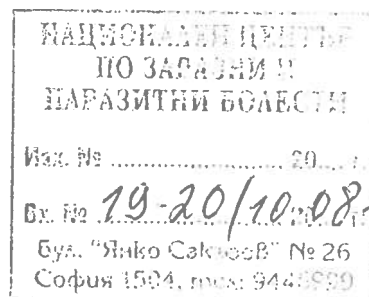


До  
Председателя на Научно жури  
Доц. д-р Димитър Шаламанов, дм  
НЦЗПБ  
Гр.София



## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Ани Кеворк Кеворкян, дм  
ръководител на катедра по Епидемиология и МБС,  
Медицински университет-Пловдив

относно

процедура за защита на дисертационен труд за придобиване на ОНС „доктор“  
в област на висше образование:

7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, по докторска програма “Епидемиология”, обявена съгласно Заповед №242/08.06.2023 г. на Директора на НЦЗПБ-София

Автор на дисертационния труд: **Надя Миткова Иванова- Александрова**

Тема: **„Проучване върху значението на птиците за трансмисионната динамика на Лаймската болест в България“**

Научен ръководител: **проф. д-р Ива Стефанова Христова, дмн**

### 1.Описание на представените документи и материали:

Представените документи и материали по процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ отговарят на изискванията на Правилника за прилагане на Закона за развитие на академичния състав в РБ (ЗРАСРБ) и Правилника за неговото прилагане в Националния център по заразни и паразитни болести, София, като предоставят доказателствен материал, необходим за провеждането ѝ. Нямам общи разработки с докторантката.

### 2.Представяне на докторанта (професионално и академично развитие):

Надя Миткова Иванова- Александрова е родена през 1979 г. в гр.Перник. След завършване на средно образование (Природо-математическа гимназия „Христо Смирненски“) в родния си град, защитава магистърска степен по Биология (2001 г.) към катедра „Зоология на гръбначните животни и антропология“ при Биологическия факултет на СУ ”Св.Климент Охридски“. Придобива специалност „Медицинска зоология“ в Медицинския университет в гр. София през 2006 г.

Кариерното развитие на докторантката започва в отдел „Епидемиология и ДЦД“, лаб. „Дезинсекция“ на НЦЗПБ-София през 2002 г., където след успешно издържан конкурс е назначена на длъжност научен сътрудник III-та степен. Без прекъсване, и до момента работи в НЦЗПБ, като от 2017 г. оглавява лаборатория “Медицинска арахноентомология и зоология с дезинсекция и дератизация“. Основните направления, в нейната дейност са свързани с определяне на видовия състав, разпространение и контрол на вектори и резервоари на заразни заболявания; ефективност на инсектициди и репеленти. В това си качество, участва в разработването на инструктивни материали към Министерството на здравеопазването. По линия на СДО е активен лектор в

организираните ежегодни курсове в НЦЗПБ за ръководители на ДДД дейности, както и в обучението на медицински и немедицински специалисти от страната.

Зачислена е като докторант на самостоятелна форма на обучение към Отдел „Епидемиология“ при НЦЗПБ, София (Заповед № 513/16.12.2019 г.) с тема на дисертационния труд „Проучване върху значението на птиците за трансмисионната динамика на Лаймската болест в България“.

Докторантката владее английски език, има добра компютърна грамотност. Впечатляваща е проектната ѝ дейност: участва в пет национални проекта (два приключили), два международни (един приключил) и една национална програма (приключила), от които три са пряко свързани с темата на разработения дисертационен труд. Членува в две научни организации в страната: Българската асоциация на микробиолозите (БАМ) и Българско научно дружество по Епидемиология на инфекциозните и неинфекциозните болести (БНДЕИНБ).

