Р Е Ц Е Н З И Я

от проф. Мария Богомилова Ангелова-Дянкова, дбн, Институт по микробиология „Стефан Ангелов" при БАН
върху дисертационен труд, представен пред научно жури, сформирано със заповед № РД-38-56/10.02.2026 г на Ректора на Софийския университет „Св. Климент Охридски" за получаване на образователната и научна степен "доктор" в Професионално направление: 4.3. Биологични науки (Микробиология)
Автор: **Виктория Йонкова Маринова-Йорданова**
Тема: **Молекулни и функционални анализи на пробиотични щамове от род *Lactobacillus***
Научени ръководител: **проф. д-р Петя Христова**

1. Кратки биографични данни

Виктория Йонкова Маринова-Йорданова е родена през 1995 г. в гр. Разград. През 2018 г. се дипломира като бакалавър по биология, а през 2020 като магистър по микробиология и микробиологичен контрол в Биологическия факултет на Софийски университет „Св. Климент Охридски". От 2020 г до сега тя е редовен докторант в катедра „Обща и промишлена микробиология" при БФ на СУ. Едновременно с това, през 2023 г. работи като изследовател в същия университет, а от 2025 г. е последователно биолог и изследовател в НЦЗПБ, София.

2. Актуалност и значимост на дисертационната теза

Пробиотиците са колкото стари, толкова и нови; колкото известни, толкова и актуални за проучване. Въпреки че терминът е създаден във втората половина на 20 век, той все по-бързо се превръща в хит на настоящето и надежда за бъдещето. Значението на пробиотичните бактерии за поддържане на човешкото здраве, главно представители на родовете *Lactobacillus* и *Bifidobacteria*, се простира много по-далеч от използването на млечните продукти. Днес терминът пробиотици е една от най-разпространените ключови думи за 21 век. Световният пазар на пробиотични продукти е реализирал за 2025 г продажби за над $76.59 млрд. и се очаква да нарасне с около 8.5% в периода до 2030 г., достигайки $114.95 млрд. Освен очевидния комерсиален интерес, пробиотиците представляват сериозна територия за получаване на нови знания относно тяхното приложение и механизъм на действие. Усилията на изследователските групи в световен мащаб са насочени към намирането на подходящи щамове пробиотични бактерии, тяхното охарактеризиране и доказване на полезните им свойства. Иновативният момент в тази лавина от изследвания е изолирането на нови щамове от неизползвани до сега източници. Именно тези аспекти на проблема са в центъра на вниманието на Виктория Маринова-Йорданова и нейният научен ръководител, проф. Петя Христова, което подчертава актуалността и перспективността на дисертационната разработка.

Основната насоченост на изследването е свързана с детайлно охарактеризиране на биологичния потенциал, както и на молекулните и функционални механизми на действие на представители от сейство *Lactobacillaceae* с пробиотични свойства. Въпреки интензивните изследвания в областта, докторантката намира свободна ниша, използвайки слабо проучени местообитания в България като източник на млечно-киселите бактерии (МКБ). Освен това, българския произход на включените в разработката щамове е сериозно предимство, което е в съответствие с вековните традиции на храненето в нашия регион, довели до подбор на неповторими съчетания от микроорганизми с полезни свойства.

3. Познаване на проблема

Дисертационният труд е конструиран в традиционна форма със съответните раздели. Написан е на 196 стандартни компютърни страници, които включват 147 страници текст, 39 страници литература и 10 страници приложения. Представеният материал е балансиран като обем и съотношение между отделните части. Литературният обзор е изготвен целенасочено и конкретно и включва всички аспекти на изследването. В него са отразени 402 публикации (2 на кирилица и 400 на латиница), кореспондиращи с всяка една от поставените задачи. Обзорът представя състоянието на проблема в момента, отчитайки коректно развитието в исторически план и постигнатото до този момент. Подробно са обсъдени наличните литературни данни относно характеристиката на МКБ и рекласификацията на видовете от род *Lactobacillus,* част от семейство *Lactobacillaceae*. Детайлно са представени критериите за селекция на ефективни пробиотици и техните полезни свойства. Основният акцент е върху знанията за механизмите на пробиотичното действие на молекулно и функционално ниво, като адхезия, агрегационна и биофилм-образуваща способност, синтез на антимикробни съединения и антиоксидантна активност. В този раздел е включен и проблема за безопаснасността на пробиотиците по отношение на придобиване на антибиотична резистентност и хемолитична активност.

Въз основа на анализа в литературния обзор е изведена целта на настоящата дисертация: да се изучат основните молекулни и функционални характеристики, свързани с пробиотичния потенциал на лактобацили, изолирани от малко изследвани до този момент в България екологични ниши. За реализирането на тази цел са формулирани 3 конкретни, взаимно обвързани и логически следващи задачи, с няколко подзадачи, които включват всички задължителни етапи на подобно проучване.

