Научен секретар МУ - Плевен Вх. № НС - НС/16.05.20237

РЕЦЕНЗИЯ

от д.н. Евгения Нешова Иванова – професор по генетика в Пловдивски университет "Паисий Хилендарски"

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен "доктор" по: област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3. Биологически науки; докторска програма "Медицинска биология"

Автор: Александър Божидаров Блажев

Тема: Проучване на заразеността с *Borrelia burgdorferi* sensu lato при иксодови кърлежи в Плевенска област

Научни ръководители:

Проф. д-р Милена Карчева

Доц. д-р Милена Атанасова

Със заповед №1247/25.04.2023 г. на Ректора на Медицински университет – Плевен съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на Александър Божидаров Блажев на тема "Проучване на заразеността с Borrelia burgdorferi sensu lato при иксодови кърлежи в Плевенска област" за придобиване на образователната и научна степен "доктор" по област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3. Биологически науки; докторска програма Медицинска биология.

1. Общо описание на представените материали

Автор на дисертационния труд е Александър Божидаров Блажев – докторант в свободна форма на обучение с научни ръководители проф. д-р Милена Карчева и доц. д-р Милена Атанасова от катедра «Анатомия, хистология, цитология и биология» към Медицински университет – Плевен.

Представеният от докторанта комплект от документи е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав и изискванията за придобиване на образователната и научна степен "доктор" съгласно Приложение 2.2. на Медицински университет – Плевен. Всички справки са подписани, налице са изходящи номера на необходимите документи, копията на дипломи са нотариално заверени, налице е списък с публикации във връзка с тематиката на дисертационния труд, списък с участия в научни форуми и научни проекти, както и справка за съответствията на документацията с националните минимални изисквания за придобиване на образователната и научна степен "доктор". Представен е проект на автореферат и дисертационен труд. Мнението ми е, че представените документи са с достоверна информация.

Прегледът на представената документация относно публикационната дейност на докторанта показва, че той е покрил националните наукометрични изисквания за защита на дисертационния си труд — при изисквани 30 точки по показател Γ .7., в справката се отчитат 44 точки, формирани от две научни публикации в списание с квартил Q4 и една — в списание с квартил Q2.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Александър Блажев е роден през 1975 г. в гр. Русе. Средното си образование завършва през 1994 г. в ТИС «Пеньо Пенев» гр. Русе, придобивайки специалност "Геодезия, картография и фотограметрия". Като възпитаник на Пловдивския университет "Паисий Хилендарски" в периода 1994 – 1999 Александър Блажев е студент в Биологическия факултет, където завършва петгодишен курс на обучение по специалност "Биология" и придобива диплома за ОКС "Магистър" с професионална квалификация "биолог" и специализация "Музейно дело, зоологически и ботанически градини". От 2002 г. до момента работи в МУ – Плевен, първоначално като биолог, а впоследствие като асистент в секцията по биология към катедра «Анатомия, хистология, цитология и биология». През 2006 г. Александър Блажев придобива следдипломна квалификация по специалността «Медицинска биология» с диплома от МУ – Плевен.

През 2018 г. е зачислен като докторант в свободна форма на обучение към посочената катедра и през 2022 г. е отчислен с право на защита на дисертационния си труд "Проучване на заразеността с *Borrelia burgdorferi* sensu lato при иксодови кърлежи в Плевенска област".

Видно от автобиографията и представената документация, научните му интереси са в областта на медицинската и молекулярната биология, паразитологията и имунологията. Отделно от това, докторантът съчетава натрупания опит в сферата на картографията с изследователската си дейност, което проличава от начина на оформяне на дисертацията и от изпълнението на част от специфичните ѝ задачи.

Александър Блажев е участвал в осъществяването на два научно-изследователски проекта, пряко свързани с тематиката на дисертационния му труд.

