

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу ПОЛЮХОВИЧА Василя Івановича на тему: «Трансмісивні інвазії собак (діагностика та лікування)», представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 - «Ветеринарна медицина», галузі знань 21 - «Ветеринарія»

Актуальність обраної теми. Трансмісивні інвазії собак — це група захворювань, які передаються кровосисними комахами. Вони включають бабезіоз, ерліхіоз, анаплазмоз, дирофіляріоз та ін. Основними переносниками є кліщі та комарі. Такі інвазії можуть спричиняти різноманітні клінічні прояви: лихоманку, анемію, ураження внутрішніх органів, що потребує своєчасної діагностики та лікування.

В Україні (за даними лабораторних досліджень Центру діагностики тварин ТОВ «Бальд» та ветеринарного центру «Алден-вет», м. Київ) у різних природно-кліматичних зонах поширені такі трансмісивні хвороби собак, як анаплазмоз, бабезіоз, дирофіляріоз, бореліоз. Причини поширення трансмісивних хвороб у регіони, де вони раніше не реєструвалися, до кінця не з'ясовані. Пояснюють їх, насамперед, екологічним чинником.

Так, окремі аспекти згаданої проблеми, породжують науково-практичну зацікавленість і необхідність у розширенні й поглибленні досліджень з вищезгаданого напрямку. Деякі питання цієї проблеми є предметом наукової дискусії і часто трактуються з різних точок зору. Природно, що всі ці питання стали об'єктом проведення здобувачем цілеспрямованих досліджень, їх системного аналізу та сформульованих висновків і пропозицій виробництву.

У зв'язку з цим, наукові дослідження Полюховича Василя Івановича актуальними і спрямовані на вивчення поширення трансмісивних хвороб, а саме дирофіляріозу та бабезіозу собак в західному регіоні України, визначення молекулярно-генетичних особливостей збудників та розробки науково обґрунтованих методів діагностики і лікування.

Аналіз змісту дисертації та її методичний рівень. Загальний обсяг дисертаційної роботи викладено на 188 сторінках комп'ютерного тексту і включає: анотації, вступ, огляд літератури, матеріали та методи виконання роботи, результати власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел і додатків. Робота ілюстрована 13 таблицями та 16 рисунками. Список літератури містить 196 джерел, у тому числі - 188 латиницею.

Після аналізу структури дисертації робимо висновок, що вона містить всі необхідні розділи. Зокрема, у вступі чітко і грамотно описано питання мети і завдань досліджень, об'єкт і предмет досліджень, наукова новизна і практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача, публікації (ст. 24-30). Наголосимо, що рецензована нами робота має чітку конструкцію і продуману

логічну концепцію.

Розділ 1 Огляд літератури включає 5 підрозділів, а саме:

1.1 Біологічна характеристика збудників трансмісивних інвазій собак (ст.31-36);

1.2 Епізоотична ситуація щодо дирофіляріозу собак (ст. 36-40);

1.3 Патогенез та цикл розвитку збудників (ст. 40-43);

1.4 Лабораторна діагностика за трансмісивних інвазій собак (ст. 44-54);

1.5 Лікувальні заходи за трансмісивних інвазій собак (ст. 54-56).

Огляд літератури написаний автором грамотно, логічно і послідовно. Зазначимо, результати експериментів та висновки багатьох дослідників, що вивчали ці питання, ґрунтовно проаналізовані і лаконічно викладені.

З аналізу літератури видно, що на зростаючу загрозу дирофіляріозу та інших трансмісивних хвороб, необхідне подальше дослідження механізмів їх поширення, покращення діагностики та розробка ефективних стратегій профілактики у ветеринарній та медичній практиці.

Саме тому, Полухович Василь Іванович, формулюючи актуальність і новизну роботи, зум розібратися в усіх складнощах згаданої вище проблеми. Необхідно відмітити, що він добре володіє матеріалом, у завданнях виділяє ті питання, які потребують додаткового дослідження і наукового доповнення.

Отже, Огляд літератури викладено здобувачем на достатньому науковому та методичному рівнях. Знання проблеми є важливою підставою того, що структура роботи, методичні підходи, експерименти і їх подальший аналіз, взаємопов'язані та цілком обґрунтовані. Крім того, здобувач опрацював достатню кількість джерел вітчизняної і зарубіжної літератури, серед яких переважають наукові праці останнього десятиріччя.

