



ЛЕСОТЕХНИЧЕСКИ УНИВЕРСИТЕТ
ФАКУЛТЕТ „ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА“



РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по научна област 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност „Епизоотология, инфекциозни болести и профилактика на заразните заболявания по животните“

Автор на дисертационния труд: Красимира Желязкова Господинова, докторант в задочна форма на обучение към катедра „Ветеринарна микробиология, инфекциозни и паразитни болести“ при Тракийски университет, гр. Стара Загора.

Тема на дисертационния труд: „Диагностични изследвания при ерлихиоза и анаплазмоза по кучета в България“.

Член на научното жури: доц. д-р Роман Пепович, д-р от Катедра „Инфекциозна патология, хигиена, технология и контрол на храните от животински произход“ на Факултет „Ветеринарна медицина“ при Лесотехнически университет – София, съгласно Заповед № 318/02.02.2024 г. на Ректора на ТрУ.

1. Общо представяне на докторанта

Красимира Желязкова Господинова е родена на 17.04.1975 г. Завършва средното си образование в град Стара Загора, в Природо-математическа гимназия с профил „Биология и английски език“ през 1993 г. През 1998 г. се дипломира като магистър биолог в Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“, гр. Пловдив. След това работи като технически сътрудник, микробиолог и биолог във Ветеринарномедицинския факултет към Тракийския университет. През 2023 г. започва преподавателската си кариера, като асистент по имунология и функционална патология във ВМФ към ТрУ. Със заповед № 545/07.03.2018 г. на Ректора на ТрУ е зачислена в задочна докторантура по научна специалност „Епизоотология, инфекциозни болести и профилактика на заразните заболявания по животните“, с научен ръководител доц. д-р Владимир Петров. През 2023 г., със заповед № 673/02.03.2023 г. е направена промяна в темата на дисертационния труд и е определен за втори научен ръководител проф. д-р Илия Цачев. На 31.03.2023 г. със заповед № 1123 на Ректора на ТрУ е отчислена с право на защита. Докторантът владее английски език ниво B2 и има придобита педагогическа правоспособност.



2. Актуалност на разработвания проблем

Кучешките векторно-предавани болести представляват голяма група заболявания, предавани от членестоноги с разпространение в световен мащаб. Широка гама от бактериални, вирусни и паразитни агенти, които се предават чрез вектори, причиняват заболявания при кучетата, много от които могат да засегнат и хората и по този начин имат важен зоонозен потенциал. Бактериалните агенти, които се предават чрез вектори, в някои случаи се считат за по-малко важни от вирусните или паразитните агенти и не се обсъждат често във ветеринарномедицинската практика на домашните животни. Близкият контакт между домашните любимци и хора обаче предлага благоприятни условия за предаване на тези бактерии. Много от тези заболявания се превърнаха в обект на интерес за учените през последните години. Увеличаването на многообразието от резервоари, изменението на климата, променящата се структура на местообитанията, вносът на кучета, както и пътуванията, се считат за потенциални фактори за въвеждането на патогени и вектори в нови райони. Освен ветеринарния аспект на тези заболявания, домашните кучета могат да играят важна епидемиологична роля в предаването на бактериални агенти на хората, обстоятелство, което изисква „One Health“ подход. Всичко това изисква търсене на съвременни диагностични методи за ранно откриване на тези заболявания. Изхождайки от това приемам настоящата разработка за актуална и полезна за ветеринарномедицинската практика и наука.

3. Структура на дисертационния труд

Представеният дисертационен труд е написан на 157 стандартни страници и е онагледен с 24 таблици и 12 фигури. Той съдържа изискуемите при оформянето на такъв вид научни трудове раздели, като: Съдържание – 3 стр.; Използвани съкращения – 1 стр.; Увод – 2 стр.; Литературен обзор – 36 стр.; Цел и задачи – 1 стр.; Материал и методи – 16 стр.; Резултати – 22 стр.; Обсъждане – 31 стр.; Заключение – 2 стр.; Изводи – 2 стр.; Приноси – 1 стр.; Препоръки за практиката – 1 стр.; Публикации във връзка с проекта за дисертация и участия на научни форуми – 2 стр. и Литературен указател – 37 стр.

