

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу
Савченюка Михайла Олександровича на тему:

«Мікробіологічна характеристика *Streptococcus suis*, його ідентифікація методом полімеразної ланцюгової реакції, антибіотикорезистентність та поширеність у господарствах України»,

поданої до захисту на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань
21 «Ветеринарна медицина» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми дисертації. Стрептококоз свиней є однією з інфекційних хвороб, яка має негативний вплив на економічний стан галузі тваринництва, крім того, збудник цієї хвороби – *Streptococcus suis* – має доволі високий зоонозний потенціал. Люди можуть бути інфіковані при тісному контакті із свиньми або внаслідок споживання продуктів отриманих від тварин бактеріоносіїв.

В даний час ідентифіковано 35 серотипів *Streptococcus suis*. Серотипування є одним із найважливіших діагностичних інструментів, що дозволяє зрозуміти епізоотологію конкретного спалаху і є базою для розробки вакцини. Традиційні методи серотипізації потребують наявності серотип-специфічної сироватки, отримання якої є працемістким, дорогим і тривалим процесом.

Тому існує нагальна потреба в розробці ефективних засобів якісної діагностики і специфічної профілактики. Для розробки сучасних засобів діагностики необхідно проводити фундаментальні дослідження особливостей біологічних властивостей збудників. Саме вирішенню питання стосовно вдосконалення діагностики цієї хвороби присвячена робота Михайла Савченюка.

Метою досліджень було визначення поширення стрептококозу свиней в Україні, виділити збудник і вивчити його біологічні властивості – культуральні, молекулярно-генетичні властивості, а також особливості антигенного складу збудника, чутливість виділених ізолятів до антибіотиків.

Зв'язок роботи з державними (галузевими) програмами, планами, темами. Дисертація є складовою частиною науково-дослідних тем кафедри епізоотології та інфекційних хвороб 0121U110291 «Вивчення ролі умовно патогенних мікроорганізмів в етіології та патогенезі хвороб тварин» та 0121U110290 «Молекулярна діагностика та генотипування збудників інфекційних хвороб тварин».

Ступінь вірогідності та обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації не викликає сумнівів. Матеріал та методи досліджень, використані дисертантом для вирішення поставлених завдань відповідають меті роботи і дали можливість одержати обґрунтовані дані.

Дисертаційна робота Савченюка Михайла Олександровича базується на фактичному матеріалі, який отримано в результаті методично правильно проведених досліджень та підтверджена вірогідність отриманих даних. Результати досліджень оброблені статистично, зведені у таблиці та рисунки, узагальнені і детально проаналізовані.

Наукова новизна результатів дисертації. З'ясовано етіологічну структуру та сучасну епізоотичну ситуацію щодо стрептококозу свиней в Україні, виділено і вивчено антигенні, імуногенні властивості та чутливість ізолятів *Streptococcus suis* до антибіотиків. Оптимізовано й апробовано протоколи проведення ПЛР з електрофоретичною детекцією результатів досліджень та детекцією результатів у реальному часі. Цифрові дані оброблені статистично, робота містить значний ілюстрований матеріал, що дало змогу оцінити її об'єктивно.

Теоретичне та практичне значення одержаних результатів полягає у поглибленні сучасних знань щодо поширення стрептококозу свиней в Україні, визначення домінантних серотипів збудника та антигенних властивостей поверхневих антигенів *Streptococcus suis*.

Результати одержані автором стануть науковою підставою подальших досліджень щодо розробки способів діагностики та їх впровадження у лабораторну практику.

Автор приймав участь у розробці рекомендації стосовно запобігання поширенню стрептококозу свиней та зменшення його негативного впливу на галузь свинарства.

Апробація результатів досліджень, повнота їх викладення в опублікованих працях, достовірність і обґрунтованість наукових положень, висновків, рекомендацій. Основні положення дисертації були обговорені й схвалені на: міжнародних, національних наукових і науково-практичних конференціях: «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології» тварин (Київ, 22 червня 2017 р.); «Ветеринарне забезпечення інтенсивних технологій у тваринництві, безпека та якість харчових продуктів» (Біла Церква, 23 листопада 2017 р.); «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті» (Біла Церква, 18 та 23 травня 2017 р.); «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (Київ, 19 липня 2018 р.); «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль,

фактори росту. Сучасний розвиток ветеринарної медицини» (Біла Церква, 30 жовтня 2020 р.); «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток ветеринарної медицини» (м. Біла Церква, 21 жовтня 2021 р.); «Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти» (Житомир, 12–13 жовтня 2022 р.); «Біобезпека, захист та благополуччя тварин» (Київ, 21 листопада 2022 р.).

