

**В) КРАТКО ОПИСАНИЕ (СПРАВКА) НА НАЙ-ВАЖНИТЕ ПОСТИЖЕНИЯ НА КАНДИДАТА ПРОФ С СТОЕВ И ТЯХНОТО ЗНАЧЕНИЕ ЗА РАЗВИТИЕТО НА НАУКАТА И КУЛТУРАТА И/ИЛИ ЗА МАТЕРИАЛНОТО И/ИЛИ ДУХОВНОТО ОБОГАТЯВАНЕ НА БЪЛГАРСКИЯ НАРОД И БЪЛГАРСКАТА ДЪРЖАВА И ЗА ИЗДИГАНЕ ПРЕСТИЖА НА БЪЛГАРСКАТА НАУКА (МАРКИРАНИТЕ В СИВО СА ПРЕЗ ПОСЛЕДНИТЕ 5 ГОДИНИ):**

Научните ми интереси са в областта на патологията на интоксикациите, микотоксикозите и паразитните заболявания и по специално микотоксичната нефропатия. В областта на тази тематика съм спечелил 4 конкурса за изследователски проекти към фонд Научни изследвания – Министерство на образованието, науката и технологиите (МОНТ). В областта на същата тематика съм спечелил също много университетски и **14 международни проекти и имам над 10 специализации в чужбина, а също съм участвал в организационния комитет на 47 международни конференции и конгреси само за последните 5 години (вкл. написване “Welcome message” на някои от тях – виж приложение 51)** и съм **член на около 60 редколегии на международни списания**. Най-важните ми постижения в тази област са:

1. Доказана е хипотезата за мулти-микотоксичната природа (вкл. микотоксините Охратоксин А, Фумонизин В1, Пеницилинова киселина и все още неидентифициран микотоксин на който засега е установено само молекулното тегло, но не и химичната формула) на проблемното заболяване Ендемична Нефропатия при животни и хора, разпространено всред много балкански страни, като България, Сърбия, Румъния, Хърватска и др.

2. Направена е рискова оценка и са предложени възможните хигиенни и профилактични мерки, които трябва да се предприемат за предотвратяването на подлагането на животни и хора на токсичното въздействие на различните микотоксини.

3. Доказано е въздействието и опасността от маскираните микотоксини, както и опасността от поемане на определени рискови комбинации от микотоксини дори в концентрации под пределно допустимите, както това става в реалната практика.

**[горните 3 достижения са извършени по:** 1. Съвместен изследователски проект между България и Англия, финансиран от Кралската асоциация в Лондон (Joint Project Grant - Reg. Ch. No 207043, Ref. FSU/CEE/JP) със заглавие: "Fungal nephrotoxins in porcine renal disease in

Bulgaria" (1997-2000) на стойност 5310 паунда (ръководител на проекта от Българска страна – проф. С Стоев - **виж приложение 69**); **2. Проект на НАТО (2000) между България и Франция** на стойност 100 000 франка, относно проучвания върху хигиенната преценка и възможните генотоксични промени в бъбреците на свине и птици изхранвани с ОТА-контаминирани фуражи в концентрации, кореспондиращи на тези в практиката (**виж приложение 70**); **3. Четири Национални изследователски проекти с международно участие към фонд Научни изследвания (МОНТ):** дог. СС273 (1992-1995), дог. СС449 (1994-1997), дог. Л414 (1994-1997) и дог. СС1003 (2001-2003) – всички с международно участие на изследователи от 4 страни, визиращи диагностиката, профилактиката, хигиенни и предпазни мерки при микотоксичната нефропатия по селскостопанските животни, птици и хора с оглед общественото здравеопазване (**виж приложение 68**); **4. Участие в международен изследователски проект “Munkatervy”** - сключен трудов договор между University of Kaposvar (7400 Kaposvar, Guba Sandor str. 40, представен от Prof. д-р Szavai Ferenc, rector) и Проф Стойчо Димитров Стоев за периода 14 Юни 2012 до 22 Ноември 2012 и 08-15 Ноември 2015 (в рамките на Европейски проект ТАМОР - 4,2,1 В-10/2/ KON V-2010-0002 с тематика “Effect of mycotoxins on organ and cellular level - training and research work” (**виж приложения 76, 97, 100 и 101**); **5. Международен проект “Marie Curie Outgoing International Fellowship”** към 6-та рамкова програма спечелен от кандидата – 2 години в Южна Африка и една година в България (2006-2009) на стойност **184,968 евро** със заглавие: “An expected multicausal nature of spontaneous animal and human nephropathy in Bulgaria and South Africa (проект 18674 CAUSE KIDNEY DAMAGE). Проектта включва проучвания относно причините за нефропатии при птици, свине и хора в България и Южна Африка. Той е първият финансиран от Европейската Комисия проект в Африка и бе избран за стратегически такъв (виж стр 104-105 на eStrategies Projects). Проектът е отличен от Европейската Комисия като един от 7те най-успешни Marie Curie проекти в световен мащаб и бе включен в изданията на Европейската Комисия “Вдъхновяващи Изследователи” и “Face to Face”. Проектът също е отличен от Европейската Комисия като **ПЪРВИ СТРАТЕГИЧЕСКИ ПРОЕКТ НА ЕВРОПА ЗАЗДРАВЯВАЩ ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИТЕ ВРЪЗКИ МЕЖДУ ЕВРОПА И АФРИКА** (виж стр 264-267 на Inspiring Researchers: [http://ec.europa.eu/assets/eac/msca/documents/documentation/publications/inspiring\\_researchers\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/assets/eac/msca/documents/documentation/publications/inspiring_researchers_en.pdf) и стр 42 на “Face to Face” <http://ec.europa.eu/assets/eac/msca/documents/documentation/publications/eu-marie-curie-actions-fellowships-face-to-face-publication-portraits.pdf> (**виж приложения 71, 72, 73, 74, 105, 106, 107 и 108**).

4. Предложени са някои промени в Европейските нормативни документи, които засега отчитат само токсичното въздействие и риска от приемане на индивидуални микотоксини (вкл. техните пределно допустими концентрации – ПДК в различните храни за хора и животни), но не и многократно по-силния токсичен ефект на същите тези микотоксини, когато бъдат приети заедно (в определени опасни комбинации, като тази между охратоксин А и Пеницилинова Киселина или между Охратоксин А и Фумонизин В1 – както това става в практиката) дори и в концентрации под пределно допустимите, поради тяхното синергистично взаимодействие помежду им (*извършено по:* европейските проекти по бта и 7ма рамкови програми, в т.ч.: MOIF – 018674 и HERBAL PROTECTION – PIRSES 316067) и впоследствие публикувани (Stoev, 2023, 2024a,c).

5. Открити са някои практични способи за безопасно оползотворяване на фуражи контаминирани с микотоксини, посредством прибавяне на някои фуражни добавки, вкл. билкови екстракти и/или самите билки в определени концентрации към изхранвания фураж и предотвратяване на загубите от понижено телесно тегло на птиците/животните, както и евентуален брак на месо и месни продукти, а също и брак на контаминирани с микотоксини фуражи и фуражни продукти (*извършено по:* европейски проект по 7ма рамкова програма HERBAL PROTECTION – PIRSES 316067) и впоследствие публикувани (Stoev et al, 2019, 2021a,b; Stoev, 2023, 2024a,c).

6. Доказано е антимикробиялното, антиоксидативното, органопротективното (хепатопротективно действие на *Silybum marianum*, *Withania somnifera* и *Glycyrrhiza glabra*, както и нефропротективно действие на *Silybum marianum* и *Tinospora cordifolia*) и силното имуностимулиращо въздействие (в т.ч. на билките *Silybum marianum* и *Withania somnifera*) върху животни и птици на някои индийски и/или южноафрикански и/или български билки приемани в определени концентрации с изхранвания фураж (вкл. бял трън - *Silybum marianum*, жен-шен или ашвагандата - *Withania somnifera*, азиатско хидрокотиле, азиатска центела или готу кола – *Centella asiatica*, женско биле или ликорис - *Glycyrrhiza glabra* и гудучи - *Tinospora cordifolia*) (отчетени 2017 г. по европейски проект HERBAL PROTECTION – PIRSES 316067) [*извършено по* спечелен от мен втори Marie Curie проект на стойност 189,000 Евро по 7ма рамкова програма за научни изследвания и обмен на научен изследователски кадри между Тракийски Университет (България), University of Johannesburg (Южна Африка), Rhodes University (Южна Африка), Defence Research and Development Organization към Министерството на Отбраната (Индия) и University of Kaposvar (Унгария) със заглавие “Studies on some herbal additives giving partial protection against toxic or immunosuppressive effects of some mycotoxins and improving wound granulation“ – HERBAL PROTECTION (PIRSES-GA-2012-316067 – координатор на проекта – проф. С. Стоев) (2013-2016)

## **НЯКОИ ПО-ВАЖНИ КОНКРЕТНИ ОРИГИНАЛНИ НАУЧНИ ПРИНОСИ КЪМ СВЕТОВНАТА НАУКА**

### **(МАРКИРАНИТЕ В СИВО СА ПРЕЗ ПОСЛЕДНИТЕ 5 ГОДИНИ);**

1. Установени са честотата, продължителността, разпространението на микотоксична нефропатия при различни селскостопански животни в България (Stoev et al, 1998a; Stoev et al, 2002a);
2. Направено е сравнение между микотоксичната нефропатия при свинете в България и Южна Африка, което показва, че бъбреците от спонтанните случаи на нефропатия по свине в България могат да бъдат разделени на 5 отделни групи (“пъстри”, “големи мраморирани”, “големи бели”, “цистозни” и “фиброзни” бъбреци), които илюстрират прогресивните етапи на развитие на болестта, докато бъбреците от спонтанни случаи на нефропатия в Южна Африка показват макроскопски модел, характерен само за първите три групи от направената класификация (Stoev et al, 2010a,b);
3. Установено е, че спонтанната нефропатия в България, която се наблюдава често по време на кланичния месопреглед и която се различава морфологично от класическото описание на микотоксичната нефропатия по свине и птици, както е направено в Дания, има мулти-микотоксична етиология и се провокира предимно от комбинирания ефект на ОТА – охратоксин А, РА – пеницилинова киселина и FB1 – фумонизин B1 в допълнение към все още неидентифициран метаболит с мол. т. 390.27 701 (Stoev et al, 2010a);
4. Установено е, че спонтанната нефропатия при свинете, наблюдавана в Южна Африка, също има мулти-микотоксична етиология, включваща същите микотоксини: ОТА – охратоксин А, РА – пеницилинова киселина и FB1 – фумонизин B1 (Stoev et al, 2010b);
5. Установено е пълно патоморфологично, биохимично и токсикологично (ниски контаминационни нива на ОТА) сходство между микотоксичната нефропатия при свинете и Балканската ендемична нефропатия при хората (Stoev, 1998; Stoev, 2008, 2017).
6. Направена е рискова оценка и е установена реалната опасност от едновременното подлагане на ниски концентрации от ОТА и няколко други микотоксина при животни и хора, както това става в условията на практиката (Stoev and Denev, 2013; Stoev, 2013, 2015, 2017, 2023, 2024a,b,c)
7. Установени са типичните ранни патоморфологични, ултраструктурни и биохимични промени при микотоксичната нефропатия при различни животни и птици, които дават възможност за ранна диагностика на заболяването (Stoev et al, 1998a,b,c, 2002a);

