

ВІДГУК

офіційного опонента

кандидата ветеринарних наук, доцента **ЦАРЕНКА Тараса Михайловича**
на дисертацію **СТОРОЖУК Владислави Іванівни**

на тему: **«Поширення, видове різноманіття і генетична характеристика**

паразитів та бактерій мишоподібних гризунів

в умовах радіоактивного забруднення України»,

подану на здобуття ступеня доктора філософії

зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина»

галузі знань 21 «Ветеринарна медицина»

Актуальність обраної теми дослідження. Сучасний етап розвитку ветеринарної медицини та біологічної науки нерозривно пов'язаний із концепцією «Єдине здоров'я» (One Health), яка передбачає комплексний підхід до моніторингу хвороб, спільних для дикої фауни, свійських тварин і людей. У цьому контексті мишоподібні гризуни (родина Muridae та Cricetidae) відіграють надзвичайно важливу епізоотологічну та епідеміологічну роль. Вони є проміжними, дефінітивними або резервуарними хазяями для широкого спектра збудників бактеріального, вірусного та паразитарного походження, у тому числі трансмісивних та зоонозних інфекцій та інвазій (зокрема, збудників родів *Trypanosoma*, *Hepatozoon*, *Babesia*, *Bartonella*, *Mollicutes* тощо).

Після катастрофи на ЧАЕС у 1986 році у Чорнобильській зоні відчуження (ЧЗВ) створилися умови для вивчення довготривалого впливу іонізуючого випромінювання на екосистеми. Мишоподібні гризуни, завдяки своєму повсюдному поширенню, високій плодючості та тісному контакту із забрудненим радіонуклідами (^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{241}Am) ґрунтом і кормовою базою, є біоіндикаторами та моделлю для оцінки радіаційних ризиків у багатьох дослідженнях.

Вплив хронічного радіоактивного забруднення на складну систему «патоген – хазяїн» залишається значущим питанням для вивчення. Відомо, що іонізуюче випромінювання здатне змінювати функціонування імунної системи тварин – хазяїв, що може впливати на їхню сприйнятливість до інфекцій та інвазій, перебіг хвороб і рівень паразитемії. Вивчення паразитів і бактерій у цій системі із застосуванням сучасних молекулярно-генетичних методів є доцільним для встановлення поширеності паразитів і мікроорганізмів та прогнозування їх впливу. Масштабні антропогенні зміни та руйнування екосистем внаслідок військової агресії російської федерації призводять до появи великих площ порушених ландшафтів, неконтрольованого поширення гризунів і створення нових ризиків спалахів природно-осередкових зоонозних захворювань.

З огляду на вищезазначене, дисертаційне дослідження Сторожук Владислави Іванівни, яке спрямоване на встановлення поширення, видового різноманіття та генетичної

характеристики паразитів і бактерій мишоподібних гризунів із застосуванням сучасного комплексу молекулярно-генетичних (ПЛР, секвенування, філогенетичний аналіз), гематологічних та радіобіологічних методів за різних рівнів радіоактивного забруднення, є актуальним.

Дисертаційне дослідження Сторожук Владислави Іванівни є складовою частиною плану науково-дослідних робіт кафедри фармакології, паразитології і тропічної ветеринарії (нині – кафедра ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин) факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування України. Роботу виконано в межах комплексної науково-дослідної теми кафедри «Моніторинг особливостей поширення зоонозних інвазій тварин та їх профілактика в умовах Чорнобильської зони радіоактивного забруднення» (номер державної реєстрації 0119U100757). Тема дисертації була в установленому порядку затверджена рішенням наукової ради факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування України (протокол № 4 від 18 листопада 2021 року).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, є високим. Дослідження побудовано логічно, комплексно використано сучасний методичний інструментарій. Експериментальний матеріал є значним за обсягом і достатнім для виконання основних поставлених завдань, хоча окремі молекулярно-генетичні порівняння ґрунтувалися на обмеженій вибірці (табл. 3.5). Здобувачкою чітко визначено мету, відповідно сформульовані завдання дослідження та обрано правильні шляхи їх вирішення.