4. Литературна осведоменост

Литературния обзор съдържа голям обем добре подредена литературна информация, базирана на огромния брой от 292 литературни източници, от които 4 на кирилица и 288 на латиница, включващи известни изследователи работили по научния проблем. От последните 10 години са 97 източника (33%). Направена е пълна характеристика на трите рикетсиозни заболявания (Моноцитна ерлихиоза,



Гранулоцитна анаплазмоза и Циклична тромбоцитопения), което създава добра основа за разработването на поставената цел. Написан е на академичен и в същото време разбираем език, което позволява да се ползва както от научни работници, така и от практикуващи ветеринарни лекари. В периода 2006 - 2008 г., в нашата страна са правени скринингови сероепидемиологични проучвания върху Моноцитната ерлихиоза и Гранулоцитната анаплазмоза сред домашни и безпризорни кучета от проф. Цачев. До настоящия момент липсват изследвания, които да потвърждават или отхвърлят активна инфекция, чрез използването на съвременни молекулярно-биологични техники при серопозитивни кучета с клиничните признаци и хематологичните отклонения за МЕ и ГА, което поражда много въпроси. Като резултат от разработването на дисертационния труд се очаква да бъдат предложени и внедрени в практиката подобрени схеми за диагностика на Ерлихиозата и Анаплазмозата при кучетата. Това ми дава основание да заключа, че избраната тема на проучването е актуална, съвременна и значима.

5. Собствени изследвания

Целта, която авторът си поставя е правилно формулирана и задачите са адекватни за изпълнението ѝ. В раздела „Материали и методи“ са проведени комплексни изследвания, като са използвани клинични и параклинични методи за изследване на общия здравословен статус на кучетата. Приложени са, както рутинни клинични серологични тестове (SNAP® 4Dx® Plus) за детекция на специфични антитела, така и класически и съвременни лабораторни методи (индиректна имунофлуоресценция, ELISA и конвенционален PCR). Описанието на използваната методология е подробно и ясно, което позволява на интересующите се от проблема да ги използват като учебно ръководство. Приятно впечатление прави детайлната статистическа обработка на всички резултати, което потвърждава тяхната достоверност.

6. Резултати

Разделът съдържа достатъчен обем фактологичен материал. Резултатите са отразени в голям брой таблици и са илюстрирани с много фигури. Към настоящия момент няма диагностичен метод, при който отрицателния резултат да гарантира липсата на инфекция, свързана с представители на с. *Anaplasmataceae*. Това прави поставянето на дефинитивна диагноза истинско предизвикателство. Настоящото проучване подчертава ограниченията в диагностиката на разглежданите заболявания, чрез един метод и подкрепя необходимостта от последователното използването на извънлабораторни и лабораторни инструменти за откриване на активните инфекции с тези патогени. Авторът подчертават необходимостта от внимателна интерпретация на различните резултати от серологичните и PCR тестове. Много добро впечатление прави прецизното групиране на пациентите на



база съпоставяне на резултатите от PCR / серология / клинична картина / хематология / биохимия.

7. Обсъждане

В този раздел е направен задълбочен и компетентен анализ на получените собствени резултати с наличните данни от литературата, което придава на раздела необходимия характер на научна дискусия и подчертава уменията на докторанта да борави с научни факти. Докторантът показва добри умения към селектиране на изследвания, сравними с неговите и умение за анализ и обобщение. В края на тази част проекта за дисертация завършва с заключение, в което авторът прави съществени и значими разсъждения.

8. Изводи, Приноси и Препоръки за практиката

Получените резултати са обобщени в 10 извода. Формулирани са 4 приноси, включващи 3 с оригинален характер и 1 с потвърдителен характер. Направените препоръки за практиката са базата на извършения анализ и описаните резултати от изследването.

9. Оценка на личното участие и публикационната активност на докторанта

Представени са три публикации на английски език по темата на проекта за дисертация в реферирани и индексирани научни издания, като в тях докторантът е водещ автор, което приемам за доказателство за личното участие на докторанта в проведените изследвания, които са част от разработвания дисертационен труд. Резултатите от изследвания са представени от докторанта на три международни научни форума.

10. Автореферат

Представеният автореферат към дисертацията е в обем 52 страници, изготвен е според изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

11. Критични бележки и въпроси

С направените от мен бележки и препоръки, като член на разширения катедрен съвет при обсъждане на проекта за дисертация, докторантът се е съобразил и коригирал.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният дисертационен труд на тема: „Диагностични изследвания при ерлихиоза и анаплазмоза по кучета в България“ съдържа достатъчно оригинални и потвърдителни научни приноси, които обогатяват познанията ни за векторно-предаваемите инфекции при кучето. Като се вземат в предвид големия обем на извършените научни изследвания, получените оригинални резултати и тяхното популяризиране в реферирани научни издания, покриването на всички изисквания на ЗРАСРБ, Правилника за неговото приложение и Правилника за развитие на академичния състав в ТрУ ми дават основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Красимира Желязкова Господинова образователната и научна степен „доктор“ по научната специалност „Епизоотология, инфекциозни болести и профилактика на заразните заболявания по животните“.