8. Различните неопластични промени, уголемяването на хилусните бъбречни лимфни възли, значителното уголемяване и мраморирано или бледо оцветяване на бъбреците, както и цистозните и/или фиброзни промени в бъбреците, васкуларните лезии, интрануклеарните включения, интрамитохондриалните миелиноподобни фигури при микотоксичната нефропатия в България са напълно различни и не се срещат при класическата микотоксична нефропатия в останалите страни и вероятно се дължат до голяма степен на нефротоксични метаболити, различни от ОТА (Stoev et al, 1998a, 2002a) или на синергично взаимодействие между ОТА и други микотоксини като пеницилова киселина, фумонизин В1 и цитрин;

9. Установен е силен синергистичен ефект между ОТА и РА, както и между ОТА, FB1 и СІТ в серия от "in vivo" и "in vitro" експерименталните изследвания (Stoev et al, 2001, 2004, 2009, 2012, Stoev, 2011, 2020);

10. Установен е нов и още неизвестен микотоксин и е определено неговото молекулно тегло (390.27 701), като е установено, че този микотоксин контаминира много храни за хора и животни в Южна Африка, Конго и България и има силно токсично действие върху човешки лимфоцити определено чрез МТТ assay (Stoev et al, 2009, 2010a; Njobeh et al, 2009a,b)

10. Установена е силна имуносупресия върху хуморалния и клетъчния имунен отговор и избухване на секундарни бактериални инфекции при прасета и птици, хранени с контаминиран с ОТА фураж (Stoev et al, 2000a,b).

11. Установено е по-тежко протичане и повишена смъртност при кокцидиозата на тънките и слепите черва при птици и пуйки изхранвани с фураж контаминиран с ОТА (Koynarski et al, 2007a,b; Stoev et al, 2002b)

12. Установено е силно тератогенно и канцерогенно действие на ОТА при мишки, плъхове и птици, хранени с контаминиран ОТА фураж и са определени честотата, броя и вида на индуцираните тумори и малформации (Stoev, 2015, 2016, 2010a, 2020, 2021, 2022a,b);

13. Установени са общо 22 вида неоплазии (14 злокачествени и 8 доброкачествени) при мишки от линията Balb/c третирани с 10 ppm ОТА и 50-60 ppm ПК (пеницилинова киселина) за експериментален период от 20 месеца, Установен е достоверен канцерогенен ефект на ОТА върху черния дроб, бъбреците, червата, мускулите и подкожната тъкан при мишки (Stoev, 2020). Доказано е, че броят на неоплазиите е значително по-висок при мишките третирани едновременно с ОТА и РА (14), в сравнение с тези при мишките, третирани само с ОТА (8). Установен е силен синергичен ефект между ОТА и РА по отношение на туморогенезата. Установена е по-силна чувствителност на

мъжките мишки в сравнение с женските по отношение на канцерогенното действие на ОТА (Stoev, 2020).

14. Установено е силно канцерогенно действие на ОТА върху черния дроб, бъбреците, червата, белите дробове и очите на плъхове порода Wistar третирани с 10 ppm и 5 ppm ОТА в храната за експериментален период от 24 месеца. Установени са силни дегенеративни промени и лек перикапиларен оток в повечето вътрешни органи, в т.ч.. бъбреци, черен дроб, черва, далак и мозък. Установена е по-голяма чувствителност на мъжките плъхове в сравнение с женските към канцерогенното действие на ОТА (Stoev, 2021)

15. Установен е силен протективен ефект на фенилаланин по отношение на токсичното и канцерогенното действие на ОТА при плъхове (Stoev, 2021) и при птици (Stoev, 2010a).

16. Плъховете, мишките и птиците не могат да служат като експериментален модел за хората по отношение на индуцираната от ОТА туморогенеза и токсични промени, тъй като прицелния орган на ОТА-токсичност при хората и свинете са бъбреците, за разлика от мишките (Stoev, 2020), плъховете (Stoev, 2021) и птиците (Stoev, 2010a), където ОТА предизвиква значителните токсични увреждания и канцерогенни ефекти в редица други органи.

17. Установени са и някои способности за безопасното използване на контаминирани с ОТА фуражи, за да се намалят загубите на промишлените стопанства от намаляване на прирастта и яйценосенето и да се избегне бракуването на такива фуражи (Stoev, 2010b, Stoev et al, 2002d) - установен е реален протективен ефект за следните фуражни добавки: воден екстракт от артишок, сусамово семе, Roxazyme-G и фенилаланин срещу подтискащия ефект на ОТА върху яйценосенето при кокошки носачки (Stoev et al, 1999, 2002d; Stoev, 2010b),

18. Установен е реален протективен ефект за следните фуражни добавки: воден екстракт от артишок, сусамово семе, Roxazyme-G, Rosallsat и фенилаланин срещу имуносупресивното, канцерогенното и токсичното действие на ОТА (Stoev, 2010a,b, 2021; Stoev et al, 2000a, 2002d);

19. Направена е оценка на риска и са препоръчани конкретни високоефективни превантивни мерки за предотвратяване подлагането на животни и хора на токсичното, имуносупресивното и канцерогенното действие на ОТА (Stoev, 1998, 2008, 2013, 2015, 2016, 2017, 2023, 2024a,b,c);

20. Установени са типичните ранни патоморфологични, ултраструктурни и биохимични промени при интоксикации с тежки метали (кадмий, олово, живак) при овце, които дават възможност за ранно диагностициране (Stoev and Lazarova, 1998, 1999; Stoev et al, 1997, 1998e 2003);

21. Доказан е протективния ефект на Glycyrrhiza Glabra и nano-Silymarin срещу гама и UV радиация (Agarwal et al, 2015; Arora et al, 2015)

22. Установен е силен протективен ефект на билките Бял трън (*Silybum marianum*), Индийски Женшен (Ашваганда - *Withania somnifera*) и Азиатско хидрокортиле (азиатска центела или готу кола - *Centella asiatica*) срещу предизвиканите от ОТА супресия на хуморалния имунен отговор, понижаване на живото тегло и дистрофични промени във вътрешните органи при пилета бройлери. Хепатопротективния ефект е най-силен при Белия трън Ашвагандата, докато нефропротективния ефект е най-добре изразен при Белия трън (Stoev et al, 2019).

23. Белия трън и Ашвагандата имат силно имуностимулиращо и антиоксидативно действие при птици (Stoev et al, 2019).

24. Установен е силен протективен ефект на индийските билки *Tinospora cordifolia* (Гудучи) и *Glycyrrhiza glabra* (Сладък корен, Женско биле, Ликорис) срещу предизвиканите от ОТА супресия на хуморалния имунен отговор, понижаване на живото тегло и дистрофични промени във вътрешните органи при пилета бройлери. Протективния ефект на *Glycyrrhiza glabra* е най-силен срещу хепатотоксичното действие на ОТА, а *Tinospora cordifolia* притежава най-силно нефропротективно действие и протективно действие върху функцията на костния мозък при птици (Stoev et al, 2021a).

25. Доказано е протективното действие на билков екстракт от *Tinospora cordifolia* срещу предизвикания от ОТА оксидативен стрес и оксидативни промени в клетки от далак и бели кръвни клетки (Karamalakova et al, 2016, 2018)

26. Определени билки прибавени към изхранваните фуражи при птици в концентрации: *Centella asiatica* (4600 ppm или 350 mg/kg ж.т.); *Withania somnifera* (4000 ppm или 300 mg/kg ж.т.); *Silybum marianum* (1100 ppm или 80 mg/kg ж.т.); *Tinospora cordifolia* (4000 ppm или 300 mg/kg ж.т.) и *Glycyrrhiza glabra* (6600 ppm или 500 mg/kg ж.т.) могат да се използват за осъществяване на протекция срещу предизвиканите от ОТА дистрофични и тегловни промени във вътрешните органи, понижаване на живото тегло и срещу имуносупресивно действие на този токсин при птици (Stoev et al, 2019, 2021a,b).

27. Установено е, че съдържанието на микотоксина FB1 в изхранвания фураж може да утежни протичането на пнеумония при прасета, причинена от *P. multocida* и *Mycoplasma hyopneumoniae* (Posa et al, 2013, 2016; Kovac et al, 2016);

28. Направена е оценка на безопасността на храните и опасността от възникване на някои микотоксикози при животни и хора, причинени от изхранвания фураж и/или храни контаминирани с определени микотоксини в концентрации често срещани в практиката (Stoev, 2013, 2015, 2016, 2017, 2023, 2024a,b,c);

29. Установен е потенциалния и реален риск от приемането на такива храни, контаминирани с определени микотоксини (Stoev, 2013, 2015, 2016, 2017, 2023, 2024a,b,c);

30. Представени са някои нови доказателства за съществуването на нова анатомична съдова примоваскуларна система (primo vascular system – PVS), които представляват липсващото звено в научното обяснение на механизма на действие на акупунктурата. Поставени са на дискусия в световната медицинска общност някои важни въпроси, като “Коя е причината за недоверието на западната медицина към източната (ориенталска) медицина”, “Реална ли е примоваскуларна система и как и кога става нейното формиране и функциониране”, “Кои са научните доказателства за съществуването на примоваскуларната система и нейната връзка с меридианната система” (Stefanov et al, 2020).

31. Предложени са някои възможности за използване на PVS за разработка на някои иновативни терапии за лечение на някои заболявания, в т.ч. фармакопунктурата като начин на въвеждане в организма на някои лекарства, който съчетава акупунктурната терапия и инокулиране на фармакологични препарати в определени акупунктурни точки) (Stefanov et al, 2020).

32. Установен е силен протективен ефект на билковия екстракт Силимарин срещу токсичното действие на ОТА върху имунния отговор (Denev et al, 2020), биохимичните и хистологичните промени (Stoev et al, 2021b).