По отношение на личните му умения и компетенции, следва да се отбележи, че той владее на добро и отлично ниво английски и руски език и на основно и добро ниво – китайски език. Има отлични умения за работа с компютър, специализирана техника и софтуер с приложение в медицинската биология. Притежава артистични умения, изразяващи се в художествена обработка на дърво, пластика от дърво, графика, които споделя при провеждане на курсове и кръжоци при работа с ученици от начално и средно образование. Организационните и преподавателските му умения намират отражение в неговата работа като асистент в МУ – Плевен, където преподава на студенти от АЕО и БЕО – специалности "Медицина", "Фармация" и ДЕСО, отговорностите му като административен асистент към сектор "Биология", работата му с ученици в творчески кръжоци и курсове, организирането и ръководството на групово и индивидуално обучение по Whitewater Kayaking – безопастност и спасяване в бързи води, провеждано в периода 2006 – 2021 г. по реките Видима, Тополница и Осъм.

Наличната информация в професионалната биография на докторанта, както и в представената от него документация показва, че той притежава неоспорими качества на биолог — изследовател и че трупа значим опит в работата си като университетски

преподавател. Характеризира се с инициативност, добри комуникационни умения и способности за работа в екип.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Дисертационният труд на А. Блажев е структуриран правилно и съдържа увод, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, дискусия, обобщени изводи, приноси, приложения, цитирана литература, като най-съществени са частите, представящи резултатите, техните анализи и обсъждането. Трудът е написан на 175 стандартни страници и е илюстриран с 29 таблици, 39 фигури и 13 епизоотологични карти. Библиографската справка включва 283 източника. На базата на направения литературен обзор, проучването е добре мотивирано и комплексно по същността си. Целта е ясно формулирана и предвидените конкретните задачи логично определят възможността за постигането ѝ. Използваната методика е правилно подбрана и приложена. Видно от представените резултати и формулираните изводи, целта и задачите са успешно изпълнени.

Дисертационната разработка е сериозна и широкомащабна, с отчетлива фундаментална и приложна значимост. Фундаменталният ѝ характер се основава на задълбоченото проучване на природни взаимовръзки между различни видове (патогенни микроорганизми – иксодови кърлежи – видове гостоприемници – пътища на заразяване при човека). Приложният характер и практическата ѝ приложимост се откриват в проучването на заразеността с *Borrelia burgdorferi* sensu lato при иксодови кърлежи, която рефлектира върху разпространението на Лаймската борелиоза, както и в прилагането на методи за качествена диагностика, мерки за контрол и превенция на тази инфекция. Проучваният проблем е пряко свързан с подобряване здравния статус на населението чрез информираност относно пътя на заразяване, размерите на паразитното натоварване в определени зони на Плевенска област и начините за предпазване.

Такъв подход за проучване на проблема в България не е прилаган и това е в основата на сериозните оригинални и приложни приноси на дисертационната разработка. Този факт по безспорен начин определя нейната актуалност и значимост.

4. Познаване на проблема

Направеният литературен обзор включва 283 литературни източника, от които 266 на латиница и 17 на кирилица. Той е богат, добре структуриран и онагледен. Последователно са разгледани обектите на проучването, връзката между тях, екологичната същност на проблема, диагностичните подходи, прилагани в практиката, степента на проучване на проблема в страната ни. Видно, докторантът задълбочено е проучил и анализирал по групи огромно количество научна информация, което позволява впоследствие получените в хода на изследването резултати и направените анализи да бъдат съпоставени с данни и анализи на други автори. От представената литературна информация е видно, че докторантът е запознат детайлно с проучвания проблем. Това проличава както от структурното организиране на работата, така и от направените анализи и обсъждане.

В резултат от направения литературен преглед са очертани и дефицитите на определен тип изследвания в България, свързани с тематиката на проучването. Базирайки се на анализираната литература, поставената цел, съпътстващите я задачи и структурните етапи при провеждане на изследването, докторантът разгръща способността си за

осъществяване на самостоятелен експеримент и задълбочен научен анализ, което е в основата на умелото интерпретиране на получените в дисертационния труд резултати.

