



## СТАНОВИЩЕ

От: доц. д-р Георги Малинов Стоименов

Катедра „Инфекциозна патология, хигиена, технология и контрол на храните от животински произход“

Факултет „Ветеринарна медицина“, Лесотехнически Университет

**Научна специалност:** „Ветеринарна микробиология“, **професионално направление:** 6.4. Ветеринарна медицина

**Относно:** дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ по **научна специалност** „Ветеринарна микробиология“, **професионално направление:** 6.4. Ветеринарна медицина

**Автор на дисертационния труд:** Радостина Димитрова Стефанова

**Тема на дисертационния труд:** „ФЕНОТИПНИ И ГЕНОТИПНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ РЕЗИСТЕНТНОСТТА КЪМ АНТИМИКРОБНИТЕ СРЕДСТВА ПРИ ЩАМОВЕ E. coli, ИЗОЛИРАНИ ОТ КОКОШЕВИ И ВОДОПЛАВАЩИ ПТИЦИ“

**Научен ръководител:** проф. дн Валентина Стаматова Урумова

**Основание за представяне на становището:** участие в състава на научно жури по защита на дисертационния труд съгласно заповед № 4084/24.10.2025 на Ректора на ТрУ.

### 1. Информация за дисертанта

Радостина Димитрова Стефанова, се е обучавала по докторска програма „Ветеринарна микробиология“ към катедра „Ветеринарна микробиология, инфекциозни и паразитни болести“ на Ветеринарномедицински факултет, на Тракийски университет. Зачислена е в докторантура, редовна форма на обучение със заповед № 900/02.04.2019 г., със научен ръководител: проф. дн Валентина Стаматова Урумова. След изпълнение на всички планирани дейности по обучението, успешно издържани изпити и представен проект на дисертационен труд е отчислена с право на защита със заповед № 882/31.03.2022 г. на Ректора на Тракийски университет.

### Обща характеристика на представения дисертационен труд

**Актуалност на проблема:** Антимикробната резистентност (AMR) представлява едно от най-сериозните предизвикателства пред съвременната медицина, ветеринарната практика и безопасността на храните. Нарастващата способност на микроорганизмите да развиват устойчивост към прилаганите антимикробни средства застрашава ефективността на терапията при хора и животни, като води до увеличена заболяемост, смъртност и икономически загуби. В контекста на интензивното животновъдство, включително птицевъдството, честата и често нерационална употреба на антимикробни препарати като средства за профилактика, растежни стимулатори или лечение на бактериални инфекции, създава благоприятни условия за селекция и разпространение на резистентни бактериални щамове. Особено тревожен е фактът, че тези бактерии – както и техните гени на резистентност – могат да се предават между животни, хора и околна среда, което подчертава глобалния характер на проблема. Според концепцията „Едно здраве“ (One Health), антимикробната резистентност не може да бъде разглеждана изолирано, тъй като включва взаимовръзките между здравето на животните, хората и екосистемите. В този смисъл мониторингът, контролираната употреба на антимикробни средства и разработването на алтернативни подходи (като пробиотици, бактериофаги или фитопрепарати) са ключови елементи за ограничаване на проблема. Нарастващият



брой научни данни за откриване на мултирезистентни бактериални изолати в животновъдството и хранителната верига потвърждава необходимостта от задълбочени изследвания в тази област. Тези проучвания имат пряко значение за опазване на общественото здраве и за устойчивото развитие на аграрния сектор.

**Структура и обем:** Дисертационния труд е написан на 148 страници и е добре балансиран по отношение на обем на отделните части: Съдържание – 4 стр.; Използвани съкращения – 1 стр.; Увод – 1 стр.; Литературен обзор – 48 стр.; Собствени изследвания, включващи цел и задачи на изследването, материали и методи – 11 стр.; Резултати – 27 стр.; Дискусия – 13 стр.; Изводи; Приноси; Препоръки за практиката; Списък на публикациите във връзка с дисертационния труд; Участия в конференции – 3 стр.; Литературен указател – 40 стр.

При написването на дисертационния труд са използвани 580 литературни източника, от които един е на български език. От общия брой източници 177 публикации (30,52%) са издадени през последните десет години, което ясно показва, че авторът е проследил актуалното състояние на научните изследвания по темата. Тази статистика убедително свидетелства за високото ниво на литературна осведоменост на докторанта.

