

До разової спеціалізованої ради ДФ 211.002
Закладу вищої освіти
«Подільський державний університет»

Відгук

доктора ветеринарних наук, професора,
завідувача науково-дослідного відділу епізоотології та інфекційних хвороб
Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та
ветеринарно-санітарної експертизи
на дисертаційну роботу

**СТРОЙЧА Василя Васильовича: «Експериментальне обґрунтування та
розробка бактеріофагового препарату для лікування собак за піодермії»**
на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю
211 – Ветеринарна медицина (21 Ветеринарія),
поданої до захисту у разовій спеціалізованій раді
Закладу вищої освіти «Подільський державний університет»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Здатність ефективно лікувати піодермії у собак зараз суттєво обмежена через появу мультирезистентних, метицилінрезистентних стафілококів (*MRS*), а також обмеженням на призначення антимікробних препаратів для домашніх тварин. У зв'язку з формуванням резистентних до метициліну стафілококів, головним чином *Staphylococcus aureus* (*MRSA*) і *Staphylococcus pseudintermedius* (*MRSP*), необхідно зменшити антимікробні препарати, які є основним рушієм множинної лікарської стійкості. Оскільки загроза зростання резистентності до антимікробних препаратів і зоонозний потенціал *MRS* створюють нові виклики із значними наслідками для охорони здоров'я та до лікування піодермії собак, це вимагає перегляду та пошуку нових ефективних стратегій лікування даного захворювання. Однією із добрих стратегій лікування піодермії собак з меншою часткою використання місцевих біоцидних препаратів може стати фаготерапія.

Водночас, для розроблення місцевих фагових препаратів для впливу на збудники піодермії, необхідно системно підходити до даного завдання, зокрема, вивчити мікробіоту шкіри здорових і хворих собак за піодермії, найбільш поширені клінічні патогени-збудники, частку резистентних серед них, можливість використання наявних на ринку фагових препаратів та ізоляцію й ідентифікацію бактеріофагів з біотопу шкіри.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано в Закладі вищої освіти «Подільський державний університет» на кафедрі ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії протягом 2022 – 2024 років за ініціативною тематикою «Розробка нових антимікробних препаратів і засобів для профілактики і лікування хвороб тварин та дезінфекції у ветеринарній медицині», номер державної реєстрації 0122U200511.

Наукова новизна результатів проведених досліджень та їх наукова обґрунтованість. Обґрунтовано доцільність розробки фагового препарату для лікування піодермії собак, як альтернатива зменшення використання антибіотиків у ветеринарній медицині. Уперше в Україні виділено літичні фаги щодо стафілококів-збудників піодермії собак, дано характеристику їм за культуральними й фізичними властивостями та розроблено бактеріофаговий препарат «Фагодерм» для обробки уражених ділянок за піодермії собак.

Стафілококовий бактеріофаговий препарат «Фагодерм» містить чотири специфічні фаги у кількості 10^7 – 10^8 БУО/мл, зокрема фаг *S.a* 4 активний щодо *S. aureus*; фаг *S.p* 2 літичний щодо *S. pseudintermedius*; фаг *S.she* 3 – щодо *S. schleiferi subsp. coagulans*; фаг *S.e* 5 – щодо *S. epidermidis*. Уміст літичних фагів у препараті «Фагодерм» є стабільний протягом 6 місяців зберігання за температури $+5 \pm 1$ °С, він не спричиняє гострої й хронічної токсичності, подразнюючої, сенсibilізуючої, шкірно-резорбтивної дії.

Розроблено ефективні режими застосування фагодерму у комплексній терапії поверхневої й глибокої піодермії собак. Встановлено, що під час лікування піодермії способом зрошення уражених ділянок кількість стафілококів зменшується на 4–5 порядків до 10^2 КУО/мл змиву, що відповідає вмісту нормомікробіоценозу.

Практичне значення отриманих результатів полягало в тому, що результати дослідження антибіотикограм у бактерій, виділених із здорової шкіри собак та за піодермії, розширили практичну частину глобальної проблеми антибіотикорезистентності, в тому числі у ветеринарній медицині, та визначили доцільність використання певних груп антибіотиків за піодермії собак.

