

До Председателя на Научно жури  
определено със заповед  
№ 2634/01.10.2019 г.  
на Ректора на Тракийски университет  
Стара Загора

## РЕЦЕНЗИЯ

По конкурс за заемане на академичната длъжност „доцент“ по научна специалност „Ветеринарна микробиология“, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, за нуждите на катедра „Ветеринарна микробиология, инфекциозни и паразитни болести“, обявен в ДВ бр. 54/09.07.2019 г. с единствен кандидат гл. ас. д-р Николина Велизарова Русенова.

**Изготвил:** чл.-кор. Христо Миладинов Найденски д-рмн, (компетентност по инфекциозна микробиология, молекулярна биология, имунология, епизоотология) от Института по микробиология „Стефан Ангелов“ при БАН.

**Декларирам,** че не съществуват условия за конфликт на интереси между мен и кандидата гл. ас. д-р Николина Велизарова Русенова по смисъла на параграф 1, точки 2а, 3, 4 и 5 от ДР на ЗРАСРБ.

**1. Кратки биографични данни и характеристика на научните интереси на кандидата.** Кандидатът за академичната длъжност „Доцент“ гл. ас. д-р Николина Русенова е завършила Ветеринарномедицинския факултет при Тракийски университет (ВМФ-ТУ) гр. Стара Загора през 2000 г. и придобива квалификация «Магистър – ветеринарен лекар». През същата година тя е назначена за асистент, през 2005 за старши асистент, а през 2009 за главен асистент във ВМФ-ТУ. След преминати успешно няколко курса (английски език, педагогически, молекулярна биология и др.), през 2011 г. тя специализира конвенционални и молекулярни методи за характеристика на ветеринарни патогени в Университета на Охайо (САЩ), а през 2013 г. в Тракийски университет „Демокрит“ (Гърция) по PCR методи и приложения, и FISH. През януари 2014 г. преминава курс по Защита и хуманно отношение към опитни животни, използвани за научни или образователни цели (ВМФ-ТУ), а през

декември защитава дисертация за ОНС «Доктор» на тема «Съвременни аспекти в диагностиката и контрола на американския гнилец по пчелното пило. Типиране на патогена по някои конвенционални и молекулярни методи». През следващите 5 години (2015-2019) посещава Германия, Италия, Словакия и Република Северна Македония с цел обучение и преподаване по програмата ЕРАЗЪМ +.

Научните интереси на д-р Русенова са предимно в областта на ветеринарната микробиология и включват: етиология, клиника, епидемиология и лабораторна диагностика на незаразни и заразни заболявания по пчелите и пчелното пило; фармакокинетично и фармакодинамично моделиране на дозови режими към лекарствени средства, нетипични клинични случаи и експериментални инфекции при различни видове животни, антимикробна резистентност, вирусни инфекции и др. Тези кратки данни за разработваните тематични направления определено характеризират д-р Русенова като перспективен изследовател в областта на клиничната ветеринарна микробиология, неинфекциозната и инфекциозната патология при редица домашни животни, пчели и риби. Около 20 години тя работи в посочените направления, които и понастоящем са във фокуса на нейните научни търсения и професионални интереси. Всички тези обстоятелства правят участието на д-р Русенова в обявения от ВМФ-ТУ конкурс напълно обосновано и заслужено.

## **2. Общо описание и оценка на представената научна продукция.**

В настоящият конкурс д-р Русенова участва с общо 37 научни публикации, отпечатани в периода 2004-2017 г. от които 14 броя в чуждестранни и 12 броя в български списания. Всичките 26 публикации са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни за научна информация - Scopus и Web of Science, което ги прави достояние на световната научна общност. Единадесет броя са отпечатани в нереферирани списания с научно рецензиране и в редактирани колективни трудове. Като много положителен оценявам факта, че 13 статии са публикувани в научни издания на ТУ, което има важно значение за издигане ролята на българската научна периодика за развитието на науката и висшето образование у нас.