**Литературен обзор:** структуриран е последователно и систематично, като обхваща основните групи антимикробни средства, използвани в птицевъдството, и механизмите на резистентност на *Escherichia coli* към тях. Представеното съдържание демонстрира задълбочено познаване на съвременната научна литература и правилно разбиране на биохимичните и молекулярните механизми, лежащи в основата на феномена антимикробна резистентност. Първият раздел, посветен на употребата на антимикробни средства и разпространението на резистентността при *E. coli* от птици, поставя ясна научна рамка и аргументира актуалността на изследването. Следващите подраздели, описващи механизмите на действие и резистентност, както и детайлното разглеждане на  $\beta$ -лактамните средства, хинолоните и тетрациклините, показват добра аналитична последователност и умело систематизиране на информацията. Включването на точка „Обобщение на литературните данни“ е подходящо и осигурява логичен преход към собствените изследвания.

**Материали и методи:** Разделът е структурно добре подреден. Разделен е на логични подточки: стопанства, проби, изолиране, фенотипни и генетични методи. Покрива ключовите аспекти – Материалът включва както източника на пробите, така и лабораторните методи (фенотипни и генетични), което е стандарт за научни изследвания. Детайлизиране на методите – Дифузионният метод, MIC и qPCR са изброени ясно, което показва, че авторът има добре обмислен експериментален план.

## 2. Оценка на получените резултати

Целта на изследването е ясно и конкретно формулирана. Задачите и подзадачите са логично групирани. Получените резултати са онагледени с 21 фигури и 18 таблици. Разделът е логично структуриран, изчерпателен и спазва последователността на поставените задачи.

## 3. Оценка на обсъждането, научните и научно-приложни приноси

В този раздел е направен задълбочен и професионален анализ на получените резултати. Авторът умело гълкува както собствените си данни, така и резултатите, представени от други изследователи. Научно обосновано са защитени собствените позиции, което потвърждава добрата литературна осведоменост на докторанта. Освен това, в този раздел ясно се очертават задълбочените познания на автора в областта, което допълнително засилва впечатлението за неговата компетентност и професионализъм. Въз основа на получените резултати са представени



7 извода. Те представят задълбочен и систематичен преглед на фенотипната и генотипната резистентност на коменсалните *Escherichia coli* (коли) бактерии, изолирани от различни видове птици, водоплаващи птици, пуйки и от околната среда (торова постеля). Изводите показват ясно разграничение между различните източници на изолатите и подчертават специфичните профили на резистентност и свързаните гени. Приемам за коректни формулираните 4 приноса (2 потвърдителни и 2 оригинални). Те имат значителен научен и практичен ефект, като едновременно попълват пропуски в локалната научна литература и предоставят база за бъдещи изследвания. Препоръките за практиката са цялостни, добре аргументирани и с висока практическа значимост. Те създават основа за ефективна политика за ограничаване на антимикробната резистентност в птицевъдството и за намаляване на рисковете за общественото здраве.

#### 4. Оценка на публикациите по дисертацията

Във връзка с дисертацията са подготвени и публикувани 3 научни статии. Докторантът е представил списък с публикациите си в списания с импакт фактор, импакт ранг и такива в списания индексирани в Web of Science. От списъка е видно, че има 2 статии в *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* - ISSN: 1311-1477, Q3, SJR- 0.185 и една в *Veterinarija i zootehnika*, 79 (2):50-56, ISSN: 13922130, Q4, SJR - 0.128. Докторантът е участвал лично в изпълнението на поставените научни задачи, за което свидетелстват трите публикации, една от които е самостоятелна, както и участието му в три научни конференции. Това показва, че извършените експерименти, обработката на резултатите, формулирането на изводите и определянето на приносите са лично дело на докторанта.

#### 5. Оценка на автореферата

Авторефератът е написан на 48 стр. Запознат съм с него и намирам, че той отразява напълно и адекватно съдържанието и постиженията на дисертацията.

#### 6. Критични бележки, препоръки и въпроси

Нямам критични бележки по същество относно темата, методите и резултатите. Всички забележки които имах, бяха представени в предварителното ми становище по време на разширения катедрен съвет при предварителното обсъждане на дисертационния труд и докторантката се е съобразила с повечето от тях. Препоръката ми е в бъдеще д-р Радостина Димитрова Стефанова да публикува своите научни разработки в списания с импакт фактор, тъй-като темата е актуална и резултатите би могло да бъдат публикувани в такива списания.