33. Установено е реално подценяване на опасността от маскираните микотоксини и комбинираното микотоксично и канцерогенно действие върху различните вътрешните органи и имунната система при някои видове животни, птици и хора (Stoev, 2013, 2015, 2016, 2017, 2020, 2023, 2024a,b,c) и т.н.



## СПРАВКА ЗА НАУЧНИТЕ ПРИНОСИ ПО НАУЧНИ ОБЛАСТИ

**(МАРКИРАНИТЕ В СИВО СА ПРЕЗ ПОСЛЕДНИТЕ 5 ГОДИНИ);**

на проф. д-мн Стойчо Димитров Стоев, р-л кат. "Обща и клинична патология" на ВМФ при Тракийски университет, гр. Ст. Загора.

Научните трудове от изследователската ми дейност в областта на патологията на микотоксикозите и интоксикациите по домашните животни могат да се отнесат към следните по-важни направления в тази област: **Научни трудове върху спонтанни случаи на микотоксична нефропатия при свине; Научни трудове върху експериментални случаи на микотоксична нефропатия при свине; Научни трудове върху необходимите хигиенни и профилактични мерки при микотоксична нефропатия при някои микотоксикози; Научни трудове върху възможната роля на охратоксин А като етиологичен агент на Балканската ендемична нефропатия при хората; Научни трудове върху клиноморфологични проучвания при отравяния с тежки метали; Научни трудове върху клиноморфологични проучвания при отравяния с недоброкачествени фуражи при риби; Научни трудове върху някои други отравяния и акушерогинекологични заболявания; Научни трудове върху клиноморфологични проучвания при микотоксична нефропатия при птици; Научни трудове върху необходимите хигиенни и профилактични мерки при микотоксична нефропатия при птици; Научни трудове върху необходимите антидотни мерки при микотоксична нефропатия при птици; Научни трудове върху имуносупресивното действие на охратоксин А при свине и птици; Научни трудове върху канцерогенния и тератогенен ефект на ОТА при плъхове, мишки и птици; Научни трудове във връзка с проучвания върху съществуването на нова анатомична съдова примоваскуларна система (pvs); Научни трудове във връзка с проучванията върху подценената опасност и риска от комбинирания микотоксичен ефект и маскираните микотоксини върху животни и хора; Научни трудове във връзка с проучванията върху рисковата оценка за здравето на животни и хора подложени на токсичното действие на микотоксините и възможните профилактични мерки и регулации на риска.**

Приложените научни трудове дават следните по-важни приноси и препоръки в областта на патологията на микотоксикозите и интоксикациите:

### **I.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ МИКОТОКСИЧНАТА НЕФРОПАТИЯ ПРИ СВИНЕ**

1. Установена е причината за наблюдаваните напоследък масови нефропатии и изоставане в прирастта при свинете у нас - контаминирането на фуражите с нефротоксичния микотоксин охратоксин А (ОТА). Установените концентрации на ОТА в спонтанно оплесенените фуражи, кръвта и бъбреците на прасетата от неблагоприятни по отношение на микотоксична нефропатия (МН) са в състояние да предизвикат нефропатия - оригинален принос (Stoev et al, 1998a,b,c).
2. Установена е сезонна динамика в проявяването на микотоксичната нефропатия при свине (МНС) и в съдържанието на ОТА в серума на свине от неблагоприятните по отношение на МНС стопанства. Най-силно разпространение на МНС се установява след влажни и дъждовни периоди, предимно през пролетно-летния сезон, когато се установяват и най-високите серумни концентрации на ОТА - оригинален принос (Stoev et al, 1998b,c).
3. Старите и неправилно съхранени фуражи съдържат по-високи контаминационни нива на ОТА - потвърдителен принос (Stoev et al, 1998a,b,c).
4. Макроскопските промени в бъбреците предизвикани от ОТА не изчезват след като животните преустановят изхранването на контаминирания с ОТА фураж, поради което токсина не се установява в бъбреците на всички животни показващи типични за МНС промени - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1998a,b,c; Stoev, 2017).
5. Не всички животни от едно и също стопанство, хранени с един и същи фураж показват промени в бъбреците характерни за МНС - потвърдителен принос (Stoev et al, 1998a).
6. ОТА не се намира в кръвта на всички свине от едно и също стопанство, поради различията в контаминирането с ОТА на отделни места на дори една и съща партида фураж - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1998a,b,c; Stoev et al, 2010a,b).
7. Основната част от ОТА се елиминира от кръвта, бъбреците и останалите тъкани за около 1 седмица след преустановяване на изхранването на контаминирания с ОТА фураж - оригинален принос (Stoev et al, 1998a,b,c; Stoev et al, 2010a,b; Stoev, 2017).
8. Оплесеният фураж довежда до силно изоставане в прираста на свине дори и при сравнително ниски концентрации на ОТА - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1998a,b,c; Stoev et al, 2010a,b).
9. Оплесенените фуражи, съдържащи ОТА и пеницилинова киселина, могат да причинят типичните за МНС макроскопски промени в бъбреците при по-ниски концентрации на ОТА от общоустановените минимални концентрации (200 ppb) предизвикващи нефропатия при свине, поради синергизмът между двата токсина - оригинален принос (Stoev et al, 2001).

10. Установени са концентрациите на ОТА във фуража под които заболяването протича безсимптомно и времето необходимо за да се развият типичните за МНС параклинични и морфологични промени след появата на които става възможна диагнозата на заболяването. Типичните за МНС морфологични промени се развиват след тримесечен период на изхранване с фураж съдържащ най-малко 180 ppb ОТА. Концентрации по-ниски от тази не предизвикват макроскопски видими лезии в бъбреците - оригинален принос (Stoev et al, 2001).

11. Проучени са типичните патоморфологични промени даващи възможност за поставяне на диагноза на МНС. Основните патоморфологични промени при ранните стадии на МНС са: зърнеста и хиалинна дистрофия в епитела на проксималните тубули на бъбреците, моноклеарна инфилтрация и съединителнотъканна клетъчна пролиферация в интерстициума. В по-късните стадии се установява фиброзиране на съединителната тъкан, атрофия на каналчетата, поява на ретенционни цисти, атрофия, хиалинизиране и склероза в гломерулите - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1998a,b; Stoev et al, 2010a,b; Stoev, 2017).

12. Направена е за пръв път класификация на промените в бъбреците при МНС на базата на външния им вид и на динамиката в развитието на патологичния процес въз основа на изследваните голям брой спонтанни случаи. Бъбреците при МНС могат да се класифицират в 5 отделни групи: пъстър (петнист) бъбрек; голям мрамориран (петнист) бъбрек; голям бял бъбрек; цистозен бъбрек; фиброзен (сбръчкан) бъбрек - оригинален принос (Stoev et al, 1998a).

13. Установена е причината за по-силните пролиферативни процеси във вентралната страна на бъбреците при МНС - по-силната лимфна стаза в тази част на бъбреците - оригинален принос (Stoev et al, 1998a; Stoev et al, 2010a).

14. За пръв път при по-напредналите случаи на МНС се установяват: продуктивни и дистрофични процеси в съдовата система на бъбреците; повишаване пропускливостта на кръвоносните капиляри и поява на лимфатични разширения - оригинален принос (Stoev et al, 1998a; Stoev et al, 2010a; Stoev, 2017).

15. За пръв път са установени продуктивен и фиброзиращ лимфаденит в регионалните бъбречни лимфни възли при МНС - оригинален принос (Stoev et al, 1998a).

16. За пръв път е установено, че изхранването на оплесенен фураж съдържащ ОТА може да доведе до неопластични разраствания в бъбреците (аденома, фиброма, фиброаденома) предимно при по-възрастни свине с МН - оригинален принос (Stoev et al, 1998a).

17. Пораженията, които причинява ОТА в останалите вътрешни органи са слаби, наблюдават се само в по-тежките случаи на МНС и нямат диагностично значение - потвърдителен принос (Stoev et al, 1998a; Stoev et al, 2010a).

18. Установени са типичните ранни промени в ултраструктурата на бъбреците имащи отношение към диагностиката на МНС: тежки първични увреждания в митохондриите и различните липопротеидни структури на клетъчните органели в епитела на проксималните тубули, водещи до смъртта на клетките. В по-късните етапи се наблюдават удебеляване на базалната мембрана на каналчетата и увеличаване на депозита от колаген в интерстициума - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1998b).

19. При част от спонтанните и експерименталните случаи на МНС са установени за пръв път интрануклеарни включения и интрамитохондриални миелиноподобни фигури и включения в епитела на проксималните тубули на бъбреците - оригинален принос (Stoev et al, 1998b).

20. Пряка и ранна информация за увреждане на бъбречната функция при МНС дават: полиурията; повишените серумни нива на креатинина, уреята и остатъчния (небелтъчен) азот; глюкозурията и протеинурията; пониженото относително тегло и повишения органичен седимент в урината; повишената ензимна активност на LAP и  $\gamma$ GT в урината. Имуносупресията предшества бъбречните увреждания, които се регистрират чрез споменатите биохимични показатели най-рано след 14 дневно третиране с 3 ppm ОТА или след 42-дневно третиране с 1 ppm ОТА. Тези показатели позволяват ранно поставяне на диагноза при МНС - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1998c, 1999)

21. Други хематологични и биохимични показатели даващи косвени указания за МНС са: понижаването на серумния холестерол, серумните концентрации на фосфора и калия, общия серумен белтък и серумните фракции на  $\alpha_1$  глобулините и  $\beta$  глобулините; повишените серумни нива на K и Na; повишаването на серумната ензимната активност на ASAT, ALAT, Ald и AlkPh; GLDH; повишеното прекисно окисление на мембранните липиди; леката анемия, лимфоцитоза, еозинофилия и сегментоядрена неутропения; лекостепенната метаболитна ацидоза; повишеното pH на урината - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1998c, 1999).

22. Лекостепенна декомпенсирана метаболитна ацидоза съпровожда експериментално предизвиканата МНС, а след възстановителен период от 1 месец се развива декомпенсирана респираторна ацидоза - оригинален принос (Stoev et al, 2001, 2002c)..

23. Установява се пълно сходство в морфологичната, ултраструктурната и параклиничната находка при експерименталната МНС, предизвикана от изхранване на оплесенени фуражи

съдържащи ОТА в концентрации кореспондиращи на установените в практиката и по-леките случаи на спонтанна МНС в България - оригинален принос (Stoevet al, 1998a,b,c, 2001, 2017).