### **3. Оценка на научно-изследователската и научно-приложната дейност.**

Дългогодишната изследователска работа на кандидата е съсредоточена основно върху микробиологични изследвания (бактериологични и вирусологични), фармакокинетично и фармакодинамично моделиране на поведението на антибиотици в организма, механизми на антимикробна резистентност и определяне на нейния профил, както и оригинални експериментални модели на инфекции и свързаните с тях биохимични промени на кръвта като ранни диагностични и клинични биомаркери. Тези научни области имат не само непреходна актуалност за ветеринарномедицинската наука, но и разкриват нови перспективи за практическо приложение в диагностиката, превенцията и терапията на инфекциозните заболявания при голям брой нозологични единици и видове стопански животни.

Голяма част от изследванията на д-р Русенова са фокусирани върху етиологичните аспекти в т.ч. ролята на вторичната микрофлора за възникване на европейския гнилец, методите за лабораторна диагностика, контрола и профилактиката на това заболяване по ларвите на медоносната пчела.

Изследванията върху генетичната характеристика на щамове *Paenibacillus larvae* чрез полимеразно-верижна реакция на репетитивни елементи (rep-PCR фингерпринтинг) са проведени за първи път в България. Разработеният протокол за rep-PCR анализ на щамовете *P. larvae* показва много добра възпроизводимост на резултатите. С използването на BOX A1R и MBO REP1 праймери се формират два вида профили (a, A) и (b, B), които доказват циркулацията на два генотипа *P. larvae* в България - ab и AB. Оригинални са и получените резултати по установяване биотипа на *P. larvae* и връзката им с генотипа. Използваната идентификационна система BioLog GenIII по схема базирана на три субстрата, както и анализът на щамовете, определен с фирмената система и по схемата на Jelinski, показва известна връзка между rep-PCR ab/AB генотиповете и биохимичния им фенотип, но точна корелация не се установява. Авторите заключават, че в епидемиологичните проучвания за откриване източника на инфекция, факторите за разпространение и контрола на Американския гнилец с етиологичен агент *P. larvae*, трябва да се използват

предимно генетични молекулярно-биологични методи, а биотипирането да се прилага като допълнително средство.

Обследваното географско разпространение на американския гнилец, базирано на данни от регистъра на БАБХ за период от 25 години (1989 - 2013 г.), показва превес на генотип ab в северна България, докато AB се намира в пчелините от южна България, което обяснява по-тежкото протичане на заболяването там, поради установената по-силна вирулентност на генотип AB (ERIC II) в сравнение с ab и Ab. Теренни клинично-епидемиологични и лабораторни изследвания на проби от 41 пчелина в България със синдром на празния кошер показват *Nozema ceranae* инфекция във всички пчелини (с изключение на един), което отхвърля редица други фактори, отговорни за депопулацията на засегнатите пчелини като гладуване, недостатъчни и некачествени хранителни запаси, вароатоза, интоксикация с пестици, наличие на генетично модифицирани култури в района, високо-волтови, електромагнитни и радиочестотни влияния.

За първи път при птици фармакокинетичното/фармакодинамично (PK-PD) моделиране е приложено като полезен подход в избора на оптимален дозов режим с цел намаляване на риска от селектиране на антимикробна резистентност. Съвременният фармакодинамичен модел *in vitro* проследява не само MIC, но и концентрацията, предпазваща от селекция на резистентни мутанти (MPC) и активността на антибактериалните вещества с течение на времето чрез време-зависимите бактерицидни (time-killing) криви. Тези криви, заедно с MPC биха могли да се използват при изготвяне на програма за терапия при проблемни инфекции и за намаляване на риска от селекция на „първи мутанти“.

Задълбочени фундаментални проучвания върху ролята в транспорта на лекарствени средства през плазмата и биологичните мембрани са проведени върху една от двете суперфамилии трансмембранни транспортни протеини, а именно ABC транспортерите (ATP binding cassette). Важен фармакологичен аспект на тези транспортери е извеждането на лекарства от тъканите, с оглед на множествената лекарствена резистентност (MDR), като определяща е ролята на подсемействата MDR1 (P-glycoprotein) и MRP2. За първи път експериментално

се установява, че нивата и функционалната активност на ABC ефлукс протеините могат да се модулират от представители на флуорохинолоните при експериментална инфекция с *E. coli* при птици.