### **3. Актуалност на тематиката:**

Повече от четиридесет години след 1981 г., когато *W. Burgdorfer* в САЩ изолира и идентифицира *Borrelia burgdorferi* като причинител на Лаймската болест (ЛБ), и са публикувани над 6 000 научни статии, обхващащи клинични, епидемиологични и микробиологични аспекти на заболяването (*no данни на NIH, САЩ*), все още има области в познанието за тази инфекция, които нямат еднозначен отговор и изискват допълнителни проучвания. Такива са пълният набор от животински резервоари на инфекцията, директни данни за участието на птиците в циркулацията на *B. burgdorferi* s.l. с откриване на спирохети в птича кръв, детайлното взаимодействие в триадата (иксодови кърлежи, по-специално *Ixodes ricinus*, птици и патоген) в цикъла на разпространение на Лаймската болест, отразяващо тенденцията в динамиката на заразността при векторите и гостоприемниците в отделните региони при променящите се условия на външната среда и др. Не на последно място, Лаймската болест има водеща роля сред кърлежово-предаваните инфекции в умерените ширини на Северното полукълбо, включително и в България, за която липсват данни за проведени изследвания за откриване на борелии в кърлежи и кръв от птици, както и серологични такива.

От друга страна наблюдаваните в световен мащаб климатични промени, особено изразени през последните години, благоприятстват разпространението на вектори (комари и кърлежи) в нови територии, подпомогнато при кърлежите и от миграционните процеси при животни, особено при птиците. Примери за това са детекцията за първи път на иксодови кърлежи като *Hyalomma marginatum* в северни региони на Европа (*ECDC, 2018*), нарастващото разпространение на вируса на Западнонилската треска също в Европа и др.

Всичко това прави представената разработка, подкрепена с изключително богата теренна и лабораторна дейност, значима и актуална. Тя е не само опит да се отговори на част от дискусията върху въпроси, но има и приложна стойност, тъй като е пряко свързано с прогнозиране на честотата и тежестта на векторно-преносимите инфекции при хората.

### **4. Познаване на проблема:**

Цялостното впечатление от представената за рецензиране разработка е, че докторантката познава в дълбочина проблема - дискутира и анализира еднакво добре

отделни негови страни (диагностика, епидемиология, биологични цикли), както в частта „литературен обзор“, така и при собствените проучвания. За това способства и дългогодишния ѝ опит като специалист-биолог, работещ в сферата на медицинска арахноентомология и зоология, както и активното участие в значими програми и проекти по темата с подкрепата на научния си ръководител като: Национална програма за векторно-предавани трансмисивни инфекции при хората в РБ (2014 – 2018 г.), проекти на тема „Ролята на мигриращи и местни диви птици като резервоари на векторно-предавани инфекции при хората“ (конкурсна сесия за финансиране на фундаментални научни изследвания, 2019 г.) и „Prevention, anticipation and mitigation of tick-borne disease risk applying the DAMA protocol (PRAGMATICK)“.

##### **5. Характеристика и оценка на дисертационния труд/ автореферата, изводите и приносите:**

Дисертационният труд е представен върху 128 стандартни страници и е онагледен с 27 фигури, 18 таблици и 3 снимки с много добро качество. Структуриран е според общоприетите изисквания- въведение (3 стр.), литературен обзор (24 стр.), цел и задачи (1 стр.), материали и методи (10 стр.), резултати и обсъждане (62 стр.), изводи (2 стр.). Използваните литературни източници са 235 (23 на кирилица и 167 на латиница), от тях 75 от последните десет години, като цитираните заглавия имат непосредствено отношение към проучвания проблем.