Висока достовірність одержаних результатів забезпечується тим, що авторкою було досліджено значний масив біологічного матеріалу: загалом 409 мишоподібних гризунів родин Muridae і Cricetidae (116 особин відлову 2019–2020 рр. та 293 особини відлову 2024 р.), відловлених як на різних ділянках Чорнобильської зони відчуження (ПТЛРВ «Рудий ліс», полігони I–III водойми-охолоджувача ЧАЕС), так і на контрольній території (заказник «Чернечий ліс») (підрозділ 2.1, с. 80–82).

Обґрунтованість отриманих результатів також спирається на застосування сучасного арсеналу методів наукового пізнання: епізоотологічних та паразитологічних; гематологічних з використанням сучасного автоматичного ветеринарного аналізатора Mindray BC-2800Vet; молекулярно-генетичних та філогенетичних досліджень на основі ПЛР за цільовими локусами генів 18S рРНК, 16S рРНК, *gltA* та ін. (табл. 2.1) із подальшим секвенуванням за методом Сангера та біоінформатичним аналізом; радіобіологічних з оцінки питомої активності радіонуклідів та щільності забруднення ними ґрунту; статистичних методів

дисперсійного аналізу ANOVA, розрахунку довірчих інтервалів за методом Вілсона (формула 2.1, с. 92–93).

У першому розділі здійснено ґрунтовний критичний аналіз вітчизняних і зарубіжних літературних джерел. Огляд літератури ґрунтується на значному масиві сучасних публікацій, а загальний список використаних джерел налічує 480 найменувань. Здобувачкою систематизовано дані щодо біологічної характеристики паразитів і бактерій мишоподібних гризунів, сучасних методів їх діагностики, проаналізовано різні наукові погляди на вплив хронічного радіоактивного забруднення на систему «патоген – хазяїн» (підрозділи 1.1–1.5).

У другому розділі детально описано матеріали, методики відлову гризунів, способи вимірювання радіоактивного забруднення території, а також алгоритми проведення лабораторних, молекулярно-генетичних і статистичних досліджень, що забезпечує відтворюваність експериментів (підрозділи 2.1–2.4).

Третій розділ, у якому викладено результати власних досліджень, оформлений послідовно, містить велику кількість фактичного експериментального матеріалу, оформленого у 15 таблиць та 16 рисунків. Дані піддані комплексній математичній і статистичній обробці та систематизації. У розділі наведено дані щодо поширеності збудників родів *Trypanosoma*, *Hepatozoon*, *Babesia*, *Bartonella* та Mollicutes, здійснено порівняння результатів мікроскопії та ПЛР, а також проаналізовано морфологічні показники крові гризунів залежно від рівня радіаційного навантаження та паразитарної інвазії. Особливо цінним є проведення філогенетичного аналізу отриманих генотипів паразитів і бактерій. Поширеність збудників і чинники її варіації узагальнено у підрозділах 3.1, 3.3 і 3.7 (табл. 3.3–3.10, 3.15); морфологічні показники крові – у підрозділі 3.4 (табл. 3.11–3.13); результати секвенування та філогенетичного аналізу – у підрозділах 3.5–3.6 (табл. 3.14).

У четвертому розділі проведено узагальнення отриманих результатів та їх критичне порівняння з результатами досліджень інших авторів, опублікованими у рецензованих виданнях. Здобувачка фахово інтерпретує отримані закономірності щодо залежності поширення збудників від виду, статі, віку тварин та радіоекологічних умов середовища.

Усі сформульовані у висновках результати впливають із матеріалів проведених досліджень, спираються на достовірні фактичні дані, є науково аргументованими та не викликають сумнівів щодо їх об'єктивності.

