

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Велизар Костадинов Гочев, катедра „Биохимия и микробиология“,
Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“
по: област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика,
професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Микробиология

Автор: Лена Руменова Илиева

Тема: Лекарствена чувствителност и фактори на колонизация и инвазивност при
назофарингеални изолати *Staphylococcus* spp.

Научен ръководител: проф. д-р Соня Костадинова Трифонова, ПУ „П. Хилендарски“

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № РД-22-1084 от 29.05.2026 г. на ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определен за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема **“Лекарствена чувствителност и фактори на колонизация и инвазивност при назофарингеални изолати *Staphylococcus* spp.”** за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ по: област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика,, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Микробиология. Автор на дисертационния труд е Лена Руменова Илиева - докторантка в редовна форма на обучение към катедра Биохимия и микробиология, с научен ръководител проф. д-р Соня Костадинова от ПУ.

Представеният от Лена Илиева комплект материали на електронен и хартиен носител е в съответствие с чл. 36. (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ (ПРАСПУ), включва следните документи: молба до ректора на ПУ за разкриване на процедура за защита на дисертационен труд; автобиография в европейски формат; протокол от катедрения съвет, свързан с докладване на готовността за откриване на процедура и с предварително обсъждане на дисертационен труд; дисертационен труд; автореферат; списък на научните публикации по темата на дисертацията; копия на научните публикации; декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи.

Приложените документи ми дават пълно основание да определя процедурата, като отговаряща на всички законови и вътрешноинституционални нормативни изисквания.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Лена Илиева е завършила Биологически факултет на ПУ и през 2001 г. е придобила ОКС „магистър“ по специалност „Биология“, специализация „Генетика и микробиология“. От 2006 до 2010 г. работи като микробиолог в „Ганчев“ ЕООД, в сферата на санитарната микробиология, а от 2010 до 2025 г., като микробиолог в сферата на клиничната микробиология, последователно в СМДЛ „Хронолаб“ ООД и „Синево - България“ ЕООД. От август 2025 г. Лена Илиева е асистент по микробиология в Институт по консервиране и качество на храните към Селскостопанска академия. Докторантката притежава огромен и безспорен професионален опит като микробиолог.

Образованието и професионалната компетенция на Лена Илиева са изцяло в сферата на микробиологията.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Инфекциите на горните дихателни пътища са една от водещите причини за консултация и антибиотично лечение в доболничната помощ, като високата им честота поддържа постоянен селекционен натиск за развитие и разпространение на антибиотична резистентност. В тази клинична картина *Staphylococcus spp.* заемат важно място като често изолирани микроорганизми от назални и гърлени проби. Съвременната клинична практика се сблъсква едновременно с три проблема: нарастващата антибиотична резистентност при стафилококите, наличието на разнообразен набор от фактори на колонизация и инвазивност и ограниченията на фенотипните методи за надеждна идентификация и интерпретация на тези изолати. Настоящият дисертационен труд е фокусиран върху изследване на лекарствената чувствителност и факторите на колонизация и инвазивност при назофарингеални изолати *Staphylococcus spp.*, с акцент върху *S. aureus*, характеристика на техния фенотипен и генотипен профил на резистентност и вирулентност, оценка на биофилмообразувания им капацитет в условия, наподобяващи средата на гостоприемника, и *in vitro* проучване на възможностите за ограничаване на растежа и биофилмообразуването.

Категорично определям темата на настоящия дисертационен труд за особено актуална, както от практическа, така и от фундаментална гледна точка. Целта на

дисертационния труд е ясно и точно формулирана, а поставените задачи са логически свързани и подредени в правилна последователност.

4. Познаване на проблема

Литературният обзор, който е основа за оценка на степента на познаване на проблема, е представен на 32 стр. и се базира на над 300 литературни източника. Информацията в обзора е изчерпателна и структурирана в 10 точки, като е представена с висока степен на аналитичност. Обзорът започва с данни за клиничната и епидемиологична значимост на *S. aureus* и акцент върху молекулните механизми на колонизация на назофарингса, биофилмобразуването и антибиотичната резистентност. Много добро впечатление прави сравнителното представяне на молекулярните и геномни подходи за идентификация и характеристика на *S. aureus*. Информацията за възможностите за приложение на млечнокисели бактерии (МКБ) и метаболити от жизнената им дейност, като алтернативи за контрол на *S. aureus* е достатъчна по обем и изчерпателност. Високо оценявам факта, че обзорът завършва с обобщение, което ясно дефинира актуалността на разработката и насоките за изследване, което позволява ясното дефиниране на целта и задачите на дисертационния труд.

