

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Кустурова Володимира Борисовича на тему «Поширення, діагностика, клінічний прояв та лікування токсоплазмозу собак і котів в умовах Одеського регіону», подану на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина

Актуальність теми. Токсоплазмоз є важливою зоонозною протозойною інфекцією у всьому світі та Україні і залишається актуальною для ветеринарної та медичної науки і практики. Збудником захворювання є паразит *Toxoplasma gondii*. Хвороба характеризується складною епідеміологією; паразит може інфікувати практично всіх теплокровних тварин і його життєвий цикл складається з двох хазяїв.

Через широкий спектр клінічних ознак діагностика у домашніх тварин може бути ускладнена. Нехарактерні клінічні прояви й перебіг токсоплазмозу, часте переважання латентних форм над клінічно вираженими ускладнюють постановку діагнозу. Враховуючи вищезазначене, зростає роль лабораторних досліджень, що охоплюють паразитологічні, серологічні й біохімічні методи.

В ході еволюції збудник токсоплазмозу набув широкого спектру потенційних шляхів передачі від остаточного до проміжного хазяїна. Однак з'ясування цих шляхів протягом останніх 3-х десятиліть не встановило, який із цих шляхів є більш важливим епідеміологічно та епізоотологічно. Через універсальність *Toxoplasma gondii* та її складний біологічний цикл неможливо порадити стратегії контролю або профілактики захворювання, які є ефективними у всьому світі або ефективними для всіх етнічних груп на одній території.

Тому актуальними є дослідження поширення інфекцій *Toxoplasma gondii* і роль ооцист як потенційних джерел інфекції для людей та тварин, а також розробка методів моніторингу.

Водночас, в Україні недостатньо відомостей щодо характеристик епізоотичної ситуації з розповсюдження та протікання токсоплазмозу, а також патогенного впливу *Toxoplasma gondii* на організм різних тварин. Тому при постановці захиттєвого діагнозу на токсоплазмоз виникають складнощі, а за умови його виявлення – неузгодженості та суперечності у призначенні лікування.

Широкий спектр клінічних ознак, а також імуносупресія клітинної ланки імунітету під час перебігу токсоплазмозу потребує індивідуального підбору фармакологічних засобів для лікування домашніх тварин. У зв'язку з вищевикладеним, важливими є дослідження в рамках виявлення джерел *Toxoplasma gondii* у тварин, визначення дієвих методів лабораторної діагностики, а також визначення сучасних науково обґрунтованих алгоритмів лікування та профілактики хвороби у домашніх тварин.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є частиною науково-дослідних тематик кафедри фізіології, патофізіології та біохімії Одеського державного аграрного університету «Вивчення фізіолого-біохімічних аспектів та імунного статусу у тварин і птиці в умовах господарств Півдня України» (№ держреєстрації 0118U001665), «Механізми імунної відповіді у домашніх всеїдних в різні періоди онтогенезу» (№ держреєстрації 0121U110932).

Наукова новизна одержаних результатів полягає у встановленні поширення токсоплазмозу тварин та джерела зараження котів і собак, а також розробці науково обґрунтованих методів його лікування. Зокрема вперше проведені моніторингові дослідження токсоплазмозу у собак і котів та отримано нові дані щодо поширення збудника *T. gondii* у продуктивних тварин в Одеській області. Так, поширення збудника у ВРХ становить 21,0 %, овець – 67,6 %. Отримано нові дані щодо поширення збудника у дрібних домашніх тварин: у собак – 24,2 %, а у котів – 26,1 %. Встановлена закономірність у поширенні збудника залежно від сезону року. У зимовий період зафіксовано найнижчий рівень інфікованості серед домашніх всеїдних тварин. Цей показник становив серед котів 18,3 % та серед собак – 19 %.

Отримано нові дані щодо персистенції *T. gondii* у зразках м'язів овець та ВРХ. Вперше для діагностики токсоплазмозу тварин запропонована модель, яка дозволяє швидко і з великою точністю посмертно (після забою) встановити серопозитивність м'ясних туш, знизити витрати на матеріали та реактиви, а також попередити зараження людини.

Вперше досліджено особливості клінічного прояву серопозитивних на токсоплазмоз собак та котів і діагностовано основні імунологічні та біохімічні зміни в крові.

