

**СТАНОВИЩЕ**

от доц. д-р Борислава Георгиева Чакърва, дм

Катедра „Хигиена, епидемиология, микробиология, паразитология и инфекциозни болести“  
Медицински факултет, Тракийски университет – Стара Загора

Заповед №3098/19.11.2020 г. на Ректора на Тракийски университет – Стара Загора

**Относно:** Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР“  
Област на висше образование: 6.0 Аграрни науки и ветеринарна медицина  
Професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина;  
Докторска програма: „Паразитология и инвазионни болести на животните и човека“;  
Форма на докторантурата: Самостоятелна подготовка  
Тракийски университет – Стара Загора, Ветеринарномедицински факултет, Катедра “Ветеринарна микробиология, инфекциозни и паразитни болести”, Секция “Паразитология и инвазионни болести”

**Автор:** Д-р Никола Стефанов Низамов

**Тема:** „ЕКТОПАРАЗИТНИ ЕНТОМОЗИ ПО КОЗИ – ВИДОВ СЪСТАВ НА ПРИЧИНИТЕЛИТЕ, КЛИНИКО-ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ И КОНТРОЛ“

**Научен ръководител:** Доц. д-р Петьо Неделчев Прелезов, дм

**Общо представяне на докторанта и процедурата**

Дисертантът д-р Никола Низамов е завършил средното си образование в Професионална гимназия по туризъм „Проф. д-р Асен Златаров“, гр. Бургас през 2006 и се дипломира с образователно-квалификационна степен „Магистър“ по специалността „Ветеринарен лекар“ във Ветеринарномедицински факултет при Тракийски университет – Стара Загора, през 2016 г. През 2017 г. започва трудовата си и научна кариера в същия университет и факултет като асистент в Катедра “Ветеринарна микробиология, инфекциозни и паразитни болести”, Секция “Паразитология и инвазионни болести”. Провел е следдипломни квалификации: „Педагогически курс“, „Защита и хуманно отношение към опитни животни, използвани за научни и образователни цели“, „Статистически софтуеър за обработка на данни“. Има участие в два научноизследователски проекта, финансирани от Тракийски университет – Стара Загора.

Д-р Низамов е зачислен в самостоятелна форма на докторантура през месец май, 2020 г., с тема на дисертационния труд: „Ектопаразитни ентомози по кози – видов състав на причинителите, клиничко-епидемиологични аспекти и контрол“ (Заповед №1101/12.05.2020 на Ректора на Тракийски университет – Стара Загора). През месец октомври, същата година е отчислен с право на защита (Заповед №. 2809/26.10.2020). Процедурата по предварително разглеждане на дисертационния труд е проведена на 12.11.2020 г. пред разширен съвет на Катедра “Ветеринарна микробиология, инфекциозни и паразитни болести” (Протокол №4/12.11.2020), като членовете единодушно приемат готовността му за защита.

Предоставените ми документи са внимателно комплектовани, съгласно чл. 48 от Правилника за приложение на ЗРАСРБ при Тракийски университет – Стара Загора.

### **Актуалност на проучваните проблеми**

Обстойни проучвания във ветеринарната медицина върху ентомозите в България са провеждани през последните 20 години на миналия и началото на настоящия век. Настъпилите значими социално-икономически поврати, глобалните климатични изменения и наложилите се заради тях житейски промени, провокират диренията в разнопосочни области на науката, с цел осъвременяване на познанията за тях. Отсъствието на актуални сведения, относно разпространението, популационното разнообразие на ектопаразитите при традиционно отглеждани у нас животни, е мотивирало д-р Низамов, да проведе под ръководството на научния си ръководител доц. д-р Прелезов проучвания върху ектопаразитните ентомози - фтираптероза и сифонаптероза при козите.

