

До Председателя на Научно жури,
съгласно Заповед № 2089/23.07.2025 г.
на Ректора на МУ-Плевен

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Милена Димитрова Карчева, д.м.
катедра „Инфекциозни болести, епидемиология, паразитология и тропическа
медицина“, Медицински Университет-Плевен
Член на научно жури по Заповед № 2089/23.07.2025 г. на Ректора на Медицински
Университет-Плевен

ОТНОСНО: процедура за придобиване на ОНС „Доктор“, професионално направление
7.1. Медицина, докторска програма "Медицинска паразитология и хелминтология" на
докторанта д-р Людмил Стефанов Стоянов.

Кандидатът е представил всички предвидени в ЗРАС и Правилника за неговото
приложение при МУ-Плевен документи.

Декларирам, че нямам конфликт на интереси с кандидата.

Тема на дисертационния труд: Ролята на *Blastocystis sp.* и *Toxocara spp.* като
паразитни алергени: диагностични проучвания при пациенти с остра и хронична
спонтанна уртикария

Научен ръководител: доц. д-р Ивелин Ангелов Ангелов, д.м.

Представените материали са на електронен носител и са в съответствие с
изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение за придобиване на
ОНС „Доктор“.

Представеният ми за становище дисертационен труд на д-р Людмил Стефанов
Стоянов, докторант в редовна форма на обучение по докторска програма "Медицинска
паразитология и хелминтология" към катедрата „Инфекциозни болести,
епидемиология, паразитология и тропическа медицина“, Факултет „Обществено
здраве“ при МУ-Плевен, обхваща 152 стандартни машинописни страници и съдържа 12
таблици, 19 фигури и 2 приложения. Цитирани са 214 литературни източници, от които
9 на кирилица и 205 на латиница. От последните 5 години са цитирани 76 (36%) от

литературните източници. Към дисертацията има две приложения, които представляват Карта на пациента, отразяващи резултатите от проведените изследвания (Приложение 1 - Бластистоза при пациенти с остра и хронична уртикария – разпространение и генотипово разнообразие и Приложение 2 – Промени в нивата на общия IgE, еозинофилния катионен протеин и броя на еозинофилните клетки при пациенти с токсикароза и клинично изявена алергия). Дисертационният труд е написан по общоприетия принцип и се състои от Литературен обзор (25 стр.), Цел и задачи (1 стр.), Материали и Методи (21 стр.), Резултати (31 стр.), Анализ на резултатите и обсъждане (22 стр.), Заключение (2 стр.), като накрая са изведени по-важните Изводи и Приноси.

Актуалност и значимост на темата

Дисертационният труд е посветен на ролята на *Blastocystis sp.* и *Toxocara spp.* като паразитни алергени в проучване на пациенти с остра и хронична спонтанна уртикария. Актуалността на темата произтича от факта, че алергичните състояния са едни от най-често срещаните в човешката патология. През последните години се наблюдава увеличение на тяхното разпространение. В научната литература механизмите и ролята на факторите на околната среда в патогенезата на тези заболявания все още се дискутират, но една от причините за възникването им са редица паразитни инвазии с прояви на остра и хронична спонтанна уртикария, което определя и практическата насоченост на предложената научна разработка.

Във връзка с проучването е реализиран Проект № D2/2023г „Промени в нивата на общия IgE, еозинофилния катионен протеин и броя на еозинофилните клетки при пациенти с токсикароза и клинично изявена алергия“, финансиран от Медицински университет – Плевен.

Структура на дисертационния труд

Научният труд на д-р Людмил Стоянов отговаря на изискванията за разработване на дисертационни трудове: начин на структуриране, представяне на проблема, анализ на получените данни и защита на основните тези на автора. Библиографията е актуална и изчерпателна, като източниците са избрани тематично.

Прегледът на научната литература е целенасочен и информативен, като предоставя един актуален обзор на съвременното състояние на алергичните прояви при хората, както и ролята на проучваните паразити в генезата на алергичните реакции. Критично са отчетени недостатъчната информация за алергичните състояния в България по отношение на статистика и етиологично уточняване. Представени са подробно данни за ролята *Blastocystis sp.* и *Toxocara spp.* в медицинската практика, както

в България, така и по света. Много добре са описани диагностичните методи, използвани последователно през годините и съвременните методи за откриване на паразитите. Те са конкретни и очертават ясен план за провеждане на изследванията.

