

ВІДГУК ОПОНЕНТА

професора кафедри ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин
Національного університету біоресурсів і природокористування України,
доктора ветеринарних наук, професора, академіка НААН

УШКАЛОВА Валерія Олександровича

на дисертацію **ПОЛУПАНА Івана Миколайовича** на тему:
«Епізоотологія та лабораторна діагностика сказу тварин»,
подану на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук
за науковою спеціальністю 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія,
епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія»

Актуальність обраної теми. Сказ залишається гострою проблемою ветеринарної та гуманної медицини як для України, так і у всьому світі. Епізоотична ситуація щодо сказу характеризується як стабільно напружена із періодичними спалахами захворюваності.

Стратегія боротьби зі сказом в Україні заснована на запровадженні комплексу заходів, направлених на профілактику та ліквідацію сказу серед диких й домашніх м'ясоїдних тварин – основних резервуарів/джерел цього захворювання, і включає в себе: парентеральну і пероральну імунізацію та епізоотологічний моніторинг. Проте протиепізоотичні заходи не досягають головної мети – ерадикації сказу в Україні.

Тобто, результати боротьби зі сказом в Україні обґрунтовують актуальність представленої роботи. Протиепізоотичні заходи потребують модернізації, вдосконалення відповідно до сучасного рівня наукових знань, міжнародного досвіду боротьби зі сказом, новітнього інструментарію епізоотологічного моніторингу, широкого запровадження стандартних зразків в рутинну лабораторну діагностику сказу, розроблення українських засобів діагностики і профілактики (з метою зниження рівня імпортозалежності) тощо.

Актуальними завданнями залишаються поглиблене вивчення особливостей прояву сказу з використанням інструментів ПС, отримання нових знань щодо біологічних властивостей ізолятів збудника, розроблення засобів і методів, що удосконалюють і доповнюють систему лабораторної діагностики сказу.

У **вступі** здобувач наводить дані щодо зв'язку роботи з науковими програмами, планами, темами науково-дослідних робіт Інституту ветеринарної медицини НААН (номер державної реєстрації 0111U000473, 2011–2015 рр.; 0116U000721, 2016–2020 рр.; 0121U108466, 2021–2023 рр.), Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (номер державної реєстрації 0118U100595, 2019–2028 рр.).

Здобувач визначив **мету дослідження** – епізоотологічна характеристика прояву сказу в Україні та розроблення засобів і методів лабораторної діагностики сказу. Для досягнення мети автор визначив 12 завдань:

– здійснити описово-статистичну та просторово-часову характеристику прояву епізоотії сказу в Україні;

– виконати якісну оцінку ризику поширення сказу серед диких, домашніх і сільськогосподарських тварин за діючої системи контролю сказу тварин в Україні та запропонувати шляхи її удосконалення;

– розробити спосіб імунізації тварин для отримання іперімунної антирабічної сироватки;

– створити дослідний зразок флуоресціюючого антирабічного імуноглобуліну та оцінити його активність та специфічності в РПФ;

– розробити схему гіперімунізації, здійснити отримання, перевірку активності та специфічності антирабічних ФІТЦ-глобулінів на основі Ig Y з перепелиних яєць;

– розробити стандартизовані методичні підходи до створення та оцінки придатності контрольних зразків для виявлення антигену вірусу сказу при організації раундів міжлабораторних порівняльних випробувань;

– провести оцінку придатності різних перещеплюваних культур клітин та розробити методику виділення вірусу сказу в культурі клітин;

– апробувати міжнародні протоколи постановки ПЛР в режимі реального часу, ПЛР в агарозному гелі та гніздового варіанту ПЛР для детекції РНК вірусу сказу;

– провести секвенування та філогенетичний аналіз ізолятів вірусу сказу, виділених від диких і домашніх тварин, людей та кажанів на території України;

– теоретично обґрунтувати та розробити схему лабораторної діагностики сказу;

– розробити Галузевий стандарт антирабічного імуноглобуліну, здійснити його калібрування та порівняльну виробничу характеристику;

– провести серологічний моніторинг антирабічного імунітету серед вакцинованих домашніх м'ясоїдних тварин.