Розроблена унікальна схема лікування собак на токсоплазмоз з використанням трикратної процедури плазмаферезу за допомогою апарату АПФ-1 «Гемофер». За хронічного перебігу токсоплазмозу запропоновано препарат «Трифузол».

Наукова новизна проведеного дослідження підтверджена деклараційним патентом України на корисну модель «Спосіб посмертної (післязабійної) діагностики токсоплазмозу у тварин» (№ 151315).

Практичне значення одержаних результатів. Дослідження, які проведені у дисертації дають змогу виявляти наявність антитіл до збудника токсоплазмозу у тварин різного виду з використанням тест-систем і серологічних методів, визначати наявність антитіл в тушах овець та ВРХ, а також усунути можливість проникнення *T. gondii* в організм людини з продуктами тваринництва.

За результатами досліджень у лабораторну практику фахівців ветеринарної медицини розроблено та впроваджено спосіб посмертної (післязабійної) діагностики токсоплазмозу у тварин (Додаток 1).

Результати науково-дослідної роботи щодо діагностики, клінічного прояву та лікування токсоплазмозу впроваджені на кафедрі фізіології та біохімії тварин та фармакології та паразитології Державного

біотехнологічного університету (Додаток 2); кафедри мікробіології, фармакології та ветеринарної епідеміології Поліського національного університету (Додаток 3); кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Дніпровського державного аграрно-економічного університету (Додаток 4); кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Полтавського державного аграрного університету (Додаток 5); кафедри ветеринарної медицини та фармації Національного фармацевтичного університету (Додаток 6).

Ступінь обґрунтованості і вірогідності наукових результатів, висновків та рекомендацій базується на тому, що вони отримані в підготовлених дослідах, тісно пов'язані з державними програмами, у роботі застосовано класичні і сучасні методи досліджень, зроблено математичну обробку даних та їх аналіз. Експериментальну частину роботи методично виконано вірно, одержані результати піддано аналізу, висновки і рекомендації є аргументованими і повністю відповідають отриманому науковому матеріалу. Вибір схеми досліджень, застосування відповідних методів, інтерпретація одержаних результатів указують на те, що дисертант ними володіє і досяг поставленої мети дисертаційної роботи.

Кількість і обсяг публікацій та повнота опублікованих результатів досліджень. Основний зміст дисертації викладено в 13 наукових працях, а саме 5 статтях – у фахових наукових виданнях України, 2 статтях – у іноземних наукових виданнях, 1 статті – у збірнику за результатами міжнародного конгресу, 3 тезах доповідей – у збірниках за результатами міжнародних науково-практичних конференцій; 1 методичних рекомендаціях; 1 патенті на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота Кустурова В.Б. відповідає вимогам МОН України. Дисертаційна робота складається з таких розділів; анотація, вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел, додатки. Робота викладена на 198 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 27 таблицями, 14 рисунками, список використаних джерел містить 320 найменувань із яких 303 – латиницею.

Вступ достатньо повно розкриває всі необхідні елементи роботи згідно існуючих вимог: актуальність обраної теми, мету, завдання, об'єкт, предмет і методи досліджень, наукову та практичну новизну одержаних результатів, особистий внесок здобувача, дані про апробацію дисертації та опубліковані роботи за її темою.

Розділ 1. Огляд літератури складається з чотирьох підрозділів і є результатом вивчення сучасних наукових джерел, переважно англійської літератури, але 63 % літературних джерел дещо застарілі. У цьому розділі наведено поширення токсоплазмозу серед тварин, клінічні і патологоанатомічні зміни у собак і котів, особливості діагностики та визначення збудника токсоплазмозу у продуктах харчування тваринного походження, з'ясовані клінічні прояви та біохімічні зміни в сироватці крові

собак і котів. Огляд завершується чітко сформульованими висновками. В цілому матеріали викладені у логічній послідовності і заслуговують позитивної оцінки.

Розділ 2. Матеріали та методи досліджень. Наукові дослідження виконані автором упродовж 2015–2022 рр. на кафедрі фізіології, патофізіології та біохімії і Багатопрофільної лабораторії ветеринарної медицини Одеського державного аграрного університету.

