

До Председателя на Научно жури
определено със заповед № 1622/03.07.2020 г.
на Ректора на ТрУ-Стара Загора

РЕЦЕНЗИЯ

по конкурс за заемане на академичната длъжност „Професор” по „Ветеринарно-санитарна експертиза”, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, област на висше образование 6.0 Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4 Ветеринарна медицина, за нуждите на катедра „Хигиена, технология и контрол на хранителните продукти от животински произход, ветеринарно законодателство и мениджмънт” при ВМФ на ТрУ-Ст. Загора, обявен в ДВ бр. 52 от 09 юни 2020 г. с единствен кандидат доцент д-р Тодор Тодоров Стоянчев.

Изготвил: чл.-кор. Христо Миладинов Найденски д-рмв, от Института по микробиология „Стефан Ангелов” при БАН

Декларирам, че не съществуват условия за конфликт на интереси между мен и кандидата по смисъла на параграф 1, точки 2а, 3, 4 и 5 от ДР на ЗРАСРБ. Предоставените ми документи по конкурса за изготвяне на рецензия са коректно подготвени и съответстват на ЗРАСРБ и на Правилника за неговото приложение в ТрУ-Стара Загора.

1. Кратки биографични данни и характеристика на научните интереси на кандидата. Кандидатът за академичната длъжност „Професор” доц. д-р Тодор Стоянчев е роден през 1976 г. и придобива образователната степен “Магистър”, специалност „Ветеринарен лекар” през 2000 г. след завършването на Ветеринарномедицинския факултет към Тракийски университет – Ст. Загора. През 2005 г. защитава успешно дисертация пред Специализирания научен съвет по Ветеринарна медицина в гр. София и придобива образователната и научна степен (ОНС) „Доктор”. Активната и системно провеждани преподавателска и научно-изследователска дейности на доц. Стоянчев преминават в катедрата по „Хигиена, технология и контрол на хранителните продукти от животински произход, ветеринарно законодателство и мениджмънт” при ВМФ на ТрУ-Ст. Загора. За период повече от 15 години се формират и основните научни интереси, изразяващи се в провеждането на лекционни курсове и практически занятия по дисциплини свързани с хигиената и технологията на месо и месни продукти, мляко и млечни продукти, ветеринарно-санитарната експертиза, лабораторния контрол на хранителните продукти, микробиологията на храните и

околната среда, организацията и правното регламентиране на контрола и безопасността на храните от животински произход и др. Той е водещ лектор и на краткосрочни и дългосрочни курсове за следдипломна специализация. Работи активно и всеотдайно с докторанти и млади учени по научноизследователската и проектна дейности в Тракийски университет, както и с външни организации, работещи в областта на хранително-вкусовата промишленост, транспорта на животни, клане, добив и преработка на суровини и хранителни продукти, вкл. хуманно отношение към животните. Доцент Стоянчев има и богат опит в администрацията и управлението на човешките ресурси, инфраструктурата и сграден фонд, финансово бюджетната дейност, архив и поддържане на документация.

Представените, макар и накратко биографични данни, са достатъчно показателни за изграден преподавател и изследовател, с формирани трайни научни интереси в посочените по-горе области на ветеринарномедицинската наука и практика.

2. Общо описание на представената научна продукция.

В настоящия конкурс кандидатът представя общо 44 научни труда, 2 от които са книги на базата на защитен дисертационен труд за ОНС „Доктор”, 15 са публикации в научни издания, реферирани и индексирани в Scopus и Web of Science с общ ИФ 6,352, 7 са публикации реферирани в световноизвестни бази данни (по НАЦИД-референтен списък), 11 са статии и доклади, публикувани в нереферирани списания с научно рецензиране или в редактирани колективни томове, 1 глава от колективна монография на английски език, 2 учебника, 2 ръководства за практически занятия и 4 резюмета (3 от които от международни конференции). Особено впечатление правят публикациите в списанията Animal, Analytical Methods, Journal of Food Quality and Hazards Control, Food and Public Health, академичните издания на ТрУ и университета на Истанбул, и др.

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

Цялостната научно-изследователска и приложна дейност на кандидата е фокусирана върху ветеринарно-санитарни изследвания по веригата „от фермата до консуматора”, свързани с качеството и микробиологичния контрол на основните хранителни продукти от животински произход – месо и мляко, с приоритетна насоченост към първичното производство на птици и месо от тях.

Важното значение на кампилобактерийните заболявания за ветеринарната и хуманната медицина обуславя засиления интерес от науката и изследователите, работещи в областта на контрола и безопасността на храните в Европа и света. В наскоро издадена книга (публ. 1) са обобщени дисертационните изследвания на автора

върху разпространението и видовото разнообразие на причинителите от род *Campylobacter* в обхвата на веригата на месо от пилета бройлери от птицефермата до консуматора. Посочени и анализирани са основни звена в които става намножаването или разпространението на ниво ферма за бройлери и птицекланица, и възможните методи и средства за ограничаване или елиминиране на риска за човешкото здраве.

