

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Михаил Владимиров Илиев – катедра “Обща и Промислена микробиология” при Биологически факултет на СУ “Св. Климент Охридски”

относно: дисертационния труд на докторант Мая Ангеловска на тема “*Разпространение и характеристика на ентеропатогенни щамове Yersinia enterocolitica, изолирани от свине*”

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № I-115/2.10, 2023 на Директора на Институт по Микробиология “Стефан Ангелов”, съм назначен в научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема “*Разпространение и характеристика на ентеропатогенни щамове Yersinia enterocolitica, изолирани от свине*” в област на висше образование “Природни науки, математика и информатика”, професионално направление “Биологически науки”, шифър 4.3., специалност “Микробиология”. Автор на дисертационния труд е докторант Мая Ангеловска с научен ръководител чл.-кор. проф. Христо Найденски, двмн. (ИМКБ, БАН).

Представеният от докторант Мая Ангеловска комплект материали е в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и с допълнителните изисквания на ИМКБ.

2. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Представеният ми за становище дисертационен труд е фокусиран върху един от най-интригуващите и в същото време най-предизвикателни въпроси свързани с хранителните зоонози, а именно разпространението и охарактеризирането на ентеропатогенни щамове *Yersinia enterocolitica*. Предизвикателството се заключава в следното: 1) значимостта на *Yersinia enterocolitica* като зоонозен патоген, причиняващ заболяване което е сред най-докладваните хранителни зоонози в страните от Европейския Съюз. 2) Изключително комплицирания таксономичен статус на род *Yersinia*. Съгласно актуалното към настоящия момент издание на Bergey Manual of Systematics of Archaea ana Bacteria (2015) родът е съставен от едва 11 валидирани вида. През последните години този брой е ревизиран многократно. Само през 2020 г към вида са отнесени 6 нови вида, които

фенотипно е изключително трудно да бъдат отдиференцирани от вида *Y. enterocolitica*. Особено показателен в това отношение е вида *Y. canariae*, който е биохимично неразличим от *Y. enterocolitica* и единствено цялогеномното съотнасяне (OGRI) позволява тяхното разграничаване. 3) Затрудненото и бавно изолиране на патогенни йерсинии, което е една от основните причини за недостатъчната яснота относно тяхното разпространение и епидемиологично значение. Във тази връзка е повече от належащо разработването на адекватни протоколи, позволяващи бърз скрининг върху епидемиологичната динамика на патогенните щамове от вида *Y. enterocolitica*.

Целта на дисертационния труд е ясна, но твърде мащабно формулирана за рамките на дисертационен труд за придобиване на ОНС „доктор”, което е предопределило и формулирането на твърде много изследователски задачи.

3. Познаване на проблема

Литературната справка, направена от докторантката, се базира на 303 литературни източника, което я прави изчерпателна и достатъчно информативна. Начинът на оформяне на литературния обзор и аналитичното представяне на информацията, особено в частта свързана с молекулярно-генетичните подходи за таксономично идентифициране на целевите бактерии, показват че Мая Ангеловска е запозната в детайли с разработвания проблем.

4. Методика на изследването

Всички използвани за реализирането на дисертационния труд материали и методи на изследване са прецизно описани. Високо оценявам широкият таксономичен спектър на предварително идентифицираните щамове (32 броя) използвани за оптимизиране на впоследствие приложени LAMP протокол, който е своеобразен методологичен венец на настоящата разработка. Експерименталната схема е базирана върху изключително обемна кампания за пробонабиране, включваща проби от 601 свине. В това отношение трябва да се изтъкне широкото регионално покритие на избраните локации, позволяващо проследяване на епидемиологичната динамика на национално ниво, което касае пряко животновъдния отрасъл в страната ни. Адекватно са подбрани микробиологични методи и техники, както и техники за скрининг на целевите изолати. Условието за провеждане на отделните етапи от таксоничните алгоритми, използваните хранителни среди, прилаганите процедури за набогатяване, изолиране и култивиране са представени по начин, който позволява възпроизводимост и коректност на получените резултати.