Обзорът е прецизно фокусиран върху темата на дисертационния труд, поднесената информация е представена задълбочено, с насоченост към детайла и специфичната терминология, но същевременно достъпно и увлекателно, което показва високо ниво на познание и експертност в областта. Написан е в логична последователност: от класическите представи за биологичната и екологична характеристика на иксодовите кърлежи като цяло, през специфичните за *rod Ixodes* особености на хранене и неговата продължителност, копулация, трансстадийно предаване и рядко срещаното в природата трансвариално предаване на *B. burgdorferi*, до влиянието на абиотичните и биотичните фактори върху кърлежовата популация, определящо и ареалите на разпространение на ЛБ при човека и др. Отделено е особено внимание на птиците с фокус ЛБ: ролята има като разпространители на векторите на ЛБ и като резервоари на *B. burgdorferi s.l.* за идентификацията, на която са описани различни методи като ксенодиагностика и др. Интерес представлява описаната селективна трансмисия на *B. burgdorferi s.l.* чрез птици, т.е. свързването на трансмисионния цикъл на различни видове борелии с определени животни (птици).

В допълнение, докторантката е включила актуална информация за ролята на птиците за разпространението на Западнонилската треска (ЗНТ) и тяхното взаимодействие с друг вид вектори, каквито са комарите от *rod Culex*. Предоставените данни в обзора, насочват към необходимостта от интегриране на епидемиологичния надзор с ветеринарния такъв в контекста на подхода “One health” при зоонозните заболявания, каквито са ЛБ и ЗНТ.

Приемам, че така представения литературен обзор има и приложна стойност. Логично следвайки основните моменти в обзора е построена и частта - собствени проучвания в дисертацията.

Целта е формулирана ясно и конкретно, като за постигането ѝ са поставени пет

основни задачи (от които три с подзадачи), а именно: проучване на паразитирането на *I. ricinus* по диви птици в две области на България – София (столица) и Силистренска (защитена територия Калимок) чрез определяне на индекс на доминиране на *I. ricinus* сред видовете кърлежи, паразитиращи по птици; индекс на срещаемост и интензитет на опаразитяване на *I. ricinus* по птиците; проучване на разпространението на *B. burgdorferi s.l.* сред кърлежите *I. ricinus*, паразитиращи по птици; проучване на разпространението на *B. burgdorferi s.l.* сред гладни кърлежи *I. ricinus*, събрани от местата на улов на птиците; проучване разпространението на *B. burgdorferi s.l.* и вируса на ЗНТ сред диви птици чрез изследване на кръвни проби (с ELISA и PCR метод).

Частта „Материали и методи” е много добре структурирана с коректно описание на място, период на проучване, единици на наблюдение и дефиниране на показателите с епидемиологично значение по отношение на кърлежите, намерени по птиците като: *индекс на доминиране* – процентно съотношение на броя кърлежи от даден вид към общия брой кърлежи от всички видове; *индекс на срещаемост* (степен на опаразитяване при птиците) – процентно съотношение на броя опаразитени птици към общия брой уловени птици; *индекс на срещаемост на I. ricinus* – процентно съотношение на броя опаразитени с *I. ricinus* птици към общия брой уловени птици и *интензитет на опаразитяване* – среден брой кърлежи на отделен индивид птица.

Дисертационната работа е впечатляваща с общия брой уловени птици (общо 2 727 птици от 9 разреда и 80 вида) съвместно с водещото участие на орнитолози от ИБЕИ – БАН и след издаване на разрешителни от Министерството на околната среда и водите, както и с големия брой кърлежи - общо 589 кърлежа при 127 птици на 21 вида и от биотопи, които са определени до вид, пол и стадий на развитие. Използваната комбинация от молекулярно-генетични и серологични изследвания върху диагностиката на ЛБ (екстракция на ДНК от кърлежи, екстракция на ДНК от кръвни птичи проби, полимеразна верижна реакция (PCR) за откриване на ДНК на *B. burgdorferi s.l.* и ензим-свързан имуносорбентен анализ за наличие на антитела от клас IgG срещу причинителя в серумни проби от птици) и на ЗНТ ( екстракция на РНК от кръвни птичи проби, последващо приложение на Real time RT-PCR за откриване на РНК на вируса и ензим-свързан имуносорбентен анализ за наличие на антитела от клас IgG в серумните проби от птиците) е умело подбрана и гарантират високата достоверност и надеждност на изследванията, и съответно на направените изводи.

