

## РЕЦЕНЗІЯ

на дисертацію **Шевченка Максима Віталійовича**

на тему: «*Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus*: поширеність у тварин, мікробіологічна і молекулярно-генетична характеристика та антибіотикорезистентність»

представлену для здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина»

**Актуальність теми дисертації.** Інфекції викликані бактеріями роду *Staphylococcus* є одними з найпоширеніших і важливих проблем у ветеринарній медицині, становлячи серйозну загрозу для здоров'я тварин. Збудники *Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus* відіграють ключову роль у розвитку широкого спектру захворювань у різних видів тварин, від локалізованих поверхневих інфекцій до тяжких системних станів.

Особливої уваги заслуговує здатність стафілококів набувати стійкості до різних класів антибіотиків, що значно ускладнює лікування інфекцій, які вони спричиняють. Поширення антибіотикорезистентних штамів є серйозною проблемою у ветеринарній практиці та підкреслює необхідність розробки нових стратегій боротьби з цими патогенами.

Крім того стафілококи мають значний потенціал до міжвидової передачі, особливо небезпечний ризик зоонозної передачі *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus pseudintermedius*, оскільки ці бактерії можуть передаватися від тварин до людей через контакт або споживання забруднених продуктів тваринного походження. Це становить загрозу для здоров'я не лише тварин, але й людей, особливо тих, хто має безпосередній контакт з інфікованими тваринами.

Додаткові виклики пов'язані з проблемами діагностики стафілококових інфекцій у тварин, що можуть виникати через різноманітність видів і штамів,

неоднорідність клінічних проявів, варіації у чутливості до антибіотиків та обмежені лабораторні умови в деяких регіонах.

Таким чином, комплексне вивчення поширеності *Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus* серед тварин, їх мікробіологічних, молекулярно-генетичних властивостей та характеристик антибіотикорезистентності є вкрай актуальним і необхідним для розробки ефективних підходів до діагностики, профілактики та лікування стафілококових інфекцій у ветеринарній практиці.

**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 «Молекулярна діагностика та генотипування збудників інфекційних хвороб тварин» номер держреєстрації 0121U110290 та «Вивчення ролі умовно патогенних мікроорганізмів в етіології та патогенезі хвороб тварин» номер держреєстрації 0121U110291.

**Наукова новизна досліджень і отриманих результатів дисертаційної роботи.** У представленому дослідженні вперше в Україні було проведено визначення колонізації носової порожнини та слухового проходу у собак бактеріями *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus pseudintermedius*. Здійснено вивчення етіологічної структури стафілококових інфекцій у різних видів тварин, при цьому встановлено домінування *Staph. pseudintermedius* як основного збудника, який присутній у місцях інфекційних уражень у собак і котів. Виявлено наявність метицилінстійкого *Staph. pseudintermedius* у клінічно здорової собаки. Визначено, що *Staph. aureus* є найпоширенішим збудником маститу у великої рогатої худоби, та ідентифіковано метицилінрезистентні штами *Staph. aureus* (MRSA).

Отримано дані щодо розповсюдження генів, які кодують фактори патогенності, серед ізолятів *Staph. pseudintermedius*, циркулюючих в Україні. Проведено секвенування гена термонуклеази *Staph. pseudintermedius* у

вітчизняних ізолятах та підтверджено високий ступінь подібності отриманих нуклеотидних послідовностей до еталонних геномів. Описано культуральні особливості росту *Staph. pseudintermedius* на хромогенному середовищі CHROMagar Orientation.

Після ретельного аналізу первинних матеріалів експериментальних досліджень та наукових публікацій всі теоретичні узагальнення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертації, базуються на результатах власних досліджень автора та відображують закономірності, виявлені шляхом аналізу отриманих даних. Цифрові дані були опрацьовані із застосуванням статистичних методів, а робота містить значну кількість ілюстративного матеріалу, що дозволило об'єктивно її оцінити. Теоретичні положення, висновки та практичні рекомендації є достатньо обґрунтованими та вірогідними.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.** Метою дисертаційної роботи було вивчити поширеність коагулазопозитивних стафілококів у собак, котів та корів в Україні, дослідити культуральні, молекулярно-генетичні властивості збудників, а також вивчити чутливість ізолятів стафілококів до антибіотиків. Мета дисертаційної роботи включала в себе такі завдання: встановити поширення коагулазопозитивних стафілококів у клінічно здорових собак; вивчити участь бактерій родини *Staphylococcus spp.* в інфекціях собак, котів та корів; встановити культурально-морфологічні та біологічні особливості ізолятів *Staphylococcus spp.* виділених від тварин; визначити стійкість отриманих ізолятів до антибіотиків; виявити поширення метицилінрезистентних штамів стафілококів; вивчити рівень біоплівкоутворювальних властивостей КПС, отриманих від хворих та клінічно здорових тварин; проаналізувати гени патогенності та біоплівкоутворювальних властивостей в ізолятів *Staph. pseudintermedius*; оптимізувати та апробувати протоколи ідентифікації стафілококів з молекулярно-генетичних методів досліджень; удосконалити схеми

мікробіологічної діагностики *Staph. pseudintermedius* з використанням хромогенних середовищ.