20.03.2024 г.

Изготвил становището:

А А ЕН А А

/ доц. д-р Роман Пепович, д-р /



UNIVERSITY OF FORESTRY - SOFIA
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE



REVIEW

of a dissertation work for awarding the educational and scientific degree "Doctor" field of higher education 6. Agricultural sciences and veterinary medicine, professional field 6.4.

Veterinary medicine, in the scientific specialty "Epizootology, infectious diseases and prevention of infectious diseases in animals"

Author of the PhD thesis: Krasimira Zhelyazkova Gospodinova, PhD student in part-time study at the Department of "Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases" at Trakia University, Stara Zagora.

Title of the PhD thesis: "Diagnostic studies on ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs in Bulgaria".

Member of the scientific jury: Assoc. Prof. Roman Pepovich, DVM, PhD, from the department of „Infectious Pathology, Hygiene, Technology and Control of Foods from Animal Origin", Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, according to Order № 318/02.02.2024 of the Rector of Trakia University.

1. General presentation of the PhD student

Krasimira Zhelyazkova Gospodinova was born on 17.04.1975. She completed her secondary education in the city of Stara Zagora, at the High School of Mathematics and Natural Sciences with the profile "Biology and English" in 1993. In 1998 she graduated as a Master of Biology at the University of Plovdiv „Paisiy Hilendarski", Plovdiv. After that, she worked as a technical assistant, microbiologist and biologist at the Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University. In 2023, she began her teaching career as an assistant in immunology and functional pathology at the Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University. By order № 545/07.03.2018 of the Rector of Trakia University, she was enrolled in a part-time doctoral course in the scientific specialty "Epizootology, infectious diseases and prevention of infectious diseases in animals", with scientific supervisor Assoc. prof. Vladimir Petrov. In 2023, by order № 673/02.03.2023, a change was made in the topic of the dissertation work and Prof. Ilia Tsachev, DSc, was appointed as the second supervisor. On 31.03.2023, by order № 1123 of the Rector of Trakia University, she was dismissed with the right of defense. The PhD student is fluent in English at level B2 and has an acquired teaching qualification.



2. Actuality of the topic

Canine vector-borne diseases represent a large group of arthropod-borne diseases with a worldwide distribution. A wide range of vector-borne bacterial, viral and parasitic agents cause disease in dogs, many of which can also affect humans and thus have important zoonotic potential. Vector-borne bacterial agents are in some cases considered less important than viral or parasitic agents and are not often discussed in domestic animal veterinary practice. However, the close contact between pets and humans offers favorable conditions for the transmission of these bacteria. Many of these diseases have become an object of interest to scientists in recent years. Increasing reservoir diversity, climate change, changing habitat structure, importation of dogs, as well as travel are considered potential factors in the introduction of pathogens and vectors to new areas. Apart from the veterinary aspect of these diseases, domestic dogs can play an important epidemiological role in the transmission of bacterial agents to humans, a circumstance that calls for a "One Health" approach. All this requires the search for modern diagnostic methods for early detection of these diseases. Based on this, I consider the current development to be relevant and useful for veterinary medical practice and science.

3. Structure of the dissertation

The presented dissertation is written on 157 standard pages and illustrated with 24 tables and 12 figures. It contains the sections required for the preparation of this type of scientific work, such as: Table of contents - 3 pages; Abbreviations used - 1 page; Introduction - 2 pages; Literature review - 36 pages; Purpose and tasks - 1 page; Material and methods - 16 pages; Results - 22 pages; Discussion - 31 pages; Conclusion - 4 pages; Contributions - 1 page; Recommendations for practice - 1 page; Publications in connection with the dissertation and participation in scientific forums - 2 pages and Bibliography - 37 pages.