24. Направено е сравнение между микотоксичната нефропатия при свинете в България и Южна Африка, което показва, че бъбреците от спонтанните случаи на нефропатия по свине в Южна Африка показват макроскопски модел, характерен само за първите три групи от направената класификация в България (Stoev et al, 2010a,b);

25. Установено бе, че спонтанната нефропатия в България се различава морфологично от класическото описание на микотоксичната нефропатия по свине и птици, има мулти-микотоксична природа и се провокира от комбинирания ефект на ОТА – охратоксин А, РА – пеницилинова киселина и FB1 – фумонизин В1 и нов микотоксин с определено молекулно тегло, но с все още неопределен химичен строеж - оригинален принос (Stoev et al, 2010a);

26. Установен е нов и още неизвестен микотоксин и е определено неговото молекулно тегло от 390.27 701, като е установено, че този микотоксин контаминира много храни за хора и животни в Южна Африка, Конго и България и има силно токсично действие върху човешки лимфоцити определено чрез МТТ assay - оригинален принос (Stoev et al, 2009, 2010a; Njobeh et al, 2009a,b)

27. Установено е, че спонтанната нефропатия при свинете в Южна Африка има мулти-микотоксична етиология подобна на тази разпространена в България (Stoev et al, 2010b);

28. Доказано е, че неоплазиите в бъбреците, уголемяването на хилусните бъбречни лимфни възли, значителното уголемяване и мраморирано оцветяване на бъбреците, както и цистозните и/или фиброзни промени в бъбреците, васкуларните лезии, интрануклеарните включения, интрамитохондриалните миелиноподобни фигури при микотоксичната нефропатия в България са напълно различни и не се срещат при класическата микотоксична нефропатия в останалите страни и вероятно се дължат до голяма степен на нефротоксични метаболити, различни от ОТА и на синергично взаимодействие между ОТА и други микотоксини като пеницилова киселина, фумонизин В1 и цитрин - оригинален принос (Stoev et al, 1998a, 2002a).

29. Установен е силен синергистичен ефект между ОТА и РА, както и синергистично взаимодействие между ОТА, FB1 и СІТ посредством серия от "in vivo" и "in vitro" експериментални изследвания - оригинален принос (Stoev et al, 2001, 2004, 2009, 2012; Stoev, 2020);

## **II.) ПРЕПОРЪКИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ НЕОБХОДИМИТЕ ХИГИЕННИ И ПРОФИЛАКТИЧНИ МЕРКИ ПРИ НЯКОИ МИКОТОКСИКОЗИ**

30. Направена е рискова оценка от реалната опасност от едновременното подлагане на ниски концентрации от няколко микотоксина при животни и хора, както това става в условията на практиката - оригинален принос (Stoev, 2017, 2023, 2024a,c);

31. Направена е оценка на безопасността на храните и опасността от възникване на някои микотоксикози при животни и хора, причинени от изхранвания фураж и/или храни контаминирани с определени микотоксини в концентрации срещани в практиката - оригинален принос (Stoev, 2013, 2015, 2016, 2017, 2023, 2024a,c);

32. Установен е потенциалния и реален риск от приемането на такива храни, контаминирани с определени микотоксини - оригинален принос (Stoev, 2013, 2015, 2016, 2017, 2023, 2024a,c);

33. Направена е оценка на риска за животни и хора и са предписани необходимите превантивни мерки в същите тези случаи на приемане на храни, контаминирани с определени микотоксини - оригинален принос (Stoev, 2013, 2015, 2017, 2023, 2024a,c);

34. Установено е подценяване на опасността от маскираните микотоксини и комбинираното микотоксично действие върху различните животни, птици и хора - оригинален принос (Stoev, 2013, 2015, 2016, 2017, 2023, 2024a,c).

35. Направена е оценка на риска и са препоръчани конкретни високоефективни превантивни мерки за предотвратяване подлагането на животни и хора на токсичното, имуносупресивното и канцерогенното действие на ОТА - оригинален принос (Stoev, 1998, 2008, 2013, 2015, 2017, 2023, 2024a,c)

36. Поради много високия процент на контаминиране на бъбреците (83,98% от изследваните проби) и на останалите тъкани, и сравнително не много високите концентрации на ОТА в тях предлагаме като най-удачни, евтини и ефективни за предпазване на животинската продукция от контаминиране с ОТА следните хигиенни мерки - оригинален принос (Stoev, 1998, 2017, 2023, 2024a,c)

а) При установяване на промени в бъбреците характерни за МНС при над 10% от дадената партия свине да се изследват 2-3 серумни или бъбречни проби за съдържание на ОТА. При установяване на съдържание на ОТА в тях в концентрации над 150 ng/ml серум или респективно 10 ng/g бъбреци да бъде спряно клането. Да бъде сменен фуража при останалите животни от същото стопанство за около 1 седмица преди тяхното клане с фураж произхождащ от благополучни по отношение на МНС стопанства или предкланничната гладна диета да бъде удължена поне до 24-30

часа, за което време концентрацията на ОТА в тъканите обикновено пада под пределно допустимата - оригинален принос (Stoev, 1998, 2013, 2015, 2017, 2023, 2024a,c)

б) Профилактично в неблагополучните по отношение на МНС стопанства да се изследват периодично 2 - 3 серумни проби за съдържание на ОТА 2 - 3 седмици преди клането и при установяване на ОТА в тях да се смени фуража с друг, който се изхранва в благополучни по отношение на МНС стопанства - оригинален принос (Stoev, 1998, 2013, 2015, 2017, 2023, 2024a,c)

### **III.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ ВЪЗМОЖНАТА РОЛЯ НА ОХРАТОКСИН А КАТО ВЕРОЯТЕН ЕТИОЛОГИЧЕН АГЕНТ НА БАЛКАНСКАТА ЕНДЕМИЧНА НЕФРОПАТИЯ (БЕН) ПРИ ХОРАТА**

37. Установено е патоморфологично, биохимично и токсикологично (ниски контаминационни нива на ОТА) сходство между микотоксичната нефропатия при свинете и Балканската ендемична нефропатия при хората - оригинален принос (Stoev, 1998; Stoev, 2008, 2017).

38. Установено е голямо сходство в хистологичната находка между МНС и Балканска ендемична нефропатия (БЕН) при хората: дистрофичните промени засягат основно епитела на проксималните тубули (зърнеста и хиалинна дистофия); в късните стадии се установява доминиране на интерстициалната фиброза по-силно изразена във вентралните части на кората, тубуларната атрофия, удебеляване на базалната мембрана на каналчетата, склероза и хиалинизация на гломерулите, формиране на лимфатични и ретенционни цисти, моноклеарна клетъчна инфилтрация и по-рядко васкуларни лезии и неопластични разраствания - оригинален принос (Stoev, 1998; Stoev, 2008, 2017).

39. За пръв път са установени слабо набраздяване, относително умаляване и уплътняване на бъбреците (промени от типа "фиброзен бъбрек" - подобни на тези при БЕН при хората) при експериментална хронична МН при свине третирани с 1 ppm ОТА в продължение на 1 година и при спонтанни случаи на МНС - оригинален принос (Stoev et al, 2002c)

40. Установена е голяма прилика в ултраструктурната картина между МНС и БЕН при хората: микровилите на проксималните тубули са редуцирани на височина и плътност; митохондриите са редуцирани на брой, окръглени, с нарушен мембранен интегритет, разрушени или редуциран брой кристи и често съдържат електронно плътни формации, мастни капки или миелиноподобни фигури; честа находка са големите вакуоли в апикалния полюс на клетките; наблюдават се и пероксизоми с финногранулиран материал и няколко маргинални плочки в

мембраната; много ядра показват кондензиране на хроматина и разрушаване на ядрената мембрана; в късните стадии доминират удебеляванията на базалната мембрана на каналчетата и увеличеният депозит от колаген в интерстициума - оригинален принос (Stoev, 1998; Stoev, 2008, 2017)

41. Установена е голямо сходство в параклиничната находка между МНС и БЕН: нарушена способност за концентриране на урината и понижаване на относителното ѝ тегло; полиурия; полидипсия; повишаване на органичния седимент в урината; повишена уринарна екскреция на глюкоза, протеини,  $\gamma$ -GT и LAP (ензими на микровилите); повишаване на серумните креатинин и урея; хипоалбуминемия; слаба декомпенсирана метаболитна ацидоза; слаба анемия; подтискане на имунната система - оригинален принос (Stoev, 1998; Stoev, 2008, 2017).

42. Установено е голямо сходство в контаминационните нива на ОТА и процента на контаминиране на изследваните кръвни и хранителни проби в ендемичните за МНС и за БЕН райони. Тази еднаква токсикологична находка указва за вероятен общ етиологичен агент - оригинален принос (Stoev, 1998; Stoev, 2008, 2017; Stoev et al, 2010a,b)

43. Установено е значително надвишаване на пределно допустимите дневни концентрации (ПДК) на приемане на ОТА от живущите в ендемичните за БЕН райони с оглед нефротоксичното действие на същия този токсин и неколккратно надвишаване на ПДК с оглед канцерогенното действие на токсина (изчисляването на средното дневно прието количество ОТА е проведено на базата на серумната концентрация на токсина) - оригинален принос (Stoev, 1998; Stoev, 2017).

#### **IV.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С КЛИНИКОМОРФОЛОГИЧНИТЕ ПРОУЧВАНИЯТА ПРИ ОТРАВЯНИЯ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ**

44. Установени са типичните ранни патоморфологични, ултраструктурни и биохимични промени при интоксикации с тежки метали (кадмий, олово, живак) при овце, които дават възможност за ранно диагностициране - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1998, 1999; Stoev et al, 1997b, 1998e, 2003)

45. Общите клинични признаци при подостра и хронична оловна, кадмиева и живачна интоксикация са: угнетеност, атония, намален или извратен апетит, загуба на телесно тегло и нарушена координация на движенията. В допълнение към горепосочените признаци при живачното отравяне са установени и учестено дишане и пулс, посинявания в областта на главата и подгърдието, диария с кървави и слузести примеси, конюнктивит, силно слюнотечение, ерозивен стоматит, слизесто-гнойни изтечения от носа, тремор придружен с клонични гърчове, силен сърбеж и локално



опадане на вълната - потвърдителен принос (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1998, 1999; Stoev et al, 1997b, 1998e, 2003).

