

РЕЦЕНЗИЯ

на научните трудове на Стефан Вълчев Панайотов, дб, гл. ас. и завеждащ Националната референтна лаборатория по „Молекулярна микробиология” към Отдела по микробиология на НЦЗПБ за участие в конкурс за присъждане на научно звание "Доцент по микробиология" за нуждите на Отдела по микробиология към НЦЗПБ

Рецензент: проф. д-р Иван Гергов Митов, дмн., Ръководител Катедра по медицинска микробиология при Медицински университет – София

В обявения в ДВ бр.71 от 13.09.2011г за доцент по микробиология за нуждите на Отдела по микробиология към НЦЗПБ се е явил един кандидат - гл. ас. Стефан Вълчев Панайотов, дб.

Стефан Панайотов е роден през 1963 г. Средното си образование завършва в гр. Варна през 1980. През 1983-87 следва в СУ „Кл. Охридски” Биологически факултет, специалност „Биотехнология”, след което продължава образованието в Университета в гр. Пиза, Италия, където се дипломира през 1989 г. по специалността „Клетъчна биология”. В периода 1990-2000 г. работи и набира опит в Катедрата по биохимия при СУ-София, Института по молекулярна биология на БАН, Римски университет “Ла Сапиенца” и в микробиологичната лаборатория на болницата по пневмофтизиатрия в с. Искрец. От 2000 г. работи и е завеждащ Националната референтна лаборатория по „Молекулярна микробиология” при НЦЗПБ. През 2001 г. придобива научната степен “Доктор” след защита на дисертационен труд на тема “Диагностични възможности на PCR метод в лабораторната диагностика на микобактериалните инфекции”. През 2011 г. придобива медицинската специалност “Микробиология”. Членува в БАМ и ESM. Владее писмено и говоримо италиански и английски езици.

В 21 годишната си практика като микробиолог Стефан Панайотов е натрупал значителен опит в тясно свързаната си с диагностичната практика научна дейност. Многократно е специализирал по проблемите на микробиологията и молекулярната биология в Микробиологични лаборатории в Медицински факултет, Лозана, Швейцария и Средиземноморски университет, Марсилия, Франция, както и със стипендии на Британски съвет, на Уелкъм Тръст, на Агенцията за Ядрено Регулиране – АЯР и на Европейската организация по молекулярна биология – EMBO.

Стефан Панайотов е оценен високо като експерт и учен с участието си в национални и международни експертни органи (Консултативна комисия по генетично модифицирани организми към Министерство на околната среда и водите, в 7 Рамкова програма на ЕК – експерт към FP7-PEOPLE-LIFE) и международни програми (Програма на ECDC за

лабораторна диагностика и надзор на коклюш *EU/EEA*” и програмата на ECDC за контрол и генотипиране на мултирезистентни туберкулозни бактерии). Бил е ръководител на 5 международни проекти от българска страна, както и на двама дипломанти от БФ на СУ-София. Провежда ежегоден курс по молекулярна диагностика – 30 часа.

В конкурса Стефан Панайотов участва с 65 научни труда, които приемам за рецензиране както следва:

- Автореферат от дисертационен труд за научната и образователна степен “Доктор по биология”
- Статии в научната периодика 62.
- Статии в международни списания с импакт фактор – 11
- Статии в българско списание с импакт фактор – 3
- Първи автор в статиите с ИФ - 6
- Глави от монографии на английски - 2
- Участие в национални и международни научни прояви – 47
- Ръководител на дипломанти - 2

След защитата на докторската си дисертация през 2001 г. Стефан Панайотов публикува 54 труда, което е свидетелство за възходящото му научно развитие.

Трябва да се отбележи, че резултатите от изследванията на Стефан Панайотов са публикувани в престижни списания с висок ИФ: *J. Clin. Microbiol.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease*, *Molecular Biotechnology*. Кандидатът е постигнал значително висок ИФ от своите публикации – 28,622. Трудовете на Стефан Панайотов са привлекли голямо внимание от научната общност. Цитирани са общо 158 пъти, предимно от чуждестранни автори. Като цяло наукометричните показатели представят кандидата като изграден и уважаван учен със съществен принос за развитието на медицинската микробиология в страната.