З метою зменшення місцевого використання антимікробних препаратів за піодермії собак запропоновано ефективну схему лікування даного захворювання із застосуванням бактеріофагового препарату «Фагодерм», що висвітлено у методичних рекомендаціях «Лікування піодермії собак бактеріофаговим препаратом «Фагодерм», які затверджено на засіданні науково-методичної ради ЗВО «ПДУ», протокол №7 від 25 вересня 2024 року. Також за результатами досліджень розроблено й запропоновано ТУ У 21.2–22769675–002:2024 на препарат ветеринарний «Фагодерм».

Оцінка змісту дисертації, її завершеності та відповідності встановленим вимогам.

Дисертаційну роботу викладено на 159 сторінках комп'ютерного набору тексту. Робота складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел, додатків. Список використаної літератури налічує 214 джерел. Дисертація ілюстрована 20 таблицями, 23 рисунками і містить 5 додатків. До додатків увійшли копії перших сторінок методичних рекомендацій, технічних умов та акти виробничих випробувань бактеріофагового препарату Фагодерм у ветеринарних клініках.

У розділі 1 «Огляд літератури» відображено науковий пошук дисертанта, автор на основі опрацьованих ним джерел літератури виклав

науковий матеріал про розвиток фагів та їх антибактеріальні сполуки; про переваги і недоліки застосування бактеріофагів у лікуванні тварин; про піодермію у собак: частота та причини виникнення; надав характеристику збудникам піодермії собак, ефективність лікування та навів класифікацію й причини піодермії у собак; про антибіотикорезистентні збудники за піодермії у собак.

Автором окреслено дискусійні питання, або такі, що не знайшли достатнього висвітлення в сучасних наукових джерелах та які потребують вирішення.

Розділ 2 «Вибір напрямків досліджень. Матеріали і методи досліджень». Дисертаційну роботу виконано у період з 2022 – 2024 роки на базі кафедри ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії факультету ветеринарної медицини і технологій у тваринництві Закладу вищої освіти «Подільський державний університет» (м. Кам'янець-Подільський). Експериментальні дослідження проведено у приватних клініках ветеринарної медицини «VitaeVet» (м. Кам'янець-Подільський), «VetClinic», «Доктор Айболит», «Doctor Vet» (м. Чернівці).

Під час виконання дослідження використовували наступні методи: мікробіологічні (виділення та ідентифікація мікробіоти, чутливість до антимікробних препаратів, виділення стафілококових бактеріофагів, визначення спектру літичної дії фагів, вплив факторів навколишнього середовища на стійкість фагів), токсикологічні (гостра й хронічна токсичність, подразнююча, сенсibilізуюча та шкірно-резорбтивна дія бактеріофагового препарату «Фагодерм») клінічні (апробація бактеріофагового препарату «Фагодерм» у ветеринарних клініках під час лікування хворих на поверхневу й глибоку піодермію собак); гематологічні (морфологічні і біохімічні показники крові) та статистичні.

Варто вказати, що комплексне використання застосованих методів підвищило цінність отриманих результатів, вивело їх на новий доказовий рівень. Здобувач навів методи статистичного аналізу.

Розділ 3 «Результати власних досліджень». Даний розділ здобувачем розділено на шість основних повноцінних підрозділів і його об'єм становить 65 сторінок (від 53 до 117 с.).

У підрозділі 3.1 «Характеристика мікробіоти шкіри здорових та хворих на піодермію собак», з'ясовано роль найбільш вагомих збудників у патогенезі піодермії. Встановлено, що у мікробіоценозі шкіри клінічно здорових собак коагулазопозитивний вид *S. pseudintermedius* та коагулазо-варіабельний вид *S. schleiferi subsp. coagulans* займають основну нішу – до 65 %, що необхідно враховувати при визначенні збудників за різних хвороб шкіри. До того ж виявлено, що в етіології та патогенезі даного захворювання значну роль відіграють коагулазопозитивні стафілококи, зокрема вид *S. pseudintermedius*, який виділяється як у монокультурі, так і в асоціації з іншими умовно-патогенними бактеріями.