Цел и задачи. На базата на направения литературен обзор е очертана целта и са формулиране 5 задачи на дисертационния труд. Поставената цел е ясна и точна - да се проучи ролята на *Blastocystis sp.* и *Toxocara spp.* като паразитни алергени при пациенти с остра и хронична спонтанна уртикария. Задачите са конкретни и са пряко свързани с научната хипотеза и постигането на целта на проучването.

Материалът и методите са описани много изчерпателно. Методичните подходи са правилно подбрани, както за постигане на целта на дисертационния труд, така и с оглед на достоверност на докладваните резултати. Включени са три групи изследвани лица – лица с остра уртикария, изследвани по клинични и/или епидемиологични показания, лица с хронична уртикария и контролна група от здрави лица без алергична симптоматика, разпределени по пол и възраст, нагледно представени в таблица. Броят на изследваните и от трите групи е като следва – 621, 1058 и 1424, което е достатъчно за статистически анализ.

В тази част на дисертационния труд се вижда, че докторантът е усвоил значителен набор от класически и съвременни методи за диагностика и е подбрал правилно методичните подходи за разрешаване на поставената цел.

Приложените статистически методи са подходящи за анализ на резултатите от проучването.

Собствените проучвания са представени в един раздел, в който се следва последователността на задачите. Резултатите са онагледени с таблици и фигури, които дават синтезирана информация и улесняват възприемането на материала. Статистическата достоверност е представена много добре в текста. Получените резултати са убедителни и са описани ясно и точно, което създава отлична прегледност и документиране на научните факти. По първа задача - *Определяне на честотата на инвазиране с Blastocystis sp. сред пациенти с остра и хронична спонтанна уртикария*, докторантът установява сигнификантно по-висок екстензитет на *Blastocystis sp.* (9.6% спрямо 1.2%) сред пациентите с уртикария спрямо лицата от контролната група. Екстензитетът на опаразитяване с *Blastocystis sp.* при пациентите с остра уртикария е 8.4%, а при лицата с хронична спонтанна уртикария – 10.4%. При сравняване на екстензитета на опаразитяване с *Blastocystis sp.* сред пациентите с остра уртикария и пациентите с хронична спонтанна уртикария, не се установява статистически

достоверни различия. Сред положителните за *Blastocystis sp.* пациенти преобладават случаите във възрастовите групи 41-60 години (37.40% от опаразитените) и 61-86 години (31.30%). Прави впечатление, че от пациентите с остра и хронична спонтанна уртикария изследвани за *Blastocystis sp.* 811 (67.75%) са от женски пол. Втората задача - *Определяне и сравняване на генотиповата принадлежност на бластоцистни изолати от пациенти с остра и хронична спонтанна уртикария и контролна група лица* е използван конвенционален PCR. Подобен анализ на пробите установява, че най-често откривания субтип на *Blastocystis sp.* от пациенти с уртикария е ST3. Той е изолиран във фекалните проби на 25 пациенти (80.65%). Субтип 3 е установен при 11 от пациентите с остра уртикария (42.31%), при 15 от изследваните с хронична спонтанна уртикария (57.69%). Субтип 3 е най-често изолирания субтип и от здравите паразитоносители (в 64.71 % от изследваните). Докторантът коректно отбелязва, че поради малкия брой проби категорични заключения не е уместно да бъдат направени. Съгласно третата задача - *Сравняване на честотата на носителство на антитоксокарни IgG антитела при пациенти с остра и хронична спонтанна уртикария и контролна група лица*, докторантът установява сигнификантно по-висока честота на положителните резултати за антитоксокарни IgG антитела сред пациентите с остра и хронична уртикария спрямо контролната група лица. Задача 4-та е свързана със *Сравняване на промените в нивата на общия IgE при пациенти с остра и хронична спонтанна уртикария и носителство на антитоксокарни IgG антитела спрямо контролната група лица*. Установено е, че между средните стойности на общия IgE в двете сравнявани групи алергично болни лица – с наличие и без ниво на антитоксокарни IgG антитела няма статистически значима разлика. Петата задача е свързана със *Сравняване на нивата на ЕСР (Еозинофилен катионен протеин) между пациенти с остра и хронична спонтанна уртикария, носители на антитоксокарни IgG антитела и здрави контролни лица*. Установява се, че колкото по-високи са нивата на антитоксокарните IgG антитела, толкова по-изразени са нивата на ЕСР при пациентите с остри прояви на алергична реакция. Не се открива статистически значима корелация между нивата на ЕСР и на антитоксокарните IgG антитела сред пациентите с хронична спонтанна уртикария.