### **Обща характеристика и оценка на дисертационния труд**

Д-р Низамов умело стъпва върху известните вече факти относно широко разпространените в света ентомози (фтираптероза и сифонаптероза) по козите и надгражда с нови познания и собствени интерпретации. Характеризира техните причинители – въшки и бълхи, настъпилите, вследствие на опаразитяването патологични прояви, клинично-лабораторни промени и възможното инсектицидно третиране, с цел контрол на заразеността и заболяемостта. Авторът отбелязва, че „сумираните икономически загуби от фтираптеридите“, предизвикват патологични промени в гостоприемниците, често надхвърлящи тези при остро протичащите инфекциозни и паразитни заболявания.

Дисертационният труд е структуриран, съгласно изискванията, посочени в ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение в Тракийски университет – Стара Загора, чл. 45(2). Представен е в 178 страници и е онагледен с 38 таблици, 48 фигури - графики и снимков материал. Основните части в него са, както следва:

*Въведението* конкретно формулира актуалните акценти при ектопаразитните ентомози по козите в световен мащаб и в България. *Литературният обзор* е структуриран в 7 подраздела. В него ясно са дефинирани и обстойно са разгледани основните проблеми при най-често диагностицираните ентомози сред козите - фтираптерозата и сифонаптерозата. Балансирано са цитирани съвременни и с историческа значимост научни публикации, дисертационни трудове, енциклопедии, документи. Главата „*Собствени изследвания*“ съдържа 5 раздела. Получените резултати и обсъждането им са в 8 подраздела. Ползваните *литературни източници* съставляват 289 заглавия, от които 20 – на кирилица, 269 - на латиница. Съвременни публикации, след 2000 година са 131 (45%).

*Целите* на дисертационния труд са да се уточни видовия състав и разпространението на ектопаразитните насекоми по козите от различните райони на България и да се представи подробна информация за тяхната морфология, популационна структура и специфична локализация, както и по-важните особености в епидемиологията, патогенезата и клиниката на причиняваните от тях ентомози. За постигането на целите, авторът си е поставил за реализиране 10 задачи.

В материал и методи е посочено, че за двегодишен период (2018 и 2019 години) са проучени 34 стопанства от 27 селища в 16 области на България. Броят на изследваните кози са 4599 от осем породи, естествено инвазирани с паразитни насекоми. Животните са изследвани по клинични показания - по обръщаемост на стопаните на фермите. Приложените методите за идентифициране на ектопаразитите са рутинни в ентомологията. От въшките и бълхите са приготвяни трайни микроскопски препарати, които са микроскопирани и идентифицирани. За определяне на систематичната принадлежност, вида и пола на насекомите са използвани биометрични показатели и критерии, дадени в редица определители и трудове. За установяване на популяционната структура на трите вида въшки, авторът се позовава на препоръките на Kumar et al. (1994). Използвани са познати методи за определяне на типа, интензитета и екстензитета на инвазията с въшки и бълхи, както и тяхната топографска локализация и сезонна динамика. Използван е анкетен метод при собственика на всяко от стадата, включващ въпроси: брой животни в стадото, биологични показатели на козите, начин на отглеждане и хранене, терен и климатична зона, възможността за контакт с животни от друг вид и други ферми, ветеринарномедицинско обслужване, минали заболявания, опаразитявания, инсектицидни третираня. Клиничната характеристика при кози, опаразитени с въшки и бълхи е интерпретирана според предложената от Christodouloupoulos et al. (2003) система за оценка. Микробиологично са изследвани екто- и ендобактериалната микрофлора на въшките и бълхите. В клинично-лабораторните изследвания в динамика са проследени цитохематологичните и биохимични промени при опаразитените кози. Проведени са по схема инсектицидни третираня с ivermectin, eprinomectin и amitraz и е отчетена ефективността им като форма на контрол на фтираптерозата по козите.

За статистическа обработка на резултатите са използвани честотен, дисперсионен, корелационен,  $\chi^2$  – анализи и стандартните методи на дескриптивната статистика на IBM® SPSS® Statistics 26.0 (SPSS Statistics, 2019) и Excel 2016.