У підрозділі 3.2 «Аналіз чутливості до антибіотиків мікробіоти шкіри здорових собак та за піодермії», виявлено, що основні автохтонні коагулазопозитивні й коагулазонегативні види стафілококів шкіри клінічно здорових собак, зазвичай, проявляли високу чутливість до широковживаних

антибактеріальних препаратів. Водночас за результатами антибіотикограми бактерій ізольованих з шкіри здорових собак та за піодермії, яка реєструвалася повторно, встановлено виділення на 20–25 % більше стійких клітин стафілококів. Також за піодермії собак, яка реєструвалася повторно, виявляли стійкіші до антибіотиків стафілококи, кишкову й синьогнійну палички. Чутливість *S. pseudintermedius* до амоксициліну з клавулановою кислотою була 58,0 %, до цефалоспоринових антибіотиків й марбофлоксацину в діапазоні 64,5 – 74,2 %. Аналогічну тенденцію відмічали при визначенні чутливості у *E.coli* й *P.aeruginosa*, винятком були лише антибіотики тілозин й тетрациклін, до яких були чутливими 30–40 % даних культур.

У підрозділі 3.3 «Розробка препарату для лікування піодермії у собак на основі специфічних фагів», виявлено, що зареєстровані медичні фагові препарати наявні на ринку «Піофаг», «Інтестіфаг» та нещодавно розроблений ветеринарний «Фагомаст» не проявляли літичної активності щодо основних збудників піодермії собак: *S. pseudintermedius*, *S. aureus*, та *S. schleiferi subsp. coagulans*.

Дослідження показало, що з вогнищ запалення за піодермії собак виділено та ідентифіковано чотири літичних стафілококових фагів, зокрема, фаг *S.a 4* активний щодо *S. aureus*; фаг *S.p 2* літичний щодо *S. pseudintermedius*; фаг *S.she 3* – щодо *S. schleiferi subsp. coagulans*; фаг *S.e 5* – щодо *S. epidermidis*. Дані фаги проявляли в 100 % активність щодо лізису клітин своїх господарів, у межах 50–55 % спостерігалася перехресна літична дія фагів *S.a 4*, *S.p 2* на види *S. aureus* та *S. pseudintermedius* та в середньому 20 % вони лізували клітини виду *S. schleiferi subsp. coagulans*. Такий латентний період та кількість вивільнених віріонів є прийнятним для використання даних фагів у технології виробництва фагового препарату.

У виділених фагів *S.a 4*, *S.p 2*, *S.she 3* та *фаг S.e 5* латентний період становив від 40 до 50 хв при цьому кількість вивільнених віріонів коливалася в межах 6,71–7,91 log БУО/мл. Оптимальна температура для розвитку даних фагів була від 30 до 40 °C, а за температури вище 45 °C відбувається поступове зниження їх життєдіяльності. За кислого рН середовища (4,0 од) кількість літичних фагів була, в середньому на 3,1 порядки менша, порівнюючи з рН 6 та 7 од, за якого відмічали найбільшу кількість життєздатних вірусів до 7,9 log БУО/мл.

У підрозділі 3.4 «Опис технологічного процесу виробництва бактеріофагового препарату літичного до збудників піодермії собак та оцінка його стабільності за зберігання», наведено технологічну схему виробництва стафілококового бактеріофагового препарату «Фагодерм», у складі якого наявні чотири фаги специфічні до збудників піодермії собак: фаг *S.a 4*, фаг *S.p 2*, фаг *S.she 3* та *S.e 5* у кількості 10^7 – 10^8 БУО/мл. Встановлено, що стабільність фагового препарату «Фагодерм» (прозорість, рН, стерильність, концентрація літичних фагів) суттєво не змінюються протягом 6 місяців його зберігання у побутовому холодильнику ($+ 5 \pm 1$ °C).

