

Становище

на дисертационен труд на тема:

„Проучване върху геномните характеристики, обуславящи лекарствена резистентност (резистом) и вирулентност (вирулом) при екстензивно резистентни *Pseudomonas spp.*“

за присъждане на образователна и научна степен "ДОКТОР" в научно направление 4.3. „Биологически науки“

Докторант: *Иван Иванов Стойков*, Национална референтна лаборатория „Контрол и мониториране на антибиотична резистентност“ (НРЛ „КМАР“, с научен ръководител доц. *Иван Иванов* и научен консултант проф. *Стефана Събчева*

Изготвил: доц. *Светослав Георгиев Димов*, ръководител Катедра „Генетика“, Биологически факултет на Софийски университет „Св. Климент Охридски“

Научна актуалност на дисертационния труд. Представеният ми за оценка дисертационен труд е фокусиран върху изключително актуален проблем, свързан с молекулярно-генетично характеризиране на резистома и вирулома при *Pseudomonas spp.*, осъществено с помощта на целогеномно секвениране, биоинформатични анализи и изследване на гена ескпресия. Тази проблематика е от изключителна важност не само от теоретичен аспект, но и от чисто клиничен, особено в светлината на все по-честата поява на MDR, XDR и PDR щамове от този род.

Обща структура на дисертационния труд. Дисертационният труд е развит в рамките на 180 страници (без списъка на използваната литература) и е структуриран по стандартен начин, като включва следните основни раздели: литературен обзор, материали и методи и резултати и обсъждане (обединени в общ

раздел). Отделно са представени увод, цел и задачи, заключение, изводи и приноси. Накрая дисертационният труд завършва с впечатляваща библиографска справка, обхващаща 680 източника, които в голямата си част са от последните години.

Дисертационният труд започва с кратък **увод** в рамките на страница и половина, в което стегнато се обосновава интересът към тематиката на дисертационния труд.

„Литературният обзор“ е развит в рамките на 63 страници. Той е логически структуриран и е фокусиран върху таксономичната характеристика на р. *Pseudomonas*. Започва с обща характеристика на рода, съчетано с преглед на методите за таксономично определяне и характеризиране. Следват кратки представления на видовете с по-ограничена клинична значимост - *P. fluorescens* и *P. putida*. Основната част от литературния обзор е фокусирана върху представителя на рода с най-голяма клинична значимост – *P. aeruginosa*. След представянето на морфологичните, биохимичните, физиологичните характеристики и ролята на вида за вътреболничните инфекции, в подробности са представени неговите генетични характеристики – обща организация на генома, преглед на генетичните детерминанти на резистома и вирулома, които са откривани при представители на вида. Разделът не съдържа фигури и таблици. От изложението на тази част на дисертационния труд мога да се убедя, че докторантът притежава широки научни познания по темата на дисертацията и е добре запознат с последните изследвания в световен мащаб в тази област. То също така говори, че той може много умело да интерпретира научна литература от различни източници, както и че може да пише на висок научен стил. Като минимален пропуск отчитам факта, че е пропуснато да се представят накратко откритите в изследването *P. kurunegalensis*, *P. soli* и *P. protegens*, както това е направено за *P. fluorescens* и *P. Putida*.

„Цел и задачи“. За осъществяването на дисертационния труд е формулирана ясно една цел, а именно генетично проучване на резистома и вирулома

при XDR щамове на *Pseudomonas* spp. За нейното реализиране са поставени 5 експериментални задачи (едната от които разделена на 3 подзадачи), които се явяват напълно достатъчни за постигането ѝ и същевременно обхващат богат набор от експериментална работа и интерпретация на данни, чието овладяване е необходимо за придобиването на ОНС „Доктор“.

„Материали и методи“. Разделът е развит в рамките на 39 страници. Класическите микробиологични техники включват техники за фенотипна идентификация, определяне на чувствителност към различни антибиотици и детекция на резистентност към карбапенеми. Молекулярно-генетичните техники включват методи за изолиране на ДНК и РНК, различни варианти за полимеразна верижна реакция, различни видове техники за електрофореза и хибридизация, методи за клониране на фрагменти, техники за секвениране на фрагменти и целогеномно секвениране, методи за трансформация, техники за конюгативен пренос на плазмиди и богат набор от биоинформатични методи. Методите и техниките са представени достатъчно подробно и по възпроизводим начин. Разделът е илюстриран с 1 фигура с добро графично качество и 31 таблици. Единствената ми забележка към този раздел е, че той би могъл да бъде структуриран по малко по-оптимизиран начин по отношение на биоинформатичните методи, тъй като такива се съдържат и в други подраздели, освен в подраздел „Биоинформатични методи“.

