

**ДО ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НА НАУЧНО ЖУРИ
ОПРЕДЕЛЕНО СЪС ЗАПОВЕД №РФ 38-
722/ 18.12.2019 НА РЕКТОРА НА СУ „СВ.
КЛИЕМНТ ОХРИДСКИ“**

РЕЦЕНЗИЯ

относно дисертационен труд на тема „АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ НА НАНОСТРУКТУРНИ МАТЕРИАЛИ“ на Драгомира Светлозарова Даскалова, кандидат за придобиване на ОНС „Доктор“ в Професионално направление 4.3. Биологически науки по научна специалност „Микробиология“; научни ръководители ДОЦ. Д-Р ИЛИЯНА ИВАНОВА и ДОЦ. Д-Р ОРЛИН АНГЕЛОВ

Изготвил рецензията: Доц. д-р Иван Иванов, дм завеждащ „Национална референтна лаборатория по контрол и мониториране на антимикробната резистентност“ при отд. Микробиология, Национален център по заразни и паразитни болести

Декларирам, че нямам общи публикации или конфликт на интереси от друг характер с кандидата, по смисъла на § 1, т. 2а от ДР на ЗРАСРБ както и липса на обстоятелства по чл. 33.

Актуалност на темата. Неконтролируемото разрастване и разпространение на антимикробната резистентност (АМР) се превърна в един от водещите здравни проблеми на нашето съвремие. Данните от най-значимото пан-европейско проучване свързано с антимикробната резистентност публикувано в *Lancet Infectious Diseases* през 2018г., недвусмислено показаха, че социалната тежест (т.нар burden) на инфекциите причинени от някои резистентни бактерии, понастоящем вече е сравнима със щетите (вкл. икономически) от социално значими заболявания като туберкулоза, грип и СПИН (Cassini 2018). От друга страна смъртността асоциирана с АМР само в ЕС възлиза на 33 000 случая годишно, а загубите се измерват в милиарди. Разработването на нови средства и подходи за ограничаване и борба с тези инфекции е обект на интерес от страна на научни екипи от цял свят и е залегнало в Глобалният план на СЗО за действие срещу АМР. Благодарение на уникалните си свойства и въздействие върху микроорганизмите, наноматериалите се

явяват подходящ обект за изследване в борбата с резистентните патогени, особено при изработка на болнични настилки, мебели и др. с антимикробно въздействие както и редица други сфери в превенцията и контрола на инфекциите. Някои текстилни наноматериали на основата на ZnO вече са комерсиализирани и се използват успешно в лечебните заведения.

Предвид посоченото считам, че представената ми за рецензия работа е изключително актуална и предоставя нови и значими данни относно антимикробния ефект на прахообразни наноматериали, колаген-базирани нанокompозити и тънки филми, както и реакцията на бактерии към стресовите фактори от тяхното въздействие.

Структура. Дисертационният труд съдържа стандартните раздели и е разгърнат на 178 страници и включва осем таблици и 79 фигури. Цитирани са 432 литературни източника, като над 90% са от последните 10 години, което допълнително свидетелства за актуалността на работата.

Литературен обзор. Обзорът е представен на 46 страници и е логично структуриран в шест части: видове наноматериали, методи за синтез, антимикробен потенциал, антимикробен ефект, методи за оценка и приложение. Изчерпателно се дискутират защитните генетични механизми на микроорганизмите към въздействие с наночастици. Извършен е щателен преглед на научните постижения в областта при използване на стегнат научен стил. Изложените фигури са информативни и допринасят за изясняване на някои аспекти от текста. Предварителните препоръки, които поставих относно излагането на съвременните генетични методи и подходи за изследване различните взаимодействия на микроорганизмите с наноматериалите са взети в предвид. В края на обзора са посочени направленията и нерешените проблеми представляващи интерес, което логично насочва към целта на работата

Цел и задачи. Целта и петте задачи са прецизно формулирани, отразявайки основните аспекти и същността на дисертационния труд.

Материалите и методите (10 стр) са детайлно и коректно описани., от което личи високото ниво на компетентност на кандидатката. Много добро впечатление прави умелото боравене със значителен набор от традиционни микробиологични, микроскопски,

биохимични, физико-химични и статистически методи, които докторантката е усвоила. Всички стандартни микробиологични и биохимични техники са детайлно представени.

Протоколът за релативен експресионен анализ чрез количествена RT-PCR е описан адекватно, като са съобразени препоръките в предварителната ми рецензия.

