



СТАНОВИЩЕ

**от доц. д-р Румен Ненков Харизанов, дм – зам. директор на Национален Център по
Заразни и Паразитни Болести, София**

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'Доктор'

професионално направление: **7.1. Медицина.**
докторска програма: „**Медицинска биология**”

Автор: Петя Василева Драгомирова

Форма на докторантурата: редовна

**Катедра: „Анатомия, хистология, цитология и биология“ към Факултет
„Медицина“, МУ - Плевен**

**Тема: „Криптоспоридиоза – диагностични, експериментални и епидемиологични
проучвания“**

**Научни ръководители: проф. Даниела Клисарова, дб – МУ Плевен, доц. Нина
Цветкова, дб - Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, София**

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен /електронен носител е в съответствие със ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение, както и с чл. 34 и Приложение №2 на ПРАС на МУ-Плевен

По темата на дисертационния труд са представени три публикации в български издания в пълен текст, от които едно в издание реферирано и индексирано в световно известни бази данни (Web of Science). Представени са и четири участия в национални научни форуми проведени в България и в два научни проекта свързани с дисертационния труд.

2. Кратки биографични данни.

Петя Василева Драгомирова е родена на 06.04.1972 г. Дипломира се като магистър - учител по биология, учител по химия през 1996 г. в ПУ „Паисий Хилендарски” – гр. Пловдив. Работи последователно като учител по биология и химия в Брезник и Плевен. От 2008 г. е асистент към катедра "Анатомия, хистология, цитология и биология", МУ-Плевен. Придобива специалност по Медицинска биология през 2022 г. Зачислена на 11.05.2020 г. в редовна докторантура по докторска програма „Медицинска биология“.

3. Анализ на дисертационния труд.

Криптоспоридиозата е заболяване с глобално разпространение. Въпреки че броят на докладваните случаи на криптоспоридиоза в световен мащаб през последните години се е увеличил, редица литературни източници показват, че честотата на инфекцията вероятно е многократно по-висока от броя докладвани случаи. Разпространението на криптоспоридиозата е значително по-ниско в индустриализираните страни в сравнение с

развиващите се страни, поради социално-битови фактори свързани с качеството на питейната вода и наличието на канализация в населените места. Независимо че според нормативната уредба, в нашата страна, заболяването подлежи на задължителна регистрация и съобщаване, случаи на криптоспоридиоза при хора се регистрират спорадично. Това повдига съществени въпроси в две насоки – познанията на медицинските специалисти по отношение на етиологичния причинител и за заболяването от една страна и ефективността на методите за диагностика от друга.

В тази връзка, разработения в дисертационния труд проблем е особено актуален, както в научно, така и в научно-приложно отношение. Използването на съвременни методи за диагностика като полимеразна верижна реакция (PCR) и генотипиране на получените изолати чрез RFLP анализ, са иновативни и пионерни за страната.

Дисертантът познава отлично състоянието на проблема. Избраната методика на изследване позволява постигане на поставената цел и получаване на адекватен отговор на задачите решавани в дисертационния труд. В дисертационния труд е спазена класическата структура, включваща следните добре балансирани девет глави: въведение, литературен преглед, цел и задачи, собствени проучвания (материали и методи, резултати и обсъждане на резултатите), изводи, самооценка на приносите, книгопис, списък на публикациите по темата на дисертацията и приложения от 1 до 8.

В обзорната част представена на 40 страници е извършен обширен преглед на съвременното познание за етиологията, таксономията, биологията, епидемиологията, клиничната манифестация, диагностиката и лечението на криптоспоридиозата.

В проучването е включен контингент от 1258 лица на възраст от 4 месеца до 70 години, изследвани по клинични и/или епидемиологични показания, от които 1078 имунокомпетентни лица и 55 имунокомпрометирани с първичен или вторичен имунодефицит. Контролната група включва 125 клинично здрави деца и възрастни, без специфични симптоми за чревни паразитози. Освен това са изследвани и 107 проби от различни видове стопански животни (крави, кози, овце). Това дава голяма достоверност на получените резултати. Направен е много задълбочен епидемиологичен анализ на разпространението на криптоспоридиозата сред рискови контингенти от населението на Плевен и региона, както и се характеризира разпространението на криптоспоридиозата сред животни по възрастова и видова принадлежност в Плевенска област. Личните приноси на докторанта са представени много добре по отношение на диагностиката на това заболяване, определяне на рисковите контингенти и оценката на риска за заразяване сред тях. Получените резултати и изказаните тези са онагледени много добре с 64 фигури и 25 таблици.

