

ВІДГУК
офіційного опонента
на дисертацію **ЩУР Наталії Володимирівни** на тему:
**«Характеристика ізолятів *Campylobacter* spp.,
виділених від свійських тварин в Україні»,**
поданої на здобуття ступеня доктора філософії
за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»
галузі знань 21 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми дисертації. Кампілобактеріоз – це інфекційне захворювання бактеріальної природи, спричинене представниками роду *Campylobacter*, яке уражає різні види домашніх і диких тварин, а також птахів. Захворювання характеризується гострим перебігом, загальною інтоксикацією організму, ураженням травного тракту, репродуктивної системи та може спричиняти генералізацією патологічного процесу. Кампілобактеріоз є важливою зоонозною інфекцією, оскільки може передаватися людині через контакт із хворими тваринами, забруднену воду та харчові продукти. В Європейському Союзі згідно з Директивою ЄС /2003/99 запроваджений моніторинг зоонозів і зоонозних патогенів, відповідно якого здійснюється контроль за *Campylobacter* на всіх рівнях харчового ланцюга. Сьогодні поширеність і значення кампілобактеріозу в Україні не оцінені, що пов'язано в основному зі складністю та високою вартістю лабораторної діагностики, тому офіційні дані щодо захворюваності тварин та птиці не доступні.

Виходячи з вищезазначеного, дисертаційні дослідження щодо поширеності кампілобактеріозу та встановлення видів *Campylobacter* spp., серед свійських тварин в Україні, вивчення їх біологічних властивості та резистентності до антимікробних препаратів є своєчасними і актуальними не лише з теоретичної, але й з практичної точки зору.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконувалася у Національному університеті біоресурсів і природокористування України. Робота є складовою частиною ініціативної тематики «Біологічні властивості та етіологічна роль кампілобактерій у виникненні харчових токсикоінфекцій в Україні» (номер державної реєстрації 0123U102336, 2023–2025 рр.), яка проводилася на кафедрі ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин, а також на базі науково-дослідного бактеріологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи за темами «Оцінка ступеню поширення антибіотико-резистентності у збудників бактеріальних зоонозів в Україні» (номер державної реєстрації 0118U100599, 2019–2028 рр.) та «Розробка нових та вдосконалення існуючих підходів, методів та засобів моніторингу, оцінки ризику, прогнозування, діагностики, лікування та профілактики хвороб тварин» (номер державної реєстрації 0118U100594, 2019–2028 рр.).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Метою дисертації було дослідити поширення кампілобактеріозу серед свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків) в Україні, встановлення видової циркуляції *Campylobacter spp.*, вивчення біологічних властивостей зоонозних патогенів та їх стійкості до антибактеріальних препаратів. Поставлену мету авторка досягла шляхом вирішення ряду чітко окреслених наукових завдань із застосуванням сучасних методів досліджень: ідентифікацію мікроорганізмів проведено методом MALDI-TOF MS; оцінювання структури матриксу біоплівки цитохімічним методом за допомогою конфокальної мікроскопії CLSM; проведено секвенування повного геному WGS двох ізолятів *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*, виділених від птахів. До того ж, результати досліджень оброблені статистично, зведені в таблиці та діаграми, узагальнені і проаналізовані.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації та їх вірогідність підтверджується відповідним методичним рівнем, логічністю та послідовністю виконаних етапів досліджень; відповідністю поставлених меті й завданням роботи.

Отримані матеріали і їх аналіз, добре володіння результатами власних досліджень та літературними даними по темі дисертації є вагомими, щоб вважати матеріали роботи, висновки і основні положення достатніми та обґрунтованими. У результаті виконаної роботи зроблено дев'ять наукових висновків, та три пропозиції, що мають певне теоретичне і практичне значення.

Новизна основних наукових положень, висновків проведених наукових досліджень та одержаних результатів. Вперше в Україні одержано дані щодо поширення та видової приналежності *Campylobacter*, виділених від свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків). Встановлено природно-географічні зони неблагополуччя щодо кампілобактеріозу на території України.

