ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Шевченка Максима Віталійовича** на тему: **«*Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus*: поширеність у тварин, мікробіологічна і молекулярно-генетична характеристика та антибіотикорезистентність»** представленої на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми

Стафілококові інфекції, спричинені видами *Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus*, є серйозною проблемою у ветеринарній медицині. Ці мікроорганізми можуть викликати широкий спектр захворювань у тварин, від шкірних уражень до системних інфекцій. Особливу загрозу становить поширення резистентних штамів, стійких до антибіотиків, що ускладнює лікування інфекцій. Дослідження поширеності колонізації здорових тварин стафілококами має важливе значення, оскільки вони можуть виступати резервуаром інфекцій. Визначення видового складу стафілококів, які беруть участь в інфекційних процесах у різних видів тварин, дозволяє краще зрозуміти їх епідеміологію та патогенний потенціал.

Моніторинг антибіотикорезистентності ізолятів стафілококів, отриманих від тварин, включаючи виявлення метицилінрезистентних штамів, є критично важливим для розробки ефективних стратегій лікування інфекцій та запобігання поширенню резистентності. Вивчення культуральних особливостей росту стафілококів на різних середовищах має діагностичне значення для покращення методів їх виявлення та ідентифікації. Дослідження здатності утворювати біоплівки та наявності генів, пов'язаних з факторами патогенності, дозволяє оцінити ризики, які становлять окремі ізоляти.

Молекулярно-генетичні методи, такі як секвенування генів, забезпечують точну ідентифікацію видів стафілококів та дають можливість встановити їх генетичну спорідненість із штамами з інших регіонів. Результати комплексного дослідження епідеміології, антибіотикорезистентності, факторів патогенності та молекулярно-генетичних характеристик стафілококових ізолятів від тварин мають важливе значення для ефективного контролю цих інфекцій у ветеринарній практиці.

Результати комплексного дослідження епідеміології, антибіотикорезистентності, факторів патогенності та молекулярно-генетичних характеристик стафілококових ізолятів від тварин мають важливе значення для ефективного контролю цих інфекцій у ветеринарній практиці.

У зв’язку з цим дисертаційна робота Шевченка Максима Віталійовича на тему: «*Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus*: поширеність у тварин, мікробіологічна і молекулярно-генетична характеристика та антибіотикорезистентність», а саме дослідження поширення, антибіотикорезистентності, факторів патогенності та

молекулярно-генетичних характеристик стафілококових ізолятів від тварин мають важливе значення для ефективного контролю цих інфекцій у ветеринарній практиці.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана згідно з планами науково-дослідних робіт кафедри епізоотології та інфекційних хвороб Білоцерківського національного аграрного університету «Молекулярна діагностика та генотипування збудників інфекційних хвороб тварин» (державний реєстраційний номер 0121U110290) та «Вивчення ролі умовно патогенних мікроорганізмів в етіології та патогенезі хвороб тварин» (державний реєстраційний номер 0121U110291).

Ступінь обґрунтованості наукових положень.

Метою дисертаційної роботи є визначення поширеності стафілококів серед тварин в Україні, молекулярно-генетична та мікробіологічна характеристика ізолятів та визначення їх антибіотикостійкості.

Досягнення мети дисертант отримав шляхом поставлених та сформульованих наукових задач: 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.

Дисертаційна робота виконана згідно вимог та на достатній кількості тварин. Для виконання поставлених завдань дисертант застосував різноманітні сучасні методи досліджень: епізоотологічні (визначення поширення бактерій *Staphylococcus spp.* серед клінічно здорових та хворих тварин); бактеріологічні (вивчення культурально-морфологічних, ферментативних властивостей стафілококів та визначення чутливості до антибіотиків); молекулярно-генетичні (класична полімеразна ланцюгова реакція, полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі, секвенування за Сенгером).

Науковою новизною дисертаційної роботи ***Шевченка Максима Віталійовича*** є визначення поширеності *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus pseudintermedius* серед собак, котів та корів в Україні, визначення їх чутливості до антибіотиків, визначення розповсюдження генів

антибіотикорезистентності та патогенності, встановлення культуральних властивостей ізолятів на хромогенних середовищах.

Важливість для науки і народного господарства одержаних авторкою дисертації результатів, рекомендацій щодо їх використання.

У роботі представлені практичні рекомендації щодо використання молекулярно-генетичних методів та хромогенних середовищ під час лабораторних досліджень стафілококів. Описано культуральні особливості росту Staph. pseudintermedius на середовищі CHROMagar Orientation та запропоновано схему ідентифікації стафілококів із застосуванням хромогенних середовищ у ветеринарній лабораторній практиці. Обґрунтовано використання ДНК, ідентифікованої методом секвенування, як позитивного контролю в ПЛР, та чистої культури, підтвердженої за допомогою MALDI-TOF MS, як позитивного контролю в мікробіологічних дослідженнях.