Достовірність та наукова новизна одержаних результатів. Достовірність одержаних результатів, висновків та пропозицій, сформульованих у дисертації Сторожук Владислави Іванівни, підтверджується достатнім обсягом експериментального матеріалу (загалом досліджено 409 мишоподібних гризунів родин Muridae і Cricetidae з територій з різним рівнем радіоактивного забруднення). Високий рівень вірогідності наукових положень

забезпечується комплексним застосуванням сучасних паразитологічних, гематологічних та молекулярно-генетичних методів, а також використанням методів математичної статистики – t-тест, дисперсійний аналіз ANOVA, розрахунок довірчих інтервалів за методом Вілсона для обробки масивів емпіричних даних (підрозділ 2.2; табл. 3.15). Якість досліджень додатково підтверджується їх публікацією у провідних міжнародних фахових виданнях, що індексуються у наукометричних базах даних Scopus та Web of Science.

Наукова новизна дослідження полягає в тому, що авторкою вперше отримано комплексні пріоритетні дані про поширення, видове та генетичне різноманіття паразитів і бактерій мишоподібних гризунів в умовах Чорнобильської зони відчуження (ЧЗВ).

Робота містить результати, які становлять наукову новизну та виносяться на захист. Авторкою уперше в Україні виявлено та молекулярно-генетично ідентифіковано низку збудників у мишоподібних гризунів, зокрема кровопаразитів *Trypanosoma grosi* та *Hepatozoon* spp. типу SK3, бактерій класу Mollicutes (*Mycoplasma*-подібні організми), а також *Parabodo caudatus*-подібний генотип; проведено порівняльний аналіз поширеності збудників паразитарного та бактеріального походження у гризунів за різних рівнів хронічного радіоактивного забруднення (дослідні полігони I–III ЧЗВ) та на контрольній території (заказник «Чернечий ліс») (підрозділ 3.3; табл. 3.9, 3.10); виміряно та описано морфометричні параметри збудників родів *Trypanosoma* (*T. grosi*) і *Hepatozoon* у мишоподібних гризунів із Чорнобильської зони відчуження (підрозділ 3.1; табл. 3.1, 3.2); побудовано філогенетичні дерева на основі локусів генів 18S рРНК, 16S рРНК та *gltA*, що підтверджують таксономічну спорідненість та еволюційне положення виявлених в Україні генотипів паразитів і бактерій (підрозділи 3.5–3.6; табл. 3.14). Удосконалено підходи до комплексної діагностики кровопаразитарних та бактеріальних інфекцій диких гризунів шляхом поєднання традиційної світлової мікроскопії, автоматичного гематологічного аналізу та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з подальшим секвенуванням, що дозволило диференціювати морфологічно подібні мікроорганізми; поглиблено розуміння епізоотологічної ролі мишоподібних гризунів як резервуарних хазяїв зоонозних інфекцій в Україні, що підтверджується виявленням нуклеотидної послідовності, яка мала 100 % ідентичність із депонованою в GenBank послідовністю *Bartonella grahamii* as4aup. Авторкою задепоновано у GenBank 13 отриманих нуклеотидних послідовностей (генетичних варіантів) паразитів та бактерій, виявлених у гризунів України (зокрема, *T. grosi*, *P. caudatus*-подібний, *Hepatozoon* spp., 6 генотипів *Bartonella* spp. та 3 генотипи Mollicutes). Набули подальшого розвитку наукові уявлення про функціонування системи «патоген – хазяїн» за умов хронічного впливу іонізуючого випромінювання. Встановлено статистично значущі відмінності поширеності для окремих виявлених організмів між місцями відлову, які характеризуються різним рівнем

радіоактивного забруднення території, а також залежно від виду, статі та віку гризуна (підрозділ 3.7; табл. 3.15).

Узагальнюючи викладене, слід наголосити на загальній позитивній оцінці змістовності та обґрунтованості винесених на захист елементів наукової новизни дисертації Сторожук Владислави Іванівни.

Практичне значення і впровадження одержаних результатів дослідження.

