

РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента на дисертацію **Кіт Марини Юріївни** на тему: **«Удосконалення експрес діагностики африканської чуми свиней за допомогою молекулярно-генетичних методів»**, що подана на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 — Біологія, 091 — Біологія та біохімія

Актуальність теми дисертації

Африканська чума свиней (АЧС) є однією з найбільш небезпечних вірусних хвороб свиней, що викликає значні економічні збитки у свинарстві через високу летальність, відсутність специфічного лікування та вакцини. Протягом останнього десятиліття захворювання набуло широкого поширення на території Європи, включаючи Україну, та продовжує становити серйозну загрозу для продовольчої безпеки та тваринницького сектору.

Одним із ключових елементів ефективної боротьби з АЧС є своєчасна та достовірна діагностика. Для підтвердження захворювання застосовуються різні лабораторні методи, зокрема вірусологічні, серологічні та молекулярно-генетичні. Серед серологічних методів особливу роль відіграє імуноферментний аналіз (ІФА), який дозволяє виявляти антитіла до вірусу АЧС та оцінювати імунологічний статус тварин у постінфекційному періоді. ІФА є важливим інструментом для епізоотичного моніторингу та ретроспективної оцінки поширення вірусу.

Проте, серологічні методи, включаючи ІФА, не дозволяють виявити вірус на ранніх стадіях інфекції, коли ще не сформована імунна відповідь. У зв'язку з цим зростає потреба в удосконаленні експрес-діагностики за допомогою молекулярно-генетичних методів, таких як ПЛР у реальному часі та LAMP, які забезпечують високу чутливість і специфічність, а також дають можливість виявити вірусні нуклеїнові кислоти безпосередньо у біологічному матеріалі. Комплексне застосування ІФА та сучасних молекулярно-генетичних методів діагностики дозволяє забезпечити багаторівневий підхід до виявлення АЧС, що є вкрай важливим для своєчасного виявлення, локалізації та контролю

спалахів хвороби. Таким чином, удосконалення методів експрес-діагностики АЧС, включаючи інтеграцію ІФА та молекулярно-генетичних технологій, є надзвичайно актуальним завданням сучасної ветеринарної науки та практики.

Зв'язок з науковою тематикою

Дисертаційна робота є складовою частиною науково-дослідної роботи, що виконувалася згідно з державними тематичними планами Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» за завданням 34.02.01.02 Ф «Створення методології розробки рекомбінантних контрольних зразків нуклеїнових кислот і протеїнів збудників інфекційних хвороб для використання у лабораторній ветеринарній діагностиці» (2021–2025 рр., номер держреєстрації 0121U108358), а також за підтримки Інституту Мікробіології Бундесверу та GIZ GmbH у рамках проекту «Українсько-німецька ініціатива «Біологічна безпека для управління ризиками зоонозів на територіях, які розташовані біля зовнішніх кордонів країн-членів Європейського союзу» (2020–2022 рр.).

Наукова новизна та теоретичне значення дисертації

Здобувачкою в період з 2017 по 2025 рр. вперше на території України було проведено прижиттєвий збір зразків ротової рідини від диких свиней у польових умовах та показано можливість виявлення у таких зразках генетичних маркерів *Sus scrofa* та вірусу АЧС за допомогою розроблених власних методик на основі петльової ізотермічної ампліфікації. Встановлено носійство вірусу АЧС у популяції диких свиней на території Харківської області. Вперше в Україні розроблено і доведено ефективність використання рекомбінантних аналогів протеїнів р32 та р54 вірусу АЧС для детекції антитіл проти збудника АЧС у сироватках крові від свиней методом ІФА, розроблено методику детекції ДНК вірусу АЧС за допомогою петльової ізотермічної ампліфікації, а також розроблено і доведено ефективність використання рекомбінантного позитивного контрольного зразка для детекції генетичного матеріалу вірусу АЧС методом ПЛР, розроблено тест-систему для детекції ДНК вірусу АЧС методом ПЛР у реальному часі.

Практичне значення результатів дисертації

За результатами проведених наукових досліджень здобувачкою розроблено та вдосконалено серологічні (ІФА) та молекулярно-генетичні (ПЛР, петльова ізотермічна ампліфікація) методики досліджень щодо АЧС клінічних зразків, оптимізовано спосіб відбору та тестування ротової рідини від диких свиней, що рекомендовані до використання у роботі спеціалістами ветеринарної медицини. Розроблено методичні рекомендації «Детекція ДНК вірусу африканської чуми свиней методом петльової ізотермічної ампліфікації» та «Отримання рекомбінантного антигену р32 для ІФА-діагностики АЧС», розглянуті та засіданні методичної комісії Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», протокол № 3 від 3.11.2021 р. та протокол № 8 від 23.10. 2024 р. відповідно, які призначені для фахівців діагностичних лабораторій, науковців, викладачів та студентів вищих навчальних закладів та співробітників науково-дослідних установ ветеринарного профілю.

