

ТРАКИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ	
Стара Загора	
Ветеринарно медицински факултет	
Вх. №	679
Дата:	09/12/2019

РЕЦЕНЗИЯ

по конкурс: за заемане на академичната длъжност „ДОЦЕНТ“
по „Ветеринарна микробиология“;

Професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина, Област на висше образование:
6.0. Аграрни науки и ветеринарна медицина;
за нуждите на катедра „Ветеринарна микробиология, инфекциозни и паразитни болести“ при
Ветеринарномедицински факултет на ТрУ, Ст. Загора,
обявен в ДВ, бр. 54/09.07.2019 г.

Кандидат: Гл.ас. д-р **Николина Велизарова Русенова**

Рецензент: Проф. д-р **Стефан Ангелов Денев**, Доктор на науките,
Катедра „Биохимия и Микробиология“, Аграрен факултет, ТрУ, гр. Ст. Загора

На основание Решение на ФС на ВМФ (Протокол №34/24.09.19г.) и Заповед (№ 2634/01.10.19г.) на Ректора на ТрУ съм избран за член на Научно жури по горепосочения конкурс. На първото заседание на Научното жури (21.10.19г.) съм определен за рецензент. Декларирам, че не съществува конфликт на интереси между мен и кандидата в конкурса.

1. Кратки биографични данни и характеристика на научните интереси на кандидата:

Единствен кандидат в конкурса за заемане на академичната длъжност „Доцент“ е Гл. ас. д-р Николина Велизарова Русенова. Тя е родена на 01.10.1975 г. Завършила е ВМФ на ТрУ през 2000 г. с ОКС „Магистър“ по специалност „Ветеринарна медицина“, професионална квалификация „Ветеринарен лекар“ (Диплома № 07396/2000 г.). Същата година, след конкурс е избрана и назначена на академичната длъжност „Асистент“ (2000-2005) по Ветеринарна микробиология. Последователно е избирана за **Старши** (2005-2009) и **Гл. асистент** (2009-2019) по същата специалност. Като свободен докторант, защитава дисертация на тема: „Съвременни аспекти в диагностиката и контрола на американския гнилец по пчелното пило. Типизиране на патогена по някои конвенционални и молекулярни методи“ (2014). На тази база, ВМФ при ТрУ и присъжда ОНС „Доктор“ по „Епизоотология, инфекциозни болести и профилактика на заразните заболявания“ (Диплома № 052/01.12.2014 г.). Кандидатът притежава много добра езикова подготовка. Специализирала е в Холандия, Гърция, САЩ и др. страни в областта на ветеринарната микробиология, диагностичните методи в молекулярната биология и PCR-анализ на патогените. Член е на Българското микробиологично дружество и на СУ в България. Научните и интереси са в областта на ветеринарната микробиология. Те включват: Съвременни концепции за етиологията на най-опасните заразни заболявания при медоносната пчела; Микробиологична диагностика на пчелните патогени и тяхната фенотипна и генетична характеристика на базата на съвременни конвенционални и молекулярни методи; Географско разпространение и контрол; Профилактика и терапия на заразните заболявания по пчелите; Сериозни са научните и интереси и в областта на: Антимикробната активност и

резистентност, фармакокинетика и фармакодинамика на някои съвременни антимикробни средства при птици; Микробиологични, биохимични и клинични изследвания с експериментални инфекции при кучета и зайци; Бактериологични изследвания върху коагулазо-негативни стафилококи и тяхната антибиотико-резистентност при кози със субклиничен мастит; Микробиологична и патохистологична диагностика на слабо проучени бактериални патогени и техния патогенен потенциал при сибирска и хибридна есетра; PCR анализ на ентеропатогени в месо; Антимикробна активност и приложимост на нови дезинфектанти и етерични масла с важно ветеринарно-медицинско значение; Вирусологични изследвания и диагностика на опасни вирусни инфекции при различни видове животни и др.

Считам, цитираните научни интереси на Гл.ас. Н. Русенова за сериозни и актуални. Като имам предвид и дългогодишния и научно-преподавателски стаж във ВМФ, както и утвърждаването и като популярно име в областта на микробиологията и сред колегите, работещи в горепосочените области у нас и в чужбина, смятам участието и в настоящия конкурс като заслужено и обосновано.

2. Участие в изпълнение на научни проекти: Кандидатът е участвал в разработката и реализацията на общо 8 университетски научни проекти с общонационално значение, от които в 7 е - член на научните екипи, и на 1 - ръководител. Голяма част от изследванията на кандидата са финансирани на тяхна база.

