



Становище

От доц. Люба Динева Митева, дб

Катедра Молекулярна биология, Имунология и медицинска генетика,
Медицински факултет, Тракийски университет, гр. Стара Загора
e-mail: Lyuba.Miteva@trakia-uni.bg

член на научното жури определено със Заповед № 3738/17.11.2022г. на Ректора на Тракийски университет, гр. Стара Загора

Относно дисертационен труд за присъждане на образователно научна степен „Доктор“

Професионално направление 4.3. „Биологически науки“

Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“
докторска програма „Микробиология“

Автор на дисертационния труд: Розалина Димитрова Йорданова

Тема на дисертационния труд: ФЕНОТИПНИ И ГЕНЕТИЧНИ МЕТОДИ ЗА ОТКРИВАНЕ НА ФАКТОРИ НА ВИРУЛЕТНОСТ И РЕЗИСТЕНТНОСТ НА КЛИНИЧНИ ИЗОЛАТИ *ENTEROCOCCUS* SPP.

Научен ръководител: Доц. Георги Георгиев Беев, дб

Проф. Спаска Ангелова Станилова, дбн

1. Биографични данни за кандидата:

Розалина Димитрова Йорданова е родена през 1984г., завършила средното си образование в средно общообразователно училище „Георги Измирлиев“ гр. Горна Оряховица. В периода от 2003-2009г. изучава и придобива магистърска степен по Медицина в Медицински факултет, Тракийски Университет, гр. Стара Загора. През 2015г. придобива специалност по Микробиология. От 2016г. е зачислена в докторантура на самостоятелна подготовка по научна специалност „Микробиология“; Професионално направление 4.3. „Биологически науки“ Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“ към Медицински факултет на Тракийски университет, гр. Стара Загора. В края на 2019г. Розалина Димитрова Йорданова е отчислена с право на защита със Заповед № 3527/20.12.2020г. на Ректора на Тракийски университет, гр. Стара Загора.

2. Структура, актуалност и съдържание на дисертационния труд:

Дисертационният труд с автор Розалина Йорданова е представен във вид и обем, съответстващ на изискванията на ЗРАСРБ и ПРАСТрУ и съдържа: заглавна страница,

използвани съкращения, съдържание, въведение, литературен обзор, цел и задачи, материал и методи, резултати, обсъждане, изводи, приноси и библиография.

Дисертационният труд обхваща 151 страници и е онагледен с 1 схема, 15 фигури и 40 таблици. Използвани са 420 литературни източника, от които 1 на български език, останалите – на английски език.

Литературният обзор е написан подробно и изчерпателно, като е използван много добър научен стил. В раздела са представени обобщени данни относно таксономията, морфологията и физиология и епидемиология на *Enterococcus* spp. Подробно представени са фактори на вирулентност и патогенност при *Enterococcus* spp. и клиничен спектър на инфекциите, причинени от тях. Обърнато е специално внимание на методи за идентификация на *Enterococcus* spp., както на такива базирани на фенотипни характеристики на ентерококите, така и на молекулярно-генетични методи. Разгледани са подробно механизми на резистентност на *Enterococcus* spp. към голям набор от антимикробни средства. Литературният обзор завършва с обобщение относно непълноти в научната литература по темата, които са използвани като мотив за формулиране на целта на дисертационния труд, а именно *проучване факторите на вирулентност, включително quorum-sensing регулиращи гени, детерминиращи биофилм-формираща активност и оценка профила на антибиотична резистентност на клинично значими и коменсални щамове Enterococcus spp.*, изолирани от клинични материали от хоспитализирани пациенти. За постигането на целта, са определени общо 8 задачи, които ясно очертават основните стъпки за реализиране на поставената цел.

За целите на проучването са изследвани общо 188 неповтарящи се изолата *Enterococcus* spp., от които 110 изолирани от амбулаторни и хоспитализирани пациенти и 78 от фекални проби на хоспитализирани пациенти. За идентификация на ентерококите са използвани стандартни и хромогенен културелни методи както и автоматизирана система Vitek MS. За идентификация чрез молекулярно-генетични методи е приложен мултиплексен PCR анализ за доказване *sodA* гените на видовете *E. faecalis* и *E. faecium*. Антибиотичната чувствителност на клиничните изолати *Enterococcus* spp., е определена чрез диск дифузионен метод на Kirby-Bauer върху Muller Hinton agar. В допълнение, чрез PCR-базирани методи са търсени гени за резистентност към различни групи антимикробни лекарствени използвайки общо 4 гена – *TEM*, *aac(6)/aph(2'')*, *vanA*, *vanB*. Използвани са методи за определяне на биофилм-формиращата активност, биохимични и PCR-базирани методи за доказване на гени *cylA*, *gelE*, *asal* и *esp* за оценка на фактори на вирулентност при *Enterococcus* spp., като са предложени мултиплексни PCR-подходи.