Розділ 2 Загальна методика та основні методи досліджень. Дисертаційна робота виконана упродовж 2019-2023 рр. на базі кафедри інфекційних та інвазійних хвороб факультету ветеринарної медицини Закладу вищої освіти «Подільський державний університет» (м. Кам'янець-Подільський), на базі ветеринарного центру Ветхаус (м. Вінниця), постановку полімеразної ланцюгової реакції та аналіз ґаплотипів здійснювали спільно з Інститутом біології розвитку та біомедичних наук Варшавського університету (Польща).

Матеріал для аналізу було отримано від собак, які проходили діагностичне обстеження та лікування на базі філій кафедри інфекційних та інвазійних хвороб. Проведені дослідження повністю відповідали етичним нормам, визначеним Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV).

Після аналізу доступного матеріалу констатуємо, що грубого поводження з дослідними тваринами не виявлено і збережено елементи біоетики та дотримано всі вимоги Конвенції Ради Європи щодо захисту тварин, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Європейської комісії щодо поводження з хребетними тваринами. Проект дослідження та процедура відбору зразків були схвалені комісією з питань біоетики факультету ветеринарної медицини та технологій у тваринництві ЗВО «Подільський державний університет».

У даному розділі (ст. 58-71) здобувач, дотримуючись методичної і логічної послідовності, розробив схему проведення експериментальних і клінічних досліджень. Достатньо добре описав основні методики проведення досліджень, які є як сучасними, так і класичними. Це дало можливість здобувачу отримати об'єктивний науковий матеріал. Принагідно підкреслюємо, що у дисертаційній роботі Полуховича Василя Івановича методично правильно вибраний підхід до розв'язання мети і завдань досліджень. Також методологічно вірно проведений комплекс паразитологічних (мікроскопічних), епізоотологічних (визначення екстенсивності інвазії), клінічних (збір анамнезу, клінічний огляд), гематологічних (морфологічних, біохімічних), молекулярно-генетичних (полімеразна ланцюгова реакція, секвенування, молекулярно-філогенетичний аналіз), серологічних (ІХА), методи популяційної генетики, статистичних досліджень, що сприяє глибокому розкриттю основних положень дисертації і свідчить про добре продуману концепцію роботи.

Основну частину дисертації (ст. 72-123) займає **Розділ 3 «Результати власних досліджень»**, в якому послідовно відображена реалізація поставлених завдань. Цей розділ складається з 6 підрозділів:

3.1 Молекулярний скринінг собак на трансмісивні інвазії (ст. 72-95)

3.2 Результати серологічного та мікроскопічного дослідження на дирофіляріоз у собак (ст. 95-97)

3.3 Гематологічні дослідження собак інвазованих *Dirofilaria repens* і *Dirofilaria immitis* (ст. 97-100)

3.4 Рентгенологічні дослідження собак за ураження *Dirofilaria immitis* (ст. 100-106)

3.5 Ксеномоніторингові дослідження комарів за дирофіляріозу (ст. 106-115).

3.6 Оцінка ефективності та безпечності терапевтичних схем лікування за дирофіляріозу у собак (ст. 115-123).

За результатами досліджень здобувач узагальнив та експериментально вирішив наукову проблему щодо трансмісивних інвазій собак, їх діагностики та лікування на території Вінницької, Хмельницької та Чернівецької областей України. Встановив, що середня екстенсивність та інтенсивність зараження трансмісивними збудниками у собак варіювали залежно від регіону. З'ясував особливості перебігу коінвазій у собак. Встановив, що клінічні прояви захворювань значною мірою залежали від виду збудника. Дирофіляріоз проявлявся хронічним кашлем, задишкою, схудненням та швидкою втомлюваністю. Бабезіоз характеризувався лихоманкою, жовтяницею, темною сечею та анемією. У випадках бореліозу спостерігалися млявість, періодична лихоманка, ураження суглобів і кульгавість. Крім того отримав нові дані, які підтверджують видовий статус усіх зразків як *D. repens*, що засвідчує високу специфічність обраних молекулярних маркерів. Встановив наявність чотирьох гаплотипів *D. repens* серед проаналізованих зразків

