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

ПОПОВОЇ Анастасії Олегівни: **«Циркуляція вірусу грипу А та вірусу лихоманки Західного Нілу серед птахів ряду Горобцеподібні (Passeriformes) в Україні, епізоотологічне та епідеміологічне значення»**
на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю
211 – Ветеринарна медицина (21 Ветеринарія),
поданої до захисту у разовій спеціалізованій раді
Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Дикі птахи важливі у сфері охорони здоров'я, адже близько 10 000 видів птахів зустрічається майже у всіх наземних і водних довкіллях, вони переносять нові зоонозні патогени, або як резервуарний господар, або шляхом поширення інфікованих переносників (членистоногих). Крім того, міграція птахів забезпечує механізм встановлення нових ендемічних осередків захворювання на великих відстанях від місця виникнення інфекції вздовж всього маршруту міграції. До найбільш значущих захворювань, можна віднести ті, які є недавно визнані або раніше визнаними хворобами, що з'являються у нових популяціях або швидко розповсюджуються по захворюваності та інфекційності або географічному ареалу.

За останнє десятиліття кількість нових флавівірусів, описаних у всьому світі, значно зросла, причому дикі птахи виступали як основні резервуарні господарі цих вірусів. Вірус лихоманки Західного Нілу — це небезпечна арбовірусна природно-осередкова хвороба до природного циклу якої залучено природний резервуар збудників, яким є дикі птахи та переносники — комарі, кліщі тощо. На сьогодні проблема Західного Нілу стає все більш актуальною з епідеміологічної точки зору. Природні осередки збудника цього захворювання були присутні в Україні достатньо давно в південних та східних регіонах, але зараз у зв'язку зі змінами клімату відбуваються зміни в екології як природних носіїв так і переносників, що значним чином змінює епідеміологічні ризики для людини. За останні декілька років, (Україна не виключення) реєструються збільшення випадків захворювання людей на лихоманку Західного Нілу, у тому числі і летальних. Вірус Західного Нілу є вкрай важливою інфекцією з точки зору як епізоотичного так і епідеміологічного значення. У той же час

актуальної інформації щодо циркуляції лихоманки Західного Нілу, а також інших флавівірусів в природному резервуарі та серед переносників в Україні недостатньо.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано в період 2021–2025 рр. у відділі хвороб птиці та молекулярної діагностики Національного наукового центру «Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини», відповідно до завдання «Розроблення сучасної системи моніторингу, прогнозування, специфічної профілактики та контролю вірус-бактеріальних асоціацій у сільськогосподарської птиці в рамках концепції «Єдиного здоров'я» у зв'язку зі світовою глобалізацією та змінами клімату» (номер державної реєстрації 0121U108373) та «Розроблення сучасної системи прогнозування та контролю зоонозних особливо небезпечних та економічно-значущих вірусних і бактеріальних захворювань сільськогосподарської та дикої птиці в умовах ризиків погіршення епізоотичної ситуації за військової агресії рф в Україні» (номер державної реєстрації 0124U000477). Також частково дослідження виконувалися в рамках проєкту Національного фонду досліджень України № 2021.01/0006 «Вивчення циркуляції зоонотичних вірусів грипу А в природному резервуарі, оцінка їх епідемічних ризиків та небезпеки для здоров'я людини в Україні» за конкурсом «Наука для безпеки і сталого розвитку України».

