

**СТАНОВИЩЕ**

**ОТ ДОЦ. Д-Р МАЯ СТАНКЕВА МАРИНА, Д.М.**

**Доцент в Отдел Микробиология**

**Национален Център по Заразни и Паразитни Болести – София**

**Научна специалност – Микробиология**

**Член на научното жури/заповед №504 от 27.11.2012г.**

**Относно**

**защита на дисертационен труд**

**за присъждане на**

**образователна и научна степен „Доктор“**

**по научна специалност „Микробиология“ шифър 01.06.12**

**на тема**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ  
ТОКСИГЕННОСТТА И РЕЗИСТЕНТНОСТТА КЪМ  
ФЛУОРОХИНОЛОНИ НА ЩАМОВЕ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE***

**автор на дисертацията**

**Владимир Евгениев Толчков**

**Научни ръководители:**

**Доц. д-р Мая Станкева Марина, дм**

**Проф. Д-р Тодор Веселов Кантарджиев, дмн, мзм**

Представеният ми за становище дисертационен труд по обем, цел и задачи, резултати, изводи и приноси напълно отговаря на изискванията за дисертационен труд.

Уводът е много насочващ, а литературният обзор засяга широк кръг въпроси – характеристика на *Clostridium difficile*, интересни данни за социалното значение на причиняваните от него болести и токсините му, както и данни за резистентността му към хинолони. Описани са подробно и молекулярните методи, някои от които са използвани в дисертацията.

Целта е формулирана точно и ясно – проучване факторите на токсигенност и резистентността към флуорохинолони на изолирани от пациенти в български болнични заведения щамове *Clostridium difficile*, както и на контролни такива.

Въз основа на целите са формулирани и задачите – да се оптимизира протокола за изолиране на клостридиална ДНК, както и на условията за амплификация на гените, кодиращи токсините A и B и на гените, кодиращи гирази – *gyrA* и *gyrB*, част от ензимната система на флуорохинолоновата резистентност; да се разграничават вариациите на гена *tcdC* с двойки праймери, известни до момента в литературата и да се секвенира гена *tcdC* за доказване различията на тези вариации.

Реализирането на поставените задачи обуславя необходимостта от усвояването и прилагането на подходящи методи – както класическите микробиологични методи за изолиране и идентификация на *Clostridium difficile* и Е-тест за изпитване антимикробна чувствителност на изследваните щамове, така и най-нови молекулярни методи като PCR и секвениране на гени, кодиращи токсин A и B, и гиразите.

Най-съществената част от дисертационния труд е разделът „Резултати и обсъждане“. Той включва адекватен илюстративен материал

от 7 таблици и 21 фигури. Държа да подчертая, че експерименталната част на дисертационния труд е задълбочено и прецизно изпълнена, с научни и научно-приложни приноси на дисертацията.

Въз основа на прецизно проведените изследвания и критично съпоставяне на получените резултати за първи път е установена разлика в ампликоните на агарозен гел с известни до момента праймерни двойки, които ампликони са възприемани като една изоформа досега. За първи път в България е проучена на генетично ниво и антибиотичната резистентност към флуорохинолони на *Clostridium difficile*. Дори само тези резултати са достатъчни, за да бъдат оценени високите научни приноси на дисертацията.

Разработваният проблем е актуален и изисква комплексни познания в областите на генетиката и микробиологията. Като научен ръководител с удоволствие отбелязвам, че целите и задачите на докторската дисертация са изпълнени. Използването на различни методи и подходи от Владимир Толчков спомагат да бъде осъществен образователният характер на дисертацията. Приемам напълно и одобрявам направените изводи и приноси.

В резултат на получените данни се дава възможност за нови изследвания и разширяване на проблема с по-задълбочено проучване на различните делеции в гена *tcdC*, както и на връзката между мутациите в гените *gyrA* и *gyrB* и нивото на флуорохинолонова резистентност.

Материалът, включен в автореферата, напълно отразява проведените изследвания в рамките на дисертацията.

Във връзка с този студ са направени 7 статии, една от които е с импакт фактор, както и 4 участия в конгреси.

## **Заключение**

Въз основа на всичко изложено до тук и като имам предвид актуалността и особената важност и значение на проблема *Clostridium difficile*, както и оригиналните и научно-приложни приноси на дисертационната тема, считам, че Владимир Евгениев Толчков отговаря на всички изисквания, за да му бъде присъдена **образователната и научна степен „Доктор“** и предлагам на членовете на уважаемото научно жури да гласуват положително.

Изготвил становището: .....  .....

30.11.2012 г.

/Доц. д-р М. Марина, дм/