4. Методика на изследването

Разделът "Материали и методи" демонстрира внушителен набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експеримента. Те са както рутинни, така и съвременни, микробиологични, биохимични, молекулярно-биологични и др. Освен това са разбираеми и дават възможност за коректно провеждане на експериментите и получаване на достоверни резултати. Искам да отбележа възстановяването и съхранението на МКБ от колекцията на катедра „Обща и промишлена микробиология“, характеризирането на

биофилм-образуване, агрегационна, адхезионна, антиоксидантна и антимикробна активност, както и видовата и родова характеристика на щамовете чрез PCR и MALDI-TOF анализи. Използвани са съвременни молекулярни методи за доказване експресията на гените, участващи в механизмите на свързване и адхезия.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Раздел „Резултати и обсъждане“ представя данни за реализиране на една изключително значима в теоретичен и приложен аспект задача – охарактеризиране на МКБ от колекцията на катедра „Обща и промишлена микробиология“ към БФ на СУ „Св. Климент Охридски“ с акцент върху представителите на род *Lactobacillus*. Оценявам високо поставената цел, която създава научно основание за следващи изследвания и добавя информация в международните бази-данни за пробиотичния потенциал на български изолати. Трябва да се отбележи обширния експериментален материал, следващ в логическа последователност, като всеки етап допълва задължителната оценка на включените в колекцията щамове. Докторантката започва с общата характеристика на 94 щама, изолирани от различни източници. Представена е информация за техния произход, фенотипната им характеристика като резултат от макроскопски и микроскопски анализи и за коректната им идентификация чрез секвениране на фрагмент от 16S rDNA, MALDI-TOF и видово-специфичен PCR. Това е важен принос за ре-класификацията на проучваните бактерии в съответствие със съвременната таксономия на родовете в семейство *Lactobacillaceae*, което внася актуалност в изходните данни и едновременно с това е аргумент за бъдещи разработки.

В следващите етапи са включени изследвания, задължителни за характеристиката на пробиотичния потенциал на МКБ. Виктория Маринова-Йорданова прави функционална оценка на проучваните щамове, поставяйки акцент върху антимикробните им свойства по отношение на Грам+ и Грам- бактерии и дрожди. Доказана е зависимостта от вида на източника на изолиране, pH на супернатнатата и термичната ѝ обработка. Интерес представляват също установеното значение на рода в семейство *Lactobacillaceae*.

Дисертацията представя резултати от антиоксидантната активност на проучваните щамове, включени в механизма на МКБ да бъдат полезни за човешкото здраве. Установен е значим антиоксидантен ефект на супернатантите на 30 щама за продължителен период от време. В тази посока са и данните в дисертацията относно способността на изследваните щамове да продуцират H_2O_2 и да инхибират развитието на патогенните микроорганизми. Авторката ги дискутира като част от механизма на антимикробното действие на базата на структурни увреждания в белтъците, включително и ензимите, участие в процесите на липидна пероксидация и промените в пропускливостта на мембраните.

Искам да подчертая детайлните изследвания относно агрегационната способност. Получени са доказателства за високо ниво на авто-агрегация, която подпомага изграждането на защитна бариера върху чревната лигавица и затруднява колонизацията на патогенни

микроорганизми. Резултатите потвърждават, че това ключово свойство на МКБ е щамово-специфично и значително варира дори в рамките на един и същи вид. Едновременно с това са получени данни за ко-агреегацията между изследваните щамове и патогенни бактерии и дрожди (*Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Listeria innocua, Staphylococcus aureus, Candida albicans),* включена в механизма за възстановяване на нормалната стомашно-чревна микрофлора.

В разработката на Виктория Маринова-Йорданова са представени проучвания за адхезионната способност на колекционните щамове като допълнително доказателство за създаването на бариери срещу патотенните бактерии. Установено е наличието на щамове с висок потенциал за формирането на биофилми и възможност за продължително антимикробно действие, което ги определя като перспективни пробиотици. Тази характеристика се подкрепя и от резултатите в следващия подраздел, който обсъжда формирането на анти-биофилм вещества срещу патогенни тест-микроорганизми (*Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*).

Много ценна информация дават резултатите относно способността на МКБ да адхезират към имобилизиран муцин, което добавя ново знание към механизма на тяхното антимикробно действие. Отделено е внимание на хидрофобността на изследваните щамове, съществена за силата на първоначалния контакт между бактериалната клетка и епителната или мукозна повърхност. Докторантката навлиза по-детайлно в проблема като представя възможностите за адхезия в условия на конкурентни отношения с патогенни тест-микроорганизми и предлага подход за селекция на щамове с висока конкурентна способност. В този аспект са изследванията за ефекта на различни видове захари върху автоагрегационната активност на 11 избрани колекционни щама, както и обработката им с ензими и химични реагенти. Въз основа на резултатите, докторантката предполага зависимост на автоагрегацията от взаимодействието между въглехидрат-лектинови и/или белтъчни компоненти. Сериозно доказателство за участието на адхезията в механизма на пробиотичното действие е анализа на 15 гена, оценени по отношение на свързващата им способност.

