



До Председателя на Научното жури,  
определенено със заповед 27/01.02.2017г.  
на Директора на НЦЗПБ-София  
Проф. д-р Тодор Кантарджиев, дмн

## СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Мариана Атанасова Мурджева, дм, мзм  
от Катедра Микробиология и Имунология на Медицински Университет – Пловдив,  
за дисертационен труд за ОНС „доктор”

**автор:** Мария Радославова Павлова

**форма на докторантура:** редовна, в отдел „Микробиология“ на НЦЗПБ-София

**научна специалност:** „микробиология“

**профессионалено направление 4.3.** Биологически науки

**област на висше образование 4.** Природни науки, математика и информатика

**научен ръководител:** доц. д-р Петър Кирилов Петров, дм

**тема:** „Молекулярни методи за идентификация и типизиране на *Campylobacter jejuni/coli*“.

Декларирам, че нямам общи публикации с докторантката.

### Общо представяне на процедурата и докторанта

Г-жа Мария Павлова ми е представила в електронен вид комплект от материали за изготвяне на становище, съдържащ административни документи, дисертационен труд, автореферат и публикации. Документите съответстват на изискванията за процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в ЗРАС в РБългария и Правилника за приложението му в НЦЗПБ-София. Спазено е и изискването за назначаване на научното жури по заповед на Директора на НЦЗПБ-София (№ 27/01.02.2017 г.).

### Кратки биографични данни на докторанта

Г-жа Мария Павлова е роден в гр. Троян на 5.03.1987 г. Завършва висшето си образование през 2009 г. в Биологически факултет на СУ „Кл. Охридски“ като бакалавър по биология и химия, а през 2011 се дипломира като магистър-ембриолог в програма „Биология на развитието“. От 2014 г. след успешно издържан конкурс е назначена за редовен докторант в Националната референтна лаборатория по чревни инфекции в отдел „Микробиология“ на

НЦЗПБ-София. По време на докторантурата си участва в курсове за следдипломна квалификация, научни форуми и два изследователски проекта, финансиирани съответно от БАН и МУ-София.

### **Актуалност на тематиката**

Избраната тема за дисертация е актуална поради факта, че кампилобактериозите са едни от най-честите чревни инфекции с клинична картина на ентероколити. След не-тифните салмонелози и шигелозите, те заемат трето място в структурата на ентероколитите в България (по данни от предишно проучване) и едно от първите в европейските страни за чревни зоонози. Механизмът на предаване на инфекциите е свързан с консумация на контаминирана вода, както и животинска и птича храна. Тяхната диагностика в България обаче е все още голямо предизвикателство поради трудностите в култивирането и идентификацията на тези микроаерофилни бактерии и неприлагането на бързи и генетични методи в рутинната им диагностика. Липсата на системно регистриране на кампилобактериозите в страната, вкл. взривовете, води до затруднения в получаването на достатъчно данни за честотата на тези инфекции. Ето защо избраният от докторантката и нейния научен ръководител проблем е актуален и наложителен за разработване.

### **Характеристика и оценка на дисертационния труд**

Дисертацията съдържа 125 стандартни страници в следните раздели: увод - 2 стр., литературен обзор - 33 стр., материали и методи - 24 стр., резултати и обсъждане - 38 стр., изводи - 1 стр., приноси - 3 стр., публикации и участия в научни форуми - 4 стр., литературна справка - 14 стр. Авторефератът отговаря на изискванията на ЗРАС в РБългария и Правилника за приложението му в НЦЗПБ-София. Структуриран е по стандартния начин и отразява най-съществените моменти от дисертационния труд в 58 стр.

Литературният преглед представя достъпно историята, класификацията, развитието, епидемиологията и методите (фенотипни и генетични с техните предимства и недостатъци) за доказване на кампилобактерите, резистентността им към антимикробни средства. Обзорът завършва с анализ на нерешените въпроси за оптимизиране на диагностиката на кампилобактериозите.

В тази връзка авторката формулира ясно поставена цел, за решаването на която си поставя добре планирани 4 задачи.

