

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Илия Николов Илиев,

катедра „Биохимия и микробиология” при ПУ „Паисий Хилендарски” – Пловдив

Относно: дисертационен труд на тема „Характеризиране, ефективност и поносимост на пробиотичната добавка Лактина при животни ” представен от докторант Николай Теодоров Карапетков от катедра „Обща и промишлена микробиология” към СУ „Св. Климент Охридски“ за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР” по професионално направление по област на висше образование 4.Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3 Биологически науки; научна специалност по Микробиология.

Получени материали: Дисертация, автореферат, списък с публикации по дисертацията, папка с материали, описани в заявление на дисертантката в 12 позиции, CD с материали по дисертацията.

Със заповед № РД-38-124/09.02.2018 г. на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“ съм определен за член на научно жури за защита на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор” от докторант Николай Теодоров Карапетков на тема „Характеризиране, ефективност и поносимост на пробиотичната добавка Лактина при животни ”. Експерименталната работа по дисертационния труд е проведена в “Лактина” ООД, град Банкя и Биологическия факултет на Софийския университет в периода 2013 – 2017 г.

Представяне на докторантката

Господин Николай Теодоров Карапетков е зачислен като докторант на самостоятелна подготовка със заповед на ректора на СУ „Св. Климент Охридски“ № РД 20-305/03.02.2016г. към катедра „Обща и промишлена микробиология“.

Николай Карапетков е магистър-инженер по технология на хранителните продукти след успешно преминаване на пълния курс на обучение по специалност технология на хранителните продукти на Техническият университет – Берлин в периода 1999-2008г. В периода септември – декември 2006г. е сътрудник във

фирма „Francia Mozzarella“, Берлин. От 2010г. до момента работи в „Лактина“ ООД, като технолог. Занимава се с организацията по кандидатстването за одобрение на Пробиотик „Лактина“ от Европейската агенция по сигурност на храните (EFSA) при различни категории животни, лиофилизация на млечно-кисели бактерии.

Актуалност и значимост на темата на дисертацията

В Европейския съюз и САЩ стандартната представа за хранене се променя и разширява, като излиза от рамките на разбиранията в миналото за задоволяване на глада, оцеляване, избягване на вредните ефекти към акцентирание върху използване на храните за подобряване на общото физическо състояние и здравето, както и намаляване на риска от заболявания. Представите за състава и промените в човешката микрофлора предлагат нови концепции в основата на които е началното развитие и връзките на човешките микробиоми с множество физиологични функции. Разбирайки функционалната значимост на тези динамични съобщества включително и техния ефект върху физиологията на човека и заболяванията, разработването на нови терапевтици може да осигури допълнителни перспективи при третиране както на острите, така и на хроничните смущения. През последното десетилетие рязко е увеличен броя на случаите на рак на дебелото черво сред застаряващото население на Европа. В света за 2015 година са установени нови 1 360 000 нови случая на рак на дебелото черво и близо 700 000 от тях са с летален край. Като главна причина се посочва режима на хранене и качеството на храните.

Предлаганата дисертационна работа е по актуална тематика в областта проучване на пробиотичните свойства на пробиотик «Лактина». Той е български пробиотик, производство на Лактина ООД, гр. Баня и се прилага като фуражна добавка, съдържаща лиофилизирани чисти култури от *Lactobacillus bulgaricus* NBIMCC 8244, *Lactobacillus acidophilus* NBIMCC 8242, *Lactobacillus helveticus* NBIMCC 8269, *Lactobacillus lactis* NBIMCC 8764, *Streptococcus thermophilus* NBIMCC 8253 и *Enterococcus faecium* NBIMCC 8270 с общ брой микроорганизми $9,5 \times 10^9$ CFU/g и съдържание на млечна киселина 2-2,6%. Той е регистриран от Европейския орган по безопасност на храните като пробиотична добавка към комбинирани фуражи за прасенца сукалчета. Настоящата дисертация обхваща пълно изследване пробиотичния ефект на продукта «Лактина» ин виво върху селскостопански животни, значими за икономиката на България.

Анализ на дисертационния труд

Дисертацията е оформена по стандартен за България модел, написана е на 157 стандартни машинописни страници, първите дванадесетдесет от които не са включени в общата номерация, и съдържа следните основни глави: Съдържание – 2стр., Увод – 3 стр., Литературен обзор – 26 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 31 стр., Резултати и обсъждане – 73 стр., Изводи – 2 стр., Литература – 17 стр., Приноси – 1 стр. Дисертацията е удачно онагледена с 48 фигури и 50 таблици. Докторант Николай Карапетков е използвал достатъчно голям брой литературни източници общо 205, от които 3 на кирилица, над 50% от които са след 2000г.

Литературният обзор фокусира вниманието ни върху последните научни търсения и достижения относно пробиотиците, които се използват в животновъдството. Авторът на дисертацията специално е разгледал влиянието на пробиотиците върху имунната система на животните както и някои технологични показатели на готовите пробиотични продукти. В резултат на направения литературен обзор, докторантът ясно формулира целта на изследването, която включва оценка на основните функционални характеристики на млечнокиселите бактерии, влизащи в състава на пробиотична добавка „Лактина“ и охарактеризиране на нейния биологичен ефект като добавка към комбинирани фуражи за животни. Постигането на целта изисква решаването на множество разнообразни задачи, които докторантът е формулирал в 5 точки.