46. Установени са основните патологоанатомични промени имащи отношение към диагностиката на оловното отравяне при овце: сивочервеникавото оцветяване на мукозата на сирищника и сивият оттенък на чревното и търбушно съдържание, петнисто глинестожълто оцветяване на черния дроб, тъмночервено оцветяване на бъбречната сърцевина и по бледо оцветяване на бъбречната кора, хиперемия и едем в белия дроб, силна хиперемия на мозъчните обвивки, аборт при бременните - потвърдителен принос (Stoev and Lazarova, 1999; Stoev et al, 1997b)

47. Установени са основните патологоанатомични промени имащи отношение към диагностиката на кадмиевото отравяне при овце: силни циркулаторни разстройства във вътрешните органи; хиперемия на мезентериалните кръвоносни съдове; тъмночервено-кафяво оцветяване на черния дроб; силна хиперемия на сърцевината на бъбреците; кръвоизливи по епикарда; хиперемия и едем в белия дроб, аборт при бременните - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1998e, 2003)

48. Установени са основните патологоанатомични промени имащи отношение към диагностиката на живачното отравяне при овце: силен венозен застой във вътрешните органи; катарално-хеморагично и дифтероидно-язвено възпаление в сирищника и тънките черва; некротично-язвено възпаление на колона; глинестожълто петнисто оцветяване и некрози по черния дроб; уголемяване на жлъчния мехур; кръвоизливи и сивобелезникави некротични огнища с големина на иглен бод по кората на бъбреците и силна хиперемия на сърцевината; хиперемия и едем в белия дроб; силно кръвонапълване и омекване на далака; хиперемия и едем на мозъчните обвивки - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1998).

49. Основните дистрофични увреждания при оловна интоксикация на овце се установяват в епитела на проксималните тубули на бъбреците (зърнеста и хиалинна дистрофия), чернодробния епител (зърнеста и мастна дистрофия) и чревната мукоза, поради участието на същите тези органи в обезвреждането и елиминирането на оловото и неговите съединения - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev and Lazarova, 1999; Stoev et al, 1997b).

50. Основните дистрофични увреждания при кадмиева интоксикация на овце се установяват също в епитела на проксималните тубули на бъбреците и черния дроб (подобно на оловната интоксикация), като дистрофичните увреждания (зърнеста и вакуолна дистрофия) са по-силно изразени в чернодробните клетки, разположени централобуларно - оригинален принос (Stoev et al, 1998e, 2003).

51. Основните дистрофични увреждания при живачна интоксикация на овце се установяват в черния дроб, бъбреците, храносмилателния тракт, сърдечната мускулатура, големия и малкия мозък, поради преимущественото отлагане и натрупване на живачните съединения в същите тези органи и последващо нарушаване на обменните процеси и тъканното дишане в тях - потвърдителен принос (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1998).

52. Общи патохистологични промени за оловната, кадмиева и живачна интоксикация при овце, имащи отношение към тяхната диагностика са: в бъбреците - ендотелиалната и мезанглиална пролиферация в гломерулите и дистрофия в проксималните тубули; в черния дроб - хиперемия на чернодробните капиляри, перикапилярен едем, активиране на Купферовите клетки, хемосидероза в абортиралите фетуси; в храносмилателния тракт - дистрофично-некробиотични промени в жлезния и покривния епител на тънките черва, лимфохистиоцитарна пролиферация в проприята, хиперемия и едем в субмукозата; в главния мозък - силна хиперемия и едем на мозъчните обвивки, периваскуларен и перицелуларен едем, тигролиза в ганглиевите клетки и балонираща дистрофия в глията; в малкия мозък - дистрофични процеси в областта на Пуркиниевите клетки; в далака - разреждане на клетките от зародишните центрове на бялата пулпа и много сидероцити; в белия дроб - периваскуларна и перибронхиална мононуклеарна клетъчна пролиферация и едем; в миокарда - хиперемия, кръвоизливи, активиране на капилярния ендотел - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1998, 1999; Stoev et al, 1997b, 1998e, 2003).

53. Типичните диференциално-диагностични патохистологични промени имащи отношение към оловната интоксикация са: превес на дистрофичните промени в проксималните тубули пред ендотелиалната и мезанглиална пролиферация в гломерулите; ареактивни некрози в паренхима на черния дроб; доминиране на дистрофичните процеси в мукозата на тънките черва пред лимфохистиоцитарната пролиферация в проприята; ацидофилни ядрени включения в ганглиевите клетки на главния мозък; силни дистрофични процеси в хипоталамуса; зърнеста и хиалинна дистрофия в мускулните влакна на миокарда - оригинален принос (Stoev and Lazarova, 1999; Stoev et al, 1997b).

54. Типичните диференциално-диагностични патохистологични промени имащи отношение към кадмиевата интоксикация са: превес на ендотелиалната и мезанглиална пролиферация в гломерулите пред дистрофичните промени в проксималните тубули; периваскуларни лимфохистиоцитарни пролиферати в черния дроб; доминиране на лимфохистиоцитарната пролиферация в проприята пред дистрофичните процеси в покривния и жлезен епител на тънките черва; по-силни едематозни процеси в областта на Пуркиниевите клетки и молекулярния слой на

малкия мозък; по-силни едематозни промени в миокарда; хиперплазия на алвеоларния епител в белите дробове; силни дистрофични процеси в сърцевинния и гломерулния слой на надбъбрека - оригинален принос (Stoev et al, 1998e, 2003).

55. Типичните диференциално-диагностични патохистологични промени имащи отношение към живачната интоксикация са: силно преобладаване на дистрофично-некротичните процеси в проксималните тубули пред ендотелната пролиферация в гломерулите; силна мастна и зърнеста дистрофия съпроводена с обширни некротични участъци в черния дроб; преобладаване на червената пулпа и разреждане на клетките от бялата пулпа в далака; преобладаване на дистрофично-некротичните промени в покривния (дифтероидни налепи) и жлезния епител на храносмилателния тракт пред мононуклеарната клетъчна инфилтрация в проприята; силни дистрофични процеси в областта ганглиевите клетки в мозъчната кора и в областта на Пуркиниевите клетки и молекулярния слой на малкия мозък - оригинален принос (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1998).

56. В абортиралите фетуси при оловна и кадмиева интоксикация при овце циркулаторните промени доминират пред дистрофичните - оригинален принос (Stoev et al, 1997b; 1998d).

57. В матката на абортиралите овце при оловна и кадмиева интоксикация се установява фиброзиращ ендометрит с много сидероцити - оригинален принос (Stoev et al, 1997; 1998e).

58. Силните дистрофично-некротични промени, дифтероидните налепи и язви по мукозата на гастроинтестиналния тракт, конюнктивита и кожните струпеи при живачната интоксикация при овце се дължат на директното токсично и дразнещо действие на живачните съединения върху органите през които те се излъчват - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1998).

59. Дистрофичните процеси в лимфната тъкан, разреждането на клетките от бялата пулпа, лошо оформените лимфни фоликули и увеличени брой сидероцити в далака при живачната интоксикация при овце се обуславят от токсичното действие на живака върху лимфната тъкан и еритроцитите - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1998).

60. Перикапилярният и периваскуларен едем, както и кръвоизливите в някои вътрешни органи при оловната, кадмиева и живачна интоксикация се дължат на увреждания в съдовата стена - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1998, 1999; Stoev et al, 1997b, 1998e, 2003).

61. Периваскуларната мононуклеарна клетъчна пролиферация и активирането на капилярния ендотел в различните вътрешни органи, ендотелиалната и мезанглиална пролиферация в

бъбречните гломерули при оловната и кадмиева интоксикация се дължат на директното дразнещо въздействие на оловните и кадмиеви съединения върху ретикулоендотела на органите, участващи в тяхното елиминиране. Същите тези промени са по-силно изразени и по-типични за кадмиевата интоксикация - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Стоев и сътр, 1998e; Stoev and Lazarova, 1999; Stoev et al, 1997b, 1998e, 2003).

## **V.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С КЛИНИКОМОРФОЛОГИЧНИТЕ ПРОУЧВАНИЯТА ПРИ ОТРАВЯНИЯ С НЕДОБРОКАЧЕСТВЕНИ ФУРАЖИ ПРИ РИБИ И НЯКОИ ДРУГИ ОТРАВЯНИЯ И АКУШЕРО-ГИНЕКОЛОГИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ**

62. Изхранването с недоброкачествени фуражи (фуражи с изтекъл срок на годност, с високи стойности на киселинния градус по Нойман и високо прекисно число) при риби рефлектира директно върху тяхното здравословно състояние и се съпровожда със следните по-важни патохистологични промени: тежка зърнеста и хиалинна дистрофия в бъбреците; застойна хиперемия, зърнеста и мастна дистрофия, а понякога и цероид в черния дроб; разреждане на клетките от бялата пулпа в зародишните центрове на далака - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Даскалов и Стоев, 1995; Daskalov et al, 1999)

63. Установени са типичните патоморфологични промени при експериментална инфекция на шарани (*Cyprinus Carpio*) с *Aeromonas Hydrophila* (Stratev et al, 2015)

64. Установени са основните патохистологични промени при спонтанен случай на отравяне на коне със семена от татул - потвърдителен принос (Николов и сътр, 1992)

65. Установени са основните клиноморфологични промени в половия апарат на незаплождащи се крави при хронични възпалителни процеси - потвърдителен принос (Манета и сътр 1990)

## **VI.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ МИКОТОКСИЧНАТА НЕФРОПАТИЯ ПРИ ПТИЦИ**

66. Установена е причината за някои случаи на спонтанна нефропатия при птици в България - контаминацията на фуража с ОТА и ПК. Установените концентрации на ОТА и ПК в изхранваните фуражи, серума, тъканите и органите на птиците от тези птицеферми са в състояние да предизвикат МНП - оригинален принос (Stoev et al, 2002a).

67. Установена е позитивна корелация между честотата на нефропатиите при птици по време на кланичния месопреглед и концентрациите на ОТА в мускулните проби - оригинален принос (Stoev et al, 2002a).

68. Честотата, продължителността и разпространението на МНП в изследваните области кореспондират с тези на МНС (предимно след влажни и дъждовни периоди през пролетно-летния сезон), като източника на нефропатиите е обикновено един и същи фуражен завод – оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2002a).

69. Налице е голямо сходство в клинично-морфологичната и параклиничната находка при някои спонтанни случаи на МНП в България и експериментална МНП предизвикана от изхранване на оплесенени фуражи съдържащи ОТА и ПК в концентрации кореспондиращи на установените в практиката - оригинален принос (Stoev et al, 1999, 2000a, 2002a, 2004).

70. Концентрациите на ОТА в бъбреците и черния дроб са достоверно по-високи от тези в мускулатурата на птиците. Реален риск за контаминирането на птичето месо с ОТА не съществува поради достатъчно дългия престой от последното хранене до клането и краткия период на полуелиминиране на ОТА (4 часа), но такъв е налице за бъбреците и черния дроб поради достоверно по-високите концентрации на ОТА в тях – оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2002a).