Здобувач визначив **об'єктом дослідження сказ** та **предметом дослідження** – епізоотичну ситуацію, лабораторну діагностику сказу, вуличні ізоляти та референс-штам вірусу сказу, антирабічні імуноглобуліни, реакцію прямої імунофлуоресценції, полімеразно-ланцюгову реакцію, філогенетичний аналіз, культуру клітин, сироватки крові, антирабічну активність сироваток крові.

Дисертант окреслив **методи дослідження**: епізоотологічні (описово-статистичний, просторово-часовий аналіз), вірусологічні (біологічна проба, титрування вірусу сказу на білих мишах, ідентифікація, культивування та титрування вірусу сказу в культурі клітин, реакція прямої імунофлуоресценції), серологічні (FAVN-тест, ELISA, РН на білих мишах), біохімічні (загальний білок), молекулярно-генетичні (ЗТ-ПЛР, ЗТ-ПЛР Real Time, секвенування), статистичні та біостатистичні (біноміальні довірчі інтервали, тест хі-квадрат Пірсона, критерій суми рангів Wilcoxon, статистика Getis-Ord G*, тренд-тест Mann-Kendall) методи досліджень.

Обсяг і структура роботи та її методичний рівень. Основний зміст дисертації викладено на 558 сторінках і включає: анотацію, вступ, огляд літератури, вибір напрямів досліджень, матеріали і методи виконання роботи, результати власних досліджень (складається із 6 підрозділів), аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел, додатки. Робота ілюстрована 54 таблицями та 78 рисунками. Список літератури містить 470 джерел, у тому числі 401 латиницею.

Дисертація оформлена згідно з наказом Міністерства освіти та науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації».

У **вступі** наведено мету і завдання досліджень, об'єкт та предмет дослідження, наукову новизну і практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача, публікації автора.

Розділ 1 «Огляд літератури» складається із 4 підрозділів і 7 пунктів (с. 48–96). Огляд літератури подано автором логічно і послідовно. Зокрема висвітлено сучасні методи дослідження прояву сказу серед тварин, протиепізоотичні антирабічні заходи, детально описано особливості лабораторної діагностики сказу, антирабічного імунітету та способів його оцінки. Отже, огляд літератури викладений на відповідному науковому та методичному рівнях.

Розділ 2 «Вибір напрямів досліджень, матеріали та методи досліджень». Дисертація виконувалася на базі лабораторії нейроінфекцій та «Науково-дослідного центру з питань вивчення та профілактики сказу в Україні» Інституту ветеринарної медицини НААН (2013–2023 рр.) і науково-дослідного вірусологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (2018–2022 рр.). Окремі молекулярно-генетичні дослідження та секвенування виконано в National Veterinary Research Institute (м. Пулави, Польща) за науково-консультативної допомоги Prof. Jan F. Żmudziński, Dr. Hab. Marcin Smreczak та Dr. Anna Orłowska та в Nancy Laboratory for Rabies and Wildlife (ANSES, Франція) за допомоги Emmanuelle Robardet.

Експерименти на тваринах проводили відповідно правил, прийнятих Європейською Конвенцією із захисту хребетних тварин, що використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Відомості ВР, 2010).

Вважаємо за необхідне відзначити ретельність автора щодо викладення цього розділу дисертації. Всі матеріали, які використовувалися у роботі, і методи, які застосовувалися для проведення експериментальних досліджень, детально описані на 51 сторінці.

Основну частину дисертації з 155 по 390 сторінку займає **розділ 3 «Результати експериментальних досліджень»**, в якому послідовно відображено реалізацію поставлених

завдань. Наведено дані щодо аналізу прояву сказу в Україні – описово-статистична характеристика прояву сказу в Україні на початку ХХІ століття та результати дослідження поширення сказу за використання інструментів ГІС в окремих регіонах України (в Чернігівській області в 2011–2016 рр., Волинській, Львівській та Закарпатській областях в 2012–2016 рр.; в Україні протягом 2018–2022 рр.).