Анализът на трудовете според участието на автора показва, че Стефан Панайотов е самостоятелен автор в 3, първи в 22 и втори - в 13 статии, което показва неговата водеща и съществена роля в изследванията.

Научноизследователската дейност на Стефан Панайотов се отличава с ясно изразена концентрация върху проблемите на молекулярно-биологичните диагностични методи и приложението им в клиничната микробиология в следните основни научни и научно-приложни направления:

1. Разработване на молекулярно-биологични методи за диагностика на бактериални инфекции: туберкулоза (3, 17, 22, 51), хламидиални инфекции (24, 40, 44, 51), бактериални атипични пневмонии (6, 9, 15, 16, 29, 32, 36, 38, 39, 42, 43, 51), коклюш (11, 13, 15, 16, 29, 36, 38, 42, 43, 51).
2. Разработване и апробиране на молекулярно-биологични методи за типизиране на микроорганизми: AFLP метод за идентификация и филогенетични отнасяния (2, 13, 14, 18, 20, 33, 41, 47, 49), методи за геномната експресия при бактериален стрес (5), за количествено определяне на бактериалния геном при фузанти (7), RAPD и място-специфична PCR амплификация за типизиране на медицински значими гъбички (12, 13, 18, 20, 21, 33, 47, 49), за типизиране на *M. tuberculosis* - VNTR и сполиготипизиране (1, 4, 14, 30, 41).

В работата по посочените научни направления Стефан Панайотов е постигнал значителни оригинални и потвърдителни научно-теоретични и практически приноси, които могат да се представят в следния обобщен вид:

Приноси с оригинален характер.

На базата на проведени множество изследвания (1467 клинични материала от 841 пациента) кандидатът извежда и предлага емпирични модели за динамиката на лабораторните резултати при пациенти с белодробна туберкулоза (3).

Разработен е градиентен PCR метод за едновременно диагностициране на *Bordetella pertussis*, *C. burnetii*, *L. pneumophila*, *C. pneumoniae* и *M. pneumoniae*. Доказано е безсимптомно носителство на *B. pertussis* от родствени възрастни, което е предпоставка за предаване на инфекцията към децата в семейството (16,29,36, 38,42,43).

Едно от значимите постижения на Стефан Панайотов и лабораторията която ръководи е разработването на универсална техника за цялостно типизиране генома на микроорганизмите чрез AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism PCR). Разработват се оригинални адаптори и праймери, и условия за амплификацията на няколко вида специфични рестриктазни фрагменти (BamHI, PstI, MboI, HindIII). Статията „Use of Amplified fragment length polymorphism analysis as a tool for identification and typing of yeast isolates. 2004. Mikol. Lek.” е една от първите в света в която се предлага прилагането на AFLP техниката за точна идентификация и филогенетично отнасяне на близкородствени гъбички (12,13,14,18,20). Количествен вариант на метода е приложен успешно и за оценка на доминиращия геном при фузанти култури - между два вида *Aspergillus* и техния геномен разпад от първо до четвърто поколение (6).

Съществен оригинален принос на кандидата е описването на разработен и приложен метод за цялостно геномно типирание на генната експресия при патогенни гъбички подложени на стрес чрез cDNA-AFLP. Методът е един от първите в света за доказване нови белтъчни фактори асоциирани с механизми на резистентност при гъбички и по оригинален начин демонстрира, че е единствената техника за количествено определяне експресията на неизвестни фактори при стресови условия (5).

Оригинален принос е епидемиологичното типирание на туберкулозни щамове изолирани от страната чрез два референтни метода – спוליго- и VNTR-типирание (1, 4, 14, 30, 41), с което се запълва празнината в информацията за разнообразието на причинителите на туберкулозата в нашата географска област. За първи път в България се провежда мащабно проучване за разпространение на чувствителни и множествено резистентни генотипове (MDR) на *M. tuberculosis*. За първи път в страната са доказани щамове с генотип „Пекин”, считани за глобално разпространени, но смятани за редки на Балканите и липсващи в България. Доказано е, че в страната, сред MDR щамовете на *M. tuberculosis* доминира VNTR/сполиготип ST41 - 41.5%, който е слабо разпространен ~3% сред чувствителните щамове на *M. tuberculosis*. ST41 може да се счита за маркер за множествена резистентност при *M. tuberculosis* (1,30,41, глава от монография 2).

