

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора ветеринарних наук, старшого дослідника  
САЧУКА Романа Миколайовича

на дисертацію кандидата ветеринарних наук, доцента

**ГОРЮК Юлії Вікторівни**

на тему: **«Обґрунтування, розробка та застосування бактеріофагового  
препарату для лікування корів, хворих на мастит»**,

подану на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук  
з наукової спеціальності

16.00.04 «Ветеринарна фармакологія та токсикологія»

### **1. Ступінь актуальності обраної теми докторської дисертації.**

Розробка нових фармакологічних препаратів з протимікробною дією пов'язана з швидким розвитком антибіотикорезистентності у мікроорганізмів, які ще недавно вважалися умовно-патогенними або непатогенними. Для подолання явища резистентності мікроорганізмів до існуючих антибіотиків впроваджуються антимікробні препарати нових хімічних груп та застосовуються комбіновані засоби. Однак стійкість мікроорганізмів росте у багато разів швидше, ніж створюються нові антимікробні засоби.

Антимікробні препарати першочергово застосовують за маститу в корів будь якої форми. Водночас серед збудників маститу найбільше привертає увагу *Staphylococcus aureus* через низький рівень ефективності антибіотикотерапії і його здатності зберігатися в стаді у вигляді невиявлених субклінічних інфекцій. Тому, існує нагальна потреба у пошуку і розробці нових терапевтичних засобів лікування маститу, націлених на цей патоген.

Фагова терапія може послабити постійно зростаючу проблему антибіотикорезистентності та бути альтернативою антибіотикам, або ж використовуватися в поєднанні з іншим фармацевтичними продуктами для підвищення їх ефективності.

Саме тому, Горюк Юлія Вікторівна, формулюючи актуальність і новизну роботи, зуміла розібратися в усіх складнощах згаданої вище проблеми. Необхідно відмітити, що вона добре володіє матеріалом, у завданнях виділяє ті питання, які потребують додаткового дослідження і наукового доповнення. Наукові дослідження Горюк Юлії Вікторівни є актуальними і спрямовані на теоретичне та експериментальне обґрунтування розробки фагового препарату, літичного до збудника маститу корів *S. aureus variant bovis* та проведення його комплексної фармако-токсикологічної оцінки.

Дисертаційну роботу виконано в Закладі вищої освіти «Подільський державний університет» за ініціативною тематикою «Теоретичне та експериментальне обґрунтування впливу бактеріофагів на планктонні та біоплівкові форми бактерій у системі одержання екологічно безпечного молока», номер державної реєстрації 0119U001356.

**2. Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у докторській дисертації, їх новизна і загально-національне/світове значення.** Дисертаційна робота Юлії Вікторівни виконана на сучасному науковому рівні, що дало змогу зробити аргументовані висновки та запропонувати практичні рекомендації. Новизну, теоретичну та практичну значимість роботи обумовлює адекватний методичний підхід, застосування сучасних методів обробки інформації. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації та їх достовірність мають високий академічний рівень.

Авторкою застосовані релевантні методи дослідження: токсикологічні, фармакологічні, мікробіологічні, гематологічні, біохімічні, клінічні, електронно-мікроскопічні, статистичні, які обумовили отримання обґрунтованих наукових положень, висновків і практичних рекомендацій.

Ступінь обґрунтованості наукових положень є достатнім, враховуючи, що його підґрунтям стали результати вивчення наукових джерел, проведення мультифакторних досліджень та відповідному аналізу їх результатів.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що при виконанні дисертаційного дослідження вперше:

- визначено фармакодинаміку та біотехнологічні підходи щодо препаратів на основі бактеріофагів, специфічних до збудників маститу корів.

- розроблено внутрішньоцистернальний препарат Фагомаст для профілактики та лікування корів за маститу як альтернативу антибіотикам за умови одержання екологічно безпечного молока.

- науково доведено, що  $DL_{50}$  Фагомасту становить більше 5000 мг/кг живої маси тварин. Препарат не володіє кумулятивними, сенсibiliзуючими властивостями, не викликає подразнення, нетоксичний при пероральному попаданні в живий організм та не впливає на зміну морфологічних показників крові лабораторних тварин. До того ж, не спричиняє місцево-подразнювальну дію на слизових оболонках очей кролика. Встановлено, що за концентрації фагів від  $10^4$  до  $10^9$  БУО/см<sup>3</sup> у препараті зміни рухової активності та патологічних відхилень у клітинах інфузорій не виявлено. За встановленими фармакологічними ознаками препарат Фагомаст віднесено до IV класу (малотоксичні) безпечності.

