

РЕЦЕНЗИЯ

от доц., д-р Веселин Нанев Нанев, ИЕМПАМ – БАН,
член на научно жури, назначено със Заповед на Ректора на ЛТУ ЗПС-567/14.11.2023г.

ОТНОСНО : Представеният ми дисертационен труд на тема „Проучвания върху сърдечната дирофилариоза при кучета в България“ за придобиване на образователна и научна степен “Доктор” в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност “Паразитология и инвазионни болести на животните и човека”, разработен от магистър Радослав Митков Рафаилов с научен консултант доц. Костадин Павлов Кънчев, д-р.

Като член на Научното жури, съгласно Заповед на Ректора на ЛТУ ЗПС-567/14.11.2023г. се запознах с предоставените материали по процедурата за защита на дисертационен труд на магистър ветеринарен лекар Радослав Митков Рафаилов. Той е докторант на самостоятелна форма на обучение с научен консултант доц. Костадин Павлов Кънчев, д-р. и е отчислен с право на защита, като е преминал през всички законосъобразни показатели за защитата пред научно жури в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4 Ветеринарна медицина, научна специалност “Паразитология и инвазионни болести на животните и човека”.

Магистър ветеринарен лекар Радослав Митков Рафаилов е положил успешно изпити по докторантската си програма по следните дисциплини: „Методи за диагностика на паразитозите“, „Паразитози при компанияни животни“ и „Паразитози при продуктивните животни“. Работа на докторанта като ветеринарен лекар в КООП ДОВЕРИЕ ЛЕСИДРЕН ООД, клиника "СВЕТИ ГЕОРГИ" ЕСТРЕЛА ВЕТ ООД и асистент- преподавател Лесотехнически университет ми дава основание да считам, че личностните качества изброени в CV на кандидата (комуникативност, адаптивност, непримиримост, лоялност, отговорност и работа в скип) са добре изявиени в докторанта. Към това трябва да добавим и участието му в конференции и семинари -10бр. , проекти -4 бр. , публикации- 8 бр. общо, като 2 от тях са по темата на дисертацията. Също така и 3 бр. цитирания от публикациите свързани с темата на дисертацията. Получените от докторанта отличия и награди- 5 бр. от участия в научни форуми, говори за неговата висока активност и компетентност не само по темата на дисертацията, но и в областта на ветеринарната медицина.

Дисертационният труд е структуриран по общоприетия начин, като отделните компоненти са логически свързани. Подчертана е важната роля на сърдечната дирофилариоза и разпространението и при кучета в България. Дисертационният труд е представен на 187 страници и съдържа внушителния брой от 393 литературни източници.

Литературният обзор показва изчерпателен и многообхватен преглед на наличната литература и автори. Докторантът е запознат със състоянието и насоките на изследванията на темата. Според направеният от него литературен обзор остава неизяснен въпросът точно кои видове комари са потенциалните носители на инвазиоспособни ларви и са отговорни за разпространението на заболяването и инвазирането на крайните гостоприемници в нашата страна. В тази връзка липсва достатъчно информация и по отношение на инвазирането на комарите с инвазиоспособни ларви и тяхната лятна динамика като брой и разпространение и доколко климатичните особености са в основата на по-широкото разпространение на заболяването през последните години.

Уводът и литературния обзор дават обосновка за поставените цел и задачи. Целта на докторанта е да се направи проучване на превалентността на сърдечната дирофилариоза при кучета в различни райони на България, както и да се прецизират възможностите за диагностика на заболяването, да се задълбочат знанията за патологичните изменения в крайните гостоприемници, за видовия състав на междинните гостоприемници, сезонната динамика на комарите в различни области на страната и да се направи корелация между техния брой и носителството им на микрофиларии от вида *D. immitis*.

За постигане целта докторанта си поставя за изпълнение следните задачи:

1. Проучване на разпространението на *D. immitis* при кучета в различни райони в България чрез използването на бързи антигенни тестове.
2. Съпоставяне на резултатите, получени по метода на Knott, с тези от бързи антигенни тестове и конвенционален PCR метод при изследваните кучета.
3. Да се определи видовият състав на комарите с установено носителство на *D. immitis* в райони на България с различни климато-географски условия.
4. Да се установи началото и края на периода на ефективно заразяване на комарите;
5. Да се направи съпоставка между сезонната месечна лятна динамика на комарите в различни градове на страната, изследвани за носителството на микрофиларии от *D. immitis*, чрез Real time PCR.
6. Да се извърши патологоанатомична и хистологична оценка на измененията във вътрешни органи при кучета с доказана сърдечна дирофилариоза.