3. Оценка на учебно-преподавателската дейност: От представените документи се вижда, че гл.ас.д-р Н. Русенова има 19-годишен научно-преподавателски стаж. Притежава удостоверение за професионална квалификация (Рег.№ 1191/11.05.2005 г.) по педагогика, издадено от Педагогически факултет на ТрУ. Води практически упражнения по 3 дисциплини: Ветеринарна микробиология, Ветеринарна вирусология и Биология и болести по пчелите и бубите. От 2017 г. води практически занятия и на английски език с чуждестранни студенти по първите 2 дисциплини. Участва в разработката и актуализацията на учебните програми по същите дисциплини, както и в провеждането на семестриални изпити. Тя е добре подготвен и уважаван от студентите преподавател.

4. Описание и оценка на представената научна продукция: Представен е списък с общо 41 научни труда, от които 4 за придобиване на ОНС „Доктор“. По принцип, последните не са обект на рецензиране в настоящия конкурс. От останалите 37 цялостно публикувани научни труда- 2 - са на кирилица и 35 - на английски език. Публикациите са в чуждестранни (14) и български научни издания (12), които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни, както и в нереперирани списания с научно рецензиране и в редактирани колективни томове (11). В 7 труда кандидатът е водещ автор (7, 17, 18, 19, 27, 30, 36); в 16 - на

второ място (9, 11, 12, 16, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 28, 29, 31, 34, 39, 41); в 14 - на трето и следващи места (5, 6, 8, 10, 13, 14, 15, 26, 32, 33, 35, 37, 38, 40). Особено впечатление правят 14 (37.84%) от представените трудове, които са в авторитетни, международно разпознаваеми, реферирани и индексирани издания, включени в международните бази данни Scopus и Web of Science. От тях 10 (71.43 %) са в чуждестранни издания с общ импакт фактор 15.424. Сред тях са издания като: *Journal of Virology* (IF=4.368), *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (IF=4.153), *Drug Development & Industrial Pharmacy* (IF=2.1), *Avian Pathology* (IF=1.70), *Current Microbiology* (IF=1.359) и др. Четири (4) (28.57 %) от индексирани публикации са в издания с общ импакт ранг (SJR= 0.717). Следва да се отбележи, че по научна продукция, кандидатът покрива изискванията на ЗРАСРБ и на Правилника за прилагането му в ТрУ. Националните минимални изисквания (Приложение 8.2.) по показателите В и Г, приети за ВМФ са не само покрити, но и преизпълнени.

Отделно от цялостно публикуваните трудове, кандидатът е представил допълнително и 16 резюмета на английски език от участие в авторитетни международни (13) и национални (3) научни форуми у нас и в чужбина. Както актуалността на представените доклади и постери, така и личното участие на кандидата в тези форуми, заслужават много добра оценка.

5. Оценка на научно-изследователската и научно-приложната дейност: Дългогодишната изследователска работа на Гл.ас. д-р Н. Русенова е съсредоточена върху няколко актуални фундаментално-приложни области на ветеринарната микробиология, а именно: етиологията, методите на лабораторна диагностика, превенцията и терапията на инфекциозните заболявания, експериментални модели на инфекции, антимикуробна активност и антимикуробната резистентност на съвременни антибиотични средства, клинична бактериология и вирусология и др. области с важно фундаментално и научно-приложно значение. Налице са редица оригинални и научно-приложни приноси в областта на ветеринарната микробиология и вирусология, по-важните от които са следните:

✓ Дискутират се съвременните концепции за етиологията, методите на лабораторна диагностика, контрола и профилактиката на европейския гнилец по ларвите на медоносната пчела. Акцентира се върху ролята на вторичната микрофлора в етиологията на това заболяване (7). За първи път се описват случаи на европейски гнилец в средата и края на активния сезон и се проучват причините за тежкото проявление на болестта, етиологията и мерките за контрол, без използване на антибиотици и сулфонамиди (21).

✓ За първи път у нас са проведени изследвания върху генетичната характеристика на щамове *Paenibacillus larvae* (*P. larvae*) чрез полимеразно-верижна реакция на репетитивни елементи (rep-PCR фингерпринтинг). Разработен е протокол за PCR анализ на щамовете изолирани от България, както и за бъдещи изследвания, с цел изясняване на еволюционната линия, към която принадлежат (27).

✓ Оригинален характер имат и изследванията за установяване биотиповете на *P. larvae* и връзката им с генотиповете чрез използване на идентификационната система BioLog GenIII и схема, базирана на три субстрата. Установено е, и се препоръчва епидемиологичните изследвания за откриване източника на инфекция, факторите за разпространение и контрола на Американския гнилец с етиологичен агент *P. larvae* да са на базата на молекулярно-генетични методи, а биотипирането да се използва като допълнително средство (30).

