

**С Т А Н О В И Щ Е**  
От доц. д-р Илияна Иванова

Биологически факултет при СУ „Св. Климент Охридски“

Член на научно жури за присъждане на образователна и научна степен доктор, сформирано със заповед №РД38-722/18.12.2019 г. на Ректора на СУ „Св. Кл. Охридски“  
Тема: „Антимикробна активност на наноструктурни материали“  
Автор: редовен докторант Драгомира Светлозарова Даскалова  
Научни ръководители: доц. д-р Илияна Иванова и доц. д-р Орлин Ангелов

Настоящата рецензия е изготвена в съответствие с нормативните документи – ЗРАС и ППЗРАС и Препоръките ФС на БФ за критериите при придобиване на научни степени, съобразени с тях.

**1. Съвременно състояние на научния проблем и актуалност на дисертационната тема**

Наноматериалите с техните специфични свойства добиха широко разпространение в последните 10 години в областта на електрониката, енергетиката, автомобилостроенето, медицината, козметиката и други области. Особено важна е развиващата се антибиотична устойчивост на бактериите, която надминава изобретяването и откриването на нови анитибиотици от учените. Ето защо наноматериалите се приемат като възможна алтернатива на антибиотичното лечение.

В тази връзка нашият интерес беше посветен на наноматериалите и техния антимикробния ефект, зависещ от състава, начина на синтеза, размерите и други технологични параметри, както и проучване на механизмите, чрез които те въздействат на микроорганизмите и еукариотните клетки.

**2. Оценка на структурата, специфичните задачи и тяхното съответствие с поставения научен проблем**

Дисертационният труд е с обем 178 стр., от които основен текст 129 стр. и списък на използваните литературните източници – 32 стр. (432 заглавия), други приложения – 17 стр., (в т.ч. списък с използваните съкращения, списък на приложените таблици и фигури, съдържание и справка за публикационната активност). Работата е структурирана по общоприетия за такъв вид труд схема, като включва част „Въведение“, „Литературен отбор“ (46 стр.); „Цел и задачи“, „Материали и методи“ (11 стр.); „Резултати и обсъждане“ (58 стр.), „Изводи“ и „Приноси“ (2 стр.). Научните доказателства са представени с графики и снимки (69 бр.) и таблици (3 бр.). Съотношението на текст към илюстративен материал е приблизително 1:1, което е очаквано за една експериментална работа. Представени са 10 извода, за обсъждане на резултатите са цитирани близо ¼ от използваните литературни източници.

В работата е формулирана 1 обобщена цел и 5 конкретни задачи. Тези специфични задачи, чието изпълнение е реализирано с помощта на класически

микробиологични, физико-химични и молекулярно-биологични методи са достатъчни за постигане на целта на труда.

### **3. Оценка на съответствието на методичните подходи с поставените цели**

За реализиране на научния труд е използван набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експерименталните задачи. Те включват микробиологични техники за оценка на антимикробния ефект на изследваните наноматериали, като са изследвани 6 рода патогенни и непатогенни микроорганизми; определяне на инхибиторен и бактерициден ефект на наноматериалите, дифузионен тест за бърз скрининг и изследване на развитието на микроорганизмите в динамика, физикохимични методи за оценка на състав, структура и поведение на наноматериалите и ефекта им върху тест микроорганизмите; молекулярни подходи, приложени за проследяване на генната експресия на таргетни гени от системите, свързани с елиминиране на токсичност на Cu и Ag йони от нанофилмите, които ги съдържат.

### **4. Оценка на структурата на дисертационния труд, получените резултати и приноси**

Дисертационният труд е построен съгласно общоприетите изисквания за такъв тип научни разработки. Общият обем на дисертацията е 178 страници формат А4 като е спазено оптималното съотношение между отделните раздели.

#### **а. Увод, Литературен обзор, Цел и задачи, Материали и методи**

Тази част от дисертацията е разписана върху 46 стр. Литературният обзор представя специализирана информация по разглежданата тема и е много конкретен, целенасочен и информативен. Представената информация въз основа на над 400 заглавия на публикации от тематичния обхват на дисертацията показва, че докторантката познава много добре литературата, притежава компетентност за оценка и критично отношение към наличните данни. Те отразяват световните постижения и съвременни тенденции по научната проблематика – повечето от цитираните публикации са излезли от печат след 2008 година.

Литературният обзор аргументира целта на дисертацията, а именно: Да се изследва антимикробния ефект на прахообразни, колагенови и тънкослойни материали и механизмите им на действие върху представители на Грам-положителни, Грам-отрицателни бактерии и дрожди. За постигане на целта са поставени пет задачи. Разделът Материали и методи е написан без излишни подробности, като са описани голям набор микробиологични, молекулярно биологични и физико-химични методи за оценка както на промените в микробните популации, така и на самите изследвани материали.

#### **Експериментални решения, резултати и анализи**

Получените резултати са представени върху 79 стр. и интерпретирани в логическа последователност, съответстваща на поставените задачи. Така и ще бъдат коментирани.

## **Физико-химични характеристики на тънките слоеве, синтезирани чрез магнетронно разпръскване**

В този подраздел са представени данни за обемния строеж на колагеновите матрици, повърхностната структура на тънките филми и размера на частиците, обект на изследване и тяхното значение за взаимодействието им с бактериите, а така също и за образуването на биофилм от използваните микроорганизми, който се повлиява от повърхностното разпределение на тестваните метални добавки.

