

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. Вивчення стафілококові є актуальним напрямком досліджень, що має велике значення для ветеринарної та медичної галузей. Стафілококи, зокрема *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus pseudintermedius*, становлять серйозну загрозу як для тварин, так і для людей, оскільки здатні спричиняти широкий спектр захворювань – від локальних інфекцій до системних ускладнень з потенційно небезпечними наслідками.

Високий рівень розповсюдження та наявність різноманітних факторів патогенності у цих мікроорганізмів значно ускладнюють лікування та контроль стафілококових інфекцій, особливо в умовах зростаючої антибіотикорезистентності. Стафілококи здатні продукувати цілий комплекс токсинів, ферментів та інших факторів вірулентності, які забезпечують їх патогенність та стійкість до дії імунної системи. Поширення резистентності до антибіотиків серед циркулюючих штамів є однією з головних проблем у боротьбі з цими інфекціями.

Метицилінрезистентні штами *Staphylococcus aureus* (MRSA) та *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) становлять особливу загрозу в умовах стаціонарів та для осіб, які працюють з тваринами. Ці штами є стійкими до дії одного з найважливіших класів антибіотиків – бета-лактамів, що значно обмежує терапевтичні можливості.

Ідентифікація циркулюючих штамів, молекулярно-генетична характеристика їхніх факторів вірулентності та визначення рівня стійкості до антибіотиків мають вирішальне значення для розробки ефективних стратегій контролю, лікування та профілактики поширення стафілококових інфекцій у ветеринарній практиці.

У зв'язку з цим дисертаційна робота М.В. Шевченка, присвячена вивченню поширення, біологічних властивостей та антибіотикорезистентності ізолятів *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus pseudintermedius* від тварин в Україні, є актуальною та має науково-практичну цінність, оскільки результати, отримані в процесі дослідження, є необхідним кроком для забезпечення здоров'я тварин та громадського здоров'я в цілому.

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 дисертації.

У представленому дослідженні вперше було проведено комплексну оцінку поширення та характеристик двох клінічно значущих видів стафілококів – *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus pseudintermedius*, що циркулюють серед тваринного населення в Україні.

Зокрема, було визначено:

- поширення колонізації порожнини носа та зовнішнього вуха бактеріями *Staph. aureus* та *Staph. pseudintermedius* у клінічно здорових собак;
- участь *Staph. aureus* та *Staph. pseudintermedius* в інфекційних процесах у собак, котів та великої рогатої худоби;
- культуральні характеристики росту *Staph. pseudintermedius* на комерційному середовищі CHROMagar Orientation;
- стійкість стафілококових ізолятів до антибіотиків та поширення метицилінстійких штамів серед різних видів тварин;
- здатність до утворення біоплівки коагулазопозитивними стафілококами, виділеними від тварин в Україні;
- поширення генів токсинів та факторів патогенності серед ізолятів *Staph. pseudintermedius*;
- вперше проведено секвенування гена термонуклеази в ізолятах *Staph. pseudintermedius* циркулюючих в Україні.

Після ретельного аналізу первинних досліджень та наукових публікацій можна стверджувати, що всі теоретичні узагальнення, висновки та рекомендації, представлені в дисертації, ґрунтуються на результатах авторських досліджень та відображають закономірності, виявлені під час аналізу отриманих даних. Цифрові дані були опрацьовані із застосуванням статистичних методів, а робота містить значну кількість ілюстративного матеріалу, що дозволяє об'єктивно оцінити її якість. Теоретичні концепції, висновки та практичні рекомендації є добре обґрунтованими та достовірними.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій. У дисертаційній роботі М.В. Шевченка представлені результати власних експериментальних досліджень, які були проведені з використанням сучасних методичних та методологічних підходів до вивчення мікробіологічних та молекулярно-генетичних особливостей *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus pseudintermedius*. Внутрішньолабораторні протоколи досліджень були оптимізовані та надалі застосовані для аналізу польових ізолятів.