✓ Проучено е географското разпространение на американския гнилец, базирано на данни от регистъра на БАБХ, за период от 25 г. (1989 - 2013), както и на генотиповете на *P. larvae* в България. Акцентира се върху провеждането на редовен задължителен скрининг на пчелните семейства за ранна диагностика и прилагане на съответни мерки за превенция и контрол на това опасно заболяване (36).

✓ За първи път у нас са проведени мащабни теренни клинично-епидемиологични и лабораторни изследвания на над 40 пчелина в България със синдром на празния кошер, които показват, че инфекцията с *Nosema ceranae*, която води до нарушаване на чревния епител, до хранителен и енергиен дефицит и невъзможност на летящите пчели да се завърнат в кошерите си, е основна причина за бързия колапс на пчелните семейства и за обезлюдяването им (31).

✓ В обзорни публикации (5 и 6) се прави анализ на състоянието на здравеопазването в пчеларството в условията на пресъединяването на страната ни към Европейския съюз и свързаните с това предизвикателства, относно организацията на диагностиката, борбата и профилактиката на заразните и паразитни заболявания по пчелите.

✓ Проведени са мащабни изследвания относно акарицидното действие на използвани в пчеларската практика в България конвенционални и алтернативни противовароатозни средства – Перизин, Варостат Р, Варостоп и Екостоп. Установено е, че същите понижават екстензията в пчелните семейства до степен, която не влияе съществено върху тяхното нормално развитие и продуктивност (25).

✓ Оригинално е изследването и приложението на фармакокинетичното/фармакодинамичното (PK-PD) моделиране на поведението на флуорохинолоните в организма на птици като полезен подход в избора на оптимален дозов режим с цел намаляване на риска от селектиране на антимикробна резистентност при патогените. На тази база за пръв път у нас са сравнени ефикасността на марбофлоксацин и данофлоксацин месилат спрямо патогенен щам *E. coli* O78:K80. Сравняването на *in vitro* и *ex vivo* антимикробната активност на двата хинолона е показало, че имат концентрационно-зависим механизъм на действие спрямо *E. coli* O78:K80. На тази база, и на базата на установените други нови зависимости с елементи на оригиналност, последните се препоръчват в съответни дози при инфекции, предизвикани от този патогенен щам (11, 12). Доказано е също така, че данофлоксацинът и марбофлоксацинът, приложени в

обичайните дози при птици са ефикасни единствено при инфекции, предизвикани от високочувствителни микроорганизми (34).

✓ Определен научен интерес представляват и резултатите от изследванията на кандидата върху антимикробната активност на енрофлоксацин спрямо референтни, чувствителни и интермедийни щамове на *E.coli* и установените MIC както и време-зависимите бактерицидни криви, които могат да се използват за изготвянето на програма за терапия при проблемни инфекции и за намаляване на риска от селекция на резистентни мутанти (20, 34).

✓ Изследвана е ефективността на флуорохинолоните при експериментална инфекция с *E.coli* при птици, на базата на която се правят изводи с оригинален характер свързани с ефективната терапия (16).

✓ Установено е влиянието на модулаторите на ABC транспортните протеини при еукариоти - циклоспорин А и кверцетин върху MIC на данофлоксацин месилат към *E.coli* ATCC 25922 и клинични изолати от чувствителни и резистентни щамове от птици. Доказани са стойностите на MIC на комбинациите от данофлоксацин с кверцетин или с циклоспорин, както и някои от механизмите им на взаимодействие (19).

✓ Проучени са електрокардиографските промени, които настъпват при кучета с експериментална *Ps. aeruginosa* инфекция (8). Изследвани са и плазмените концентрации на аспартат аминотрансферазата (AST) и аланин аминотрансферазата (ALT) след експериментална *S. aureus* инфекция при кучета (28).

✓ За първи път в България са проведени мащабни лабораторни изследвания за наличие на метицилин-резистентни стафилококи, изолирани от мляко на лактиращи кози със субклиничен мастит, и тяхната чувствителност и антибиотикорезистентност към други съвременни химиотерапевтични средства. Резултатите от тези изследвания представляват несъмнен принос в диагностиката, профилактиката и терапията на маститните патогени (9).

✓ Обект на задълбочено изследване са и промените в плазмената концентрация на креатинин киназата (КК) при зайци с експериментална *S. aureus* инфекция. Доказано е, че плазмената активност на КК при зайци може да се използва като ранен маркер за кожно и вторично мускулно увреждане, свързано с образуването на абсцес, след стафилококова инфекция (37).