В монографичен труд (публ. 2) са представени опита на кандидата и постиженията в научните методи при идентификация, молекулярно-биологично типизиране и антимикробна резистентност на кампилобактериите, предавани по хранителната верига с живи птици и птиче месо. Обърнато е сериозно внимание ина специфичната локализация на *Campylobacter* spp. в първичното производство при птицефермите, ферми за патици, пъдпъдъци и съпътстващите синантропни птици, с оглед обективния анализ на геномната идентичност, и по-доброто разбиране на взаимовръзката между системите на отглеждане на птиците за месо и разпространението на патогена по цялата хранителна верига до консуматора. Тези научни трудове поставят доц. Стоянчев на водещо място в изследванията върху кампилобактериозата по птиците у нас.

Известно е все-по нарастващото потребителско търсене на пилешко и свинско месо, което е прясно, естествено отгледано и без добавки. Неправилното етикетирание, добавената вода, добавената сол или захари и други вещества и размразеното месо, което е означено като прясно, са сред най-честите срещаните измами, противоречащи на Европейския регламент 1234/2007, който гласи, че птиче месо може да бъде етикетирано „прясно“, когато месото не е преминало през процес на замразяване, т.е. когато се съхранява при температури между -2 и $+4$ °C до покупка от потребителите. Ето защо редица изследвания имат за цел разработването на недеструктивни методи, които не само са успешна алтернатива на класическите ISO методи и стандарти, но и дават предимство в анализите на качество и безопасност на храните поради тяхната бързина, липса на консумативи и широк обхват от показатели при единично изследване. В група публикации (12, 22, 30, 36, 40) е доказан потенциала на спектроскопията в близката инфрачервена област на светлината (NIR) за определяне степен на развала и диференциране на прясно от развалено месо. Получените резултати са в основата на създадения NIRS модел за разделяне в класове и разграничаване на охладено от замразено и размразено месо, както и на модел за прясно от съмнително прясно и развалено месо. Моделите са базирани на SIMCA класификатор и са разработени за свинско и пилешко месо, както и за доказване на

контаминация (общо микробно число) с хранителни патогени от видовете *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, (публикации 12, 22, 30, 36, 40). Възможностите за използване измерването на разсейването на светлината в близката инфрачервена област (NIR) са изследвани и за охарактеризиране на кристализацията на пчелния мед, като е доказана връзката между вида на кривите, показващи зависимостта на интензитета на светлината с дадена дължина на вълната от ъгъла, под който е измерен този интензитет. Анализирани са и връзката между тези криви и съдържание на глюкоза, фруктоза, хидроксиметилфурфурол (ХМФ) и електропроводимостта с оглед прогнозиране на неговото качество и готовност за технологична обработка (публ. 37).

NIRS методът в комбинация с нелинейния мултивариантен метод за класификация показва голям потенциал за бърз и неструктивен качествен контрол на млечни продукти. Проведените изследвания в обхвата 1100–2500 nm и данните анализирани чрез класификатор PNN (вероятностна невронна мрежа), базиран на информация от конкретни уейвлет трансформации установяват сравнително висок % на правилно класифицирани проби при сурово мляко - 78,7% при контаминирани и 89,2% при неконтаминирани, докато при пробите сирена точността е 93,3% за контаминирани с *L. monocytogenes* и 98,5% за тези контаминирани с *E. coli* (публ. 29).

Група публикации (20, 21, 25, 31) отразява резултати от проучвания свързани с оценка на риска, идентифициране на критичните контролни точки и корективните действия на ниво ферма от позицията на модифицирания вариант на HACCP при отглеждането на пилета бройлери и производството на птиче месо. Тази проблематика третира някои основни стратегии на ЕС, свързани с развитието на икономика, основана на знанието. Направеният анализ на рисковете е важен фактор, както за повишаване конкурентоспособността на фермите, така и за повишаване здравето и благополучието на отглежданите животни, и безопасността на добиваните храни и суровини. Доказано е, че рисковете свързани със здравето и особено тези, влияещи на икономическата ефективност и на себестойността на отглежданите птици са свързани основно с показателите на микроклимата във фермата и недостатъците в качеството на фуража, възникващи поради грешки в неговото съхранение. Установените 6 риска (температура, влажност, газов състав, движение на въздуха, запрашеност и разходи) не само повлияват директно ефективността и конкурентоспособността на производството, но и са важно условие за създаване на механизми за управление на риска в програма „Микроклимат и разходи“. Направените пазарни оценки отчитат повишено търсене на

продукция от животински произход, получена при отглеждане в условия доближаващи се до природните.

Изследвания върху експериментално възпроизведена мускулна дистрофия чрез изхранване с небалансиран фураж и неправилно съхраняван фураж при бройлери (пилета и пуйки) доказват, че настъпилата дистрофия оказва силно влияние върху поведението при хранене, което се проявява в намалена честота на хранене и повишена честота на пиене на вода. Освен това се наблюдават и промени в поведението, демонстриращо се с повишена честота на почивка и по-ниска честота на ходене. Засегнатите от мускулна дистрофия птици показват понижен растеж, влошено качество на месото и негодност за консумация (публ. 9, 19, 27).

