

## РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р Виолета Вълчев Русева,  
Ръководител на Лаборатория по молекулярна биология на микобактерии,  
Департамент по Инфекциозна микробиология, Институт по Микробиология  
„Стефан Ангелов“, Българска Академия на Науките

избрана за член на Научното жури със Заповед № I-115/02.10.2023г. на Директора на Институт по Микробиология "Стефан Ангелов" – БАН и за рецензент от Научно жури с Протокол №1/05.10.2023г.

**на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“**  
**с автор:** Мая Ангеловска

**Тема:** „Разпространение и характеристика на ентеропатогени щамове *Y. enterocolitica*, изолирани от свине“

**Научен ръководител:** чл. кор. проф. Христо Найденски , дvmн

**професионално направление:** Биологически науки

**научна специалност:** Микробиология 01.06.12

### **1. Общо описание на представените материали**

Автор на дисертационния труд е Мая Ангеловска – докторантка в свободна форма на обучение към Лаборатория по бактериална вирулентност, резистентност и нови антимикробни агенти на Департамент „Инфекциозна микробиология“, Институт по микробиология, БАН, с научен ръководител чл. кор. проф. Христо Найденски , дvmн

Представеният за разглеждане комплект материали на хартиен носител и в електронен вариант, е в съответствие с изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на БАН за прилагане на ЗРАСРБ и отговаря на критериите на Правилник за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Институт по микробиология “Стефан Ангелов” при БАН за придобиване на образователна и научна степен „доктор“.

### **2. Кратки биографични данни за докторанта**

Мая Ангеловска е родена на 2 май 1982г. и завършва средно образование в гр. Битоля, Северна Македония. През 2004г. завършва Софийски университет „св. Климент Охридски“, Биологически факултет с квалификация бакалавър по молекулярна биология а през 2006г. в същия факултет и магистър по вирусология. През периода

2006 – 2007г. е специалист-вирусолог в Институт по микробиология “Стефан Ангелов” при БАН , а от 2012г. до момента е специалист-микробиолог в същия институт. През 2019год. е зачислена като докторант на самостоятелна подготовка по професионално направление Биологически науки, научна специалност: Микробиология 01.06.12 в департамент по Инфекциозна микробиология към Института по Микробиология, БАН.

### **3. Актуалност на тематиката**

*Yersinia enterocolitica* е зоонозен патоген, причинител на йерсиниозата при хората и животните. Това заболяване е трето по значимост сред най-докладваните хранителни зоонози в страните от Европейския Съюз. Йерсиниозата е доказана и описана при различни видове животни, включително и при диви животни и птици. Двата ентеропатогенни бактериални вида са убиквитерно разпространени в околната среда и се адаптират лесно към различните условия в нея, което е важна предпоставка за заразяване на широк кръг гостоприемници и контаминиране на водата, почвата, фуражите, зеленчуците и др.

Във връзка с нарастващото значение и безпокойство за общественото здраве на патогенните за хора биотипове и серотипове *Yersinia*, както и ролята на свинете за месо като главен резервоар за разпространението на *Y. enterocolitica*, предственият дисертационен труд засяга здравен актуален проблем. Актуалността на дисертацията се дължи и на избора на нови съвременно молекулярно-биологични методи и епидемиологични данни за разпространението на *Y. enterocolitica*, изолирана от свине за клане, произхождащи от различни области на Р. България.

### **4. Обща характеристика и структура на дисертационния труд**

Разработеният от Мая Ангеловска дисертационен труд отговаря по съдържание и структура на изискванията за оформяне на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „доктор“. Научният труд е написан на 157 стандартни страници и е онагледен с 16 таблици и 26 фигури. Структурното разпределение включва въведение от 2 стр., литературен обзор от 45 стр., цел и задачи – 1 стр., материали и методи – 14 стр. Резултатите от собствените проучвания са изложени на 42 стр., разделени на точки, всяка от които има по няколко подточки. Обсъждането на резултатите е представено на 16 стр., а обобщените изводи от проведените анализи са на 1 стр. Приносите са на 1 стр. като 3 от тях са с оригинален характер и 1 с препоръка

към практиката. Използваната литература е на 20стр. като в нея са включени 294 литературни източника.