#### 7. Заключение

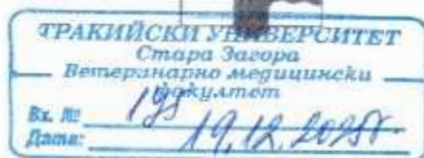
Дисертационният труд на Радостина Димитрова Стефанова я очертава, като изследовател, със самостоятелно мислене и солидни познания в областта на Ветеринарна микробиология. Достоинствата на дисертационния труд, публикационната активност, личният принос на автора и изпълнените изисквания за необходимите количествени и качествени критерии ми дават пълно основание да дам своята положителна оценка на представения дисертационен труд. Предлагам на уважаемото научно жури да присъди на Радостина Димитрова Стефанова образователната и научна степен „ДОКТОР“ в област на висше образование 6. Аграрни науки и Ветеринарна медицина, професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност „Ветеринарна микробиология“.

19.12.2025 г.

Изготвил становището:

Гр. София

д-р Георги Стоименов



## ACADEMIC STATEMENT

**Assoc. Prof. PhD. Georgi Malinov Stoimenov**

Department „Infectious pathology and hygiene, technology and control of food from animal origin“,  
Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry

**Scientific specialty:** "Epizootiology, infectious diseases and prevention of the infectious diseases of animals", professional field: 6.4. Veterinary Medicine

**Regarding:** PhD thesis for obtaining of PhD degree in scientific specialty „Veterinary microbiology“, professional field: 6.4. Veterinary Medicine

**Author of the PhD thesis:** Radostina Dimitrova Stefanova

**Title of the PhD thesis:** „PHENOTYPIC AND GENOTYPIC STUDIES ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN *E. coli* STRAINS ISOLATED FROM POULTRY AND WATERFOWL“

**Scientific consultants:** Prof. DSc Valentina Stamatova Urumova

**Grounds for presenting the opinion:** member of the scientific jury for the defense of the PhD thesis according to Order № 4084/24.10.2025 of the Rector of Trakia University

### 1. Information about the PhD student

Radostina Dimitrova Stefanova was enrolled in the PhD programme "Veterinary Microbiology" at the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora. She was admitted as a full-time doctoral student by Order No. 900/02.04.2019, under the supervision of Prof. DSc Valentina Stamatova Urumova. After the successful completion of all planned training activities, passing the required examinations, and submitting a dissertation project, the doctoral candidate was expelled with the right to defend her dissertation by Order No. 882/31.03.2022 of the Rector of Trakia University

### 2. General characteristics of the presented dissertation (PhD thesis)

**Relevance of the topic:** Antimicrobial resistance (AMR) represents one of the most serious challenges facing modern medicine, veterinary practice, and food safety. The increasing ability of microorganisms to develop resistance to commonly used antimicrobial agents threatens the effectiveness of therapy in both humans and animals, leading to increased morbidity, mortality, and significant economic losses. In the context of intensive animal husbandry, including poultry production, the frequent and often irrational use of antimicrobial drugs—as prophylactic agents, growth promoters, or for the treatment of bacterial infections—creates favorable conditions for the selection and spread of resistant bacterial strains. Of particular concern is the fact that these bacteria, as well as their resistance genes, can be transmitted between animals, humans, and the environment, highlighting the global nature of the problem. According to the "One Health" concept, antimicrobial resistance cannot be considered in isolation, as it encompasses the close interconnection between animal health, human health, and ecosystems. In this regard, monitoring, rational and controlled use of antimicrobial agents, and the development and implementation of alternative approaches (such as probiotics, bacteriophages, and phytogenic preparations) are key elements in limiting the spread of AMR. The growing body of scientific evidence reporting the detection of multidrug-resistant bacterial isolates in animal production systems and along the food chain confirms the need for in-depth and targeted research in this field. Such studies are of significant importance for the protection of public health and the sustainable development of the agricultural sector.



**Structure and volume:** The dissertation comprises a total of 148 pages and is well balanced in terms of the volume of its individual sections: table of contents – 4 pp.; list of abbreviations – 1 p.; introduction – 1 p.; literature review – 48 pp.; original research, including objectives and tasks of the study, materials and methods – 11 pp.; results – 27 pp.; discussion – 13 pp.; conclusions; contributions; recommendations for practice; list of publications related to the dissertation; participation in scientific conferences – 3 pp.; references – 40 pp.

A total of 580 literature sources were used in the preparation of the dissertation, only one of which is in Bulgarian. Of the total number of cited sources, 177 publications (30.52%) were published within the last ten years, clearly demonstrating that the doctoral candidate has followed the current state of scientific research in the field. This fact convincingly attests to the candidate's high level of literature awareness and solid theoretical background.