У розділі 4 «Теоретично-експериментальне обґрунтування системи контролю сказу в Україні» автором проведено оцінку ризику поширення сказу серед диких, домашніх і сільськогосподарських тварин за діючої системи контролю сказу тварин в Україні; обґрунтовано шляхи удосконалення системи профілактики сказу серед диких м'ясоїдних тварин в Україні; проведено аналіз ефективності заходів боротьби зі сказом тварин в Україні – проведено визначення ефективності різних антирабічних вакцин для пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин в контрольованому експерименті; проведено аналіз ефективності заходів нагляду за епізоотичною ситуацією зі сказу в зоні проведення пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин – результати виявлення рівня споживання вакцин для перорального застосування та визначення ефективності пероральної вакцинації за рівнем антитіл.

У розділі 5 «Імунофлуоресцентна діагностика сказу» автор сконцентрувався на вдосконаленні способу імунофлуоресцентної діагностики сказу. Було зроблено спроби вдосконалити способи одержання антигену для імунізації донорів крові, розроблення методики гіперімунізації тварин для отримання імунних сироваток, отримання дослідного зразку флуоресціюючого антирабічного імуноглобуліну та способу отримання флуоресцентних антирабічних глобулінів на основі Ig Y з перепелиних яєць, проведено порівняльну оцінку хімічного та фізичного способів фіксації мазків-відбитків мозкової для імунофлуоресцентної діагностики сказу та розроблено методику організації та проведення міжлабораторних порівняльних випробувань зі сказу в Україні.

Розділ 6 «Виділення вірусу сказу в культурі клітин» присвячено опису експериментів щодо оцінки придатності різних перещеплюваних культур клітин для виділення вірусу сказу та порівняльній характеристиці методів детекції вірусу сказу.

У розділі 7 «Детекція вірусу сказу молекулярно-генетичними методами» наведено дані щодо лабораторної діагностики сказу методом ЗТ-ПЛР, молекулярно-генетичній характеристиці вірусу сказу та молекулярно-генетичній характеристиці вуличних ізолятів вірусу сказу виділених на території України, зокрема і виділених від домашніх та диких м'ясоїдних тварин та людей. Наведені результати картографування секвенованих зразків та порівняння амінокислотних послідовностей секвенованих зразків з території України і територій сусідніх країн. Внесено пропозиції щодо удосконалення схеми лабораторної діагностики сказу.

Розділ 8 «Оцінка антирабічного імунітету» присвячено розробленню та стандартизації галузевого стандарту антирабічного імуноглобуліну, визначенню виробничих параметрів реакції віруснейтралізації в культурі клітин для виявлення антитіл до вірусу сказу (FAVN-тест). Наведено результати серологічного моніторингу антирабічного імунітету у вакцинованих домашніх м'ясоїдних тварин. Наведено результати оцінки рівня антитіл у сироватках за різних умов зберігання.

У **розділі 9 «Аналіз та узагальнення результатів досліджень»** дисертант аналізує одержані експериментальні дані, узагальнює результатів досліджень та порівнює з даними інших авторів.

За результатами досліджень автором зроблено 14 логічних і обґрунтованих **висновків та 10 практичних рекомендацій**.