Разделът **„Резултати и обсъждане“** е развит в рамките на 65 страници. В него в стегнат вид и с помощта на богат илюстративен материал – 7 таблици и 32 фигури с достатъчно добро графично качество, са представени получените от докторанта собствени експериментални резултати. В раздела са представени и анализирани резултатите от фенотипното характеризиране и таксономичната идентификация на колекция от 100 щамове клинични изолати от различни болници от р. *Pseudomonas*, основно *P. aeruginosa*, разработването, оптимизирането и валидирането на нов метод за изолиране на РНК за нуждите на изследването, проверка за наличие на карбапенемази, изследване с помощта на молекулярно-генетични

техники на експресията на гени, обуславящи резистентност и вирулентност, генотипизиране, плазмидно типизиране, конюгативни експерименти и биоинформатичен анализ. Като цяло научният език, на който е написан този раздел, както и съдържанието на изложението в него, говорят убедително за това, че докторантът анализира и интерпретира умело своите собствени експериментални данни, съпоставяйки ги с данни от други научни колективи, които са цитирани коректно. По мое мнение това умение е доказателство за зрелостта му като завършен учен, а не единствено на умел експериментатор.

Експозето на дисертационния труд завършва с кратък раздел, озаглавен **„Заключение“**. Той е развит на три страници и половина, в които се прави стегнато обобщение на извършената работа и получените резултати.

„Изводи“. Формулирани са общо 6 извода, които синтезират в достатъчна степен извършената експериментална работа и анализи на собствени експериментални данни. Добро впечатление прави фактът, че не са формулирани приноси като изводи.

В раздел **„Приноси“** са формулирани 6 приноса с оригинален характер, както и още 5 с научно-приложен. Отново добро впечатление прави фактът, че не са формулирани изводи като приноси.

Автореферат. Представеният автореферат е написан в рамките на 128 стр., като той повтаря в съкратен вид самия дисертационен труд. Съдържа основните разделите „увод“, „материали и методи“ и „резултати и обсъждане“. Допълнително са представени „цел и задачи“, „изводи“ и „приноси“. Накрая завършва с кратко резюме на дисертационния труд на английски език. Илюстриран е с 31 фигури и 37 таблици. По мое мнение обемът на реферата надвишава общоприетите норми.

Общи забележки върху дисертационния труд. Като цяло представената за разглеждане работа прави добро впечатление на едно завършено цялостно научно изследване по актуален проблем, осъществено с едни от най-модерните

методи в областта на молекулярната генетика. Общото впечатление, с което оставам, е че докторантът е един завършен и перспективен млад учен, който е способен да осъществи едно цялостно научно изследване по конкретна тема, както и да използва голям набор от лабораторни техники и методи, и да интерпретира адекватно и обосновано получените от него резултати. Единствената ми забележка е, че макар и дисертационният труд да е написан на висок научен език, съдържа чуждици, които имат научен превод на български като „протеин“, „рийдове“ и някои други, както и на моменти английски словоред като например „PCR скрининг“, вместо „скрининг чрез PCR“. Също така си позволявам да обърна внимание, че размерът на библиографската справка надвишава значително общоприетите норми за дисертационен труд в ОНС „Доктор“. Държа обаче да отбележа, че направените от мен забележки в никакъв случай не намаляват научните достойнства и цялостното ми много добро впечатление от дисертационния труд.

Научни публикации и изяви във връзка с дисертационния труд.

Представени са общо 4 научни публикации в международни импактирани и реферирани специализирани издания. В три от публикациите докторантът е първи автор. Събраните точки на основата на квартилите на списанията са 59, което е два пъти повече от изискуемите в Професионално направление 4.3. „Биологически науки“ 30 точки съгласно Правилника за прилагане на Закона за развитие на академичния състав в Република България. Представени са и общо 6 участия в международни и национални научни форуми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Представената ми за разглеждане работа представлява едно завършено и цялостно научно изследване на високо ниво, поради което ще гласувам положително за присъждането на образователната и научна степен „Доктор“ на Иван Иванов Стойков, както и ще препоръчам горещо на колегите от Научното жури да направят същото.

София, 28 януари 2024 г.

Svetoslav
Gueorguiev
Dimov
доц. Светослав Димов

Digitally signed by
Svetoslav Gueorguiev
Dimov
Date: 2024.01.29
09:47:11 +02'00'