Основні положення кандидатської дисертації увійшли до Методичних рекомендацій «Сучасні підходи до дослідження стафілококів: мікробіологічні та молекулярно-генетичні методи діагностики» затверджених навчально-методичною радою факультету ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного Університету (протокол № 7 від 22.02.2024).

Матеріали дисертаційної роботи використовуються в освітньому процесі та науково-дослідній роботі викладачів і студентів спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» Білоцерківського національний аграрний університет, Національного університету біоресурсів і природокористування, Дніпровського державного аграрно-економічного університету, Сумського національного аграрного університету, Поліського національного університету та Одеського державного аграрного університету.

Дисертаційна робота ***Шевченка Максима Віталійовича*** є завершеною науковою працею, виконаною відповідно до поставленої мети та завдань. Отримані результати є високо інформативними та достовірними, оскільки отримані на достатній кількості тварин з використанням ефективних методів досліджень.

Основний зміст дисертаційної роботи викладено на 214 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів власних досліджень, узагальнення, аналізу та обговорення отриманих результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел і додатків. Дисертаційна робота проілюстрована 24 таблицями та 20 рисунками. Список використаних джерел містить 273 найменування.

Повнота викладання результатів дисертації в опублікованих працях, їх кількість та якість.

Матеріали дисертаційної роботи доповідалися, обговорювалися і були схвалені на міжнародних, державних наукових і науково-практичних конференціях: Міжнародна науково-практична конференція "Біобезпека, захист та благополуччя тварин" (Київ, 27 травня 2021 р.); Науково-практична

міжнародна дистанційна конференція "Сучасні досягнення та перспективи клінічної лабораторної медицини у діагностиці хвороб людини та тварин" (Харків,17 березня 2022 р.); Всеукраїнська науково-практична конференція "Ветеринарна медицина: сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та продовольчої безпеки: матеріали" (Житомир, 9–10 червня 2022 р.); Міжнародна наукова конференція "Єдине здоров'я – 2022" (Київ, 22–24 вересня 2022 р.); Міжнародна науково-практична конференція "Досягнення та перспективи ветеринарної науки" (Полтава, 20 жовтня 2022 р.); Міжнародна науково-практична конференція "Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту" (Біла Церква, 20 жовтня 2022 р.); "Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини" (Житомир,12-13 жовтня 2022 р.); Міжнародна науково-практична конференція "Біобезпека, захист та благополуччя тварин" (Київ, 21 листопада 2022 р.); III Міжнародна науково-практична конференції "Актуальні аспекти розвитку науки і освіти" (Одеса, 9–10 листопада 2023 р.); Міжнародна науково-практична конференція "Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту" (Біла Церква, 20 жовтня 2023 р.).

Основні положення за темою дисертаційної роботи викладені у 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, 10 публікацій у матеріалах і тезах конференцій; 1 методичні рекомендації.

Особистий внесок у розв'язанні наукової проблеми чи у вирішенні конкретного наукового завдання. Матеріали дисертаційної роботи ***Шевченка Максима Віталійовича*** є корисними та актуальними для науковців та практикуючих лікарів ветеринарної медицини, які досліджують дану науково-практичну проблему.

Наукові положення, висновки і пропозиції, сформульовані у дисертації, є логічними, обґрунтованими та випливають з отриманих результатів досліджень.

Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Автор особисто здійснив пошук і аналіз наукової літератури за темою дисертації. Виробничі та лабораторні дослідження у господарствах проводилися за безпосередньої участі автора під керівництвом наукового керівника. Узагальнення, статистичний аналіз та інтерпретація отриманих результатів виконані автором самостійно. За участі наукового керівника автором розроблено методику та план досліджень, проведено обговорення результатів, сформульовано висновки та пропозиції для впровадження у виробництво.

Обізнаність здобувача з результатами наукових досліджень інших учених за обраною темою дисертації та порівнянність цих результатів із результатами наукових положень здобувача.

Автор дисертаційної роботи достатньо обізнаний з результатами наукових досліджень інших учених за темою дисертації. Дисертантом вдало

виконано порівняння одержаних даних із результатами інших дослідників, які наведенні у 4 розділі дисертації «Узагальнення, аналіз та обговорення отриманих результатів досліджень», який займає 16-ть сторінок комп'ютерного тексту.

Відсутність академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації.

Представлена дисертація є завершеною комплексною науковою працею, в якій одержано низку нових вагомих наукових результатів. Робота виконана на належному науковому рівні та відповідає усталеним вимогам щодо її оформлення, висвітлюючи проблематику державною українською мовою.

В роботі не було виявлено ознак порушення академічної доброчесності у вигляді плагіату, фабрикації або фальсифікації даних. Наукова праця є оригінальним самостійним дослідженням здобувача.