5. Методика на изследването

В частта "Материал и методи" подробно са описани обектите и инструментите на проучването. Характеризирането на кърлежовите местообитания показва, че е проучван широк и разнообразен район на разпространение. Подбраните и включени в експеримента зони са подробно описани, при което е обърнато внимание на характерните им особености, включително географско разположение, прилежащи територии, доминираща растителност, антропогеннен натиск и др. значими обстоятелства. Акцентирано е и върху различията между тях. Подбраните методи за анализ са разнообразни, което очертава комплексността на проучването. Те съответстват на поставените научна цел и задачи. Проучването се характеризира с отчетлива интердисциплинарност, намираща израз както в разнообразието на проучваните обекти, така и в избора на различни методи за анализ – наблюдение, събиране и обработка на материал с различни методични подходи, микроскопски анализ, молекулярно-генетични анализи с прилагане на PCR техники, изолиране и анализ на ДНК. Всички използвани техники са точно описани и част от тях са добре онагледени с качествени фигури. Приложената статистическа обработка е уместно подбрана и адекватно използвана.

Всичко това е основание за качествено осъществяване на планираното дисертационно проучване.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Проучването на Александър Блажев е посветено на заразеността с *Borrelia burgdorferi* sensu lato при иксодови кърлежи в Плевенска област. Значимостта на проучвания проблем е добре изяснена и мотивирана. Акцентирано е върху Лаймската борелиоза като естествена кърлежово-преносима зоонозна инфекция и ролята на кърлежи от род *Ixodes* за нейното пренасяне. Става ясно, че лабораторната диагностика на заболяването се нуждае от бързи и точни методи, позволяващи откриване на патогена директно в неговите вектори, което би допринесло и за адекватното лечение на болестта, особено в случаите с неизяснена етиология. В дисертационния труд докторантът насочва вниманието си именно към изучаване на популациите от иксодови кърлежи, което обвързва и с възможностите за по-ефективна превенция срещу Лаймската борелиоза. Чрез проучването за първи път в страната се разглеждат проблеми, свързани както с иксодофауната, така и с разпространението на спирохетите от групата на Лаймската борелиоза в Плевенска област.

Представеният дисертационен труд е резултат от задълбочена и ефективна научноизследователска работа. Той е балансиран като обем и съотношение между отделните структурни единици. Най-съществена част в него са описанието на получените резултати и тяхното обсъждане. Резултати са представени подробно и ясно. Подходящо са структурирани и онагледени чрез таблици, фигури и карти. Направеното обсъждане показва добри умения за интерпретиране на научни резултати и съпоставка на получените данни със съобщените от други автори. Добро впечатление прави прецизният научен стил на представяне на информацията и правилното използване на терминология от различни сфери на биологията. На базата на получените резултати, анализа и обсъждането им кратко и ясно са формулирани 10 извода с фундаментално и приложно значение, които са обобщен отговор на поставената цел на дисертационното проучване и съпътстващите я задачи.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Докторантът е систематизирал приносите на дисертационния си труд в две групи – оригинални и потвърдителни и е формулирал конкретно 8 оригинални и 5 потвърдителни приноси. Систематизираните от него приноси съответстват на получените резултати и базираните на тях обобщения и заключения като в голяма степен отговарят на оригиналността, научната приложимост и методическата значимост на направеното изследване. Мнението ми е, че на базата на проведеното проучване може да се формулира и трета група приноси – с приложен характер, към които да се включи отбелязаното в извод №10 от дисертацията значимо обстоятелство, че 1) е направена оценка на риска от заразяване на населението в района на Плевен на базата на анализа за инфектираност на изследваните кърлежи; 2) са изработени карти с данни за установените огнища с кърлежови популации и нивата им на инфектираност с В. burgdorferi s.l.; 3) направеното проучване може да се използва като модел и стратегия за управление и профилактика на разглежданите инфекциозни заболявания, а също и за комплексни проучвания в други райони на страната.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Публикационната дейност на докторанта е в съответствие с минималните национални изисквания за придобиване на ОНС "доктор" в професионална направление 4.3. Биологически науки. По темата на дисертационния си труд той е представил три научни публикации, чиито първи автор е той. Две от статиите са в списание General medicine, което е с SJR импакт ранг и квартил Q4 и една е в списание Microorganisms, което е с импакт фактори и квартил Q2. Докторантът е представил и списък с 8 участия в национални и международни научни форуми. Без да се изисква като необходима документация към минималните наукометрични показатели, А. Блажев е представил и списък с 27 цитирания в реномирани научни издания, повечето от които с ИФ, което показва, че той е вече разпознаваем сред научната общност изследовател и публикациите му са ценени и обсъждани.