71. ОТА предизвиква достоверно понижаване на носливостта на птиците, включително броя на снесените яйца и тяхното тегло – потвърдителен научно-приложен принос (Stoev, 2010b).

72. Установено е, че ОТА предизвиква достоверно повишаване на относителното тегло на органите участващи в неговото обезвреждане (черен дроб, бъбреци) и достоверно понижаване на относителното тегло на имунокомпетентните органи (тимус, бурза и далак) при птици - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 2000a, 2002d, 2004).

73. Повишеното относително тегло на бъбреците и черния дроб при третираните с ОТА птици е в резултат на набъбването/хипертрофията на функционалния епител, едема и значимите пролиферативни процеси (на съединителна тъкан и моноклеарни клетки) в интерстициума на органите чрез които ОТА се елиминира - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 2000a, 2002d, 2004).

74. Пониженото относително тегло на имунокомпетентните органи при третираните с ОТА птици се дължи на намаляването на количеството на лимфната тъкан и силните дистрофично-некротични процеси и цистозна дегенерация в нея - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 2000a, 2002d, 2004).

75. При съвместно приемане с ПК токсичното действие на ОТА се усилва неколкостранно, поради установения синергизъм между двата токсина. Изхранването на оплесенен фураж съдържащ ОТА и ПК довежда до намален прираст, дистрофични и метрични промени в различните органи и системи, промени в определени биохимични показатели и потискане на хуморалния имунен отговор при десетократно по-ниски контаминационни нива на ОТА (0.13-0.3 ppm ОТА - кореспондиращи на тези в условията на практиката) в сравнение със самостоятелното приемане на същия този токсин (необходими са 1-5 ppm ОТА, като имуносупресия се предизвиква едва при 5 ppm ОТА). Подобен синергистичен ефект не съществува между ОТА и ОТВ. При така установения синергизъм от съществено значение е концентрацията на ОТА във фуража, а от по-малко значение е концентрацията на ПК във фуража, тъй като при едни и същи концентрации на ОТА и различно съдържание на ПК (1-2 ppm или респективно 2-5 ppm) във фуража, неговата токсичност остава една и съща - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1999, 2000a, 2001, 2004).

76. Токсичността на различните разновидности на *Aspergillus ochraceus* е значително по-висока, ако заедно с ОТА те продуцират и ПК – оригинален принос (Stoev et al, 1999, 2000a, 2001, 2004).

77. Проучени са основните клинично-морфологични, хематологични и биохимични промени при експериментални и спонтанни случаи на МНП, предизвикана от комбинираното действие на ОТА и ПК, които могат да спомогнат своевременното поставяне на точна диагноза. За разлика от патологията на МНС, която е много характерна и е съсредоточена основно в бъбреците, то основните патологоанатомични промени имащи отношение към диагностиката на МНП се наблюдават в почти всички органи и системи - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1999, 2000a, 2001, 2004).

78. Основните клинични признаци при МНП са: депресия, индиферентност, намален апетит, диария, а по-рядко и някои нервни признаци (залитане, тремор, плавателни движения с крайниците, разкрячена или шпагатообразна постановка на крайниците, седящо положение, емпростотонус, тортиколис), подкожни отоци в областта на главата в хроничните стадии - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1999, 2000a, 2002d, 2004).

79. Основните патологоанатомични промени, които могат да спомогнат диагностиката на МНП са: малко на брой кръвоизливи в подкожната тъкан и мускулатурата; хиперемия и уголемяване на бъбреците и черния дроб в началните стадии, набъбване и избледняване на бъбреците в по-късните стадии (след 10 седмици) и ретракция и умаляване на бъбреците в късните стадии (след 10 месеца); уголемяване на жлъчния мехур; катарално възпаление на тънкочревния тракт; умаляване размерите

на имунокомпетентните органи; вмастяване на червения костен мозък; намалена здравина и чупливост на костите; силен едем, а по-рядко и цистозни образувания в областта на lobus opticus в хроничните случаи - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 2000a, 2002d, 2004).

80. Основните патохистологичните промени, които могат да спомогнат диагностиката на МНП са: в бъбреците – дистрофия в епитела проксималните тубули, моноклеарна и съединителнотъканна пролиферация в интерстициума; в черния дроб - дистрофично-некротични процеси в хепатоцитите, а в късните стадии - пролиферация на съединителна тъкан и псевдотубули в интерстициума; в имунокомпетентните органи (Bursa Fabricius далак, тимус) - редукция на лимфната тъкан, дистрофия, некрози и цистозна дегенерация в нея, а в хроничните стадии - перифоликуларен едем и разрастване на съединителна тъкан; в тънките черва - дистрофични промени в покривния и жлезен епител, дистрофия в лимфните фоликули и моноклеарна пролиферация в проприята; в миокарда – периваскуларен едем и дистрофия в мускулните влакна; в lobus opticus - силна дистрофия и едем; в малкия мозък – некробиотични процеси и едем в областта на Пуркиниевите клетки, и по-слабо в областта на зърнестия и молекулярния слой; в гръбначния мозък - тигролиза или пикноза на невроните; в костния мозък - хипоцелуларност и вмастяване; в тръбестите кости - изтъняване на костните ламели на компактата в диафизата и метафизата - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 2000a, 2002d, 2004).

81. Дистрофично-некротичните промени в различните вътрешни органи преобладават в началните етапи на МНП, докато през по-късните етапи доминират продуктивните процеси в интерстициума и атрофичните процеси в паренхимата на същите тези органи - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 2000a, 2002d, 2004).

82. При МНП се установяват нарушения в съдовата система на птиците: в кръвоносните съдове - пролиферация от страна на интимата и адвентицията; в капилярите - активиране на капилярния ендотел – оригинален принос (Stoev et al, 2000a, 2002d, 2004).

83. Силните едематозни явления и кръвоизливите в различните вътрешни органи, лимфатичните разширения, перикапилярния и периваскуларния едем при МН са респективно резултат на нарушена пропускливост на капилярната система и някои нарушения в кръвосъсирването (повишаване на коагулационното време, времето на максимална коагулация и др.) - оригинален принос (Stoev et al, 2000a, 2002d, 2004).

84. Ранните ултраструктурни промени имащи отношение към диагностиката на МНП се установяват в епитела на проксималните тубули в бъбреците и хепатоцитите в черния дроб. Те се

характеризират с тежки първични увреждания в митохондриите (разрушаване на кристите, вакуолизиране или хомогенизиране и електронно плътни включения в тях) и различните липопротеидни структури на клетките. В по-късните етапи се наблюдават удебеляване на базалната мембрана на каналчетата и увеличаване на депозита от колаген в интерстициума на бъбреците - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev, 2000, 2000a).

85. Основните хематологични и биохимични промени имащи отношение към диагностиката на МНП са: повишаване на серумните концентрации на пикочната киселина, креатинина, уреята, остатъчният азот и глюкозата, понижаване на серумните концентрации на общия белтък, холестерола и фосфора, повишаване на перекисното окисление на мембранните липиди, слабо изразена анемия, левкоцитоза, лимфоцитоза, лекостепенна декомпенсирана ацидоза от смесен тип, както и понижаване на пепелното съдържание, калция и фосфора при изгаряне на тръбестите кости - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 1999, 2000a, 2002d, 2004).

## **VII.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ НЕОБХОДИМИТЕ АНТИДОТНИ МЕРКИ ПРИ МИКОТОКСИЧНА НЕФРОПАТИЯ ПРИ ПТИЦИ**

86. Установени са някои способи за безопасното използване на контаминирани с ОТА фуражи с оглед намаляване загубите от намален прираст и яйценосене, които този токсин предизвиква и избягване бракуването на такива фуражи - оригинален принос с научно-приложен характер (Stoev, 2010b, Stoev et al, 2002d).

87. Някои прибавки към изхранваните фуражи (80 000 ppm смляно сусамово семе; 200 ppm Roxazyme-G; 25 ppm L-β фенилаланин; 5 ml / kg ж.т. дневно 5%-ов воден екстракт от Артишок и Rosallsat - 0.6 ml / kg ж.т. дневно per os) могат да се използват за осъществяване на протекция срещу предизвиканите от ОТА дистрофични и тегловни промени във вътрешните органи и промените в различните хематологични и биохимични показатели при птици, като протективният ефект на сусамовото семе е достоверно най-силен - оригинален принос (Stoev et al, 1999, 2000a, 2002d; Stoev, 2010a,b).

а) Антидотният ефект на сусамовото семе и полиензима Roxazyme-G е особено добре изразен по отношение на предизвиканите от ОТА тегловни промени в бъбреците и черния дроб, докато антидотният ефект на фенилаланина е по-добре изразен по отношение на тегловните промени в мускулестия стомах и сърцето - оригинален принос (Stoev et al, 2002d)



б) Екстрактът от Артишок има по-добър антидотен ефект срещу токсичното действие на ОТА, ако се приема с храната, вместо с водата за пиене, като протективният ефект по-отношение на живото тегло и различните метрични, патоморфологични и биохимични показатели при птиците поели екстракта от Артишок с изхранвания фураж е по-добър в сравнение с тези поели го с водата за пиене - оригинален принос (Stoev et al, 2000a, 2002d).

в) Намерен е нов ефикасен способ (прибавяне на сусамово семе към изхранвания фураж) за снабдяване на животинския организъм с основния антидот срещу охратоксикозата (фенилаланин), като същевременно се избягва нежеланото повишаване на гастроинтестиналната абсорбция на ОТА, предизвиквано от чистия фенилаланин - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2010b; Stoev et al, 2002d).

88. Установен е достоверен протективен ефект на сусамовото семе, екстракта от Артишок и по-слабо на фенилаланина срещу имunosупресивното действие на ОТА при птици - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2010b; Stoev et al, 2000a, 2002d).

89. Установено е достоверно протективно действие на антидотните прибавки: сусамово семе, екстракт от Артишок, Roxazyme-G и фенилаланин срещу предизвиканото от ОТА понижаване на прирастта и яйчевата продукция при птиците, като най-силно протективно действие е установено за сусамовото семе, след това за екстракта от Артишок и полиензима Roxazyme-G, а най-слабо за фенилаланина - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2000a, 2002d; Stoev, 2010b).

90. Екстрактът от Артишок и Rosallsat ускоряват елиминирането на ОТА от организма, като броят на положителните бъбречни проби и средните концентрации на ОТА в тях са по-ниски при птици, експериментално третирани с ОТА и екстракт от Артишок или Rosallsat в сравнение с тези третирани единствено с ОТА - оригинален принос (Stoev et al, 1999, 2000a, 2002d).

