



СТАНОВИЩЕ

от проф. Райко Димитров Пешев, д.н., рък. секция „Епизоотология и инфекциозни болести по животните“ в НДНИВМИ гр. София на дисертационен труд на тема: Антимикробно действие и биологични ефекти на електрохимично активирани водни разтвори за присъждане на научна и образователна степен „Доктор“ област на висше образование: 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, Професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност: “Епизоотология, инфекциозни болести и профилактика на заразните заболявания по животните“, представен от Тошка Евгениева Петрова, от катедра: „Инфекциозна патология, хигиена, технология и контрол на храните от животински произход“ от факултета по ветеринарна медицина към Лесотехническия Университет в гр. София.

Представеният ми за изготвяне на становище дисертационен труд е написан на 209 страници и включва: Въведение -2 стр., Литературен обзор – 45 стр., Собствени изследвания, Цел и задачи -1 стр., Материали и методи – 17 стр., Резултати – 65 стр., Обсъждане -23 стр., Изводи – 2 стр., Препоръки за практиката – 1 стр., Научни приноси – 1 стр., Публикации във връзка с дисертационния труд – 1 стр., Благодарности – 1 стр., Резюме на български и английски език - 2 стр., литературен указател – 36 стр. Същият е онагледен с 58 фигури и 38 таблици.

В последните години поради безразборното използване на антибиотици и химиотерапевтици, бактериалните щамове придобиват резистентност и полирезистентност, което от своя страна води до големи трудности при лечението на заболяванията. Освен резистентността, широкото приложение на антимикробни средства води до поява на редица алергични състояния на организма. Грам-отрицателните бактерии се отличават с по-висока устойчивост към химични въздействия, което затруднява мерките, насочени към ефективен контрол. Особено значими са *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, а напоследък и *Campylobacter jejuni* и *Campylobacter coli*. Замяряването на околната среда с химични средства, използвани за борба с микроорганизмите води до нежелани промени в екологичното равновесие и биоразнообразието в природата. Всичко това налага търсенето на нови, ефикасни антимикробни средства, които същевременно да не са опасни за хората, животните и околната среда, както и да не водят до развитие на резистентност към тях. Един от обещаващите модерни подходи в този аспект е обработката на вода с електрически ток, при което се получават електроактивирани водни разтвори (католити и анолитни) със специфични физико-химични свойства, постигнати чрез промяна на електрохимичните характеристики на водата. Тези активирани води се явяват ефикасна алтернатива на антибиотиците, тъй като освен, че са нетоксични за висшите организми, са и екологично чисто и достъпно средство за дезинфекция, към което (поради начините си на действие) микроорганизмите не развиват резистентност.

В раздел литературен обзор докторантката дава исторически факти за електролизираните водни разтвори (ЕВР), принципното устройство на апаратите за получаване на електролизиранни води наречени електролизери, получените чрез

апаратите анолити и католити и въздействието им върху микроорганизмите и икономическите аспекти от приложението на електролизираните водни разтвори. Научните изследвания показват, че ЕВР са перспективно средство с разнообразни положителни ефекти, приложени самостоятелни или в комбинация с други средства. Те показват не само екологична чистота, но са и икономически изгодни, лесно достъпни за получаване и от химична гледна точка, напълно безопасни за работа. Данните в световната научна литература до този момент се отнасят до проучвания във връзка със същността, механизмите на действие, начините на приложение, както и биологичните ефекти при човека. Във ветеринарната медицина научните изследвания на ЕВР са малко, особено на въздействието им върху клинични (теренни) патогенни бактериални щамове, както и при терапия на инфекциозни процеси при животни. Слабо проучени са и биологичните ефекти след пероралното им приложение при бозайници и птици.

От така представения литературен обзор се вижда, че докторантката е запозната с последните изследвания в областта на електролизата, механизмите на въздействие на ЕВР върху патогенните бактерии по животните, свободно борави с литературата по проблема, което е условие за провеждане на проучвания, които не са извършвани преди това.

В раздел собствени изследвания, цел и задачи, авторката си поставя за цел да проучи антимикуробното действие и някои биологични ефекти на електро - и електрохимично активирани водни разтвори. За осъществяването на тази цел са поставени за изпълнение и 5 задачи. Счита, че целта и задачите са правилно поставени.

В раздел Материал и методи докторантката описва използването на 17 вида електролизиран водни разтвори (ЕВР), от които 4 - електроактивирани (анолити и католити) и 13 – електрохимично активирани: 5 вида католити и 8 вида анолити. Антимикуробният ефект на различни ЕВР е проследен спрямо 4 вида бактерии и 7 различни щамове (референтни и теренни, изолирани от животни, пациенти във ВМФ към ЛТУ и е проследен периодът на запазване антимикуробния ефект на изследваните анолити и католити (след съхранението им на тъмно при стайна температура за 7, 21, 28 и 29 дни). Извършено е и сравнително изпитване на действието на ЕВР с 3 широкоспектърни, фармацевтично и търговски утвърдени дезинфекционни препарата. Използвани са 66 броя животни за ин виво проучванията, от които 20 броя патици; 21 броя кучета от различна порода и възраст за антисептика на лапите с анолит и 25 броя животни с клинични инфекции. Описани са бактериалните щамове, които са изследвани, хранителите среди за провеждане на бактериологичните изследвания, повърхностите от които са получени и пособията с които са изследвани. Като контроли при тези проучвания са използвани 3 търговски препарата – виркон, хлорхексидин и дерма интензив. В изследванията са използвани 20 патици и 25 бр. клинични пациенти – кучета, котки, морски свинчета, джербили. Описан е фуража, и получаваните кръвни проби от животните. Описани са апаратите с които е извършена електролизата и всички други апарати с които са извършвани проучванията. Последователно са описани методите и опитната постановка за изследване *in vitro* на антимикуробната активност на анолити и католити към различни бактериални щамове, след получаването им и след различни периоди на съхранение. Дадена е опитната постановка при изследване антимикуробната активност на анолит при обработка на проби от смесена утайка от

