

РЕЦЕНЗІЯ

професора кафедри ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України, доктора ветеринарних наук, професора, академік НААН **УШКАЛОВА Валерія Олександровича** на дисертацію **ЗАРІЦЬКОГО Руслана Володимировича** на тему: **«Поширення та науково-теоретичне обґрунтування методів лабораторної діагностики контагіозних та енвіронментальних збудників маститу корів»**, подану на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина»

Актуальність обраної теми. Мастит є одним з найважливіших захворювань, за якого найчастіше використовують протимікробні препарати для лікування дійних корів. Антимікробна терапія продовжує залишатися важливою складовою контролю захворювання в молочному скотарстві, що є потенційною загрозою поширення стійкості до протимікробних засобів серед зоонозних мікроорганізмів, що загрожує глобальній охороні здоров'я. Регуляторні документи Всесвітньої організації охорони здоров'я тварин та Європейської комісії рекомендують проводити визначення чутливості до протимікробних речовин у індикаторних зоонозних мікроорганізмів, зокрема у збудників маститу, щоб запобігти появі резистентних штамів бактерій шляхом раціонального вибору відповідного антимікробного препарату. Дисертацію Руслана Заріцького присвячено визначенню чутливості збудників маститу корів, що циркулюють в Україні, до протимікробних речовин, а також застосуванню сучасних методів лабораторної діагностики.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх новизна та практичне значення. Дисертація Руслана Заріцького базується на фактичному матеріалі, який отримано в результаті методично правильно проведених досліджень. Отримані дані оброблено статистично та підтверджено їх вірогідність. Для виконання роботи використано сучасні методи досліджень, які дозволили дисертанту виконати поставлені завдання, зробити висновки.

Дисертація виконувалася як складова частина науково-дослідної роботи кафедри ветеринарної репродуктології Національного університету біоресурсів і природокористування України за ініціативною темою «Аналіз і теоретичне обґрунтування критеріїв відтворювальної здатності тварин в сучасних умовах та впровадження методів їх корекції» (номер державної реєстрації 0115U003448) та госпдоговірною темою «Технологічний супровід репродуктивної функції жуйних» (договір № 10/54 від «10» квітня 2023 року).

Дисертація Руслана Заріцького є самостійною завершеною науковою роботою та підготовлена на основі власних експериментальних досліджень, які виконувалися методично правильно із застосуванням відповідних сучасних методів досліджень. Роботу

виконано на достатній кількості зразків секрету молочної залози корів хворих маститом, застосовано новітню апаратуру та сучасні методики бактеріологічних, молекулярно-генетичних, серологічних і статистичних досліджень, що дало змогу об'єктивно й різнобічно оцінити чутливість збудників маститу до протимікробних речовин і вивчити поширення цих інфекційних агентів за допомогою сучасних методів лабораторної діагностики.

Новизна дисертації полягає в тому, що вперше в Україні показано чутливість збудників маститу до різних протимікробних речовин відповідно до Порядку використання протимікробних ветеринарних лікарських засобів у ветеринарній медицині, затвердженого наказом Міністерства економіки України від 30 грудня 2021 року № 1177-21. Одержано нові дані щодо наявності антитіл до *Leptospira interrogans* серовар *hardjo* в зразках збірного молока корів (за результатами імуноферментного аналізу). Одержано нові дані щодо поширеності мікроорганізмів, виділених з секрету молочної залози хворих на мастит корів, встановлено стійкість виділених ізолятів до деяких протимікробних речовин. Встановлено, що комплексне застосування молекулярно-генетичних та бактеріологічних досліджень дозволяє отримати нові дані про поширення контагіозних збудників маститу в зразках збірного молока.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, підтверджується коректною постановкою завдань досліджень та високим збігом даних, що отримані в результаті їх проведення.

Одержані результати досліджень впроваджено в практику ТОВ «Центр Ветеринарної Діагностики», Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету «Biosafety-Center», ТОВ «Експертний Центр Лабораторного супроводу «Біолайтс», а також використовуються в практичній та науково-дослідній роботі кафедри ветеринарної репродуктології Національного університету біоресурсів і природокористування України, кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, кафедри акушерства і біотехнології репродукції тварин Білоцерківського національного аграрного університету, кафедри акушерства та хірургії Сумського національного аграрного університету, кафедри ветеринарної хірургії і репродуктології Дніпровського державного аграрно-економічного університету, кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету, кафедри ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії ЗВО «Подільський державний університет».

Достовірність наукових досліджень. Про достовірність одержаних автором результатів досліджень свідчать використані сучасні методи досліджень, що підтверджується цифровими даними, їх статистичною обробкою.

