

СТАНОВИЩЕ
от доц.д-р Соня Костадинова Трифонова
катедра „Биохимия и микробиология“
Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен
'доктор'

в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика
професионално направление 4.3. Биологически науки
докторска програма Микробиология

Автор: Маринела Красимилова Цанкова

Тема: *„Генетични детерминанти и екологични фактори на вирулентността при патогенни изолати, асоциирани с урогенитални инфекции“*

Научни ръководители: доц.д-р Соня Костадинова Трифонова - ПУ „Паисий Хилендарски“ и гл.ас.д-р Мариана Иванова Мърхова-Косева - ПУ „Паисий Хилендарски“

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Със заповед № Р33-6904 от 13.12.2019 г. на Ректора на ПУ „Паисий Хилендарски“ съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема *„Генетични детерминанти и екологични фактори на вирулентността при патогенни изолати, асоциирани с урогенитални инфекции“* за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Микробиология.

Автор на дисертационния труд е Маринела Красимилова Цанкова, редовен докторант в катедра „Биохимия и микробиология“ с научни ръководители доц. д-р Соня Костадинова Трифонова от ПУ „Паисий Хилендарски“ и и гл.ас.д-р Мариана Иванова Мърхова-Косева от ПУ „Паисий Хилендарски“.

Представеният от Маринела Цанкова комплект документи на хартиен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ и включва следните документи:

1. Молба по образец до Ректора за откриване на процедура;
2. Автобиография по европейски формат;
3. Протокол от предварителното обсъждане в катедрата;
4. Автореферат;

5. Декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
6. Справка за спазване на специфичните изисквания на Биологическия факултет;
7. Списък на публикациите;
8. Дисертационен труд;
9. Копия на публикациите по темата на дисертацията;

Маринела Цанкова е възпитаник на Биологическия факултет на ПУ „П. Хилендарски“; завършила е ОКС „бакалавър“, специалност „Молекулярна биология“ през 2012 г. и ОКС „магистър“, специалност „Биотехнологична микробиология“ през 2014 г. Работи като биолог в катедра „Биохимия и микробиология“ от 01.09.2014 г., а от 01.03.2016 г., е зачислена като редовен докторант в катедра „Биохимия и микробиология“, докторска програма „Микробиология“.

2. Актуалност на тематиката

Урогениталните инфекции са сериозен здравословен проблем, който засяга голям брой хора от различен пол и възраст. Уринарните инфекции заемат второ място по разпространение след инфекциите на горните дихателни пътища. Един от най-честите причинители на уринарни инфекции е *Escherichia coli*, следвана от *Klebsiella pneumoniae*, но причинители могат да бъдат други бактерии и *Candida*. Лечението на тези заболявания е свързано с правилна диагностика и адекватна терапия.

От друга страна, през последните години, се отчита нарастваща резистентност на медицински значимите микроорганизми към антимикробни средства. Появата на нови типове резистентност към клинично важни антибиотици още повече затруднява борбата с причинителите на инфекциозни болести. В световен мащаб нарастващата антибиотична резистентност има неблагоприятни последици като повишена заболеваемост и смъртност, увеличаване на себестойността на лечението с антибиотични препарати и трайни екологични последици за пациента и обществото.

В този аспект, тематиката на дисертационния труд посветен на идентификация на микроорганизми, асоциирани с урогенитални инфекции, определяне на вирулентните им детерминанти и антибиотичната резистентност е актуална, с приложно значение.

3. Познаване на проблема

Литературният обзор е оформен на базата на 345 съвременни литературни източници. Обзорът е структуриран в 6 раздела и представя информация за инфекциите на уринарния и гениталния тракт, причиняващите ги микроорганизми и факторите на вирулентност, включително структурни компоненти, токсини и ензими, продуцирани от микроорганизмите. Представена е подробна информация за формирането на биофилми от различни

микроорганизми, както и за терапевтичното приложение на отделните класове антибиотици и механизмите на антибиотична резистентност, които микроорганизмите развиват. Литературният обзор е подробен и на база му е обоснована целта на дисертационния труд.

4. Методика на изследването

При разработването на дисертационния труд, докторантката Маринела Цанкова е усвоила и прилага класически и съвременни микробиологични, имунологични, биохимични, молекулярно-биологични методи.