Редица публикации (номера 8, 14, 15, 28, 32, 33, 37) отразяват различни аспекти от диагностичния и терапевтичен подход като например електрокардиографските промени, които настъпват при кучета с експериментална *Pseudomonas aeruginosa* инфекция, заболявания на пикочните пътища при кучета и котки (пиелит, цистит, уретрит), хидроторакс при куче с хранична ентеропатия, плазмените концентрации на аспартат аминотрансферазата (AST) и аланин аминотрансферазата (ALT) при кучета след експериментална инфекция със *Staphylococcus aureus*. Незначителните промени в съотношенията между стойностите на тубуларните маркери LDH, GGT и ALP към креатинин в урината (uLDH/Cr, uGGT/Cr, uALP/Cr) при кучета с хронична бъбречна недостатъчност, потвърждават изводите от предишни проучвания, че ензимурията е с утвърдена диагностична стойност при остри тубуларни и с несигурна диагностична стойност при хронични бъбречни увреждания. Проучванията върху промените в плазмената концентрация на креатинин киназата (КК) при зайци с експериментална *S. aureus* инфекция определят тяхното възможно приложение като ранен маркер за кожно и вторично мускулно увреждане, свързано с образуването на абсцес и отделянето на бактериални екзотоксини при тази експериментална инфекция.

Интересни и представителни са данните за наличие на метицилин-резистентни стафилококи (MRSA) изолирани от мляко при кози със субклиничен мастит. Тестовите за изпитване чувствителността на щамовете към химиотерапевтични средства, разкриват 15 метицилин-резистентни изолата, от които 12 са коагулаза-негативни стафилококи (MRCNS) и три MRSA. При MRCNS се установява висок процент на резистентност (над 50 %) спрямо пеницилин, амоксицилин и налидиксова киселина, докато при метицилин-сензитивните коагулаза-негативни стафилококи (MSCNS) – само към налидиксова киселина. В търсенето на нови терапевтични средства са изследвани за антимикробна активност 12 вида етерични масла спрямо микроорганизми (бактерии и гъби) с ветеринарномедицинско значение и 4 противовароатозни средства – Перизин,

Варостат Р, Варостоп и Екостоп. Резултатите от изследванията характеризират най-активните от тях и определят перспективността им за практическо приложение.

Важно клинично значение имат и изследванията върху проникването на два флуорохинолона (ципрофлоксацин и ломефлоксацин) в предната очна камера след локално прилагане при здрави зайци и при такива с експериментален *S. aureus* ендоталмит. Допълнителното локално приложение на очните капки диклофенак натрий благоприятства пенетрацията на ломефлоксацина в камерната течност и засилва неговия терапевтичен ефект върху възпалените очни тъкани.

Не само любопитен, но и с важно ветеринарномедицинско значение е и описания първи случай на *Staphylococcus warneri* и *Shewanella putrefaciens* ко-инфекция при сибирски есетрови (*Acipenser baerii*) и хибридни есетрови (*Huso huso* x *Acipenser baerii*) риби като проведените патологоанатомични, хистологични и микробиологични изследвания ясно демонстрират патогенния потенциал на тези причинители и допринасят за разкриване патогенезата на тази смесена инфекция.

В обзорни статии с номера 5, 6, и 10 се анализират важни въпроси свързани с развитието на пчеларството и промишленото свиневъдство у нас. Акцент се поставя върху състоянието на здравеопазването на пчелите в условията на присъединяването 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, както и върху етиологичните аспекти на недоимъчните заболявания при прасета и приложението на микроелементи за предотвратяване на дефицитните състояния (желязо-дефицитна анемия и езофаго-гастритни улцеративни лезии) в промишленото свиневъдство.