Резултати и дискусия. Обединяването на резултатите и дискусията в общ раздел считам за адекватно решение, предвид по-лесното проследяване на логиката на резултатите и в съответствие с мултидисциплинарния характер на работата. Разделът логично започва с описание на наноматериалите. Електронно-микроскопските снимки са представени изключително информативно. Резултатите от Рентгеновата фотоелектронна спектроскопия (XPS) и Енергийно-дисперсионната рентгенова спектроскопия (EDX) внасят допълнителни детайли относно разпределението на елементите в наноструктурите, което е важно за взаимодействието им с бактериалните клетки.

По-нататък са представени резултатите от взаимодействието на различните дисперсни наночастици и колаген съдържащи нанокompозити с пет моделни вида микроорганизми чрез дифузия в агар. Установена е концентрационна зависимост както и синергизъм между някои от използваните частици (Ag и SiO₂). Интересен е факта, че именно спорообразувачия *B.cereus* се оказва значително по-чувствителен при наличие на Ag в системите. Авторката коментира като възможна причина включването на редуциран графенов оксид, който е с доказан ефект върху Грам положителни бактерии. При колаген съдържащите композити по-изразена чувствителност е наблюдавана при *C. lusitaniae*, вероятно поради синергизъм между наночастиците и хлорамфеникола в хранителната среда.

Резултатите от изследванията на тънки филми, показват, че при тези с компонентен състав TiO₂:Cu_{(100 nm²):Ag_(60 nm²) и дебелина на покритието 60nm, изградени без термична обработка, се установява най-силно изразен антибактериален ефект. Тук резултатите биха могли да се представят в табличен или графичен вид за по лесния им анализ и интерпретация.}

Представянето на данните от проследяване кинетиката на бактериалния растеж в присъствие на тънки филми е убедително и дава възможност за извеждането на извода, че времето на задържане на бактериалния растеж и ефективното време на дезинфекция зависи от компонентния състав и технологичните условия на нанасяне на покритията.

Генна експресия. Изборът на референтни гени за нормализиране на експресията е извършен прецизно след скрининг и селекция на няколко гена като освен 16S rRNA са взети предвид и други по-стабилно експресиращи се гени като *cysG* и *hcaT*. Щателно са оптимизирани реакционните условия с цел повишаване ефективността на qPCR, ключов елемент, който често бива подценяван, позовавайки се единствено на инструкциите предоставени в търговските набори за PCR. Считаю, че експерименталният дизайн за изпитване на генната експресия след третиране на пробите с тънки филми от TiO₂:Cu:Ag, е коректно формулиран. Подбраните таргени гени *cusA*, *cusF* и *cueO* са с доказана роля при регулацията на медната хомеостаза. Получените резултати са убедителни и показват изразен стресов отговор след третиране на пробите с наноматериали. Представянето на резултатите освен чрез амплификационни криви (както беше в първоначалния вариант на дисертацията) допълнително и чрез графики показващи динамиката в експресията считаю за много адекватно решение.

Изводите, десет на брой, са кратко и ясно формулирани и отразяват адекватно изпълнението на целта и поставените задачи, същевременно акцентирайки върху най-важните находки от дисертационния труд.

Работата представя значителни оригинални научни приноси, които напълно приемаю и подкрепям.

Наукометрични показатели. Докторантката представя шест публикации свързани с дисертационния труд в реферирани издания с общ IF 1,76 и една в нереферирано списание. В четири от тях е първи автор, а в две втори, което свидетелства за нейния водещ и съществен принос в изследванията. Представени са и 18 участия в научни форуми включително 12 с международно участие. Считаю, че наукометричните показатели надхвърлят критериите за придобиване на ОНС „Доктор“, заложен в ЗРАСБ и правилника на СУ.

Дисертационният труд съдържа както научни така и научноприложни резултати, които представляват оригинален принос в науката. Работата показва, че кандидатката притежава задълбочени теоретични знания в областта на микробиологията и нанотехнологиите и способности за самостоятелни научни изследвания.

На базата на изложеното, считам че г-жа Даскалова изпълнява критериите за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“, според Закона за развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), и правилника за прилагането му в БФ и СУ. Убедено предлагам на уважаемото жури и катедрения съвет да гласуват за придобиване на ОНС „Доктор“ от кандидатката Драгомира Светлозарова Даскалова.

Дата: 09/03/2020

Изготвил становището:.....

/Доц. Иван Иванов/