9. Лично участие на докторанта

Представените документи, приложената в проучването комплексна методика, отчетените резултати и обсъждането им, оригиналните научни и приложни приноси, водещото авторство в посочените публикации и участия в научни форуми потвърждават, че дисертационният труд е лично дело на докторанта Александър Блажев. При прегледа на дисертационния труд и приложените към него публикации не откривам елементи на плагиатство.

10. Автореферат

Представеният проект на автореферат е правилно изготвен и отразява същността на дисертационния труд. В крайния му вариант трябва да се добави състав на научната жури и да се отбележат рецензентите. Констатирам несъответствие в начина на представяне на публикациите към дисертационния труд към автореферата, в списъка с публикации и в справката за съответствия с минималните наукометрични изисквания.

11. Критични забележки и препоръки

Прегледът и оценката на предоставената дисертация и съпътстващи процедурата по защитата ѝ документи ми дават основания да обърна внимание на някои пропуски и несъответствия, които не омаловажават достойнствата ѝ:

- При изготвяне на професионалната си автобиография докторантът не е предоставил достатъчно систематизирана и пълна информация или е допуснал някои несъответствия с други налични документи (например CV и диплома за следдипломна квалификация), свързани с моменти в професионалното му израстване, времето на провеждане и придобиване на професионална квалификация, период на обучение в ОКС "доктор". Определено, наличието на такава информация би допринесло за повече яснота в професионалната автобиография;
- В автореферата две от публикациите са изписани на английски език, а в списъка с публикации и справката за съответствия с минималните наукометрични изисквания, същите са представени на български език. Правилно е записването да се уеднакви и да съответства на приетия начин за представяне на библиографска информация. По същия начин при представяне на списъка с участия в конференции под №3 част от представената информация е на български, а друга част на английски, при условие, че става въпрос за международна конференция;
- Намирам за уместно към посочените в автореферата приноси да се формулира и добави трета група приноси с приложен характер, към която да се включат отбелязаните в извод №10 от дисертацията констатации;

Направените критични бележки и препоръка не повлияват крайната ми положителна оценка на предоставената за рецензиране дисертация и документацията към нея, а целят да насочат вниманието на кандидата към още по-голяма прецизност при представяне на професионална информация.

12. Лични впечатления

Познавам Александър Блажев от времето, когато бе студент в Биологическия факултет на Пловдивския университет "Паисий Хилендарски". По време на обучението си той показваше задълбочен интерес и силна мотивация за развитие в областта на биологичните науки. Отличаваше се с любознателност, артистичност, инициативност и активност. По-късно, при работата си като биолог в МУ – Плевен и като млад изследовател продължи контактите си с колеги от състава на катедра "Биология на развитието", като черпеше и споделяще опит във връзка с подготвяне материали за упражнения и някои методически подходи при лабораторната работа. Впечатлена съм от систематизираната, базирана на комплексен анализ и богати резултати дисертационна разработка, която разкрива пред мен мотивиран, изграден и отдаден на научното търсене изследовател.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Препоръчвам резултатите от проучването да бъдат популяризирани на възможно повече научни форуми, както и на целенасочено организирани тематични срещи с обществеността, на които да се изяснява същността на проучвания проблем с кърлежите и пренасяните от тях инфекции, възможните пътища на заразяване при човека, размера на

паразитното натоварване в проучените зони на Плевенска област, начините за предпазване от инфектиране и възможностите за подобряване здравния статус на населението чрез повишаване на неговата информираност.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на Александър Божидаров Блажев на тема "Проучване на заразеността с *Borrelia burgdorferi* sensu lato при иксодови кърлежи в Плевенска област" съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на Медицински университет – Плевен.