Одержано нові дані стосовно культурально-морфологічних характеристик *Campylobacter spp.*, які мають характерні особливості росту в залежності від складу селективних та хромогенних мікробіологічних середовищ.

Вперше одержано дані стосовно антимікробної резистентності виділених ізолятів *Campylobacter spp.* до декількох груп антибіотиків, відповідно стандартів чутливості Європейського комітету з визначення чутливості до антибактеріальних препаратів (EUCAST).

Вперше в Україні проведено повногеномне секвенування ізолятів виділених від птахів *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*, чим підтверджено ідентифікацію даних ізолятів та встановлено різновиди *Campylobacter*, що циркулюють в Україні. Вперше виявлено

наявність генів, відповідальних за формування передачі факторів патогенності та детермінант антимікробної резистентності, вивчено генетичні послідовності отриманих ізолятів та порівняно з послідовностями відомих штамів, що внесені до геномної бази даних GenBank.

Особистий внесок здобувачки. Здобувачка особисто сформулювала концепцію, що стала основою дисертації, здійснила пошук та вивчення джерел літератури за темою роботи, самостійно обрала методи досліджень, повністю виконала обсяг експериментальних досліджень та проаналізувала їх результати, здійснила статистичну обробку одержаних цифрових даних. У дисертації було використано одержані особисто здобувачкою результати, які було опубліковано в наукових працях у співавторстві. Узагальнення результатів досліджень, формування висновків та пропозицій виробництву, здійснено за участю наукового керівника.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертація Щур Наталії Володимирівни має практичне значення, про що свідчать розроблені «Науково-практичні рекомендації з бактеріологічної діагностики кампілобактеріозу тварин та птахів» (розглянуто та затверджено на засіданні Вченої ради Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, протокол № 2 від 27.03.2025 року), в яких викладено загальні принципи бактеріологічного дослідження бактерій роду *Campylobacter*, методи індикації, отримання чистих культур та ідентифікації, виділених ізолятів. Задепоновано штам *Campylobacter jejuni*, виділений від курей-бройлерів. Штам володіє здатністю до утворення щільної біоплівки та резистентністю до фторхінолонів, макролідів та тетрациклінів (Свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії Державного науково-дослідного контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів від 18.10.2022р.), що дозволяє використовувати цей штам для потреб лабораторної діагностики та біотехнології. Основні положення дисертації пройшли апробацію на семи міжнародних та всеукраїнських науково-практичних конференціях.

Повнота викладення основних положень дисертації в опублікованих працях. Результати досліджень відображено в 17 публікаціях, з яких 3 статті у наукових виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз даних Scopus та Web of Science Core Collection, 2 статті у наукових виданнях, включених до категорії «А» Переліку наукових фахових видань України, стаття у науковому виданні, включених до категорія «Б» Переліку наукових фахових видань України, 11 тез наукових доповідей.

Оцінка структури та змісту роботи. Дисертація «Характеристика ізолятів *Campylobacter* spp., виділених від свійських тварин в Україні» написана державною мовою, викладена на 212 сторінках, ілюстрована 28 рисунками, 29 таблицями і складається

з анотації, вступу, розділів «Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати власних досліджень», «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел та додатків. У списку літератури наведено 322 джерела, з них 266 латиницею.

Загалом, робота за переліком проведених досліджень, значенням отриманих результатів та їх оформленням складає позитивне враження. Вона логічно побудована, всі розділи послідовно пов'язані, належно оформлена.

Вступ викладено на десяти сторінках, містить логічно обґрунтовану актуальність теми наукової роботи та необхідність вирішення проблеми. У даному підрозділі визначено мету і завдання дослідження, показано наукову новизну та практичне значення отриманих результатів дисертації, вказано особистий внесок здобувачки, подано місця апробацій та публікацій.