Наукова новизна результатів проведених досліджень та їх наукова обґрунтованість. Вперше в Україні проведено комплексний епізоотологічний моніторинг 54 видів диких птахів ряду Горобцеподібних під час осінньої, весняної міграцій, періоду гніздування, а також зимівлі щодо циркуляції у них вірусу грипу А та вірусу лихоманки Західного Нілу в 6 регіонах України (Харківська, Полтавська, Київська Одеська, Хмельницька, Львівська областях). За результатами серологічних, молекулярно-генетичних та вірусологічних досліджень встановлено циркуляцію вірусу грипу А серед деяких видів Горобцеподібних в Україні. Вперше в Україні та світі ізольовано вірусу грипу А від чикотнів (Turdus pilaris) з антигенною формулою H7N1. Отримані в Україні дані є цінними науковими даними та доводять розширення спектру видів, які можуть бути потенційними природними резервуарами вірусу грипу А та можуть відігравати певну роль в його поширенні. Також вперше в Україні було проведено серологічний моніторинг циркуляції вірусу лихоманки Західного Нілу в Україні серед одного з головних природних резервуарів — диких птахів ряду Горобцеподібні.

Практичне значення отриманих результатів полягало в тому, що одержана інформація про наявність активної циркуляції зоонозних збудників (грип А, лихоманка Західного Нілу) в природньому резервуарі в України є важливою для системи охорони здоров'я людини в Україні, прогнозування розвитку епідемічної ситуації та розробки стратегії попередження, профілактики та боротьби. Враховуючи той факт, що ізольований від чикотнів вірус грипу з антигенною формулою H7N1 належить до емерджентних та потенційно небезпечних підтипів вірусу грипу А (підтипу H5 та H7), цей ізолят є потенційним кандидатом для розробки нових та вдосконалення існуючих вітчизняних діагностичних тест-систем для серологічної діагностики грипу

птиці. Крім того, матеріали дисертаційної роботи впроваджено в навчальному процесі за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» під час викладання профільних дисциплін у Державному біотехнологічному університеті (м. Харків), Дніпровському державному аграрно-економічному університеті (м. Дніпро), Полтавському державному аграрному університеті (м. Полтава), Одеському державному аграрному університеті (м. Одеса).

Оцінка змісту дисертації, її завершеності та відповідності встановленим вимогам.

Дисертаційну роботу викладено на 182 сторінках друкованого тексту, ілюстровано 22 таблицями та 2 рисунками. Робота складається з розширеної анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів власних досліджень, їхнього аналізу й узагальнення, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури, який налічує 306 найменувань, і додатків.

У розділі 1 «**Огляд літератури**» відображено науковий пошук дисертанта, автор на основі опрацьованих ним джерел літератури виклав науковий матеріал про: загальну характеристику вірусу грипу А; циркуляцію вірусу грипу А в природному резервуарі; лабораторну діагностику вірусу грипу А; загальну характеристику вірусу лихоманки Західного Нілу; циркуляцію вірусу лихоманки Західного Нілу в природному резервуарі; лабораторну діагностику вірусу лихоманки Західного Нілу.

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

Розділ 2 «**Матеріали та методи**». Дисертаційну роботу виконано у період 2021–2025 рр. у відділі вивчення хвороб птиці та молекулярної діагностики Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків.

Під час виконання дослідження використовували наступні методи: епізоотологічний (моніторинг епізоотичної ситуації в світі та в Україні), імунологічні (дослідження екстрактів жовтків яєць на наявність антитіл), серологічні (дослідження сироваток крові методом ІФА, реакцією затримки гемаглютинації (РЗГА) та реакцією гемаглютинації (РГА), вірусологічні (ідентифікація ізолятів, ізоляція збудників), молекулярно-генетичні (ПЛР), статистичні (обробка результатів досліджень).

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 п'ять основних повноцінних підрозділів і його об'єм становить 41 сторінок (від 76 до 116 с.).

У підрозділі 3.1 «Аналіз епізоотичної ситуації щодо вірусу грипу птиці у світі і в Україні протягом 2021–2024 рр», проаналізовано поширення грипу птиці у світі та в Україні зокрема. Встановлено, що Україна залишається у зоні високого ризику поширення вірусу грипу А через географічне розташування на міграційних шляхах птахів. Так, у період 2020–

2021 років зафіксовано 20 спалахів H5N1 та H5N8 у шести областях (Вінницька, Миколаївська, Київська, Донецька, Херсонська, Тернопільська). У 2023 році виявлено 2 випадки грипу птиці (Сумська та Чернівецька області). У 2024 році зареєстровано 7 випадків H5N1 (Волинська, Кіровоградська, Миколаївська, Рівненська, Сумська, Чернівецька області). Прикордонні області (Чернівецька, Сумська, Рівненська) є особливо вразливими, оскільки тут зафіксовано 4 нові випадки вірусу грипу птиці. Одеська область залишається критичною через високу концентрацію мігруючих птахів.