✓ Описан е първият случай на инфекция, причинена от някои слабо проучени патогени (*Staphylococcus warneri* и *Shewanella putrefaciens*) при сибирска и хибридна есетра. Извършено е идентифициране на причинителите, техните особености и патогенния им потенциал на базата на задълбочени микробиологични и патохистологични изследвания, което представлява несъмнен принос в областта на ветеринарната микробиология и болестите по рибите (39).

✓ Изследван е ефектът на някои дезинфектанти и един детергент върху микробната контаминация на апарати за люпене на хайвер, преживяемостта на хайвера и на личинките след

люпене. Установена е редукция в броя на микробната контаминанта след дезинфекция с различни дезинфектанти, както и положителен ефект върху жизнеспособността на личинките. Като най-ефективен за целта дезинфектант се препоръчва глутаралдехидът (24).

✓Тествана е антимикробната активност на дванадесет вида етерични масла спрямо микроорганизми (бактерии и гъби) с ветеринарномедицинско значение. Установена е висока бактерицидна и фунгицидна активност на маслата от канела (*Cinnamomum aromaticum*), риган (*Origanum vulgare*), лимонена трева (*Cymbopogon citratus*) и мащерка (*Thymus vulgaris*) спрямо причинители на различни инфекции (17) - принос с важно научно-приложно значение.

✓Разработен е PCR протокол за доказване на *eae* гена на ентеропатогенни *Escherichia coli* (EPEC) изолирани от контаминирано месо. (22). Методът показва висока чувствителност с праг на детекция от 1 cfu/ml разредена бульонова култура или хомогенат от месо. Предварителната 4- часова инкубация в бульон дава възможност за откриване на контаминация с начално ниво от 0,7 cfu/g свежо месо.

✓Проведени са широкомащабни изследвания за установяване разпространението на ензоотичната левкоза по говедата (ЕЛГ) в България за периода 1997-2004 г. чрез агар гел имунодифузионна реакция (AGID) по метода на Ухтерлони. Доказани са голям брой огнища на инфекция по региони в България. Препоръчва се стриктно спазване на националната програма за профилактика и контрол на ЕЛГ (13). Установено е, че хематологичните и кръвно-биохимични изследвания проведени при говеда спонтанно заразени с вируса на ензоотична левкоза могат да се използват като маркери за диференциране стадията на инфекцията по отношение на преживнената диагностика на заболяването (26). Направено е второ изследване на разпространението на ЕЛГ в България през 2012 г. и с ELISA кит, с цел проследяване на ефекта от прилагането на държавната програма за превенция и контрол на инфекциите. Резултатите отново са потвърдили широкото разпространение на ЕЛГ у нас. След прилагането на задължителните мерки за превенция и контрол на ЕЛГ в един регион са ликвидирани 78 огнища на инфекция (35).

✓За първи път у нас е изследвана серопревалентността на някои широко разпространени респираторни вируси в смесени стада от овце и кози в България. Установено е неравномерно разпространение на тестваните вируси, което се обяснява с различната видова чувствителност към вирусите и с еволюционната им адаптация към различни гостоприемници (18). Подобни мащабни вирусологични изследвания са проведени и с коне, магарета и мулета (23, 40, 41), което представлява несъмнен научен принос в изясняване разпространението и превалентността на редица вирусни инфекции по животните в различните области на страната, като основа на националната стратегия за тяхното ограничаване и ликвидиране.

6. Оценка на цитируемостта на научните трудове на кандидата: Към документите по конкурса е представен списък на цитиранията в международните бази данни - SCOPUS и WEB

of SCIENCE (№45/20.08.19 г.), изготвен от Централната университетска библиотека, на базата на приетите в ТрУ изисквания. От документа се вижда, че до август 2019 г. кандидатът има регистрирани около 150 цитирания в научни издания с импакт-фактор и импакт-ранг, включени в горепосочените бази данни, което е многократно повече от приетите във ВМФ изисквания, залегнали в Приложение 8.2. на ПРАС в ТрУ. Позволявам си да отбележа, също така, че кандидатът има още много други цитирания на научните си трудове в реферирани научни издания, монографии и дисертации, както показва справка ми в международната информационна система Google Scholar. Кандидатът има индекс на цитируемост (h-index) по SCOPUS - 5.0; по Google Scholar - 9.0. Високата цитируемост на трудовете представени в конкурса е обективен критерий за актуалността и значимостта им в областта на ветеринарната микробиология.

7. Изпълнение на минималните национални изисквания за академичната длъжност „Доцент“: Приемам доказателствата, свързани с представената справка за изпълнение на минималните национални изисквания, определени в ПРАС в ТрУ (*Приложение 8.2.*), от която се вижда, че кандидатът превишава седем от тях (Групи В, Г, Д, Ж, З, И, Й), което заслужава висока оценка.