У роботі використано сучасні статистичні методи обробки даних, включаючи мета-аналіз, що дозволило проаналізувати результати подібних досліджень та порівняти їх з власними даними автора. Поставлена мета та

завдання дослідження були досягнуті, а результати належним чином обґрунтовані.

Висновки роботи є логічними та випливають з результатів проведених дисертантом експериментів. Дані ретельно узагальнені та проаналізовані, представлена достатня кількість рисунків та таблиць для кращого розуміння результатів. Результати мікробіологічних досліджень підтверджені фотографіями, а в додатках наведені детальні характеристики всіх досліджених ізолятів.

Таким чином, ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, представлених у дисертації М.В. Шевченка, є достатнім.

Апробація результатів дослідження, повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих наукових працях. Результати дисертаційної роботи опубліковано в 19 наукових працях, зокрема: 3 статті у виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз даних Scopus та Web of Science; 5 статей у виданнях, що належать до переліку наукових фахових видань України, 1 методичні рекомендації. За матеріалами роботи опубліковано 10 тез, які представлені на науково-практичних конференціях. Це свідчить про достатньо широке ознайомлення наукової спільноти з результатами М. В. Шевченка отриманими в ході виконання завдань дисертаційної роботи.

Аналіз структури і змісту дисертації. Робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел і 10 додатків. Дисертацію викладено на 214 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 24 таблицями та 20 рисунками. Список використаних джерел містить 273 найменування.

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дослідження, визначено її зв'язок з науковими програмами, сформульовано мету та завдання, описано наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, зазначено особистий внесок здобувача, наведено інформацію про апробацію результатів на конференціях та структуру роботи.

Розділ **“Огляд літератури”** складається з восьми підрозділів, в яких проаналізовано вітчизняні та зарубіжні джерела, і зроблено відповідні висновки. Переважна більшість використаних джерел праці іноземних авторів, опубліковані протягом останніх 5-10 років. У розділі представлено інформацію про збудники, що вивчалися в дослідженні, та новітні результати досліджень у цій галузі. Це свідчить про обізнаність дисертанта з теоретичними відомостями, пов'язаними з предметом дослідження, та розуміння актуальності проблеми у світовому масштабі.

Розділ **“Матеріали та методи досліджень”** містить загальну схему досліджень, вказано етапи їх проведення та лабораторії, на базі яких вони відбувалися. Детально описано весь перелік використаних методик та підходів до статистичної обробки даних.

Розділ “**Результати досліджень**” складається з 5 основних підрозділів, які, у свою чергу, структуровано на менші змістовні частини для кращої систематизації та представлення даних. Підрозділи логічно пов'язані між собою, в кінці наведено загальний висновок, який висвітлює всі зв'язки між даними. У статистичному аналізі застосовано низку статистичних тестів для визначення статистично значущої різниці між групами, що використані відповідно до характеристики даних.

Розділ “**Аналіз і узагальнення результатів досліджень**” послідовно викладено отримані результати та порівняв їх з даними інших вітчизняних та зарубіжних дослідників. Автор об'єктивно оцінив результати, зазначив обмеження проведених досліджень та вказав на елементи, що доповнюють прогалини у цій галузі.

Висновки відповідають викладеній меті та завданням дисертації і сформульовані на основі даних, отриманих у результаті власних досліджень.

Пропозиції виробництву також обґрунтовані, відповідають отриманим результатам та мають підставу для практичного використання.

Проаналізувавши актуальність, новизну, наукову та практичну цінність дисертації, можна стверджувати, що висновки та пропозиції для виробництва є науково обґрунтованими й мають важливе значення для діагностики, профілактики та лікування стафілококових інфекцій у тварин. Дисертація відповідає всім вимогам та виконана на високому методичному рівні. Це завершена наукова праця, яка успішно вирішує поставлену мету щодо мікробіологічної та молекулярно-генетичної характеристики ізолятів *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus pseudintermedius*, а також визначення їх стійкості до антибіотиків.

Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності. Дисертація є самостійно написаною кваліфікаційною працею із науково обґрунтованими висновками. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідні джерела. У роботі відсутнє привласнення чужих ідей та результатів без оформлення належного цитування.