У підрозділі 3.2 «Аналіз епізоотичної ситуації щодо вірусу лихоманки Західного Нілу у світі і в Україні протягом 2021–2024 рр», встановлено, зростання кількості випадків щодо лихоманки Західного Нілу серед людей в Україні, особливо в літній період, це підкреслює необхідність посиленого епідеміологічного нагляду, профілактичних заходів та підвищення обізнаності населення про шляхи передачі та методи захисту від інфекції. Також обґрунтовано вивчення поширення лихоманки Західного Нілу серед горобцеподібних птахів.

У підрозділі 3.3 «Серологічні дослідження диких птахів», висвітлені результати серологічних досліджень сироваток крові та жовтків яєць диких птахів щодо наявності антитіл до вірусу лихоманки Західного Нілу. Було проведено серологічні дослідження 27 видів птахів ряду Горобцеподібні з 5 регіонів України, щодо наявності у досліджуваних зразках крові специфічних антитіл до вірусу лихоманки Західного Нілу. За узагальненими даними встановлено, що від 11,1 % до 100 % птахів мали антитіла до цього збудника.

Також у цьому підрозділі наведені результати серологічних досліджень сироваток крові та жовтків яєць диких птахів щодо наявності антитіл до вірусу грипу А. Так, за результатами серологічних досліджень диких птахів на території України в 4 х різних регіонах, у сироватках крові виявлена наявність антитіл до вірусу грипу А у ІФА (рівень серопревалетності був не високим). Зокрема серопозитивність до вірусу грипу А була виявлена, від виду кропив'янки чорноголової (Хмельницька область); від чорного дрозда (Полтавська область) та від співочого дрозда (Харківська область). Загальний відсоток серопозитивності до наявності антитіл до вірусу грипу А у сироватках крові склав 0,86 %. За результатами серологічних досліджень жовтків яєць диких птахів, що гніздяться на території України, наявності антитіл до вірусу грипу А у ІФА не виявлено

У підрозділі 3.4 «Молекулярно-генетичні дослідження диких птахів», дослідження були спрямовані на виявлення таргетного гену М вірусу грипу А методом ПЛР у реальному часі у досліджуваних пробах біологічного матеріалу від птахів ряду Горобцеподібні. За результатами досліджень проб біологічного матеріалу від диких птахів встановлено, що 9 видів (13 зразків) птахів ряду Горобцеподібні мали геном вірусу грипу.

Також було проведено дослідження на належність позитивних зразків від диких птахів ряду Горобцеподібні до підтипів вірусу грипу H1, H3, H4, H5, H6, H7, H9. За результатами досліджень приналежності позитивних зразків від диких птахів при тестуванні ПЛР у реальному часі до обраних підтипів вірусу грипу А, не виявлено.

У підрозділі 3.5. «Вірусологічні дослідження диких птахів», висвітлені результати вірусологічних досліджень ПЛР позитивних зразків від диких птахів та вірусологічні дослідження архівних зразків вірусу грипу та вивчення біологічних властивостей вірусу грипу птиці.

Під час вірусологічних досліджень архівних зразків біологічного матеріалу (проб фекалій) від диких Горобцеподібних, зібраних в Запорізькій області у 2021 році від чикотня, було ізольовано вірус грипу А. За результатами серологічної ідентифікації встановлено антигенну формулу вірусу грипу — H7N1. Встановлено, що ізолят активно репродукувався у курячих ембріонах та мав високий інфекційний титр — 7,7 lg та летальний титр — 6,74 lg. Гемаглютинаційна активність у РГА становила 1:256–1:1024.