91. Установен е силен протективен ефект на билките Бял трън (*Silybum marianum*), Индийски Женшен (*Ашваганда* - *Withania somnifera*) и Азиатско хидрокортиле (азиатска центела или готу кола - *Centella asiatica*) срещу предизвиканите от ОТА супресия на хуморалния имуноен отговор срещу псевдочума, понижаване на живото тегло и дистрофични промени във вътрешните органи при пилета бройлери. Белият трън (*Silybum marianum*) и Индийският Женшен (*Ашваганда* - *Withania somnifera*) притежават достоверен хепатопротективен и нефропротективен ефект, както е видно от патоморфологичната находка и по-слабото покачване на серумните нива на пикочната киселина и ензимната активност на AST и ALT при третираните с ОТА птици. Протективният ефект на Белия трън е най-силен срещу нефротоксичното действие на ОТА и предизвиканите от него дистрофичните промени в имунокомпетентните органи и биохимични промени в кръвта, докато Индийският женшен

притежав най-силно хепатопротективно действие и силна стимулация на имунната система при пилета бройлери - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2019).

92. Белия трън и Ашвагандата имат силно имуностимулиращо и антиоксидативно действие при птици - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2019).

93. Установен е силен протективен ефект на индийските билки *Tinospora cordifolia* (Гудучи) и *Glycyrrhiza glabra* (Сладък корен, Женско биле, Ликорис) срещу предизвиканите от ОТА супресия на хуморалния имуен отговор, понижаване на живото тегло и дистрофични промени във вътрешните органи при пилета бройлери. Протективния ефект на *Glycyrrhiza glabra* е по-силен срещу хепатотоксичното действие на ОТА и предизвиканите от него дистрофичните промени в имунокомпетентните органи, докато *Tinospora cordifolia* притежава най-силно протективно действие срещу предизвиканите от ОТА дистрофични промени в костния мозък и бъбреците - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2021a).

94. Прибавени билки към изхранваните фуражи при птици в концентрации *Centella asiatica* (4600 ppm или 350 mg/kg ж.т.); *Withania somnifera* (4000 ppm или 300 mg/kg ж.т.); *Silybum marianum* (1100 ppm или 80 mg/kg ж.т.); *Tinospora cordifolia* (4000 ppm или 300 mg/kg ж.т.) и *Glycyrrhiza glabra* (6600 ppm или 500 mg/kg ж.т.) могат да се използват за осъществяване на протекция срещу предизвиканите от ОТА дистрофични и тегловни промени във вътрешните органи, понижаване на живото тегло и срещу неговото имуносупресивно действие върху хуморалния имуен отговор при птици - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2019, 2021a,b).

95. Доказан е протективния ефект на *Glycyrrhiza Glabra* и nano-Silymarin срещу гама и UV радиация и срещу оксидативен стрес - оригинален научно-приложен принос (Arora et al, 2014; Agarwal et al, 2015; Adhikari et al, 2015)

96. Установен е силен протективен ефект на билковия екстракт Силимарин срещу токсичното действие на ОТА върху имунния отговор (Denev et al, 2020), биохимичните и и хистологичните промени – оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2021b).

97. Доказано е протективното действие на билков екстракт от *Tinospora cordifolia* срещу предизвикания от ОТА оксидативен стрес и оксидативни промени в клетки от далак и бели кръвни клетки - потвърдителен принос с емлени на оригиналност (Karamalakova et al, 20016, 2018, 2020)

## **VIII.) ПРЕПОРЪКИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ НЕОБХОДИМИТЕ ХИГИЕННИ И ПРОФИЛАКТИЧНИ МЕРКИ ПРИ МИКОТОКСИЧНА НЕФРОПАТИЯ ПРИ ПТИЦИ**

98. Имайки предвид, че ОТА е един топлинорезистентен (обикновеното варене не го обезврежда) и опасен за здравето микотоксин, от съществено значение е предпазването на птичата продукция от контаминиране с ОТА и прекъсване хранителната верига "фураж - месни продукти - човек". Поради обстоятелството, че по-високи концентрации на ОТА се установяват само в бъбреците и черния дроб, но не и в мускулатурата на птиците, както и поради краткия период на полуреждане на ОТА при птиците (4 часа) за разлика от свинете (72-120 часа) и сравнително дългото време, което изминава от последното хранене до клането, предлагаме като най-удачни, евтини и ефективни следните профилактични мерки - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2013, 2015, 2017, 2023, 2024a,c):

а) При установяване на МНП в дадена птицеферма да бъде сменен фуража 2-3 дни преди клането на птиците с фураж произхождащ от благополучни по отношение на МНП райони или да се удължи с няколко часа предкланечната гладна диета, за което време концентрацията на ОТА в тъканите пада обикновено под допустимата - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2002a; Stoev, 2013, 2015, 2017, 2023, 2024a,c).

б) При вече закланите птици, да се бракуват и отстранят от птичия труп бъбреците и черния дроб, където ОТА се натрупва, а месото и останалите органи при които не съществува опасност от рискова контаминация, да бъдат пуснати за консумация без ограничения - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2002a; Stoev, 2013, 2015, 2017, 2023, 2024a,c).

в) В рискови стопанства, профилактично да бъдат изследвани по няколко серумни или бъбречни/чернодробни проби за ОТА няколко дни преди клането на птиците и при установяване на ОТА в тях, да бъде сменен източника на фуража с друг, който произхожда от благополучни по отношение на МНП райони за около 2-3 дни преди тяхното клане или да се удължи с няколко часа гладната диета преди клането - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2002a; Stoev, 2013, 2015, 2017, 2023, 2024a,c).

99. При спонтанни случаи на МН предизвикана от комбинираното действие на ОТА и ПК, усилията биха могли да се насочат към понижаване на токсичността на фуража чрез елиминиране на ПК в него, което е сравнително по-лесно, защото този токсин (за разлика от ОТА) не е силно термоустойчив - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2002a; Stoev, 2013, 2015, 2017, 2023).

## IX.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ ИМУНОСУПРЕСИВНИЯ ЕФЕКТ НА ОТА ПРИ СВИНЕ И ПТИЦИ

100. Установена е силна имуносупресия и избухване на секундарни бактериални инфекции при прасета и птици, хранени с контаминиран с ОТА фураж - оригинален научно-приложен принос (Stoev et al, 2000a, b);

101. Установена е причината за повишената заболяемост и смъртност при прасета и птици произхождащи от неблагополучни по отношение на МН стопанства. Изхранването на фураж контаминиран с ОТА, може да доведе до повишена заболяемост и смъртност при подрастващи прасета (1 ppm ОТА) и птици (5 ppm ОТА), в резултат на имуносупресивното действие на ОТА и провокиране на секундарни условнопатогенни инфекции (паратиф и дизентерия), включително повишена чувствителност към различни инфекции и паразитни заболявания - оригинален принос (Stoev et al, 2000a, b, 2002b).

102. Установен е силен имуносупресивен ефект на ОТА върху изработването на хуморалния и клетъчния имунен отговор при свине и на хуморалния при птици в концентрации често срещани в условията на практиката (1 ppm). ОТА нарушава изработването на хуморалния имунен отговор, намалявайки достоверно титъра на специфичните антитела срещу вируса на псевдочумата при птиците и причинителя на салмонелозата при прасетата на 21-я ден след ваксинацията – научно-приложен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 2000a, b).

103. Установено е по-тежко протичане и повишена смъртност при кокцидиозата на тънките и слепите черва при птици и пуйки изхранвани с фураж контаминиран с ОТА. ОТА утежнява и ускорява развитието на кокцидиозата при малки пиленца, като повишава стойностите на лезийния и ооцистния индекс, утежнява дистрофичните поражения в черния дроб и бъбреците и повишава смъртността при различните видове кокцидийната инвазия - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 2002b; Koynarski et al, 2007a,b).

104. Кръвоизливите в различните вътрешни органи и мускулатурата, дистрофично-некротичните лезии в имунокомпетентните органи, понижаването на серумния протеин и хипергликемията при птиците третиран с ОТА и инвазирани с *E. tenella* се дължат единствено на действието на ОТА, докато лезиите в областта на слепите черва и повишаването на серумния протеин са типични само за кокцидийната инвазия. Повишаването на серумните концентрации на пикочната киселина е комбиниран резултат, както на директното действие на ОТА, така и на кокцидийната инвазия - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev et al, 2002b).

105. Дадено е обяснение за комплексната клиникоморфологична находка, повишената смъртност и по-тежкото протичане на някои експериментални и спонтанни случаи на МНС, а именно съпровождането на МНС със секундарно възникнали условнопатогенни инфекции в резултат на провокираната от ОТА имуносупресия и нарушената способност за изграждане на поствакцинален имунитет - оригинален принос (Stoev et al, 2000b; Stoev, 2015).

а) Окоლობъбренният едем и едематозните процеси във вътрешните органи, активирането на ендотела и адвентицията на кръвоносните съдове, дегенеративните промени в лимфната тъкан на далака и мезентериалните лимфни възли, както и дистрофичните поражения в бъбреците могат да се разгледат като резултат от комбинираното въздействие на ОТА и секундарно възникналите инфекции (най-често салмонелоза или дизентерия) при прасета - оригинален принос (Stoev et al, 2000b; Stoev, 2015).

б) Диарията, гастроинтестиналните лезии, хиперпластичните процеси в лимфната тъкан на мезентериалните лимфни възли и далака, некрозите в черния дроб, повишаването на серумния албумин и тотален протеин, левкоцитозата, пръчкоядрената неутрофилия, лимфоцитопенията, съдържанието на нитрити, кетотела, билирубин и уробилиноген в урината са следствие на секундарно възникнали инфекции и не трябва да се отдават на действието на ОТА - оригинален принос (Stoev et al, 2000b, Stoev, 2015).

106. Установено е, че микотоксина FB1 може да утежни и комплицира пневмонията при прасета, причинена от *P. multocida* или *Mycoplasma hyopneumoniae* - оригинален научно-приложен принос (Posa et al, 2013, 2016; Kovac et al, 2016);

#### **Х.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ КАНЦЕРОГЕННИЯ И ТЕРАТОГЕНЕН ЕФЕКТ НА ОТА ПРИ ПЛЪХОВЕ, МИШКИ И ПТИЦИ**

107. Установено е силно канцерогенно действие на ОТА при мишки, плъхове и птици и са проучени вида и количеството на индуцираните тумори през различните времеви интервали на експериментална охратоксикоза при същите тези животни и птици за период от 2 години - оригинален принос (Stoev, 2010a, 2020, 2021, 2022a);

108. Установен е силен синергичен ефект между ОТА и ПК (пеницилинова киселина) по отношение на туморогенезата и канцерогенното действие върху мишки. Установено е канцерогенно действие на ОТА върху черния дроб, бъбреците, червата, мускулите и подкожната тъкан на мишки от порода BALB/c. Регистрирани са общо 22 различни неоплазии за 20 месечен експериментален период

на третиране с 10 ppm ОТА и 50-60 ppm ПК в изхранвания фураж, от които 14 са злокачествени и 8 доброкачествени. Установена е по-висока чувствителност на мъжките мишки към канцерогенното действие на ОТА - оригинален принос (Stoev, 2020).