Методите са описани прецизно и адекватното им приложение показва, че докторантката е придобила необходимия методичен опит за провеждане на научен експеримент.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е структуриран в раздели между които е спазено оптимално съотношение: Въведение – 2 стр., Литературен обзор - 44 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 12 стр., Резултати и обсъждане – 85 стр., Изводи – 2 стр., Приноси – 1 стр., Литература – 18 стр. и Приложения – 22 стр.

Целта и задачите са правилно формулирани. За реализацията им е извършена внушителна по обем работа. Резултатите са онагледени с 40 фигури и 13 таблици.

В дисертацията са анализирани 546 изолати от пациенти с уринарни инфекции и инфекции на гениталния тракт. Първоначално, докторантката систематизира данните за честотата и сезонната динамика на инфекциите и разпределението им по възраст и пол. Установена е сезонна вариация с пик в летните месеци при инфекциите на уринарния тракт и липса на такава при гениталните инфекции.

Получените изолати са идентифицирани чрез системата за биохимична идентификация BBL Enterotube II и системата Merlin Micronaut. Доминиращ вид и при двата вида инфекции от разред *Enterobacteriales* е *Escherichia coli*, последван *Klebsiella* и *Proteus mirabilis*. Освен тях, като причинители на инфекциите са доказани *Enterococcus faecalis* (15% при инфекциите на уринарния тракт и 18% при гениталните инфекции) и *Candida albicans* (84% от гъбичните изолати). Идентификацията на бактериалните щамове е потвърдена чрез молекулярно-биологични методи.

Идентифицираните щамове са анализирани за вирулентни фактори, като серумна устойчивост, продукцията на хидролитични ензими, продукцията на фимбрии и целулоза. Изследван е биофилм-формирация капацитет и е установено образуването на биофилм при 21% от всички щамове *Enterobacteriales*, като преобладаваща част от тях са изолирани от урина. Образуването на биофилм е доказано при 58% от изолираните *Klebsiella*

щамове; при 25% от *E. faecalis*; 10% от *E. coli* и 7% от *C. albicans*. Анализирани са вирулентните фактори при биофилм-формиращите щамове *Enterobacteriales* и са установени гени за адхезини, сидерофори и за изпомпване на антибиотици навън от клетката. Доказано е присъствието на *iss*-ген, който осигурява серумна устойчивост и е нетипичен за екстраинтестинални човешки изолати *E. coli*.

Направено е подробно проучване на антибиотичната устойчивост на щамовете. Всички щамове проявяват висока устойчивост към клас флуорохинолони, а тези от разред *Enterobacteriales* - към нитрофурантоин. Отчита се множествена резистентност към пеницилини, тетрациклини и флуорохинолони или триметоприм/сулфаметоксазол. Установена е изключително висока устойчивост при *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* U-230, който е чувствителен единствено към карбапенеми.

Резултати са обсъдени и съпоставени с литературните данни. Изводите отразяват вярно получените резултати и на базата им са формулирани приноси.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Докторантката е представила 2 статии, в които са публикувани част от резултатите от дисертационния труд. Статиите са на английски език, публикувани са в реферирано списание - Journal of BioScience and Biotechnology. В двете публикации Маринела Цанкова е първи автор.

Познавам Маринела Цанкова от 2010 г. и съм свидетел на голяма част от периода на нейното обучение в Пловдивския университет и професионалното ѝ развитие. Маринела Цанкова е много старателен, изпълнителен, амбициозен млад колега и изследовател и оценката ми за работата и в катедрата, като биолог е много висока.

7. Автореферат

Авторефератът е направен според изискванията и вярно отразява основните резултати на дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали **съответстват** на специфичните изисквания на Биологическия факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че **Маринела Красиминова Цанкова притежава теоретични знания и професионални умения по научна специалност Микробиология**. В процеса на обучение докторантката е усвоила широк набор от умения и методи, способности самостоятелно да

провежда експерименти, правилно да представя и интерпретира получените резултати.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено в рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен 'доктор'** на **Маринела Красимирова Цанкова** в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма **Микробиология**.

06.02.2020 г.

Изготвил становището:

Доц.д-р Соня Костадинова