У підрозділі 3.5. «Токсикологічна характеристика розробленого бактеріофагового препарату Фагодерм для лікування піодермії у собак», встановлено, що препарат «Фагодерм» з титром літичних фагів 10^8 БУО/мл в дозі від 5500 до 10000 мг/кг живої маси мишей мав ЛД₀, тобто є переносимим і

нетоксичним антибактеріальним засобом. Також у випадку довготривалого застосування піддослідним тваринам не відмічали ознак хронічної токсичності. Розроблений препарат «Фагодерм» не проявляв подразнюючої та сенсibiliзуючої дії протягом 15 добового нанесення на шкіру морських свинок. До того ж не спричиняв шкірно-резорбтивної дії, оскільки ознак запалення шкіри хвостів у мишей не виявлено, при цьому зміни в кількості рідини також не було, що є свідченням відсутності всмоктування препарату через шкіру.

У підрозділі 3.6. «Клінічне дослідження бактеріофагового препарату Фагодерм для лікування собак за піодермії», встановлено, що препарат «Фагодерм» є ефективним для лікування поверхневої й глибокої піодермії собак, оскільки за концентрації фагів 10^7 – 10^8 БУО/мл повний терапевтичний ефект досягався на одну-дві доби швидше, або одночасно як у контрольній групі. Мікробіологічна характеристика процесу лікування способом зрошення уражених ділянок фагодермом, сприяє зменшенню стафілококів на 4–5 порядків до 10^2 КУО/мл змиву. При цьому кількість стафілококів на шкірі після загоювання уражених ділянок відповідала вмісту нормомікробіоценозу даного біотопу.

У розділі 4 «Аналізу і узагальнення результатів досліджень» дисертант узагальнює одержані результати експериментальних досліджень і аргументує отримані ним результати, порівнюючи їх з результатами досліджень інших науковців.

Дванадцять висновків повністю відповідають поставленим меті та завданням і узагальнюють інформацію, отриману автором при проведенні досліджень.

Пропозиції виробництву конкретні та можуть бути використаними лікарями ветеринарної медицини в практичній роботі.

Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації та в опублікованих працях. Результати досліджень репрезентують високий рівень достовірності та науковості, про що свідчить значна кількість апробаційних матеріалів досліджень у виступах на вітчизняних та міжнародних наукових і науково-практичних конференціях.

За темою дисертаційного дослідження опубліковано 7 наукових праць, із них 4 статті у фахових наукових виданнях України (категорія Б), 3 праці – у матеріалах конференцій, розроблено і затверджено технічні умови України на стафілококовий бактеріофаговий препарат «Фагодерм» та методичні рекомендації щодо його використання.

Основні результати досліджень доповідались, обговорювались та отримали схвалення на засіданнях кафедри ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії, вченої ради факультету ветеринарної медицини і технологій у тваринництві ЗВО «ПДУ» та на конференціях і семінарах: Міжнар. наук.-практ. конф. науковців, викладачів та аспірантів «Актуальні питання ветеринарної медицини: реалії та перспективи» (Харків, 2024); 4th International scientific and practical conference «Science, technology, innovation: global trends and regional aspect» (Tallinn, Estonia, 2024); 1st International scientific and practical conference «Science in the modern world: innovations and challenges» (Toronto, Canada, 2024).

Наукові публікації, оприлюднені за тематикою дисертаційної роботи, містять обґрунтовані наукові результати відповідно до мети та поставлених завдань наукової роботи.

Оцінка рівня виконання наукового завдання та рівня оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.

Дисертант Строїч В. В. поставив перед собою та успішно виконав наступну мету – експериментально обґрунтувати та розробити високолітичний бактеріофаговий препарат для лікування піодермії собак.

Основні положення дисертаційної роботи добре структуровані, логічно вмотивовані, чітко і послідовно викладені. Структура дисертації, її зміст, висновки, повністю відображають основні положення дисертації.

Дисертант засвідчив високий рівень володіння методами наукових досліджень, про що свідчить відповідність застосованих у роботі методів поставленим завданням.

Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці. Отримані результати матимуть практичне значення з метою лікування піодермії собак бактеріофаговим препаратом «Фагодерм».

Отримані дані можуть бути використані при написанні монографій, навчальних посібників з використання бактеріофагових препаратів для лікування тварин, зокрема шкірних захворювань у собак за яких виділяються антибіотикорезистентні збудники.

Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності. При рецензуванні дисертаційної роботи порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації) та текстових запозичень не виявлено.

Зауваження та дискусійні положення щодо змісту дисертації.

Оцінюючи позитивно дисертаційну роботу Василя Строїча вважаємо за необхідне висловити деякі зауваження та дискусійні питання:

– Уточніть будь ласка, які антибіотики загальної й місцевої дії використовують зараз за лікування піодермії у собак, тобто у тих клініках, де ви проводили дослідження?

– Як ви пояснете, виділення стійкіших до антибіотиків штамів бактерій за повторної піодермії у собак?

– Уточніть будь ласка схему лікування поверхневої піодермії собак вашим препаратом «Фагодерм»?

– Чи можна «Фагодерм» застосовувати при різних шкірних захворюваннях як профілактичний засіб стримування розвитку стафілококів?

– Ваші дослідження показали ефективність розробленого фагового препарату «Фагодерм» за піодермії у собак, а чи буде він ефективний за лікування котів?

– Вкажіть будь ласка, яке рН має «Фагодерм» і чи він не буде нейтралізуватися за рахунок рН середовища шкіри собак?

– Вкажіть будь ласка, чи можна поєднувати застосування поверхневих антибактеріальних препаратів разом з вашим фагодермом?

– Чи проводили ви розрахунок можливої вартості розробленого препарату «Фагодерм»?

– Як довго можна застосовувати для лікування собак за піодермії «Фагодерм»?

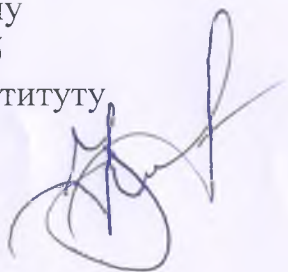
Наявні окремі помилки у тексті дисертації, не є принциповими і не зменшують наукової цінності та актуальності проведених досліджень, особливо, практичну значимість даної дисертаційної роботи.

Аналіз матеріалів дисертації дав можливість зробити загальний висновок, що дисертант за вибором теми, методичним рівнем, аналізом літературних джерел і результатів досліджень, висновків та практичних рекомендацій проявив себе кваліфікованим, ерудованим науковцем, який може ставити перед собою наукові проблеми та самостійно їх вирішувати.

Загальний висновок. Аналіз дисертації та наукових праць, опублікованих за темою дозволяє зробити висновок, що дисертаційна робота Строїча Василя Васильовича на тему: **«Експериментальне обґрунтування та розробка бактеріофагового препарату для лікування собак за піодермії»** є цілісною науковою працею, яка вирішує актуальну експериментальну задачу. За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, достатньою повнотою викладення матеріалів в опублікованих працях, оформленням робота повністю відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12.01.2017 року № 40, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 03 лютого 2017 року за № 155/30023, постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р. № 44, а її автор Строїч Василь Васильович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент:

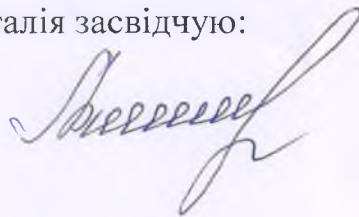
доктор ветеринарних наук, професор,
завідувач науково-дослідного відділу
епізоотології та інфекційних хвороб
Державного науково-дослідного інституту
з лабораторної діагностики та
ветеринарно-санітарної експертизи



Віталій УХОВСЬКИЙ

Підпис завідувача науково-дослідного відділу епізоотології та інфекційних хвороб ДНДІЛДВСЕ Уховського Віталія засвідчую:

Начальник відділу кадрів



Лілія РОМАНЮК



«29» листопада 2024 року