Розділ 1 «Огляд літератури» викладено на 23 сторінках, що не перевищує 20 % основного тексту роботи і складається з 5 підрозділів, у яких авторка аналізує літературні дані щодо збудників кампілобактеріозу, методів досліджень, що застосовують з метою виділення та ідентифікації мікроорганізмів. Аналіз наведених літературних даних дозволяє зробити висновок про актуальність вивчення поставленої проблеми. У кінці цього розділу дисертантка досить аргументовано робить висновки про вже відомі факти у науковій літературі з питань поширення бактерій роду *Campylobacter*, лабораторної діагностики харчових патогенів та впровадження системного моніторингу з контролем антибіотико-резистентності по всьому харчовому ланцюгу. Цей розділ змістовний, добре написаний, повністю відображає сучасний стан дослідження проблеми за кордоном та в Україні. Виклад матеріалу цього розділу загалом логічний та послідовний і є досить інформативним.

Розділ 2 «Матеріали та методи досліджень» (с. 57–73) містить обґрунтований вибір напряму досліджень, схему досліджень. Методи досліджень спрямовані на виділення мікроаеробних бактерій, вивчення їх біологічних властивостей та методів збереження. Окрім загальновідомих методів, таких як бактеріологічний посів, мікроскопія, визначення щільності утвореної біоплівки, визначення чутливості до антимікробних препаратів, постановка полімеразної ланцюгової реакції, було застосовано методи ідентифікації мікроорганізмів за допомогою технології MALDI-TOF MS, оцінювання структури матриксу біоплівки за допомогою конфокальної мікроскопії CLSM; секвенування повного геному. Застосування методів та методик, як загальноприйнятих, так і сучасних, надало можливість успішно вирішити поставлені завдання. Застосування методів статистичної обробки дало змогу забезпечити високий рівень достовірності одержаних результатів.

Розділ 3 «Результати власних досліджень» (с. 74–143) складається з 8 підрозділів. У першому підрозділі здобувачкою надані результати дослідження особливостей

епізоотології кампілобактеріозу в Україні та встановлено, що кампілобактеріоз в Україні є актуальним зоонозом і потребує вдосконалення лабораторної діагностики.

У другому підрозділі показано результати дослідження мікроорганізмів роду *Campylobacter* в розрізі програми планових досліджень антибіотикорезистентності зоонозних та коменсальних бактерій, ініціативної тематики та за гострих кишкових інфекцій у дітей. Отримані здобувачкою результати підкреслюють необхідність комплексного міждисциплінарного підходу в рамках концепції «Єдине здоров'я» для подолання зростаючої загрози резистентності кампілобактерій.

У третьому підрозділі досліджено взаємозв'язок поширення *Campylobacter* spp. та гострих кишкових інфекцій у населення. Встановлено види кампілобактерії за ГКІ: *Campylobacter jejuni* – 226 ізолятів, *Campylobacter coli* – 172 та *Campylobacter lari* – 27, а також їх стійкість до АМП: фторхінолонів – 86 %, тетрациклінів – 45 % і макролідів – 9 %.

У четвертому підрозділі розкрито визначення ефективності методів отримання чистої культури *Campylobacter* spp. Авторкою порівняно два культуральні методи виділення (прямого нанесення та збагачення), а також два живильних середовища із різним складом. Зменшуючи час культивування, здобувачці вдалося своєчасно виявити *Campylobacter* spp. та зберегти культури від впливу супутньої мікрофлори. Більше 97 % ізолятів отримано методом прямого нанесення, з них 15,6 % чистих культур. Методом збагачення зі скороченням часу культивування на етапах «збагачення» та ізоляції було виділено 72,7 % ізолятів *Campylobacter* spp., з них 51,5 % чистих культур.

