

РЕЦЕНЗІЯ

завідувача науково-дослідного відділу молекулярно-біологічних досліджень
Української лабораторії якості і безпеки продукції агропромислового комплексу
Національного університету біоресурсів і природокористування України,
кандидата ветеринарних наук, старшого дослідника **ІЩЕНКО Людмили Мар'янівни**
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
за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»
галузі знань 21 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми дисертаційного дослідження. Мишоподібні гризуни є важливою складовою природних екосистем і водночас можуть виступати резервуарами та хазяями широкого спектра збудників паразитарного і бактеріального походження, у тому числі потенційно зоонозних. Вивчення циркуляції таких збудників має значення для ветеринарної медицини, епізоотології, екології та реалізації підходу «Єдине здоров'я», оскільки природні популяції гризунів можуть підтримувати існування збудників і забезпечувати їх передачу між різними компонентами біоценозу. Особливого значення ця проблема набуває на територіях, які тривалий час зазнають дії радіонуклідного забруднення, де взаємодія системи «хазяїн – збудник – середовище» може формуватися під впливом комплексу специфічних екологічних чинників.

Чорнобильська зона відчуження є унікальною природною моделлю для оцінювання довготривалих наслідків радіоактивного забруднення для популяцій диких тварин та асоційованих із ними паразитарних і бактеріальних організмів. Водночас наукові дані щодо поширення, видового складу та генетичної характеристики збудників у мишоподібних гризунів цієї території залишаються фрагментарними, а питання можливого зв'язку між рівнем радіоактивного забруднення та особливостями циркуляції збудників потребує подальшого дослідження. Саме тому комплексне поєднання епізоотологічних, паразитологічних, гематологічних, молекулярно-генетичних, філогенетичних, радіобіологічних і статистичних методів є доцільним та науково обґрунтованим підходом до вирішення поставленого завдання.

Дисертацію виконано відповідно до планів науково-дослідної роботи кафедри фармакології, паразитології і тропічної ветеринарії (нині – кафедра ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин) Національного університету біоресурсів і природокористування України в межах теми «Моніторинг особливостей поширення зоонозних інвазій тварин та їх профілактика в умовах Чорнобильської зони радіоактивного забруднення» (номер державної реєстрації 0119U100757). Отже, обрана тема є актуальною, своєчасною та має як фундаментальне, так і прикладне значення для ветеринарної медицини.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, їх достовірність. Мета дисертаційного дослідження сформульована логічно та відповідає його темі – встановити поширення, видове різноманіття і генетичну характеристику паразитів і бактерій, у тому числі трансмісивного походження, мишоподібних гризунів в умовах Чорнобильської зони відчуження за різних рівнів радіоактивного забруднення. Для досягнення мети визначено взаємопов'язані завдання, що охоплюють оцінювання поширення і видового різноманіття збудників, їх морфологічну та молекулярно-генетичну характеристику, аналіз гематологічних показників, оцінювання залежності виявлення

збудників від виду, статі, віку, сезону та місця відлову тварин, а також філогенетичне дослідження отриманих генотипів.

Експериментальну частину роботи виконано упродовж 2019–2026 рр. на базі Національного університету біоресурсів і природокористування України, Інституту ядерних досліджень НАН України, Чорнобильського радіаційно-екологічного біосферного заповідника та Інституту паразитології Університету ветеринарної медицини Відня. Матеріалом дослідження були тканини 409 мишоподібних гризунів родин Muridae і Soricetidae. Для 116 тварин, відловлених у 2019–2020 рр., проведено мікроскопічні та частину гематологічних і молекулярно-генетичних досліджень; додатково у 2024 році досліджено пофарбовані мазки крові 293 гризунів. Значний обсяг досліджуваного матеріалу дав змогу комплексно оцінити поширення та різноманіття паразитів і бактерій у різних видів мишоподібних гризунів.

Достовірність основних результатів забезпечується використанням взаємодоповнюючих методів. Морфологічне виявлення *Trypanosoma* spp. і *Hepatozoon* spp. поєднано з молекулярним визначенням цільових генетичних локусів, секвенуванням за Сангером та подальшим порівнянням нуклеотидних послідовностей із даними GenBank. Для філогенетичного аналізу застосовано сучасні алгоритми вирівнювання та метод максимальної правдоподібності з оцінюванням бутстреп-підтримки. Окремою перевагою роботи є залучення даних щодо радіоактивного забруднення ґрунту та інкорпорованого ^{137}Cs у організмі тварин, що дозволило зіставити біологічні результати з характеристиками місць відлову.