Встановив, що ДНК *Babesia canis* виявлено у 357 із 1662 досліджених собак (21,5 %), з яких 82 % мали виражену клінічну симптоматику, тоді як 3,8 %

залишалися безсимптомними носіями. Клінічні прояви бабезіозу включали лихоманку (вище 40 °C), апатію, гематурію, іктеричність слизових оболонок, гепатоспленомегалію, тахікардію та тахіпное, тоді як безсимптомні носії становили епізоотологічну загрозу, зумовлюючи необхідність раннього молекулярного скринінгу. Отримав нові дані щодо генетичної структури *B. canis*, зокрема, виявлено наявність паралогів 18S рДНК з подвійними піками в критичних позиціях (609–610 п. о.), що свідчить про генетичну неоднорідність популяції паразита.

Отримав нові дані щодо ефективності комплексного підходу до діагностики дирофіляріозу, який включає поєднання імунохроматографічного аналізу, мікроскопії та ПЛР.

Встановив, що розширена схема лікування з триразовим введенням меларсоміну в комбінації з доксицикліном, глюкокортикоїдами та супутньою терапією була ефективнішою та безпечнішою порівняно зі стандартною.

Розділ 4 Аналіз та узагальнення результатів досліджень викладено на 25 сторінках дисертації. У цьому розділі (ст. 124-148) автор проводить логічно побудований, глибокий аналіз і обговорення одержаних результатів. Розділ викладено професійно, грамотно, що характеризує здобувача як всебічно підготовленого і ерудованого науковця.

Висновки (ст. 149-151) нараховують 9 пунктів. Вони чітко сформульовані та витікають з результатів власних досліджень.

Пропозиції виробництву (ст. 152) включають три пункти. Здобувач пропонує для підвищення точності серологічної діагностики дирофіляріозу провести термічну обробку сироватки крові собак перед проведенням тестування з використанням імунохроматографічних (ІХА) тест-систем. Також для терапії собак за дирофіляріозу рекомендує застосовувати комплексну схему лікування, яка включає триразове введення меларсоміну (2,5 мг/кг на 60-й, 90-й та 91-й дні) у поєднанні з доксицикліном та супутньою підтримуючою терапією.

Список використаних джерел нараховує 196 найменувань, з них 188 латиницею. Застарілих джерел мало, що свідчить про обізнаність здобувача з сучасними науковими досягненнями і твердженнями з напрямків ветеринарної медицини. Використана література органічно поєднується з напрямком досліджень.

Додатки займають 12 сторінок. У цьому розділі здобувач надав копії своїх здобутків, а саме: список опублікованих праць за темою дисертації, акти проведення результатів завершених наукових досліджень.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації не викликає сумніву. Обґрунтованість експериментальних даних підтверджується використанням сучасних паразитологічних, епізоотологічних, клінічних, гематологічних, молекулярно-генетичних, серологічних, статистичних досліджень; достатньою кількістю виконаних експериментів, вірогідність яких підтверджується первинною документацією.

Матеріали та методи досліджень, що використані здобувачем для

вирішення поставлених завдань, відповідають меті роботи і дають можливість одержати обґрунтовані дані. Результати досліджень опрацьовані статистично, зведені у таблиці, узагальнені і детально проаналізовані.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації та її вірогідність підтверджується:

- високим методичним рівнем поставлених експериментів, логічністю та послідовністю виконання серій досліджень;
- адекватністю вибраних методів досліджень поставленій меті й завданням роботи;
- достатньою для одержання вірогідних даних кількістю тварин, що були залучені до експериментів;
- математичною обробкою одержаних результатів, що дало можливість встановити їх вірогідність.

Отже, на основі вищенаведеного, робимо висновок, що ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і практичних рекомендацій дисертації, які витікають з результатів досліджень, є достатньо високим.