С важни епизоотологични и диагностични приноси са проведените лабораторни серологични изследвания върху икономически значими вирусни заболявания по говеда, овце, кози, магарета и мулета. Установено е разпространението на ензоотичната левкоза по говедата в България, а направения анализ проследява ефекта от прилагането на Държавната програма

за превенция и контрол на инфекциите по отношение на това заболяване. Експериментални данни върху серопревалентността на някои респираторни вируси (параинфлуенца 3, мукозна болест-вирусна диария, говежди херпесвирус-1 и овчи аденовирус-3) в смесени стада от овце и кози в България, както и върху причинителя на артерита (EAV), инфлуенцата (EIV), ринопневмонита (EHV), инфекциозната анемия (EIA), африканската чума по конете (AHS) и конския хепатит при магарета и мулета доказват тяхното неравномерно разпространение, свързано вероятно с различната видова чувствителност, възрастови особености и други неизяснени фактори.

#### **4. Отражение на научната дейност на кандидата в българската и чуждестранната литература.**

Активната научно-изследователска дейност на кандидата върху диагностиката, клиниката, терапията и превенцията на инфекциозните и неинфекционни заболявания при пчели, птици, риби, кучета, зайци, говеда, овце, кози, коне и др., експерименталните модели за тяхното изучаване, както и актуални въпроси от клиничната бактериология е намерила широк отзвук сред научната общественост у нас и в чужбина – забелязани са общо 16 цитирания, предимно от чуждестранни автори и в публикации от списания с импакт фактор.

#### **5. Участие в изпълнение на изследователски проекти и договорни задачи.**

Активната и ползотворна изследователската дейност на д-р Русенова определя и от участието ѝ в 8 проекта, финансирани от ВМФ-ТУ на един от които тя е ръководител.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Представените научни трудове ясно очертават участието на кандидата в разработването и реализирането на важни научно-изследователски задачи предимно с микробиологична, диагностична и клинична насоченост. Доброто владеене и ползване на класически и съвременни микробиологични, молекулярно биологични и биохимични методи позволяват получаването на обективни резултати и прецизни анализи, благодарение на които са направени значими за обществото и ветеринарната

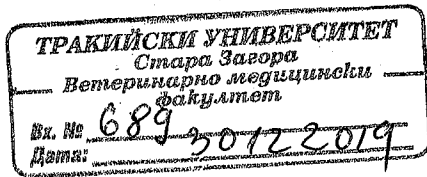
медицина научни и научно-приложни приноси, голяма част от които са с оригинален характер и за първи път се съобщават в литературата. Доказаните изследователски и преподавателски умения на д-р Русенова са надеждна основа и гаранция за успешна научно-изследователска и преподавателска дейност в посочените направления и за в бъдеще. Покривайки напълно и дори превишавайки минималните изисквания на ЗРАСРБ, както и изискуемите критерии на Ветеринарномедицинския факултет към ТрУ – Ст. Загора, и предвид всички посочени по-горе аргументи предлагам на уважаемото научно жури да присъди на гл. ас. д-р Николина Велизарова Русенова, двм академичната длъжност „Доцент“ по научна специалност „Ветеринарна микробиология“ професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина.

16.12.2019 г.

Подпис:







To the Chairman of the Academic Jury

Selected by virtue of Order № 2634/01.10.2019

Issued by the Rector of Trakia University –Stara Zagora

## EVALUATION REPORT

**Regarding:** Competition for conferring the academic rank of Associate Professor in the scientific specialty of Veterinary Microbiology; professional field 6.4. Veterinary Medicine; higher educational area 6. Agrarian Sciences and Veterinary Medicine for the purposes of the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, promulgated in the State Gazette, issue № 54/09.07.2019, with a single candidate - Chief Assistant Professor Dr. Nikolina Velizarova Rusenova.

**By:** Corresponding Member Hristo Miladinov Naydenski, DVMSc (competent in infectious microbiology, molecular biology, immunology, epizootology) from the Institute for Microbiology “Stephan Angeloff”, Bulgarian Academy of Sciences.

I hereby declare that there is no conflict of interests between me and the candidate Chief Assistant Professor Dr. Nikolina Velizarova Rusenova within the meaning of paragraph 1, items 2a, 3, 4 and 5 of the Additional Regulations of the Act for the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria.