### **Антимикробно действие**

Този раздел е най-обемният от работата и разглежда комплексно антимикробния ефект на дисперсии от наночастици, колаген базирани нанокompозити и тънки филми с оценка на морфологичните и физиологични промени в тест културите. Този дял от дисертацията е разписан и представлява основната част на разработката. Резултатите са представени последователно съобразно поставените задачи и те са отразени чрез 8 таблици и 68 фигури. От представените резултати и тяхното обсъждане се вижда, че докторантката се е изградила като много добър млад изследовател, който е в състояние да извършва комплексни изследвания, притежава умения да представя резултатите по подходящ начин и да формулира идеи за бъдещи изследвания. На базата на получените резултати и тяхното обобщаване, докторантката формулира 10 извода и 9 приноса. В дисертацията са цитирани 432 литературни източника. Тук личи не само сериозната експериментална работа, но и това, че тя е била добре и логично обмислена.

**3. Приноси на дисертационния труд** Докторантката посочва девет основни приноса на своята разработка. В същност приносите са много повече, но като най-съществени могат да се отбележат следните:

1. За първи път е проследен „стрес-отговорът” при моделен щам *E. coli ATCC 10536* в присъствие на тънки  $\text{TiO}_2\text{:Cu:Ag}$  филми.
2. За първи път е доказано индуциране на стрес отговор в *E. coli ATCC 10536* в първите 5 минути от взаимодействието с тънките филми;
3. За първи път са изследвани 12 двойки таргетни и референтни гени в *E. coli ATCC 10536*, и са подбрани най-подходящите двойки праймери и техните концентрации за наблюдение на генната експресия в условия на натоварване с мед и сребро като метални йони, отделени от соли и наночастици.
4. Доказано е, че присъствието на Ag в наноматериалите нарушава защитните механизми на моделен щам *E. coli ATCC 10536*
5. За първи път са тествани нанокompозитни материали в колагенова матрица и тънки филми  $\text{TiO}_2\text{:Cu:Ag}$  и  $\text{TiO}_2\text{:SiO}_2\text{:Ag}$ , получени чрез магнетронно разпръскване, за които е доказано, че имат антимикробен ефект.

6. Установено е синергично действие и концентрационно-зависим ефект при използване на Cu и Ag в качеството на допанти в нанокomпозитни тънки филми  $\text{TiO}_2:\text{Cu}:\text{Ag}$ .
7. Установено е, че добавянето на  $\text{SiO}_2$  към компонентния състав на тънки филми  $\text{TiO}_2:\text{SiO}_2:\text{Ag}$  води до бърз бактерициден ефект, чрез по-равномерно разпределение на допанта върху матрицата от  $\text{TiO}_2:\text{SiO}_2$ .
8. Установена е по-висока антимикробна активност на тънки филми  $\text{TiO}_2:\text{Cu}:\text{Ag}$  и  $\text{TiO}_2:\text{SiO}_2:\text{Ag}$  без отгряване след получаването им, което прави допустима употребата на тези покрития върху термолабилни материали.
9. Установено е, че наночастиците са по-ефективни като антимикробни агенти от разтворените сребърни и медни йони на съответните соли.

*Въпроси* – нямам.

## **5. Публикации във връзка с дисертационния труд**

Публикационната дейност изцяло съответства на нормативните документи – ЗРАС и ППЗРАС и Препоръките ФС на БФ за критериите при придобиване на научни степени, съобразени с тях. Държа да отбележа сериозната научна продукция от 7 публикации, много повече от необходимата за защита на една дисертация за получаване на образователната и научна степен „доктор”, съпътствана вече и от 9 цитирания. Докторантката е участвала в 5 национални и 12 международни научни форума, всички по темата на дисертацията. Докторантката участва в 4 проекта (2 към Научния фонд на СУ и 2 към ФНИ на МОН) по темата на дисертацията.

### **5. Автореферат**

Авторефератът е разписан на 51 стр., изготвен е съобразно изискванията и вярно отразява резултатите от дисертацията. Представени са най-съществените резултати от съответните раздели.

Оформен е отлично.

6. Придобита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен доктор

В хода на докторантурата, Драгомира Даскалова се разви като успешен изследовател, придоби умения да извършва самостоятелно комплексни изследвания, както и да анализира и оценява получените резултати. Разви умения да работи в колектив и заедно с изследователи от други научни сфери да планира изследвания и анализира получените резултати. Всичко това ми дава основание да смятам, че Драгомира Даскалова напълно притежава умения и компетентност, които се изискват за придобиване на образователна и научна степен „доктор“.

### **7. Заключение**

Цялостната ми оценка на дисертационния труд на Драгомира Даскалова е отлична.

Извършено е обемно и задълбочено изследване на влиянието на наноматериали върху структурата и функциите патогенни и непатогенни микроорганизми. Направени са логични изводи, а приносите от това изследване са с фундаментален и приложен характер.

Докторантката разви умения за планиране на експеримента, работа с различни методики и анализ на получените резултати. Работи добре в български и международен екип.

Въз основа на гореизложеното и предвид Правилника за приложение на Закона за развитие на академичния състав в Р. България и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности, считам, че настоящия дисертационен труд отговаря напълно на изискванията и препоръчвам на Научното жури да присъди образователна и научна степен „доктор“ по професионално направление 4.3. Биологически науки (Микробиология) на Драгомира Светлозарова Даскалова.

09.03.2020 г.  
София

Научен ръководител:  
(доц. д-р Илияна Иванова)