Посредством паралелни класически микробиологични и молекулярно биологични (PCR) изследвания са установени рискове, свързани с появата и проникването на патогенни кампилобактерии, пренасяни чрез синантропни и диви птици обитаващи района на птицефермата. Доказано е наличието на двата патогенни вида (*C. jejuni* и *C. coli*) при водоплаващи и пилета бройлери, както и тяхното разпространение при диви и синантропни птици. Носителството на кампилобактерии при гълъбите е от 30 до 100 %, а при гугутки 10%, което е определен риск за фермите в случаите на достъп и навлизане на птиците отвън навътре (публ. 31). Посочените патогенни за човека представители на род *Campylobacter* са доминиращи в микробиологичния статус на птиците във фермите, птицекарантиците и в произведеното пилешко месо (в т.ч. и бялото месо). Технологичните етапи на охлаждане, замразяване, размразяване и мариноване не унищожават тези причинители и в крайна сметка те достигат до крайният консуматор (публ. 1, 2, 31). В продължение на тези изследвания, важни приноси са направени и по един актуален и значим за човечеството феномен, а именно антимикуробната резистентност. Широкото приложение на флуорохинолони и макролиди (предпочитани като първи избор при лечение на хора) при отглеждането на пилета бройлери с цел достигане на кланично тегло в рамките на 36-38 дни е сериозна предпоставка за възникване и разпространение на резистентност при редица бактерии, в т.ч. и патогенни. При изследване на 45 щама *Campylobacter jejuni* е доказана резистентност спрямо тетрациклин (22,2%), енрофлоксацин (13,4%) и ампицилин (11,1%), а два щама (4,4%) са показали резистентност към еритромицин (публ. 5). В стремеж за търсене на алтернативни антимикуробни средства с естествен произход са проведени лабораторни ин-витро тестове с пчелно млечице и комбинации от него с манов мед и рапичен мед. Сле използването на *Escherichia coli* ATCC 25922 като тест микроб е установен най-

силен антиминобен ефект при пчелното млечице, последван от манов мед, а най-слаб - при рапичния мед (публ. 8).

Сравнителни проучвания в технологично различни месопреработвателни предприятия определят ефекта от рутинни процедури по почистване и дезинфекция спрямо колиформни и мезофилни микроорганизми. Установено е, че по време на работа през деня замърсяването с колиформи достига $3,7 \log_{10} \text{CFU/cm}^2$, като повърхностите на повечето машини за нарязване и смилане на месото са по-силно замърсени от повърхностите на оборудването за термична обработка, сушене и съхранение. След дезинфекция изследваните повърхности не съдържат колиформи, или ако се откриват то средното ниво на замърсяване се намалява до $<1 \text{ CFU/100 cm}^2$. При индикатор мезофилини бактерии е установено, че по време на производството повърхностите на повечето машини, произвеждащи варено-пушени и сушени колбаси от червено и бяло месо, са по-замърсени от тези в предприятието, което произвежда само колбаси от червено месо. Освен това, след почистване и дезинфекция, мезофилната микрофлора е намалена до количества, многократно по-ниски от нормативно разрешените.

Известно е, че процесите на температурна устойчивост са свързани с нарушаване на бариерната проницаемост за йони при висока температура (T_g), като механизма на този процес все още не е изяснен. Изследване с модел *L. monocytogenes* доказва, че хипертермията предизвиква изтичане на цитозолни електролити със сигмоиден температурен профил, центриран при T_g , като тази температура корелира с термичната устойчивост на бактериите, адаптирани за растеж при различни температури. Налага се извода, че като цяло повишението на йонната пропускливост при T_g може да се дължи на промените в третичната и кватернерната структура на интегралните протеини на бактериите (публ. 6). За този важен хранителен патоген е доказана и по-висока устойчивост и адаптивност в сравнение с непатогенните *L. innocua* и *L. welshimeri* в реален сурово-сушен суджук, създаващ стресови условия на ниво клетка чрез стойностите на NaCl, водна активност и pH (публ. 4).

Обширно микробиологично проучване прави оценка на степента на микробно замърсяване с плесени и дрожди при сурово краве мляко и бяло саламурено сирене, произведени в български млекопреработвателни предприятия. Доказано е, че пробите от сурово мляко показват 76,6% контаминация с плесени, (средно количество от $3,4 \log_{10} \text{CFU/mL}$), а дрождите са открити в 93,3% от пробите (средно $3,5 \log_{10} \text{CFU/mL}$). Общо 70% от изследваните проби сирене са замърсени с дрожди и плесени съответно

при 2,2 log₁₀CFU/g и 2.8 log₁₀CFU/g, като най-често изолатите са от родовете *Geotrichum* (32,8%), *Aspergillus* (28,1%), *Mucor* (21,8%) и *Penicillium* (9,4%), а тези с доказана липолитични и токсигенни свойства представляват определен риск за качеството и безопасността на млякото и млечните продукти.

