

Становище

на представения дисертационен труд на тема:
**„МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИ МЕТОДИ ЗА ЕПИДЕМИОЛОГИЧНО
МАРКИРАНЕ НА КЛИНИЧНО ЗНАЧИМИ ДРОЖДИ”,**
на редовен докторант на Виктория Стефанова Левтерова, към Национален
център по заразни и паразитни болести
за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”, по научна
специалност 01.06.12 – Микробиология ;
Научен ръководител: Проф. Д-р Тодор В. Кантарджиев, ДМН

Рецензент: доц. д-р Светла Трифонова Данова, Секция Микробна генетика
при Институт по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН
Съгласно заповед № 78/19.07.2011 г. на Директора на НЦЗПБ

Предственият дисертационен труд е насочен към изключително важен проблем на съвременната микробиология, а именно- бързото нарастване на случаите от гъбични инфекции на фона на променящ се спектър от патогени с усложнена клинична картина и породената от това спешна нужда от ефективни методи за епидемиологично проучване и типизиране на причинителите. Докторантката разработва ДНК базирани молекулярно - генетични методи за маркиране на клинично значими гъби, които да подпомогнат развитието на рационални мерки за контрол на инфекциите и терапевтични стратегии. Всичко това ми дава основание да подчертая актуалността и значимостта на разработката. Не само като тема, но и като съдържание трудът е иновативен и представя важни резултати в теоретичен и приложен аспект. Технически той е правилно оформлен на 127 стандартни страници, като са спазени изискванията за форма, подредба и съотношение на отделните раздели.

Литературният обзор е задълбочен и добре структуриран, представяйки аналитично различните фенотипни и генетични методи за биотипиране и начините за тяхното успешно допълване. От него личи добрата осведоменост на докторантката по разработвания проблем и методична готовност за самостоятелна изследователска работа.

Целта: „*Да се разработят и изпитат молекулярни методи за типиране на медицинско значими гъбички, като се проучи възможностите на тези методи за геномно типиране, таксономияни и филогенетични отнасяния и типиране на генна експресия при стресови фактори*” е формулирана много добре, но надхвърля

изискването като сложност и обем, на образователната и научна степен доктор. За постигането и докторантката е формулирала ясно и точно 5 експериментални задачи.

Материалите, методичните подходи и условията на експериментите са подробно описани. Държа да отбележа оригиналната експериментална схема, изцяло разработена от докторантката, в опитите по молекулни анализи на генната експресия при стресови условия, а така също и разнообразния панел от голям брой изолати на клинично значими видове гъби. Виктория Левтерова не се ограничава само в изследване на представителите на род *Candida*, но включва и представителите на род *Rhodotorula* и *Cryptococcus*. Това и дава основание впоследствие правилно да оценява филогенетична степен на родство сред изолати от различни ареали и е доказателство за универсалност и/или специфичност на разработваните генетични методи и протоколи за анализ.

Получените резултати са обобщени и добре илюстрирани с 19 фигури и 8 таблици. Тук бих искала да отправя една препоръка към докторантката- за част от фигурите (напр. Фиг 4, Фиг. 5.) е добре да бъде дадена повече информация по условията на форетичен анализ и легенда относно стартовете за да се анализира коректно получената с тези опити информация.

Докторантката представя в отделна глава, подробна и критична дискусия на получените резултати. Много добро впечатление прави съпоставянето, при различните молекулярни методи, на положителните елементи и на недостатъците на всеки един от тях и каква е приложимостта им при различните видове анализи (филогенетични, таксономични, епидемиологияни) заложени в целта на дисертацията.

В обсъждането аргументирано са представени дискриминативните възможности на двата праймера M13 и (GACA)₄ при типиране на *Candida* изолати от пациентки с хронична вагинална кандидоза. Високо оценявам проведените RAPD-PCR анализи, тъй като освен оптимизирането им за анализи на гъби, те се опитват да дадат отговор на въпроса за пътищата за предаване на вагиналната кандидоза, която засяга около 75% от жените.

Независимо от самокритично дискутирания отрицателен резултат от опитите за типиране чрез място-специфична PCR амплификация, тази част от дисертацията има важен методичен принос. Тя доказва слаба дискриминативна способност на техниката и неприложимост за конкретния тип гъбични патогени. Затова докторантката правилно се насочва към други по-сложни, но по-дискриминативни подходи, като AFLP и cDNA-AFLP техниките.

Много иновативни елементи са представени при разработката и обсъждането на AFLP техниката като метод за таксономия, идентификация, филогенетично родство и епидемиология на медицинско значими гъбички. Този етап от работата, както и разработката и прилагането на cDNA-AFLP техниката за типиране на генетични маркери свързани със стресовия отговор са най-трудоемките и сложни етапи от работата. Те представляват научно предизвикателство дори за съвременни добре оборудвани западни лаборатории. Резултатите доказват, че Виктория Левтерова се е справила отлично с тези сложни научни задачи и правилно и критично е оценила възможностите на методите.

Позволявам си да отправя един въпрос към докторантката: *За нуждите на практиката, кой от методичните подходи, или комбинацията от кои от тях би могла да помогне епидемиологичните изследвания на зачестяващите напоследък нозокомиални гъбични инфекции?*

Представените изводи са точни, ясни и конкретни. Дисертацията представя 7 приноса с научно-теоритичен, методичен и научно-приложен характер. Те доказват още веднъж един изграден специалист, способен да анализира и подбира методични подходи и условия за решаването на такива сложни микробиологияни проблеми.

В заключение искам да подчертая, че дисертационния труд на Виктория Левтерова представлява едно задълбочено, иновативно и мащабно научно изследване, при което са получени стойностни научни резултати и приноси.

Оценявайки достойнствата на разработката и пълното съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България, Правилника за неговото прилагане и Правилника за НЦЗПБ, давам своята **положителна оценка** за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ на Виктория Стефанова Лефтерова.

Гр. София
04.08.2011 г.

Подпись:


(доц. С. Данова)