Дисертационният труд показва, че докторантът притежава задълбочени теоретични познания и значим професионален опит по научна специалност "Медицинска биология". В хода на обучението си в ОНС "доктор" той е показал уменията си да прилага разнообразни методични подходи за постигане на ясно формулирани научни цели, да организира експериментална дейност, да обработва, анализира и обобщава научни резултати. Това характеризира Александър Блажев като изграден млад изследовател, притежаващ значим потенциал за бъдеща научна дейност в областта на медицинската биология.

Поради гореизложеното, убедено давам своята *положителна оценка* за представения дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и *предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен "доктор"* на Александър Божидаров Блажев в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма "Медицинска биология".

15. 05. 2023 г.

Изготвил становището: На основание чл. 59 от ЗЗЛД

Гр. Пловдив

(Проф. д.н. Евгения Н. Иванова)

REVIEW

By D.Sc. Evgeniya Neshova Ivanova

Professor in Genetics at the University of Plovdiv "Paisii Hilendarski"

Of a dissertation for awarding the educational and scientific degree "**Doctor**" by: field of higher education 4. Natural sciences, mathematics and informatics; professional direction 4.3. Biological Sciences; PhD program Medical biology

Author: Alexander Bozhidarov Blazhev

Topic: Investigation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in ixodid ticks in the Pleven region

Scientific supervisors:

Prof. Dr. Milena Karcheva, MD, PhD Assoc. Prof. Dr. Milena Atanasova, PhD

By order No. 1247/25.04.2023 of the Rector of the Medical University - Pleven, I have been appointed as a member of the scientific jury to ensure a procedure for the defense of Alexander Bozhidarov Blazhev's dissertation work on the topic "Investigation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in ixodid ticks in the Pleven region" for the acquisition of the educational and scientific degree "Doctor" in the field of higher education 4. Natural sciences, mathematics and informatics; professional direction 4.3. Biological Sciences; doctoral program Medical Biology.

1. General description of the presented materials

The author of the dissertation is Alexander Bozhidarov Blazhev – a PhD student in a free form of study with scientific supervisors Prof. Dr. Milena Karcheva and Assoc. Prof. Dr. Milena Atanasova from the Department of "Anatomy, Histology, Cytology and Biology" at the Medical University – Pleven.

The set of documents submitted by the PhD student is in accordance with the Regulations for the Development of the Academic Staff and the requirements for acquiring the educational and scientific degree "Doctor" according to Appendix 2.2. of the Medical University – Pleven. All references are signed, output numbers of the necessary documents are available, copies of diplomas are notarized, there is a list of publications related to the subject of the dissertation, a list of participations in scientific forums and scientific projects, as well as a reference on the correspondence of the documentation with the national minimum requirements for acquiring the educational and scientific degree "Doctor". A draft of an abstract and a dissertation is presented. It is my opinion that the presented documents contain reliable information.

The review of the submitted documentation regarding the PhD student's publication activity shows that he has met the national scientific requirements for the defense of his dissertation work - with the required 30 points under indicator G.7., the reference includes 44 points formed by two scientific publications in a journal with a quartile Q4 and one in a journal with a quartile Q2.

2. Brief biographical data for the PhD student

Alexander Blazhev was born in 1975 in Ruse. He completed his secondary education in 1994 at the "Penyo Penev" Technical School of Construction, Architecture and Geodesy, Ruse, majoring in "Geodesy, Cartography and Photogrammetry". As a graduate of the University of Plovdiv "Paisii Hilendarski" in the period 1994 – 1999, Alexander Blazhev was a student at the Faculty of Biology, where he completed a five-year course of study in the specialty "Biology" and obtained a diploma for "Master" degree with the professional qualification "biologist" and specialization "Museum work, zoological and botanical gardens". From 2002 to the present, he worked at the Medical University - Pleven, initially as a biologist, and later as an assistant in the biology section of the "Anatomy, histology, cytology and biology" department. In 2006, Alexander Blazhev acquired a postgraduate qualification in the specialty "Medical Biology" with a diploma from the MU – Pleven.

In 2018, he was enrolled as a PhD student in a free form of study at the mentioned department and in 2022, he got the right to defend his dissertation "Investigation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in ixodid ticks in the Pleven region".