- розроблено методологію виділення та дослідження властивостей штамів бактеріофагів, які циркулюють на молочних фермах. До того ж, виділено та досліджено біологічні властивості високолітичного штаму бактеріофагу *Phage SAvB14*.

- встановлено, що *Phage SAvB14* проявляє високу літичну активність щодо *Staphylococcus aureus var. bovis*, утворює прозорі з чіткими краями бляшки розміром 1 – 2 мм, стійкий до впливу високих температур, хлороформу та коливань рН середовища, має короткий латентний період із формуванням високого титру нових віріонів. *Phage SAvB14* ефективно проникає у матрикс біоплівки та знищує плівкоутворювальні збудники маститу *S. aureus var. bovis* і може бути використаний сукупно з

антибіотиками. Штам бактеріофага *Phage SAvB14* первинно задепонований у колекції мікроорганізмів Національного центру штамів мікроорганізмів України за номером 737 (Свідоцтво на штам від 05.03.2019 року). Крім того, наукову новизну підтверджено деклараційним патентом України на корисну модель № 139981 «Бактеріофаг *phage SAvB14* для ветеринарної мікробіології».

- значно розширено та поглиблено знання щодо патогенних властивостей основних збудників маститу у корів на молочних фермах України. Встановлено, що серед збудників як гострої, так і хронічної форм маститу найбільшою плівко- та токсиноутворювальною здатністю володіють штами *S. aureus*. Крім того, вони є великим резервуаром генів резистентності до антимікробних препаратів, у тому числі стійкості до метициліну, які в процесі одержання молока можуть його забруднювати та передаватися людям. Виявлено, що препарати на основі бактеріофагів промислового виробництва неефективні щодо культур золотистих стафілококів, виділених з молочних продуктів та від корів, хворих маститом.

- ідентифіковано та первинно задепоновано штам *Staphylococcus aureus* var. *bovis* 1491 f, який є типовим збудником маститу в корів (Свідоцтво про первісне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії ДНКІБШМ № 736 від 05.03.2019 року), наукова новизна підтверджена деклараційним патентом України на корисну модель № 137461 «Штам *Staphylococcus aureus* var. *bovis* 1491 f для ветеринарної мікробіології».

Практичне значення результатів дослідження полягає в тому, що вони стали підставою для:

- наукового обґрунтування і розробки препарату Фагомаст на основі бактеріофагів для лікування корів за стафілококового маститу. Використання препарату Фагомаст на молочних фермах для лікування корів за виникнення маститу дозволить, з одного боку, ефективно ліквідовувати основного збудника маститу золотистого стафілококу, з іншого – зменшить використання антибіотиків у молочному тваринництві. До того ж, попереджує розвиток антибіотикорезистентності у збудників захворювання, потрапляння залишкових кількостей антибіотиків у молоко, що дозволяє одержувати екологічно безпечне молоко;

- впровадження в практику методології виділення та дослідження бактеріофагів, які дозволять забезпечити відбір виключно вірулентних штамів, специфічних щодо *S. aureus* var. *bovis* – основного збудника маститу корів.

Дисертаційну роботу викладено на 366 сторінках комп'ютерного набору тексту. Вона складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, власних досліджень, аналізу та узагальнення власних досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку літератури, додатків. Робота ілюстрована 56 таблицями та 27 рисунками. Список використаної літератури налічує 591 джерело, з яких 27 кирилицею та 564 латинським шрифтом. До додатків увійшли акти впровадження результатів завершених наукових досліджень.

Розділ 1. Огляд літератури включає 7 підрозділів (ст. 36-85) дисертації. Написано здобувачкою грамотно, логічно і послідовно. Зазначимо, результати експериментів та висновки багатьох дослідників, що вивчали ці питання, ґрунтовно проаналізовані і лаконічно викладені.

З аналізу літератури видно, що вивчення вищезгаданої проблеми є недостатнім та потребує доопрацювання. Здобувачкою детально проаналізовано групи протимікробних препаратів, які застосовують для лікування маститу корів та наведено літературні дані щодо збудників та їх резистентності до антибіотиків та антисептиків. Наведено результати щодо використання альтернативних антибіотикам препаратів за маститу корів, зокрема переваги фаготерапії при стафілококових інфекціях. Розділ Огляд літератури викладено на достатньо науковому та методичному рівнях. Знання проблеми є важливою підставою того, що структура роботи, методичні підходи, експерименти і їх подальший аналіз, взаємопов'язані та цілком обґрунтовані.