В резултат на проучванията, авторът идентифицира до вид, пол и степен на развитие общо 5681 насекоми от естествено инвазирани кози, които се отнасят към 6 систематични вида – 2 от подразред Anoplura, 1 от подразред Ischnocera на разред Phthiraptera, 1 от разред Siphonaptera и 2 от разред Diptera: (1) *Linognathus stenopsis* (Burmeister, 1838) е преобладаващ вид и (2) *Linognathus africanus* (Kellog and Paine, 1911) от подразред Anoplura, (3) *Bovicola caprae* (Gurlt, 1843) от подразред Ischnocera, (4) *Pulex irritans* (Linnaeus, 1758) от разред Siphonaptera, (5) *Hippobosca equina* (Linnaeus, 1758) и (6) *Lipoptena cervi* (Linnaeus, 1758) от разред Diptera. Изследователят констатира, че при климатичните условия на България линогнатозата и бовиколозата по козите имат ясно изразена зимна сезонност.

От ектобактериалната микрофлора на въшките и бълхите, паразитиращи по козите в България, се изолират предимно Грам-положителни бактерии, представители на родовете *Streptococcus*, *Staphylococcus* и *Corynebacterim* и спорообразуващи бактерии от р. *Clostridium* и р. *Bacillus*. Ендобактериалната микрофлора на насекомите е представена от родовете *Streptococcus*, *Staphylococcus*. Дисертантът установява по-висока опаразитеност с въшки и бълхи сред младите козите от женски пол, в лоша кондиция.

Най-често регистрираните клинични симптоми при фтираптероза и сифонаптероза на козите са: безпокойство, чесане и търкане в околни предмети. Клинико-лабораторните отклонения са нормоцитна хипохромна анемия при опаразитяване с кръвосмучещи въшки; левкоцитоза при опаразитяване с хапещи въшки; хиперпротеинемия и хипералбуминемия при инвазия с *Bovicola caprae* и хипоферимия при инвазия с *Linognathus stenopsis*.

Авторът потвърждава, че препаратите ivermectin, ергиномектин и amitraz са високо ефективни в борбата с фтираптерозата по козите.

Авторефератът към дисертацията е в обем от 35 страници, с 16 таблици, 12 фигури и резюме на английски език и коректно отразява основните раздели в научноизследователския труд.

### **Приноси и значимост на дисертационния труд за науката и практиката**

Доказването на *Pulex irritans* по козите у нас, специфичен паразит и за човека и вектор на *Yersinia pestis* е особено обезпокояващ факт, предвид съществуващите в света все още чумни огнища и миграционните вълни на хора от рискови зони. Това предполага провеждане на здравно-просветни мероприятия сред собствениците на стада и сред животновъдите, както и засилени превантивни мерки при закупуването на вносни животни и формиране на стада.

*Изводите*, които авторът е формулирал са 9, а приносите - 11, от които 3 са оценени като оригинални, тъй като за първи път по козите в България са идентифицирани видовете *Linognathus africanus*, *Pulex irritans* (бълха, специфична и за човека), *Lipoptena cervi*; проучена е и екто- и ендомикрофлората при смучещи и хапещи въшки по козите

Направени са 8 препоръки за практиката с цел превенция и профилактика на опаразитяванията с ектопаразити при козите.

### **Преценка на публикациите по дисертационния труд**

Като публикации, свързани с дисертационния труд д-р Низамов е представил 3 научни статии: 2 – в Tradition and modernity in veterinary medicine и 1 – под печат – в Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. Те отразяват резултатите от извършените проучвания. Приложени са и 3 участия в конференции в България. В 3 от публикациите и участията в научни форуми д-р Низамов е първи автор, което показва активно участие в изпълнението на задачите, включени в дисертационния труд и критичен подход към проблематиката.

### **Заклучение:**

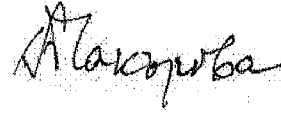
Дисертационният труд показва, че докторантът д-р Никола Стефанов Низамов притежава необходимите теоретични знания и професионални умения по научната специалност „Паразитология и инвазионни болести на животните и човека“, като демонстрира много добри умения и организаторски качества за самостоятелно провеждане на научно изследване. Последната житейска роля на изискващия и последователен в делата си научен ръководител, доцент д-р Петьо Прелезов, е явна и неподражаема и ще остане запомнена с благодарност.