Анализ на резултатите и обсъждане. В този раздел на дисертацията е направен подробен анализ на резултатите, които са сравнени с подобни такива в Европа и на други континенти. Подробно са описани известни факти, както и все още недоразвити научни хипотези, което показва потенциал за работа в бъдещи проучвания.

Заклучение. Авторът обобщава, че извършеното проучване и формулирани изводи ще бъдат от полза за лекарите от практическата здравна мрежа и ще ги подпомогнат при вземането на диагностични решения за изясняване етиологията на алергичните прояви и необходимостта от паралелно лечение с антиалергични и антипаразитни лекарствени средства.

Изводи

Изводите са 9 и са много добре формулирани. Те са конкретни, произтичат от поставените задачи, получените резултати и тяхното обсъждане.

Приноси

Д-р Людмил Стоянов е посочил три оригинални научни приноса и пет с научно-приложен характер. Приемам приносите, тъй като те отразяват най-важните научни постижения на дисертационния труд.

Оценка на задължителните наукометрични показатели, свързани с дисертационния труд

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 3 журнални статии в списания с научно рецензиране, импакт фактор и импакт ранг. В една от статиите д-р Стоянов е водещ автор. Представена е справка за участие в 4 научни форума, като във всички дисертантът е първи автор. Чрез тях резултатите от разработения дисертационен труд са станали достояние на широк кръг от академичната общност. С това е изпълнено едно от важните изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и Правилника за неговото приложение.

Авторефератът е структуриран в 55 страници, включва всички резултати от дисертационния труд.

Заклучение

Познавам д-р Людмил Стоянов от студентските му години и съм свидетел на неговата отдаденост като преподавател и на старанието му при разработването на дисертационния труд. Определено считам, че представеният дисертационен труд съдържа приноси, които могат да послужат на клиничната практика за повишаване на насочеността на различни специалисти към паразитози като вероятна причина остра и/или хронична уртикария.

Дисертационният труд показва, че докторантът д-р Людмил Стоянов притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научната специалност

„Медицинска паразитология и хелминтология“, и демонстрира качества за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за присъждането на образователната и научна степен **‘ДОКТОР’** на д-р Людмил Стефанов Стоянов в докторска програма по **„Медицинска паразитология и хелминтология“**

04.08.2025 г.

Изготвила становището: На основание чл. 59 от ЗЗЛД

/Проф. д-р Милена Карчева, д.м./

**To the Chairman of the Scientific Jury,
Appointed by Order № 2089/23.07.2025
of the Rector of Medical University - Pleven**

STATEMENT

from Prof. Milena Dimitrova Karcheva, MD, PhD

Department of “Infectious Diseases, Epidemiology, Parasitology and Tropical Medicine”,
Medical University - Pleven

Member of the Scientific Jury under Order № 2089/23.07.2025
of the Rector of Medical University - Pleven

REGARDING: procedure for acquirement of the educational and scientific degree “Doctor”, professional field Medicine, doctoral program “Medical parasitology and helminthology” of the doctoral candidate Lyudmil Stefanov Stoyanov, MD.

The candidate has submitted all relevant documents, required by the Law for the Development of Academic Staff and the Rules for its application at MU - Pleven.

I declare that I have no conflict of interest, regarding the candidate.

Topic of the dissertation thesis: Role of *Blastocystis sp.* and *Toxocara spp.* as parasitic allergens: a diagnostic study on patients with acute and chronic spontaneous urticaria.

