

До членовете на научно жури  
Определено със Заповед № 1127/ 21.05.2015 г.  
на Ректора на МУ-Плевен

## РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Ива Стефанова Христова, д.м.н., НЦЗПБ, София, член на научно жури съгласно заповед № 1127/ 21.05.2015 г. на Ректора на МУ-Плевен

На дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР” по научна специалност „микробиология” – шифър 01.06.12 в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт; професионално направление 7.1. Медицина

**Тема на дисертационния труд:** „Проучване на антимикробната активност на новосинтезиран наноразмерен титанов оксид и неговите производни”

**Автор на дисертационния труд:** д-р Христина Йотова Хиткова, Катедра по микробиология, вирусология и медицинска генетика, Факултет по медицина, Медицински Университет – Плевен

### **Актуалност и значимост на дисертационния труд**

С развитието на нанотехнологията се увеличи неимоверно приложението на наночастиците. Днес те се прилагат в електрониката, в козметиката, използват се като слънце-протектори и антибактериални вещества. Изключително малкият им размер, от 1-100 nm, обезпечава възможността голям брой техни атоми да бъдат изложени на повърхността, което определя свойствата им. Наночастици титаниев диоксид ( $\text{TiO}_2$  NPs) се произвеждат в целия свят в огромни количества за широка употреба. Те са стабилни, с антикорозивни и фотокаталитични свойства, които намират широко приложение в индустрията. Тяхното фотокаталитично дезинфекционно действие обуславя широката им употреба за пречистване на води и въздух.

Независимо от широката употреба на наночастиците  $TiO_2$  все още не са стандартизирани методите за изследване на тяхното антимикробно действие. Дисертантката д-р Христина Хиткова разработва оригинални микробиологични методи и опитни постановки, провежда проучванията си не върху обичайно използваните санитарно-показателни микроорганизми, а върху клинични микробни изолати и полирезистентни болнични щамове, като при това обектът на проучването не е известен търговски препарат, а новосинтезирани наноразмерни титанови препарати. Всичко това определя дисертационният труд на д-р Хиткова като изключително актуален и значим.

Дисертантката разработва стандартизиран метод за оценка на антимикробните свойства на  $TiO_2$  и негови производни, приложим при бактерии и дрождевидни гъбички. С разработения метод изпитва антибактериалната активност на новосинтезиран наноразмерен  $TiO_2$  върху 4 референтни бактериални щама, 40 клинични бактериални изолата и 6 изолата дрождевидни гъбички. Проучва активността на няколко наноразмерни титанови препарата върху 4 референтни бактериални щама. Установява фотокаталитично антибактериално и антимицотично действие на наночастиците  $TiO_2$ . Така работата добива един завършен вид, който категорично отговаря на изискванията за дисертационен труд за придобиване на ОНС „Доктор”.

### **Структура на дисертационния труд**

Дисертационният труд е написан на 142 стандартни страници. Онагледен е отлично с 38 фигури и 26 таблици. Структуриран е правилно – заглавна страница, съдържание, въведение, литературен обзор на 39 стр., цел и задачи 1 стр., материали и методи 10 стр., резултати и обсъждане в пет глави – общо 72 стр., изводи 2 стр., заключение – 1 стр., приноси 2 стр., библиография 11 стр.

Докторантката д-р Христина Хиткова прави изключително прецизен и детайлен литературен обзор. Много информативно, но стегнато представя характеристиките на титановия оксид и неговите производни, фотокаталитичните системи за дезинфекция и фотокаталитичните свойства на  $TiO_2$ , които са в пряка връзка с целите на дисертационния труд. Тук имам една забележка към обзора, а именно да се конкретизира кога се говори за свойства на наночастици  $TiO_2$  и кога за веществото  $TiO_2$ , тъй като свойствата им съвсем не са еднакви.

Подробно е представена антимикробната активност на  $TiO_2$  и неговите производни – антибактериална, антивирусна, антигъбична, дори антитуморна,

включително токсичността за човешкия организъм. Внимание е отделено на различните фактори, повлияващи тази активност. Описана е кинетиката на антимикробното действие, методите за определяне на тази активност и нерешените проблеми при проучването ѝ. По този начин обзорът логично извежда до целта на дисертационния труд.

Целта е ясно и точно формулирана – да се проучи антимикробната активност на новосинтезиран наноразмерен  $\text{TiO}_2$  и негови производни. Задачите произтичат от поставената цел и очертават конкретните стъпки за нейното изпълнение.

Следващият раздел „Материали и методи” представя в много стегнат вид използваните новосинтезирани наноразмерни  $\text{TiO}_2$  и три негови производни, получени чрез добавяне на цинк, желязо и сребро, а също и описание на използваните референтни бактериални щамове (4 бр.), клинични бактериални щамове – Грам-отрицателни бактерии от сем. *Enterobacteriaceae* (20 щама), неферментиращи глюкозата Грам-отрицателни бактерии (10 щама), Грам-положителни бактерии (10 щама) и медицински значими гъбички (6 щама). Това е една отлична база за съществени резултати. Докторантката разработва **собствен метод** за определяне на антимикробната активност на титанови препарати с фотокаталитични свойства. Методът е описан много добре и е представен и в схематичен вид. Д-р Хиткова създава **цялостен фотокаталитичен експериментален модел**, който осигурява всички възможни контроли и е гаранция за надеждността на резултатите. За анализ на резултатите, тя използва голям брой математически и статистически методи, което затвърждава значимостта на разработката и позволява научно да се обосновават резултатите от това проучване.