Висновки дисертації загалом узгоджуються з представленими експериментальними результатами та відображають виконання поставлених завдань. Дисертантка цілком слушно зазначає наголошує, що довгостроковий вплив низьких і високих доз іонізуючого випромінювання на збудників захворювань потребує подальшого вивчення, що є важливим з огляду на складність багатофакторної природної системи.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна дисертації полягає у формуванні нових даних щодо видового та генетичного різноманіття паразитів і бактерій у мишоподібних гризунів України умовах Чорнобильської зони відчуження. Найвагомішими результатами, що характеризують новизну роботи, є:

- вперше для мишоподібних гризунів на території України комплексно виявлено та досліджено *Trypanosoma* spp., зокрема *T. grosi*, *Parabodo caudatus*-подібний генотип, *Hepatozoon* spp. типу SK3 та представників класу *Mollicutes* (*Mycoplasma*-подібні організми);
- вперше в Україні виконано морфометричну характеристику трипомастигот *Trypanosoma* spp., у тому числі *T. grosi*, та гамонтів *Hepatozoon* spp. у мишоподібних гризунів;
- виявлено генотип потенційно зоонозного збудника *Bartonella grahamii* та охарактеризовано генетичне різноманіття представників роду *Bartonella*;
- одержані нуклеотидні послідовності депоновано у міжнародній базі GenBank, а їх таксономічну спорідненість підтверджено філогенетичним аналізом;
- проведено порівняння поширеності паразитів і бактерій у різних видів мишоподібних гризунів за різних рівнів радіоактивного забруднення та з контрольною територією за межами Чорнобильської зони відчуження;
- одержано нові дані щодо зв'язку виявлення окремих збудників із видом, статтю, віковою групою, місяцем і місцем відлову гризунів.

Важливою складовою наукової новизни роботи є філогенетична характеристика виявлених генотипів із використанням референтних послідовностей GenBank, що дало змогу встановити їх генетичну спорідненість з раніше описаними генотипами та уточнити відомості

щодо поширення окремих паразитів і бактерій у мишоподібних гризунів на території України.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертації мають практичну цінність для фахівців ветеринарної медицини, паразитології, епізоотології та суміжних галузей. Вони можуть бути використані під час розроблення та вдосконалення програм епізоотологічного моніторингу природних осередків паразитів і бактерій, у тому числі потенційно зоонозного походження, як на території Чорнобильської зони відчуження, так і за її межами. Отримані дані підтверджують значення представників родів *Apodemus* і *Myodes* у циркуляції низки збудників у природних осередках.

Практичне значення має запропонований комплексний підхід до лабораторного виявлення *Trypanosoma* spp., *Hepatozoon* spp., *Bartonella* spp. та представників класу *Mollicutes*, що поєднує мікроскопічне дослідження, ПЛР, секвенування та подальшу інтерпретацію його результатів. Матеріали дисертації можуть бути використані також в освітньому процесі під час підготовки здобувачів за спеціальністю «Ветеринарна медицина», у курсах із паразитології, епізоотології, екології та молекулярної діагностики. Практичне значення результатів дисертаційного дослідження підтверджується їх використанням для підготовки методичних рекомендацій щодо особливостей поширення деяких зоонозних інвазій в умовах Чорнобильської зони радіоактивного забруднення та прилеглих областей України, аналізу ризиків їх розповсюдження і підходів профілактики.

Оцінка змісту дисертації, її структури, завершеності та оформлення. Дисертація В. І. Сторожук є завершеним науковим дослідженням, структурованим відповідно до поставленої мети і завдань. Робота складається з анотації, вступу, чотирьох розділів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел та додатків. Загальний обсяг дисертації становить 244 сторінки; робота містить 19 рисунків, 16 таблиць і формулу. Список використаних джерел налічує 480 найменувань.

У вступі обґрунтовано актуальність теми, наведено зв'язок роботи з науковими програмами і темами, сформульовано мету та завдання, визначено об'єкт, предмет і методи дослідження, розкрито наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, наведено відомості про особистий внесок здобувачки, апробацію та публікації.

Перший розділ присвячено аналізу сучасних даних щодо мишоподібних гризунів як хазяїв і резервуарів збудників, поширення паразитарних і бактеріальних організмів, впливу радіоактивного забруднення на біологічні системи, а також методів діагностики та контролю трансмісивних хвороб. Огляд літератури є достатньо повним, містить значну кількість сучасних іноземних джерел і формує належне теоретичне підґрунтя для власних досліджень.

У другому розділі детально описано матеріали та методи дослідження, місця і строки відлову гризунів, підходи до видової ідентифікації тварин, мікроскопічних та гематологічних досліджень, екстракції ДНК, ПЛР, секвенування, філогенетичного та статистичного аналізу.

У третьому розділі представлено результати власних досліджень щодо поширення, видового та генетичного різноманіття паразитів і бактерій мишоподібних гризунів. За результатами мікроскопічного дослідження зразків крові тварин, відловлених у 2019–2020 рр., *Trypanosoma* spp. виявлено у 7,76 %, а *Hepatozoon* spp. – у 12,07 % досліджених гризунів; проведено морфометричну характеристику 126 трипомастигот *Trypanosoma* spp. та 219 гамонтів *Hepatozoon* spp. Молекулярно-генетичні дослідження дали змогу ідентифікувати *T. grosi*, *Hepatozoon* spp. типу SK3, представників класу *Mollicutes* та генетичні варіанти *Bartonella* spp., серед яких *B. grahamii*. Для одержаних нуклеотидних послідовностей визначено філогенетичне положення, а відповідні генотипи депоновано

у базі даних GenBank. Окрему увагу приділено оцінюванню гематологічних показників гризунів, зіставленню результатів мікроскопічних і молекулярно-генетичних досліджень, а також встановленню зв'язку поширеності виявлених збудників із видом, статтю та віком тварин, сезоном і місцем їх відлову.