Для вирішення поставлених у роботі завдань було розроблено загальну схему досліджень і здійснено наукові дослідження, проведені у п'ять етапів. За період проведення моніторингових досліджень було обстежено 1105 тварин, серед яких великої рогатої худоби – 93; овець – 102; собак – 458, котів – 452. Кількість виконаних досліджень є достатньою для встановлення об'єктивних даних стосовно поставлених завдань.

Розділ 3. Результати власних досліджень включає 8 підрозділів. У них автором викладено результати виконання поставлених завдань роботи.

У першому підрозділі «**Поширення *Toxoplasma gondii* серед тварин в Одеській області**» встановлено, що серед великої рогатої худоби поширення збудника токсоплазмозу за даними серологічних досліджень склала 19,4 %, серед червоної степової породи поширення було в 2,8 рази меншою, ніж серед голштинської. У овець цигайської породи поширення встановлено на рівні 67,6 %, серед безпритульних котів – 68,8 %, а серед домашніх – 24,4 %, серед безпритульних собак – 31,7 %, у домашніх собак – 22 %.

У другому підрозділі «**Аналіз методів лабораторного дослідження збудника токсоплазмозу в тушах великої і дрібної рогатої худоби та біологічному матеріалі котів**» за результатами досліджень гомогенатів м'язової тканини з різних частин туші та паренхіматозних органів встановлено, що для післязабійної діагностики і встановлення наявності позитивної реакції до збудника токсоплазмозу обґрунтованим є використання проби м'язів діафрагми. При дослідженні сироватки крові котів наявність специфічних IgG до збудника токсоплазмозу реєстрували у 26,2 %, тоді як при дослідженні фекалій лише у однієї тварини, що підтверджує недоцільність такого дослідження в клінічній практиці.

У третьому підрозділі «**Особливості клінічних проявів токсоплазмозу у собак та котів**» встановлено, що кількість собак, які мали клінічні ознаки уражень шкіри становила 39,7 %, у 20,5 % випадків проявляються ознаки ураження нервової системи, опорно-рухової системи – у 18,0 % випадків. У котів на фоні токсоплазмозу симптомокомплекс ураження шкіри проявлявся у 33,3 % дослідних тварин, шлунково-кишкового тракту у 17,2 %, опорно-рухової системи – у 12,6 % випадків.

У четвертому підрозділі «**Особливості біохімічних показників сироватки крові за токсоплазмозу собак та котів**» встановлено, що у позитивно реагуючих до збудника токсоплазмозу собак вміст ензимів АлАТ та АсАТ в сироватці крові становив на 30 % більше, ніж у тих, що реагували негативно. В групі СП собак кількість тварин з високим рівнем глюкози в крові була меншою, ніж у СН. Така закономірність пояснюється тим, що

збудник споживає глюкозу під час метаболічних процесів. Коти, сироватка крові яких за результатами імуноферментного аналізу виявилась позитивною до *T. gondii* мали на 40 % більше вміст сечовини та на 24,7 % – вміст креатиніну.

У п'ятому підрозділі «**Показники клітинної ланки імунітету у собак та котів за серопозитивної реакції на *Toxoplasma gondii***» встановлено зниження фагоцитарної активності нейтрофілів у позитивних до токсоплазмозу собак, що складає $2,258 \pm 0,232$ проти $3,98 \pm 0,74$ Г/л у собак з негативними серологічними результатами. Регуляторні популяції Т-лімфоцитів та Т-супресорних лімфоцитів у 2,9 рази менші у серопозитивних собак, а Т-хелперних – в 1,7 рази. Абсолютна кількість лейкоцитів у безпритульних позитивних до токсоплазмозу котів складала $5,8 \pm 1,17$ Г/л, що в 1,6 рази нижче, ніж у домашніх серонегативних котів та у 2,6 рази нижче, ніж у домашніх серопозитивних котів. При цьому абсолютна кількість природніх кілерних клітин у безпритульних серопозитивних котів є вищою за домашніх. Таким чином, за позитивної реакції на наявність антитіл до збудника токсоплазмозу в організмі котів та собак розвивається стійке зменшення абсолютної кількості лейкоцитів, лімфоцитів їх імунорегуляторних субпопуляцій, а також зниження здатності нейтрофілів до фагоцитозу.