Наукова новизна і достовірність одержаних результатів. Дисертантом вперше отримано нові дані щодо поширення та видового складу збудників трансмісивних інвазій серед собак у Вінницькій, Хмельницькій та Чернівецькій областях України. Уперше проведено комплексне дослідження поширеності та діагностики *D. immitis* і *D. repens* серед собак у Вінницькій та Хмельницькій областях із використанням серологічних, мікроскопічних і молекулярно-генетичних методів. Також уперше здійснено молекулярно-генетичну характеристику збудника *D. repens*, що дозволило ідентифікувати чотири унікальні гаплотипи мітохондріальної ДНК (COI, NADH) та два гаплотипи ITS-1 рДНК (GenBanON540883-87, ON540060-64, ON572064, ON572107, ON572053, ON572106, ON572049). Удосконалено методи діагностики дирофіляріозу на основі серологічного та молекулярного аналізу. Крім того проведено порівняльний аналіз гематологічних змін у собак, інвазованих *D. repens* та *D. immitis*. Уперше проаналізовано рентгенологічні зміни у собак із дирофіляріозом та оцінено ефективність двох схем лікування дирофіляріозу у собак.

Сформульовані дисертантом основні наукові положення та висновки базуються на використанні сучасних інформативних методів досліджень і новітньої наукової літератури. Усі теоретичні узагальнення, висновки та рекомендації, сформульовані у дисертації, побудовані на матеріалах експериментальних досліджень та відображають закономірності, що були виявлені шляхом проведеного старанного аналізу власних результатів. Дані дисертаційних досліджень статистично оброблені з обчисленням середнього арифметичного, його похибки та рівня вірогідності з використанням статистичного програмного забезпечення MS Excel 2007. Теоретичні положення та практичні рекомендації достатньо обґрунтовані та вірогідні.

Отже, основні наукові положення, висновки та одержані результати експериментальних досліджень Полуховича В. І. варто вважати достовірними.

Важливість для науки і народного господарства одержаних автором

результатів. Рекомендації щодо їх впровадження. Головне наукове значення роботи полягає в тому, що на основі проведених досліджень запропоновано генетичні маркери для проведення молекулярно-генетичних досліджень на дирофіляріоз і бабезіоз. Вдосконалено і запропоновано метод підготовки зразків крові для ІХА за дирофіляріозу. Розробка та впровадження удосконалених методів діагностики дирофіляріозу, включаючи серологічний та молекулярний аналіз, підвищують точність та специфічність виявлення збудників. Вдосконалено схему лікування за дирофіляріозу.

Дисертація є завершеною науковою роботою, а одержані результати, важливі для фахівців з ветеринарної медицини.

Дисертація оформлена згідно з Вимогами Міністерства освіти і науки України та написана державною мовою.

Опублікування основних результатів дисертації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 8 наукових праць з яких 2 статті в журналах, що індексуються у міжнародних наукометричних баз даних Scopus (Q1) та Web of Science, 3 статті у наукових фахових виданнях України (категорія «Б») та 3 тези доповідей на наукових конференціях.

В опублікованих роботах достатньо повно викладено результати досліджень та основні положення дисертаційної роботи.

Теоретична підготовка дисертанта. Аналіз дисертаційної роботи свідчить, що здобувач теоретично добре підготовлений до виконання наукової роботи.

Особистий внесок здобувача. Здобувач самостійно провів аналіз наукової літератури, сформулював плани наукових досліджень, розробив програми і календарні графіки, методи та схеми проведення дослідів. Брав безпосередню участь у проведенні експериментів, зокрема проводив відбір зразків крові, ізоляцію ДНК, молекулярно-генетичні дослідження (ПЛР, ІХА), клінічні дослідження, випробував препарати у виробничих умовах та визначив їх ефективність. Провів статистичну обробку й узагальнення одержаних результатів, сформулював висновки та пропозиції виробництву.

Ряд виробничих та лабораторних експериментів здобувач провів спільно з науковим консультантом та науковими співробітниками, які є співавторами окремих публікацій, що включені до списку робіт, виконаних за темою дисертації. Молекулярно-генетичні дослідження провів за консультації доктора біологічних наук, професора А. Байєр (Інститут біології розвитку та біомедичних наук Варшавського університету, Польща).

Конкретний особистий внесок по кожній науковій статті, опублікованій здобувачем у співавторстві, задекларований у списку праць дисертації.

Наукова робота Полуховича Василя Івановича «Трансмисивні інвазії собак (діагностика та лікування)» має важливе наукове й практичне значення. Оцінюючи практичну значущість даної роботи вважаємо, що її автор у результаті проведених експериментально-теоретичних досліджень вирішив не лише науково-практичну задачу, але й отримав важливі дані щодо генетичної структури *B. canis*, а також безпечності застосування моксидектин. Встановив,

що розширена схема лікування з триразовим введенням меларсоміну в комбінації з доксицикліном, глюкокортикоїдами та супутньою терапією була ефективнішою та безпечнішою порівняно зі стандартною.