Резултатите от дисертационния труд са представени информативно, изчерпателно и са добре онагледени със снимкови материали, фигури и таблици. В раздел „Дискусия“ дисертантът умело коментира получените резултати и ги съпоставя с известните данни от научната литературата. Въз основа на анализ на данните са изведени общо 11 извода, които съответстват на получените експериментални резултати.

Докторантът извежда 4 приноси на своя дисертационен труд, от които 3 оценявам като приноси с оригинален и научно-приложен характер и 1 е с потвърдителен характер.

3. Наукометричните критерии

Към материалите по защитата са представени **5 научни публикации** по темата на дисертацията, като във всички докторанта Розалина Йорданова е първи автор. Една от публикациите е публикувана в списание с **импакт фактор (IF₂₀₂₁=2.838)**, ранкирано в

Q2. Друга публикация в списание *Trakia Journal of Science* е цитирана от чуждестранен научен колектив в реферирано издание. Представени са и 4 участия в научни форуми и участия в колективите на 2 научно-изследователски проекта.

4. Автореферат

Представеният автореферат от 46 стр. е оформен според изискванията и коректно отразява основните резултати, тяхното обсъждане, изводи и научните приноси на дисертационния труд.

5. Заключение

Считам, че дисертационният труд на Розалина Димитрова Йорданова е завършен научен труд, представящ оригинални научни данни от извършената от докторанта научно-експериментална работа и показва нейните задълбочени теоретични и практически познания в областта на научната специалност микробиология. От извършената научно-изследователска работа са постигнати оригинални научни резултати със значим потенциал за приложение в медицинската практика.

Оценявам положително настоящия дисертационен и считам, че отговаря напълно на изискванията на ЗРАСРБ за придобиване на образователната и научна степен „Доктор”.

Всичко това ми дава основание убедено да гласувам положително, като член на Научно жури, да се присъди на Розалина Димитрова Йорданова образователната и научна степен „Доктор” в област 4. Природни науки, математика и информатика; Професионално направление 4.3. Биологически науки по докторантска програма „Микробиология”.

гр Стара Загора

07.12.2022 г.

Подпис:



/доц. Люба Митева, дб/



PhD Thesis Statement

From: assoc. prof Lyuba Dineva Miteva, PhD

Department of Molecular biology, Immunology and medical genetics
Medical Faculty, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria
e-mail: Lyuba.Miteva@trakia-uni.bg

A member of the Scientific Jury defined by Order No. 3738/17.11.2022 of the Rector of the Trakia University, Stara Zagora

Of PhD thesis in Professional area 4.3. "Biological Sciences"
Higher Education Area 4. "Natural Sciences, Mathematics and Computer Science"
PhD program in Microbiology

Author of PhD thesis: Rozalina Dimitrova Yordanova

Title of PhD thesis: Phenotypic and genetic methods for detection of virulence factors and resistance among *Enterococcus* spp. clinical isolates

Scientific Supervisor: Assoc. prof. Georgi Georgiev Beev, PhD
Prof. Spaska Angelova Stanilova, PhD, DSc

1. Author's personal data:

Rozalina Dimitrova Yordanova was born in 1984 and graduated from the Secondary Education School "Georgi Izmirliiev", Gorna Oryahovitsa. In the period from 2003-2009, she studied and obtained a master's degree in Medicine at the Faculty of Medicine, Trakia University, Stara Zagora. In 2015, she acquired a degree in the medical specialty of Microbiology. Since 2016 she has been enrolled in a self-study doctoral program in the scientific specialty "Microbiology"; Professional direction 4.3. "Biological Sciences" Higher Education Area 4. "Natural Sciences, Mathematics and Informatics" at the Faculty of Medicine, Trakia University, Stara Zagora Bulgaria. At the end of 2019, Rozalina Dimitrova Yordanova acquires the right of defence by Order No. 3527/20.12.2020 of the Rector of Trakia University, Stara Zagora.

