

ЗАТВЕРДЖУЮ:

в. о. заступника директора з наукової
роботи Національного
наукового центру «Інститут
експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», к. біол. н,
ст. наук, співробітник



Лариса КОВАЛЕНКО

«*Гравис*» 2025 р

ВИСНОВОК

**про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів
дисертації здобувачки лабораторії молекулярної діагностики ННЦ
«Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН
Кіт Марини Юріївни**

на тему «Удосконалення експрес-діагностики африканської чуми свиней за допомогою молекулярно-генетичних методів», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань **09** – Біологія за спеціальністю **091** – Біологія та біохімія.

1. Актуальність теми дослідження.

Африканська чума свиней (АЧС) — це вірусне контагіозне захворювання домашніх та диких свиней. Гостра форма захворювання спричиняє смертність інфікованих тварин, що сягає 100 %. Захворювання поширене у країнах Африки, Східної та Західної Європи, Азії та Океанії. Тільки у 2016–2020 рр. понад 8 млн домашніх свиней загинуло внаслідок АЧС або було забито у рамках запроваджених у зв'язку із захворюванням карантинних заходів. Перший спалах захворювання на території України був зафіксований у 1977 р. За часів незалежності, перший випадок АЧС було лабораторно підтверджено у 2012 р. Починаючи з 2012 р., у 24 областях України зареєстровано 723 випадки захворювання. Економічні збитки, яких зазнала наша країна в результаті епізоотії АЧС становлять понад 200 млн грн.

АЧС внесена до Переліку особливо небезпечних (карантинних) хвороб тварин та є обов'язковою для реєстрації у ВООЗТ (Всесвітня організація охорони здоров'я тварин). На сьогодні засоби лікування та зареєстровані і загальноприйняті методи профілактики захворювання відсутні, тому єдиним способом контролю є швидка діагностика та запровадження суворих карантинних заходів.

Популяції диких свиней є важливим середовищем еволюції вірусу в напрямку зниження його вірулентності. У країнах, де вірус циркулює протягом тривалого часу, під час моніторингових досліджень серед диких свиней значну частку позитивних щодо АЧС результатів виявляють серологічними методами, що свідчить про виникнення помірно- та низьковірулентних штамів вірусу, це

дозволяє тваринам виживати після інфікування та бути позитивними вірусоносіями.

Зважаючи на вказані вище факти, удосконалення системи діагностики АЧС в Україні, у тому числі шляхом розробки та вдосконалення молекулярно-генетичних та серологічних методів, а також проведення відбору та дослідження прижиттєвих зразків від диких свиней щодо наявності в них збудника АЧС, є актуальним.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконувалася впродовж 2017–2025 рр. згідно з планами наукових досліджень ННЦ «ІЕКВМ», затвердженими Національною академією аграрних наук України за завданнями 38.01.01.02 Ф «Встановити видо- та родоспецифічні генетичні маркери збудників емерджентних інфекційних захворювань ВРХ, свиней, птиці та розробити методологію їх моніторингу і діагностики на основі молекулярно-генетичних технологій» (2016–2019 рр., номер держреєстрації 0116U000237), 39.00.03.16 Ф (Пш) «Розробити методику виявлення ДНК вірусу АЧС на основі ізотермічної полімеразної реакції» (2019 р., номер держреєстрації 0119U100134), 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.).

3. Наукова новизна отриманих результатів.

Уперше 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, яка може використовуватися як експрес-метод діагностики, 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. Уперше 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 нами методик на основі петльової ізотермічної ампліфікації. Установлено носійство вірусу АЧС у популяції диких свиней на території Харківської області.

4. Теоретичне та практичне значення результатів дисертації.

Теоретичне значення роботи полягає у виявленні нових молекулярних маркерів для детекції геному вірусу АЧС, удосконаленні протоколу солюбілізації рекомбінантних білків вірусу АЧС з тілець включення за допомогою детергентів та літичних ферментів. Неінвазивний метод прижиттєвого відбору зразків ротової рідини від диких свиней та виявлення генетичного матеріалу вірусу АЧС у цих зразках має важливе значення для

вивчення шляхів природної циркуляції збудника серед дикої фауни та оцінки епізоотичних ризиків.

Результати досліджень використано для розробки нормативної документації щодо виготовлення, контролювання та застосування тест-системи для детекції ДНК вірусу АЧС методом ПЛР у режимі реального часу «Sui DNA test ASF virus» (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»») (Додаток А). Підготовано та подано до реєстрації патент на корисну модель «Спосіб отримання рекомбінантного антигену р32 для діагностики африканської чуми свиней за допомогою ІФА».

