



СТАНОВИЩЕ

от професор Георги Георгиев Беев, дб,
Тракийски университет, гр. Стара Загора

на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“;

Област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика;

Професионално направление: 4.3. Биологически науки;

Специалност: Микробиология.

Автор: Деян Валентинов Дончев

Тема: „Метагеномни проучвания върху детерминантите на антибиотична резистентност в моделни проби от околна среда.“

Научен ръководител: доц. Иван Иванов, дм, Национален център по заразни и паразитни болести, гр. София.

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № 439 от 20.12.2024 г. на Директора на НЦЗПБ съм определен за член на научно жури за осигуряване процедура по защита на дисертационен труд с тема „Метагеномни проучвания върху детерминантите на антибиотична резистентност в моделни проби от околна среда.“ за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, специалност „Микробиология“.

Автор на дисертационния труд е Деян Валентинов Дончев – докторант в редовна форма на обучение към НРЛ КМАР, НЦЗПБ, гр. София, с научен ръководител доц. Иван Иванов, дм, Национален център по заразни и паразитни болести, гр. София.

Представеният от Деян Валентинов Дончев комплект материали е в съответствие със ЗРАСБ и вътрешни правила на НЦЗПБ.

2. Кратки биографични данни на докторанта

Деян Валентинов Дончев е бакалавър по молекулярна биология, и магистър по микробиология и микробиологичен контрол, получени в Биологически факултет, СУ „Кл.

Охридски“. Работи като биолог-специализант по лабораторна микробиология към НРЛ КМАР, НЦЗПБ, гр. София, България,

3. Актуалност на тематиката

Избраната тематика на дисертационния труд е от изключителна актуалност в контекста на нарастващата глобална заплаха от антимикробна резистентност (АМР). Световната здравна организация (СЗО) определя АМР като едно от най-сериозните предизвикателства за общественото здраве, което налага спешни мерки за мониторинг и контрол. В настоящата разработка проблемът е разгледан през призмата на околната среда, която все повече се признава за резервоар и посредник в разпространението на резистентни микроорганизми и гени за антибиотична резистентност (ГАР). До момента в България липсват систематични проучвания върху разпространението на АМР в околната среда, което прави дисертационния труд иновативен и значим. Използването на метагеномни методи за анализ на микробни съобщества и ГАР осигурява съвременен и високочувствителен подход, който позволява детайлна характеристика на бактериалния състав и механизмите на резистентност.

Практическата стойност на изследването е значителна, тъй като резултатите могат да послужат като основа за бъдещи мониторингови програми и регулаторни политики в областта на общественото здраве и екологията. Това е първото по рода си комплексно проучване в България, което поставя основите на системен екологичен надзор върху антимикробната резистентност.

В заключение, дисертационният труд е навременен, научно обоснован и с висока обществена значимост, като адресира ключов проблем, който има както социално-здравни, така и екологични измерения.

3. Познаване на проблема

Докторантът демонстрира задълбочено познаване на проблема с АМР в околната среда, като ясно формулира неговото глобално значение и екологичните фактори, допринасящи за разпространението на резистентни бактерии (БРА) и ГАР.

Трудът показва широка осведоменост относно най-съвременните методи за анализ, включително метагеномни подходи и биоинформатични инструменти, което подчертава техническата компетентност на изследователя.

Докторантът не само представя експериментални резултати, но и ги анализира критично, сравнявайки ги с международни проучвания, което доказва способността му да интерпретира данни в научен контекст.

Изводите в дисертацията са добре аргументирани и практически приложими, като предлагат основа за бъдещи мониторингови програми. Това потвърждава високото ниво на теоретична подготовка и експериментален опит на докторанта.

4. Методика на изследването

Методиката на дисертационния труд е цялостно разработена, детайлно описана и научно обоснована, като включва модерни молекулярни, микробиологични и биоинформатични подходи за анализ на АМР в околната среда, обхващащи:

- Събиране и обработка на проби от повърхностни, подпочвени и отпадъчни води, като са използвани различни стратегии за концентриране на бактериална биомаса – вакуум филтриране и флокулация с обезмаслено мляко.
- Изолиране на ДНК чрез оптимизиран in-house протокол, доказал предимства пред комерсиалните китове.
- Метагеномно секвениране (16S rRNA и shotgun) за таксономична и функционална характеристика на микробните общности.
- Биоинформатичен анализ, включващ таксономична идентификация, оценка на ГАР и анализ на подвижни генетични елементи (ПГЕ).

Методите са подходящо подбрани и валидирани, а експерименталният дизайн е детайлен и последователен, което гарантира висока надеждност на резултатите. Комбинирането на молекулярно-биологични и биоинформатични техники осигурява изчерпателна оценка на разпространението на АМР и нейното въздействие върху околната среда.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд следва класическата схема на научно изследване, започвайки с добре структурирано въведение в проблема, поставяне на основната цел и формулиране на конкретните задачи. Направеният преглед на литературата е задълбочен и обхваща ключови световни изследвания, като ясно се подчертава значимостта на антимикробната резистентност (АМР) като глобален здравен и екологичен проблем.

Поставените цели и задачи са добре формулирани, като обхващат широк спектър от научни въпроси – от методологична оптимизация на ДНК екстракция до анализ на бактериално биоразнообразие и детерминанти на резистентност в околната среда. В известен смисъл задачите са многостранни и амбициозни, но все пак подходящо интегрирани в логиката на изследването, без да се губи фокусът върху основната научна хипотеза.