### 1. Brief biographical information and description of the scientific interests of the candidate.

The candidate for the academic rank of Associate Professor - Chief Assistant Professor Dr. Nikolina Rusenova – graduated the Faculty of Veterinary Medicine of Trakia University (FVM-TRU), Stara Zagora in 2000 and acquired the educational qualification degree of Master - Veterinary Doctor. In the same year she was appointed an Assistant Professor, and in 2005 – a Senior Assistant, in 2009 – Chief Assistant at FVM- TRU. After the successful completion of several courses (English, Pedagogy, Molecular Biology, etc.), in 2011 she specialized in conventional and molecular methods for characterizing animal pathogens at the University of Ohio, and in 2013 at the Democritus University of Thrace (Greece) in PCR methods and applications, and FISH. In January 2014 she took a course in *Protection and Humane Treatment of Laboratory Animals Used for Scientific or Educational Purposes* (FVM-TRU). In December the same year she defended her PhD thesis on *Current Aspects in Diagnostics and Control of American Foulbrood in Bee Brood: Typing the Pathogen with Some Conventional and Molecular Methods*. In the following five years (2015-2019) she has visited Germany, Italy, Slovakia and the Republic of Northern Macedonia on Erasmus + training and teaching mobility.

The scientific interests of Dr. Rusenova lie primarily in the field of veterinary microbiology and include etiology, clinics, epidemiology and laboratory diagnostics of non-infectious and infectious diseases on bees and bee brood; pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of dose regimes of medications, non-typical clinical cases and experimental infections in various animal species, antimicrobial resistance, viral infections, etc. These brief data for the researched thematic fields definitively characterize Dr. Rusenova as a perspective researcher in the area of clinical veterinary microbiology, non-infectious and infectious pathology of a number of domestic animals, bees and fish. For approximately 20 years she has been working in the said fields, which are currently the focus of her scientific searches and professional interests. All these factors characterize the participation of Dr. Rusenova in the announced competition as thoroughly reasonable and deserving.

## **2. General description and evaluation of the submitted scientific work**

For the present competition Dr. Rusenova has submitted a total of 37 scientific works published in the period of 2004-2017, 14 of which have appeared in foreign and 12 – in Bulgarian journals. All of the 26 publications have been referenced and indexed in internationally recognized databases for scientific information – Scopus and Web of Science, which ascertains their availability to the world scientific community. Eleven have been included in non-referenced journals with scientific review and in edited collective works. The fact that 13 articles have appeared in scientific journals issued by Trakia University I find positive and particularly beneficial for the contribution Bulgarian scientific periodicals bring to the development of science and higher education in Bulgaria.

## **3. Evaluation of the research and applied scientific activity of the candidate.**

The long-term research of the candidate is focused on microbiological studies (bacteriology and virology), pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of the action of antibiotics in the organism, mechanisms of antimicrobial resistance and determining its profile, as well as original experimental models of infections and the related biochemical changes in blood as early diagnostic and clinical biomarkers. Not only do these scientific areas have intransient pertinence for the veterinary medical science, but they also reveal new perspectives for practical application in the diagnostics, prevention and therapy of infectious diseases in a large number of nosological units and livestock species.

A considerable part of Dr. Rusenova's research has been focused on the etiological aspects, including the role of secondary microflora for emerging European foulbrood, methods for laboratory diagnostics, control and prophylaxis of this disease on honey bee larvae.

Her research on the genetic characteristics of the strains *Paenibacillus larvae* through polymerase chain reaction of repetitive elements (rep-PCR fingerprinting) is the first of its kind for Bulgaria. The developed protocol for re-PCR analysis of the strains *P. larvae* shows a very good reproducibility of the results. By using BOX AIR and MBO REP1 primers, two types of

profiles are formed (a, A) and (b, B), which prove the circulation of two genotypes of *P. larvae* in Bulgaria – ab and AB. Another original contribution is the results ensuing the finding of the biotype of *P. larvae* and its relationship to the genotype. The used identification system BioLog GenIII through a scheme based on three substrates, as well as the analysis of the strains, defined by the company system and the Jelinski scheme, lead to a certain relationship between rep-PCR ab/AB genotypes and their biochemical phenotype, however, a precise correlation has not been established. The authors conclude that predominantly genetic molecular-biological methods must be used in the epidemiological studies on finding the source of infection, the factors for the distribution and control over the American foulbrood with etiological agent *P. larvae*, whereas biotyping should be applied as an additional method.