Додатки. У цьому розділі наведено перелік опублікованих робіт здобувача за темою дисертації (2 монографії, 24 наукові статті, 3 патенти на корисну модель, 5 методичних рекомендацій, 12 тез наукових доповідей), копії документів: «Перелік зразків патологічного матеріалу, що були визнані позитивними на сказ в РППФ регіональними лабораторіями ДПСС», «Перелік зразків патологічного матеріалу, що були обрані для філогенетичного дослідження», «Результати лабораторних досліджень польових ізолятів вірусу сказу різними методами», «Картки контролю титрів інфекційної активності вірусу сказу референс-штаму CVS-11 та значень \log_{50} позитивної стандартної сироватки МЕБ (відновленої та розведеної до теоретичного значення – 0,5 МО/см³) при постановці FAVN-тест в 2019–2022 рр.», «Доповнення до сфери акредитації ДНДІДВСЕ (Додаток FAVN-тест)», Технологічні регламенти виготовлення засобів діагностики сказу (Додатки 3 1,3 2) тощо.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Обґрунтованість експериментальних даних підтверджується використанням сучасних методів досліджень, достатньою кількістю проведених експериментів. Матеріал, напрями та методи досліджень, використані дисертантом для вирішення поставлених завдань, відповідають меті роботи і дозволяють одержати об'єктивні дані. Результати досліджень опрацьовано статистично, зведено у таблиці, узагальнено та детально опрацьовано.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації та її вірогідність підтверджується: високим методичним рівнем поставлених експериментів, логічністю та послідовністю виконання серій досліджень; достатньою для одержання вірогідних даних кількістю тварин, які були залучені до експерименту; математичною обробкою одержаних результатів, що дало можливість встановити їх вірогідність.

Отже, на основі вищенаведеного можна зробити висновок, що ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і практичних рекомендацій дисертації, які впливають із результатів досліджень, є достатньо високим.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертації виявлено стаціонарно-неблагополучні пункти та встановлено вплив пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин проти сказу на напруженість епізоотичної ситуації, із застосуванням інструментів просторово-часового геоінформаційного аналізу.

Розроблено схему отримання антирабічної гіперімунної сироватки крові тварин, яка полягає в чотирикратному комбінованому введенні кролям внутрішньошкірно в 5 точок по 0,1 см³ і внутрішньом'язово в одну точку 0,5 см³ концентрованого поліетиленгліколем (ПЕГ) культурального антигену вірусу сказу та імуностимулюючого препарату «Фоспреніл» з відбором крові на 63 добу. Новизну підтверджено патентом України на корисну модель «Спосіб одержання антирабічної гіперімунної сироватки крові» (№ 110313 від 10.10.2016 р.).

Запропоновано спосіб виділення вірусу сказу з патологічного матеріалу з використанням культури клітин нейробластоми миші (C-1300, клон N2a), новизну якого підтверджено патентом України на корисну модель «Спосіб виділення польових ізолятів вірусу сказу з патологічного матеріалу» (№ 153299 від 14.06.2023 р.).

Продемонстровано принципову можливість отримання антирабічних Ig Y з яєць та отримано антирабічний Ig Y з яєць перепелів імунізованих антигеном вірусу сказу штам CVS-11, який після концентрування володів віруснейтралізуючою активністю на рівні 81,25 МО/см³ та встановлено специфічну активність ФІТЦ-кон'югованих препаратів Ig Y при люмінесцентній мікроскопії мазків-відбитків позитивного на сказ матеріалу.

Вперше в Україні у результаті філогенетичного аналізу секвенованих зразків, за допомогою пакету електронних програм MEGA 6.06, встановлено належність зразку від кажана з території Харківської області до 5-го генотипу (EBLV-1) першої філогрупи ліссавірусів тварин.

Вперше в Україні проведено секвенування ізолятів вірусу від двох людей, які були в контакті з хворими на сказ тваринами, та визначено приналежність досліджуваних зразків до 1-го генотипу, I-ої філогрупи ліссавірусів тварин. Доведено, що вуличні ізоляти вірусів сказу від людей за своїми генетичними характеристиками походять від ізолятів, які циркулюють в природних умовах серед популяції лисиць в географічній зоні степу і лісостепу Південно-Східної Європи.

Вперше в Україні отримано Галузевий стандартний зразок антирабічного імуноглобуліну з активністю 11,03–11,27 МО/см³, який придатний для визначення напруженості антирабічного імунітету методами *in vivo* та *in vitro*. Новизну розробки підтверджено патентом України на корисну модель «Спосіб одержання Галузевого стандартного зразку антирабічного імуноглобуліну» (№ 118385 від 10.08.2017 р.).