Четвертий розділ присвячено аналізу й узагальненню отриманих результатів та їх порівнянню з даними інших дослідників. Дисертантка аналізує та порівнює виявлені генотипи у контексті світових даних, особливості їх поширення у різних видів гризунів, можливі сезонні та статеві відмінності, а також складність інтерпретації зв'язку між радіоактивним забрудненням, гематологічними змінами і наявністю збудників. Важливим є те, що в обговоренні наведені обмеження окремих молекулярних маркерів та необхідність подальших досліджень для остаточної таксономічної ідентифікації деяких генотипів.

Висновки сформульовані відповідно до результатів дослідження та послідовно відображають виконання поставлених завдань.

Пропозиції виробництву спрямовані на практичне використання отриманих результатів під час епізоотологічного моніторингу та лабораторного виявлення паразитів і бактерій із застосуванням комплексу мікроскопічних і молекулярно-генетичних методів.

Повнота викладення наукових положень, висновків і рекомендацій у публікаціях. Основні результати дисертаційного дослідження відображено у 12 наукових працях, 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. Результати дослідження апробовано на міжнародних наукових і науково-практичних заходах в Україні та за кордоном. Представлений обсяг публікацій та апробації забезпечує належне висвітлення основних результатів дисертації серед наукової спільноти.

Дотримання принципів академічної доброчесності. За результатами ознайомлення з дисертацією її виклад має ознаки самостійного завершеного дослідження. Використані положення та дані інших авторів супроводжуються відповідними бібліографічними посиланнями, а власні результати здобувачки відокремлені від літературних даних. У процесі рецензування дисертації ознак порушення принципів академічної доброчесності не виявлено.

Дискусійні положення та зауваження щодо дисертації. Позитивно оцінюючи дисертацію, слід зазначити окремі положення, які можуть бути предметом дискусії під час публічного захисту. Вони не заперечують наукової цінності отриманих результатів, але їх обговорення дозволить точніше окреслити межі інтерпретації дослідження.

1. Молекулярно-генетичні дослідження у роботі виконано для 32 мишоподібних гризунів, тоді як мікроскопічні дослідження охоплювали значно більшу кількість тварин. Як Ви оцінюєте репрезентативність підвибірки для молекулярно-генетичних досліджень та наскільки її видовий склад міг вплинути на встановлені показники поширеності окремих збудників?

2. Ідентифікацію більшості виявлених збудників проведено за окремими генетичними локусами: 18S рРНК для протистів, 16S рРНК для представників класу Mollicutes та *gltA* для *Bartonella* spp. Чи вважаєте Ви таксономічну роздільну здатність використаних генетичних маркерів достатньою для видової та внутрішньовидової ідентифікації? Які додаткові генетичні маркери або мультилокусні підходи могли б бути використані для більш детальної характеристики виявлених генотипів?

3. Для виявлення представників типу *Apicomplexa* у роботі використано праймери широкого спектру дії до локусу 18S рРНК, а також окремі специфічні праймери

для *Hepatozoon* spp. За результатами ПЛР позитивними щодо *Apicomplexa* були 10 із 32 досліджених тварин, тоді як секвенування дало змогу ідентифікувати *Hepatozoon* spp. типу SK3 лише у двох зразках. Чим, на Вашу думку, можна пояснити таку різницю та які результати були отримані для інших ПЛР-позитивних щодо *Apicomplexa* зразків?

4. У роботі встановлено відмінності у поширеності окремих паразитів і бактерій між територіями з різним рівнем радіоактивного забруднення. На Вашу думку, які додаткові дослідження або підходи дали б змогу більш чітко відокремити вплив іонізуючого випромінювання від інших чинників, таких як видовий склад гризунів, сезонність, особливості біотопу та місця відлову?

5. Які з виявлених у Вашому дослідженні паразитів і бактерій, на Вашу думку, мають найбільше значення для подальшого епізоотологічного моніторингу в Україні та чому?

Загальний висновок. Дисертація Сторожук Владислави Іванівни на тему: «Поширення, видове різноманіття і генетична характеристика паразитів та бактерій мишоподібних гризунів в умовах радіоактивного забруднення України» є завершеною та самостійною науковою працею, в якій отримано нові науково обґрунтовані результати, що мають теоретичне і практичне значення для ветеринарної медицини, паразитології та епізоотології. Робота характеризується актуальністю, належним методичним рівнем, науковою новизною, достатньою апробацією та практичною спрямованістю.

За змістом і оформленням дисертація відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (зі змінами) і 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 січня 2022 року (зі змінами), а її авторка Сторожук Владислава Іванівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

Рецензент завідувач науково-дослідного відділу молекулярно-біологічних досліджень Української лабораторії якості та безпеки продукції агропромислового комплексу Національного університету біоресурсів і природокористування України, кандидат ветеринарних наук, старший дослідник Людмила ІЩЕНКО