8. Лични впечатления: Познавам Гл.ас д-р Н. Русенова от студентските и години. Тя е изграден и уважаван преподавател и учен. Трудолюбива, толерантна, академична и коректна. Умее да работи в колектив и да създава партньорство с широк кръг учени от Б-я и чужбина по актуални интердисциплинарни проблеми на ветеринарната микробиология и медицина.

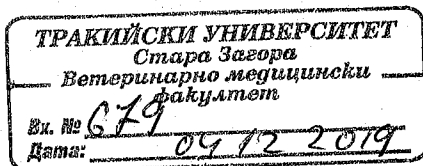
ЗАКЛЮЧЕНИЕ: От направения преглед и анализ на представените документи и справки е видно, че в обявения конкурс за „Доцент“ кандидатът участва с достатъчна по обем и качество научна продукция, научно-приложна и преподавателска дейност, които напълно отговарят на минималните национални изисквания, утвърдени в ПРАС на ТрУ за заемане на тази академичната длъжност. Въз основа на всичко това с убеденост препоръчвам на уважаемите членове на научното жури да гласуват положително за присъждането на академичната длъжност „Доцент“ на Гл.ас д-р Николина Велизарова Русенова по Научна специалност: „Ветеринарна микробиология“, Професионално направление: 6.4. „Ветеринарна медицина“, Област на висше образование: 6.0 „Аграрни науки и ветеринарна медицина“.

Дата: 16.11.2019 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:


Проф. д-р Стефан Денев,

Доктор на науките



EVALUATION REPORT

For a competition for conferring the academic rank of Associate Professor in Veterinary
Microbiology

Professional field: 6.4. Veterinary Medicine

Area of higher education: 6.0. Agrarian Sciences and Veterinary Medicine

For the purposes of the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic
Diseases at the Faculty of Veterinary Medicine of Trakia University, Stara Zagora

Promulgated in State Gazette N 54/09.07.2019

Candidate: **Chief Assistant Dr. Nikolina Velizarova Rusenova**

Referee: Prof. Dr. Stefan Angelov Delev, DSc

Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Agriculture, Trakia University, Stara
Zagora

With respect to Decision of the Faculty Council of the Faculty of Veterinary Medicine (Protocol N 34/24.09.2019) and Order (M 2634/ 01.10.2019) of the Rector of Trakia University I was selected member of Academic Jury for the above mentioned competition. At the first meeting of the Academic Jury (21.10.2019) I was designated as a referee. I confirm that there is no conflict of interests between the candidate in this competition and myself.

1. Brief biographical data and description of the scientific interests of the candidate

The only candidate in the competition for conferring the academic rank of Associate Professor is Chief Assistant Dr. Nikolina Velizarova Rusenova. She was born on 01.10.1975. She graduated the Faculty of Veterinary Medicine of Trakia University in 2000 as a Master in Veterinary Medicine, professional qualification Doctor of Veterinary Medicine (Diploma N 07396/2000). The same year after a competition she was selected and conferred the academic rank of Assistant (2000-2005) in Veterinary Microbiology. She was subsequently chosen as Senior (2005-2009) and Chief Assistant (2009-2019) in the same specialty. As an independent PhD student, she defended a thesis on *Current aspects in the diagnostics and control of American foulbrood affecting bee brood. Pathogen typing with some conventional and molecular methods* (2014). On this basis the Faculty of Veterinary Medicine awarded her the educational and qualification degree of Doctor in Epizootology, infectious diseases and prophylaxis of contagious diseases (Diploma N 052/01.12.2014). The candidate has a very good foreign language aptitude. She has specialized in the Netherlands, Greece, USA, etc. in the field of Veterinary Microbiology, diagnostic methods in molecular biology and PCR analysis of pathogens. She is a member of the Bulgarian Microbiology Society of Sofia University in Bulgaria. Her scientific interests are in the field of Veterinary Microbiology and include: current concepts for the etiology of the most

dangerous infectious diseases in honey bees; microbiological diagnostics of bee pathogens and their phenotype and genetic characteristic on the basis of contemporary conventional and molecular methods; geographic distribution and control; prophylaxis and therapy of infectious diseases in bees. Her scientific interests in the following areas are also considerable: antimicrobial activity and resistance, pharmacokinetics and pharmacodynamics of some contemporary antimicrobial means in birds; microbiologic, biochemical, and clinical studies with experimental infections in dogs and rabbits; bacteriological studies on coagulase-negative staphylococci and their antibiotic resistance in goats with subclinical mastitis; microbiological and pathohistological diagnostics of less explored bacterial pathogens and their pathogenic potential in Siberian and hybrid sturgeons; PCR analysis of enteropathogens in meat; antimicrobial activity and applicability of new disinfectants and essential oils of considerable veterinary medical importance; virology research and diagnostics of dangerous viral infections in different types of animals, etc.