Предвид гореизложеното убедено давам своята ПОЛОЖИТЕЛНА оценка за представените за рецензиране: дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси и предлагам на уважаемото научно жури да присъди, образователната и научна степен „ДОКТОР“, на Д-р Никола

Стефанов Низамов, в докторска програма „Паразитология и инвазионни болести на животните и човека“; Област на висше образование: 6.0 Аграрни науки и ветеринарна медицина;  
Професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина

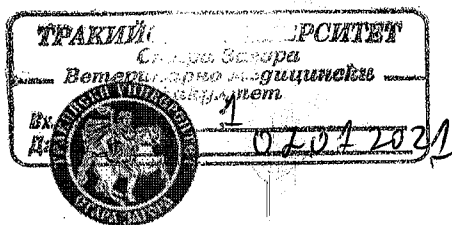
21.12.2020

Изготвил становището:



Гр. Стара Загора

Доц. д-р Борислава Георгиева Чакрова, дм



## TRAKIA UNIVERSITY – STARA ZAGORA

### OPINION

by Assoc.prof. Borislava Georgieva Chakarove, MD, PhD

Department of Hygiene, epidemiology, microbiology, parasitology and infectious diseases”

Medical Faculty, Trakia University – Stara Zagora

Order No. 3098/19 Nov 2020 of the Rector of Trakia University – Stara Zagora

Concerning: Dissertation paper for awarding **PhD** educational and scientific degree

Field of higher education: 6.0 Agrarian sciences and veterinary medicine

Professional area: 6.4. Veterinary medicine;

PhD programme: „Parasitology and invasive diseases in animals and humans“;

Type of PhD studies: Independent form of education

Trakia University – Stara Zagora, Faculty of Veterinary medicine, Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, Section of Parasitology and Invasive Diseases

**Author: Dr. Nikola Stefanov Nizamov**

**Topic: „ECTOPARASITIC ENTOMOSES IN GOATS – SPECIES COMPOSITION OF CAUSATIVE AGENTS, CLINICAL EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS AND CONTROL”**

**Scientific supervisor: Assoc. prof. Petyo Nedelchev Prelezov, DVM, PhD**

#### **Overall presentation of the PhD student and the procedure**

The PhD student Dr. Nikola Nizamov completed his secondary education at the Professional High School in Tourism “Prof. Dr. Asen Zlatarov”, Burgas in 2006 and graduated with a Master's degree in Veterinary Medicine at the Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University - Stara Zagora, in 2016. In 2017 he began his working and scientific career at the same university and faculty as an assistant professor in the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, Section of Parasitology and Invasive Diseases. He has completed postgraduate qualifications: "Pedagogical course", "Protection and welfare of experimental animals used for scientific and educational purposes", Statistical software for data processing. He has participated in two research projects funded by Trakia University - Stara Zagora.

Dr. Nizamov was enrolled in an independent form of PhD studies in May, 2020, with topic of the dissertation paper: "**Ectoparasitic entomoses in goats - species composition of the causative agents, clinical and epidemiological aspects and control**" (Order No.1101/12 May 2020 of the Rector of Trakia University - Stara Zagora). In October of the same year he was deregistered with the right to defense (Order No.2809/26 Oct 2020). The procedure for preliminary discussion of the dissertation paper was held on 12 Nov 2020 before an extended council of the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases (Record No.4/12 Nov 2020), and the members unanimously accepted his readiness for defense.

The documents submitted to me have been carefully compiled, in compliance with to Art. 48 of the Rules for application of the Law on development of academic staff in the Republic of Bulgaria at Trakia University - Stara Zagora.

## Relevance of the studied issues

Extensive research in veterinary medicine on entomoses in Bulgaria has been conducted in the last 20 years of the last and the beginning of the present century. The significant socio-economic upheavals, the global climate changes and the life changes imposed by them, provoke the search in various fields of science, in order to update the knowledge about them. The lack of up-to-date information on the distribution, population diversity of ectoparasites in animals traditionally bred in our country has motivated Dr. Nizamov to conduct research on ectoparasitic entomoses - phthirapterosis and siphonapterosis under the guidance of his scientific supervisor Assoc.prof. Prelezov, PhD. .