## **5. Литературен преглед**

Литературният обзор е написан изключително изчерпателно, подреден в добра структура и хронологична последователност и ясно показва, че докторантката демонстрира отлично познаване на ключовите изследвания, касаещи динамиката на епидемиологичния процес при йерсиниозите, причинени от *Y. enterocolitica* както и изследванията на други колективи в областта. Много добре са описани факторите на вирулентност при *Y. enterocolitica*, които могат да бъдат както хромозомно кодирани, така и плазмидно кодирани.

В табличен вид са представени данни за *Yop* ефекторните протеини на *Y. enterocolitica* и тяхната функция по време на инфекция както и присъствието на ентеропатогенните щамове *Y. enterocolitica* в различни проби от свине за клане, като подробно са описани и гените за вирулентност.

Направен е изчерпателен преглед на конвенционалните и молекулярно биологичните методи за доказване на *Yersinia enterocolitica*. Познаване на материала от докторантката личи и от представянето на приложението на различните амплификационни методи, които са по-ефективни подходи за доказване на гени. LAMP метода за доказване на патогенни *Yersinia enterocolitica* е добре проучен и се характеризира с висока чувствителност и специфичност, което е предпоставка за неговото включване в собствените изследвания на дисертантката.

В края на литературния обзор е отделено внимание и за анализ на нерешени проблеми по темата засягащи генетичното разнообразие при йерсиниозни щамове от патогенни биосеротипове от различни географски региони на страната и най-често изолирани в Европа като се следи както за разпространението на тези щамове, между свинете, така и тяхното попадане в хранителната верига и последователното им разпространение между хората.

**На база литературния обзор логично са формулирани целите и са изведени 8 задачи на изследването.**

## **6. Методика на изследването**

Методологията, която е използвана при разработката на дисертационния труд е впечатляваща – използвани са различни микробиологични, биохимични и молекулярно

-биологични тестове за изолиране и доказване на *Yersinia enterocolitica*. Това показва задълбочено познаване на методологията от страна на докторантката.

Обстойно са описани географската специфика на районите от където са взети пробите, използваните техники за събиране на биологичния материал и неговото изследване чрез поредица от тестове.

## **7. Резултати и Обсъждане**

В две последователни глави „Резултати” и „Обсъждане на резултатите” последователно са изложени и онагледени с таблици, графики и снимки, получените данни по описаните задачи. След всеки резултат докторантката представя обстоен анализ и обсъждане от епидемиологична гледна точка. При изпълнение на първата задача Мая Ангеловска използва голяма по обем извадка от проби – 790 на брой като 601 от тонзили и 189 от фецес, събрани от заклани свине за период от пет години (януари 2016г. – декември 2021г.). Подборът на свинете, от които са изследвани пробите е извършван на случаен принцип. Всички заклани свине са с произход от седем свинеферми или заводи за отглеждане на свине за угояване, разпределени в 4 различни географски области на Р. България и установени в 5 различни градове. Изпълнението на дейностите по другите задачи е направено върху изолирани 920 колонии, които по своите макроморфологични характеристики съответстват на представителите на род *Yersinia*. Фенотипно и биохимично са охарактеризирани 136 изолата като *Y. enterocolitica* като 106 от тях са изолирани от тонзилите, а останалите 30 произхождат от фецесите на свинете. В хода на изследванията докторантката изолира и идентифицира 43 щамове *Y. enterocolitica*, произхождащи от свински тонзили и фецес посредством PCR чрез доказване на фрагмент от рибозомалния оперон т.н. *16S rRNA* ген. Прави сравнителен анализ и по отношение на честотата на разпространението на изолираните *Y. enterocolitica* щамове по различните области в България като доказва, че географският регион на произход на свинете за клане не оказва влияние върху присъствието на *Y. enterocolitica*. Прави впечатление анализа и съпоставката между отделните ферми и значението на сезона. Подробно е проследена и чувствителността на щамовете към антибиотици и е създадена банка от щамове и техни ДНК. Определен е и вирулентният профил на изолираните щамове *Y. enterocolitica* и принадлежността им към серологична група. Доказано е, че всички щамове показват еднакви характеристики по отношение на наличие на серологична група, в резултат, на което всички принадлежат към серотип O:3. От получените резултати за доказване на

