

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Цветелина Сашкова Паунова-Кръстева
Институт по микробиология „Стефан Ангелов“, БАН

Относно: оценка на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“, Професионално направление: 4.3. Биологични науки (Микробиология).

Автор на дисертационния труд: Мария Илиева Пандова

Заглавие на дисертационния труд: „Ентерококите - на границата на полезното и вредното“

Научен ръководител: проф. д-р Петя Христова

Актуалности и значимост на дисертационния труд

Представителите на рода *Enterococcus*, като нормални обитатели на стомашно-чревния тракт представляват интересен научен обект, от една страна поради техните пробиотични свойства а от друга поради наличната им резистентност към различни антимикробни агенти. Значимата им роля в подобряване на органолептичните свойства на млечно-киселите продукти, повишава тяхната приложимост като закваски или спомагателни култури. Способността им да произвеждат млечна киселина, оцетна киселина, водороден пероксид и бактериоцини подсказва техният пробиотичен спектър, но към момента употребата им като човешки пробиотик е силно ограничена. Причината за това се дължи на тяхната патогенност, способност за хоризонтален трансфер на гени, както и разглеждането им като причинители на вътреболнични инфекции. Именно наличието на тези аспекти представлява пречка, компрометираща приложението им като пробиотици в храните. В тази връзка разглеждането на тази критична, но и същевременно актуална тема представлява обект на настоящият дисертационен труд.

Структура и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е конструиран на 198 стандартни страници. Структурата му е съобразена с подредбата характерна за тази категория научни трудове, като съдържа всички необходими раздели: Заглавна страница, Съдържание (4 стр.), Въведение (2

стр.), Литературен обзор (49 стр.), Обобщение (2 стр.) Цел и задачи (1 стр.), Материали (5 стр.) Методи (11 стр.), Резултати (74 стр.), Изводи (1 стр.), Литература (53 стр.), Приноси (1 стр.). Онагледен е с 16 таблици и 39 чернобели и цветни фигури.

Литературният обзор обхваща детайлна характеристика на представителите на род *Enterococcus* както следва: таксономични белези, клинични заболявания, фактори определящи вирулентния им потенциал, антибиотична резистентност, хоризонтален трансфер на гени, CRISPR системи и връзката им с антибиотичната резистентност. Подробно са разгледани и положителните свойства на ентерококите, както и възможностите за тяхното приложение като пробиотични продукти на пазара.

Завършвайки литературният обзор с кратко обобщение е изведена точно и прецизно **целта** на настоящия дисертационен труд. Кратко и целенасочено са определени за изпълнение експерименталните задачи, давайки цялостна представа за посоката на провежданите изследвания и изясняване на поставената цел.

Частта **Материали и методи** е разделена, като последователно са описани първо използваните материали, последващи от приложените методи. Последните обхващат различни класически подходи за идентификация и детекция на изолатите, както и съвременни такива насочени към целогеномно секвениране, биоинформатична обработка и др. Проведени са и статистически анализи за сравняване на броя на гените за антибиотична резистентност и вирулентност, полови феромони, агрегационни вещества и др. като е използван t-теста на Welch.

Раздел **Резултати** включва серия от експерименти, които точно следват поставените задачи. Проведени са видова идентификация и филогенетично сравнение на 72 ентерококови щама от различни екологични ниши: гастроинтестиналният тракт на охльови, български кисели млека, зряло краве сирене, прясно краве сирене, дюнер, прясно краве мляко, както и ново изолирани от майчина кърма. Целогеномно са секвенирани и депозиран в NCBI Genome четири щама *E. faecalis* и два щама *E. mundtii*. Идентифицирани са множество гени за резистентност към различни антибиотици, което обогатява базата литературни данни с ценна информация. За изясняване на степента на патогеност на тестваните изолати, докторантката е провела широкомащабен скрининг на гени свързани с вирулентността при ентерококите. Нещо повече извън изследваните чрез PCR са открити и такива асоциирани с биофилм образуването, синтеза на пили и др. Най-голям брой гени за вирулентност са детектирани при изолатите от кърма. Проверено е наличието на гени за: продукция на

хемолизин, желатиназа, нуклеаза, както и такива за антибиотична резистентност. Направен е заключителен извод за висока антибиотична резистентност и вирулентен потенциал при изолатите от кърма. Изследвани са и редица генетични детерминанти отговорни за хоризонталния трансфер на гени, CRISPR-локусите и CRISPR-асоциираните белтъци. Прави впечатление включването на богата база от статистически данни, биоинформатични анализи, както и боравене с различни съвременни програми за имидж анализ на генерираните данни. Имайки предвид заглавието на дисертационния труд логично е включен пораздел свързан с потенциала на ентерококите за приложение в пробиотични продукти. В тази посока е направен анализ за проява на антагонизъм срещу четири хранителни патогена. Към анализа на данните за инхибиране в проценти имам препоръка за добавка на статистическите отклонения (Фиг. 28). Въз основа на проведените изследвания е направена оценка на безопасността на два щама с цел употребата им като пробиотични продукти.

Представените изводи и приноси съответстват на получените данни като подчертават оригиналност, съвременен характер на изследванията и приложна значимост.

Цитираните литературни източници са съвременни от последните години и наброяват общо 500.

Получените резултати са докладвани на общо 11 национални и международни форуми. Докторантката е участник в пет научни проекта.

Преценка на публикациите по дисертационния труд

Част от получените резултати от дисертационния труд са включени в 2 публикации. Една от статиите е с квантил Q1 към списание *Antibiotics*. Другата статия е с квантил Q2 в списание *Pathogens*. Участието на докторантката като първи автор несъмнено отразява нейният принос в двете статии.

Оценка на автореферата

Автореферата е оформен по изискване и наброява 102 стр. Отразява прецизно и точно получените данни и направените изводи.

Изпълнение на минималните национални изисквания

- Група от показатели А – 50 точки при изисквани 50
- Група от показатели Г – 45 точки при изисквани 30

Заклучение

Обобщавайки цялостният дисертационен труд предоставен ми за оценка, смятам че е напълно завършен с редица ценни научни данни, оригинални изводи и приноси с фундаментален и научно-приложен характер. Дисертационния труд отговаря на всички изисквания за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“, определени в Закона за развитие на Академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане, както и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на Академични длъжности в Софийски Университет „Св. Климент Охридски“. Докторант Мария Пандова е използвала богат арсенал от класически и съвременни микробиологични, фенотипни и молекулярно-генетични методи, което я определя като квалифициран млад изследовател, методологично подготвен за бъдещи научни разработки. Въз основа на направеният по-горе анализ давам своята положителна оценка на предоставените дисертационен труд и автореферат и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждане на Образователната и научна степен „Доктор“ на Мария Илиева Пандова в Професионално направление 4.3. Биологични науки (Микробиология).

07.09.2025 г.

София

Подготвил становището

/доц. д-р Цветелина Паунова-Кръстева/