Повнота викладених матеріалів досліджень в опублікованих працях. Основні положення дисертаційного дослідження викладено у 8 наукових публікаціях здобувача, з яких 2 статті у періодичному науковому виданні, проіндексованому у базі даних Scopus, стаття у періодичному науковому виданні, включеному до категорії «Б» Переліку наукових фахових видань України, 5 тез наукових доповідей.

Аналіз структури і змісту роботи. Оформлення дисертації оцінювалося відповідно до наказу Міністерства науки та освіти України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 року № 40 (із змінами, внесеними згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31.05.2019 року).

Дисертація складається з наступних розділів: анотації; переліку умовних позначень, символів, одиниць та скорочень; вступу; огляду літератури; матеріалів та методів дослідження; результатів власних досліджень; аналізу і узагальнення результатів досліджень; висновків; пропозицій виробництву; списку використаних джерел, що включає 290 джерел, з яких 288 – латиницею; додатків. Дисертацію викладено на 190 сторінках, ілюстровано 33 таблицями та 39 рисунками.

У дисертації Руслана Заріцького наведено результати бактеріологічних досліджень індивідуальних зразків секрету молочної залози хворих на мастит корів. Показана чутливість збудників маститу до різних протимікробних речовин відповідно до наказу Міністерства економіки України від 30 грудня 2021 року № 1177-21 про «Порядок використання протимікробних ветеринарних лікарських засобів у ветеринарній медицині». Здобувачем проведено дослідження зразків збірного молока корів методом ІФА на наявність антитіл до *Leptospira interrogans* серовар *hardjo*. Установлено, що комплексне застосування молекулярно-генетичних (ПЛР-РЧ) та бактеріологічних досліджень дає змогу отримати нові дані щодо поширення контагіозних збудників маститу в зразках збірного молока.

Здобувачем показано, що інфекційна причина виникнення маститу за результатами досліджень індивідуальних зразків секрету молочної залози від корів, хворих на мастит, підтверджується виявленням контагіозних збудників у 49 %, а енвіронментальних – 51 %. Найпоширенішими контагіозними збудниками маститу є *Streptococcus agalactiae* – 16,9 %, *Streptococcus uberis* – 10,9 %, *Staphylococcus aureus* – 10,7 %, *Corynebacterium bovis* – 7,3 %, а найбільш поширеними енвіронментальними – *E. coli* – 9,6 %. *Prototheca* spp. (водорості) та *Candida kefyr* (дріжджові гриби) за бактеріологічного дослідження секрету молочної залози від корів, хворих на мастит, складають відповідно 1 і 0,5 % від виділених ізолятів.

Здобувачем продемонстровано, що збудники маститу проявляють найвищу чутливість до таких протимікробних речовин: *Streptococcus agalactiae* до амоксициліну (93,8 %), рифампіцину (88,2 %), лінкоміцину (85,3 %), цефтіофуру та флоксациліну (81 %); *Streptococcus uberis* до амоксициліну (94,1 %), цефалексину (84,6 %), рифампіцину (85,3 %),

цефтіофуру (76,5 %), триметоприму/сульфаметоксазолу (73,5 %); *Staphylococcus aureus* до рифампіцину (97,8 %), клоксациліну (95,5 %), марбофлоксацину (90,3 %), гентаміцину (89,6 %), енрофлоксацину (88,8 %); *E. coli* до марбофлоксацину (94,2 %), гентаміцину (90 %), енрофлоксацину (84,2 %), триметоприму/сульфаметоксазолу (81,7 %), окситетрацикліну (76,7 %); *Corynebacterium bovis* до амоксициліну (97,8 %), гентаміцину та окситетрацикліну (91,2 %) ізолятів.

Заріцьким Русланом з'ясовано, що антитіла до *Leptospira interrogans* серовар *hardjo* в господарствах України виявляються в 63,2 % зразків збірного молока корів.

Встановлено, що частіше за допомогою ПЛР-РЧ у корів виявляли наступні збудники контагіозного маститу: *Streptococcus agalactiae* (36 %), *Streptococcus uberis* (35 %), *Staphylococcus aureus* (24 %) і *Mycoplasma bovis* (5 %); при використанні бактеріологічних дослідження частіше із зразків збірного молока виділяли *Streptococcus agalactiae* (55 %), *Streptococcus uberis* (28 %) і *Staphylococcus aureus* (11 %), а *Streptococcus dysgalactiae* ідентифікується лише в 6 % від загальної кількості контагіозних збудників.

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності. Дисертація є самостійно написаною кваліфікаційною науковою працею із науково-обґрунтованими висновками та рекомендаціями, які подані автором для публічного захисту. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідні джерела. У роботі відсутнє привласнення чужих ідей, результатів або слів без оформлення належного цитування. Таким чином, у дисертаційному дослідженні відсутні порушення академічної доброчесності.