As could be seen from the curriculum vitae and the presented documentation, his scientific interests are in the field of medical and molecular biology, parasitology and immunology. Apart from that, the PhD student combines the accumulated experience in the field of cartography with his research activity, which is evident from the way the dissertation is structured and from the implementation of some of its specific tasks.

Alexander Blazhev has participated in the implementation of two research projects directly related to the subject of his dissertation work.

Regarding his personal skills and competences, it should be noted that he has a good and excellent command of English and Russian and a basic and also good command of Chinese. He has excellent computer skills, works with specialized equipment and software with application in medical biology. He has artistic skills, expressed in artistic processing of wood, wood plastic, graphics, which he shares during courses when working with elementary and secondary school students. His organizational and teaching skills are reflected in his work as an assistant at the MU - Pleven, where he teaches students in specialties "Medicine", "Pharmacy" and DESO, his responsibilities as an administrative assistant to the "Biology" sector, his work with students in creative circles and courses, the organization and management of group and individual training in Whitewater Kayaking - safety and rescue in fast waters, held in the period 2006 - 2021 along the Vidima, Topolnitsa and Osam rivers.

The available information in the PhD student's professional biography, as well as in the documentation presented by him, shows that he possesses undeniable qualities as a biologist-researcher and that he is gaining significant experience in his work as a university teacher. It is characterized by initiative, good communication skills and abilities to work in a team.

3. Actuality of the topic and appropriateness of the set goals and tasks

The dissertation work of A. Blazhev is structured correctly and contains an introduction, literature review, aim and tasks, materials and methods, results, discussion, general conclusions, contributions, appendices, cited literature, the most essential being the parts presenting the results, their analyzes and the discussion. The dissertation is written on 175 standard pages and is illustrated by 29 tables, 39 figures and 13 epizootological maps. The bibliographic reference includes 283 sources. Based on the literature review, the study is well motivated and complex. The aim is clearly formulated and the specific tasks foreseen logically determine the possibility

of its achievement. The methodology used is correctly selected and applied. As could be seen from the presented results and the conclusions done, the aim and tasks have been successfully fulfilled.

The dissertation development is serious and large-scale, with distinct fundamental and applied significance. Its fundamental character is based on the in-depth study of natural interrelationships between different species (pathogenic microorganisms – ixodid ticks – host species – routes of human infection). The applied nature and its practical applicability are found in the study of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in ixod ticks, which reflects on the spread of Lyme borreliosis, as well as in the application of qualitative diagnostic methods, control measures and prevention of this infection. The studied problem is directly related to improving the health status of the population through awareness of the route of infection, the size of the parasite load in certain areas of the Pleven region and the ways of prevention.

Such an approach to the study of the problem has not been applied in Bulgaria, and this is the basis of the serious original and applied contributions of the dissertation development. This fact indisputably determines its relevance and significance.

4. Knowing the problem

The literature survey made includes 283 literary sources, of which 266 are in Latin and 17 in Cyrillic. It is rich, well-structured and well-illustrated. The objects of the study, the relationship between them, the ecological essence of the problem, the diagnostic approaches applied in practice, the degree of research of the problem in our country were successively examined. Apparently, the PhD student has thoroughly studied and analyzed by groups a huge amount of scientific information, which subsequently allows the results obtained in the course of the research and the analyzes made to be compared with data and analyzes of other authors. From the presented literary information, it is clear that the PhD student is familiar with the studied problem in detail. This is evident both from the structural organization of the work and from the analysis and discussion done.

As a result of the literature review, the deficits of a certain type of research in Bulgaria related to the studied problem have been outlined. Based on the studied literature, the set goal, the accompanying tasks and the structural stages in conducting the research, the PhD student develops his ability to carry out an independent experiment and in-depth scientific analysis, which is the basis of the skillful interpretation of the results obtained in the dissertation work.