В подраздела “Материали и методи” са описани включените в проучването 123 щама кампилобактери (човешки, животински и референтни). Изследвани са 114 фекални пробы, 96

от които на стационарно болни. Използвани са рутинни методи за култивиране и идентификация, а също и модерни генетични - мултиплексен PCR, PCR в реално време и пулсова гел-електрофореза (PFGE). Прави впечатление удачната комбинация от класически и съвременни микробиологични методи, както и от информативни статистически и графични методи за анализ и представяне на получените данни.

Резултатите кореспондират на поставените задачи. Потвърдена е водещата роля на *C. jejuni* като причинител на кампилобактериозите в страната. Оценявам високо извършените изследвания върху оптимизирането и валидирането на мултиплексния PCR метод за идентификация и диференциране на *C. jejuni/coli* от култура. Той е основан на определяне на родово специфичния за *Campylobacter* ген *cadF* и видово специфичните *hipO* (за *C. jejuni*) и *asp* (за *C. coli*). Данните убедително доказват по-високата точност на метода в сравнение с фенотипните за определяне на *Campylobacter*. Окуражаващи са резултатите за възможностите на EvaGreen Real-Time PCR метода при едновременно откриване и идентифициране на *C. jejuni* и *C. coli* директно от фекални преби с три двойки праймери. Подчертана е неговата бързина и точност за видовата идентификация на кампилобактерите в сравнение с рутинното културелно изследване; над 95% чувствителност и специфичност. Изследванията с PGEF метода, апробиран от докторантката за генотипиране на кампилобактерите, са добра основа за търсене на епидемиологична връзка между изолирани щамове. Това са пионерски за страната ни проучвания за доказаване на генетична свързаност между човешки и ветеринарни изолати на *C. jejuni*.

Предложените молекулно-биологични методи са конкретен практически принос за оптимизиране на диагностиката на кампилобактериозите.

Изводите са точни и съответстват на задачите и получените собствени данни.

Литературната справка е съвременна, адекватно цитирана и показва добрата осведоменост на авторката по проблема. Цитирани са общо 153 литературни източника, от които 12 - на български език, а останалите - на английски, предимно от последните 10 години.

Приемам формулираните от г-жа Павлова оригинални и приложни приноси на дисертационния труд, но не считам, че потвърдителните такива следва да се съобщават с приносен характер.

### **Преценка на публикациите по дисертационния труд**

Свързани с дисертационния труд, авторката е публикувала 8 научни статии в български списания. В 5 от тях тя е водещ автор, което недвусмислено подчертава личната ѝ роля и ангажираност в проведените проучвания. Броят на публикациите съответства на

изискванията в Правилника на НЦЗП-София. Видно е, че е представила основните резултати от дисертацията си на 6 научни форума.

### **Лично участие на докторанта**

Потвърждавам добрите си лични впечатления от ангажираността на г-жа Павлова в представянето на резултатите от дисертационния си труд на научни форуми, вкл. на Научната конференция “Наука и младост” в МУ-Пловдив през 2016 г., където спечели първа награда за доклада си.

### **Критични бележки и препоръки**

В дисертационния труд има технически несъответствия, граматически и правописни грешки. Независимо от тях, достойността му не се намаляват. Препоръчвам максимално бързо да се оформи монография по темата.

В ЗАКЛЮЧЕНИЕ, дисертационният труд на г-жа Павлова напълно отговаря на ЗРАС в РБългария и на специфичните изисквания на Правилника за приложението му в НЦЗПБ-София. Планираните изследвания са извършени в достатъчен обем, а резултатите са добре онагледени, интерпретирани и визуализирани. Приносът за въвеждане на молекулярно-биологични методи за идентификация и типизиране на *C. jejuni* и *C. coli* от изолирани култури и директно от фекални преби е значителен. Анализирати цялостната документация, представена за оценка от Научното жури, считам, че г-жа Павлова - докторант в докторска програма по микробиология, заслужава придобиването на научната степен ОНС „доктор“. С оглед на това, като член на научното жури ще гласувам положително.



10.03.2017 год.

Изготвил становището:

Проф. д-р Мариана Мурджева, дм