При ознайомленні з матеріалами дисертації виявлено, що в тексті зустрічаються в незначній кількості граматичні, синтаксичні та стилістичні помилки, які суттєво не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Питання для дискусійного обговорення:

1. Як Ви вважаєте, чи можуть мікроорганізми, віднесені в групу «енвайронментальних», передаватися «горизонтальним» шляхом, тобто – від тварини до тварини?

2. У розділі «Матеріали і методи» не вказано, як проводили діагностику маститу. Вказано: «...досліджено 1506 індивідуальних зразків молока від хворих корів на мастит...». Охарактеризуйте процедуру діагностики, яка передувала відбору проб для бактеріологічних та інших досліджень.

3. На с. 44 автор вказує: «...Ідентифікацію отриманих на кров'яному агарі бактеріальних культур проводили загальноприйнятими бактеріологічними методами (мікроскопія мазків за Грамом, оцінка морфології колоній, тести на каталазу та оксидазу), та за допомогою біохімічних тестів API 20 NE і методом MALDI-TOF»; далі на с. 48 вказується, що проводилися дослідження за допомогою ПЛР-РЧ. Надайте інформацію,

скільки проб було досліджено за допомогою бактеріологічного методу, скільки за допомогою методом MALDI-TOF, а скільки – ПЛР-РЧ, і скільки проб досліджено за використання усіх зазначених методик? Чи можливо порівняти одержані різними методами результати?

4. Там же, на с. 45 автор вказує: «...Чутливість виділених ізолятів до протимікробних речовин визначали за допомогою диско-дифузійного метода Кірбі-Бауера ... за методологією CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)». В чому різниця вказаної методології від інших (наприклад – EUCAST)?

5. У розділі 2 на с. 42 в рис. 2.1 варто було б зазначити кількість досліджених зразків молока на кожному етапі досліджень. Надайте цю інформацію.

6. Чому Ви обрали серовар *Leptospira hardjo* для досліджень? Як Ви вважаєте, чи можуть інші серовари лептоспір, наприклад *Leptospira interrogans* Pomona, *Leptospira interrogans* Canicola, *Leptospira interrogans* Icterohaemorrhagiae, *Leptospira interrogans* Grippotyphosa, Polonica (Sejroe), Kabura (Hebdomatis) викликати захворювання у великої рогатої худоби, зокрема з ураженням молочної залози?

7. Чи враховували Ви наявність вакцинацій в господарствах під час дослідження збірного молока корів на *Leptospira interrogans* серовар *hardjo*?

8. Чи відмічали Ви різницю в ідентифікації класичним бактеріологічним методом і молекулярно-генетичним?

9. Методом MALDI-TOF MS до видового рівня вдалося ідентифікувати 91,5 % ізолятів, а 8,5 %, що складає 115 ізолятів, ідентифіковано лише до рівня роду. Більшість неідентифікованих мікроорганізмів складає саме грампозитивна мікрофлора – чим Ви можете це пояснити?

10. Чи відповідають зроблені підписи під рис. 3.3. і 3.4? Обґрунтуйте.

11. Чим, на Вашу думку, обумовлена стійкість бактерій кишкової палички та інших представників родини *Enterobacteriaceae* до протимікробних речовин?

12. На с. 2 дисертації автор зазначає, що «...Антимікробна терапія і далі залишається важливою складовою контролю маститу в молочному скотарстві...». В зв'язку з цим питання: не вдалося знайти перелік тих протимікробних речовин/препаратів, які використовуються для «контролю маститу». Перерахуйте основні діючі речовини, які застосовуються з цією метою?

13. У розділі «Пропозиції виробництву» Ви рекомендуєте як засіб першого вибору для лікування корів хворих маститом в перший день хвороби «...протимікробний лікарський засіб категорії D із діючою речовиною амоксицилін...». А в подальшому, що застосовувати? А інші будь-які засоби можна рекомендувати за результатами Ваших досліджень?

Загальний висновок. Дисертація Заріцького Руслана Володимировича на тему: «Поширення та науково-теоретичне обґрунтування методів лабораторної діагностики контагіозних та енвіронментальних збудників маститу корів» є завершеною науковою роботою, виконаною самостійно. Наукові положення, висновки і рекомендації характеризуються науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, достатньо обґрунтовані. Зміст дисертації відповідає меті і поставленим завданням та повністю розкриває тему, за якою виконувалася робота.

За змістом і оформленням дисертація відповідає вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах), затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 261 від 23 березня 2016 року (із змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 283 від 03 квітня 2019 року, № 502 від 19 травня 2023 року та № 507 від 03 травня 2024 року), наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (із змінами, внесеними згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31 травня 2019 року) 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 (із змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 341 від 21 березня 2022 року, № 502 від 19 травня 2023 року та № 507 від 03 травня 2024 року), а її автор Заріцький Руслан Володимирович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

Рецензент професор кафедри ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України, доктор ветеринарних наук, професор, академік НААН Валерій УШКАЛОВ