Материал и методи

Изследвани са голям брой крайни гостоприемници- 2626, уловени и изследвани са повече от 3000 бр. женски комари, също така са изследвани и 192 кръвни проби чрез метода на Knott и конвенционален PCR тест.

Резултатите са коректно представени на базата на приложените методи. Те са онагледени с 13 таблици и 105 фигури. Те са оригинални и подчертават най-значимото от целта и задачите. Особено добро впечатление ми направи главата обсъждане, в която докторанта прави сравнителният анализ на резултатите, получени по метода на Knott, с тези от бързи антигенни тестове и конвенционален PCR при изследваните кучета.

От извършените изследвания докторанта формулира следните по-важни изводи:

1. Направеното комплексно проучване върху разпространението на сърдечната дирофилариоза показва, че заболяването се среща във всички райони на страната, като доминира в южните по-топли части на България.
2. Териториалното повсеместно разпространение на сърдечната дирофилариоза вероятно се дължи на климатични промени и глобално затопляне, като основният абиотичен фактор за разпространението на установените комари е температурата.
3. Скрининговото проучване за антигени от *D. immitis* показва превалентност от 11.12% при кучетата в нашата страна.
4. Най-широко разпространение на положителни за паразита кучета се установява в определения като Централен южен район.
5. Основен резервоар на паразита са безстопанствените кучета, като при тях екстензитетът на инвазия е 24.75%, вероятно поради липсата на прилагане на ефективни средства за профилактика на заболяването.
6. Не е установена зависимост между пола на кучетата и превалентността на инвазията.
7. По-висок е процентът на инвазирани кучета от породите Кавказка овчарка (36.84%), Акита ину (33.33%), Бийгъл (23.53%), Дратхаарт (23.08%), Курцхар (20.00%) и Българско овчарско куче (20.00%).
8. По-голям е броя на установените инвазии при „Овчарски и пастирски кучета“ и „Ловни кучета“.
9. С най-висок риск от заболяване са животните между 2- и 7-годишна възраст, предимно от едрите породи.
10. Чрез конвенционален PCR се постига прецизно отдиференциране на ларвите на *D. immitis* от тези на *D. repens*.

11. Чувствителността и специфичността на бързия антигенен тест IDEXX SNAP 4Dx Plus спрямо конвенционален PCR към *D. immitis* е съответно 90.0 и 94.5%, а спрямо коинвазия между *D. immitis* и *D. repens* е 75.0 и 91.5%. Чувствителността и специфичността на метода на Knott спрямо конвенционален PCR към *D. immitis* е съответно 80.0 и 100.0%, а спрямо коинвазия между *D. immitis* и *D. repens* е 50.0 и 100.0%.

12. В нашата страната са идентифицирани следните видове комари: *C. pipiens*, *Ae. albopictus*, *Ae. cinereus*, *Ae. vexans*, *Ae. caspius*, *Anopheles maculipennis complex* и *Culiseta* sp. С най-висока честота се установява видът *C. pipiens*.

13. Най-висока численост на уловите от комари се постига при дни с висока температура и малко валежи.

14. Установява се правопрпорционална корелация между броя на заловените комари и положително тестваните от тях сборни Real time PCR проби през летните месеци от годината.

Данните са анализирани прецизно, а приноси формулирани ясно и конкретно. Напълно приемам представената справка за 6-те научни приноси на изследването. Извършеното от докторанта комплексно проучване на разпространението на сърдечната дирофилариоза при кучета в някои райони на България е установило видовете комари-вектори и зависимостта между разпространението им и температурните и сезонните особености. Също така е диагностицирал микрофиларии от вида *D. immitis* в комари от нашата страна чрез Real time PCR. Установено е и наличието на микрофиларии от паразита *D. immitis* в следните видове комари: *Ae. albopictus*, *C. pipiens*, *Ae. cinereus*, *Ae. vexans* и *Anopheles maculipennis complex*.