Частта „Резултати и обсъждане” е в обем 62 страници и е подчинена на поставените задачи. Прави впечатление задълбочения анализ и богатата дискусия. Получена е достоверна информация за разпространението на иксодовите кърлежи в периода 2010-2022 г., свалени от птици в два географски отдчлечени региона на страната, което допълва наличната към момента информация за ЛБ. *Ixodes ricinus* е установен като най-често срещан и доминиращ вид кърлеж (92%) по дивите птици (с превалиране в София) и с висок интензитет на опаразитяване. По-ниското опаразитяване с *Ixodes ricinus* в Калимок се свързва със специфичния ландшафт, видовия състав на изследваните птици, тяхната екология и поведение, като предпочитаните от тях територии не съвпадат с типичните биотопи на *I. ricinus*. Всички видове, различни от *I. ricinus*, които са изолирани в много ниски отнителни дялове като *Hyalomma marginatum*, *Haemaphysalis concinna*, *Haemaphysalis sulcata* и *Haemaphysalis punctata* са събрани от птици на

Калимок. Достоверно по-висок е намереният дял на свалените нимфите *I. ricinus* в сравнение с ларвната форма, като тази зависимост се запазва в двете места на пробонабиране. Определен е видовият състав на птиците, най-интензивно опаразитени с *Ixodes ricinus* и съответно имащи отношение към разпространението на ЛБ. Косът (*Turdus merula*) се откроява като най-често и интензивно опаразитяван и в двата района. Други видове гостоприемници, които допринасят за поддържането и разпространението на предимагиналните *Ixodes ricinus* форми са обикновената чинка (*Fringilla coelebs*), пойният дрозд (*Turdus philomelos*) и южният славей (*Luscinia megarhynchos*). С приложените лабораторни методи за детекция се потвърждава, че заразеност с *B. burgdorferi* се среща при кърлежи *Ixodes ricinus* от три вида дроздови птици – кос, поен дрозд и червеногръдка (*Erithacus rubecula*). Общото между тях е, че принадлежат към едно и също систематично семейство (Turdidae) и една от общите им характеристики е, че са наземнохранещи се. Допълнителната оценка посредством епидемиологичните показатели (индексите на доминиране, срещаемост и интензитет), както и откриването на заразени ларви *Ixodes ricinus*, определят косът (*Turdus merula*) като евентуален резервоар на Лаймска борелиоза в проучваните райони, особено в София (столица). Това се подкрепя косвено и от откриването на антитела срещу *B. burgdorferi* при птици от двата района.

Използването на събраните серумни проби от птици за тестване по отношение на вируса на Западнонилска треска е оправдано и добре обмислено, независимо, че няма пряка връзка с дисертационната тематика. Резултатите дават информация за тази комарийна вирусна зооноза с основен резервоар птици, при които инфекцията протича обичайно хронично, а данни за тях у нас липсват. Серологично вирусът на ЗНТ е установен в най-голяма степен отново при кос и при още два вида птици (голям синигер (*Parus major*) и обикновена чинка). Откриването на имунитет при млади птици, в годината на излюпването им, може да е показателно за съществуваща циркулация на ЗНТ между птиците и комарите през същия сезон. Познаването на видови състав на птиците, имащи водеща роля в циркулацията на ЗНТ като големият синигер и домашното врабче, може да послужи за използването им като сентинелни видове за ранно откриване на вируса.

На настоящия етап, подкрепено от наличните серологични данни за специфичен антителен отговор, може да се приеме, че Лаймската болест при птиците е значително по-често срещана, отколкото вируса на Западен Нил.