5. Research methodology

In the section "Material and methods" the objects and instruments of the study are described in detail. Characterization of tick habitats indicates that a wide and diverse distribution area has been studied. The areas selected and included in the experiment are described in detail, paying attention to their characteristic features, including geographical location, adjacent territories, dominant vegetation, anthropogenic pressure, etc. significant circumstances. Emphasis is also placed on the differences between them. The selected methods of analysis are diverse, which outlines the complexity of the study. They correspond to the set scientific goal and tasks. The study is characterized by a distinct interdisciplinary nature, which is expressed both in the diversity of the studied objects and in the choice of different methods for analysis - observation, collection and processing of material with different methodological approaches, microscopic analysis, molecular genetic analyzes with the application of PCR techniques, DNA isolation and analysis. All the techniques used are precisely described and some of them are well illustrated

with quality figures. The applied statistical processing is appropriately selected and adequately used.

All this is a basis for quality implementation of the planned dissertation research.

6. Characterization and evaluation of the dissertation work

Alexander Blazhev's study is devoted to the infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato in ixodid ticks in the Pleven region. The significance of the research problem is well explained and motivated. Emphasis is placed on Lyme borreliosis as a natural tick-borne zoonotic infection and the role of ixod ticks in its transmission. It becomes clear that the laboratory diagnosis of the disease needs fast and accurate methods allowing the detection of the pathogen directly in its vectors, which would also contribute to the adequate treatment of the disease, especially in cases with unclear etiology. In his dissertation, the PhD student directs his attention precisely to the study of the populations of ixodid ticks, which also ties in with the possibilities for more effective prevention against Lyme borreliosis. Through the study, for the first time in the country, problems related to both the ixodofauna and the spread of spirochetes from the Lyme borreliosis group in the Pleven region are examined.

The presented dissertation work is the result of thorough and effective research work. It is balanced in terms of volume and ratio between individual structural units. The most essential part of it is the description of the obtained results and their discussion. Results are presented in detail and clearly. They are appropriately structured and illustrated through tables, figures and maps. The discussion shows good skills in interpreting scientific results, as well as in comparisons of the obtained data with those reported by other authors. A good impression is done by the right scientific style of presenting information and the correct use of terminology from different biology fields. On the basis of the obtained results, their analysis and discussion, 10 conclusions with fundamental and applied importance are briefly and clearly formulated, which are a generalized answer to the set aim of the dissertation study and its accompanying tasks.

7. Contributions and significance of the development for science and practice

The PhD student has systematized the contributions of his dissertation work into two groups – original and confirmatory, and has specifically formulated 8 original and 5 confirmatory contributions. His systematized contributions correspond to the obtained results and the summaries and conclusions based on them, and to a large extent correspond to the originality, scientific applicability and methodological significance of the research carried out. My opinion is that on the basis of the conducted research, a third group of contributions could be formulated of an applied nature, to which the noted in conclusion No. 10 of the dissertation significant circumstance to be included, that 1) assessment of the risk of infection of the population in the area should be included of Pleven was made on the basis of the analysis of infectivity of the examined ticks; 2) data maps of established outbreaks with tick populations and their levels of infection with *B. burgdorferi* s.l. are made; 3) the research conducted could be used as a model and strategy for the management and prevention of the considered infectious diseases, as well as for complex studies in other regions of the country.

8. Evaluation of publications on the dissertation work

The publication activity of the PhD student is in accordance with the minimum national requirements for acquiring the PhD degree in professional field 4.3. Biological Sciences. On the

topic of his dissertation work, he has presented three scientific publications, of which he is the first author. Two of the articles are in the journal General medicine, which has an SJR impact rank and a quartile of Q4, and one is in the journal Microorganisms, which has an impact factor and a quartile of Q2. The PhD student has also presented a list of 8 participations in national and international scientific forums. Without requiring as necessary documentation to the minimum scientific indicators, A. Blazhev has also presented a list with 27 citations in reputable scientific publications, most of them with IF, which shows that he is already recognizable among the scientific community as a researcher and his publications are valued and discussed.

9. Personal participation of the PhD student

The presented documents, the complex methodology applied in the study, the reported results and their discussion, the original scientific and applied contributions, the leading authorship in the mentioned publications and participation in scientific forums confirm that the dissertation work is the personal work of the PhD student Alexander Blazhev. When reviewing the dissertation work and the publications attached to it, I have not found any elements of plagiarism.

