

РЕЦЕНЗИЯ

От Проф. Д-р Емма Едмонд Кьолеян - Христова, дм,

Отделение по Клинична Микробиология,

Медицински институт – МВР,

Специалист по Микробиология, ПН 7.1. Медицина

Член на Научното жури съгласно Заповед № I-841/01.07.2020 на

Директора на Институт по Микробиология „Ст. Ангелов“ - БАН

Във връзка с Конкурс за заемане на Академичната длъжност „Доцент“ по професионално направление 4.3 Биологични науки, научна специалност:

Микробиология, обявен в ДВ бр. 47 от 22.05.2020 г.

за нуждите на Лаборатория „Молекулярна биология на микобактерии”, Департамент „Инфекциозна микробиология”, Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН, съгласно Решение на Научен съвет с Протокол № 6/25.06.2020 г и решенията на Първото заседание на Научното жури от 24.07.2020 г.

ОБЩО ПРЕДСТАВЯНЕ НА ДОКУМЕНТАЦИЯ ПО КОНКУРСА

Във връзка с конкурса документи е подал и е одобрен за участие един кандидат – Гл. асистент Виолета Вълчева Русева, доктор, член на същия департамент и лаборатория.

Представената документация е в съответствие с изискванията на ЗРАС и Правилника на Института по Микробиология на БАН - съдържа необходимите документи, вкл.: Заявление, Копие от обявата, Копия на дипломи/ свидетелства за: -висше образование, - ОНС „доктор“, вкл. Автореферат на дисертационния труд. Участничката е подготвила: Творческа автобиография по европейски образец, Списък на научните трудове с техни пълни копия, Списък на цитиранията, Списък на научните проекти, Списък на участията в научни конгреси с представени абстракти с копия, Справка за приносите, Справки относно: - изпълнението на минималните национални изисквания и изискванията на Института по Микробиология - БАН, - за импакт фактор и ранг, както и за основните научни приноси. Подготвената информация е прецизно организирана.

КАРИЕРНО РАЗВИТИЕ И АКАДЕМИЧНО ИЗРАСТВАНЕ

Гл. асистент Виолета Вълчева е родена през 1978 г. През 2002 г завършва като бакалавър СУ „Св. Климент Охридски“- София - специалност „Биотехнологии“, и през 2005 г се дипломира като магистър с успех отличен (5.50) – специалност „Микробиология и микробиологичен контрол“. Трудовият ѝ път започва от края на 2004 г в Института по Микробиология при БАН като биолог-специалист, а от 2005 до 2008 г е докторант и след защита на Дисертационен труд „Молекулярно-генетични характеристики на щамове *Mycobacterium tuberculosis*, изолирани от различни региони на България“, придобива ОНС „доктор“. Научно-изследователската ѝ работа като главен асистент разширява ареала на проучванията, вкл. с участия в национални и международни научни проекти, публикации в международни и български списания, активно участие в научни форуми. Непрекъснато повишава квалификацията си, вкл. чрез 3-месечни специализации във водещи световни центрове:– в Институт Пастър, Санкт Петербург, Русия - 2005 г (стипендия на FEMS) и 2007 (стипенция от проект на НАТО), както и 2 седмици 2015-2019; - в Институт Пастър – Гваделупа, Франция – 2007, 2008, 2009 (стипендии от Проект на НАТО и Институт Пастър- Париж); Централна детска болница – Пекин, Китай – 2005, 2012. Завършва няколко курса по СДО – национални и международни, вкл. в Институт Пастър: - Париж, Санкт Петербург, Атина; Институт по здравеопазване – Утрехт, Нидерландия; Университет Гент, Белгия; Център по контрол на заболяванията, Шанхай, Китай. Постепенно израства като високо компетентен научен работник, вкл. водещ автор на научни публикации, участник и ръководител на научни проекти; тя е PR на Институт по Микробиология - БАН. Член е на Съюза на учените в България, както и на авторитетните международни организации: ESM (European Society of Mycobacteriology), ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), FEMS (Federation of the European Microbiology Societies), ISID (International Society of Infectious Diseases). Получила е три награди за научна работа и е с най-висок резултат от последната атестацията в института. Израз на експертната и учебно-преподавателската ѝ активност са научното ръководство и рецензия на Дипломни работи, работата ѝ като консултант на дисертации за придобиване на ОНС „доктор“. Гл. асистент Виолета Вълчева ползва английски, руски и френски езици; има компютърни умения, както и познания по биоинформатика. Творческата ѝ биография я характеризира като активен и успешен научен работник.