Research advisor: Assoc. prof. Ivelin Angelov Angelov, MD, PhD

The submitted materials have been digitized and are in accordance with the requirements set by the Law for the Development of Academic Staff of the Republic of Bulgaria and the Rules for its application for the acquirement of the scientific degree of “Doctor”

The dissertation thesis submitted by dr. Lyudmil Stefanov Stoyanov, full-time doctoral candidate in the doctoral program “Medical parasitology and helminthology” in the Department of “Infectious diseases, epidemiology, parasitology and tropical medicine”, Faculty of “Public Health” of Medical University - Pleven, covers 152 standard pages and contains 12 tables, 19 figures and 2 appendices. The work cites 214 literature sources, of which 9 are in Cyrillic and 205 are in Latin. Seventy-six (36%) of the sources have been published in the last 5 years. The dissertation includes two appendices which are patient cards

that reflect the results of the performed studies (Appendix 1 – Blastocystosis in patients with acute and chronic spontaneous urticaria – distribution and genotype diversity and Appendix 2 – Changes in the levels of total serum IgE, eosinophil cationic protein and eosinophils in patients with toxocariasis and clinical allergy). The dissertation thesis is written in accordance with the generally accepted principles and contains a Literature review (25 pages), Goal and Tasks (1 page), Materials and Methods (21 pages), Results (31 pages), Analysis of the results and discussion (22 pages), Conclusion (2 pages) and at the end of the work, the most important conclusions and contributions.

Relevance and importance of the topic

The dissertation topic is on the role of *Blastocystis sp.* and *Toxocara spp.* as parasitic allergens among patients with acute and chronic spontaneous urticaria. The topic is relevant because allergic diseases are among the most common in human pathology. In recent years, there has been an increase in their prevalence. The exact mechanisms and roles of the factors of the external environment as a part of the pathogenesis of these diseases are still being discussed in scientific literature. One of the causes for the development of allergization are various parasitic invasions that present with acute or chronic spontaneous urticaria, which also determines the practical focus of the proposed scientific work.

As a part of the study a project funded by Medical University – Pleven, was realized - Project № D2/2023 “Changes in the levels of total IgE, eosinophil cationic protein and eosinophils in patients with toxocariasis and clinical allergy”.

Structure of the dissertation thesis

Dr. Lyudmil Stoyanov's scientific work meets the requirements for the development of a dissertation: structure, presentation of the problem, analysis of the resulting data, and defense of the author's main theses. The bibliography is relevant and exhaustive and the sources have been chosen thematically.

The scientific literature review is focused and informative and provides an up-to-date overview of the current state of allergic conditions in humans, as well as the role of the studied parasites in the genesis of allergic reactions. The insufficient information on the statistics and etiology of allergic conditions in Bulgaria has been assessed critically. The author has presented detailed data on the role of *Blastocystis sp.* and *Toxocara spp.* in medical practice in both Bulgaria and the rest of the world. The diagnostic methods used over the years, as well as modern methods for parasitic diagnosis have been presented very well. They are specific and outline a clear plan for the conducting of research.

Goal and tasks. Based on the literature review, the author has formulated a goal and 5 tasks as part of the dissertation work. The goal is clear and concise – to study the role of *Blastocystis sp.* and *Toxocara spp.* as parasitic allergens among patients with acute and chronic spontaneous urticaria. The tasks are specific and are directly related to the scientific hypothesis and work towards the goal of the study.

The Materials and Methods have been described in great detail. The methodological approaches are correctly selected, both as a way of achieving the goal of the dissertation work and in terms of the reliability of the reported results. Three groups of individuals have been studied – subjects with acute urticaria, that have been studied based on clinical and/or epidemiological indications, subjects with chronic spontaneous urticaria and a control group of healthy individuals without any allergic symptoms, all distributed based on sex and age and neatly arranged in a table. The number of individuals in each group is respectively 621, 1058 and 1424, which is enough for statistical analysis.

From this part of the dissertation thesis, one can see that the doctoral candidate has mastered a significant set of classical and modern diagnostic methods and has correctly selected the methodological approaches to resolve his set goal.

The applied statistical methods are suitable for analyzing the results of the study.

The results are described in their own section, which follows the sequence of the tasks. The results are shown using tables and figures, which synthesize the information and facilitate the understanding of the material. The statistical reliability is presented very well in the text. The results obtained are convincing and are described clearly and precisely, which creates excellent clarity in the documentation of the scientific facts. On the first task - *To study and compare the rate of infection with Blastocystis sp. in patients with acute and chronic spontaneous urticaria and among healthy controls*, the author describes a significantly higher rate of infection with *Blastocystis sp.* (9.6% vs. 1.2%) among patients with urticaria, compared to individuals from the control group. The extent of infection with *Blastocystis sp.* in patients with acute urticaria is 8.4%, while in patients with chronic spontaneous urticaria it was 10.4%. When comparing the extent of *Blastocystis* infection between patients with acute and chronic spontaneous urticaria, the author does not find statistically significant differences. Among patients positive for *Blastocystis sp.* the highest prevalence is among the age groups 41-60 years old (37.40% of the infected) and the age group 61-86 years old (31.30%). It is noticeable that among the patients with acute and chronic spontaneous urticaria that were tested for *Blastocystis sp.* 811 (67.75%) were female.