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

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

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 матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць, у тому числі 3 статті у наукових фахових виданнях України та 5 тез у матеріалах вітчизняних і міжнародних конференцій.

Основні результати досліджень доповідались, обговорювались та отримали схвалення на: звітних сесіях вченої ради ННЦ «ІЕКВМ» (2021–2024 рр.); 2022 International Biothreat Reduction Symposium (Київ, 2022 р.); 16th EPIZONE Annual Meeting — Viruses, Vectors and Wildlife (Уппсала, Швеція, 2024 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти наукового забезпечення галузі ветеринарії в контексті контролю інфекційних хвороб тварин» (Харків, 2024 р.); всеукраїнській науково-практичній конференції «Молоді вчені: гіпотези, проекти, дослідження» (Миргород, 2022 р.); онлайн-конференції аспірантів і молодих вчених у сфері Єдиного здоров'я та біотехнології «VetBioConnect» (Харків, 2024 р.); XXII всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених, присвяченій 75-річчю від дня народження доктора ветеринарних наук, професора, члена-кореспондента НААН Ростислава Федорука (Львів, 2024 р.).

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 Попова А. О. поставила перед собою та успішно виконала наступну мету – провести епізоотичний моніторинг та дослідити циркуляцію вірусу грипу А та вірусу лихоманки Західного Нілу серед диких птахів ряду Горобцеподібні (Passeriformes) в Україні, встановити їх роль у підтриманні

природної циркуляції цих патогенів, а також визначити їх епізоотологічне та епідеміологічне значення.

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. Одержані результати наукових досліджень рекомендуються до використання у навчальному процесі підготовки здобувачів вищої освіти за спеціальністю «Ветеринарна медицина» під час викладання курсів «Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин», «Епідеміологія та інфекційні хвороби тварин», «Ветеринарна мікробіологія», «Ветеринарна вірусологія», «Зоонози та концепція «Єдине здоров'я»» та «Ветеринарна імунологія» у закладах вищої освіти України. Після подальших досліджень виділений ізолят можливо використовувати як антиген для тест-системи ІФА або як РНК-зонд для ПЛР.

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 Анастасії Попової вважаю за необхідне висловити деякі зауваження та дискусійні питання:

– Чому Вами з метою вивчення циркуляції серед птахів ряду Горобцеподібні в Україні були обрані саме захворювання на грип та лихоманку Західного Нілу?

– Чи Вами була розрахована (підібрана) реакційна суміш та режими ампліфікації для проведення ПЛР на виявлення таргетного гену М і підтипів геному вірусу грипу? Чи це був комерційний набір? (табл. 2.5)

– Чи проводились ПЛР дослідження або вірусовиділення від серопозитивних на лихоманку Західного Нілу птахів? Якщо ні, то чому?

– З якою метою проводилось додаткове дослідження проб біологічного матеріалу від птахів ряду Горобцеподібні на виявлення гену РВ вірусу грипу типу А?

– Інформацію подану у таблицях 3.9 та 3.10 бажано описати у лише тексті (не несе значимого інформативного навантаження).

– Результати наведені у таблиці 3.15 повністю наведені у тексті, тому не має необхідності у їх дублюванні у таблиці.

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 дисертантка за вибором теми, методичним рівнем, аналізом літературних джерел і результатів досліджень, висновків та практичних рекомендацій проявила себе кваліфікованим, ерудованим науковцем, яка 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 Попової Анастасії Олегівни на тему: «**Циркуляція вірусу грипу А та вірусу лихоманки Західного Нілу серед птахів ряду Горобцеподібні (Passeriformes) в Україні, епізоотологічне та епідеміологічне значення**» 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 Попова Анастасія Олегівна 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 Юлія СТАРОВЄРОВА

«9» червня 2025 року