

До председателя на научното жури назначено със
Заповед на Ректора на МУ-Плевен
№1127/21.05.2015 г

РЕЦЕНЗИЯ

За защита на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор” на тема“ **ПРОУЧВАНЕ НА АНТИМИКРОБНАТА АКТИВНОСТ НА НОВОСИНТЕЗИРАН НАНОРАЗМЕРЕН ТИТАНОВ ОКСИД И НЕГОВИ ПРОИЗВОДНИ**“ Автор на дисертационния труд: д-р Христина Йотова Хиткова, асистент в катедра Микробиология, вирусология и медицинска генетика”, МУ-Плевен

Рецензент Проф. д-р Тодор В. Кантарджиев, дми, НЦЗПБ – София

Нямам общи публикации и конфликт на интереси от друг характер с докторанта

Актуалност на дисертационния труд

Титановият оксид (TiO_2) и негови производни химични съединения и композити са обект на интензивни изследвания през последните две десетилетия, поради възможността за използването им в новите, алтернативни технологии за дезинфекция. Установено е, че в присъствие на ултравиолетови лъчи молекулата на оксида се активира, образуват се свободни радикали, които по оксидативен механизъм предизвикват деструкция на органични вещества, токсини и микробни клетки. Най-популярно е прилагането на TiO_2 -медираната

фотокатализа за пречистване и обеззаразяване на повърхностни и отпадни води, както и за дезинфекция на питейна вода, а също и за изработване на въздушни филтри. Нараства интересът към използването на TiO_2 в строителната индустрия за защита на строителните материали от биоразграждащото влияние на микроорганизмите. Проучват се възможности за приложението му в нефтопреработвателната промишленост.

Независимо от засиления научно-изследователски интерес в тази област, са налице редица все още нерешени проблеми. Не са стандартизирани и валидирани методите за изследване на фотокаталитичната дезинфекционна активност на титановите препарати. Публикуваните към момента резултати за антимикробната активност на TiO_2 и негови производни се отнасят предимно за отделни микроорганизми, контаминиращи питейната вода и околната среда. Оскъдни са данните за тяхната активност върху клинични микробни изолати и полирезистентни болнични щамове. Проучвания в тази област биха увеличили интереса към тези съединения за прилагането им в болнични условия. В специализираната литература преобладава информацията за антимикробното действие на фирмения препарат *Degussa P-25*, докато активността на новосинтезирани TiO_2 препарати е обект на твърде ограничен брой изследвания. Всичко това обуславя необходимостта от задълбочено проучване на антимикробната активност на новосинтезирани наноразмерни титанови препарати срещу широк спектър от клинично значими бактерии и гъбички, поради възможността тези химични вещества да бъдат използвани в медицинската практика като дезинфектанти. В тази връзка темата на дисертационния труд на д-р Хиткова е много добре подбрана и актуална както в общобиологичен аспект, така и от гледна точка на клиничната микробиология.

Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан в завършен вид в обем 142 стандартни машинописни страници, от които 129 стр. текст, 11 стр. литературни източници и 2 стр. списък на публикациите. Заглавието отразява точно същността на работата. Трудът е структуриран логично и изложението е съразмерно разпределено в 7 раздела: **Въведение** – 2 стр., **Литературен обзор** 42 стр., **Цел и задачи** – 1 стр., **Материали и методи** – 10 стр., **Резултати** (43 стр.) и **обсъждане** (29 стр.) – общо 72 стр., **Изводи** – 2 стр. и **Заклучение** – 1 стр. Онагледен е оптимално с 26 таблици и 38 фигури.

Литературният обзор отразява съвременното състояние на проблема и показва отличната литературна осведоменост на автора и вещината му да прави точни изводи от публикациите.

Литературната справка включва общо 272 източници на латиница, публикувани в периода 1972 – 2013 год. Сто деветдесет и осем (72.8%) от използваните източници са от

последните 10 години, 80 (29.4%) – от последните 5 години и 12 (4.4%) – от последните 3 години. Това е гаранция за познаването на проблема в неговото развитие и настоящото му състояние в световен мащаб.