Використання текстових запозичень без відповідних посилань на інформаційні джерела не зафіксовано.

Особистий внесок здобувача. Дисертант провів аналіз та узагальнення даних офіційної звітності Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів і результати власних досліджень патологічного матеріалу з різних областей України щодо поширення стрептококозу свиней за останні 10 років; самостійно виконано весь обсяг експериментальних досліджень, проведено статистичне оброблення одержаних результатів, їх аналіз та узагальнення.

Дисертант у складі колективу авторів Тарасова О. А., Захарової О. М., Корнієнка Л. Є. приймав участь у розробці методичних рекомендацій «Методичні рекомендації щодо типізації збудника стрептококозу свиней методом полімеразної ланцюгової реакції».

Структура роботи, обґрунтованість та достовірність результатів досліджень, заключень та висновків дисертанта. Проаналізувавши матеріал дисертації, необхідно відмітити наступне: наукові положення, висновки та рекомендації дисертації обґрунтовані й узагальнені, впливають з результатів досліджень.

Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел і 8 додатків. Дисертацію викладено на 172 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 29 таблицями та 12 рисунками. Список використаних джерел містить 171 найменування, у тому числі 142 – латиницею.

У розділі 1 «Огляд літератури» дисертант наводить достатню інформацію щодо стрептококозу свиней, наведено дані щодо поширення хвороби у світі, епізоотична характеристика хвороби, особливостей перебігу та клінічних ознак захворювання. Наведені дані стосовно методів і способів діагностики стрептококозу свиней, а також щодо заходів профілактики. Висвітлені питання формування стійких до протимікробних засобів клонів збудника *Streptococcus suis*, а також інформацію щодо застосування методу ПЛР за діагностики *Streptococcus suis* та визначення його генотипу.

У розділі 2 «**Матеріали і методи досліджень**» автор наводить загальну схему досліджень, наводить інформацію щодо методів і матеріалів, які були задіяні при виконанні досліджень: епізоотологічні дослідження, дані щодо штамів мікроорганізмів, що було використано при виконанні роботи, способи їх культивування, порядок ідентифікації виділених культур, методику виготовлення цілюноклітинного антигену, вивчення активності протимікробних субстанцій, а також порядок постановки варіантів ПЛР, їх валідації та нуклеотидні послідовності.

У розділі 3 «**Результати власних досліджень**» наведено власні результати дослідження автора стосовно епізоотичної ситуації стрептококозу свиней в Україні, охарактеризовано біологічні властивості ізолятів *Streptococcus suis*, в порівнянні з біологічними властивостями музейних ізолятів збудника стрептококозу та вивчені у них стійкість до низки антимікробних засобів. Наведено результати вивчення молекулярно-генетичних властивостей *Streptococcus suis*. Значну частину власних досліджень присвячених вивченню антигенної спорідненості різних штамів збудника стрептококозу за використання поверхневих антигенів.

У розділі 4 «**Аналіз і узагальнення результатів досліджень**» дисертант узагальнює одержані результати експериментальних досліджень і аргументує отримані ним результати, порівнюючи їх з результатами досліджень інших авторів.

Дотримання принципів академічної доброчесності. У дисертації не виявлено ознак академічного плагіату, текстових запозичень чи інших порушень доброчесності автором. У роботі наявні посилання на джерела інформації у разі використання ідей, розробок, тверджень, надано достовірну інформацію про результати наукової діяльності, використані методики досліджень та інформаційні джерела, що в ній використовуються.

Дискусійні положення й зауваження до дисертації. Оцінюючи позитивно дисертаційну роботу Михайла Савченюка вважаю за необхідне висловити деякі зауваження та дискусійні питання:

1. В анотації на с. 7, останній абзац: «...У ході нашого дослідження ми детально аналізували EF-протеїн, який служить як маркер вірулентності, а також ген *erf*, який є інструментом для оцінки вірулентних властивостей ізолятів. Крім цього, ми провели аналіз наявності генів *mpr*-протеїну. Варіанти вірулентних штамів включають в себе 136 кДа мурамідазовивільняючий протеїн (MRP+) та 110 кДа позаклітинний білковий антиген (EF+). Слабовірулентні штами, натомість, продукують MRP та EF- протеїни (MRP+EF+), а невірулентні штами не синтезують ці протеїни (MRP-EF-)...». Поясніть ці результати.