The studied geographical distribution of the American foulbrood, based on data from the register of the Bulgarian Agency for Food Safety for the period of 25 years (1989-2013) has shown prevalence of ab genotype in Northern Bulgaria, while AB is found in colonies in Southern Bulgaria, which explains the more severe form of the disease there due to the stronger virulence of the AB genotype (ERIC II) compared to ab and AB. Field clinical-epidemiological and laboratory studies on samples from 41 hives in Bulgaria with the Empty Hive Syndrome have shown *Nozema ceranae* infection in all hives (with the exception of one), which rejects other factors responsible for the depopulation of the affected colonies such as starvation, insufficient and low quality food storages, varroatosis, pesticide intoxication, presence of genetically modified crops in the region, high voltage, electromagnetic and radio frequency influences.

For the first time, the pharmacokinetic/ pharmacodynamic (PK-PD) modeling in poultry has been applied as a beneficial approach in the choice of optimal dose regime to reduce the risk of selecting antimicrobial resistance. The contemporary pharmacodynamic model *in vitro* follows not only the minimum-inhibitory concentration (MIC), but also the prevention concentration against the selection of resistant mutants (MPC – mutant-prevention concentration) and the continuing activity of antibacterial substances through time-dependent bactericide (time-killing) curves. These curves, alongside MPC could be used when designing a therapy plan for problematic infection and for reducing the risk of selecting “first mutants”.

Thorough fundamental studies on the role of transporting medications through plasma and biological membranes have been done on one of the two superfamily transmembrane transport proteins, i.e. ABC transporters (ATP-binding cassette). An important pharmacological aspect of these transporters has been the extraction of medications from tissues with respect to multiple drug resistance (MDR), where the role of the subfamilies MDR1 (P-glycoprotein) and MRP2 is essential. For the first time, it has been experimentally found that the levels and functional activity of ABC efflux proteins may be modulated by representatives of fluoroquinolones during an experimental infection with *E.coli* in birds.

A number of publications (8, 14, 15, 28, 32, 33, 37) reflect various aspects of the diagnostic and therapeutic approach, as for instance, electrocardiographic changes, which occur in dogs with

experimental *Pseudomonas aeruginosa* infection, urinary tract disease in dogs and cats (pyelitis, cystitis, urethritis), hydrothorax in a dog with chronic enteropathy, plasmic concentrations of AST and ALT in dogs ensuing an experimental infection with *Staphylococcus aureus*. Insignificant changes in the correlations between the values of the tubular markers LDH, GGT and ALP to creatinine in the urine (uLDH/Cr, uGGT/Cr, uALP/Cr) in dogs with chronic renal failure, confirm the conclusions from previous studies that enzymuria has a firm diagnostic value in acute tubular injuries, and uncertain diagnostic value in chronic kidney diseases. Studies on the changes in plasmic concentrations of creatinine – kinase (CK) in rabbits with experimental *S. aureus* infection determine their optional application as an early marker for dermal and secondary muscular injury, related to the formation of abscess and the secretion of bacterial exotoxins in this experimental infection.

Interesting and representative are the data for the presence of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) isolated in milk from goats with subclinical mastitis. The trials for testing the sensitivity of strains to chemical therapeutic means reveal 15 methicillin-resistant isolates, 12 out of which are coagulase-negative staphylococci (MRCNS) and three MRSA. In MRCNS a high percentage of resistance has been found (over 50%) to penicillin, amoxicillin and nalidixic acid, while in methycillin-sensitive coagulase-negative staphylococci (MSCNS) – only to nadilixic acid. In the search for new therapeutic means those tested for antimicrobial activity are 12 types of essential oils against microorganisms (bacteria and fungi) with a veterinary medical significance and four antivaroatosis means – Perizin, Varostat R, Varostop and Ecostop. The results from the studies characterize the most active of the means and determine their likelihood for practical application.