Обзорът е структуриран в **5 основни раздела**, от които произлизат поставената цел и задачите на дисертационния труд. **В първия раздел** са характеризирани основните свойства и приложения на титановия оксид и неговите производни химични съединения и композити. Описани са фотокаталитичните свойства на титановите препарати и предимствата на фотокаталитичните системи за дезинфекция пред традиционните дезинфекционни технологии. Авторката е представила на публиката най-необходимите сведения за изследваните вещества. **Във втория раздел** е разгледано действието на фотоактивиран TiO_2 върху бактерии, вируси, гъбички, протозои, алги, цианобактерии и техни токсини. В систематизиран вид са представени механизмите на действие на TiO_2 върху бактериалната клетка и възможностите за защита на микроорганизмите от фотооксидативната атака. Специално внимание е отделено на таргетните места в клетъчната обвивка и цитоплазмата. Обсъден е въпросът за антитуморната активност и влиянието на TiO_2 върху човешкия организъм. От представеното по този начин следват неизвестните явления на които трябва да се обърне внимание. **В третия раздел** са анализирани факторите, оказващи влияние върху антимикробната активност на титановите препарати. Представени са данни за значението на характеристиките на титановите фотокаталитични частици, биологичните свойства на микроорганизмите и експерименталните условия, свързани с интензитета на светлината, дължината на вълните на светлинните лъчи, наличие на органични вещества и други фактори. **В четвъртия раздел** е разгледана кинетиката на антимикробното действие. Специално място е отделено на хидродинамичните взаимодействия между фотокатализатора и микроорганизма, които са в основата на кинетичния процес при бактериите. **В петия раздел** са представени известните до сега методи за определяне на антимикробна активност на титанови препарати с фотокаталитични свойства. Данните от литературата показват голямо разнообразие по отношение на условията, в които са проведени фотокаталитичните експерименти и методите за оценка на антимикробното действие на тези вещества.

Като цяло обзорът отразява съвременното състояние на проблема и показва отличната литературна осведоменост и възможност за направа на верни изводи на д-р Хиткова. В края на обзора са представени ясно нерешените проблеми, на базата на които са поставени целта и задачите на дисертационния труд.

Целта и задачите на дисертационния труд са прецизно и ясно формулирани. Поставени са оптимален брой задачи, за да се осъществи последователно целта на научното изследване.

Оценка на раздел „Материали и методи“.

За провеждане на изследванията д-р Хиткова използва собствен, оригинален метод, съчетаващ фотокаталитичен експериментален модел с конвенционални микробиологични техники. Изключително достойнство на труда е разработването и стандартизирането и валидирането на всеки елемент от експерименталната постановка, което осигурява сравнимост и възпроизводимост на получените резултати. Цялата методика е описана подробно и е онагледена със съответните схеми, което има висока практическа стойност. Експерименталните данни са обработени със съвременни статистически методи и е осигурена достоверност на наблюдаваните явления от които произтичат.

За проучване на антимикробната активност на новосинтезираните титанови препарати е използван набор от референтни и клинични микробни щамове. Проведени са статистически значим брой експериментални изследвания в следните направления:

- Определена е антибактериалната активност на новосинтезиран наноразмерен TiO_2 върху 4 референтни бактериални щама в условията на цялостен експериментален модел, включващ облъчване на суспензиите с UV-A лъчи, третиране с TiO_2 и UV-A лъчи, третиране с TiO_2 на тъмно и инкубиране на суспензиите в тъмни условия.
- Проучена е фотокаталитичната антибактериална активност на новосинтезиран наноразмерен TiO_2 върху 40 чувствителни и мултирезистентни към антибиотици клинични бактериални изолати.
- Проучена е фотокаталитичната антимикотична активност на новосинтезиран наноразмерен TiO_2 върху 6 клинични изолата на дрождевидни гъбички.
- Изпитана е на тъмно и във фотокаталитични условия антибактериалната активност на новосинтезиран наноразмерен ZnTiO_3 върху 4 референтни бактериални щама.
- Изпитана е на тъмно и във фотокаталитични условия антибактериалната активност на новосинтезираните нанокompозити 0,5 мол.% Fe/TiO_2 , 1 мол.% Fe/TiO_2 и 2% мол.% Fe/TiO_2 върху 1 референтен бактериален щам.
- Изпитана е фотокаталитичната антибактериална активност на 0,5 мол.% Fe/TiO_2 и 1 мол.% Fe/TiO_2 върху 3 референтни бактериални щама.
- Изпитана е на тъмно и във фотокаталитични условия антибактериалната активност на новосинтезирания нанокompозит $\text{Ag/TiO}_2/\text{ZnO}$ върху 4 референтни бактериални щама.

Оценка на раздел „Резултати и обсъждане“. Собствените проучвания са изложени в логична последователност в 5 самостоятелни раздела:

1. РАЗРАБОТВАНЕ НА МЕТОД ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ НА ТИТАНОВИ ПРЕПАРАТИ С ФОТОКАТАЛИТИЧНИ СВОЙСТВА.

2. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АНТИБАКТЕРИАЛНАТА АКТИВНОСТ НА ТИТАНОВ ОКСИД В УСЛОВИЯ НА ЦЯЛОСТЕН ФОТОКАТАЛИТИЧЕН ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН МОДЕЛ
3. ПРОУЧВАНЕ НА ФОТОКАТАЛИТИЧНАТА АКТИВНОСТ НА ТИТАНОВ ОКСИД ВЪРХУ ШИРОК СПЕКТЪР ОТ КЛИНИЧНИ БАКТЕРИАЛНИ ИЗОЛАТИ
4. ПРОУЧВАНЕ НА ФОТОКАТАЛИТИЧНАТА АКТИВНОСТ НА ТИТАНОВ ОКСИД ВЪРХУ КЛИНИЧНИ ИЗОЛАТИ НА ГЪБИЧКИ
5. ПРОУЧВАНЕ НА АНТИБАКТЕРИАЛНАТА АКТИВНОСТ НА МОДИФИЦИРАНИТЕ ТИТАНОВИ СЪЕДИНЕНИЯ И КОМПОЗИТИ $ZnTiO_3$, Fe/TiO_2 и $Ag/TiO_2/ZnO$.