В резултат на участие в транснационални научни мрежи (CASTRUM network и Европейски проект по програмата Cost action) са направени първите по рода си проучвания в няколко държави, в т.ч. и България, които правят оценка на нагласите на производители, преработватели и консуматори на свинско месо към алтернативните системи на отглеждане на животните, с пълно покритие на принципите на хуманно отношение (публ. 15; 17; 23; 24; 25), а именно - угояване без кастрация (некастрирани мъжки прасета) и система с имунокастрация (ваксинален тип Импровак ®). Направено е единственото за България проучване на рисковете от проява на миризма на нерез в 28 сурово-сушени колбаси, от които 6 са регистрирани в Европейският портал DOOR (за регионални и национални месни продукти), както и възможностите за откриване и ограничаване на миризмата на нерез при месо от Дунавска бяла и Ландрас чрез пониско кланично тегло, постигнато чрез клане при живо тегло 90 кг. Установена е и границата на разпознаване на миризма на нерез от консуматорите, възлизаща на 1.0 µg/g и 0.250 µg/g съответно за андростенон и скатол. Разработен и приложен е модел за оценка на потребителските очаквания при търговия на свинско месо с данни от 16 държави, който дава разпределение по клъстери и предпочитания на ниво ферма, магазин, клиент. Най-приемлив е модела кастрация с анестезия (85%), последван от имунокастрация (71%), некастрирани (49%) и кастрирани без анестезия (32%).

Важни приноси от научен и научно-приложен характер са подобрените лабораторни методи, свързани с ветеринарно-санитарната експертиза на качеството и безопасността на храните. Разработен е метод за идентификация на кампилобактерии, приложим за установяване на фрагменти от ДНК на ниво ферма, живи птици или замразени и охладени продукти, вкл. яйца и диви птици (публ. 2). Оптимизиран е и PCR метод за идентифициране и количествено определяне на ЕРЕС в изкуствено контаминирано месо. Той се позитивира (*eae* гена, 482 bp) при 54 живи клетки на *E. coli* в 1 ml, а най-ниската концентрация на бактериални клетки в контаминирани проби от мляно говеждо месо, възлиза 0,7 CFU/g месо. Чрез PCR метод (и след допълнително концентриране на екстракта и/или набогатяване на пробите, публ. 13 и 14) е постигнато ускорено откриване на *E. coli* O157:H7 в сурово мляко и тампонни фекални проби. В серия от изследвания (35, 38, 39) е оптимизиран и приложен

рефрактометричен метод за ускорено рутинно разпознаване на чиста млечна мазнина и разграничаването ѝ от мазнина с добавени растителни компоненти и палмови мазнини. Установено е, че млечната мазнина, екстрахирана от сурово мляко има приравнено рефракционно число 39 (или близко до 39), от саламурено сирене е 40 (или близко до 40), а при смеси млечна с палмови мазнини или растителни мазнини числото е над 42. Метода е подходящ за скринингови тестове и рутинна употреба.

Създаден и тестван е прототип на сензорна технология тип „изкуствен нос“, с вградени комбинации от сензори, температурни и вакуумни системи и система за контрол на влажността. Той е приложен за ранно разпознаване на процесите на микробиологична развала на пилешко месо и разграничаване на прясно от съмнително прясно и развалено месо (публ. 34). С цел да се отговори на европейските изисквания за мониторинг на остатъците от пестициди в храни от животински произход е разширен аналитичния обхват на методите в България с още 7 включващи: дилдрин, ендосулфан- α и β изомери, ендосулфан сулфат, НСВ, хептахлор, хептахлорепоксид - цис изомер., като с това общо броя на хлороорганичните пестициди става 15.

4. Отражение на научната дейност на кандидата в българската и чуждестранната литература. Целенасочената и активна научно-изследователска дейност на кандидата върху методите за неструктивно разпознаване на качеството и безопасността на месо, мляко и готови храни, анализа на риска на ниво ферма и модифицираната система НАССР при първично производство на птици и месо от тях, микробиологичните изследвания при месо, мляко и процесите на тяхната преработка, качеството на свинското месо при системи на оглеждане на кастрирани и некастрирани мъжки прасета и др. е намерила широк отзвук сред научната общественост у нас и в чужбина. Представени са и значителен брой цитирания - 74, надвишаващи изискуемите минимални национални изисквания по група показатели „Д“ за съответната академична длъжност. Следва да се отбележи също, че работите се цитират предимно от чуждестранни автори и в престижни международни списания с висок ИФ.

5. Учебно-преподавателска дейност и участие в научно-изследователски проекти. Доцент Стоянчев има 19 годишен преподавателски стаж. Неговата средна аудиторна заетост е 385 ч, от които 84 са на английски език. Тя включва провеждане на лекции и практически занятия със студенти по дисциплините „Хигиена и технология на месо и месни продукти“, „Хигиена и технология на мляко и млечни продукти“, „Ветеринарно-санитарна експертиза“, „Лабораторен контрол на хранителните продукти“, „Микробиология на храните“ и „Микробиология на околната среда“ и др.

Средната извънаудиторна натовареност възлиза на 154 ч и включва провеждането на изпити със студенти, обучение на докторанти от учебния план на специалност „Ветеринарна медицина“ и задочни студенти в ОКС „Магистър“ на ВМФ.

Изследователската дейност на кандидата се определя и от активното му участие като координатор на един проект по ОП „Развитие на човешките ресурси“ и експерт в други два. Той е ръководител на един проект по ФНИ, член на управителният съвет и втори представител за България в международен проект по програма COST. Неговият изявен професионализъм, практически и теоретични познания, отлична подготовка, умения за работа и управление на колектив, са в основата на закономерното му научно израстване и научни достижения.