Книгописът включва 397 източника, от които 55 на кирилица и 342 на латиница. Привидно малкият брой литературни източници на български език е обясним лесно със сравнително малкото проучвания на тази патология в България, и с това че немалка част от изследванията в последните години са публикувани в международни издания на латиница. Този факт допълнително доказва навременността и актуалността на дисертационния труд на Петя Драгомирова.

Авторефератът, като съдържание и качество е изготвен според изискванията и отразява основните резултати постигнати в дисертационния труд.

4. Приноси, публикации и значимост на дисертационния труд

Получените резултати и формулираните изводи и приноси са изцяло лична заслуга на дисертанта. Авторът формулира 11 извода, които са изведени от конкретно получените от проучването резултати и подчертават актуалността на изследванията и тяхната теоретична и приложна значимост.

Приемам приносите от самооценката на докторанта и смятам, че те отразяват обективно реалните му постижения. Направени са общо 10 приноса, от които шест с оригинален характер и четири приноса с приложен и потвърдителен характер. За първи път в България е извършено генотипиране на базата на RFLP анализ след проведен pPCR на изолати на *Cryptosporidium* spp. от фекални проби от хора и животни, които показват рестрикционни профили на *Cryptosporidium parvum*, идентични с тези на използвания референтен щам *Cryptosporidium parvum* Iowa II (генотип 2).

Представени са публикации, участия с доклади в научни прояви и в научни проекти във връзка с дисертационния труд, както следва:

- ✓ Публикации в чужди и български издания, които са реферирани и индексирани в световно известни бази данни (Scopus и Web of Science) – 1;
- ✓ Публикации в чужди и в български нереферирани списания с научно рецензиране или в редактирани сборници с публикации в пълен текст - 2;
- ✓ Участия в национални конгреси и конференции – 4;
- ✓ Участия в научни проекти във връзка с дисертационния труд - 2.

От представената авторска справка за съответствие с минималните национални изисквания става ясно че докторантката Петя Василева Драгомирова отговаря напълно на тях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научни, научно-приложни и потвърдителни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на МУ - Плевен.

Дисертационният труд показва, че докторантката Петя Василева Драгомирова **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Медицинска биология”, като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘доктор’** на Петя Василева Драгомирова в докторска програма по „Медицинска биология”.

06.01.2025 г.

Изготвил становището: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Доц. д-р Румен Харизанов, дм

(акад. дл., име и фамилия, н. ст.)

OPINION

by **Assoc. Prof. Dr Rumen Nenkov Harizanov, PhD - Deputy Director of the National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia**

Regarding: acquisition of educational and scientific degree "PhD"

Scientific speciality: "Medical Biology"

Professional direction: 7.1 Medicine

This statement is prepared according to the requirements of the Bulgarian Law for Development of the Academic Staff and the Rules of the Medical University of Pleven for the acquisition of an educational and scientific degree "PhD"

Author: Petya Vassileva Dragomirova

Form of the doctoral studies: full-time doctoral studies

Department: "Anatomy, Histology, Cytology and Biology" at the Faculty of Medicine, Medical University - Pleven

Topic: "Cryptosporidiosis - diagnostic, experimental and epidemiological studies".

Scientific supervisors: Prof. Daniela Klisarova, PhD - MU Pleven, Assoc. Prof. Nina Tsvetkova, PhD - National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

1. General presentation of the procedure and the doctoral candidate

The submitted set of materials on paper/electronic media is in accordance with the Law on the development of academic staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations for its implementation, as well as Article 34 and Annex 2 of the Regulations for the development of academic staff of MU-Pleven.

On the topic of the PhD Thesis, three publications in Bulgarian editions were presented in full text, one of them in a refereed edition indexed in world-known databases (Web of Science). Four participations in national scientific forums held in Bulgaria and in two scientific projects related to the dissertation are also presented.

2. Brief biographical information

Petya Vassileva Dragomirova was born on 06.04.1972. She graduated from the Paisii Hilendarski University - Plovdiv in 1996 with a Master's degree - teacher of biology and chemistry. He worked successively as a biology and chemistry teacher in Breznik and Pleven. Since 2008, he has been an assistant at the Department of Anatomy, Histology, Cytology and Biology, MU-Pleven. Acquired a degree in Medical Biology in 2022. Enrolled on 11.05.2020 in a regular PhD programme "Medical Biology".

3. Analysis of the PhD thesis.

Cryptosporidiosis is a disease with a global distribution. Although the number of reported cases of cryptosporidiosis has increased worldwide in recent years, a number of literature sources

indicate that the incidence of infection is probably many times higher than the number of reported cases. The prevalence of cryptosporidiosis is significantly lower in developed countries than in developing countries due to socio-economic factors related to the quality of drinking water and the availability of sanitation in human settlements. Although the disease is subject to mandatory registration and reporting in our country, cases of human cryptosporidiosis are only sporadically registered. This raises important questions in two directions - the knowledge of medical specialists about the etiological agent and the disease on the one hand, and the effectiveness of diagnostic methods on the other.

