на

полимикробния биофилм от азотния източник, рН, инкубационната температура, наличието на NaCl, Fe²⁺ и D-alanin. протеолиза и др. По-нататък се изпитват различни влияния с цел ерадикация на биофилмите: биосърфактанти и секреторни метаболити в безклетъчни супернатанти. При тези експерименти е потвърдена високата бактерицидна активност на метаболитите от *Lactobacillus plantarum* L32, като е установен и концентрационно зависим ефект, включително и върху спорообразуването.

Изводите, десет на брой, са прецизно формулирани и отразяват адекватно изпълнението на целта и поставените задачи, едновременно акцентирайки върху най-важните находки от дисертационния труд.

Работата представя значителни оригинални научни приноси, които напълно приемам.

Към докторанта имам следния въпрос: Считате ли, че предложения модел може да се използва като сурогатен, с цел изучаването на полимикробни биофилми включващи патогенни или условно патогенни щамове, например *Klebsiella pneumoniae* с *Enterococcus faecium* ?

Ганчев представя като първи автор **три публикации на английски език** свързани с дисертационния труд, което свидетелства за неговия водещ и съществен принос в изследванията. Една от публикациите е в списание индексирано в Scopus. Представени са и 13 участия в научни форуми, проведени в страната. Считам, че наукометричните показатели задоволяват критериите за придобиване на ОНС „Доктор“, заложен в правилника на ИМ-БАН.

Заклучение. Работата притежава не малка научна стойност, изследванията са извършени акуратно чрез съвременни методи и подходи. Получените данни разширяват разбирането ни по проблема, и са представени по начин достоен за научна разработка от такъв характер.

На базата на изложеното, считам че г-н Ганчев изпълнява критериите за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“, според Закона за

развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), и правилника за прилагането му в ИМ-БАН, и убедено предлагам на уважаемите членове на журито и НС да одобрят кандидатурата му.

Дата: 28/06/2019

Изготвил становището:.....

/Доц. Иван Иванов/