109. Патологичните промени при мишки от порода BALB/c след експериментален двуседмичен период на третиране с 10 ppm ОТА и/или 50-60 ppm ПК се характеризират с дегенеративни промени и апоптоза в бъбреците, черния дроб и стомашно-чревния тракт, които са по-силни при мишките, третирани едновременно с ОТА и ПК - оригинален принос (Stoev, 2020).

110. Установено е силно канцерогенно действие на ОТА върху черния дроб, бъбреците, червата, белите дробове и очите на плъхове Wistar, подложени на 10 ppm или 5 ppm ОТА с изхранвания фураж за експериментален период от 24 месеца. Броят на индуцираните от ОТА неоплазии е близо 4 пъти по-висок при мъжките плъхове в сравнение с женските - оригинален принос (Stoev, 2021).

111. Установено е, че ОТА предизвиква силни дегенеративни промени и перикапиларен едем в повечето вътрешни органи при плъхове Wistar третирани с 5 или 10 ppm ОТА в изхранвания фураж, в т.ч. бъбреци, черен дроб, черва, далак и мозък - потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stoev, 2021).

112. Установено е достоверно протективно действие на аминокиселината фенилаланин в концентрации 20 ppm към изхранвания фураж по отношение на канцерогенното и токсичното действие на ОТА при плъхове порода Wistar. Доказан е също протективния ефект по отношение на индуцираното от ОТА намаляване на серумната глюкоза и серумния протеин - оригинален принос (Stoev, 2021).

113. Плъховете, мишките и птиците не биха могли да служат като експериментален модел при хората по отношение на индуцираната от ОТА туморогенеза, тъй като прицелния орган на ОТА-канцерогенезата и токсичността при хора и свине е основно бъбрека, за разлика от значителните токсични увреждания и канцерогенни ефекти на ОТА, установени в различни органи при плъхове (Stoev, 2021), мишки (Stoev, 2020) и птици (Stoev, 2010a) - оригинален принос (Stoev, 2010a, 2020, 2021, 2022a).

114. Установено е канцерогенното действие на ОТА при спонтанни случаи на микотоксична нефропатия при свине - оригинален принос (Stoev et al, 1998a)

115. Установено е силно ембриотоксично и тератогенно действие на ОТА върху миши ембриони при бременни мишки от породата Swiss albino, което е особено силно при нива на ОТА от 20 ppm в изхранвания фураж (кореспондиращи на 2.8 mg ОТА / kg ж.т. на ден) и то когато е даван в

период на бременността между 7ми и 12ти ден, когато хориоалантоисна плацента е още недоразвита и позволява безпрепятствен трансфер на ОТА чрез кръвта на майката в плода точно по-време на ранната органогенеза в плода. По-слабо ембриотоксично и тератогенно действие на ОТА е наблюдавано в периода до 7ми и след 12ти ден на бременността – оригинален принос (Stoev, 2022b).

116. Концентрации от 10 ppm ОТА в изхранвания фураж имат значително по-слабо ембриотоксично и тератогенно действие върху бременни мишки от породата Swiss albino, а такива от 5 ppm ОТА не притежават ембриотоксичен и тератогенен ефект върху мишите ембриони – оригинален принос (Stoev, 2022b).

117. Определени са видовете малформации в приплодите, които ОТА предизвиква през различни периоди от бременността, като основните малформации са установени в черепно-лицевите структури, в т.ч. anophthalmia, monophthalmia, microphthalmia, astomia, microstomia, maxillary hypoplasia, microcephaly, macrocephaly, в сравнение с по-редките соматични малформации, като peromelia, micromelia, spina bifida and facial clef - оригинален принос (Stoev, 2022b).

118. Установено е протективно действие на фенилаланин срещу канцерогенния ефект на ОТА при птици - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2010a)

## **XI.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ СЪЩЕСТВУВАНЕТО НА НОВА АНАТОМИЧНА СЪДОВА ПРИМОВАСКУЛАРНА СИСТЕМА (PVS)**

119. Установени са нови доказателства за съществуването на нова анатомична съдова примоваскуларна система (primo vascular system – PVS), които представляват липсващото звено в научното обяснение на механизма на действие на акупунктурата. Поставени са на дискусия в световната медицинска общност някои важни въпроси, като “Коя е причината за недоверието на западната медицина към източната (ориенталска) медицина”, “Реална ли е примоваскуларна система и как и кога става нейното формиране и функциониране”, “Кои са научните доказателства за съществуването на примоваскуларната система и нейната връзка с меридианната система” – потвърдителен принос с елементи на оригиналност (Stefanov et al, 2020).

120. Предложени са някои възможности за използване на PVS за разработка на някои иновативни терапии за лечение на някои заболявания, в т.ч. фармакопунктурата като начин на въвеждане в организма на някои лекарства, който съчетава акупунктурната терапия и инокулиране на фармакологични препарати в определени акупунктурни точки – оригинален принос (Stefanov et al, 2020)

## **ХП.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ ПОДЦЕНЕНАТА ОПАСНОСТ И РИСКА ОТ КОМБИНИРАНИЯ МИКОТОКСИЧЕН ЕФЕКТ И МАСКИРАНИТЕ МИКОТОКСИНИ ВЪРХУ ЖИВОТНИ И ХОРА**

121. Установено е значението на синергистичното и адитивно взаимодействие между микотоксините за развитието на различни породени от храната микотоксикози - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024a,c)

122. Установена е, че някои таргентни комбинации от микотоксини могат да предизвикат интоксикации при животни и хора в концентрации значително по-ниски от пределно допустимите според сега съществуващите Европейските регулации - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024a,c)

123. Установена е действителната заплаха от съществуващите контаминационни нива на най-разпространените микотоксини в селскостопанските продукти, храна и фуражи за хора/животни за предизвикване на интоксикации/заболявания, пренасяни с храната - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024a,c)

124. Направена е оценка на настоящите разпоредби и мерки за контрол по отношение на микотоксините в ханителните продукти и фуражите в ЕУ, които се квалифицират като недостатъчно адекватни и ефективни по отношение на опасността за здравето на хората/животните, предвид недооценяването на повишената токсичност на някои таргентни комбинации от микотоксини и маскираните микотоксини - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024a,c).

125. Направена е нова оценка на риска и подходящия хигиенен контрол по отношение на здравеопазването при животни и хора при някои таргентни комбинации от микотоксини в ниски концентрации в изхранваните фуражи и хранителните продукти - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024a,c).

126. Направена е оценка на риска по отношение на здравеопазването при животни и хора по отношение на някои модифицирани/маскирани микотоксини в изхранваните фуражи и хранителните продукти - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024c).

127. Обсъдена е необходимостта от хармонизиране на разпоредбите за Пределно Допустимите Концентрации (ПДК) на микотоксините и мерките за контрол на международно ниво за



да се улесни търговията с храни между страните и да се гарантира глобална безопасност на храните - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024a,c)

### **ХІІІ.) ПРИНОСИ ВЪВ ВРЪЗКА С ПРОУЧВАНИЯТА ВЪРХУ РИСКОВАТА ОЦЕНКА ЗА ЗДРАВЕТО НА ЖИВОТНИ И ХОРА ПОДЛОЖЕНИ НА ТОКСИЧНОТО ДЕЙСТВИЕ НА МИКОТОКСИНТЕ И ВЪЗМОЖНИТЕ ПРОФИЛАКТИЧНИ МЕРКИ И РЕГУЛАЦИИ НА РИСКА**

128. Предложени са подходящи превантивни мерки и възможен ветеринарен хигиенен контрол върху храните и фуражите контаминирани с микотоксини и подходящо осигуряване на безопасността на храните и фуражите по цялата хранителна верига с оглед предотвратяване на възможни интоксикации - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024a,c).

129. Предложени са способности за управлението на риска, профилактични мерки, подходящи превантивни мерки срещу контаминирането с микотоксини на суровини и хранителни продукти преди и след прибиране на реколтата, както и необходимостта от разработване на нови международни разпоредби по отношение на максимално допустимите нива на някои таргентни комбинации от микотоксини - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024a,c)

130. Направена е оценка на ефективността на най-разпространените химически или физични методи за детоксификация и обработка за отстраняване на микотоксините в селскостопански продукти, суровини и фуражи - потвърдителен научно-приложен принос с елементи на оригиналност (Stoev, 2023, 2024b,c)

131. Предложено е използване на някои билкови добавки като възможен метод за предотвратяване на токсичните ефекти на някои целеви микотоксини или комбинация от микотоксини - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024b,c)

132. Предложено е ефективно управление на риска от контаминиране на храни и фуражи с микотоксини чрез използване на естествени фуражни/хранителни добавки, осигуряващи протекция срещу неблагоприятните ефекти на микотоксините или инхибиращи растежа на плесените и производството на микотоксини - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024b,c)

133. Анализирани са възможните биологични методи за обезвреждане, разграждане или биотрансформация на микотоксини в храните и фуражите, като ефективен и рентабилен метод за оползотворяване на контаминирани с микотоксини фуражи - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024b,c)

134. Направен е литературен преглед и са предложени някои естествени антагонисти срещу определени плесени, като е направено сравнение с конвенционалните фунгициди и адсорбенти с оглед осигуряване на безопасно предотвратяване на контаминиране на фуражи и храни с микотоксини - фуражи - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024b,c)

135. Установени са различни възможности за намаляване на токсичността на някои микотоксини чрез изясняване на механизмите на тяхната токсичност и използване на някои целеви антидоти и витамини като добавки към диетата за предотвратяване на специфична токсичност на някои микотоксини - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024b,c)

136. Направени са проучвания в наличната литература върху различни диети при животни и хора, като нисък прием на въглехидрати, повишено съдържание на протеини, ограничаване на калориите или значението на диетичните мазнини за възможно облекчаване на интоксикациите, свързани с експозицията на микотоксини - оригинален научно-приложен принос (Stoev, 2023, 2024b,c)

17/05/2024 г.

Стара Загора



Подпис:

(проф. д-р Стойчо Д. Стоев, двмн)