Цялостната експериментална схема е правилно структурирана, отделните етапи на изследването са подредени в логична последователност, което е предпоставка за успешна реализация на поставената цел. Докторантката е описала и усвоила широк спектър от класически и съвременни микробиологични и молекулярни методи, което показва, че образователната компонента на докторантурата е успешно реализирана.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е структуриран по официално възприетия начин, включвайки разделите Въведение, Литературен обзор, Материали и методи, Резултати, Обсъждане, Заключение, Изводи, Приноси и Използвана литература. Считаю, че отделните раздели на дисертацията са в оптимални обеми и оптимални съотношения помежду си.

Въведението, в изчистен вид, изтъква и основният изследователски акцент, свързан с необходимостта от проучвания върху присъствието на патогенни биосеротипове *Y. enterocolitica* между здравите свине в кланици в България, както и да бъдат охарактеризирани изолираните щамове на йерсинии в проби от тонзили и фецес.

Литературният обзор е достатъчно информативен. Оценявам изключително високо постигнатия в него баланс между класическия микробиологичен прочит на наличното познание в областта и молекулно-базираните подходи за идентификация и охарактеризиране на целевите микроорганизми. Именно този баланс е задължителен при така поставената цел на дисертационния труд. Налице е пълно описание на фенотипната характеристика, биотипното и серотипно диференциране, епидемиологията и разпространението, както и факторите на вирулентност. Акцентът в литературния обзор е поставен правилно върху микробиологичното доказване на целевите патогени – с коментара върху конвенционалните методи се очертават и основните трудности и ограничения, свързани с тяхното приложение. Това е и свързващата част към основния принос на настоящият дисертационен труд, а именно молекулно-базираните подходи.

Изключително удачно е включването на т. *Нерешени проблеми по темата*. В нея са обобщени основните затруднения и причините за тях. В тази връзка ясно се подчертава необходимостта от комбиниран алгоритъм за нуждите на клиничната медицинска и ветеринаромедицинска практика, в който своето място имат и ангажираните в настоящата работата LAMP и PFGE протоколи.

Разделът Материали и методи изпълнява функцията си, като е достатъчно информативен и добре структуриран.

В разделите Резултати и Обсъждане са описани и дискутирани резултатите от проведените експерименти в логична последователност. Основната тежест на работата, определяща реализирането на нейната крайна цел, стъпва върху заложената пробосъбирателна кампания, която е впечатляваща по обем и заслужава признание. Само благодарение на адекватно приложената схема за предварително типизиране в началото на експерименталната работа е възможно последващото молекулярно и фенотипно охарактеризиране на целевите изолати. Тези усилия са с висока добавена стойност, като в резултат е налична колекция от 43 ентеропатогенни щамове *Y. enterocolitica* и техния геномен материал, представляваща отлична основа за бъдещи изследвания по тематиката. Впечатляваща в детайлите си работа е извършена по отношение оптимизацията на LAMP протокол за доказване *phoP* гена на патогените *Yersinia enterocolitica* и оценката на неговата ефективност. Именно в тази си част, постигнатите резултати са несъмнения принос на настоящата дисертационна работа.

Приемам напълно броя и съдържанието на изведените изводи и приноси.

6. Оценка на публикациите по дисертационния труд

Във връзка с дисертационния труд са представени две научни публикации. Резултатите са десиминирани в списания, чиито фокус, покрива напълно разработваната тематика и са гарант за тяхното адекватно разпространение в научните среди.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които отговарят на всички изисквания по ЗРАСРД и допълнителните изисквания на ИМикБ. Дисертационният труд показва, че докторант Мая Ангеловска притежава теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Микробиология“.

Поради гореизложеното, **убедено давам своята положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на **Мая Ангеловска** в област на

висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки.

Изготвил становището:.....

(доц. д-р Михаил Илиев)

02. 11. 2023 г.