

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертацію **Савченюка Михайла Олександровича**
на тему: **«Мікробіологічна характеристика *Streptococcus suis*, його
ідентифікація методом полімеразної ланцюгової реакції,
антибіотикорезистентність та поширеність у господарствах України»**
представлену для здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності
211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми дисертації. Стрептококоз становить проблему, що супроводжується значними економічними втратами для тваринницьких господарств і зумовлює зростання кількості випадків захворювання та спалахів цієї хвороби в багатьох країнах світу, включаючи Україну.

Інфекційні хвороби у тварин становлять значну частку серед усіх захворювань. У свинарстві особливої уваги заслуговує *Streptococcus suis*, який викликає такі захворювання, як артрит, ендометрит, менінгіт, сепсис та пневмонію в молодняку, а також може призводити до системних інфекцій, зокрема до маститу та ендометриту в дорослих тварин. Поросята можуть заражатися не тільки внаслідок контакту із хворими свиньми, але й здоровими, які є носіями, оскільки збудник може перебувати безсимптомно на мигдаликах тварин. Також може інфікувати людей, вони можуть заражатися через контакт із хворими тваринами або споживання контамінованого м'яса. *Streptococcus suis* є широко розповсюдженим у всьому світі. Наразі відомо близько 35 типів цього збудника, але другий тип вважається найбільш патогенним.

Виявлення раптових спалахів стрептококозу у всіх групах відлучених порослят, підсвинків та тих, що на відгодівлі, свідчить про проблемний стан стрептококової інфекції у свинарстві. *Streptococcus suis* здатні до персистенції в організмі свиней. Носійство стрептококозу в підсвинків досягає майже 100% протягом двох-трьох тижнів після їх відлучення від свиноматки. Захворюваність у цих випадках становить від 60% до 75%, а летальність може досягати 65%. Незалежно від типу ферми (традиційної або великотоварної), цей збудник зумовлює значні економічні збитки, переважно через втрату тварин.

Швидка адаптація й еволюція бактерій спричиняють появу нових механізмів стійкості до антибіотиків, що ставить під загрозу ефективність лікування інфекційних захворювань як у ветеринарній, та і в гуманній медицині. Стійкість мікроорганізмів до антибіотиків є серйозною проблемою,

яку необхідно вирішувати, оскільки вона зумовлює значні економічні збитки у тваринництві та становить загрозу для здоров'я людей.

Отже, боротьба із збудником стрептококозу і його стійкістю до антибіотиків є надзвичайно важливою проблемою галузі свинарства.

Зв'язок роботи з державними (галузевими) програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась у межах програми з підготовки доктора філософії та є складовою науково-дослідної роботи «Вивчення ролі умовно патогенних мікроорганізмів в етіології та патогенезі хвороб тварин» №0121U110291 та «Молекулярна діагностика та генотипування збудників інфекційних хвороб тварин» №0121U110290, у яких дисертант був співвиконавцем підрозділів.

Наукова новизна досліджень і отриманих результатів дисертаційної роботи. Вперше в Україні досліджено сучасну епізоотичну ситуацію щодо захворювання свиней на стрептококоз.

Зокрема, здобувачем:

- з'ясовано етіологічну структуру захворювання;
- вивчено чутливість *Streptococcus suis* до антибіотиків, антигенні та імуногенні властивості *Streptococcus suis*;
- апробовано молекулярно-генетичні дослідження за геном основного протективного білка;
- оптимізовано й апробовано протоколи проведення ПЛР з електрофоретичною детекцією результатів досліджень у реальному часі.

За аналізом первинних матеріалів експериментальних досліджень, науковими публікаціями усі теоретичні узагальнення, висновки і рекомендації, які були сформульовані у дисертації, побудовані на матеріалах власних досліджень і за суттю відображають їх закономірності, які були виявлені шляхом аналізу отриманих результатів. Цифрові дані оброблені статистично, робота містить значний ілюстрований матеріал, що дало змогу її об'єктивно оцінити. Теоретичні положення, висновки і практичні рекомендації достатньо обґрунтовані і вірогідні.

Ступінь обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій. Метою дисертаційної роботи було провести епізоотичний моніторинг спалахів стрептококозу свиней в Україні (поширеність й етіологічну структуру захворювання), вивчити культуральні, молекулярно-генетичні властивості, а також особливості антигенного складу збудника за його культивування в різних живильних середовищах, дослідити чутливість *Streptococcus suis* до антибіотиків та теоретично обґрунтувати й удосконалити методи діагностики стрептококозу та запропонувати нові засоби та схеми

діагностики стрептококозу свиней. Мета дисертаційної роботи включала в себе такі завдання: з'ясування поширеності та етіологічної структури стрептококозу свиней, яке передбачало відбір проб у різних господарствах та лабораторне дослідження їх з метою визначення рівня розповсюдженості захворювання та визначення видів і штамів *Streptococcus suis*, що циркулюють у популяції свиней; вивчення культуральних і молекулярно-генетичних властивостей стрептококозу свиней, яке включало детальний аналіз культур збудників, їх морфологію, фізіологічні властивості та генетичний склад, задля отримання додаткової інформації про цей патоген; дослідження особливостей антигенного складу стрептококозу свиней за культивування в різних живильних середовищах з метою виявлення можливих відмінностей у їхньому антигенному складі; дослідження чутливості *Streptococcus suis* до антимікробних препаратів, яке включало тестування культур на їхню чутливість до різних антибіотиків.