Резултатите от собствените изследвания са представени и обсъдени в 5 раздела, следващи точно изпълнението на поставените 5 задачи. Всеки раздел от резултатите удачно завършва с обсъждане и изводи с характер на обобщение.

- В първия раздел са представени разработването на метода за определяне на антимикробната активност на титанови препарати в условията на фотокаталитичен експериментален модел, както и неговото апробиране с референтния щам *E. coli* ATCC 25922.
- В следващия раздел са описани резултатите от изпитването на антибактериалната активност на новосинтезиран наноразмерен  $\text{TiO}_2$  върху 4 референтни бактериални щама с удачно онагледяване с кривите на преживяемост. Установено е, че при третиране с  $1\text{ mg/ml TiO}_2$  и облъчване с

УВ-А лъчи в рамките на 40 мин загиват 99,9-100% от бактериалните клетки. Самостоятелно УВ-А лъчите нямат бактерицидно действие. Самият протокол за изпитване на фотокаталитичната активност на  $TiO_2$  върху Грам-положителни и Грам-отрицателни аеробни неспорообразуващи бактерии е представен отделно в Приложение 1.

- В третия раздел са описани резултатите от изпитванията върху 40 клинични бактериални щамове, удачно онагледени с криви на убиване на бактериите и графичен регресионен анализ на данните за  $\log CFU/ml$  и времето по групи бактерии. Установено е линейно логаритмично намаляване на жизнеспособните клетки по време на експозицията на  $TiO_2$ .
- В отделен раздел са резултатите от проучванията върху фотокаталитичната активност на  $TiO_2$  върху 6 клинични изолати на гъбички – 5 на изолата от род *Candida* и 1 изолат на *Cryptococcus neoformans*. Фунгицидната активност е друга страна от действието на  $TiO_2$  и затова тези проучвания допринасят за изясняване спектъра на действие и динамиката на фотокаталитичното действие на  $TiO_2$ . Установени са съществени различия във фотокаталитичната чувствителност на гъбичките и бактериите, основани на различията в размера и химичния състав на клетките и структурата на клетъчните им стени.
- В последния пети раздел е проучена антибактериалната активност на три производни на  $TiO_2$ . За един от тях,  $Ag/TiO_2/ZnO$ , е установено, че притежава силна бактерицидна активност срещу тестваните бактериални щамове, както в присъствие на УВ-А лъчи, така и на тъмно. Тук можем само да пожелаем за в бъдеще да бъде изпитана и тяхната фунгицидна активност.

### **Оценка на приносите в дисертационния труд**

Много са научните приноси на дисертационния труд и затова ще резюмирам само основните.

Оригинални научни постижения са разработването и апробирането за първи път в България на метод за определяне на антимикробната активност на титанови препарати с фотокаталитични свойства и мащабното проучване върху активността на  $TiO_2$  срещу широк спектър Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии и патогенни гъбички.

Основните приноси с потвърдителен характер са установяването на антибактериална активност на  $TiO_2$  върху чувствителни и резистентни към антибиотици бактерии и установяването, че гъбичките са по-резистентни към  $TiO_2$  в сравнение с бактериите.

С научно-приложен характер е стандартизирането на основните етапи на метода за определяне на антимикробната активност на титанови препарати с фотокаталитични свойства и изготвения Протокол за изпитване на тази активност върху неспоробразуващи Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии.

### **Публикации във връзка с дисертационния труд**

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 5 журнални статии, 3 от които в чуждестранни списания, сред които е *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* с импакт фактор 2.079. Данните от проучванията са представени и на 7 научни форума, 2 от които международни конгреси.

На 3 от 5 си публикации и на 2 от 7 си участия в научни форуми, дисертантката е първи или втори автор, което е доказателство за нейната активност при разработването на настоящия труд.

### **Заклучение**


Дисертационният труд на д-р Христина Хиткова е едно мащабно проучване върху бактерицидните и фунгицидните свойства на новосинтезиран наноразмерен  $TiO_2$  и неговите производни, добре замислено и отлично проведено. Темата е изключително актуална и перспективна. Дисертационният труд е много добре написан. Изследванията в него са вече анализирани, което показва отличната теоретична подготвеност на дисертантката. Постигнати са значими резултати, представляващи теоретични и практически приноси в проучванията на наноразмерните титанови препарати.

Считам, че рецензията на дисертационен труд отговаря напълно на изискванията на Закона и Правилника за неговото приложение за присъждане на образователната и научна степен „Доктор”. Като давам положителната си оценка, убедено подкрепям присъждането на образователната и научна степен „Доктор” по научна специалност Микробиология на д-р Христина Йотова Хиткова.

Гр. София

03. 06. 2015 г.

Рецензент:

  
Проф. Д-р И. Христова, дмн