## Overall characteristics and assessment of the dissertation paper

Dr. Nizamov skilfully builds upon the already known facts about entomoses widespread in the world (phthirapterosis and siphonapterosis) in goats and develops new knowledge and his own interpretations. He characterizes their causative agents - lice and fleas, the pathological manifestations that have occurred as a result of the parasitism, clinical and clinical laboratory changes and the possible insecticide treatment in order to control the infection and morbidity. The author notes that "summed economic losses from phthirapterides" cause pathological changes in hosts, often exceeding those in acute infectious and parasitic diseases.

The dissertation paper is structured according to the requirements specified in the Law on development of academic staff in the Republic of Bulgaria and the Rules for its application at Trakia University - Stara Zagora, Art. 45 (2). It comprises 178 pages and is illustrated with 38 tables, 48 figures - graphics and photos. The main parts in it are as follows:

The *introduction* specifically formulates the current highlights of ectoparasitic entomoses in goats worldwide and in Bulgaria. The *literature review* is structured in 7 subsections. It clearly defines and thoroughly discusses the main problems in the most commonly diagnosed entomoses among goats - phthirapterosis and siphonapterosis. Contemporary and historically significant scientific publications, dissertation papers, encyclopedias, documents are quoted in a balanced way. The chapter "Own research" contains 5 sections. The obtained results and their discussion are in 8 subsections. The literature sources used consist of 289 titles, of which 20 - in the Cyrillic alphabet, 269 - in the Latin alphabet. Modern publications after 2000 are 131 (45%).

The *objectives* of the dissertation paper are to specify the species composition and distribution of ectoparasitic insects in goats from different regions in Bulgaria and to present detailed scientific information about their morphology, population structure and specific localization, as well as the most important features in epidemiology, pathogenesis and clinics of the entomoses caused by them. To achieve the objectives, the author has set 10 tasks to solve.

The *material and methods* state that for a two-year period (2018 and 2019) 34 farms from 27 settlements in 16 regions of Bulgaria were studied. The number of goats tested was 4599 of eight breeds naturally infested with parasitic insects. The animals were examined by clinical indications – by reference of farm owners. The applied methods for identification of ectoparasites are routine in entomology. From lice and fleas, durable microscopic preparations have been prepared, which have been microscopied and identified. Biometric indicators and criteria given in a number of determinants and papers were used to determine the systematic affiliation, species and sex of insects. To establish the population structure of the

three species of lice, the author refers to the recommendations of Kumar et al. (1994). Known methods have been used to determine the type, intensity and extensity of lice and flea infestation, as well as their topographic location and seasonal dynamics. A survey method was used with the owner of each of the herds, including questions: number of animals in the herd, biological indicators of goats, way of breeding and feeding, terrain and climatic zone, possibility of contact with animals of other species and other farms, veterinary medical care, past diseases, infestations, insecticide treatments. The clinical characteristics in goats infested with lice and fleas was interpreted as proposed by Christodouloupoulos et al. (2003) evaluation system. The ecto- and endobacterial microflora of lice and fleas were studied microbiologically. In the clinical laboratory studies, the cytohematological and biochemical changes in the infested goats were observed in dynamics. Insecticide treatments with ivermectin, eprinomectin and amitraz were carried out according to a scheme and their effectiveness was reported as a form of control of goat phthirapterosis.

Frequency, dispersion, correlation,  $\chi^2$  - analyses and standard methods of descriptive statistics of IBM® SPSS® Statistics 26.0 (SPSS Statistics, 2019) and Excel 2016 were used for statistical processing of the results.