2. Підрозділ 2.2. «Штами мікроорганізмів», перший абзац «...У роботі був використаний музейний штам мікроорганізму *Str. suis* NCTC 10234...». В яких музеях зберігались штами?

3. В розділі 2 не наведено кількість загиблих/хворих свиней, біоматеріал від яких було піддано для патологоанатомічного і бактеріологічного дослідження.

4. Підрозділ 2.6. «Нуклеотидні послідовності», таблиця 2.4, 1 абзац на с. 66: «У таблиці представлено чотири набори праймерів, які передбачають постановку 4-х реакцій і дозволяють виявити найбільш поширені в Україні серотипи *Str. suis* (1–4), сиквенс яких запропоновано Kerdsin A. et al. (2012), два набори праймерів для виявлення *mgr* та *erf* генів *Str. suis*, які зумовлюють вірулентні властивості (5–7), а також по одному набору праймерів для виявлення збудника стрептококозу свиней у реакції звичайного ПЛР та ПЛР у реальному часі». Поясніть, які із 24 праймерів наведених в таблиці 2.4 ви мали на увазі?

5. Підрозділ 2.14. дисертант вказує: «...Протеїнові фракції були розділені в білковому ПААГ електрофорезі за стандартним протоколом. Розділені на фракції білки були використані для вивчення антигенної активності...». Яким чином використовували розділені на фракції білки не вказано.

6. У підрозділі 2.13. «Імуноферментна реакція (ІФА)», не вказані та не перелічені сироватки які використовували в цих дослідженнях.

7. У підрозділі 3.1. «Вивчення епізоотичних особливостей та біологічних властивостей *Streptococcus suis*», автор вказує на с. 75 «...Результати моніторингу показали зростання їхньої (кокової) ролі в інфекційних процесах, яка в середньому серед підтверджених бактеріозів свиней складала за стрептококозу 1,7 %, за стафіло- та диплококозів – 2,0 %...», однак не вказано за якими ознаками можливо диференціювати збудників стрептококозу і диплококозу.

8. У рисунку 3.2 та таблицях 3.4, 3.5, 3.6 – не наведено кількість загиблих свиней, матеріал від яких досліджено бактеріологічними методом.

9. Результати таблиці 3.5, не дають пояснення, яким чином «непатогенні» на вашу думку *Streptococcus suis*, проникли в головний мозок і зумовили «менінгіт, енцефаліт, хоріоїдит».

10. У підрозділі 3.7, останнє речення на с. 111: «...Одержані в досліді дані дозволяють стверджувати, що з підвищенням ступеня чистоти сорбованого антигена в певних межах підвищується й ефективність аналізу...». Не вказано як визначали «підвищення ступеня чистоти антигена».

11. У підрозділі 3:8, перше речення «У свиней стрептококи виявлені як

важливі патогени, що відіграють значну роль у захворюваннях та епідеміології». У дисертації не наведені дані стосовно рівня захворюваності людей (епідеміологія) зумовлену *Streptococcus suis*.

12. В тексті дисертаційної роботи зустрічаються невдалі вирази, друкарські помилки, тощо.

Відзначені недоліки не знижують загальної позитивної оцінки дисертації, а зазначені зауваження та поставлені запитання носять уточнюючий та дискусійний характер.

Загальний висновок. Дисертаційна робота Савченюка Михайла Олександровича на тему: «Мікробіологічна характеристика *Streptococcus suis*, його ідентифікація методом полімеразної ланцюгової реакції, антибіотикорезистентність та поширеність у господарствах України» оформлена згідно з наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 року № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», є завершеною науково-дослідною роботою, яка за актуальністю, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів відповідає вимогам, що передбачені постановою Кабінету Міністрів України № 261 від 23 березня 2016 року «Про затвердження Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», постановою 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», а її автор – Савченюк Михайло Олександрович – є гідним присудження ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент,
доктор ветеринарних наук, професор,
професор кафедри епізоотології,
мікробіології і вірусології
Національного університету біоресурсів і
природокористування України

«05» січня 2024 р.

Підпис Валерія УШКАЛОВА засвідчую
Начальник відділу кадрів



Валерій УШКАЛОВ

Сергій ГРИЩЕНКО