На підставі проведених результатів досліджень отримано деклараційний патент України на корисну модель № 133163 «Тест-система для виявлення ДНК вірусу африканської чуми свиней за допомогою полімеразної ланцюгової реакції «Sui-DNA-test-ASF virus». Підготовано та подано до реєстрації патент на корисну модель «Спосіб отримання рекомбінантного антигену р32 для діагностики африканської чуми свиней за допомогою ІФА». Розроблено Тест-систему для детекції вірусу АЧС методом ПЛР у режимі реального часу «Sui-DNA-test-ASF virus», яка зареєстрована в Україні (реєстраційне посвідчення №BB-00896-06-18).

Головні результати, отримані особисто автором

Здобувачкою особисто проведено основний обсяг пошукових та експериментальних досліджень, аналіз, трактування та узагальнення отриманих результатів, статистичний аналіз даних, формулювання висновків, а також оформлення рукопису дисертації.

Під час оцінки автентичності дисертації був проведений аналіз звіту

перевірки роботи на плагіат, наявність текстових запозичень (програма UNICHECK), на підставі якого дійшли висновку, що дисертаційна робота Кіт Марини Юріївни на тему: «Удосконалення експрес діагностики африканської чуми свиней за допомогою молекулярно-генетичних методів», є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить елементів плагіату за запозичень згідно з постановою КМУ від 12.01.2022 № 44 п. 9 Використані ідеї; результати і тексти інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Кількість наукових публікацій

Результати досліджень, висвітлені в дисертаційній роботі, опубліковані в 13 наукових праць, з яких 4 — у фахових виданнях, перелік яких затверджено МОН України, одна — розділ у колективній монографії, виданій за кордоном, та опис одного патенту України на корисну модель.

Основні результати були представлені, обговорені та схвалені на звітних сесіях вченої ради ННЦ «ІЕКВМ» у 2018–2021 та 2024 рр., а також на наступних наукових конференціях: 3rd Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium (Київ, Україна, 2018), Biosafety and Biosecurity Symposium “One health — one vision”, (Тбілісі, Грузія, 2019), 2021 International BioThreat Reduction Symposium (Київ, Україна, 2021), 17th Medical Biodefence Conference (Мюнхен, Німеччина, 2021), International Online Science Symposium “Know your pathogens — Eurasian Symposium on Biological Health Hazards” (2021), Онлайн-конференція аспірантів і молодих вчених у сфері Єдиного здоров'я та біотехнології “VetBioConnect” (2024), II Міжнародна науково-практична конференція науково-педагогічних працівників та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах євроінтеграції» (Одеса, Україна, 2024).

Зауваження і побажання до змісту

Дисертаційна робота написана державною мовою і відповідає чинним вимогам. Наукова робота виконана на достатньо високому методичному рівні, містить наукову новизну та має практичну цінність, що дало можливість

отримати цінні наукові результати. Висновки викладені в дисертації, узгоджуються з поставленими завданнями та отриманими результатами.

Оцінюючи позитивно дисертаційну роботу Кіт Марини Юріївни доцільно було б вказати на окремі дискусійні зауваження та побажання:

1. Якими є діагностична чутливість та специфічність розробленого методу непрямого ІФА ІФА на основі рекомбінантних антигенів вірусу АЧС у порівнянні з комерційними серологічними тест-системами та методами підтвердження, такими як ПЛР? Чи відповідають показники чутливості та специфічності діагностичної системи міжнародним критеріям для валідації серологічних тестів на АЧС?

2. Доцільним є уточнення чи проводилось тестування розробленої тест-системи для виявлення ДНК вірусу африканської чуми свиней за допомогою полімеразної ланцюгової реакції на польових зразках і як результати співвідносяться з іншими діагностичними методами?

3. Який рівень виявлення АЧС у популяціях диких свиней за допомогою аналізу ротової рідини, порівняно з іншими епідеміологічними підходами до моніторингу? Чи можна використовувати зразки ротової рідини як ефективну альтернативу традиційним зразкам (кров, тканини) для молекулярної діагностики АЧС у диких свиней?

4. У розділі 3.1 на рис. 3.10, 3.11, 3.12 не наведено довжину оптичної хвилі при якій вимірювали оптичну щільність розчину на ELISA-рідері.

Відзначені недоліки та зауваження не зменшують цінність представленої наукової роботи, а поставлені запитання мають уточнюючий та дискусійний характер.

Відповідність дисертації спеціальності

Дисертаційна робота Кіт Марини Юріївни на тему: «Удосконалення експрес діагностики африканської чуми свиней за допомогою молекулярно-генетичних методів», подана до захисту у спеціалізовану вчену раду на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 — Біологія, 091 — Біологія та біохімія за своєю актуальністю,

науково-теоретичним рівнем, основними результатами обґрунтованості, основними положеннями і результатами опублікованими у фахових виданнях, новизною та практичним значенням відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» та постанові Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» із змінами, внесеними згідно з Постановою КМУ № 341 від 21.03.2022 р. Зміст дисертації відповідає паспорту спеціалізації.

Рецензент:

Кандидат ветеринарних наук,
завідувачка лабораторії вивчення
хвороб свиней
Національного наукового центру
«Інститут експериментальної і
клінічної ветеринарної медицини»

Олена КОЛЬЧИК

*Підпис Кольчик О.В. засвідчено
Гол. спец. з надр. в. О.В. Кольчик*