Обізнаність здобувача з результатами наукових досліджень інших учених за обраною темою дисертації та порівняння цих результатів із результатами власних наукових досліджень. Проведений аналіз літератури свідчить, що здобувач достатньо обізнаний з результатами наукових досліджень інших учених за темою дисертації. Він вдало провів порівняння даних, отриманих у власних експериментах з результатами досліджень інших науковців. Ці дані наведені у Розділах 3 і 4 дисертації.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації

Оцінюючи позитивно дисертаційну роботу Полюховича В. І. хотілося б виразити своє бачення окремих положень, наведених в ній та отримати відповіді на запитання, що виникли в процесі рецензування роботи, зокрема:

1. Охарактеризуйте удосконалений спосіб серологічного та мікроскопічного дослідження на дирофіляріоз у собак?

2. Чому саме Ваш вибір був зроблений на застосуванні меларсоміну?

3. У чому перевага запропонованої Вами комплексної схеми лікування тварин за дирофіляріозу?

4. Як саме Ви дослідили безпечність терапевтичних схем лікування тварин за дирофіляріозу?

У дисертації трапляються неprincipові поодинокі хиби на письмі, які зв'язані з комп'ютерним набором, орфографічними неточностями, на яких дозвольте зупинитися:

- дисертант вказує що робота виконувалася в межах науково-дослідних тем, однак не вказано років;

- не можна в одному рядку наводити цифру, а одиниці виміру переносити в наступний рядок;

- є некоректні вислови, наприклад «лікування дирофіляріозу у собак». Правильно писати «лікування собак за дирофіляріозу». Оскільки лікуємо тварину, а не хворобу;

- у переліку умовних позначень, скорочень не має: ІХТ, ІФА;

- у першому розділі дисертаційної роботи бажано було б подати інформацію за бабезіоз;

- у таблиці 3.5, 3.6 бажано було б подати одиниці у першому стовпчику;

- чому при визначенні гематологічних змін у собак інвазованих *D. immitis* досліджували лейкоцити, загальний білок, амінотрансферази, сечовину, альбуміни, еозинофіли, базофіли і ретикулоцити, а у собак інвазованих *D. repens* – ні.

- назви таблиць 3.6 і 3.10 є однакові, однак результати різні;

- автор вказує термін «фізіологічна норма», а правильно писати «Фізіологічні величини»;

- кожний підрозділ третього розділу потрібно завершувати висновком та подати власні джерела літератури, у яких були висвітлені дані результати;

- оскільки мета дисертаційної роботи включала поширення трансмісивних хвороб собак (дирофіляріозу та бабезіозу) то бажано було б також подати схему лікування собак за бабезіозу;

- щодо списку використаних джерел зустрічаються застарілі джерела літератури. Бажано у список літератури також подати власні публікації;

Слід зауважити, що вказані недоліки та дискусійні питання не принижують цінності одержаних результатів або методичного рівня виконаної дисертаційної роботи. Загалом вважаємо, що дисертант, який виконав цю дисертаційну роботу зробив істотний внесок у вирішенні певних задач для ветеринарії.

Висновок. Дисертантом виконані методично обґрунтовані дослідження, викладені у послідовній формі і зроблені аргументовані висновки та практичні пропозиції, що випливають з одержаних результатів.

Вважаю, що дисертаційна робота ПОЛЮХОВИЧ Василя Івановича на тему: «ТРАНСМІСИВНІ ІНВАЗІЇ СОБАК (діагностика та лікування)» оформлена згідно з наказом Міністерства освіти і науки України, від 12 січня 2017 року №40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» та МОН України від 31.05.2019 № 759 зі змінами і доповненнями, є завершеною науково-дослідною роботою, яка за актуальністю обраної теми, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів, рівнем і обсягом виконаних досліджень, повністю відповідає вимогам, що передбачені Порядком присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії (затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44), а її автор заслуговує присудження освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент, доктор ветеринарних наук,
професор, завідувач кафедри гігієни,
санітарії та загальної ветеринарної
профілактики імені Михайла Демчука
Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького



Богдан ГУТИЙ