I believe that the cited research interests of Chief Assistant N. Rusenova are serious and pertinent. Considering her long teaching experience in the Faculty of Veterinary Medicine, as well as her established reputation in the field of microbiology and among the scientific community working in the above fields in Bulgaria and abroad, I regard her application for the present competition as deserving and well-grounded.

2. Participation in scientific projects

The candidate has participated in the development and realization of a total of eight university scientific projects of national importance, whereas in seven she was a member of the scientific teams and in one – a manager. A big part of the candidate's research has received funding from these projects.

3. Evaluation of the teaching activity of the candidate

The presented documentation testifies for the 19-year long teaching experience of the candidate Chief Assistant Dr. N. Rusenova. She has a certificate for professional qualification (Registration N 1191/11.05.2005) in Pedagogy, issued by the Faculty of Pedagogy of Trakia University. She conducts practical trainings in three disciplines: Veterinary Microbiology, Veterinary Virology, and Biology and Diseases of Honey Bees and Silkworms. Since 2017 she has taught practical seminars in English with foreign students on the first two of the above mentioned disciplines, and has held final term examinations. She is a well-prepared and respected faculty member.

4. Description and evaluation of the submitted scientific work

A list of 41 works has been submitted, four of which written for the acquisition of her PhD degree and not an object of evaluation in the present competition. From the other 37 works published in their entirety, two are in Bulgarian, and 35 – in English. The publications appeared in foreign (14) and Bulgarian scientific editions (12), which have been reviewed and indexed in

world known databases, as well in scientifically reviewed non-referenced journals and in edited collected volumes (11). The candidate is a leading author in seven publications (7, 17, 18, 19, 27, 30, 36); second in 16 (9, 11, 12, 16, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 28, 29, 31, 34, 39, 41); third and subsequent in 14 (5, 6, 8, 10, 13, 14, 15, 26, 32, 33, 35, 37, 38, 40). Particularly impressive are 14 (37.84%) of the presented works which have been published in respected, internationally recognized, peer-reviewed and indexed journals, included in the international databases Scopus and Web of Science. Ten of them (71.43%) were published in foreign journals with a total impact factor 15.424. Among them are such as: *Journal of Virology* (IF=4.368), *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (IF=4.153), *Drug Development & Industrial Pharmacy* (IF=2.1), *Avian Pathology* (IF=1.70), *Current Microbiology* (IF=1.359), etc. Four (4) (28.57%) of the indexed publications appeared in journals with a total impact ranking (SJR=0.717). We must note that the research production of the candidate meets the requirements of the Act for the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Statute for its application at Trakia University. The national minimal requirements (Appendix 8.2.) for the indicators C and D, adopted by the Faculty of Veterinary Medicine are not only met, but also exceeded.

Apart from the full-text published works, the candidate has presented additionally 16 abstracts in English resulting from her participation in respected international (13) and national (3) scientific fora in Bulgaria and abroad. The pertinence of the oral presentations and posters, as well as the in-person participation of the candidate in these fora deserves a very good evaluation.

5. Evaluation of the research and applied scientific activity

During her long-term research Chief Assistant Dr. N. Rusenova has focused on several current fundamental and applied areas of veterinary microbiology, namely - etiology, laboratory diagnostic methods, prevention and therapy of infectious diseases, experimental models of infections, antimicrobial activity and antimicrobial resistance to contemporary antibiotic means, clinical bacteriology and virology, and other areas of considerable fundamental and applied scientific importance. A number of original and applied scientific contributions in the area of veterinary microbiology and virology have also been presented, such as:

- ✓ Contemporary concepts of etiology, laboratory diagnostic methods, control and prophylaxis of the European foulbrood on the larvae of the honey bee. The role of the secondary microflora in the etiology of this disease has been emphasized (7). For the first time cases of European foulbrood in the middle and end of the active season have been described, and the reasons for the severe expression of the disease, its etiology and control measures, without the use of antibiotics and sulphonamides (21).
- ✓ The candidate is the first scientist in Bulgaria who has done research on the genetic characteristic of the strains *Paenibacillus larvae* (*P. larvae*) through polymerase chain reaction of repetitive elements (rep-PCR fingerprinting). A protocol for PCR analysis of

the strains isolated in Bulgaria has been developed, including its application for future studies which shall clarify the evolutionary line to which the strains belong (27).