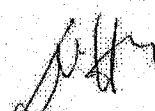
ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Представената от кандидата цялостна научно-изследователска дейност е не само значима и актуална, но и надеждна платформа за повишаване на научния, преподавателски и експертен капацитет на ВМФ при ТрУ – Ст. Загора.

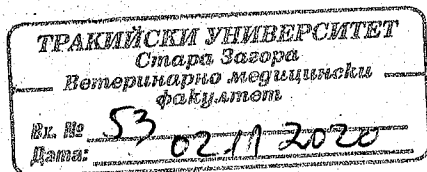
Придобитият опит, активната и ползотворна работа в посочените по-горе области (които и понастоящем са във фокуса на неговите научни търсения и професионални интереси), несъмнено ще допринесат за по-ефективния микробиологичен и химичен контрол на храните от животински произход (месо, мляко и техните продукти) и превенцията на животните и човека от актуални хранителни зоонози, каквито са кампилобактериозата (номер едно по разпространение в Европа), листериозата, колибактериозата и др. Добавени към научно-изследователската дейност, неговата активна проектна, учебно-преподавателска и експертна дейност удовлетворяват напълно изискванията на чл. 28 от ЗРАСРБ, както и изискуемите критерии от правилника на ТрУ-Ст. Загора за заемане на академичната длъжност „Професор“. Това ми дава основание да изразя своята положителна оценка и очертаващия се потенциал за бъдещи изследвания и успешна преподавателска и експертна дейност.

Предлагам на уважаемото научно жури в съответствие с чл. 29 ал.1 от ЗРАСРБ, и член 60 и 61 от Правилника за неговото прилагане да присъди на доц. д-р Тодор Тодоров Стоянчев академичната длъжност „Професор“ по „Ветеринарно-санитарна експертиза“ за нуждите на ВМФ при Тракийски университет – Стара Загора.

31.10.2020 г.

София


чл.-кор. Христо Найденски, д-р



To the Chairperson of
Scientific Jury appointed by
Order No. 1622/ July 03, 2020
of the Rector of Trakia University
Stara Zagora

REVIEW

For a contest for occupying academic position „Professor” in scientific specialty „Veterinary and sanitary expertise”, professional area 6.4. Veterinary medicine, field of higher education 6. Agrarian sciences and veterinary medicine for the needs of Department “Hygiene, technology and control of food of animal origin, veterinary legislation and management” at the Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University – Stara Zagora, announced in State Gazette No. 52/09 June, 2020 with sole candidate Associate Professor Todor Todorov Stoyanchev, DVM.

Prepared by: Prof. Hristo Miladinov Najdenski, DVM, DSc, Corresponding Member of the Bulgarian Academy of Sciences from the Stephan Angeloff Institute of Microbiology – BAS.

I hereby declare that there are no conditions for conflict of interests between me and the candidate pursuant to paragraph 1, items 2a, 3, 4 and 5 of the Supplemental Provisions of the Law on Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria. The documents submitted to me on the contest for preparing a review have been correctly prepared and conform to the Law on Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Rules for its implementation at Trakia University – Stara Zagora.

1. Brief biographical data and characteristics of the candidate’s scientific interests

The candidate for the academic position “Professor” - Assoc. Prof. Dr. Todor Stoyanchev, DVM was born in 1976 and acquired educational Master degree, specialty Veterinary surgeon in 2000 after- graduation from the Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University – Stara Zagora (TrU). In 2005 he successfully defended PhD thesis at the Specialized Scientific Council of Veterinary Medicine in Sofia and was awarded with the educational and scientific degree “Doctor” (ESDD). The active and systematically conducted teaching and research activities of Assoc. Prof. Stoyanchev passed to the Department of "Hygiene, Technology and Control of Food Products of Animal Origin, Veterinary Legislation and Management" at the TrU-St. Zagora. For a period of more than 15 years the main scientific interests are formed,

Control of Food Products of Animal Origin, Veterinary Legislation and Management" at the TrU-St. Zagora. For a period of more than 15 years the main scientific interests are formed, expressed in the conduct of lectures and practical courses in disciplines related to the hygiene and technology of meat and meat products, milk and dairy products, veterinary and sanitary expertise, laboratory control of food products, microbiology of food and the environment, the organization and legal regulation of the control and safety of food of animal origin, etc. He is a leading lecturer on both short-term and long-term postgraduate courses. Works actively and dedicatedly with PhD students and young scientists in research and project activities at the Thracian University, as well as with external organizations working in the field of food industry, animal transport, slaughter, extraction and processing of raw materials and food products, incl. animal welfare. Associate Professor Stoyanchev also has extensive experience in the administration and management of human resources, infrastructure and building stock, financial and budgetary activities, archives and maintenance of documentation.

The above presented, albeit briefly biographical data, are sufficiently indicative for an established and proven lecturer and researcher, with formed lasting scientific interests in the above-mentioned areas of veterinary science and practice.

2. General description of the presented scientific production.

In the current contest the candidate presents a total of 44 scientific papers, 2 of which are books based on a defended PhD thesis for the ESDD, 15 are publications in scientific journals, referred and indexed in Scopus and Web of Science with a total IF 6.352, 7 are publications referred in world-famous databases (according to NACID- reference list), 11 are articles and reports published in non-referred journals with scientific review or in edited collective volumes, 1 chapter of a collective monograph in English, 2 textbooks, 2 manuals for practical courses and 4 abstracts (3 of which from international conferences). Particularly impressive are the publications in the journals *Animal*, *Analytical Methods*, *Journal of Food Quality and Hazards Control*, *Food and Public Health*, the academic editions of TrU and the University of Istanbul, and others.