10. Abstract

The presented draft of the abstract is properly prepared and reflects the essence of the dissertation work. In its final version, the composition of the scientific jury should be added and the reviewers should be noted. I note some discrepancy in the way the publications are presented in the dissertation work and the abstract on the one hand and in the list of publications and in the reference for compliance with the minimum scientific requirements – on the other hand.

11. Critical remarks and recommendations

The review and evaluation of the submitted dissertation and documents accompanying the procedure for its defense give me reasons to draw attention to some gaps and inconsistencies that do not detract from its merits:

- When preparing his professional CV, the PhD student did not provide sufficiently systematized and complete information or allowed some inconsistencies with other available documents (e.g. CV and postgraduate qualification diploma) related to periods in his professional growth, the time of conducting and acquiring a professional qualification, period of study at the PhD degree. Certainly, the availability of such information would contribute to more clarity in the professional CV;
- In the abstract, two of the publications are written in English, and in the list of publications and the reference for compliance with the minimum scientific requirements, the same are presented in Bulgarian. It is correct that the recording should be standardized and corresponds to the accepted way of presenting bibliographic information. In the same way, when presenting the list of participations in conferences under No. 3, part of the presented information is in Bulgarian, and another part in English, provided that it is an international conference participation;
- I find it appropriate to be formulated and added a third group to the contributions indicated in the abstract contributions with an applied nature, to which the findings noted in the dissertation conclusion No 10 should be included;

The critical comments and recommendation made do not affect my final positive assessment on the dissertation submitted for review and its documentation, but aim to direct the PhD student's attention to even greater precision in the presentation of professional information.

12. Personal impressions

I have known Alexander Blazhev since he was a student at the Faculty of Biology of the University of Plovdiv "Paisii Hilendarski". During his studies, he showed a deep interest and a strong motivation to develop in the field of biological sciences. He was distinguished by curiosity, artistry, initiative and activity. Later, during his work as a biologist at the MU - Pleven and as a young researcher, he continued his contacts with colleagues from the "Developmental Biology" department, drawing and sharing experience in connection with preparing materials for exercises and some methodological approaches in the laboratory work. I am impressed by the systematized dissertation development based on complex analysis and rich results, which reveals him as a motivated, responsible and dedicated researcher.

13. Recommendations for future use of dissertation contributions and results

I recommend that the results of the study be popularized in as many scientific forums as possible, as well as in purposefully organized thematic meetings with the public. This will make clear the nature of the research problem related to tick-borne infections, the possible routes of infection in humans, the size of the parasite load in the studied areas of the Pleven region, the ways to prevent infection and the opportunities to improve the health status of the population by increasing his awareness.

CONCLUSION

The dissertation work of Alexander Bozhidarov Blazhev on the topic "Investigation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in ixodid ticks in the Pleven region" contains scientific and scientific-applied results that represent an original contribution to science and meet the requirements of the Law on the Development of Academic Staff in Republic of Bulgaria (LDASRB), the Regulations for the implementation of the LDASRB and the Regulations of the Medical University – Pleven.

The dissertation shows that the PhD student has in-depth theoretical knowledge and significant professional experience in the scientific specialty "Medical Biology". In the course of his studies at the PhD degree, he demonstrated his skills in applying a variety of methodical approaches to achieve clearly formulated scientific goals, organizing experimental activity, processing, analyzing and summarizing scientific results. This characterizes Alexander Blazhev as a well-established young researcher with significant potential for future scientific activity in the field of medical biology.

Due to the above, I confidently give my positive assessment of the presented dissertation work, abstract, achieved results and contributions, and I propose to the honorable scientific jury to award the educational and scientific degree "Doctor" to Alexander Bozhidarov Blazhev in the field of higher education: 4. Natural sciences, mathematics and informatics, professional direction 4.3. Biological Sciences, Doctoral Program "Medical Biology".

15. 05. 2023 г. Reviewer: **На основание чл. 59 от 33ЛД** Ploydiv (Prof. D.Sc. Evgeniya N. Ivanova)