- ✓ Original research on establishing the biotypes of *P. larvae* and their relationship to the genotypes through the use of BioLog Ben III identification system and a scheme based on three substrates. She has found and recommended to base the epidemiologic investigations for detecting the source of infection, the factors for the spread and control of the American foulbrood with etiological agent *P. larvae*, on molecular-genetic methods, while using biotyping as an ancillary means (30).
- ✓ The geographic distribution of the American foulbrood has been studied based on data from the register of the Bulgarian Agency for Food Safety for the period of 25 years (1989-2013), as well as of the genotypes of *P. larvae* in Bulgaria. An emphasis was put on the performance of regular obligatory screening on bee families for early diagnostics and application of specific measures for prevention and control on this dangerous disease (36).
- ✓ For the first time in Bulgaria large-scale field clinical epidemiological and laboratory investigations were performed on 40 bee hives in Bulgaria exhibiting the syndrome of the empty hive, which show that the infection with *Nosema ceranae*, leading to disorder of the intestinal lining, nutritional and energy deficiency and impossibility for the flying bees to return to their hives is the main reason for the rapid collapse of bee families and their depopulation (31).
- ✓ In review publications (5 and 6) an analysis was made on the state of healthcare of apiculture in the conditions of accession of our country to the EU and the entailed challenges regarding the organization of diagnostics, the combat and prophylaxis of infectious and parasitic diseases in bees.
- ✓ Large-scale investigations on the acaricidal activity of conventional and alternative anti-varoatosis products used in bee keeping in Bulgaria, such as Perizin, Varostat R, Varostop and Ecostop. It has been found that these products can reduce the extensinvasion in bee families to such a degree that it would not seriously affect their normal development and productivity (25).
- ✓ Another original study has focused on the application of pharmacokinetic/pharmacodynamics (PK-PD) modeling of the behavior of fluoroquinolones in the bird organism as a useful approach for choosing an optimal dose regime aiming to reduce the risk of selection of antimicrobial resistance of pathogens. On this basis for the first time in Bulgaria the efficiency of marbofloxacin and danofloxacin mesilate were compared against the pathogenic strain *E. coli* O78:K80. The comparison between *in vitro* and *ex vivo* antimicrobial activity of the two quinolones showed that they have concentration-dependent mechanism of action against *E. coli* O78:K80. On this basis, and on the basis of other established new dependences of original character, it was recommended in respective doses for infections, caused by this pathogenic strain (11, 12). It was also

proven that danofloxacin and marbofloxacin administered in the usual doses in birds are effective only for infections caused by highly sensitive microorganisms (34).

- ✓ The results from the investigations of the candidate on the antimicrobial activity of enrofloxacin against intermediary strains of *E.coli* are of special scientific interest, together with the established MIC and time-dependent bactericidal curves, which can be used for developing a therapy plan in problematic infections and for reducing the risk of selection of resistant mutants (20, 34).
- ✓ The efficiency of fluoroquinolones was studied during an experimental infection with *E.coli* in birds on the basis of which conclusions of original character related to effective therapy were drawn (16).
- ✓ The effect of the modulators of ABC transport proteins in eukaryotes was found – cyclosporine A and quercetin on MIC of danofloxacin mesilate against *E.coli* ATSS 25922 and clinical isolates from sensitive and resistant strains in birds. The MIC values of the combinations of danofloxacin with quercetin or cyclosporine were proven, as well as some of their mechanisms of interaction (19).
- ✓ Electrocardiographic changes occurring in dogs with experimental *Ps. aeruginosa* infection were studied (8). Plasmic concentrations of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were studied after experimental *S. aureus* infection in dogs (28).
- ✓ For the first time in Bulgaria large scale laboratory investigations were performed to prove the presence of meticillin-resistant staphylococci isolated from the milk of lactating does with subclinical mastitis and their sensitivity and antibiotic resistance to other contemporary chemical therapeutic products. The results from these investigations have undoubtedly contributed to the diagnostics, prophylaxis and therapy of mastitis pathogens (9).
- ✓ An object of rigorous research was changes in the plasmic concentration of creatine kinase (CK) in rabbits with experimental *S. aureus* infection. It was proven that the plasmic activity of CK in rabbits can be used as an early marker for skin and secondary muscular disorder, related to the formation of abscess following a staphylococcus infection (37).
- ✓ The first case of infection caused by some less studied pathogens (*Staphylococcus warneri* and *Shewanella putrefaciens*) was described in Siberian and hybrid sturgeons. An identification of the causing agents, their specifics and pathogenic potential was performed on the basis of thorough microbiological and pathohistological investigations, which is an undoubted contribution to the area of veterinary microbiology and fish diseases (39).
- ✓ The effect of some disinfectants and one detergent on the microbial contamination of appliances for caviar hatching, and the survival rate of the caviar and the spat after hatching was investigated. A reduction in the number of microbial contaminant after disinfection with different disinfectants was established, as well as a positive effect on the

viability of spat. Glutaldehyde was recommended as the most effective disinfectant for these purposes (24).

