

## СТАНОВИЩЕ

върху дисертационен труд за придобиване на  
образователна и научна степен „Доктор“

Автор на дисертационния труд: маг. инж. Златина Бечева

Тема на дисертационния труд: **Разработване на имунофлуоресцентен  
микроскопски анализ на соматични клетки и неутрофили в мляко**

Изготвил становище: проф. д-н Цонка Иванова Годжевъргова

### **1. Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем в научно и научно-приложно отношение**

Настоящият дисертационен труд третира един много актуален проблем в научно-приложно отношение, а именно създаването на високочувствителен имунофлуоресцентен микроскопски анализ за едновременно определяне на соматични клетки и неутрофили в мляко на базата на антитела срещу неутрофили и неутрофилна еластаза. Най-ценното на разработените методи на базата на тези две антитела за разлика от известните до сега методи е това, че те позволяват да се направи ранна диагностика на маститно заболяване, навременно лечение на животните и избягване на големи икономически загуби.

Разработването на едновременен имунофлуоресцентен микроскопски анализ на соматични клетки и неутрофили в една и съща проба позволява да се прави по-точна и категорична диагностика на мастита. Съчетанието на PE, който оцветява всички соматични клетки в червено, с конюгатът анти-неутрофил антитяло – FITC със зелена емисия, който се свързва само с неутрофилите, осигуряват едновременно определяне на общ брой соматични клетки и процентът на неутрофилите в мляко. По този начин с по-голяма достоверност може да се установи ранен възпалителен процес на млечната жлеза и да се вземат мерки навреме за лекуване на животните.

До сега за определяне на количеството неутрофили в млякото основно се предлага използването на поточна цитометрия, която се базира на скъп апарат, сложен и изискващ обучен специалист. За провеждане на непрекъснат анализ и контрол на соматични клетки в мляко са необходими преносими прости апарати с лесно обслужване и ниска цена. Такива възможности може да осигури разработения имунофлуоресцентен метод, който лесно може да бъде съчетан с портативен флуоресцентен цитометър. Едно от най-големите предимства на разработените от докторантката два имунофлуоресцентни микроскопски методи е възможността да бъдат приложени към произведения от фирма Милкотроник брояч на клетки Lactoscan SCC, който е преносим, лесно се обслужва и с успех може да бъде приложен в практиката.

## **2. Степен на познаване на състоянието на проблема и на литературния материал**

В литературния обзор са разгледани подробно всички въпроси свързани с експерименталната част на дисертационния труд. Докторантката познава много добре състоянието на проблема, който разработва в дисертационния труд и е представила компетентно всички литературни материали в нейната научно-изследователска област. Чрез литературния обзор се изяснява, че са разработени редица методи за определяне на количеството соматични клетки в мляко, но те са подходящи когато маститът е добре изявен. Най-използван в тази област метод е поточната цитометрия. Има много малко публикации за определяне на соматични клетки в мляко с помощта на неутрофили на базата на поточна цитометрия. Не съществува разработен имунофлуоресцентен метод за определяне на соматични клетки на базата на антитяло срещу неутрофилна еластаза. Разработените в дисертационния труд два метода са ценни в сравнение с известните методи, тъй като може да се направи диагностика на мастит в ранна фаза и да се предотвратят значителни икономически загуби. Използването на специфични антитела, на имунологичната реакция антитяло–антиген, съчетана с флуоресцентна детекция предлага добра основа за бъдещи анализи на количеството неутрофили и соматични клетки.

## **3. Съответствие на избраните методиките на изследване с поставената цел и задачи на дисертационния труд**

В експерименталната част са описани методиките, използвани от докторантката в нейния труд. Те са подходящи, правилно подбрани и компетентно представени. Приложени са адекватни методи за обработка и анализ на резултатите. Експерименталните постановки не пораждат съмнение. Докторантката успешно се е справила с усвояването и прилагането на необходимите за целта на дисертационния труд съвременни методи за анализ – флуоресцентен метод, високоефективна течна хроматография, УВ спектрофотометрия и други.

## **4. Приноси на дисертационния труд**

Приносите на дисертационния труд могат да се обобщят по следния начин:

1. Получени са овчи поликлонални антитела срещу неутрофили и неутрофилна еластаза на крава.
2. Получен е флуоресцентен конюгат с флуоресцеин изотиоцианат на анти-неутрофил антитяло, специфично към неутрофили на крава.
3. Получени са флуоресцентни конюгати с флуоресцеин изотиоцианат и квантови точки на анти-еластаза антитяло, специфично към неутрофилни клетки и неутрофилна еластаза на крава.
4. 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).

5. 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.

#### **5. Преценка на публикациите по дисертационния труд**

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 5 научни съобщения, от които две в авторитетните журналы *“Journal of Nanomaterials & Molecular Nanotechnology”* (Impact factor: 1.06) и *“Food and Agricultural Immunology”* (Impact factor: 1.392). Резултатите са докладвани на три международни конференции в България и Румъния, които отразяват същността на работата по дисертацията и подчертават самостоятелността на автора по отношение на разработката. Като ръководител на докторантката мога да отбележа, че тя е самостоятелна, добър аналитик и има съществена роля при оформянето на резултатите и публикуването на статиите.

#### **6. Мнения**

Информацията за получените резултати в дисертационния труд е убедително изнесена и заслужава висока оценка. Считам, че изводите са ясно формулирани и дават обобщена информация за получените основни резултати. Проведените изследвания намират решение на поставените задачи и целта на дисертацията е постигната. Държа да отбележа, че това е една добре извършена работа, голяма по обем, включваща много експериментални данни.

#### **Заклучение**

В дисертационния труд на маг. инж. Златина Бечева се разглеждат актуални теоретични и практични въпроси. Дисертационният труд е на високо научно ниво. Публикуваните материали във връзка с дисертацията отговарят на наукометричните изисквания и покриват изискванията за придобиване на образователната и научна степен “Доктор” съгласно ЗРАСРБ, Правилника за прилагането му и на Правилника на У-т „Проф. д-р Асен Златаров“.

Въз основа на направения анализ давам положителна оценка на разработения дисертационен труд и считам за основателно да предложа маг. инж. Златина Бечева да придобие образователната и научна степен „доктор“ в научна област 5. Технически науки, професионално направление 5.11 Биотехнологии, научна специалност 02.11.11. Технология на биологично активните вещества.

Дата: 27.01.2018г.

Изготвил становището:

/проф. д-р Ц. Г. оджева/