3. Assessment of the scientific research and applied scientific work.

The overall research and applied activities of the candidate is focused on veterinary and sanitary research in the chain "from farm to consumer", related to the quality and microbiological control of basic food products of animal origin - meat and milk, with a priority focus on primary production of poultry and meat thereof.

The importance of campylobacterioses for veterinary and human medicine has led to increased interest from science and researchers working in the field of food control and food

safety in Europe and worldwide. A recently published book (publ. 1) summarizes the author's dissertation research data on the distribution and species diversity of pathogenic campylobacters in the range of the broiler chicken meat chain from the poultry farm to the consumer. The main units in which the multiplication or distribution at the level of a broiler and poultry slaughterhouse takes place and the possible methods and means for limiting or eliminating the risk to human health are indicated and analyzed.

A monograph (publ. 2) presents the candidate's experience and achievements in scientific methods for identification, molecular-biological typing and antimicrobial resistance of campylobacters transmitted along the food chain with live birds and poultry. Serious attention has been paid to the specific localization of *Campylobacter* spp. in primary production in poultry farms, duck farms, quails and accompanying synanthropic birds, with a view to objective analysis of genomic identity, and a better understanding of the relationship between poultry farming systems for meat and the spread of the pathogen throughout the food chain to the consumer. These scientific works place Assoc. Prof. Stoyanchev in a leading position in the research on avian campylobacteriosis in our country.

It is known the increasing consumer demand for chicken and pork, which is fresh, naturally grown and without additives. Improper labeling, added water, added salt or sugars and other substances and thawed meat, which is labeled as fresh, are among the most common frauds, contradicting to the European Regulation 1234/2007, which states that poultry meat may be labeled "fresh" when the meat has not undergone a freezing process, i.e. when it is stored at temperatures between -2 and + 4 ° C until purchase by consumers.

Therefore, a number of studies aim to develop non-destructive methods that are not only a successful alternative to classical ISO methods and standards, but also give an advantage in the analysis of food quality and food safety due to their speed, lack of consumables and a wide range of indicators at a single study. In a group of publications (12, 22, 30, 36, 40), the potential of near-infrared light spectroscopy (NIR) to determine the degree of spoilage and differentiate fresh from spoiled meat has been demonstrated. The obtained results are the basis of the created NIRS model for division into classes and differentiation of chilled from frozen and thawed meat, as well as a model for fresh from suspiciously fresh and spoiled meat. The models are based on the SIMCA classifier and have been developed for pork and chicken, as well as for the detection of contamination (total microbial count) with food pathogens of the species *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (publications 12, 22, 30, 36, 40). The possibilities for using the measurement of light scattering in the near infrared region (NIR) have been studied to characterize the

crystallization of honey, and the relationship between the type of curves showing the dependence of light intensity with a given wavelength on the angle below which this intensity is measured.

The relationship between these curves and the content of glucose, fructose, hydroxymethylfurfural (HMF) and electrical conductivity was also analyzed in order to predict its quality and readiness for technological processing (publ. 37).

The NIRS method in combination with the nonlinear multivariate classification method shows great potential for fast and non-destructive quality control of dairy products. Studies in the range 1100–2500 nm and data analyzed using the PNN (probabilistic neural network) classifier, based on information from specific wavelet transforms, found a relatively high percent of correctly classified samples in raw milk - 78.7% in contaminated and 89.2% in uncontaminated, while in cheese samples the accuracy was 93.3% for those contaminated with *L. monocytogenes* and 98.5% for those contaminated with *E. coli* (publ. 29).

A group of publications (20, 21, 25, 31) reflects the results on studies related to risk assessment, identification of critical control points and corrective actions at farm level from the standpoint of the modified HACCP variant in broiler breeding and poultry production. This issue addresses some of the main EU strategies related to the development of a knowledge-based economy. The risk analysis is an important factor both for increasing the competitiveness of farms and for increasing the health and well-being of farmed animals and the safety of food and raw materials. It has been shown that the health risks, and in particular those affecting the economic efficiency and cost of farmed birds, are mainly related to the indicators of the microclimate in the farm and the deficiencies in the quality of the feed arising from errors in its storage.

The identified 6 risks (temperature, humidity, gas composition, air movement, dust and costs) not only directly affect the efficiency and competitiveness of production, but are also an important condition for creating risk management mechanisms in the program "Microclimate and costs". The market assessments take into account the increased demand for products of animal origin, obtained during breeding in conditions close to natural.

Studies on experimentally reproduced muscular dystrophy by feeding unbalanced feed and improperly stored feed in broilers (chickens and turkeys) prove that the onset of dystrophy has a strong influence on feeding behavior, which is manifested in reduced feeding frequency and increased frequency of drinking water. In addition, changes in behavior were observed, demonstrated by an increased frequency of rest and a lower frequency of walking.

Birds affected by muscular dystrophy show reduced growth, poor meat quality and unfitness for consumption (publ. 9, 19, 27).