For the second task - *To determine the subtype of Blastocystis isolates in healthy carriers and in patients with acute and chronic spontaneous urticaria*, conventional PCR was used. The detailed analysis of the samples shows that the most common subtype of *Blastocystis sp.* isolated from patients with urticaria was ST3. It was isolated from 25 patients (80.65%). Subtype 3 was found in 11 patients with acute urticaria (43.21%) and in 15 of the patients with chronic spontaneous urticaria (57.69%). Subtype 3 was also the most commonly isolated subtype from healthy parasite carriers (64.71% of the tested subjects). The author correctly mentions that due to the low number of genotyped samples, it is not appropriate to draw any definitive conclusions. As part of the third task - *To study and compare the rate of antitoxocara IgG antibody carriership in patients with acute and chronic spontaneous urticaria and in healthy controls*, the doctoral candidate describes a significantly higher rate of antitoxocara IgG antibody carriership among patients with acute and chronic spontaneous urticaria compared the control group. The fourth task is *to compare the levels of total serum IgE in healthy individuals and in patients with acute and chronic urticaria that are carriers of antitoxocara IgG antibodies*. The author has found that the difference in the median values of total serum IgE in the two compared groups of patients with allergic reactions, with or without antitoxocara IgG antibodies, was not statistically significant. The fifth task is *to study and compare the levels of ECP (Eosinophil cationic protein) in patients with acute and chronic spontaneous urticaria infected with Toxocara spp. and in healthy individuals*. The author finds that in patients with acute urticaria as the levels of antitoxocara IgG antibodies increase so do the levels of ECP increase proportionally. There wasn't a statistically significant correlation between the levels of antitoxocara IgG antibodies and ECP in patients with chronic spontaneous urticaria.

Analysis of the results and discussion. This section of the dissertation provides a detailed analysis of the results, which are compared with similar ones in Europe and on other continents. Known facts have been described in detail, as well as still untested scientific hypotheses, which shows potential for future studies.

Conclusion. The author summarizes the performed studies and formulates conclusions that will be of practical use to physicians and will allow them to make diagnostic decisions for the clarification of the etiology of allergic reactions and the necessity of paralel treatment with antiallergic and antiparasitic drugs.

Conclusions

There are nine conclusions and they are all incredibly well formulated. They are specific and derive from the set tasks, the results and the discussion of said results.

Contributions

Dr. Lyudmil Stoyanov's work has three original contributions and 5 with an applied nature. I accept the contributions, since they reflect the most important scientific achievements of the dissertation thesis.

Assessment of mandatory scientometric indicators related to the dissertation work

The results of the dissertation work have been published as 3 journal articles in journals with an impact factor and/or impact rank. In one of dr. Stoyanov's articles, he is the first author. A reference lists 4 participations in scientific forums in each of which the doctoral candidate is the first author. Through these the dissertation work has become available to a wide circle of the academic community. This fulfils one of the most important requirements of the Law for the Development of Academic Staff of the Republic of Bulgaria and the Rules for its application.

The abstract is made up of 55 pages and includes all of the results of the dissertation work.

Conclusion

I know dr. Lyudmil Stoyanov from his years as a university student and I am a witness to his dedication as a teacher and his diligence in developing his dissertation work. I definitely believe that the presented dissertation contains contributions that can serve clinical practice to increase the focus of various specialists towards parasitoses as a potential cause for acute and/or chronic spontaneous urticaria.

The dissertation thesis shows that dr. Lyudmil Stoyanov possesses in-depth theoretical knowledge and professional skills in the specialty "Medical parasitology and helminthology" and demonstrates qualities for independent scientific research.

Due to the above, I confidently give my **positive assessment** for the awarding of the educational and scientific degree of "**Doctor**" to dr. Lyudmil Stefanov Stoyanov in the doctoral program "**Medical parasitology and helminthology**"

04.08.2025

Statement drafted by: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**
/Prof. Milena Karcheva, MD, PhD/