ОЦЕНКА НА НАУЧНО-ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКАТА ДЕЙНОСТ

1. Научно-метрични показатели

Съгласно изискванията на ЗРАСРБ:

- по Група показатели „А“- показател 1 – защитена дисертация за ОНС „доктор“ - „Молекулярно-генетични характеристики на щамове *Mycobacterium tuberculosis*, изолирани от различни региони на България“, и става ОНС „доктор“. – 50 точки

- по група показатели „В“- показател 4 – (публикации, индексирани в Scopus, Web of science) - изискуеми 100 точки, налични 130 точки

- по група показатели „Г“: сума от показатели от 5 до 10 (показатели 7 и 8 (вкл. 2 глави от книги) – изискуеми 200 т, а налични – 237 точки за публикации след ОНС „доктор“

- по група показатели „Д“ – сума от точките в показател 11: цитирания в световните база данни: - 28 статии, цитирани в 241 международни публикации – вм. изискуеми 50 т, 482 точки

Съгласно изискванията на Института по Микробиология на БАН:

-равносметката е аналогична. Според тях, кандидатът за академична длъжност „доцент“ следва да представи 20 публикации с IF, и да бъде в 5 от тях първи автор, докато Гл. асистент Виолета Вълчева е представила 24 публикации, като в 7 е първи автор. Изчисленият Impact factor от статиите е 40.295 (при изискуем 20); h factor (Scopus) е 13 при изискуем 5. Вместо участието в 3 научни проекти, кандидатката участва в 14, от които в 7 като ръководител.

2. Оценка на научните публикации, представени за придобиване на академична длъжност „доцент“ - Основни научни направления и приноси

Кандидатката представя детайлно описание и анализ на научните трудове по основни научни направления, формулирани от нея, започващи с *Въведение* - теоретична обосновка – своеобразна анотация и рационале, последвани от *Основни научни приноси* и *Библиография*. В настоящата оценка обект на анализ са оригиналните статии.

Тематично направление I: Идентификация и молекулярна епидемиология на туберкулозата при животните

Две от представените статии (Библиография 1 и 2), докладват пионерски изследвания по разпространението на *Mycobacterium bovis*, причинител на туберкулозата при говедата, в България. Изследвани са 1193 материали от лимфни възли и бял дроб на заклани животни или дали (+) реакция с туберкулин за периода 2015-2018 г. от 10 географски района в България. Изолирани са 283 бактериални изолата, от които 263 – *M. bovis*. При проведеното сполиготипиране (spacer oligonucleotide typing, хибридизация след PCR амплификация) се установяват сполиготипове, отнасящи се към класическия *M. bovis*

/предимно в североизточна България/, както и такива, характеризиращи *Mycobacterium caprae*, установен за първи път у нас /предимно в югозападна и централна България/.

Тематично направление II: Разпространение на паратуберкулозата при диви животни в България

Извършено е изследване за причинителите на паратуберкулозата – *Mycobacterium avium* spp *paratuberculosis* (MAP) – при елени, муфлони и сърни от ловни стопанства 2009 – 2013 г, чрез изследване на мезентериални лимфни възли, тънки черва и фецес. Приложен е специфичен за MAP PCR потвърдителен тест (IS 900 PCR kit). Заболяването е потвърдено при 8.8 % от суспектните за заболели животни, което акцентира върху епидемичната опасност от заразяване на други диви и домашни животни - поради излъчването на причинителя във външната среда (Библиогр. 3 и 4). Библиографичен източник 5 е обзор, разглеждащ MAP като причинител на паратуберкулозата при животните и на болестта на Crohn при хората. Последното твърдение, обаче, е изключително дискутабилно: болестта на Crohn е все още с не напълно изяснена етиология, но категорично е доказано, че е автоимунно заболяване. Обсъжда се участието на евентуални рискови фактори, вкл. на някои бактерии, но през последните години изследвания с най-прогресивни техники не намират участието на MAP.