Parallel classical microbiological and molecular biological (PCR) studies have identified risks associated with the emergence and penetration of pathogenic campylobacters transmitted by synanthropic and wild birds inhabiting the poultry farm area. The presence of both pathogenic species (*C. jejuni* and *C. coli*) in waterfowl and broiler chickens has been proven, as well as their distribution in wild and synanthropic birds. The carrier of campylobacteria in pigeons is from 30 to 100%, and in pigeons 10%, which is a certain risk for farms in cases of access and entry of birds from outside to inside (publ. 31). These pathogens of the genus *Campylobacter* are dominant in the microbiological status of birds in farms, poultry slaughterhouses and in the produced chicken meat (including white meat).

The technological stages of cooling, freezing, thawing and marinating do not destroy these causative agents and eventually they reach the final consumer (publ. 1, 2, 31). In the course of these studies, important contributions have been made to a current and significant phenomenon for mankind, namely antimicrobial resistance. The widespread use of fluoroquinolones and macrolides (preferred as a first choice in human treatment) in the rearing of broiler chickens in order to reach slaughter weight within 36-38 days is a serious prerequisite for the emergence and spread of resistance in a number of bacteria, including the pathogenic ones. A study of 45 strains of *Campylobacter jejuni* showed resistance to tetracycline (22.2%), enrofloxacin (13.4%) and ampicillin (11.1%), and two strains (4.4%) showed resistance to erythromycin (publ. 5). In an effort to find alternative antimicrobials of natural origin, laboratory in-vitro tests with royal jelly and combinations of it with manna honey and rapeseed honey were performed. Following the use of *Escherichia coli* ATCC 25922 as a test microbe, the strongest antimicrobial effect was found in royal jelly, followed by manna honey and the weakest in rapeseed honey (publ. 8).

Comparative studies in technologically different meat processing plants determine the effect of routine cleaning and disinfection procedures on coliform and mesophilic microorganisms. During the day, coliform contamination was found to reach $3.7 \log_{10} \text{CFU} / \text{cm}^2$, with the surfaces of most meat slicers and mincers being more contaminated than the surfaces of heat treatment, drying and storage equipment. After disinfection, the tested surfaces do not contain coliforms, or if detected, the average level of contamination is reduced to $<1 \text{ CFU} / 100 \text{ cm}^2$. In the mesophilic indicator bacteria, it was found that during production, the surfaces of most machines producing cooked-smoked and dried red and white meat sausages were more contaminated than those in the plant, which produces only red meat

sausages. In addition, after cleaning and disinfection, the mesophilic microflora is reduced to quantities many times lower than it is allowed by law.

It is known that the processes of temperature resistance are associated with a violation of the barrier permeability for ions at high temperature (T_g), and the mechanism of this process is not yet clear. A study with the *L. monocytogenes* model demonstrates that hyperthermia causes leakage of cytosolic electrolytes with a sigmoid temperature profile centered at T_g , as this temperature correlating with the thermal resistance of bacteria adapted to grow at different temperatures. It is necessary to conclude that in general the increase of the ionic permeability at T_g may be due to the changes in the tertiary and quaternary structure of the integral proteins of the bacteria (publ. 6). This important food-borne pathogen has also been shown to be more resistant and adaptable than the non-pathogenic *L. innocua* and *L. welshimeri* in real raw-dried sausage, creating stress conditions at the cellular level through the values of NaCl, water activity and pH (publ. 4).

An extensive microbiological study assesses the degree of microbial contamination with molds and yeasts in raw cow's milk and white brined cheese produced in Bulgarian dairy companies. Raw milk samples were shown to get 76.6% mold contamination (mean 3.4 log₁₀CFU/mL) and yeast was detected in 93.3% of samples (mean 3.5 log₁₀CFU/mL). A total of 70% of the tested cheese samples were contaminated with yeast and mold at 2.2 log₁₀ CFU/g and 2.8 log₁₀CFU/g, respectively, and most often the isolates are from the genera *Geotrichum* (32.8%), *Aspergillus* (28.1 %), *Mucor* (21.8%) and *Penicillium* (9.4%), and those with proven lipolytic and toxigenic properties pose a certain risk to the quality and safety of milk and dairy products.

As a result of participation in transnational scientific networks (CASTRUM network and European project under the Cost action program) the first studies of its kind were made in several countries, incl. Bulgaria, which assess the attitudes of pig producers, processors and consumers towards the alternative animal husbandry systems, with full coverage of the principles of welfare (publ. 15; 17; 23; 24; 25), namely - fattening without castration (uncastrated male pigs) and system with immunocastration (vaccine type Improvak ®). The only study for Bulgaria on the risks of boar odor in 28 raw-dried sausages, 6 of which are registered in the European portal DOOR (for regional and national meat products), as well as the possibilities for detecting and limiting boar odor in the case of meat from Danube White and Landrace by lower carcass weight, achieved by slaughter at a live weight of 90 kg. The limit of recognition of boar odor by consumers was also established, amounting to 1.0 µg /g and 0.250 µg /g for androstenone and skatole, respectively. A model for assessment of

consumer expectations in pork trade with data from 16 countries has been developed and applied, which provides a distribution by clusters and preferences at the farm, shop and customer level. The most acceptable model is castration with anesthesia (85%), followed by immunocastration (71%), uncastrated (49%) and castrated without analgesia (32%).