Розділ 2. Вибір напрямів досліджень, матеріали та методи виконання роботи (с. 86-101). У даному розділі авторкою викладено обґрунтовані шляхи досягнення поставленої мети. Дотримуючись методичної і логічної послідовності, здобувачка розробила схеми проведення експериментальних досліджень на тваринах. У цьому розділі описано основні методики досліджень, які використанні у дисертаційній роботі. Проведено комплекс токсикологічних, фармакологічних, мікробіологічних, гематологічних, біохімічних, клінічних, електронно-мікроскопічних та статистичних методів досліджень, що сприяє глибокому розкриттю основних положень дисертації і свідчить про продуману концепцію роботи.

В розділі 3 «Результати власних досліджень» (с. 102-127) відображена реалізація поставлених завдань, які розкрито у 4 підрозділах.

У цьому розділі авторкою представлено теоретичне узагальнення та експериментальне вирішення наукової проблеми щодо експериментального обґрунтування розробки і застосування бактеріофагового препарату активного до збудників маститу корів.

Здобувачкою уперше проведено аналіз антибіотиків та протимаститних препаратів щодо впливу на збудники маститу (підрозділ 3.1).

У підрозділі 3.2. описано технологічні параметри створення препарату на основі бактеріофагів та обґрунтовано вибір діючої речовини для створення препарату на основі бактеріофагів.

Підрозділ 3.3. включив в себе результати проведення токсикологічної оцінки новоствореного препарату Фагомаст. Тут визначено, що  $DL_{50}$  Фагомасту становить більше 5000 мг/кг живої маси тварин. Доведено, що препарат не володіє кумулятивними, сенсibilізувальними властивостями, не викликає подразнення, нетоксичний при пероральному попаданні в живий організм та не впливає на зміну морфологічних показників крові лабораторних тварин. Визначено вплив препарату Фагомаст на життєздатність інфузорій та слизову оболонку очей кроликів. За

встановленими фармакологічними ознаками препарат Фагомаст віднесено до IV класу (малотоксичні) безпечності.

I останній підрозділ 3.4. «Клінічні випробування новоствореного препарату Фагомаст і порівняльна характеристика з існуючими протимаститними препаратами» описує фармакологічну ефективність застосування препарату Фагомаст залежно від вмісту діючої речовини, його вплив на морфологічні та біохімічні показники крові корів, хворих маститом та природну резистентність тварин. Крім того, досконало висвітлена фармакотерапевтична ефективність бактеріофагового препарату Фагомаст за різних форм маститу у корів.

Розділ 4. Аналіз та узагальнення результатів досліджень. У цьому розділі (ст. 228-264) авторка проводить логічно побудований, глибокий та всебічний аналіз і обговорення одержаних результатів. У цілому цей розділ викладено досить професійно, грамотно, що характеризує здобувачку як всебічно підготовленого й ерудованого науковця.

Висновки (ст. 265-269) нараховують 15 пунктів. Вони чітко сформульовані та витікають з результатів власних досліджень.

Пропозиції виробництву (ст. 270) складають 4 пункти. Здобувачка пропонує для забезпечення ефективної фаготерапії при профілактиці та лікуванні корів за маститу різних форм, спричинених *S. aureus var. bovis* проводити комплексну діагностику запалення вимені у корів, враховуючи патогенні властивості збудників, їх антибіотикостійкість та чутливість до комерційних фагових препаратів. Для виділення та дослідження виключно високолітичних бактеріофагів, специфічних щодо *S. aureus var. bovis*, використовувати методичні рекомендації «Виділення бактеріофагів *S. aureus var. bovis* на молочних фермах та визначення їх літичної активності», затверджені науково-методичною радою Закладу вищої освіти «Подільський державний університет» (протокол № 4 від 25.05.2022 року). При створенні препарату на основі бактеріофагів для лікування корів за маститу необхідно враховувати біологічне походження штамів фагів, їх літичну активність, стійкість до впливу факторів навколишнього середовища, спектр антибактеріальної дії, антибіоплівкову активність та взаємодію з іншими антибактеріальними препаратами. Для профілактики та лікування маститу використовувати внутрішньоцистернальний препарат Фагомаст ТУ У 21.2-22769675-001:2022 відповідно до методичних рекомендацій «Лікування корів за маститу з використанням бактеріофагового препарату Фагомаст», затверджені науково-методичною радою Закладу вищої освіти «Подільський державний університет» (протокол № 4 від 25.05.2022 року).