Като логически завършек звучи последният дял от разработката, който дава оценка на безопасността на създадената колекция МКБ. Както е известно, това е един от основните критерии за включване на определен щам в пробиотичен продукт. Проучена е чувствителността на щамовете към десет широкоспектърни антибиотици и е доказано, че те не притежават гени за придобита резистентност. Освен това, не са открити изолати с хемолитична активност или наличие на гени, свързани с биосинтезата на биогенни амини (хистидин- и тирозин-декарбоксилаза).

Трябва да се подчертае, че дисертацията е написана в добър научен стил и коректното отразява получените резултати. Доказателственият материал е оформен професионално в 14 таблици, 23 фигури (повечето комплексни) и 2 приложения.

Изводите са логично следствие от проведените експерименти. Според мен са формулирани коректно и подчертават постигнатото. Броят им наистина е голям, но е адекватен на огромната експериментална работа.

В резултат на извършените изследвания са формулирани сериозни теоретични и приложни приноси, както оригинални, така и потвърдителни. С тази разработка, научната ръководителка и докторантката представят обобщена информация и знание за български щамове пробиотици за включване в международните база данни. По същество, приносите се отнасят до следното:

1. Доказано е, че слабо проучените екологични ниши в България (традиционни български продукти, кърма и фецес от новородени) са неизчерпаем източник на полезни МКБ, способни да произвеждат ценни за човешкото здраве продукти.

2. Постигната е детайлна характеристика на една изградена в годините колекция от МКБ като научна база за следващи теоретични и приложни изследвания.

3. Чрез молекулярно-биологични методи е постигната ре-класификация на щамовете в колекцията в съответствие със съвременната таксономия.

4. Получени са нови знания относно пробиотичния механизъм на действие на МКБ в полза на човешкото здраве.

5. Потвърдена е видово- и щамово-специфичната зависимост на МКБ от изследваната колекция по отношение на тяхните функционални и генетично-обусловени характеристики.

Всичко казано до тук подчертава още веднъж значимостта и актуалността на дисертационния труд.

6. Оценка на публикациите по дисертацията и личния принос на докторанта

Данните от дисертацията са включени в 3 научни статии, отпечатани в реномирани специализирани списания: Frontiers of Bioscience – Elite (Q2), Microorganisms (Q2) и Journal of Chemical Technology and Metallurgy (Q3). Докторантката е представила свои резултати на 4 национални и 3 международни научни форума. Това ми дава основание да считам, че резултатите на Виктория Маринова-Йорданова са станали достояние на нашата и международната научна общност. Тя е първи автор в 2 научни публикации и във всички участия, което доказва нейния значим дял в разработването на дисертационния труд.

7. Автореферат

Авторефератът е правилно структуриран и адекватно отразява същността и постигнатите резултати от дисертационния труд.

8. Критични забележки и препоръки

Нямам сериозни критични забележки относно представения дисертационен труд. Към докторантката имам следните въпроси:

1. Какво е Вашето мнение за постбиотиците, те ще изместят ли пробиотиците или ще допълнят интереса към тях?

2. С кои щамове от колекцията заслужава да бъдат продължени изследванията с цел получаване на готови продукти – про- или постбиотици?

3. В дисертацията (стр. 92) отбелязвате, че планирате допълнителни изследвания относно антиоксидантната активност на някои от проучваните щамове. Как ще продължи разработването на тази тематика и какво по-точно имате пред вид като експериментална дейност?

Заключение

В заключение искам да подчертая, че докторантката е изпълнила изискванията на ЗРАСРБ, както и тези в Правилника към него на СУ „Климент Охридски“ за придобиване на образователната и научна степен ”доктор”. Материалът, който представя Виктория Маринова-Йорданова е дисертабилен, темата е актуална и предлага съвременно ниво на важен за теорията и практиката въпрос. Проведените експерименти са реализирани на базата на адекватни за целта методи, чрез които поставената цел е многостранно и детайлно проучена. Към тази характеристика на дисертационния труд искам да добавя, че според мен, Виктория Йорданова излиза от докторантурата като добре подготвен специалист в областта на микробиологията, усвоила е голям брой съвременни методи, получила е опит при интерпретиране на научни данни.

Поради 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 **ВИКТОРИЯ ЙОНКОВА МАРИНОВА-ЙОРДАНОВА** в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3. Биологически науки (Микробиология).

25.04.2026 г.

Рецензент: .....

/проф. Мария Ангелова-Дянкова, дбн/