У шостому підрозділі «**Визначення лікувальної ефективності процедури плазмаферезу, «Трифузолу» та специфічних фармакологічних засобів за токсоплазмозу у собак та котів**» на підставі результатів експериментально-клінічних досліджень встановлено, що в сироватці крові собак за трьох процедур плазмаферезу реєстрували зниження рівня загального протеїну та альбуміну, а також збільшення рівня γ -глобуліну. Швидке відновлення рівня γ -глобулінової фракції білків пов'язано з активацією антигенів в організмі внаслідок зниження токсичного «пресу» продуктами метаболізму. Плазмаферез позитивно відображається на активності трансаміназ АлАТ та АсАТ у плазмі крові собак. Уже після першої процедури, активність ензимів зменшувалася приблизно удвічі і наближалася до фізіологічних меж.

При з'ясуванні впливу препарату «Трифузол» на імунологічні показники крові котів за токсоплазмозу встановлено, що протягом 28 діб знизився вміст АлАТ з $131,2 \pm 16,41$ Од/л до $52,4 \pm 7,36$ Од/л, тобто наблизився до фізіологічних меж. Застосування цього препарату в схемі лікування токсоплазмозу собак дозволяє досягти повної ремісії у 71,4 % собак та мінімізувати кількість ускладнень до 14,3 %.

У сьомому підрозділі «**Протокол лікування токсоплазмозу собак та котів в умовах ветеринарних клінік**» дисертантом запропоновано схему профілактики токсоплазмозу котів, яка включає необхідні заходи, що направлені на поступове зменшення поширення збудника в навколишньому середовищі та відповідно зниження антигенного навантаження на організм тварин. Також для лікарів ветеринарних клінік запропоновано протокол

лікування токсоплазмозу собак та котів з врахуванням особливостей клінічного прояву, імунофізіологічного стану та біохімічного профілю.

У восьмому підрозділі «**Методи профілактики токсоплазмозу у тварин**» напрацьовано метод непрямого виявлення збудника у м'ясних тушах тварин та оцінені найбільш характерні клінічні ознаки прояву та біохімічні зміни в сироватці крові собак та котів, що характерні для токсоплазмозу і які нині можна рекомендувати для використання. Для упередження зараження тварин збудником токсоплазмозу запропоновано схему профілактики, яка передбачає проведення заходів щодо недопущення зараження тварин через заражений корм, запровадження систематичних обов'язкових моніторингових досліджень сироватки крові продуктивних та домашніх тварин а також копроовоскопічних досліджень у котів та проведення роз'яснювальної роботи серед власників тварин щодо гігієни утримання своїх улюбленців.

Розділ 4 «Аналіз та узагальнення результатів досліджень». Автор змістовно та об'єктивно інтерпретує одержані епізоотологічні та експериментальні результати, що мають наукову аргументація і свідчать про її високий науковий рівень.

Дисертаційна робота завершується висновками, що логічно випливають із виконаних автором досліджень та пропозиціями виробництву, що достатньо детально показують практичне застосування отриманих результатів.

Дисертація написана науковою мовою, акуратно оформлена, її матеріали викладені доступно з достатньою кількістю ілюстрованого матеріалу.

У дисертації опонент не знайшов недоліків, що заважали б дати позитивну оцінку. Проте, оцінюючи дисертаційну роботу Кустурова Володимира Борисовича позитивно, необхідно вказати на деякі уточнення і дати пояснення.

1. Стор. 19. У науковій новизні надруковано: «...поширення збудника у ВРХ становить 21,0 %, овець – 69,1 %. Отримано нові дані щодо поширення збудника у дрібних домашніх тварин: у собак – 24,2 %, а у котів – 69,1 %», тоді як у висновках і анотації надруковано, що у овець цигайської породи поширення встановлено на рівні 67,6 %, серед безпритульних котів – 68,8 %, серед домашніх – 24,4 %.

2. Стор. 19. У розділі «Практичне значення одержаних результатів» та додатки (стор. 192) пронумеровані цифрами, слід буквами (А, Б, і т.д.).

3. Стор. 24 і 47. У розділі «Огляд літератури» на одне речення чи абзац робите посилання на 6 і більше авторів. Це не коректно.

4. По всьому тексту посилання на закордонних авторів слід робити на мові оригіналу.