Important contributions of scientific and applied nature are the improved laboratory methods related to the veterinary and sanitary expertise of food quality and safety. A method for the identification of campylobacters has been developed, applicable for the detection of DNA fragments at the farm level, live birds or frozen and chilled products, incl. eggs and wild birds (publ. 2). The PCR method for identification and quantification of EPEC in artificially contaminated meat has also been optimized. It was positive (*eae* gene, 482 bp) in 54 live *E. coli* cells in 1 ml, and the lowest bacterial cell concentration in contaminated minced beef samples was 0.7 CFU/g meat. Accelerated detection of *E. coli* O157: H7 in raw milk and faecal swabs was achieved by PCR (and after further concentration of the extract and/or sample enrichment, publ. 13 and 14).

In a series of studies (35, 38, 39) a refractometric method was optimized and applied for accelerated routine recognition of pure milk fat and its differentiation from fat with added vegetable components and palm fat. It has been found that milk fat extracted from raw milk has an equal refractive index of 39 (or close to 39), of brined cheese is 40 (or close to 40), and for mixtures of milk with palm fat or vegetable fat the number is over 42. The method is suitable for screening tests and routine use.

A prototype of "artificial nose" type sensor technology has been created and tested, with built-in combinations of sensors, temperature and vacuum systems, and a humidity control system. It has been applied for the early detection of the processes of microbiological spoilage of chicken meat and the distinction between fresh and suspiciously fresh and spoiled meat (publ. 34). In order to meet the European requirements for monitoring pesticide residues in food of animal origin, the analytical range of methods in Bulgaria has been expanded with 7 more including: dieldrin, endosulfan and β isomers, endosulfan sulfate, HCB, heptachlor, heptachlore cis-isomer, bringing the total number of organochlorine pesticides to 15.

4. Reflection of the scientific activity of the candidate in the Bulgarian and foreign literature.

The purposeful and active research activity of the candidate on the methods for non-destructive recognition of the quality and safety of meat, milk and prepared foods, risk analysis at farm level and the modified HACCP system in primary production of poultry and meat, microbiological research in meat, milk and the processes of their treatment, the quality

of pork in inspection systems of castrated and uncastrated male pigs, etc. has found a wide response among the scientific community in Bulgaria and abroad. A significant number of citations are also presented - 74, exceeding the required minimum national requirements for group of indicators "D" for the respective academic position. It should also be noted that the works are cited mainly by foreign authors and in prestigious international journals with high impact factor.

5. Educational and teaching activities and participation in scientific research projects.

Associate Professor Stoyanchev has 19 years of teaching experience. Its average classroom employment is 385 hours, of which 84 are in English. It includes conducting lectures and practical courses with students in the disciplines "Hygiene and technology of meat and meat products", "Hygiene and technology of milk and dairy products", "Veterinary examination", "Laboratory control of food", "Food Microbiology" and "Environmental Microbiology", and others. The average extracurricular workload amounts to 154 hours and includes conducting exams with students, training of doctoral students in the curriculum of the specialty "Veterinary Medicine" and part-time students in the Master's degree of the Faculty of Veterinary Medical at the TrU.

The research activity of the candidate is determined by his active participation as a coordinator of one project under Operative Program "Development of Human Resources" and an expert in two others. He is the leader of a project under the National Science Foundation, a member of the management board and the second representative for Bulgaria in an international project under the COST program. His outstanding professionalism, practical and theoretical knowledge, excellent training, skills for work and team management are the basis of his natural scientific growth and scientific achievements.

CONCLUSION

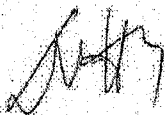
The overall research activity presented by the candidate is not only significant and up-to-date, but also a reliable platform for increasing the scientific, teaching and expert capacity of the Faculty of Veterinary Medical at the TrU - St. Zagora. The experience gained, active and fruitful work in the above areas (which are still in the focus of his scientific research and professional interests) will undoubtedly contribute to more effective microbiological and chemical control of food of animal origin (meat, milk and their products) and the prevention of animals and humans from current food zoonoses, such as campylobacteriosis (number one in Europe), listeriosis, colibacillosis, etc.

Added to the research activity, its active project, teaching and expert activities fully satisfy the requirements of Art. 28 of the Law on development of academic staff in the Republic of Bulgaria, as well as the required criteria from the rules of Trakia University - Stara Zagora for holding the academic position "Professor". This gives me reason to express my positive assessment and the emerging potential for future research and successful teaching and expertise.

I propose to the esteemed Scientific Jury in accordance with Art. 29 para. 1 of the Law on development of academic staff in the Republic of Bulgaria, and Articles 60 and 61 of the Rules for its implementation to award the academic position "Professor" to Associate Professor Todor Todorov Steyanchev, DVM in the scientific specialty " Veterinary and Sanitary Expertise" for the needs of the Faculty of Veterinary Medicine at the Trakia University – Stara Zagora.

31.10.2020 r.

Sofia



Prof. Hristo Najdenski, DVM, DSe,

Corr. Member of BAS