вирулентните детерминанти на *Y. enterocolitica* е установено присъствието на *ail* и *ystA* гена във всички изолирани 43 щамове *Y. enterocolitica*, а присъствието на плазмидно – кодиращия ген *yadA* само при 41.

По отношение на генетичното разнообразие на изолираните 43 щамове след проведен макрорестрикционен анализ на геномна ДНК, щамовете са групирани в пет пулсотипове (I, II, III, IV и V). Пулсотиповете са охарактеризирани и преобладаващ в голяма извадка от щамове (38 броя) е пулсотип I. На база получената информация е построена дендограма, която подразделя щамовете на два кластера S01 и S02, и три единични пулсотипове: SP1, SP2 SP3. Доказано е, че кластерите S01 и S02 показват висок процент на генетично сходство между си споделящи 97,4 % еднаквост. Единичният пулсотип SP3 генетично е най-отдалечен от кластерите и пулсотиповете.

Примково-медираната изотермична реакция LAMP като метод предлага големи възможности които позволяват използването му за диагностика в лаборатории с ограничени ресурси. В дисертационния труд е подчертано предимството на оптимизирания LAMP протокол за директно доказване на *phoP* гена на патогенни *Y. enterocolitica*, директно от тъканите на тонзилите и фецесите на свинете. Чувствителността на метода е по-висока от тази на конвенционалния PCR за доказване на патогени при род *Yersinia*. Това потвърждава неговото използване като бърз и надежден метод за доказване на патогени в храни или проби от свине в полеви условия, както и в лаборатории с ограничени ресурси.

Интерпретацията на получените резултати е логична и в заключението на дисертационния труд са формулирани 9 изводи. Висока оценка заслужават и посочените от автора приноси с оригинален характер особено тези с препоръка към практиката.

## **8. Оценка на публикациите**

Докторант Мая Ангеловска представя 2 публикации във връзка с дисертационния труд. Първата публикация е в списание *Antibiotics*, MDPI издание, индексирано в Scopus и Web of Science с квантил Q1 и *Acta Microbiologica Bulgarica* с квантил Q4. Участвала е в 9 международни и 3 национални научни конференции, което доказва нейният значим дял в разработването на дисертационния труд. Има участия и като член на научни колективи на проекти, финансирани от Фонд научни изследвания на МОН.

## **9. Оценка на автореферат а**

Авторефератът към дисертационния труд на Мая Ангеловска отразява основните резултати, постигнати в дисертационния труд и отговаря на всички общоприети изисквания в Правилника за прилагане на закона за развитието на академичния състав в Република България (ППЗРАСРБ) за изготвянето му.

## **10. Заключение**

Дисертационният труд **съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички** изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника за прилагане на ЗРАСРБ на БАН. Представените дисертационни резултати **напълно** съответстват на специфичните изисквания на Правилника на ИМикБ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че Мая Ангеловска **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Въз основа на изложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, и **предлагам на уважаемото жури да присъди на Мая Ангеловска образователната и научна степен „Доктор“ в направление Биологически науки, научна специалност: Микробиология 01.06.12.**

30.10.2023г.

Рецензент: .....

/доц. д-р Виолета Вълчева Русева/