Of important clinical value are the studies on the penetration of two fluoroquinolones (ciprofloxacin and lomefloxacin) in the anterior ocular chamber after topical administration in healthy rabbits, and others with experimental *S.aureus* endophthalmitis. The additional local administration of the eye drops diclofenac- sodium facilitates the penetration of the lomefloxacin in the chamber fluid and enhances its therapeutic effect on the inflamed eye tissues.

Not only curious, but also of important veterinary medical significance is the described first case of *Staphylococcus warneri* and *Shewanella putrefaciens* co-infection in Siberian sturgeons (*Acipenser baerii*) and hybrid sturgeons (*Huso huso* x *Acipenser baerii*), as conducted pathologoanatomical, histological and microbiological tests clearly demonstrate the pathogenic potential of these agents and contribute to discovering the pathogenesis of this mixed infection.

In the review articles 5, 6, and 10 important questions related to the development of apiculture and industrial pig farming in Bulgaria have been analyzed. The state of healthcare of bees has been emphasized in the conditions of Bulgaria's accession to the EU and the resulting challenges regarding the organization of diagnostics, combat and prophylaxis of infectious and parasitic diseases in bees, as well as the etiological aspects of insufficiencies in pigs and the application of

microelements for the prevention of deficiencies (iron-deficiency anemia, and esophageal gastric ulcerative lesions) in industrial pig farming.

Laboratory serological studies with important epizootological and diagnostic contributions have been conducted on economically important viral diseases in cattle, sheep, goats, donkeys and mules. The spread of enzootic bovine leukosis in Bulgaria has been described, and the ensuing analysis traces the effect of the implementation of the State Programme for Prevention and Control on Infections with respect to this disease. Experimental data on the seroprevalence of some respiratory viruses (parainfluenza-3, mucosal disease viral diarrhea, bovine herpesvirus-1 and ovine adenovirus-3) in mixed flock of sheep and goats in Bulgaria, as well as on the causative agent of arthritis (EAV), influenza (EIV), rhinopneumonitis (EHV), infectious anemia (EIA), African Horse Sickness (AHS), and equine hepatitis in donkeys and mules prove their uneven distribution, related perhaps to their sensitivity differing in various species, age and other unspecified factors.

#### **4. Reflection of the research activity of the candidate in the Bulgarian and foreign literature.**

The active research activity of the candidate on the diagnostics, clinics, therapy and prevention of infectious and non-infectious diseases in bees, birds, fish, dogs, rabbits, cattle, sheep, goats, horses, etc., the experimental models for their study, as well as actual problems in clinical bacteriology has received wide attention in the scientific community in Bulgaria and abroad. A total of 16 citations, namely by foreign authors and in publications in journals with impact factor have been listed.

#### **5. Participation in research projects and agreement tasks.**

The active and beneficial research of Dr. Rusenova is also defined by her participation in eight projects financed by the FVM-TRU to one of which she has served as a project manager.

**Conclusion:** The presented scientific works clearly delineate the participation of the candidate in the development and implementation of important research tasks mostly related to microbiology, diagnostics and clinics. The good command and use of classical and contemporary microbiological, molecular biological and biochemical methods facilitate the obtaining of objective results and precise analyses, thanks to which scientific and applied scientific contributions of particular value for society and veterinary medicine have been made. Most of them have an original character and have been reported for the first time in literature. The research and teaching skills of Dr. Rusenova have formed a reliable basis and guarantee her successful research and teaching career in the future. The candidate has fulfilled and even surpassed the minimal requirements of the Act for the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria, as well as the criteria of the Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University – Stara Zagora. Considering all of the above argumentation, I propose to the honorable Academic Jury to confer to Chief Assistant Professor Dr. Nikolina Velizarova

Rusenova, DVM, the academic rank of Associate Professor in the scientific specialty of Veterinary Medicine; professional field 6.4. Veterinary Medicine; higher educational area 6. Agrarian Sciences and Veterinary Medicine.

16.12.2019

Signature:

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'D. Rusenova', written in a cursive style.