Отримані авторкою емпіричні дані мають безпосереднє значення для фахівців галузі ветеринарної медицини, епізоотології та епідеміології. Вони формують наукове підґрунтя для розроблення заходів профілактики та контролю природно-осередкових та зоонозних захворювань.

Авторкою запропоновано комплексний підхід до виявлення збудників (*Trypanosoma* spp., *Hepatozoon* spp., *Bartonella* spp. та бактерій класу Mollicutes), який поєднує класичне мікроскопічне дослідження тонких мазків крові із сучасними молекулярно-генетичними методами (підрозділи 2.2, 3.1–3.2). Цей алгоритм має прикладну цінність і рекомендований для широкого застосування в умовах вітчизняних лабораторій, а також під час розроблення та впровадження державних чи регіональних програм епізоотологічного моніторингу природних осередків в умовах Чорнобильської зони відчуження та за її межами. За участю здобувачки розроблено, видано та впроваджено «Методичні рекомендації щодо особливостей поширення деяких зоонозних інвазій в умовах Чорнобильської зони радіоактивного забруднення та прилеглих областей України, аналізу ризиків їх розповсюдження і підходів профілактики» (Київ: НУБіП України, 2021 р., 39 с.).

Результати роботи можуть використовуватися у навчальному процесі закладів вищої освіти на біологічних, природничих факультетах та факультетах ветеринарної медицини під час підготовки та оновлення лекційних і практичних занять із дисциплін «Загальна паразитологія», «Екологічна паразитологія» та «Спеціальна паразитологія».

Повнота викладення наукових положень, висновків і результатів в опублікованих працях. Основні наукові положення, результати, висновки та практичні рекомендації дисертаційного дослідження Сторожук Владислави Іванівни достатньо повно відображено у 12 публікаціях, із яких 3 статті у періодичних виданнях, проіндексованих у міжнародних наукометричних базах даних Scopus та Web of Science Core Collection, стаття у науковому виданні, включеному до Переліку наукових фахових видань України, 7 тез наукових доповідей, методичні рекомендації.

Основні результати дисертації та окремі наукові положення відображено у публікаціях здобувачки, ключові результати дослідження мишоподібних гризунів достатньо повно

представлено у профільних статтях і матеріалах наукових конференцій. Кількість і якість публікацій відповідають чинним вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії (постанова Кабінету Міністрів України № 44 від 12.01.2022 р. зі змінами).

Особистий внесок здобувачки. Аналіз дисертації та наведеного розподілу внесків у спільні публікації свідчить про вагомий особистий внесок Сторожук Владислави Іванівни у виконання роботи. Здобувачкою здійснено аналіз наукових джерел, проведено значну частину мікроскопічних і молекулярно-генетичних досліджень, опрацьовано та інтерпретовано одержані результати, виконано філогенетичний і статистичний аналіз, сформульовано основні положення та висновки дисертації. Дослідження, виконані у співавторстві, супроводжуються належним зазначенням особистого внеску кожного автора.

Відсутність порушень академічної доброчесності. Дисертація Сторожук Владислави Іванівни виконана самостійно. За результатами ознайомлення з текстом дисертації і наведеними бібліографічними посиланнями ознак академічного плагіату, фабрикації чи фальсифікації, які могли б поставити під сумнів самостійність виконання роботи, не виявлено. У роботі належним чином оформлено бібліографічні посилання на використані літературні джерела, дотримано принципів наукової етики та вимог законодавства у сфері авторського права, що свідчить про коректне використання наукових результатів інших дослідників.

Дискусійні положення та зауваження щодо змісту дисертації. Аналіз структури та змісту дисертації дає підстави відзначити її високий науковий рівень, логічність побудови та обґрунтованість отриманих результатів. Водночас окремі положення дисертації мають дискусійний характер і потребують додаткового уточнення, конкретизації або розширення аргументації, зокрема:

1. Певного наукового узагальнення та додаткових роз'яснень потребує встановлений авторкою факт, що найвищу поширеність *Trypanosoma grosi* й бактерій класу Mollicutes зареєстровано у гризунів з Полігону II, який характеризувався найнижчим рівнем радіоактивного забруднення території з-поміж інших дослідних локацій Чорнобильської зони відчуження (підрозділ 3.3; табл. 3.10). Які можливі біологічні механізми виникнення такої закономірності?