5. Стор. 26. Стаття автора 160 не відповідає тексту.

6. Стор. 68. Розділ 2.2.7 слід писати у минулому часі, використовуючи: «... змішували, досліджували і т.д.».

7. Стор. 76. Надруковано: «Температура може впливати на виживання та інфекційність ооцист *Toxoplasma gondii* ...» і посилаєтесь на автора 174. Але в статті йде мова про поширення нематод.

8. Стор. 76. В Рис. 3.1 цифри показників взимку і восени не відповідають тексту.

9. Стор 84. Відсутнє посилання на Рис. 3.3.

10. Стор 87. Надруковано: «Більшість тварин, а саме 47 %, мали титри антитіл більше за 200 МО/мл», а на Рис. 3.4 зображено лише 42 %.

11. Стор. 97. Надруковано: «...у серопозитивних собак – в 68,5 %», слід: «... у 64,9 %».

12. Стор. 101 і 106. Надруковано: «...що абсолютна кількість лейкоцитів у собак позитивно реагуючих на наявність антитіл до збудника токсоплазмозу в середньому на 3,4 Г/л нижчі, ніж в групі серопозитивних тварин», та «...що у СП безпритульних котів цей показник в 2 рази нижчий за СП...». Дайте пояснення.

13. Стор. 106. Надруковано: «Встановлено, що абсолютна кількість лейкоцитів у СП котів достовірно ($p < 0,05$) нижча, ніж в СН на 15 %», а по факту – на 14,8 %.

14. Стор. 107. Надруковано: «... у СП вона становить $1,49 \pm 0,22$ Г/л, а у СН безпритульних $-2,30 \pm 0,50$ Г/л ($p < 0,01$), що на 35 % більше», а слід: «... на 35,2 % менше».

15. У таблицях 3.14–3.18, 3.20 не вірно вирахована похибка або відсутня, також відсутні ($n = ?$, $M \pm m$).

16. Стор 113. У висновку до підрозділу 3.6.2 посилаєтесь на авторів. Де Ваш висновок?

17. Стор. 114, 119. По тексту не вірні відсотки збільшення/зменшення показників лейкоцитів, нейтрофілів, моноцитів і т.д.

18. За результатами Ваших досліджень в Одеському регіоні 21,0 % ВРХ і 69,1 % овець уражені *T. gondii*. Чи не великий це показник і чи відображається він у статистичній звітності?

19. У розділі «3.8.2. Схема зниження ризиків зараження людини і тварин *Toxoplasma gondii*» вказує: «Перше за все необхідно провести заходи щодо недопущення зараження тварин через заражений корм. Для продуктивних тварин це заражені ооцистами зернові корми, а для домашніх – термічно не оброблене м'ясо». Вами такі дослідження не проводились. Це лише припущення і побажання.

20. Чому на Вашу думку з 22 досліджених безпритульних котів лише у одного методом відцентрової флотації було виявлено ооцисти *T. gondii*, тоді як за Вашими даними ураженими є 68,8 % тварин?

Загальний висновок. Дисертаційна робота Кустурова Володимира Борисовича «Поширення, діагностика, клінічний прояв та лікування токсоплазмозу собак і котів в умовах Одеського регіону» є закінченою науковою працею, виконаною на належному науково-методичному рівні, яка за змістом цілком відповідає спеціальності 211 – «Ветеринарна медицина» і

подається на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії. Дисертація оформлена у відповідності з встановленими вимогами.

Враховуючи актуальність теми, наукову новизну, теоретичну і практичну цінність, обсяг експериментальних досліджень, аналіз одержаних результатів, ступінь апробації та висвітлення результатів досліджень у публікаціях, зміст висновків та рекомендацій, вважаю, що дисертаційна робота «Поширення, діагностика, клінічний прояв та лікування токсоплазмозу собак і котів в умовах Одеського регіону» відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України «Про проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», а її автор Кустуров Володимир Борисович заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»

Опонент – директор Одеської дослідної станції
Національного наукового центру
«Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини,
доктор ветеринарних наук, професор



Микола БОГАЧ

Підпис Миколи БОГАЧА засвідчую
В.о. спеціаліста відділу кадрів
Одеської дослідної станції ННЦ «ІКВМ»



Надія СЕЛІЩЕВА

12.12.2023 р.