

**РУСЕНСКИ УНИВЕРСИТЕТ "АНГЕЛ КЪНЧЕВ"**  
**ФИЛИАЛ – РАЗГРАД**

**С Т А Н О В И Щ Е**

на

Доц. д-р инж. Настя Василева Иванова

преподавател в катедра „Биотехнологии и хранителни технологии“

Русенски университет „Ангел Кънчев“, Филиал – Разград

**ОТНОСНО**: Дисертация на тема: „РАЗРАБОТВАНЕ НА ИМУНОФЛУОРЕСЦЕНТЕН МИКРОСКОПСКИ МЕТОД ЗА АНАЛИЗ НА СОМАТИЧНИ КЛЕТКИ И НЕУТРОФИЛИ В МЛЯКО“, изготвена от Златина Руменова Бечева, за разкриване на процедура за защита и присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по научна специалност 02.11.11 „Технология на биологично активните вещества (включително ензими, хормони, белтъци)“

Представената дисертация е свързана с актуалните въпроси за качеството и безвредността на млякото и произведените от него продукти. Идентификацията на причинителите на бактериалните инфекции сред животните е от първостепенно значение за диагностицирането им и навременно лечение на редица болести. Установено е, че при маститна инфекция на кравите, съдържанието на неутрофили в кръвта и млякото нараства. Затова, те заедно със съдържанието на соматични клетки, са добър индикатор за ранното откриване на мастит.

Съществуват редица методи за определяне на количеството соматични клетки в мляко. В литературата обаче, е оскъдна информацията, по отношение на методи за определяне на неутрофили и на тяхна база на соматични клетки в мляко. Известните методи се базират главно на поточна цитометрия. Не съществува разработен

имунофлуоресцентен метод за определяне на соматични клетки на базата на антитяло срещу неутрофилна еластаза.

Темата на дисертацията е актуална, съвременна и много удачно подбрана за образователната и научна степен „доктор“, имайки предвид целта на докторантката: „да разработи имунофлуоресцентен микроскопски метод за определяне на общ брой соматични клетки в краве мляко и определяне на количеството на неутрофилните клетки от тях“. Предложените два метода са ценни, тъй като е възможно откриването на мастит при кравите да става в ранен етап и по този начин да се предотвратят значителни икономически загуби.

Дисертацията на докторантката Златина Бечева съдържа 157 стр., в т.ч. 11 таблици, 49 фигури, 192 литературни източника, от които само 2 са на кирилица. Тя е структурирана много добре, написана е точно и стегнато, на много добър научен език и съдържа основните раздели: Въведение, Литературен обзор, Цел и задачи, Експериментална част, Резултати и обсъждане, Изводи, Литература.

В Теоретичната част е направен много аналитичен и изчерпателен обзор, който дава представа за състоянието на проблемите по дадения въпрос в световен мащаб. Обоснована и анализирана е актуалността и необходимостта от разработваната тема.

Въз основа на подробния литературен обзор са формулирани ясно и точно целите и задачите на дисертационния труд в раздел II.

В раздел „Експериментална част“ са описани използваните методи за: изолиране и доказване на кръвни и млечни неутрофили от кръв и мляко на здрава крава, с използване на водоразтворими полимери – декстан и поливинилпиролон, Ficoll; изолиране и доказване на неутрофили от маститно краве мляко; получаване на неутрофилни фрагменти от кръв на крава; изолиране и доказване на неутрофилна еластаза от маститно мляко и от кръв на здрава крава; получаване, доказване и пречистване на поликлонални антитела, специфични за неутрофили и неутрофилна еластаза от крава и др.

В „Резултати и обсъждане“ са представени проведените експерименти, резултатите от тях, както и интерпретацията им. Всички резултати са представени прегледно под формата на таблици и графики. Докторантката много точно е описала и анализирала получените опитни данни.

Въз основа на проведените изследвания и анализи получените резултати са обобщени в края на дисертационния труд под формата на 11 общи извода. На тази база биха могли да се посочат и по-съществените приноси, които са със научно-приложен характер:

- Изолирана е неутрофилна еластаза от маститно краве мляко;
- Получени са овчи поликлонални антитела срещу неутрофили и неутрофилна еластаза на крава;
- Получен е флуоресцентен конюгат с флуоресцеин изотиоцианат на анти-неутрофил антитяло, специфично към неутрофили на крава;
- Получени са флуоресцентни конюгати с флуоресцеин изотиоцианат и квантови точки на анти-еластаза антитяло, специфично към неутрофилни клетки и неутрофилна еластаза на крава;
- Разработен е имунофлуоресцентен метод за определяне на количеството неутрофили в кръв и мляко на крава с получените конюгати (анти-неутрофил антитяло – FITC, анти-еластаза антитяло – FITC, анти-еластаза антитяло – QD);
- Разработен е имунофлуоресцентен микроскопски метод за едновременно определяне на общ брой соматични клетки (с пропидиев йодид) и количество неутрофили (с конюгат анти-неутрофил антитяло – FITC) в краве мляко.

Използваната литература е описана съгласно изискванията и е цитирана много умело. Използвани са основно чужди литературни източници, което говори за добро владение на английски език от страна на докторантката. Трябва да отбележим факта, че докторантката е придобила средното си образование в Гимназия по чужди езици „Иван Вазов“ - Смолян.

Резултатите, представени в дисертационния труд, са оформени в пет научни статии, две от които са публикувани в престижни журналы с Impact factor: *Journal of Nanomaterials & Molecular Nanotechnology* (Impact factor 1,06) – статия № 4; *Food and Agricultural Immunology* (Impact factor 1,392) – статия № 5. Статии от № 1 до № 3 са отпечатани в Научни трудове на Русенски университет на английски език. Във всички публикации кандидатката е на първо място.

Част от резултатите кандидатката е докладвала и на три научни конференции с международно участие: две, от които проведени в Русенски университет през 2015 год. и 2016 год. и една, проведена на 6-9 септември, 2017 в Poiana Brasov, Romania - RICCE 2017 20th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering. Освен това, кандидатката е поканена като докладчик от организационния комитет, на проведеният на 13 – 14 ноември, 2017 год. в Осака, Япония 19<sup>th</sup> World Congress on Biotechnology.

От посоченото по-горе става ясно, че докторантката има съществен принос в разработването на научните статии по дисертацията. По отношение на самата дисертация съм убедена, че тя е нейно лично дело.

Към докторантката Златина Бечева си позволявам да задам някои въпроси:

1. Как е избран 105-ия ден за край на инжекционния период? – стр. 88 от дисертацията
2. Може ли разработеният имунофлуоресцентен микроскопски метод за анализ на соматични клетки и неутрофили в мляко да се прилага за диагностика на мастит и при други животни (освен крави)?

**Заключение:** Давам положителна оценка на дисертационния труд на тема: **РАЗРАБОТВАНЕ НА ИМУНОФЛУОРЕСЦЕНТЕН МИКРОСКОПСКИ МЕТОД ЗА АНАЛИЗ НА СОМАТИЧНИ КЛЕТКИ И НЕУТРОФИЛИ В МЛЯКО**” и препоръчвам на научното жури да присъди на Златина Руменова Бечева образователната и научна степен „доктор” по специалност **02.11.11 „Технология на биологично активните вещества (включително ензими, хормони, белтъци)”,** съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България.

12.01.2018 г.

Разград

С уважение:

/доц. д-р инж. Н. Василева/