4. Literary awareness

The literature review contains a large volume of well-arranged literary information, based on the huge number of 292 literary sources, of which 4 in Cyrillic and 288 in Latin, including famous researchers who worked on the scientific problem. From the last 10 years, there are 97 sources (33%). A complete characterization of the three rickettsial diseases (Monocytic Ehrlichiosis, Granulocytic Anaplasmosis and Cyclic Thrombocytopenia) has been made, which creates a good basis for the development of the set objective. It is written in an academic and at the same time understandable language, which allows it to be used by both researchers and practicing veterinarians. In the period 2006 - 2008, screening seroepidemiological studies on Monocytic ehrlichiosis (ME) and Granulocytic anaplasmosis (GA) among domestic and stray dogs were carried



out in our country by Prof. Tsachev. To date, there is a lack of studies to confirm or rule out active infection using modern molecular biological techniques in seropositive dogs with the clinical signs and hematological abnormalities of ME and GA, which raises many questions. As a result of the development of the dissertation, it is expected that improved schemes for the diagnosis of Ehrlichiosis and Anaplasmosis in dogs will be proposed and implemented in practice. This gives me reason to conclude that the selected research topic is relevant, contemporary and significant.

5. Own Research

The goal set by the author is correctly formulated and the tasks are adequate for its implementation. In the "Materials and Methods" section, complex studies were conducted, using clinical and paraclinical methods to study the general health status of dogs. Both routine clinical serological tests (SNAP® 4Dx® Plus) for the detection of specific antibodies, as well as classic and modern laboratory methods (indirect immunofluorescence, ELISA and conventional PCR) were applied. The description of the methodology used is detailed and clear, allowing those interested in the problem to use them as a study guide. A pleasant impression is made by the detailed statistical processing of all results, which confirms their credibility.

6. Results

The section contains a sufficient volume of factual material. The results are reflected in a large number of tables and illustrated with many figures. Currently, there is no diagnostic method in which a negative result can guarantee the absence of infection associated with representatives of the *Anaplasmatacea* family. This makes making a definitive diagnosis a real challenge. The present study highlights the limitations in the diagnosis of the considered diseases by a single method and supports the need for the consistent use of non-laboratory and laboratory tools to detect active infections with these pathogens. The author emphasizes the need for careful interpretation of the different results of serological and PCR tests. A very good impression is made by the precise grouping of patients based on the comparison of the results of PCR / serology / clinical picture / hematology / biochemistry.

7. Discussion

In this section, a thorough and competent analysis of the obtained own results with the available data from the literature is made, which gives the section the necessary character of a scientific discussion and emphasizes the skills of the PhD student in handling scientific facts. The PhD student demonstrates good skills in selecting studies comparable to her own and in analyzing and summarizing. At the end of this part, the



dissertation project concludes with a conclusion in which the author makes substantial and significant reflections.

8. Conclusions, contributions and recommendations for practice

The obtained results are summarized in 10 conclusions. 4 contributions were formulated, including 3 of an original nature and 1 of a confirmatory nature. The recommendations for practice are based on the performed analysis and the described research results.

9. Evaluation of the personal participation and publication activity of the PhD student

There are three publications in English on the topic of the dissertation in refereed and indexed scientific publications, in which the PhD student is the lead author, which I take as evidence of the personal participation of the PhD student in the conducted research, which is part of the development of the dissertation. The research results were presented by the PhD student at three international scientific forums.

10. Abstract

The presented abstract for the dissertation is 52 pages long, prepared according to the requirements and reflects the main results achieved in the dissertation.

11. Critical notes and questions

With the notes and recommendations made by me, as a member of the extended departmental council when discussing the dissertation, the PhD student complied and corrected.

CONCLUSION

The presented dissertation on the topic: "Diagnostic studies on ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs in Bulgaria" contains enough original and confirmatory scientific contributions that enrich our knowledge of vector-borne infections in dogs. Taking into account the large volume of scientific research carried out, the original results obtained and their promotion in refereed scientific publications, the fulfillment of all the requirements of Law of development the academic staff of Republic of Bulgaria, its Rules, as well as



UNIVERSITY OF FORESTRY - SOFIA
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE



the Regulations for the development of the academic staff at the Trakia University give me reason to evaluate it **POSITIVELY**.

I take the liberty of proposing to the honorable Scientific Jury to also vote positively and award Krasimira Zhelyazkova Gospodinova the educational and scientific degree "Doctor" in the scientific specialty "Epizootology, infectious diseases and prevention of infectious diseases in animals".

20.03.2024 r.

Review prepared by:

Á Á ÉÁ Á

/ Assoc. Prof. Roman Pepovich, PhD /