Принос с оригинален характер е разработеният метод със сух реактив за оценка на нитратредуктазна активност при *M. tuberculosis*, признат с патент Рег. №. 108 464/2003 и с доказана ефективност в редица изследвания (9, 11, 23, 26).

Приноси с потвърдителен характер.

Според динамиката на лабораторните резултати от молекулярно-генетичните изследвания се прави извода за активно развитие на туберкулозния процес или за реконвалесценция (3,17).

С помощта на разработеният от лабораторията метод на базата на *omp1* гена за диагностика на *Chlamydia trachomatis* са получени реални данни за разпространението на хламидиалните инфекции в София, което е значително по-ниско в сравнение с данните от серологичната диагностика. Установено е, че резервоар на инфекцията са предимно мъжете (24,40,44,51).

С помощта на нови диагностични методи (36,43) и значителен брой изследвани (2207 с 21.9% положителни проби) е изяснена динамиката на разпространението на коклюша през последните шест години в София. Най-засегнатата възрастова група са деца под 1-годишна възраст (11, 13, 15, 16, 29, 36, 38, 42, 43, 51).

Потвърждава се възможността AFLP профилът на бактериалния геном да служи за точна родова и видова идентификация на изследваните обекти (13,18,20,49). С помощта на

AFLP анализа се потвърждава съществуването на значителна генетична дивергенция между вариететите от серотипове А, D и изследвани клинични изолати на *Cryptococcus neoformans*. Серотип D е значително по-отдалечен от който и да било от изследвани референтни и клиничните щамове (12,20).

С потвърдителен характер са изследванията потвърждаващи теорията за екзогенен и ендогенен произход на вагиналната кандидоза. Чрез прилагането на RAPD техниката за типирание се наблюдава, че рекурентната вагинална кандидоза се причинява от щамове, чийто източник е екзогенен (21,49).

Приноси с практически характер.

Разработени са и апробирани методи за идентификация и типирание на медицински значими гъбички и бактерии и за анализ на получени чрез протопластна фузия хибридни микроорганизми – AFLP, RAPD и място-специфична PCR амплификация (12, 13, 14, 18, 20, 21, 33, 41, 47, 49), методи за молекулярна диагностика на туберкулозата (3, 17, 22, 51). Доказва се възможността PCR техниката да бъде използвана за мониториране на хода на лечението, като се прави заключението, че резултатите трябва да бъдат последователно отрицателни, за да се приеме, че процесът на активна терапия е завършен и пациентът може да остане само за наблюдение.

Разработен е оригинален метод за PCR диагностика на *Chlamydia trachomatis* на базата на *omp1* гена, който успешно се прилага рутинно от лабораторията за изследване разпространението на хламидиалните инфекции (24, 40, 44, 51).

За първи път в страната лабораторията въвежда молекулярно-биологична диагностика за най-широк кръг от причинители на бактериални атипични пневмонии. Въведени са PCR тестове за четири основни причинителя - *C. burnetii*, *L. pneumophila*, *C. pneumoniae* и *M. pneumoniae*, *H. influenzae* и *S. pneumoniae* (6, 9, 15, 16, 29, 32, 36, 38, 39, 42, 43, 51).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стефан Панайотов е познат като уважаван и висококвалифициран специалист и учен в областта на молекулярно-биологичните методи в микробиологията. В диагностичната и научна практика използва широк набор най-съвременни класически микробиологични и генетични методи за доказване причинители на инфекциозни заболявания в клинични материали и природни вектори, видовата им идентификация и епидемиологичното им типирание; методи за определяне на антибиотична резистентност и други. С богатия си опит и с ръководената от него референтна лаборатория обогатява и издига на високо ниво научната и научно-приложната дейност на Националния център по заразни и паразитни болести, както

и спомага значително за създаването и развитието на медицински специалисти и научни кадри.

Значението на постигнатите приноси личи от публикациите в престижни международни списания с висок импакт фактор (общ ИФ-28,622) и още повече от значителния брой цитирания от български и предимно чужди изследователи (158). Всичко това ми дава основание убедено да препоръчам на почитаемите членове на журито за обявения конкурс да присъдят на Стефан Вълчев Панайотов научното звание «Доцент по микробиология»

РЕЦЕНЗЕНТ:



(Проф. д-р И. Митов, дмн)

София, 7.01.2011 г.