градска пречиствателна станция за отпадни води. Описана е експерименталната постановка при изследване на дезинфекционният и антисептичен ефект на анолит, приложен върху лабораторни и кожни повърхности, експерименталната постановка и пробовземане при изследване биостимулиращият ефект на католит при Бяла Пекинска патица и методите на пробовземане, изолиране, идентифициране и определяне на антибиотичната чувствителност на патогенни бактериални и дерматомикозни причинители при пациенти. Извършена е и статистическа обработка на данните.

В раздел резултати докторантката хронологично дава данни от проучванията на антибактериалния ефект на електро активирани и електрохимично активирани водни разтвори - анолити и католити *in vitro* спрямо бактерии с различна патогенност и проследяване запазването на ефекта на ЕХАР след различен период на съхранение при стайна температура на тъмно. Изследвана е антимикробната активност на анолит при обработка на проба от смесена утайка от градска пречиствателна станция за отпадни води и е установена ефикасността от прилагането на анолита върху утайката. Върху различни повърхности и материали е проучен антимикробния ефект на анолит при употребата му като дезинфекционно и антисептично средство и са сравнени резултатите с използването на търговски дезинфектант. Проведени са опити и е установен биостимулиращият ефект на католит, приложен *per os*, за подобряване растежните показатели на патета от породата Бяла пекинска патица. Отразени са резултатите от ефекта на анолити и католити при лечение на някои бактериални и микотични инфекциозни заболявания при пациенти (*in vivo*) като е установен добрия ефект от приложението им.

В раздел обсъждане се обсъждат резултатите от изследванията, като се съпоставят с данните на други изследователи и се дава хипотеза за механизмите на въздействие на ЕХАР. Интерпретират се резултатите от пресно приготвени и престояли ЕХАР и се заключава, че и двата вида са активни и действат върху изследваните микроорганизми. Обсъдени са и данните от въздействието на ЕХАР върху бактерии намиращи се в отпадни води от градската пречиствателна станция. Интерпретирани са резултатите от пероралното приложение на католит при Бяла пекинска патица и действието на анолити и католити при лечение на някои бактериални и микотични инфекциозни заболявания при пациенти. От обсъждането личи, че докторантката познава добре литературата, може да интерпретира правилно получените резултати и да изказва собствено мнение по разработвания проблем.

Дадени са 9 извода, които напълно отговарят на резултатите от изследванията, има 5 препоръки за практиката и 12 оригинални приноси, произлизащи от дисертационният труд. Счита се, че колежката се е съобразила с бележките на предварителните рецензенти и на другите колеги присъствали на предното заседание. Във връзка с дисертационният труд са отпечатани 4 научни съобщения в 3 от които докторантката е на първа място. С това тя изпълнява изискванията на ЗРАСРБ и правилника на ВМФ към ЛТУ.

Към дисертационният труд имам и следните бележки: На стр. 97 фигура 11 предхожда фиг.10, която е на следващата страница. Тя трябва да е фиг.12, както е упоменато в текста. Допусната е техническа грешка при отразяването и. На стр. 132 има фиг.38, после на страница 135 има повторение на фиг. 38, а трябва да е фиг. 42.

Считам, че е допусната техническа грешка. Фигура 10 демонстрираща различни разреждания на микроорганизмите на Muler Hinton agar и Chapman Stone agar са ясни резултатите, а за останалите два агара не, тъй като са обърнати петрите. На стр.129 има фигура 38, фигура с такъв номер има и на стр. 126, вероятно е допусната техническа грешка при писането и разполагането и, защото първата касае изгаряне, а втората гъбично заболяване. На стр.132 обяснението е за фигура 48, а не както е написано отдолу фиг.44. Посочените от мен бележки не са по същество, а са от технически характер и не намаляват ценността на разработката.

Заключение: Представеният ми за становище дисертационен труд на тема: Антимикробно действие и биологични ефекти на електрохимично активирани водни разтвори за присъждане на научна и образователна степен „Доктор” от Тошка Евгениева Петрова, представлява актуален труд с важно значение за ветеринарната медицина. ЕХАР са антимикробни средства, които не са опасни за пациентите и околната среда, както и не водят до развитие на резистентност към тях. Цената им в сравнение с класически използваните антимикробни и дезинфекционни средства е пренебрежимо малка, а ефикасността им е голяма, което се потвърждава от настоящите проучвания. Поставените цели и задачи са правилно поставени и изпълнени, като резултатите и изведените изводи са достоверни. Считам, че тези данни ще са от полза за ветеринарните и други специалисти, борещи се с бактериални и гъбични инфекции. Считам, че дисертационният труд изпълнява критериите на ЗРАСРБ и правилника на ВМФ към ЛТУ и давам положително становище.

София

4.10.2023 г.



Проф. Р.Пешев, д.н.