2. Organization of the PhD thesis and General comments

The PhD thesis by Rozalina Yordanova is presented in a form and volume that meets the requirements of ZRASRB and PRASTrU. It contains a title page, a list of used abbreviations, content, an introduction, a literature review, aim and tasks, material and methods, results, discussion, conclusions, contributions and a bibliography. The PhD thesis comprises 151 pages

and is illustrated with 1 diagram, 15 figures and 40 tables. A total of 420 references were used, one of which is in Bulgarian, and the rest are in English.

The literature review is comprehensive, written in detail, using a very good scientific style. The section presents summary data on the taxonomy, morphology and physiology and epidemiology of *Enterococcus* spp. Virulence and pathogenicity factors in *Enterococcus* spp. and the clinical spectrum of infections caused by them are presented in detail. Special attention was paid to methods for the identification of *Enterococcus* spp., both based on phenotypic characteristics of enterococci and molecular genetic methods. Mechanisms of resistance of *Enterococcus* spp. to a wide range of antimicrobial agents are clearly presented. The literature review ends with a summary of gaps in the scientific literature on the subject, which were used as a motive for formulating the aim of the PhD thesis, namely “*The study of virulence factors, including quorum-sensing regulatory genes, determining biofilm-forming activity and evaluating the profile of antibiotic resistance of clinically relevant and commensal Enterococcus spp. strains isolated from clinical materials from hospitalized patients*”. To achieve the goal, a total of 8 tasks have been defined, which clearly outline the main steps for realizing.

For the purposes of the study, a total of 188 non-repetitive isolates of *Enterococcus* spp. were examined. Of these 110 were isolated from ambulatory and hospitalized patients and 78 from faecal samples of hospitalized patients. Standard and chromogenic cultural methods as well as the Vitek MS automated system were used for the identification of enterococci. In addition, the identification by molecular genetic methods was applied. A multiplex PCR analysis targeting the *sodA* genes of *E. faecalis* and *E. faecium* species was used. The antibiotic sensitivity of clinical isolates of *Enterococcus* spp. was determined by the Kirby-Bauer disk diffusion method on Muller Hinton agar. In addition, PCR-based methods targeting genes for resistance to different groups of antimicrobial drugs such as *TEM*, *aac(6')/aph(2'')*, *vanA*, and *vanB* were applied. Methods for determining biofilm-forming activity, biochemical and PCR-based methods were used to prove genes *cylA*, *gelE*, *asa1* and *esp* for evaluation of virulence factors in *Enterococcus* spp. A multiplex PCR approaches have been proposed.

The results of the PhD thesis are presented informatively, comprehensively and are well illustrated with photographic materials, figures and tables. In the "Discussion" section, the PhD student showed her skills to comment on the obtained results and compares them with the known data from the scientific literature. On the basis of the logical analysis of the obtained results, 11 conclusions were drawn. In addition, the PhD student presents 4 contributions to her thesis, of which 3 I assess as original and scientifically applied contributions and 1 as confirmatory contribution.

3. Scientific criteria

The PhD candidate presents 5 scientific publications on the subject of the PhD thesis. Rozalina Yordanova is the first author of all of them. One of the publications is published in a journal with

an impact factor (IF₂₀₂₁=2.838) ranked in Q2. Another publication by Rozalina Yordanova published in the *Trakia Journal of Science* was cited by a foreign scientific team in a refereed journal. The PhD candidate presents also 4 participations in scientific congresses and participation in the working team of 2 research projects.

4. The abstract

The presented abstract contains 46 pages and is formatted according to the requirements. The abstract correctly reflects the main results, their discussion, conclusions and scientific contributions of the PhD thesis.

5. Conclusion:

Rozalina Dimitrova Yordanova's PhD thesis is a complete scientific work, presenting original scientific data from the performed research work and showing her in-depth theoretical and practical knowledge in the field of the scientific specialty Microbiology. Original scientific results with significant potential for application in medical practice have been achieved.

I positively appraise this PhD thesis and consider that it fully complies with the requirements of the ZRASRB for the acquisition of the PhD degree.

All of this gives me a reason to vote positively as a member of the Scientific Jury to be awarded Rozalina Dimitrova Yordanova a PhD degree in science in field 4. Natural sciences, mathematics and informatics; Professional area 4.3. Biological Sciences under the Doctoral Program in Microbiology.

Stara Zagora

07.12.2022

Signature:

A rectangular area that has been redacted with a solid yellow color, obscuring the signature of the official.

/assoc. prof Lyuba Miteva, PhD/