As a result of the research, the author identified by species, sex and stage of development a total of 5681 insects from naturally infested goats, which belong to 6 systematic species - 2 of suborder Anoplura, 1 of suborder Ischnocera of order Phthiraptera, 1 of order Siphonaptera and 2 of order Diptera: (1) *Linognathus stenopsis* (Burmeister, 1838) is the predominant species and (2) *Linognathus africanus* (Kellog and Paine, 1911) of suborder Anoplura, (3) *Bovicola caprae* (Gurlt, 1843) of suborder Ischnocera, (4) *Pulex irritans* (Linnaeus, 1758) of order Siphonaptera, (5) *Hippobosca equina* (Linnaeus, 1758) and (6) *Lipoptena cervi* (Linnaeus, 1758) of order Diptera. The researcher found that under the climatic conditions of Bulgaria linognathosis and bovicolosis in goats have a clear winter seasonality.

From the ectobacterial microflora of lice and fleas parasitizing in goats in Bulgaria, mainly Gram-positive bacteria, representatives of the genera *Streptococcus*, *Staphylococcus* and *Corynebacterium* and spore-forming bacteria from genera *Clostridium* and genera *Bacillus* have been isolated. The endobacterial microflora of insects is represented by the genera *Streptococcus*, *Staphylococcus*. The PhD student found higher infestation rate with lice and fleas among young female goats, in poor condition.

The most commonly reported clinical symptoms of goat phthirapterosis and siphonapterosis are: restlessness, scratching and rubbing in nearby objects. Clinical laboratory abnormalities are normocytic hypochromic anaemia in infestation with blood-sucking lice; leukocytosis in infestation with biting lice; hyperproteinemia and hyperalbuminemia on *Bovicola caprae* invasion and hypoferraemia on *Linognathus stenopsis* invasion.

The author confirms that ivermectin, eprinomectin and amitraz are highly effective in combating goat phthirapterosis.

The **self-abstract** to the dissertation paper is 35 pages long, with 16 tables, 12 figures and a summary in English and correctly reflects the main sections of the scientific research work.

### **Contributions and significance of the thesis for the science and practice**

The confirmation of *Pulex irritans* in goats in our country, a specific parasite for humans and a vector of *Yersinia pestis* is a particularly disturbing fact, given the still existing plague outbreaks in the



world and the migration waves of people from risk areas. This suggests conducting health and educational activities among herd owners and breeders, as well as enhanced preventive measures in the purchase of imported animals and the formation of herds.

The *conclusions* formulated by the author are 9, and the contributions - 11, of which 3 are rated as original, as for the first time in goats in Bulgaria the species *Linognathus africanus*, *Pulex irritans* (flea, specific for humans), *Lipoptena cervi* have been identified; the ecto- and endomicroflora in sucking and biting lice in goats has also been studied

A total of 8 *recommendations for the practice* have been made for the purpose of prevention and prevention of infestations with ectoparasites in goats.

### **Overview of the publications on the dissertation paper**

As publications related to the dissertation paper, Dr. Nizamov has presented 3 scientific articles: 2 - in Tradition and modernity in veterinary medicine and 1 - under print - in the Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. They reflect the results of the studies performed. Three participations in conferences in Bulgaria are also attached. In 3 of the publications and participations in scientific forums Dr. Nizamov is the first author, which shows active participation in the implementation of the tasks included in the dissertation paper and a critical approach to the issues.

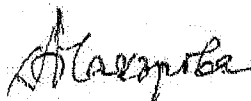
### **Conclusion:**

The dissertation work shows that the PhD student Dr. Nikola Stefanov Nizamov has the necessary theoretical knowledge and professional skills in the scientific specialty "Parasitology and invasive diseases in animals and humans", demonstrating very good skills and organizational qualities for independent research. The last life role of the demanding and consistent in his work scientific supervisor, Associate professor Dr. Petyo Prelezov, is obvious and unparalleled and will be remembered with gratitude.

In view of the above, I confidently give my POSITIVE assessment of the submitted for review: dissertation paper, self-abstract, achieved results and contributions and propose to the esteemed scientific jury to award the PhD educational and scientific degree to Dr. Nikola Stefanov Nizamov, in the PhD programme "Parasitology and invasive diseases in animals and humans"; Field of higher education: 6.0 Agrarian sciences and veterinary medicine; Professional area: 6.4. Veterinary medicine.

21 Dec 2020

Opinion prepared by:



Town of Stara Zagora

Assoc.prof. Borislava Georgieva Chakarova, MD, PhD