Практичне значення одержаних результатів. Результати досліджень доповнюють і поглиблюють сучасні знання про поширення сказу, можуть бути використані при плануванні та проведенні протиепізоотичних антирабічних заходів та у лабораторній

діагностиці сказу тварин фахівцями-епізоотологами, працівниками діагностичних лабораторій та лікарями ветеринарної медицини.

На запит Держпродспоживслужби України проведено якісну оцінку ризику поширення сказу серед диких, свійських та сільськогосподарських тварин в Україні. Проаналізовано сучасну систему боротьби та профілактики сказу серед тварин, розглянуто відповідні стратегії управління з метою зменшення визначених ризиків та підготовлено ряд ключових рекомендацій.

Проведено оцінку ефективності протиепізоотичних антирабічних заходів в Україні та розроблено методичні рекомендації «Планування, організація та проведення пероральної імунізації м'ясоїдних тварин проти сказу», які розглянуто та схвалено Науково-методичною радою Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів (протокол № 1 від 24 квітня 2018 року).

Розроблено технологічний регламент виготовлення та контролю ветеринарного імунобіологічного препарату «Тест-система для імунофлуоресцентної діагностики сказу» (затверджено Вченою радою Інституту ветеринарної медицини НААН, протокол № 10 від 11.10.2016 р.). Розроблено технологічний регламент виготовлення «Галузевого стандарту антирабічного імуноглобуліну» (Затверджений Вченою радою Інституту ветеринарної медицини НААН, протокол № 13 від 24.10.2016 р.).

Проведена модифікація стандартного методу фіксації мазків-відбитків мозкової тканини для імунофлуоресцентної діагностики сказу дозволяє скоротити час постановки реакції та не потребує використання ацетону, що вимагає спеціальних заходів зберігання, обробки та утилізації.

Розроблено відповідні методичні рекомендації та робочі інструкції, що стало основою для впровадження в лабораторну діагностику сказу в Україні методу полімеразно-ланцюгової реакції та методу виділення вірусу сказу в культурі клітин.

За результатами проведених наукових досліджень здобувачем (у співавторстві) опубліковано монографію «Імунопрофілактика сказу в Україні» до лекційного курсу з дисципліни «Епізоотологія та інфекційні хвороби» (рекомендовано Вченою радою НУБіП України, протокол № 12 від 21.06.2017 р.) та монографію «Лабораторна діагностика сказу» (рекомендовано Вченою радою ДНДІЛДВСЕ, протокол № 2 від 23.06.2021 р.).

Розроблено методичні рекомендації «Система оцінки антирабічного імунітету у домашніх і диких м'ясоїдних тварин» (затверджено Вченою радою ДНДІЛДВСЕ, протокол № 12 від 24.12.2015 р.); «Виявлення РНК вірусу сказу методом ЗТ-ПЛР» (затверджено Вченою радою Інституту ветеринарної медицини НААН, протокол № 10 від 11.11.2016 р.); «Застосування біостатистичних методів аналізу результатів секвенування за молекулярно-генетичних досліджень сказу тварин» (затверджено Вченою радою Інституту ветеринарної медицини НААН, протокол № 10 від 11.11.2016 р.); «Виділення вірусу сказу з патологічного

матеріалу» (затверджено Вченою радою Інституту ветеринарної медицини НААН, протокол № 9 від 02.11.2023 р.).

Запропоновано удосконалену схему лабораторної діагностики сказу з додатковим використанням методу ЗТ-ПЛР та подальшим секвенуванням зразків, що дозволить скоротити час постановки заключного діагнозу та забезпечить достовірність діагностичних досліджень.

Сферу акредитації Випробувального центру ДНДІЛДВСЕ доповнено вірусологічними дослідженнями «Виявлення антигену збудника сказу» відповідно ДСТУ EN ISO/IEC 17043:2014.

Досліджено активність сироваток крові до вірусу сказу протягом тривалого зберігання проб і встановлено, що повторні цикли температурних перепадів (заморожування-відтаювання) критично впливають на титр антирабічних антитіл та можуть негативно впливати на достовірність серологічних досліджень.