Список використаних джерел нараховує 591 джерело, у тому числі 564 - латиницею. Застарілі джерела складають невеликий відсоток, що засвідчує обізнаність дисертанта з сучасними науковими досягненнями і твердженнями з напрямків ветеринарної медицини. Використана література органічно поєднується з обраним напрямком досліджень.

Наукові положення, висновки та рекомендації достатньо обґрунтовані, характеризуються новизною, теоретичним і практичним значенням. Зміст

дисертації повністю розкриває тему, за якою виконувалася робота, відповідає меті та поставленим завданням.

**3. Повнота викладення основних результатів докторської дисертації в наукових публікаціях зарахованих за темою дисертації.** За темою дисертаційної роботи опубліковано 37 наукових праць, з них 16 у наукових виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України, 7 статей у періодичних виданнях, включених до категорії «А» Переліку наукових фахових видань України, або у закордонних виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та/або Scopus, 2 деклараційних патенти України на корисну модель, 9 тез конференцій, 2 методичні рекомендації, 1 Технічні умови України.

**4. Відсутність академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації.** При опоненції дисертаційної роботи ознак плагіату не виявлено. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

**5. Зауваження та дискусійні питання щодо положень докторської дисертації.** При позитивній оцінці дисертації в цілому, хотілося б почути відповідь на такі дискусійні питання:

В роботі зазначено, що на молочних фермах циркулюють окрім золотистого стафілококу і інші види, які проявляли патогенні властивості. Чи вивчали ви вплив бактеріофагу *Phage SAvB14* на інші види стафілококів?

Чи визначали Ви фармако-літичну дію препарату Фагомаст щодо метицилінрезистентних стафілококів?

Вами описано значну ефективність Фагомасту при лікуванні корів за маститу. Чи можна використовувати препарат Фагомаст для лікування інших видів тварин?

Чи використовували в господарствах де проводилися дослідження інші препарати для лікування корів за маститу, окрім внутрішньоцистернальних. Чи впливають вони на антимікробний ефект Фагомасту?

Нині зустрічаються роботи щодо використання у складі препаратів ферментів бактеріофагів. Чи розглядали Ви можливість внесення до складу препарату лізинів *Phage SAvB14*?

Як Ви розглядаєте можливість використання препаратів на основі фагу *Phage SAvB14* при інших захворюваннях у корів: ендометриту тощо?

Опишіть фармакокінетику та фармакодинаміку препарату Фагомаст.

В роботі Ви описуєте вплив різних концентрацій бактеріофагу у складі препарату Фагомаст. Яка концентрація фагів є найбільш ефективною?

Чи не викликає препарат Фагомаст подразнення молочної залози при введенні здоровим тваринам? Якими методами Ви проводили таке дослідження?

Яка тривалість лікування при застосуванні препарату Фагомаст? Чи не траплялися рецидиви при проведенні Вами фаготерапії?

До якої фармакологічної групи, згідно класифікаційної системи АТС, відноситься препарат Фагомаст?

Які є нормативно-технічні документи на препарат Фагомаст, хто його виробник і чи доступний він на ринку ветеринарних препаратів України?

Висловлені зауваження та побажання не знижують загальну високу оцінку дисертаційної роботи Горюк Ю.В. Дослідження є самостійним та завершеним, має теоретичне і практичне значення, а його результати можуть бути використані з метою вдосконалення освітнього процесу в закладах вищої освіти.

**6. Висновок.** Враховуючи актуальність теми, завершеність наукової роботи, наукову новизну та ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, їх практичну цінність, повноту викладення в опублікованих працях вважаю, що дисертаційна робота Горюк Юлії Вікторівни є цілісною та завершеною науковою працею, яка вирішила поставлене наукове завдання, розширила базу знань з проблематики, а тому має наукову та практичну цінність.

Вважаю, що докторська дисертація на тему: «**Обґрунтування, розробка та застосування бактеріофагового препарату для лікування корів, хворих на мастит**» оформлена відповідно до вимог наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», відповідає вимогам Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 року № 1197, а її авторка **Горюк Юлія Вікторівна** заслуговує присудження наукового ступеня доктора ветеринарних наук за науковою спеціальністю 16.00.04 «Ветеринарна фармакологія та токсикологія».

Опонент

**Професор кафедри екології,  
географії та туризму Рівненського  
державного гуманітарного університету,  
доктор ветеринарних наук,  
старший дослідник**

**Роман САЧУК**