Здобувач методологічно вірно провів дослідження з використанням низки сучасних та класичних високоінформативних методів досліджень: епізоотологічні – епізоотологічне обстеження 5-ти господарств та спостереження за ними; бактеріологічні – проводили згідно із затвердженими методиками та стандартами (культурально-морфологічні, ферментативні, антигенні властивості ізолятів бактерій стрептококозу свиней), визначення чутливості до антибіотиків (метод дифузії в агар із застосуванням дисків, що містять антибіотики, – згідно з ТУ У 9398–001–39484474–2000 та методом послідовних розведень); молекулярно-генетичні (ПЛР); статистичні (обробка результатів досліджень). Мета роботи досягнута, її результати відповідають завданням, сформульовані наукові положення належною мірою обґрунтовані та достатньо апробовані.

Висновки логічні і витікають із результатів, особисто проведених дисертантом досліджень, які проаналізовані та узагальнені, достовірність яких підтверджується наведеним в дисертації табличним, графічним, фотографічним матеріалом, електрофореграмами та результатами статистичної обробки даних.

Зокрема, вірогідність наведених у дисертації результатів підтверджується достатньою кількістю якісних візуальних матеріалів.

Вищенаведене свідчить, що наукові положення, висновки та рекомендації дисертації в достатній мірі теоретично, методологічно та методично обґрунтовані.

Апробація результатів дослідження, повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих наукових працях. За матеріалами дисертаційної

роботи опубліковано 16 наукових праць, зокрема 1 у виданні, включеному в міжнародну наукометричну базу даних Scopus, та 6 – у виданнях, що належать до переліку наукових видань України: науковому віснику ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету (2) та у науковому бюлетні «Ветеринарна біотехнологія» (4), науково-методичні рекомендації: «Методичні рекомендації щодо типізації збудника стрептококозу свиней методом полімеразної ланцюгової реакції.» – 1, тези науково-практичних конференцій – 8.

Результати досліджень дисертанта були представлені на достатній кількості міжнародних наукових і науково-практичних конференціях і опубліковані у 8 тезах доповідей наукових конференцій.

Аналіз структури та змісту дисертації. Дисертаційна робота виконана згідно чинних вимог. На початку наведені анотації (українською та англійською мовами) та список публікацій здобувача (с. 16-19). Далі наведений зміст роботи (с. 20-21). Для зручності сприйняття термінології автором складений Перелік умовних позначень, одиниць і скорочень (с. 22-23).

В розділі «Вступ» (с. 24-31) дисертантом наведено обґрунтування вибору теми дослідження за аналізу та посилання на значну кількість сучасних вітчизняних та закордонних авторів, мета дослідження та поставлені завдання для її досягнення, об'єкт і предмет дослідження, використані методи досліджень, описано наукову новизну та практичне значення одержаних результатів.

У розділі 1. «Огляд літератури» (с. 32-55) автором узагальнено літературні наукові дані з дослідження поставленої проблеми у 6 підрозділах: 1.1. «Епізоотологічні особливості поширення стрептококозу поросят»; 1.2. «Характеристика *Streptococcus suis*»; 1.3. «Актуальність проблеми стрептококозу поросят та формування у бактерій антибіотикорезистентності»; 1.4. «Методи визначення чутливості бактерій до АМП»; 1.5. «Застосування методу ПЛР за діагностики *Streptococcus suis* та визначення його генотипу»; 1.6. «Висновки з розділу огляд літератури».

У розділі 2. «Матеріали та методи досліджень» (с. 56-72) здобувачем наведено 15 підрозділів: 2.1. «2.1. Епізоотологічні методи досліджень»; 2.2. «Штами мікроорганізмів»; 2.3. «Культивування мікроорганізмів»; 2.4. «Ідентифікація чистих культур виділених мікроорганізмів»; 2.5. «Оцінка активності антибіотичних субстанцій»; 2.6. «Нуклеотидні послідовності»; 2.7. «Проведення ПЛР з електрофоретичною детекцією продуктів ампліфікації»; 2.8. «Електрофоретичний аналіз продуктів ПЛР»; 2.9. «Проведення ПЛР у

реальному часі»; 2.10. «Валідація методу ПЛР»; 2.11. «Приготування цільноклітинного антигена»; 2.12. «Електрофорез білків у денатуруючих умовах»; 2.13. «Імуноферментна реакція (ІФА)»; 2.14. «Отримання гіперімунної сироватки»; 2.15. «Статистичні методи».