2. У роботі зазначено, що загалом було відловлено та мікроскопічно досліджено 116 тварин у 2019–2020 роках, однак для ПЛР-дослідження з подальшим секвенуванням було відібрано лише 32 особини (підрозділи 2.1–2.2; табл. 3.4, 3.5). У роботі недостатньо детально описано методологію відбору зразків, наприклад – випадковий відбір або відбір позитивних за результатами мікроскопії зразків тощо. Якими були критерії відбору саме цих 32 зразків та оцінки репрезентативності сформованої вибірки?

3. Оскільки більшість виявлених у дисертації збудників (зокрема, родів *Trypanosoma*, *Bartonella*, *Hepatozoon* та *Babesia*) можуть передаватися трансмісивно (підрозділи 1.1, 1.5), у роботі бракує аналізу безпосередніх переносників – бліх та кліщів. Авторка детально дослідила кров та внутрішні органи гризунів, проте не наводить даних про збір та вивчення ектопаразитів з відловлених тварин, оцінку їх кількості у гризунів з різних полігонів Чорнобильської зони відчуження. Чи розглядалася можливість дослідження цих переносників та впливу на них хронічного радіоактивного забруднення?

4. Як варто розглядати виявлення за допомогою ПЛР у селезінці одного з гризунів ДНК *Parabodo caudatus*-подібного організму (підрозділ 3.5; табл. 3.14) з епізоотологічної точки зору? Чи вказує ця знахідка на істинний паразитизм цього організму або це могла бути випадкова екологічна контамінація зразка з навколишнього середовища?

Утім, висловлені зауваження та дискусійні положення, передусім, свідчать про складність досліджуваної проблеми й багатогранність роботи, а тому суттєво не впливають на її загальну позитивну оцінку та науково-практичну значущість.

Загальний висновок та оцінка дисертації. Дисертація Сторожук Владислави Іванівни на тему: «Поширення, видове різноманіття і генетична характеристика паразитів та бактерій мишоподібних гризунів в умовах радіоактивного забруднення України» є цілісною, самостійно виконаною та завершеною кваліфікаційною науковою працею. У дослідженні успішно вирішено конкретне та актуальне прикладне наукове завдання, що полягає у комплексному встановленні поширення, видового різноманіття та генетичної характеристики паразитів і бактерій мишоподібних гризунів за умов хронічного радіоактивного впливу в Чорнобильській зоні відчуження.

Одержані наукові положення, висновки та практичні рекомендації спираються на ґрунтовну теоретичну й експериментальну базу, характеризуються високим ступенем наукової новизни, обґрунтованістю, достовірністю та мають вагомe теоретичне й практичне значення для розвитку ветеринарної медицини. Зміст дисертації повністю відповідає меті та поставленим завданням, логічно розкриває обрану тему й цілком узгоджується з науковим профілем спеціальності 211 «Ветеринарна медицина».

Основні результати дослідження з достатньою повнотою відображені в опублікованих авторкою фахових наукових статтях та пройшли належну апробацію. Оформлення кваліфікаційної роботи відповідає встановленим вимогам, а факти порушення академічної доброчесності у тексті відсутні.

Дисертація Сторожук Владислави Іванівни повністю відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 року. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (зі змінами). Робота також повною мірою задовольняє всі вимоги Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12.01.2022 року (зі змінами).

Авторка дисертації Сторожук Владислава Іванівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент декан факультету ветеринарної медицини, доцент кафедри епізоотології та інфекційних хвороб Білоцерківського національного аграрного університету, кандидат ветеринарних наук, доцент Тарас ЦАРЕНКО