Розроблено методичні рекомендації «Детекція ДНК вірусу африканської чуми свиней методом петльової ізотермічної ампліфікації» та «Отримання рекомбінантного антигену р32 для ІФА діагностики АЧС», розглянуті та схвалені методкомісією ННЦ «ІЕКВМ», протокол № 3 від 3.11.2021 р. та протокол № 8 від 23.10. 2024 р. відповідно. Методичні рекомендації призначені для фахівців діагностичних лабораторій, науковців, викладачів та студентів вищих навчальних закладів та співробітників науково-дослідних установ ветеринарного профілю.

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.

Результати наукових досліджень рекомендуються до використання під час підготовки здобувачів вищої освіти за спеціальністю Біологія та біохімія, Ветеринарна медицина, при вивченні освітніх програм Біотехнологія та Промислова біотехнологія у закладах вищої освіти України та в наукових дослідженнях підрозділів Інституту ветеринарної медицини НААН.

5. Головні результати, отримані особисто автором.

Дисертантом особисто проведено основний обсяг пошукових та експериментальних досліджень, аналіз, трактування та узагальнення отриманих результатів, статистичний аналіз даних, формулювання висновків, а також оформлення рукопису дисертації. Отримання рекомбінантних протеїнів та розробка протоколу проведення ІФА були здійснені на базі Інституту мікробіології Бундесверу (Німеччина) спільно з доктором Ю. Шварц та доктором К. Попп, обговорення результатів щодо цієї частини роботи відбувалося за участі доктора Х. фон Бутлера. Збір польового матеріалу для скринінгових досліджень проведено здобувачем спільно зі старшим науковим співробітником ННЦ «ІЕКВМ», кандидатом біологічних наук О. Б. Зленко. Створення карти місця відбору зразків від диких свиней здійснювали спільно зі старшим викладачем ХНУ ім. Каразіна В. В. Гарькавенком. Планування напрямів роботи, обговорення результатів і структури дисертації здійснювали спільно з доктором ветеринарних наук, професором, членом-кореспондентом НААН А. П. Геріловичем та науковим керівником доктором ветеринарних наук, професором А. П. Палієм.

Був проведений аналіз звіту перевірки роботи на плагіат, наявність текстових запозичень (програма StrikePlagiarism.com), 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 плагиату 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.

6. Кількість наукових публікацій.

За темою дисертаційної роботи опубліковано 14 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, 6 тез доповідей на наукових конференціях та 2 методичних рекомендацій.

Основні результати були представлені, обговорені та схвалені на звітних сесіях вченої ради ННЦ «ІЕКВМ» у 2018–2021 та 2024 рр., а також на таких 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-конференції аспірантів і молодих вчених у сфері Єдиного здоров'я та біотехнології “VetBioConnect” (Харків, Україна, 2024), II міжнародній науково-практичній конференції науково-педагогічних працівників та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах євроінтеграції» (Одеса, Україна, 2024).

7. Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертаційних досліджень.

Комісія з біоетичної експертизи при ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» на своєму засіданні 26.11.2024 р., протокол № 6/24, визначила, що експериментальні дослідження, описані в дисертаційній роботі, ґрунтувалися на принципах моральних цінностей людини, не нанесення шкоди тваринам, милосердя та справедливості до них.

8. Оцінка мови і стилю дисертації.

Мова та стиль викладення відповідає критеріям науковості: логічність викладення положень, об'єктивність, послідовність. Структура роботи логічно підпорядковується поставленій меті. Композиція розділів відповідає послідовності конкретних завдань, що успішно вирішуються. Основні теоретичні положення та висновки роботи не є суперечливими, оскільки вони аргументовані й підкріплені доречними прикладами.

9. Відповідність дисертації спеціальності та профілю ради:

Дисертаційна робота Кіт Марини Юріївни на тему «Удосконалення експрес-діагностики африканської чуми свиней за допомогою молекулярно-генетичних методів», подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія за своїми актуальністю, науково-теоретичним рівнем, основними положеннями і результатами, опублікованими у фахових виданнях, новизною постановки 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 р. № 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 КМ № 502 від 19.05.2023. Зміст дисертації відповідає напряму наукового дослідження освітньо-наукової програми Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» «Біологія та біохімія».

12. Рекомендації дисертації до захисту.

За результатами публічної презентації результатів дисертації та їх обговорення на розширеному засіданні відділу хвороб птиці та молекулярної діагностики ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» 29 квітня 2025 року дисертацію Кіт Марини Юріївни рекомендовано до захисту в разовій спеціалізованій вченій раді для здобуття ступеня доктора філософії з галузі 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія.

Головуючий на публічній
презентації:

канд. вет. наук, ст. н. с.,
зав. лабораторії
вірусних хвороб птиці



Олександр РУЛА