Обхватът и начинът на оформяне на литературния обзор категорично показват, че докторантката е запозната с изследвания научен проблем в дълбочина, което ѝ позволява ясно да формулира целта и правилно да структурира експерименталната схема на разработката.

5. Методика на изследването

Разделът Материали и методи обхваща 14 стр. от дисертационния труд и в него са описани: (1) класически и съвременни микробиологични методи за изолиране и идентификация на бактерии от клинични проби и ферментационни хранителни продукти, референтни микробиологични методи за определяне на антибиотична чувствителност, методи за определяне на биофилм инхибиращ капацитет и оценка на пробиотичния потенциал; (2) молекулярно биологични методи за конвенционален PCR амплификация на гена за 16S рРНК, анотация на геном, пълногеномно секвениране, геномно базирана идентификация и Multi Locus Sequence Typing (MLST); (3) хроматографски методи - газова хроматография за определяне на мастнокиселинен състав (GC) и FPLC; (4) микроскопски методи - сканираща електронна микроскопия (SEM) и конфокална лазерна сканираща микроскопия (CLSM); (5) електрофоретични методи – SDS-PAGE и (6) статистически методи

за обработка на получените резултати. Цялостната експериментална схема на разработката е правилно структурирана, а приложените методи напълно отговарят на целите на дисертационното изследване.

Приложените в дисертационното изследване методи са подходящо подбрани и позволяват получаването на достоверни и представителни резултати. Обхватът на овладяните и приложени методи, както и научният на представянето им категорично показват, че успешно е реализирана и образователната компонента на ОНС „доктор“.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е структуриран по възприетия за стандартен начин, включващ разделите: Въведение (1 стр.); Литературен преглед (32 стр.); Цел и задачи (1 стр.); Материали и методи (14 стр.); Резултати и дискусия (88 стр.); Заключение (3 стр.); Изводи (2 стр.); Приноси (2 стр.); Литература (375 литературни източника) и Приложения (40 стр.). Считам, че между отделните раздели на дисертацията са спазени оптимални съотношения, като разделът с резултатите и тяхното обсъждане е доминиращ и представлява малко над 60 % от същинската част на труда, изключвайки литературата и приложенията. Въведението поставя сериозността на проблема с честотата на изолиране, неточностите при идентификацията и резистентността при *Staphylococcus spp.*, като ясно дефинира актуалността на изследването и в този смисъл напълно изпълнява функцията си в текста. Както вече посочих в т.4, Литературният преглед е изчерпателен, базиран на съвременна и добре подбрана литературна справка, като коректно представя степента на научното познание по проблема в световен мащаб. Това позволява на докторантката ясно да дефинира целта и задачите на дисертационното изследване. Експерименталната схема е правилно композирана, а подбраните методи са на ниво, което позволява успешната реализация на изследователските задачи и постигане на целта на дисертацията. В рамките на първата изследователска задача е проведено мащабно 4-годишно проучване върху структурата на назофарингеалните инфекции в град Пловдив, базирано на над 27 000 пациентски проби. Проследена е годишната и сезонна динамика на тези инфекции и е оценена възрастовата структура на пациентската популация. Установен е сравнително нисък относителен дял на назофарингеланите изолати от общия брой положителни проби. Проучена е етиологичната структура на положителните изолати и е доказано, че *S. aureus* се открива в най-висок процент в назални проби. Предложена е комбинирана стратегия за коректна видова идентификация на *S. aureus*, която включва серия от фенотипни и биохимични тестове в съчетание със секвениране на видовоспецифични гени и геномно секвениране. В