- ✓ The antimicrobial activity of twelve types of essential oils against microorganisms (bacteria and fungi) of veterinary medical significance was tested. High bactericidal and fungicidal activity for the following oils against the causing agents of various infections (17) was found: cinnamon (*Cinnamomum aromaticum*), oregano (*Origanum vulgare*), lemon grass (*Cymbopogon citratus*) and thyme (*Thymus vulgaris*). This is a contribution of considerable applied scientific importance.
- ✓ A PCR protocol was developed to prove the eae gene of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated from contaminated meat (22). The method showed high sensitivity with detection threshold of 1 cfu/ml in diluted stock culture or meat homogenate. The preliminary 4 hour incubation in stock gave the opportunity for finding contamination with initial level of 0.7 cfu/g fresh meat.
- ✓ Large scale investigations for establishing the spread of Enzootic bovine leucosis (EBL) in Bulgaria for the period of 1997-2004 through agar gel immunodiffusion reaction (AGID) were performed using the Ouchterlony method. A large number of infection outbreaks per region in Bulgaria were proven. Strict conformity with the national programme for prophylaxis and control of EBL was recommended (13). It was also found that hematologic and blood biochemical tests performed on cattle spontaneously infected with the virus of the enzootic leukosis could be used as markers for differentiating the stages of infection with respect to the diagnostics of the disease in live animals (26). A second investigation of the spread of EBL in Bulgaria in 2012 and with ELISA kit for monitoring the effect from the application of the state programme for prevention and control of infections. The results reconfirmed the wide prevalence of EBL in Bulgaria. After taking all necessary measures for prevention and control of EBL in one of the regions, 78 outbreaks of the infection were eradicated (35).
- ✓ For the first time in Bulgaria the seroprevalence of some wide spread respiratory viruses was investigated in mixed flocks of sheep and goats. An uneven distribution of the tested viruses was found which was explained with different types of sensitivity to viruses and the evolutionary adaptation to various hosts (18). Similar large scale virology studies were done on horses, donkeys and mules (23, 40, 41), which is an unarguable scientific contribution to clarifying the spread and prevalence of a number of viral infections in animals in the different regions of the country as a basis for a national strategy for their limiting and eradication.

6. Evaluation of the citations of scientific works of the candidate

The documentation for the competition also includes a list of citations in the international databases – SCOPUS and Web of Science (N 45/ 20.08.2019), compiled by the Central University Library on the basis of the requirements adopted by Trakia University. The inquiry shows that by August 2019 the candidate has received approximately 150 citations in scientific journals with impact factor and impact ranking, included in the above mentioned databases,

which exceeds multifold the number required by the Faculty of Veterinary Medicine, stated in Appendix 8.2. of the Statute for the Development of the Academic Staff at Trakia University. I would add that the candidate has many other citations of her scientific works in referenced science publications, monographs and dissertations as my inquiry in Google Scholar showed. The candidate has a citation index (h-index) in SCOPUS – 5.0, and in Google Scholar – 9.0. The high number of citations presented for this competition is an objective criterion for their pertinence and significance in the area of veterinary microbiology.

7. Compliance with the minimal national requirements for the academic rank of Associate Professor

I accept the evidence related to the presented inquiry for compliance with the minimal national requirements, as defined in the Statute for the Development of the Academic Staff at Trakia University (Appendix 8.2.) which shows that the candidate has exceeded seven of them (Groups C, D, E, G, H, I, J) and, therefore, deserves a high evaluation.

8. Personal impressions

I have known Chief Assistant Dr. N. Rusenova since the beginning of her academic studies at the university. She is an accomplished and respected lecturer and a scientist. Assiduous, tolerant, studious and accurate, she can work in a team and create partnerships with a wide circle of scientists in Bulgaria and abroad. She is working on actual interdisciplinary problems of veterinary microbiology and medicine.

Conclusion: From the above review and analysis of the presented documentation and inquiries it is evident that the candidate has sufficient scientific production in volume and quality, applied scientific and teaching activity which exceed the minimal national requirements, issued by the Statute for the Development of the Academic Staff at Trakia University in order to take up this academic position. Based on the above, I highly recommend to the respected members of the Academic Jury to vote in favor of conferring the academic rank of Associate Professor to Chief Assistant Dr. Nikolina Velizarova Rusenova in the scientific specialty of Veterinary Microbiology, professional field 6.4. Veterinary Medicine, higher educational area 6.0. Agrarian Sciences and Veterinary Medicine.

Date: 16.11.2019

Referee:



Prof. Dr. Stefan Denev, DSc