Всеки раздел включва резултати, обсъждане и конкретни изводи. Обсъждането представлява задълбочен анализ на получените резултати, съобразен със съвременната литература.

От извършените мащабни проучвания много коректно са формулирани 8 обобщени изводи с приносен характер, които напълно съответстват на получените резултати и отразяват най-важните теоретични достижения и научни приноси на дисертационния труд.

С разработването на дисертационния труд са постигнати съществени приноси с научно-теоретичен и научно-приложен характер.

Приноси с оригинален научно- теоретичен характер:

- За първи път в нашата страна и югоизточна Европа е разработен и приложен метод за определяне на антимикробна активност на титанови препарати с фотокаталитични свойства.
- За първи път в света са изследвани антибактериалните и антимикотичните свойства на синтезиран по нехидролитичен зол-гел метод наноразмерен TiO_2 .
- За първи път в световната практика е извършено мащабно проучване върху активността на TiO_2 срещу широк спектър от Грам-отрицателни бактерии, Грам-положителни бактерии и гъбички.
- За първи път в България са изпитани антибактериалните свойства на синтезирани по нехидролитичен зол-гел метод $ZnTiO_3$ и Fe/TiO_2 , и на новосинтезирания нанокomпозит $Ag/TiO_2/ZnO$.

Приноси с потвърдителен характер:

- Потвърдена е ролята на ултравиолетовите лъчи от клас А за изявата на антимикробното действие на титановите химични съединения и композити.
- Установено е, че композита $Ag/TiO_2/ZnO$ притежава антибактериална активност в отсъствие на светлинни лъчи.

- Установено е, че във фотокаталитични условия TiO_2 унищожава чувствителни и резистентни към антибиотици бактерии.
- Потвърдено е становището, че гъбичките са по-резистентни към TiO_2 фотокаталитично въздействие, в сравнение с бактериите.
- Потвърдена е линейната регресионна зависимост между $\log \text{CFU/mL}$ и времето на експозиция при фотокаталитичното третиране с TiO_2 на Грам-положителни и Грам-отрицателни аеробни неспорообразуващи бактерии.

Приноси с научно-приложен характер:

1. Стандартизирани са основните етапи на метода за определяне на антимикробна активност на титанови препарати с фотокаталитични свойства:
 - (1) Изготвяне на стандартизирана бактериална и гъбична суспензия;
 - (2) Провеждане на фотокаталитичния експериментален модел;
 - (3) Определяне на микробното число;
 - (4) Характеризиране на остатъчния ефект от фотокаталитичното въздействие.
2. Осигурени са сравнимост, достоверност и възпроизводимост на резултатите при определяне на антимикробната активност на титанови препарати с фотокаталитични свойства.
3. Изготвен е протокол за изпитване на фотокаталитична антибактериална активност на TiO_2 върху Грам-положителни и Грам-отрицателни аеробни неспорообразуващи бактерии (в *Приложение 1*).

Получените резултати са публикувани в 3 статии в чуждестранни списания с импакт фактор и 2 статии в авторитетни български списания с академична редколегия. Изнесени са 2 научни съобщения на международни форуми и 5 научни съобщения на научни форуми в България. В 3 от научните трудове д-р Хиткова е първи автор, в 2 е втори автор, в 3 е трети автор, а в останалите 4 е четвърти или последващ автор. Това е доказателство, че дисертационният труд е лично дело на дисертантката, която познавам като мислещ и високо отговорен научен работник, способен да интерпретира задълбочено получените резултати. Представените публикации са цитирани в 3 авторитетни чуждестранни списания с импакт фактор 1,9. Продукцията на докторанта са цитирани 17 пъти в чуждестранни списания. Тези факти придават още по-голяма стойност на дисертационния труд.

Заклучение

Представеният ми за рецензиране научен труд на д-р Христина Хиткова е върху много актуален за медицинската наука и практика проблем, със съществени приноси в

областта на микробиологията. Изключително достойнство на труда е неговия широкомащабен и фундаментален характер и постигането на оригинални приноси с научен и приложен характер. Някои от резултатите се съобщават за първи път в световната научна литература. Това ми дава основание да препоръчам на почитаемото научно жури при МУ-Плевен да присъди на д-р Христина Йотова Хиткова образователна и научна степен „Доктор“.

23.05.2015 г.

Рецензент: 