

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0420U101052

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 30-07-2020

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



## II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Зезекало Вікторія Костянтинівна

2. Zezekalo Viktoriia

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: ні

Шифр наукової спеціальності: 16.00.03

Назва наукової спеціальності: Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 20-07-2020

Спеціальність за освітою: 211-ветеринарна медицина

Місце роботи здобувача: Полтавська державна аграрна академія

Код за ЄДРПОУ: 00493014

Місцезнаходження: вул. Сковороди 1/3, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36003, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

### **III. Відомості про організацію, де відбувся захист**

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** Д 64.359.01

**Повне найменування юридичної особи:** Національний науковий центр "Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини"

**Код за ЄДРПОУ:** 00497087

**Місцезнаходження:** вул. Пушкінська, б. 83, м. Харків, Харківський р-н., Харківська обл., 61023, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Національна академія аграрних наук України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію**

**Повне найменування юридичної особи:** Полтавська державна аграрна академія

**Код за ЄДРПОУ:** 00493014

**Місцезнаходження:** вул. Сковороди 1/3, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36003, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:**

**Коди тематичних рубрик:** 68.41.35, 68.41.41

**Тема дисертації:**

1. Молекулярно-генетична діагностика захворювань тварин, спричинених хламідієподібними організмами
2. Molecular genetic diagnostics of animal diseases caused by Chlamydia-like organisms

**Реферат:**

1. У дисертаційній роботі узагальнено результати експериментальних досліджень та отримано нові дані щодо бактерій порядку Chlamydiales. Розроблено тести на основі ПЛР для індикації та видового диференціювання бактерій *Waddlia chondrophila*, *Parachlamydia acanthamoebae*, *Candidatus Piscichlamydia salmonis*, *Candidatus Clavochlamydia salmonicola*, які є найбільш небезпечними для свійських тварин і промислових видів риб України, а також ПЛР для одночасного виявлення збудників епітеліоцистозу (*Candidatus Piscichlamydia salmonis* та *Candidatus Clavochlamydia salmonicola*), які демонструють високу точність і специфічність (близько 100 %), аналітичну чутливість (98,95–99,95 %), діагностичні ефективність (99,3–99,8 %) і цінність (83,00–96,43 %), і можуть використовуватися для діагностики хламідіозів, спричинених хламідієспорідненими бактеріями. Розробленими методиками вперше в Україні у клінічних зразках від великої рогатої худоби з підозрою на хламідійну інфекцію виявлено ДНК хламідієподібних бактерій *Waddlia chondrophila* (44 %) та *Parachlamydia acanthamoebae* (14,3 %), від пструга струмкового – *Candidatus*

*Piscichlamydia salmonis* (13,8 %) і *Candidatus Clavochlamydia salmonicola* (2,5 %), від свиней з підозрою на хламідійну інфекцію вперше у світі— *Waddlia chondrophila* (28,6 %).