проучването на антибиотична резистентност, по втора изследователска задача, са включени 450 видово идентифицирани изолата на *S. aureus*, като са използвани 17 антимикробни агента от различни групи. Получените резултати позволяват изследваните щамове *S. aureus* да бъдат определени като такава с висок резистентен товар, характеризиращи се с доминираща устойчивост към β -лактамни антибиотици, повишена метицилинова устойчивост и практически значими нива на устойчивост към макролиди, линкозамиди, флуорохинолони и аминогликозиди. Експерименталната работа по дисертацията продължава с *in silico* анализ на резистомата на *S. aureus*, прилагайки иновативната Oxford Nanopore Technologies платформа. Проведен е *in silico* анализ на вирулентния потенциал на изолатите, който е потвърден и от данни от *in vitro* анализи. Чрез *in silico* анализа е установено, че клиничните изолати на *S. aureus* притежават устойчив набор от гени, свързани с адхезия, персистиране и взаимодействие с имунната система на гостоприемника. Огромна по обем експериментална работа е реализирана в рамките на четвъртата изследователска задача, свързана с оценка на биофилм формирация капацитет на изолатите. Установено е, че 82 % от тях формират биофилм, а 60 щамове са определени като такива с висок биофилм формиращ потенциал. Вниманието заслужават и експериментите, свързани с оптимизиране на условията за формиране на биофилма, особено по отношение състав на средата, които са позволили по най-добър начин да се оцени способността на изолатите да образуват такъв. С оглед на търсенето на алтернативни възможности за контрол на назофарингелани изолати от *S. aureus*, както и на способността им да образуват биофилм, докторантката се насочва към изолиране на млечнокисели бактерии (МКБ) от ферментационни млечнокисели продукти. Направена е биохимична и генетична характеристика на пробиотичния потенциал на МКБ с антистафилококова активност. Чрез набор от хроматографски и генетични методи е доказана бактериоциновата природа на антимикробните агенти, продуцирани от видово идентифицираните перспективни изолати, отнесени към видовете *Lactopantibacillus plantarum*, *L. paraplantarum* и *Levilactobacillus brevis*. В заключителната част на експерименталната работа е определена способността на лиофилизирана безклетъчна супернатанта от селектираните МКБ да инхибира развитието на назофарингелани изолати *S. aureus* и способността им да образуват биофилм. Разделът завършва с обобщение на получените резултати, което показва значимостта им и потенциалните възможности за приложение.

Всички резултати са коректно интерпретирани и съпоставени с литературните данни. На база на получените резултати са формулирани 10 извода, които отразяват най-съществените постижения от дисертационното изследване. Изведни са научни и научно-

приложни приноси, които напълно приемам и определям като такива с оригинален и надграждащ характер.

Считам, че дисертационният труд представлява комплексно и завършено изследване, базирано на мащабна експериментална схема и широк набор от правилно комбинирани методи. Получените резултати са висока степен на представителност и значимост, както в научен, така и в приложен аспект. Изводите и приносите са коректно формулирани.

7. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Във връзка с дисертацията са представени две научни публикации в *Int. J. Mol. Sci.* и *Microorganisms*. И двете списания са от кوارтил Q₁, като публикацията в *Int. J. Mol. Sci.* вече има 2 цитата, а тази в *Microorganisms* – 13, което е безспорен атестат за качеството им.

8. Лично участие на докторантката

Считам, че личното участие на докторантката в реализацията на експериментална работа, написването на дисертационния труд и публикациите е безспорно, съответстващо на нивото на професионалната ѝ компетентност.

9. Автореферат

Авторефератът отговаря на изискванията и отразява всички по-съществени резултати от дисертационния труд.

10. Критични забележки, препоръки и въпроси

Нямам критични забележки и препоръки, нито към проведеното изследване, нито към комплекта материали.

Към докторантката имам следните въпроси:

1. В каква степен предложената комплексна схема за идентификация на *S. aureus* би намерила реално приложение в клиничната лабораторна практика?
2. Известни ли са други средства за контрол на биофилм формация капацитет на *S. aureus* и каква е тяхната ефективност в сравнение с бактериоцините от МКБ?

11. Лични впечатления

Личните ми впечатления от докторант Лена Илиева са изцяло положителни. Тя е изграден специалист в сферата на клиничната микробиология с огромен практически опит. Високо оценявам нейното позитивно отношение и лекота на общуване в колектив.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научни, научноприложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), на Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и на съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“.

Дисертационният труд показва, че докторантката Лена Руменова Илиева притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Микробиология, като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

С оглед гореизложеното убедено давам своята *положителна оценка* за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси и *предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“* на Лена Руменова Илиева в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Микробиология.

14.07. 2026 г.

Рецензент:

проф. д-р Велизар Гочев