Загальна оцінка суті дисертації, її цінність та недоліки за змістом та оформленням. Дисертаційна робота Шевченка Максима Віталійовича на тему: «*Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus*: поширеність у тварин, мікробіологічна і молекулярно-генетична характеристика та антибіотикорезистентність», відповідає вимогам Акредитаційної комісії України проведена значна наукова та організаційна робота, обрана актуальна тема досліджень, наукові дослідження проведені на високому методичному рівні, що дало можливість отримати цінні наукові результати, які мають теоретичне та практичне значення для фахівців ветеринарної медицини та науковців, які досліджують дану проблему. Водночас дисертаційна робота ***Шевченка Максима Віталійовича*** має незначні недоліки, деякі зауваження та побажання:

1. У тексті дисертаційної роботи зустрічаються невдалі вирази, як у розділі 3.3.2. «Систематичний огляд та мета-аналіз стійкості *Staph. aureus* та *Staph. pseudintermedius* до антибіотиків» дисертант вказує, що «Перелік антибактеріальних речовин, до яких визначали стійкість, відрізнявся між різними дослідженнями».

2. У розділі «Власні дослідження» на стор. 69 дисертант уточнює, що «В асоціації з іншими бактеріями *Staph. aureus* ізолювали з молока 18,2% субклінічно хворих тварин…», але в таблиці 3.1 «Видовий склад стафілококів, ізольованих з молока корів за клінічного та субклінічного маститу» їх 18,5%.

3. В таблиці 3.6 «Стійкість до антибіотиків *Staph. pseudintermedius* та *Staph. aureus* виділених від хворих тварин» M±м доцільно писати M±m.

4. У роботі для визначення меж аналітичної чутливості протоколів ПЛР концентрацію нуклеїнових кислот у зразку оцінювали на основі оптичної щільності бактеріальної суспензії. Однак для точнішого виявлення меж чутливості ПЛР-реакції доцільніше було б безпосередньо визначити концентрацію нуклеїнових кислот у зразку, оскільки кількість виділеної ДНК з бактеріальної суспензії може варіюватися.

5. У розділі «Аналіз та узагальнення результатів» висловлено думку, що забарвлення колоній *Staphylococcus pseudintermedius* у рожевий колір

пов'язане з тим, що ці мікроорганізми виробляють фермент бета-галактозидазу. Доцільно було б провести додаткове дослідження наявності цього ферменту в досліджених культурах для підтвердження цього припущення.

У процесі рецензування дисертаційної роботи, виникли деякі питання:

1. Обгрунтуйте, будь ласка, визначені Вами «Об'єкт дослідження» і «Предмет дослідження» для Вашої роботи.

2. З чим Ви пов'язуєте стійкість *Staph. pseudintermedius* до антибіотиків пеніциліну і чому на Вашу думку від котів отримано менше резистентних ізолятів 22,2 %, ніж від собак – 75,0 %.

3. Чому на Вашу думку 46,6 % ізолятів *Staph. pseudintermedius* та 40,0 % ізолятів *Staph. aureus*, виділених від собак та котів, мають слабкий потенціал до утворення біоплівки.

4. Охарактеризуйте значення проведеного Вами мета-аналізу та візуалізації у вигляді лісової діаграми.

5. Прошу уточнити, чому необхідно обмежити використання β-лактамних антибіотиків при лікуванні маститів у корів.

6. Назвіть вчених, які висвітлювали відомості про ефективність діагностики і лікування коагулазопозитивних видів стафілококів і чим Ваші дослідження відрізняються від попередників?

Проте, не зважаючи на окремі незначні недоліки, дисертаційна робота справила позитивне враження. Виявлені окремі зауваження не є принциповими і не зменшують наукової цінності та проблемного значення дисертаційної роботи. Сподіваємось, що висловлені оцінки та зауваження сприятимуть подальшому вдосконаленню знань дисертанта. Загалом вважаємо, що автор дисертації зробив істотний внесок у розвитку мікробіології, фармакології та епізоотології.

Висновок

Дисертантом виконані обґрунтовані дослідження, викладені у послідовній формі та зроблені аргументовані висновки і практичні пропозиції, що випливають з одержаних результатів.

Вважаю, що дисертаційна робота ***Шевченко Максима Віталійовича*** на тему: ***«Staphylococcus pseudintermedius та Staphylococcus aureus: поширеність у тварин, мікробіологічна і молекулярно-генетична характеристика та антибіотикорезистентність»*** відповідає постанові 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 № 44 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 від № 502 19 травня 2023 року «Про внесення змін до деяких постанов Кабінету Міністрів України з питань підготовки та атестації здобувачів наукових ступенів»), а її автор, Шевченко Максим Віталійович, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент, кандидат ветеринарних наук,
доцент, завідувач кафедри інфекційних хвороб тварин
Дніпровського державного
аграрно-економічного університету Володимир ЗАЖАРСЬКИЙ

«29» травня 2024 р.

Підпис доцента Зажарського В.В. завіряю:
начальник відділу кадрів
Дніпровського державного
аграрно-економічного університету Юлія КАРАМУШКА