**Review of the literature:** The literature review is structured in a logical and systematic manner, covering the main groups of antimicrobial agents used in poultry production and the mechanisms of resistance of *Escherichia coli* to these agents. The presented content demonstrates an in-depth knowledge of contemporary scientific literature and a proper understanding of the biochemical and molecular mechanisms underlying the phenomenon of antimicrobial resistance. The first section, devoted to the use of antimicrobial agents and the distribution of resistance in *E. coli* isolates from poultry, establishes a clear scientific framework and convincingly justifies the relevance of the study. The subsequent subsections, describing the mechanisms of action and resistance, as well as the detailed discussion of  $\beta$ -lactam agents, quinolones, and tetracyclines, reveal good analytical coherence and skillful systematization of the information. The inclusion of a section entitled “Summary of the Literature Data” is appropriate and provides a logical transition to the author's own research.

**Materials and methods:** The section is well structured and clearly organized. It is divided into logical subsections, including farms, samples, isolation procedures, and phenotypic and genetic methods. The section covers the key aspects of the study, as the material includes both the source of the samples and the applied laboratory methods (phenotypic and genetic), which is standard for scientific research. The methods are described in sufficient detail. The disk diffusion method, MIC determination, and qPCR are clearly listed, indicating that the author has developed a well-considered and coherent experimental design.

### **Evaluation of the obtained results**

The aim of the study is clearly and specifically formulated. The objectives and sub-objectives are logically grouped. The obtained results are illustrated with 21 figures and 18 tables. The section is logically structured, comprehensive, and follows the sequence of the stated objectives.

### **3. Evaluation of the discussion, scientific and scientific-applied contributions**

In this section, a thorough and professional analysis of the obtained results is presented. The author skillfully interprets both her own data and the findings reported by other researchers. Her positions are scientifically well substantiated, which confirms the doctoral candidate's strong familiarity with the relevant scientific literature. Moreover, this section clearly demonstrates the author's in-depth expertise in the field, further reinforcing the impression of her competence and professionalism. Based on the obtained results, seven conclusions are formulated. These provide a comprehensive and systematic overview of the phenotypic and genotypic resistance of commensal *Escherichia coli* isolates obtained from various poultry species, waterfowl, turkeys, and from the environment (litter). The conclusions clearly differentiate between the various sources of the isolates and highlight specific resistance profiles and the associated resistance genes. The four stated contributions (two confirmatory and two original) are considered to be correctly formulated. They have substantial scientific and practical significance, as they both fill gaps in the local scientific literature and provide a solid foundation for future research. The recommendations for practice are



comprehensive, well justified, and of high practical relevance. They establish a basis for effective policies aimed at limiting antimicrobial resistance in poultry production and reducing risks to public health.

#### 4. Evaluation of the publications associated with the PhD Thesis

In connection with the dissertation, three scientific articles have been prepared and published. The doctoral candidate has submitted a list of publications in journals with an impact factor, impact rank, as well as journals indexed in Web of Science. The list shows that two articles were published in the Bulgarian Journal of Veterinary Medicine (ISSN: 1311-1477), Q3, SJR – 0.185, and one article in Veterinarija i zootehnika, 79(2): 50–56 (ISSN: 1392-2130), Q4, SJR – 0.128. The doctoral candidate personally participated in the implementation of the assigned scientific tasks, as evidenced by the three publications, one of which is single-authored, as well as by participation in three scientific conferences. This demonstrates that the conducted experiments, data processing, formulation of conclusions, and identification of scientific contributions are the doctoral candidate's own work.

#### 5. Evaluation of the abstract of the PhD thesis

The dissertation abstract comprises 48 pages. I am familiar with its content and find that it fully and adequately reflects the content and achievements of the dissertation.

#### 6. Critical remarks, recommendations and questions

I have no substantive critical remarks regarding the topic, the methods, or the results of the dissertation. All comments I had were presented in my preliminary opinion during the extended departmental council at the time of the preliminary discussion of the dissertation, and the doctoral candidate has taken most of them into account. My recommendation is that in the future Dr. Radostina Dimitrova Stefanova publish her scientific work in journals with an impact factor, as the topic is highly relevant and the results have the potential to be disseminated in such journals.

#### 7. Conclusion

The dissertation of Radostina Dimitrova Stefanova presents her as a researcher with independent thinking and solid expertise in the field of Veterinary Microbiology. The merits of the dissertation, the author's publication activity, her personal contributions, and the fulfillment of the required quantitative and qualitative criteria provide me with full grounds to give a positive evaluation of the submitted dissertation. I recommend to the esteemed scientific jury that Radostina Dimitrova Stefanova be awarded the educational and scientific degree of "DOCTOR" in the field of higher education 6. Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, professional area: 6.4. Veterinary Medicine, scientific specialty: "Veterinary Microbiology".

19.12.2025 г.

Sofia

Signature:

/Assoc. Prof. PhD. Georgi Stoimcnov/