In this context, the problem developed in the dissertation is of particular scientific and applied relevance. The use of modern diagnostic methods such as polymerase chain reaction (PCR) and genotyping of the obtained isolates by RFLP analysis is innovative and pioneering for the country.

The doctoral candidate has an excellent knowledge of the state of the problem. The chosen research methodology allows to achieve the set objective and to provide an adequate answer to the problems addressed in the dissertation. The dissertation follows the classical structure with the following nine well-balanced chapters: introduction, literature review, aim and objectives, own research (materials and methods, results and discussion of the results), conclusions, self-evaluation of the contributions, bibliography, list of publications on the topic of the dissertation and appendices 1 to 8.

The 40-page review section provides a comprehensive overview of current knowledge on the etiology, taxonomy, biology, epidemiology, clinical presentation, diagnosis and treatment of cryptosporidiosis.

The study included a cohort of 1258 individuals between the ages of 4 months and 70 years who were screened for clinical and/or epidemiological indications, of whom 1078 were immunocompetent and 55 immunocompromised with primary or secondary immunodeficiency. The control group included 125 clinically healthy children and adults with no specific symptoms of intestinal parasitic infections. In addition, 107 samples from different species of farm animals (cows, goats, and sheep) were tested. This gives a high level of confidence in the results obtained. A thorough epidemiological analysis of the prevalence of cryptosporidiosis in at-risk populations in Pleven and the region has been carried out, as well as a characterisation of the prevalence of cryptosporidiosis in animals by age and species in the Pleven region. The personal contributions of the doctoral student are well presented in terms of the diagnosis of this disease, the identification of risk contingents and the assessment of the risk of infection among them. The results obtained and the hypotheses expressed are very well illustrated with 64 figures and 25 tables.

The bibliography contains 397 sources, 55 in Cyrillic and 342 in Latin. The seemingly small number of sources in Bulgarian is easily explained by the relatively small number of studies on this pathology in Bulgaria, and by the fact that a considerable amount of research in recent years has been published in Latin in international scientific journals. This fact further proves the timeliness and relevance of Petya Dragomirova's dissertation.

The abstract was prepared according to the requirements in terms of content and quality and reflects the main results achieved in the dissertation.

4. Contributions, publications and significance of the dissertation

The results obtained and the conclusions and contributions formulated are entirely the personal merit of the author. The author has formulated 11 conclusions, which are derived from the specific results of the study and highlight the relevance of the research and its theoretical and applied significance.

I accept the contributions of the doctoral candidate and believe that they objectively reflect her real achievements. A total of 10 contributions were made, of which six are original and four are applied and confirmatory. For the first time in Bulgaria, genotyping based on RFLP analysis after nPCR of *Cryptosporidium* spp. isolates from human and animal faecal samples were performed, showing restriction profiles of *Cryptosporidium parvum* identical to those of the used reference strain *Cryptosporidium parvum* Iowa II (genotype 2).

Publications, contributions to scientific events and scientific projects related to the dissertation are presented as follows:

- ✓ Publications in foreign and Bulgarian peer-reviewed journals, indexed in world-known databases (Scopus and Web of Science) - 1;
- ✓ Publications in foreign and Bulgarian non-refereed peer-reviewed journals or edited collections with full-text publications - 2;
- ✓ Participation in national congresses and conferences - 4;
- ✓ Participation in scientific projects related to the dissertation - 2.

From the author's reference of compliance with the minimum national requirements, it is clear that the doctoral candidate Petya Vassileva Dragomirova fully complies with them.

CONCLUSION

The dissertation contains scientific, applied, and confirmatory results that represent an original contribution to science and meet all the requirements of the Law on the development of academic staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for its implementation, and the Regulations of MU - Pleven.

The dissertation shows that the doctoral candidate Petya Vassileva Dragomirova possesses in-depth theoretical knowledge and professional skills in the scientific field of "Medical Biology", demonstrating qualities and abilities for independent scientific research.

Based on the above, I confidently give my positive assessment of the research conducted, presented in the above reviewed dissertation, abstract, achieved results and contributions, and I propose to the honorable scientific jury to award the educational and scientific degree of "Doctor" to Petya Vassileva Dragomirova in the PhD programme "Medical Biology".

06.01.2025 г.

Drafted the opinion: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Assoc. Prof. Rumen Nenkov Harizanov, MD, PhD