У п'ятому підрозділі розкрито доцільність застосування методу MALDI-TOF для ідентифікації видів *Campylobacter*. Здобувачка застосовувала даний метод, так як традиційні біохімічні тести найменш підходять для ідентифікації *Campylobacter* spp., оскільки ці бактерії використовують під час метаболізму амінокислоти замість вуглеводів. Авторкою ідентифіковано 33 виділених ізолятів, серед яких виявлено *Campylobacter coli* – 75,8 % та *Campylobacter jejuni* – 24,2 %. Ці дані здобувачці дали можливість встановити видове поширення *Campylobacter* в популяціях тварин та птиці в Україні.

У шостому підрозділі досліджено методи тривалого збереження культур *Campylobacter* spp. та створення колекції із 24 польових ізолятів термофільних кампілобактерій, виділених від курей-бройлерів (20/24), індиків (2/24), свиней (1/24) та великої рогатої худоби (1/24).

У сьомому підрозділі показано результати біоплівкоутворення серед *Campylobacter* spp. Здобувачкою встановлено що, ізоляти мають великий штам-залежний діапазон пластичності в утворенні біоплівки в умовах *in vitro*. Дані результати поглиблюють розуміння того, як чутливі до кисню мікроорганізми виживають в кисневому середовищі, а також сприятимуть розробленню інноваційних стратегій контролю за *Campylobacter* в харчовому ланцюзі.

У восьмому підрозділі визначено фактори, що обумовлюють патогенність ізолятів *Campylobacter* spp. За проведеної ПЛР виявлено ген (*cdtA*), що відповідає за синтез цитолетального розтягуючого токсину. За секвенування повного геному ізолятів від птиці отримано гени антимікробної резистентності (*сmeABC*, *сmeDEF*, *MacB*, *YkkCD*, *blaOXA61*, *blaOXA-184*, *gidB*, *gyrA*) і точкові мутації, пов'язані з геном *gyrA*. Здобувачкою зроблено аналіз фенотипової та генотипової резистентності та встановлено сильну кореляцію між генотиповими маркерами резистентності та фенотиповими профілями антимікробної резистентності, особливо для β -лактамів. Здобувачка стверджує, що секвенування повного геному повинно бути інтегрованим в систему державного моніторингу *Campylobacter* та стійкості до АМП для розуміння чинників виникнення резистентності, поліпшення виробництва продуктів харчування та здоров'я людей, а також контролю застосування АМП у ветеринарії та медицині.

Усі підрозділи власних досліджень написано на високому науково-методичному рівні, висвітлено конкретно, зрозуміло, підкріплено таблицями та рисунками високої якості, які є ілюстративним підтвердженням достовірності отриманих результатів. У кінці розділу 3 є узагальнюючий висновок, що ґрунтується на результатах власних досліджень. Отже, результати, отримані здобувачкою під час власних досліджень, повною мірою розкривають суть дисертації та визначають її ключові моменти. Грамотний виклад експериментальних даних із глибокою інтерпретацією вказує про зрілість та наукову освіченість здобувачки, якою опрацьовано достатню кількість наукової літератури з питань, які розглядаються в роботі.

Розділ 4 «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» (с. 143–154). Здобувачка провела глибокий, всебічний, побудований за всіма законами логіки аналіз і обговорення одержаних результатів та порівняла їх з даними наукових джерел українських та зарубіжних дослідників. Надано достатньо аргументований аналіз отриманих даних та його об'єктивну оцінку. Цей розділ написано фахово, що характеризує здобувачку як всебічно підготовлену й високоерудовану науковицю. Розділ викладено науково грамотно і легко сприймається.

Висновки. На основі фактичного матеріалу здобувачкою зроблено дев'ять обґрунтованих, логічних, чітких і послідовних висновків, які знаходять своє відображення у результатах досліджень.

Пропозиції виробництву включають три пункти, спрямовані на навчальний процес та практичну роботу науково-дослідних установ та лабораторій ветеринарної медицини.

Перелік використаних джерел налічує 322 позиції, з яких 266 латиницею. Значна частина першоджерел, використаних у дисертації, відповідає напряму досліджень, опублікована протягом останнього десятиріччя, що якісно доповнює зміст роботи.