Опублікування основних результатів дисертації. Основні положення дисертації викладено у 47 наукових працях, з яких 2 монографії, 3 статті у періодичних виданнях, включених до категорії «А» Переліку наукових фахових видань України, та/або наукових періодичних виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та/або Scopus, 21 стаття у наукових виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України, 3 патенти України на корисні моделі, 5 методичних рекомендації та 13 тез наукових доповідей.

Особистий внесок здобувача у вирішення наукової проблеми. Автором самостійно визначено напрям та створено програму наукових досліджень, встановлено мету і завдання роботи, виконано пошук та аналіз наукової літератури за темою роботи, проведено експериментальні дослідження, здійснено аналіз та узагальнення отриманих матеріалів, формулювання висновків роботи і пропозицій виробництву.

Геоінформаційний аналіз прояву сказу в Україні здобувачем проведено спільно з М. В. Безименним (Інститут ветеринарної медицини НААН). Аналіз протиепізоотичних антирабічних заходів та розроблення рекомендацій з пероральної імунізації м'ясоїдних тварин проти сказу проведено спільно з Ю. О. Гібалуком (Держпродспоживслужба України). Молекулярно-генетичну характеристику ізолятів вірусу сказу з України проведено спільно з співробітниками департаменту вірусології Національного ветеринарного дослідницького інституту Marcin Smreczak, Anna Orłowska (м. Пулави, Польща) та директором Європейської референс-лабораторії зі сказу Emmanuelle Robardet (м. Нансі, Франція).

Одержані наукові результати, що виносяться на захист, є особистим досягненням здобувача.

Обізнаність здобувача з результатами наукових досліджень інших учених за обраною темою дисертації та порівняння цих результатів із результатами наукових досліджень здобувача. Дисертант обізнаний з результатами досліджень українських та закордонних науковців за темою дисертації. Здобувачем проведено обґрунтоване порівняння отриманих в експериментах даних із даними інших науковців.

Відомості щодо біоетичної експертизи дисертаційних досліджень для здобувачів наукових ступенів із медичних, біологічних і ветеринарних наук. Після аналізу доступного матеріалу можна дійти висновку, що всі експериментальні дослідження проводилися з урахуванням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених на Національному конгресі з біоетики (м. Київ, 2001) із дотриманням міжнародних вимог Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1986).

Узагальнення, зауваження і побажання. Оцінюючи позитивно дисертацію Полупана Івана Миколайовича вважаємо за необхідне відмітити наступне.

В тексті зустрічаються невдалі вирази, незначні друкарські помилки тощо.

Питання для обговорення та зауваження:

На с. 43 в «Науковій новизні» перше речення – «...вперше (в Україні) застосовано інструменти геоінформаційного аналізу для просторово-часового аналізу прояву епізоотії сказу в Україні...». Але, три роки тому було захищено дисертацію І. Ф. Маковської. Чи відрізняються результати? Поясніть.

На с. 43 «Вперше в Україні, в результаті філогенетичного аналізу секвенованих зразків, ...встановлено належність зразку від кажана ... до 5-го генотипу (EBLV-1) першої філогрупи ліссавірусів тварин», але не вказано, що це нам дає в плані епізоотології? Поясніть.

Чи затверджено в установленому порядку «Тест-система для імунофлуоресцентної діагностики сказу» та «Галузевий стандарт антирабічного імуноглобуліну»?

С. 158, таблиця 3.1, наведено перелік 17 видів диких тварин і «Інші дикі звірі» у кількості 228 голів. Що це за «інші дикі звірі»? Вважаю що видовий склад необхідно вказати, так як це можливі резервуар і джерела збуднику сказу...

С. 182, останній абзац, «...KDE-аналіз випадків сказу ... підтвердив **теорію нерівномірності** поширення сказу ...». **Питання** – що за теорія, де написана? Як впливала пероральна вакцинація в суміжних Сумській і Полтавській областях на сказ в Чернігівській області?

Підрозділ 3.2. Дослідження поширення сказу в Україні з використання інструментів ГС. **Питання:** як впливають дані, отримані в межах «активного моніторингу» на результати діагностики/виявлення сказу? В який період, зазвичай, проводиться «активний моніторинг»?