2. The thesis is devoted to chlamydia of farm animals and fish, in the thesis presents the results of the development of diagnostic tools for the identification and species differentiation of pathogens of animal Chlamydia, which caused by Chlamydia-like bacteria, using the PCR method based on 16S rRNA gene. At the initial stage, the most significant species of bacteria of the order Chlamydiales, isolated from mammals and fish and not included in the family Chlamydiaceae, were identified: *Parachlamydia acanthamoebae*, *Waddlia chondrophila*, *Candidatus Clavochlamydia salmonicola*, *Candidatus Piscichlamydia salmonis*. The next stage was bioinformation studies. Of the 119,875 primary sequences belonging to 296 strains of 45 bacterial species of the Chlamydiales order presented in international databases, 2,227 nucleotide sequences of the 16S rRNA, 16S–23S rRNA, RNase P, MOMP genes were subjected to detailed analysis. As a result of gene analysis, the 16S rRNA gene was selected to search for hypervariable regions. The intraspecific alignment of the 16S rRNA gene showed single nucleotide substitutions, however, the level of intraspecific homology was 99%. By interspecific comparison of the 16S rRNA gene of phylogenetically close species of bacteria of the order of Chlamydiales, variable regions were found, on the basis of which the design of species-specific oligonucleotide primers was developed for each species (*Waddlia chondrophila*, *Parachlamydia acanthamoebae*, *Candidatus Clavochlamydia salmonicola*, *Candidatus Piscichlamydia salmonis*). In the process of the primer selection, we used the computer program MEGA 7 and the online service “primer-BLAST”. The primers were designed in such a way that they were able to adapt for real-time PCR. Checking for possible hybridization of the developed primers with the genomes of other organisms, both of conditionally pathogenic organism and pathogens of other diseases, was carried out using the BLAST online service. The third stage was verification for analytical specificity that performed by amplification of the control DNA samples of nine species included in the Chlamydiales order and it showed the absence of PCR products except products of the expected size and only in case of presence of DNA of the corresponding species. As a result of restriction analysis of PCR products using AluI, *TasI* and *Hin1II* endonucleases (Thermo Fisher Scientific, USA), fragments of the expected length were formed, which confirmed the identity of the PCR products. The optimal annealing temperature during amplification using reagents Thermo Fisher Scientific (USA) is a temperature of 60°C. DNA was isolated from clinical material using the “DNA express” reagent, LITECH. The control samples for checking and testing the developed oligonucleotide primers for the indication and species differentiation of Chlamydia-like bacteria were samples of the control DNA of *Parachlamydia acanthamoebae*, *Waddlia chondrophila*, *Chlamydia avium*, *Chlamydia pecorum*, *Chlamydia abortus*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia suis*, *Chlamydia caviae*, *Candidatus Clavochlamydia salmonicola* and *Candidatus Piscichlamydia salmonis* obtained from European reference laboratories. The analytical sensitivity of the developed PCR ranged from 98.95–99.95%, the accuracy and specificity were close to 100%, the diagnostic efficiency was 99.3–99.8%, and the diagnostic value was 83.00–96.43%, due to optimal amplification conditions and the ratio of the reaction mixture in a certain interval of the method, which was  $\geq 0.20$ – $0.02$  ng/ $\mu$ l. Epizootological screening, in the framework of clinical trials, was carried out on biological material taken from cattle and pigs in farms of the Poltava region and brown trout (*Salmo trutta*) samples taken from fisheries in the Lviv region. In total, about 300 samples from cattle, 28 samples from pigs, 80 samples of trout were studied. DNA of Chlamydia-like bacteria *Waddlia chondrophila* (44%) and *Parachlamydia acanthamoebae* (14.3%) were found in clinical samples of cattle. DNA of Chlamydia-like bacteria *Candidatus Piscichlamydia salmonis* (13.8%) and *Candidatus Clavochlamydia salmonicola* (2.5%) were found in samples taken from trout. DNA of Chlamydia-like bacterium *Waddlia chondrophila* (28.6%) was first detected in samples taken from pigs. In the studied material, the prevalence of Chlamydia-related organisms was higher than representatives of Chlamydia genus. The data of experimental and clinical trials indicate the appropriateness of using the developed diagnostic methods for epizootological studies and species differentiation of Chlamydia pathogens.

**Державний реєстраційний номер ДіР:**

**Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:**

**Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:**

**Підсумки дослідження:**

**Публікації:**

**Наукова (науково-технічна) продукція:**

**Соціально-економічна спрямованість:**

**Охоронні документи на ОПВ:**

**Впровадження результатів дисертації:**

**Зв'язок з науковими темами:**

## **VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Передера Сергій Борисович

2. Peredera Sergij Borysovych

**Кваліфікація:** к. вет. н., 16.00.06

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

## **VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів**

**Офіційні опоненти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Недосеков Віталій Володимирович

2. Nedosiekov Vitalii V.

**Кваліфікація:** д. вет. н., 16.00.03

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Ситюк Микола Петрович

2. Sytiuk Mykola P.

**Кваліфікація:** д. вет. н., 16.00.03

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Рецензенти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Обуховська Ольга Валеріївна

2. Obukhovska Olga V.

**Кваліфікація:** д. вет. н., 16.00.03

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Лиманська Ольга Юріївна

2. Lymanska Olga Yu.

**Кваліфікація:** д. б. н., 03.00.20

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Палій Анатолій Павлович

2. Paliy Anatolii P

**Кваліфікація:** д. вет. н., 16.00.03

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

## **VIII. Заключні відомості**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
голови ради**

Стегній Борис Тимофійович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
головуючого на засіданні**

Стегній Борис Тимофійович

**Відповідальний за підготовку  
облікових документів**

**Реєстратор**

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є  
відповідальним за реєстрацію наукової  
діяльності**



Юрченко Т.А.