Дискусійні зауваження та запитання до дисертанта. Водночас попри високий науковий характер результатів досліджень із позитивною оцінкою роботи вважаю доцільним виділити окремі зауваження:

1. У таблиці 2.2 “Інтерпретація меж затримки росту навколо дисків з антибіотиками, використаних у дослідженнях” у заголовку використані позначки “С”, “П” та “Ч”. Рекомендується додати примітку з розшифровкою цих скорочень для кращого розуміння представлених даних.

2. Чому під час оптимізації протоколу полімеразної ланцюгової реакції були враховані лише температура відпалу і концентрація ДНК, а такі змінні, як концентрація іонів магнію та концентрація праймерів, не були взяті до уваги?

3. На сторінці 28 типи гемолізіну позначені символами “ α , β та γ гемолізу”, проте в подальшому тексті вони згадуються словами. Для збереження єдиного стилю викладу матеріалу доцільно використовувати однаковий спосіб позначення типів гемолізіну в усіх випадках їх згадування.

4. Для позначення результатів реакції при використанні мікротитарційної системи Neonatal FAST Well D-ONE використовуються терміни “позитивна реакція” або позначення “+”. Оскільки цей набір не призначений для ідентифікації *Staphylococcus pseudintermedius*, краще використовувати формулювання “реакція присутня” та “реакція відсутня”.

5. Твердження на сторінці 75 про те, що “*Staph. pseudintermedius* вивчено у реакції MALDI-TOF MS” є некоректним, оскільки MALDI-TOF MS є аналітичним методом, а не реакцією.

6. У характеристиці різних комбінацій мікробіологічних тестів на сторінці 79 використана фраза “коагуляція плазми кроля”. Для більшої точності рекомендується уточнити її як “коагуляція білків плазми кроля”.

7. На рисунку 3.9 “Профіль антимікробної стійкості КПС, виділених від хворих тварин” (сторінка 85), який візуалізує чутливість ізолятів стафілококів до різних антибіотиків, антибіотики позначені лише скороченнями без розшифровки у примітці.

8. У розділі 4 “Аналіз і узагальнення результатів дослідження” на сторінці 132 останнє речення абзацу 3 “...Проте є повідомлення про значно менше поширення *lukF/S* серед ізолятів *Staph. pseudintermedius*...” з незначними змінами повторюється в кінці абзацу 4.

Загалом робота демонструє високий рівень методологічної обробки та відповідність сучасним вимогам наукових досліджень. Наведені дисертаційні зауваження не зменшують наукову цінність, актуальність і практичне значення дисертаційного дослідження.

Загальний висновок. Дисертаційну роботу подано у формі спеціально підготовленої кваліфікаційної наукової праці у формі рукопису. Усі наукові результати, які викладені в дисертації та претендують на захист, були отримані автором самостійно. Зміст дисертації відповідає поставленій меті дослідження, яку успішно досягнуто, та всі наукові завдання, поставлені перед автором, виконані повністю.

Вважаю, що дисертація на тему: “*Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus*: поширеність у тварин, мікробіологічна і молекулярно-генетична характеристика та антибіотикорезистентність”, за обсягом проведених дослідження з використанням актуальних методів і за науковою новизною та практичним значенням відповідає Кабінету Міністрів України № 261 від 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 від 12 січня 2022 року

№ 44 “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 від 19 травня 2023 року № 502 “Про внесення змін до деяких постанов Кабінету Міністрів України з питань підготовки та атестації здобувачів наукових ступенів”), а її автор – Шевченко Максим Віталійович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії галузі знань 21 “Ветеринарна медицина” за спеціальністю 211 “Ветеринарна медицина”.

Рецензент,

кандидат ветеринарних наук, доцент,
доцент кафедри паразитології та фармакології
Білоцерківського національного
аграрного університету



Раїса ШАГАНЕНКО

«28» травня 2024 р.

Підпис Раїси ШАГАНЕНКО засвідчую:
начальник відділу документообігу
кадрового забезпечення
Білоцерківського національного
аграрного університету



Олена ЮРЧЕНКО