Розділ 3. «Результати власних досліджень» (с. 73-116) містить 8 підрозділи: 3.1. «Вивчення епізоотичних особливостей та біологічних властивостей *Streptococcus suis*»; 3.2. «Виділення чистих культур та дослідження морфологічних, культуральних та ферментативних властивостей ізолятів *Streptococcus suis*»; 3.3. «Вивчення чутливості ізолятів збудника стрептококозів до антимікробних речовин»; 3.4. «Вивчення молекулярно-генетичних властивостей *Streptococcus suis*»; 3.5. «Виявлення *Streptococcus suis* за допомогою оптимізованого протоколу ПЛР у реальному часі»; 3.6. «Дослідження особливостей поверхневих антигенів збудника стрептококозу поросят під час культивування *in vitro*»; 3.7. «Вивчення антигенної спорідненості ізолятів *Streptococcus suis*»; 3.8. «Висновки з розділу результати власних досліджень».

В розділі 4. «Аналіз і узагальнення результатів досліджень» (с. 117-132) здобувачем наведено аналіз та узагальнення результатів проведених досліджень шляхом співставлення та порівняння із літературними даними досліджень інших авторів. За результатами роботи зроблено 9 висновків (с. 133-135) та 4 пропозиції виробництву (с. 136).

Список використаних джерел (с. 137-160) складено згідно існуючих вимог щодо бібліографічних посилань та містить 171 джерело, у тому числі 142 латиницею. Додатки (с. 161-172) містять акти та картки зворотного зв'язку про впровадження матеріалів дисертаційної роботи у навчальний процес, наукові дослідження (Додаток А), висновок Етичного комітету у БНАУ з питань поводження з тваринами у наукових дослідженнях та освітньому процесі (Додаток Б), наукові праці, опубліковані за темою дисертації (Додаток В), відомості про апробацію результатів дисертації (Додаток Г), Методичні рекомендації щодо типізації збудника стрептококозу свиней методом полімеразної ланцюгової реакції (Додаток Д).

Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності. Під час рецензування дисертаційної роботи не виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації, текстових запозичень чи інших порушень доброчесності дисертантом. Усі ідеї та положення викладені в роботі, належать автору.

Дискусійні положення та зауваження до змісту дисертації. Попри високий науковий та прикладний характер результатів досліджень, до окремих

змістовних та структурних елементів дисертаційної роботи варто висловити певні зауваження та побажання:

1. У розділі 1 «Огляд літератури» варто було б надати посилання на авторів, які вивчали переваги та недоліки методу полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі та «ефект плато» у полімеразній ланцюговій реакції та розширити пункт 1.5 «застосування методу ПЛР за діагностики *Streptococcus suis* та визначення його генотипу»;

2. У розділі 3 «Результати власних досліджень» підпункт 3.1. «Вивчення епізоотичних особливостей та біологічних властивостей *Streptococcus suis*» зазначений часовий діапазон досліджень 2016-2021 рр. Раніше по тексту зустрічається 2017-2021 рр.

3. У списку використаних джерел відмічено дублювання наукових публікацій.

4. Сторінка 86, останній абзац: «...Грампозитивні коки родини Streptococcaceae нецільових видів...», поясніть, що ви мали на увазі під словами «нецільових видів»?

5. Підрозділ 3.6. останній абзац. «...Особливості поверхневих білків, які визначені в цьому дослідженні, можуть бути включені в патогенез та є важливими для подальших досліджень при створенні засобів діагностики та специфічної профілактики стрептококозу свиней». Скажіть, чи можуть «особливості» бути включені в патогенез? Що таке «патогенез»?

6. У таблицях 3.21 і 3.22 і інших, наведено дані щодо антигенної активності поверхневих антигенів, одержаних як описано у пункті 2.11, і сироваток, але методика одержання таких антигенів і сироваток до них в дисертації не наведено. Поясніть суть методики.

Висловлені побажання та зауваження, не мають принципового характеру, тому не зменшують наукової цінності та практичної значущості результатів аналізованого дослідження і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи Савченюка Михайла Олександровича.

Представлена робота виконана на високому методологічному рівні, написана науковим стилем мовлення, чітко та акуратно. Дисертаційна робота є завершеною науковою працею, містить нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачем досліджень, які виконують конкретне наукове завдання – дослідження мікробіологічної характеристики *Streptococcus suis*, його ідентифікації методом полімеразної ланцюгової реакції, антибіотикорезистентність та поширеність у господарствах України, що має істотне значення для галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

Загальний висновок на дисертацію. Вважаю, що дисертаційна робота Савченюка Михайла Олександровича на тему: «Мікробіологічна характеристика *Streptococcus suis*, його ідентифікація методом полімеразної ланцюгової реакції, антибіотикорезистентність та поширеність у господарствах України» виконана із застосуванням сучасних методів, має сформовану наукову новизну і практичне значення одержаних результатів, можливістю впровадження результатів дослідження у виробництво та за обсягом проведених досліджень відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», постанови Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року «Про затвердження Порядку присудження ступеню доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а її автор Савченко Михайло Олександрович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії (PhD) зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» в галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

Рецензент,

доктор ветеринарних наук, професор,
завідувач кафедри іхтіології та зоології
Білоцерківського національного
аграрного університету



Наталія ГРИНЕВИЧ

«28» грудня 2023 р.

Підпис Наталії ГРИНЕВИЧ завідувач
Начальник відділу документобігу і
кадрового забезпечення



Олена ЮРЧЕНКО