Здобувач методологічно вірно провів дослідження з використанням низки сучасних та класичних високоінформативних методів досліджень: епізоотологічні – виявлення поширення стафілококів серед здорових собак, інфекційно хворих котів та собак та хворих на мастит корів; бактеріологічні – проводили згідно із затвердженими методиками (культурально-морфологічні, ферментативні, властивості ізолятів стафілококів), визначення чутливості до антибіотиків (метод дифузії в агар із застосуванням дисків, що містять антибіотики, – згідно з міжнародних стандартів EUCAST та CLSI); молекулярно-генетичні (класична ПЛР та ПЛР в реальному часі); статистичні (обробка результатів досліджень). Виконана робота є ґрунтовним науковим дослідженням, в якому поставлена мета була досягнута, а отримані результати повністю відповідають поставленим завданням.

Висновки дисертаційного дослідження логічно випливають з результатів власних експериментальних досліджень автора, які були ретельно проаналізовані та узагальнені. Достовірність викладених у роботі даних підтверджується наявністю вичерпного ілюстративного матеріалу у вигляді таблиць, графіків, фотографій, а також результатами належної статистичної обробки отриманих даних.

**Апробація результатів дослідження, повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих наукових працях.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 19 наукових праць, зокрема 3 у виданнях, включеному в міжнародну наукометричну базу даних Scopus, та 5 – у виданнях, що належать до переліку наукових видань України: науковому віснику ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету (4) та у науковому бюлетні «Ветеринарна біотехнологія» (1), науково-методичні рекомендації: «Сучасні підходи до дослідження стафілококів: мікробіологічні

та молекулярно-генетичні методи діагностики» – 1, тези науково-практичних конференцій – 9.

Результати досліджень дисертанта були представлені на достатній кількості міжнародних наукових і науково-практичних конференціях і опубліковані у 9 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. 10-14). Далі наведений зміст роботи (с. 15-16). Для зручності сприйняття термінології автором складений Перелік умовних позначень, одиниць і скорочень (с. 17-18).

У розділі «Вступ» (с. 19-25) дисертантом наведено обґрунтування вибору теми дослідження, зв'язок роботи з науковими програмами, мета дослідження та поставленні завдання для її досягнення, об'єкт і предмет дослідження, використані методи досліджень, описано наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, наведені особистий внесок здобувача, апробація матеріалів дисертації на міжнародних, державних науково-практичних конференціях, вказано кількість наукових публікацій, структура та обсяг дисертації.

У розділі 1. «Огляд літератури» (с. 26-45) узагальнено літературні наукові дані з дослідження поставленої проблеми у 8 підрозділах та узагальнено у висновках: «1.1 Характеристика роду *Staphylococcus spp.*» «1.2. Фактори патогенності та вірулентності *Staphylococcus spp.*» «1.3. Ідентифікація та диференціація коагулазопозитивних стафілококів» «1.4. Поширення стафілококів серед людей» «1.5. Поширення стафілококів серед тварин» «1.6. Стафілококи в навколишньому середовищі» «1.7. Стійкість до метициліну» «1.8. Біоплівки як фактор патогенності стафілококів» розділ закінчується висновками до огляду літератури

У розділі 2. «Матеріали та методи досліджень» (с. 46-64) міститься детальний опис етапів експериментальних досліджень. Опис методів є

логічним та викладеним послідовно, достатньо детально характеризує методики, які використані для досягнення цілей дисертаційної роботи та вирішення наукової проблеми. В кінці розділу наведено детальна інформація про інструменти статистичної обробки даних.

У розділ 3. «Результати власних досліджень» (с. 65-115) входить 18 підрозділів та підсумований висновками до розділу підрозділи: «3.1. Поширення стафілококів у здорових та хворих тварин», «3.1.1. Поширення стафілококів у собак та котів», «3.1.2. Поширення стафілококів у корів», «3.2. Культуральні та біохімічні особливості коагулазопозитивних стафілококів», «3.2.1. Культуральні та біохімічні особливості стафілококів, ізольованих від собак та котів», «3.2.2. Культуральні та біохімічні особливості стафілококів, ізольованих від хворих на мастит», «3.2.3. Порівняльна характеристика мікробіологічних підходів до виявлення та ідентифікації стафілококів», «3.3. Стійкість стафілококів до антибіотиків», «3.3.1. Стійкість до антибіотиків у коагулазопозитивних стафілококів, ізольованих від собак та котів», «3.3.2. Систематичний огляд та мета-аналіз стійкості *Staph. aureus* та *Staph. pseudintermedius* до антибіотиків», «3.3.3. Стійкість до антибіотиків стафілококів ізольованих від хворих на мастит корів», «3.4. Активність утворення біоплівки ізолятами *Staph. pseudintermedius* та *Staph. aureus*», «3.5. Молекулярно-генетична характеристика стафілококів», «3.5.1. Ідентифікація та диференціація *Staph. pseudintermedius* та *Staph. aureus* методом ПЛР», «3.5.2. Секвенування гена термонуклеази *Staph. pseudintermedius* за Сенгером», «3.5.3. Поширення гена стійкості до метициліну серед ізолятів *Staph. pseudintermedius* та *Staph. aureus*», «3.5.4. Поширення генів позаклітинного адгезину серед ізолятів *Staph. pseudintermedius*», «3.5.5. Поширення генів ексфоліативного та лейкоцитарного токсину серед ізолятів *Staph. pseudintermedius*»