Направени са общо десет основни извода, които обобщават точно резултатите от проведените проучвания в дисертационния труд. Съгласна съм с направената самооценка от докторантката за приносите на разработката (5 приноси с оригинален характер, 4 с потвърдителен характер и 1 с научно-приложени характер). Ще се спра само върху оригиналните приноси:

1. Проведено е първото в страната целенасочено проучване върху ролята на дивите птици в разпространението на най-често предаваната с кърлежи трансмисивна инфекция в Европа – Лаймска болест.
2. За пръв път у нас векторът на Лаймска болест е доказан като доминантен вид кърлеж по дивите птици.
3. За пръв път у нас е доказана *B. burgdorferi* s.l. при ларви *I. ricinus* паразитиращи

по диви птици, с което се разширяват познанията върху способността на птиците да заразяват кърлежите или да служат като среда за заразяването им.

4. Сравнението между степента на заразеност с *B. burgdorferi* s.l. при кърлежите от птици и гладните кърлежи допринася за разбирането на епидемиологията на Лаймската болест на местно ниво.

5. За пръв път у нас е проведено насочено проучване върху над 300 индивида диви птици за установяване на ролята им в разпространението на болестта ЗНТ.

Представеният автореферат е написан на 56 страници и е с много добро оформление, достатъчно информативен и отразява съдържанието, основните резултати и приноси на дисертационния труд.

#### **6. Оценка на публикациите и участията в научни конференции/форуми по темата на доктората:**

Докторантката Надя Миткова-Александрова е приложила доказателствен материал за 3 пълнотекстови публикации на английски език по темата на дисертацията в рецензирани и реферирани научни списания в периода 2020-2022 г., съответно две във високоспециализираното издание на НЦЗПБ – „*Problems of Infectious and Parasitic Diseases*“ (през 2020 г. и 2021 г.) и една статия в реферирано и индексрано в Scopus и Web of science списание *Biologia (Poland)*, което е с импакт фактор ( $IF_{2022-1.5}$ ). В две от публикациите е първи автор, отразяващо способността ѝ да планира, ръководи, анализира и обобщава данни от проведени проучвания, включително на терен. Част от резултатите в дисертационния труд са представени и дискутирани пред широк кръг от специалисти, работещи в областта на заразните заболявания (епидемиолози, инфекционисти, микробиолози, имунолози) и общественото здраве. Доказателство за това са участието със седем доклада в общо пет престижни научни форума: два, организирани от Българската асоциация по микробиология (2021 г., 2022 г.); един, организиран от БНДЕИНБ (2022 г.) и два в чужбина (16th International conference on Lyme borreliosis and other Tick-borne diseases, Netherlands, 2022 и 15th International Symposium on Ticks and tick-borne Diseases, Germany, 2023). В допълнение към така представения доказателствен материал, искам да споделя и лични впечатления от докторантката, придобити на форуми, организирани от Българското научно дружество по епидемиология на инфекциозните и неинфекциозните болести (БНДЕИНБ), а именно лекотата и компетентността, с които Надя Миткова презентира. Смятам, че представените публикации и участия представят реално постиженията на докторанта и съдействат за популяризирането им сред научната общественост, както и за целите на приложната епидемиология.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

Докторантката Надя Миткова е изграден биолог с натрупан голям лабораторен, изследователски и преподавателски опит в областта на ентомологията, дезинфекцията, стерилизацията, дезинсекцията и дератизацията. Притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научната специалност „Епидемиология“, като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване. За това свидетелстват много добре структурираната, прецизно описана и анализирана експериментална част в разработката, както и натрупаният опит при определяне на видовия състав, разпространението и контрола на векторите на заразните заболявания, в

частност на кърлежовата популация.

Представеният дисертационен труд съдържа научно-теоретични и научно-приложни резултати с оригинален, приносен характер за страната и отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и специфичните изисквания, приети в правилника на НЦЗПБ - София.

Въз основа на изложеното, давам положителна оценка за проведеното изследване, представено от рецензираните дисертационен труд, автореферат и публикации, и предлагам на почитаемото научно жури да присъди ОНС „Доктор” на Надя Миткова Иванова -Александрова по докторска програма „Епидемиология“.

**Изготвил рецензията:**

**/проф.д-р Ани Кеворкян, дм/**

09.08.2023 г.

Пловдив