Яка кількість проб «в межах активного моніторингу» була позитивна за показником «біомаркера» та виявлення вірусу сказу в реакції імунофлюоресценції? Чи доцільно їх включати до загальної кількості випадків захворювання? На скільки ці результати можуть вводити в оману щодо рівня інфікування? Сезонність?

Підрозділ 4.1. Оцінка ризику поширення сказу серед диких, домашніх і сільсько-господарських тварин за діючої системи контролю сказу тварин в Україні. Автор вказує, с 223, «Протягом збору та аналізу даних був ідентифікований **брак достовірних** даних для проведення об'єктивної оцінки ризиків, а саме щодо щільності диких лисиць, достовірності відібраних проб сироваток та щелеп, даних щодо реальної кількості свійських і безпритульних тварин та інших даних. Також ідентифікований брак достовірних даних щодо кількості собак та котів, недостатності та достовірності відібраних проб сироваток від свійських тварин, відсутності системи контролю антирабічного імунітету у свійських собак і котів, відсутність менеджменту безпритульних собак та котів та інших даних...». **На скільки об'єктивним, на Вашу думку, є результати проведеної роботи при відсутності достовірних даних?**

Підрозділ 5.1. Отримання антигену вірусу сказу. С. 263. При визначенні інфекційної активності штаму Щелково 51К необхідно вказати **рік** закладання на зберігання (активність знизилась на $2,2 \text{ IgMLD}_{50}/\text{cm}^3$), це важлива біотехнологічна характеристика.

С. 272. Останній абзац. Автор пише: «...Для дослідження імунної відповіді на введення ... штаму Щолково-51К використано 10 білих мишей, «...Кров, для дослідження ... антитіл до вірусу сказу, відбирали на 14-, 21- і 27-у добу». Питання – спосіб відбору крові? Скільки проб крові містилося в об'єднаній пробі? Скільки об'єднаних проб досліджували? Кратність?

Рис. 5.8–5.11 (с. 291–294). Представлені фото позитивних і негативних зразків, пофарбованих дослідним і референтним імуноглобуліном. Чому Ви оцінюєте різні розведення 1:16 – референтний імуноглобулін і 1:2 – експериментальний? Обґрунтуйте.

За результатами проведених досліджень розроблено технологічний регламент виготовлення та контролю ветеринарного імунобіологічного препарату «Тест-система для імунофлюоресцентної діагностики сказу». Де впроваджено?

Підрозділ 5.4. Отримання флуоресцентних антирабічних глобулінів на основі Ig Y з перепелиних яєць. Ви відпрацювали (описано в попередньому розділі) спосіб одержання антигену із штаму **Щелково 51К**. А використовуєте абсолютно інші референс-матеріали: Інактивована антирабічна вакцина IndiRab, виробництва Bharat Biotech International Limited (Індія), Імунізуючий антиген – штам G 52 Wistar; інактивований β-пропіолактоном позбавлений тканинного детриту вірус сказу, штам CVS-11. Поясніть?

Незрозуміло, чому автор для оцінки способу фіксації не використовує власне розроблений флуоресцентний діагностикум? Використовуються лише глобулін антирабічний флуоресціюючий «РАБІТЕСТ-РІФ (Біотестлабораторія, Україна), який доцільно було б охарактеризувати в Матеріалах і методах, а також в Огляді літератури.

Висновок. Дисертація Полупана Івана Миколайовича на тему: «Епізоотологія та лабораторна діагностика сказу тварин» оформлена відповідно до вимог наказу Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 року № 40 «Про затвердження вимог про оформлення дисертації», відповідає вимогам Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 року № 1197, є завершеною науково-дослідною роботою, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора ветеринарних наук за науковою спеціальністю 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія».

Опонент

**Професор кафедри ветеринарної епідеміології
та охорони здоров'я тварин
Національного університету біоресурсів
і природокористування України,
доктор ветеринарних наук, професор,
академік НААН**



Валерій УШКАЛОВ