У розділі 4. «Аналіз і узагальнення результатів досліджень» (с. 116- 133) здобувачем наведено аналіз та узагальнення результатів проведених досліджень шляхом співставлення та порівняння із літературними даними досліджень інших авторів. За результатами роботи зроблено 10 висновків (с. 133-135) та 4 пропозиції виробництву (с. 136).

Список використаних джерел (с. 137-175) складено згідно існуючих вимог щодо бібліографічних посилань та містить 273 джерело, у тому числі 142 латиницею. Додатки (с. 176-214) містять розширену інформацію про походження ізолятів стафілоkokів та їх культуральні властивості та фактори патогенності (Додаток А), протокол випробувань за допомогою MALDI-TOF MS (Додаток Б), результати вивчення стійкості до антибіотиків (Додаток В), детальні результати проведеного мета-аналізу (Додаток Г), дані про фактори патогенності та щільність біоплівки (Додаток Д), опис відсеквенованих послідовностей (Додаток Е) висновок Етичного комітету у БНАУ з питань поводження з тваринами у наукових дослідженнях та освітньому процесі (Додаток Ж), акти та картки зворотного зв'язку про впровадження матеріалів дисертаційної роботи у навчальний процес, наукові дослідження (Додаток И), список наукових праць, опублікованих за темою дисертації (Додаток К) та методичні рекомендації щодо сучасних підходів до дослідження стафілоkokів (Додаток Л).

**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 Матеріали та методи не описано, як були інтерпретовані дані про «помірну чутливість» ізолятів стафілококів до антибіотиків під час проведення мета-аналізу. Поясніть яким чином ці дані були враховані під час проведення мета-аналізу.

2. В таблиці 3.4 представлені дані про культуральні властивості стафілококів під назвою «інші реакції», проте безпосередньо в розділі 3.2.3 «Порівняльна характеристика мікробіологічних підходів до виявлення та ідентифікації стафілококів» бракує пояснення, які саме реакції або властивості мались на увазі під формулюванням «інші реакції».

3. Чому при визначенні колонізації здорових собак не були зазначені дані про виявлення інших мікроорганізмів, окрім стафілококів, на відміну даних дослідження хворих собак, де така інформація була наведена?

4. У таблицях 3.10 та 3.12 представлені дані про потенціал до утворення біоплівки стафілококовими ізолятами та наявність генів міжклітинної адгезії, проте ця інформація не описана в тексті підрозділу до якого відносяться таблиці.

5. Повторюване вживання слова «виявлено» у низці речень на сторінках 66, 74, 98, 109, 111, 118 та 129 створює тавтологію та погіршує читабельність тексту.

6. Назви стовпців у таблицях 3.14 та 3.16 сформульовані нечітко, що ускладнює розуміння представлених даних.

7. На сторінці 107 наведено твердження про зв'язок результатів секвенування з оптимізацією протоколів ПЛР, проте в роботі не пояснюється, як саме ці процеси пов'язані.

8. Для повноти молекулярно-генетичного аналізу стійкості до метициліну в стафілококових ізолятах, крім визначення гену *mecA*, доцільно було б перевірити наявність або відсутність гену *mecC*.

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 Шевченко Максима Віталійовича.

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 – вивчити поширення *Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus* у тварин, надати мікробіологічну і молекулярно-генетичну характеристику збудників та визначити їх антибіотикорезистентність, що має істотне значення для галузі знань 21 «Ветеринарна медицина». Отримані результати є важливим внеском у розуміння епідеміології та профілактики стафілококових інфекцій у ветеринарній практиці, що може сприяти покращенню здоров'я тварин та зменшенню ризиків для громадського здоров'я.

**Загальний висновок.** Вважаю, що дисертаційна робота Шевченка Максима Віталійовича на тему: «*Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus*: поширеність у тварин, мікробіологічна і молекулярно-генетична характеристика та антибіотикорезистентність» 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 постанови Кабінету Міністрів України від № 261 23 березня 2016 р. «Про затвердження Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», Наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», постанови Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової

установи про присудження ступеня доктора філософії» (у редакції постанови Кабінету Міністрів України № 502 від 19 травня 2023 року «Про внесення змін до деяких постанов Кабінету Міністрів з питань підготовки та атестації здобувачів наукових ступенів»), а її автор Шевченко Максим Віталійович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії (PhD) зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

**Рецензент,**

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



Наталія ГРИНЕВИЧ

«28» травня 2024 р.

Підпис Наталії ГРИНЕВИЧ засвідчую:

начальник відділу документообігу і  
кадрового забезпечення

Білоцерківського національного  
аграрного університету



Олена ЮРЧЕНКО