Разделът „Материали и методи“ е особено добре разработен, като демонстрира дълбоко познаване на съвременните микробиологични, молекулярно-генетични и биоинформатични техники. Прави впечатление, че избраните методи са подбрани с вещина и обоснованост, като авторът не просто прилага утвърдени подходи, но и успешно адаптира и оптимизира лабораторни протоколи, особено в частта, свързана с изолирането на ДНК и концентрирането на бактериална биомаса. Специално внимание заслужават използваните метагеномни и биоинформатични анализи, които значително надграждат стандартните културелни методи и осигуряват детайлен поглед върху разпространението на резистентни бактерии и ГАР в околната среда.

Основната част на дисертацията – „Резултати и обсъждане“ е формално и логически разделена въз основа различните обекти на изследване (отпадъчни води, реки, подпочвени води), което позволява ясно групиране на резултатите и тяхната интерпретация в конкретен екологичен контекст. Обсъждането на резултатите е направено компетентно, на база достоверни и количествено обработени данни, което позволява извеждането на ключови закономерности и тенденции.

Анализът на научните и научно-приложните приноси в дисертационния труд показва напредък в няколко основни направления:

1. Разработване и валидиране на нови методологични подходи, включително оптимизиран in-house метод за изолиране на ДНК, който превъзхожда съществуващите търговски китове по добив и качество на ДНК.
2. Оценка ефективността на различни техники за концентриране на микробна биомаса, като се подчертава предимството на метода на флокулация с обезмаслено мляко пред класическото вакуум филтриране.
3. Детайлен метагеномен анализ на проби от екологично значими локации, включително ПСОВ, реки и подпочвени води.
4. Идентифициране на зони с висок риск от разпространение на антимикробна резистентност, като се подчертава ролята на пречиствателните станции като основен резервоар и източник на ГАР.
5. Разкриване на потенциала за хоризонтален генен пренос (ХГП) в природни среди, което повдига значителни въпроси относно екологичните и здравните последици от присъствието на резистентни бактерии във водните ресурси.

Сред по-значимите научно-приложни приноси са конкретните препоръки за мониторинг и контрол на АМР, които биха могли да послужат като основа за бъдещи регулаторни мерки в България. Данните от дисертацията предоставят не само фундаментална научна информация, но и практически приложими решения, свързани с мониторинга на ГАР и оценка на риска от замърсяване с резистентни бактерии в околната среда.

В някои аспекти дисертацията може да бъде още по-детайлна по отношение на експерименталната валидация на някои от откритите гени за резистентност и тяхната функционална роля в естествени условия. Например, би било полезно да се представят експериментални доказателства за експресията на някои от тези гени в изолирани бактериални щамове. Това обаче не намалява научната стойност на труда, а по-скоро очертава перспективи за бъдещи изследвания в тази област.

Несъмнено, постигнатите резултати и направените изводи имат широко приложение както в академичните изследвания, така и за разработването на екологични и здравни политики. Дисертацията е значим принос към науката и практиката, като предлага иновативен подход за изследване на антимикробната резистентност в обекти от околната среда.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Дисертационният труд е базиран върху съдържанието на 2 научни статии, публикувани в международни списания, реферирани в международни бази данни за научна литература WoS и/или Scopus. В цитираните статии, докторантът е на първо място в списъка на авторите, въз основа на което може да бъде преценен личния му принос. По отношение на точките, посочени в Правилника за приложение на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), докторантът напълно покрива изискванията от него 30 точки от публикации, като публикуваните статии върху дисертационния труд събират общо 45 точки.

Резултатите, включени в дисертационния труд, са получили публичност пред научната общност не само чрез публикуване в рейтингови списания, но и чрез представяне пред 2 научни форума, единият от които международен.

7. Автореферат

Авторефератът е изготвен според изискванията на съответните правилници и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

8. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Резултатите и приносите на дисертационния труд имат значителен научен и практически потенциал. Те могат да послужат за основа при изграждане на национална система за

мониторинг на антимикробната резистентност (AMP) в околната среда, което би подпомогнало ранното откриване и превенция на резистентни микроорганизми в критични екосистеми.

Данните за хоризонтален генен пренос и рисковете за човешкото здраве могат да бъдат използвани за разработване на стратегии за контрол на резистентните патогени. Освен това, методите, валидирани в дисертацията, имат приложение в здравния сектор и фармацевтичната индустрия за разработване на нови антибактериални стратегии.

Натрупаните знания могат да бъдат интегрирани в академичното образование, а резултатите да послужат за участие в международни изследователски проекти, насочени към екологичен мониторинг и борба с AMP. Това прави приносите на дисертацията ценни за науката и практиката.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в България (ЗРАСБ), Правилника за прилагане на ЗРАСБ и съответният Правилник на НЦЗПБ.

Трудът е добре структуриран, методологично обоснован и с висока научна стойност. Получените резултати имат широко приложение, както в академичната сфера, така и за разработването на политики за екологичен мониторинг. Дисертацията на Деян Валентинов Дончев отговаря на всички изисквания за присъждане на образователната и научна степен "Доктор" и представлява ценен принос към изследванията на антимикробната резистентност в околната среда.

Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното изследване, представено в дисертационния труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „Доктор“ на Деян Валентинов Дончев в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, специалност „Микробиология“.

Изготвил становището:

проф. Георги Георгиев Беев, дб