Бих искал да подчертая, че особено впечатление ми направи сравнителният анализ на резултатите, получени по метода на Knott, с тези от бързи антигенни тестове и конвенционален PCR при изследваните кучета. Според докторанта основният недостатък на всички микроскопски методи, включително и този на Knott, е ниската чувствителност, която имат, особено при животни с ниска микрофилариемия. През последните години все повече се налага тенденцията за прилагането на молекулярни методи за отдиференциране и диагностика на видовете дирофилариози. Докторантът използва адаптирана методика на Giola et al. (2010), която предоставя високо чувствителен и специфичен протокол за установяване и видово определяне на микрофилариите, основано на детекция на консервативния за всички кучешки филарии митохондриален ген 12S rDNA. Известно е, че екстрахромозомната митохондриална ДНК е сравнително по-малко крехка от ядрената ДНК и е представена в голям брой копия във всеки организъм, като осигурява висока чувствителност на метода (Mishra et al., 2007). Предимството на този едностъпков PCR се базира на това, че се амплифицира специфичен общ ген за кучешки филарии и специфични праймери за *D. immitis* и *D. repens*. По този начин се избягва двукратното тестване на пробите за наличие на двата филарида, което осигурява бързина и по-малко

финансови разходи. Също така позволява установяването на коинвазии в една кръвна проба. Заключение, до което докторанта стига е, че за точната диагностика има необходимост от комплексни изследвания с цел минимален шанс от грешни резултати. Този бърз, чувствителен и специфичен едноетапен PCR анализ, който той прилага, е способен да разграничи двата най-често срещани филариални паразита при кучета и представлява допълнителен инструмент за епидемиологични изследвания и рутинна оценка на заболяването в коендемични зони за двата вида.

Докторанта представя справка за участието му в конференции и семинари -10бр. , проекти 4- бр. , публикации- 8 бр. общо, като 2 от тях са по темата на дисертацията. Също така и 3 бр. цитирания от публикациите свързани с темата на дисертацията. Получените от него отличия и награди- 5 бр. от участия в научни форуми, говори за неговата висока активност и компетентност като ветеринарен лекар.

Много впечатляващ е и раздела препоръки за практиката. Въз основа на получените резултати той формулира 3 бр. препоръки:

1. За постигане на обективен резултат в диагностиката на заболяването сърдечна диروفилариоза може да се постигне при комбинирано прилагане на конвенционален PCR, IDEXX SNAP 4Dx тест и метода на Knott.
2. Необходимо е образната диагностика и патологоанатомичното изследване да бъдат насочени предимно към пулмоналните артерии и дясната част на сърцето, където се установяват най-голям брой екземпляри от паразита.
3. Характерните макроскопски изменения при сърдечната диروفилариоза са дилатация и удебеляване на съдовата стена на белодробните артерии.

Дисертационният труд е навременна оригинална разработка върху голям обем материал (крайни гостоприемници- 2626 броя, уловени и изследвани са повече от 3000 бр. женски комари, също така са изследвани и 192 кръвни проби чрез метода на Knott и конвенционален PCR тест). Резултатите са коректно представени на базата на приложените методи. Те са онагледени с 13 таблици и 105 фигури, оригинални са и подчертават най-значимото от целта и задачите. Изводите и приносите са добре структурирани и формулирани. Това показва, че магистър Радослав Митков Рафаилов е изграден специалист- ветеринарен лекар със сериозни познания в областта на епизоотологията, патоморфологията, патологията, паразитологията, биохимията и молекулярната биология.


Обща оценка за съответствието на кандидата спрямо минималните задължителните изисквания според правилник за развитие на академичния състав в ЛТУ

Представеният от докторанта проект на дисертационен труд отговаря на изискванията на Правилника за развитие на академичния състав в Лесотехническия университет, и може да бъде представен за отпечатване.

Заключение:

Като член на научно жури в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4 Ветеринарна медицина, научна специалност "Паразитология и инвазионни болести на животните и човека", считам, че кандидатурата на докторант Радослав Митков Рафаилов в конкурса, обявен за ОНС „доктор” отговаря на правилника на ЛТУ на основата на ЗРАСРБ. Затова гласувам положително и пожелавам успех на докторанта.

гр. София
16.02.2024г.

С Уважение: 
доц., д-р Веселин Нанев