В раздел „Материали и методи“ са описани прецизно основните методи, които са прилагани при изпълнението на поставените задачи в дисертацията. Мащабността на заложения експеримент при разработването на дисертационния труд изисква прилагането на голям брой както класически, така и съвременни микробиологични, физикохимични, биохимични, ензимологични методи, методи за изследване на физиологични показатели при животни, които г-н Карапетков е усвоил. Всичко това е основание да считам че Николай Карапетков е придобил необходимия методичен опит при извеждане на научен експеримент. Към този раздел имам следния коментар: според мен част от данните за експериментите със животни могат да се включат към следващия раздел „Резултати и обсъждане“, защото са част от експеримента.

Резултатите от направените изследвания са представени детайлно в раздел „Резултати и обсъждане“ като са разделени в седем отделни точки и онагледени в 34 таблици и 43 фигури. Докторантът стартира с охарактеризиране на щамовете, влизащи в състава на пробиотика „Лактина“. За да охарактеризирам прецизността на проведенния експеримент ще подчертая, че докторантът изследва общо 6 щама

по морфология, физиолого-биохимични показатели и потвърждаване на видова принадлежност по API 50 СН. Инж. Карапетков изследва единият щам от продукта – *E. faecium* за наличие на вирулентни гени в генома и доказва отсъствието им, с което доказва възможността да се използва като част от състава на продукта при неговата регистрация. Авторът проучва основните функционални характеристики на щамовете от състава на пробиотика чрез ин витро експерименти, като изследва транзитната толерантност в ГИТ, адхезионните способности и колонизация в ГИТ, антимикробна активност, чувствителност към антибиотици. Допълнително докторантът изследва някои важни параметри за установяване годността и стабилността на продукта, които имат отношение към приложението на продукта - генетичната стабилност на щамовете и преживяемост на щамовете по време на съхранение.

В следващия етап от изследването докторант Николай Карапетков проследява ефективността на пробиотика при експериментални животни (ин виво експеримент), което бих изтъкнал като особена заслуга на дисертацията и рядко срещащ се експеримент поради огромната организация и високата цена на изследването. Авторът е използвал като експериментални животни зайци, пилета и овце, като проследява както технологични показатели, така и ветеринарно-медицински показатели. Авторът категорично доказва ефекта на изследвания пробиотик както за здравния статус на животните, така и за ефективността при тяхното угояване като определя оптималната доза и режима на употреба.

Всички резултати са представени и дискутирани в отделните глави от раздела „Резултати и обсъждане“, които логично следват хода на решаването на поставените задачи. Необходимо е да се отбележи факта, че докторантът представя много оригинални данни от направеното проучване особено що се касае за проведения ин виво експеримент.

В резултат на проучването инж. Карапетков е формулирал 9 извода, които по принцип следват хода на изследването и решаването на задачите. Те могат да се групират в две основни групи – едната обхваща резултати от ин витро експериментите и втората ин виво експериментите, които ми дават основание да формулирам един обобщен извод, че пробиотикът „Лактина“ в установения състав и количество на микроорганизмите е ефективен при отглеждане в промишлени условия на пилета и зайци.

Докторантът формулира четири приноса, които можем да причислим основно към научно-приложните приноси. Един от тях е с особена важност при регистрацията на продукта в EFSA, доказването на липсата на гени, отговорни за патогенитета на *Enterococcus faecium* NBIMCC 8270.

Автореферат и публикации

Дисертацията е написана на ясен и стегнат научен език. Авторефератът отговаря напълно на целите, задачите и постигнатите резултати в дисертационния труд.

Резултатите от дисертацията са публикувани в седем научни публикации, в три от които докторантът е първи автор. Три от публикациите са в списания с импакт фактор. Резултатите от дисертацията са представени и на 5 научни форума с изнасянето на два доклада и представянето на три постера. Експерименталната работа в дисертацията е част от изпълнението на проект за регистрация на пробиотика „Лактина „ в EFSA. За значимостта на научните изследвания в дисертацията може да се съди по забелязаните общо 29 цитирания на три от публикациите на автора.

Въпроси, забележки и препоръки

Към доктората имам следните въпроси:

1. Как ще обясните съществените различия в антимикробните свойства на продукта „Лактина“ след инкубация в различни среди и преди и след корекция на рН ?
2. В каква степен оптимизацията на условията, при които се получава пробиотика (ферментация и лиофилизация) биха повлияли различните му функционални параметри?

Към докторанта имам следните препоръки:

1. Приемам всяка промяна в оформянето на дисертационния труд, различна от класиката, която обаче да способства за по-лесното възприемане на материала.
2. Техническите пропуски при оформянето на дисертацията отдавам на младежкия устрем, но препоръчвам в бъдеще да влагате по-голямо старание при оформянето на официални документи.

Заклучение:

Оценката ми за дисертационния труд, автореферата, научните публикации и научните приноси на докторанта Николай Теодоров Карапетков е напълно положителна. Въпреки направените препоръки, бих искал да отбележа още веднаж достойнствата ѝ – на първо място една мащабна по размер изследователска работа, надхвърляща значително необходимия минимум за една дисертация, съдържаща

огромно количество резултати, правилно интерпретирани и обобщени. Оригиналният характер на получените данни за пробиотика „Лактина“ разкриват перспективи за прилагането му с конкретен профилактичен и лечебен ефект в животновъдството. Открива се възможност за производство на оригинални пробиотични продукти за различни приложения.

Представената дисертация напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото прилагане. Постигнатите резултати ми дават основание да предложа да бъде присъдена образователна и научна степен „доктор” на **инж. Николай Теодоров Карапетков** по професионално направление по област на висше образование 4.Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3 Биологически науки; научна специалност по Микробиология.

10.04.2018г.

Изготвил:

Пловдив

(проф. д-р Илия Илиев)