Тематично направление III: Молекулярна епидемиология, лекарствена резистентност, филогенетика и еволюция на *Mycobacterium tuberculosis* в България и по света

Филогеографията на *Mycobacterium tuberculosis* е свързана най-вече с миграцията на хората, е извод, произтичащ от библиографски източник 6, разглеждащ Latin-American-Mediterranean (LAM)-кластер щамове от различни географски области. На базата на изследване *de novo* на 120 LAM-family щамове с 24 MIRU-VNTR метод (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units-Variable Number of Tandem Repeats) и други методи, и чрез използването на 24 –MIRU-VNTR – профили на 258 щамове от страни от целия свят, се установяват 3 подлинии: RD115, RD174, SIT33: най-преобладаващата RD115 е най-древна, чието разпространение започва вероятно от западно-средиземноморския район и е широко разпространена в Ю. Африка, Русия, Северна Евразия и България. RD174 вероятно произхожда от Бразилия и е широко разпространена в Ю. Америка, Португалия и Югоизточна Африка. SIT33 е по-късна и разпространена в Ю. и Сев. Америка и Африка.

Разпространението на сполиготиповете *M. tuberculosis* в България се обсъжда в библиогр. източници 7, 8 и 9, 11. Доказано е, че у нас разпространението е хетерогенно.

При 133 преди сполиготипирани щамове (изолирани 2004-2006) е приложено типирание чрез 24-MIRU-VNTR и IS6110-RFLP (фингърпринтинг, определящ полиморфизма по дължината на рестрикционните фрагменти: предварително рестриктираната хромозомна ДНК след електрофоретичното ѝ разделяне се пренася на мембрана и хибридизира с IS6110-сонда). Оказва се, че носители на IS6110, т.е. типичните щамове от LAM-family са под 4 %. В България преобладават различни глобално разпространени щамове от сполиготиповете ST 53, ST 47, ST 34, както и Балканските сполиготипове: ST 125, ST 41, ST 284. Сполиготип ST 125 е специфичен за България и не е свързан с лекарствена резистентност и повишена способност за разпространение. На базата на 21-VNTR-typing ST125 щамове са разделени на 12 подтипа: T1 – T12 и са изведени изводи, че при тях отсъства IS6110 и не се отнасят към LAM-family, а към S-фамилия (близки са до ST34), първо описана в Сицилия и Сардиния, и са сравнително древни: > 500 години.

В отделни публикации се докладват епидемиологични проучвания, направени с щамове, изолирани в някои други страни: от 56 ДНК-проби от храчки на пациенти от затвори в Киргизтан, се установяват сходни *M. tuberculosis* с тези, широко разпространени в Русия, но и от Сем. Beijing, в допълнение се установява устойчивост към Rifampicin (RIF) 28 % и към Isoniazid (INH) 5.5 % (библиогр. 12). Както се очаква, в района на Пекин, Китай (библиогр. 14), щамовете Beijing са преобладаващи: установени в 113 от 123 изследвани щамове, и типично, MDR.

Все по-актуално е установяването на лекарствената резистентност при *M. tuberculosis* като причина за неуспех на терапията и епидемиологичен фактор за разпространение на заболяването. Изследванията на В. Вълчева и колективи (8,9,13,14) са едни от първите, показващи диагностичното значение на молекулярно-генетичните техники за бързото доказване на устойчивост към противотуберкулозните средства и необходимост от промяна на терапията. Основно в библиогр. източник 10, както и в 9 (съответно обзор и глава от монография), се обсъждат изследванията, базирани на доказване на мутационната резистентност към rifampicin, pyrazinamide (PZA), ethambutol (EMB), isoniazid, streptomycin (STR) чрез PCR със специфични праймери. В българските щамове са установени 3 вида мутации в ген *rpoB* (RIF) – в 20 от 27 устойчиви щамове, като *rpoBS5312* е най-разпространена; 11 от 23 INH устойчиви изолати са с мутационна устойчивост *katG* S315T (48 %); *inhA*-15C>T – мутация е установена в чувствителни и резистентни щамове; при 7 от 11 EMB резистентни щамове се доказва мутацията *embB306*; при резистентни на STR *M. tuberculosis* не е доказано наличието на мутация *rpsL43*. Установено е, че лекарствената резистентност не е свързана с популационната структура

на щамовете; търсенето на мутации в *groV* и *embB306* е надежден бърз метод за доказване на резистентност към RIF и EMB.