Додатки містять список публікацій здобувачки за темою дисертації; деклараційний патент; свідоцтво про первинне депонування; договір про співробітництво та організацію взаємовідносин між НУБП України та Комунальним некомерційним підприємством «Міською клінічною лікарнею № 9» міста Дніпра; атестат про акредитацію Випробувального центру Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи; геномні збірки депонованих в GenBank під номерами доступу JBEWFL0000000000 *Campylobacter coli* та JBEWFM0000000000 *Campylobacter jejuni*; «Науково-практичних рекомендацій з бактеріологічної діагностики кампілобактеріозу тварин та птахів».

Отже, структура і зміст дисертації логічно й послідовно пов'язані. Ступінь обґрунтованості наукових положень висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації як із погляду сучасних науково-теоретичних досліджень, так і з позицій практичної реалізації, є достатнім.

Дискусійні та критичні зауваження і запитання до дисертантки. Водночас з позитивною оцінкою роботи вважаю доцільним виділити окремі дискусійні питання, зауваження та побажання:

1. Які, на Вашу думку, біологічні властивості ізолятів *Campylobacter* становлять найбільшу цінність при дослідженні епідеміології кампілобактеріозу?

2. Яку загрозу несе поширення кампілобактерій резистентних до різних антимікробних речовин серед свійських тварин і людини в Україні і чим Ви керувалися при підборі середовищ для виділення мікроаеробних мікроорганізмів?

3. Поясніть, чим аргументований Ваш вибір антимікробних препаратів, до яких Ви визначали чутливість виділених мікроорганізмів і як Ви можете пояснити високий відсоток резистентних кампілобактерій виділених від птахів?

4. Яку роль патогенності носить здатність до утворення біоплівки у кампілобактерій і які фактори, що сприяють утворенню біоплівки у даних мікроорганізмів?

5. Як Ви можете пояснити різницю між високою оптичною щільністю утворення біоплівки у кампілобактерій за аеробних умов?

6. Конкретизуйте, для яких потреб лабораторної діагностики та біотехнології можливим є використання штаму *Campylobacter jejuni* № 1/22?

7. Яка економічна ефективність застосування методів культивування (прямого нанесення та збагачення) для виділення та відновлення ліофілізованих *Campylobacter*?

8. Як Ви можете пояснити різницю між фенотипічною антимікробною резистентністю та наявністю генів резистентності?

9. В чому полягає новизна вдосконаленої Вами методики виділення *Campylobacter* з біологічного матеріалу?

10. Чому, на Вашу думку, найкращий ефект з виділення чистих культур було отримано за методу збагачення, а не прямого нанесення?

У роботі трапляються окремі стилістичні неточності та синтаксичні помилки, що переважно стосуються структури рукопису, форми викладення матеріалів або мають редакційний характер, не зачіпаючи наукової суті дисертації. Вони не мають принципового значення і жодним чином не знижують високого наукового рівня роботи, не впливають на високу позитивну оцінку дисертації Н. В. Щур, а поставлені запитання носять уточнюючий та дискусійний характер.

Висновок. Дисертація Щур Наталії Володимирівни на тему: «Характеристика ізолятів *Campylobacter* spp., виділених від свійських тварин в Україні» є завершеним науковим дослідженням, виконаним самостійно.

Наукові положення, висновки характеризуються новизною, теоретичним і практичним значенням, а також достатньо обґрунтовані. Зміст дисертації повністю розкриває тему, за якою виконувалася робота, відповідає меті й поставленим завданням. Дисертація Н. В. Щур на тему: «Характеристика ізолятів *Campylobacter* spp., виділених від свійських тварин в Україні» оформлена згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», є завершеною науково-дослідною роботою, яка за актуальністю, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів повністю відповідає вимогам, що передбачені Порядком 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, а її авторка заслуговує на присудження ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

**Офіційний опонент завідувач кафедри харчової біотехнології і хімії
Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя,
доктор ветеринарних наук, професор Микола КУХТИН**