Тематично направление IV: L- форми при микобактерии и стафилококи

L- формите при *M. tuberculosis* (библ. източник 15) се характеризират с по-бърз растеж на течни хранителни среди и е доказано, че са важен метод за преживяване на туберкулозните бактерии, вкл. при латентната туберкулоза. Извършени са експериментални *in vivo* изследвания, чрез заразяване на плъхове, последващото им култивиране в хранителни среди и доказването им чрез електронна микроскопия и сполиготипиране.

Тематично направление V: Разработване на нови съединения с анти туберкулозна активност

Дългият курс комбинирано прилагане на противотуберкулозни лекарства за лечение, и особено развилите се и разпространяващи се в последните години резистентни и поли-резистентни щамове (MDR) са основание за проучването на нови лекарства - приоритет според СЗО. Гл. асистент В. Вълчева участва активно в колективи, проучващи нови анти туберкулозни средства (библиография 17-24). Прилагайки метода на Canetti за определяне на Минималните подтискащи концентрации (МПК), тя извършва скрийнинг на новосинтезираните съединения, задължително спрямо еталонния щам H₃₇Rv, както и спрямо MDR устойчив щам 43 (RIF, INH). Получените резултати показват значителна *in vitro* активност на редица от изпитаните съединения: ругазол и кумарин-производни, съдържащи хидразид-хидразони (демонстрират *in vitro* активност, сравнима с INH (МПК 0.28-1.69 μM); ацил-хидразони: 2H-хромен или кумарин-свързан, чиито представители 7m, 7o и 7k са с МПК съответно 0.13, 0.15 и 0.17 μM, сравнимо с INH и EMB; хирални аминокиселини с камфанов скелет, от които 4 най-активни са с МПК 0.27-0.72 mM, т.е. по-висока активност от EMB; 22 производни на карбамид, тиоурея и ацил-тиорея с R-амино-бутанол мотив – производните на ацил-тиорея са с МПК 0.36 – 7.46 mM; амидоалкохоли и амидодиоли с камфоров скелет, някои от които до 25 пъти по-активни от EMB; диамидни производни на манделовата киселина с подобна активност на EMB; нови камфан-производни на изоиндолин, с подобна активност на EMB; 47 производни на 2-амино-бутанол: 5 съединения с R форма са 11 пъти по-активни от EMB.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Считам, че гл. асистент Виолета Вълчева е отличен научен работник, със значими приноси за експерименталната и клиничната микробиология, и по-специално в микобактериологията: - за динамиката и еволюцията на щамовете *Mycobacterium*

tuberculosis, - за филогеографията на причинителите при хора и при домашни и диви животни и епидемиологията на инфекциите, - за диагностиката на туберкулозата с бързи, молекулярно-диагностични методи: - за бързо установяване на резистентност към антитуберкулозните лекарства, - за разработването на нови терапевтични средства. Тя е един от учените, допринасящи за присъствието на българската наука на световната сцена. Автор е на научни статии, публикувани в авторитетни международни издания, с импакт- фактор над 40; има голям брой цитирания - 241, със завидно участие в научни проекти и програми, и като ръководител. Наукометричните показатели от оценката на научната ѝ дейност надвишават минималните национални изисквания по ЗРАС/изискванията на Институт по Микробиология при БАН. Основавайки се на тези факти, ще гласувам убедено за присъждането на Академичната длъжност „Доцент“ в Лаборатория „Молекулярна биология на микобактерии“, Департамент „Инфекциозна микробиология“, Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН на Гл. асистент Виолета Вълчева Русева.

30 август 2020 г

Проф. Д-р Емма Кьоляян, дм
Отделение Клинична Микробиология
Медицински институт - МВР