

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

**Державний обліковий номер:** 0420U100066

**Особливі позначки:** відкрита

**Дата реєстрації:** 08-01-2020

**Статус:** Захищена

**Реквізити наказу МОН / наказу закладу:**



## II. Відомості про здобувача

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Білойван Олександр Володимирович

2. Biloivan Oleksandr

**Кваліфікація:**

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Вид дисертації:** кандидат наук

**Аспірантура/Докторантура:** так

**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:** 24-12-2019

**Спеціальність за освітою:** 211 -ветеринарна медицина

**Місце роботи здобувача:** Національний науковий центр "Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини"

**Код за ЄДРПОУ:** 00497087

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

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Національна академія аграрних наук 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:** Пушкінська вул., 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:** Національний науковий центр "Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини"

**Код за ЄДРПОУ:** 00497087

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

**Форма власності:**

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

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:**

**Коди тематичних рубрик:** 68.41.35

**Тема дисертації:**

1. Філогенетичний аналіз виділених в Україні ізолятів *Bacillus anthracis* та розроблення тест-системи для виявлення генетичного матеріалу збудника сибірки на основі кількісної полімеразної ланцюгової реакції
2. Phylogenetic analysis of Ukrainian *Bacillus anthracis* isolates and development of the test-kit for the detection of Anthrax genome on the basis of quantitative polymerase chain reaction method

**Реферат:**

1. Уперше проведено філогенетичний аналіз ізолятів *B. anthracis*, виділених у різні роки на території України. Виготовлено рекомбінантні позитивні контрольні зразки специфічних хромосомних і плазмідних ДНК-фрагментів збудника сибірки, а саме фрагмента *pagA* плазміди рХО1, фрагмента *capC* плазміди рХО2 та загальнородового фрагмента *gugA*, спільного для роду *Bacillus*. У результаті оптимізації методу полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу доведено специфічність і надійність методики детекції генетичних маркерів *pagA* та *capC*. Крім цього, проведено процедуру валідації, яка дозволила підвищити точність, відтворюваність і чутливість даної методики. Створено діагностичну тест-систему для виявлення ДНК збудника сибірки методом полімеразної ланцюгової реакції «Anthrax-DNA-test», до складу якої увійшли

зазначені позитивні контрольні зразки для виявлення плазмід, а також позитивний контрольний зразок для виявлення хромосомного маркера *dhp61* збудника сибірки. За показниками специфічності, чутливості та відтворюваності вона не поступається методу детекції ДНК збудника сибірки, який рекомендовано керівництвом МЕБ, а також закордонним аналогам.

2. The thesis is devoted to the phylogenetic analysis of Ukrainian *Bacillus anthracis* isolates, as well as to the improvement of methods for the detection of anthrax genome and plasmids via polymerase chain reaction. In order to search for isolates for studies, 11 field expeditions have been conducted to anthrax animal burial sites in Kharkiv, Sumy and Mykolaiv oblasts (regions), where soil samples were taken for further isolation of *B. anthracis* spores. Besides, DNA samples of Ukrainian anthrax isolates obtained in previous years by regional laboratory centers from various sources (from infected people and from environmental samples) were used for phylogenetic analysis. *B. anthracis* isolate was obtained from 50 cm depth at anthrax grave site nearby Koviagy village, Valky rayon (district), Kharkiv oblast (region). For the first time, we carried out genotyping and full-genome sequencing of DNA of some other Ukrainian isolates and vaccine strains, including above-mentioned isolate. Obtained results had shown the presence of heterogenic population of *B. anthracis* in Ukraine, consisting of at least three different canSNP groups of worldwide-dominating A-branch of this pathogen. The above-mentioned soil isolate represents one of these three groups. It is closely related with STI vaccine strain. The other phylogenetic group, namely A.Br.008/009, might be autochthonic. This group is characterized by the occurrence of closely related strains in South-Eastern European countries, which are geographically close to Ukraine. The results of full-genome sequencing of soil isolate from Mykolaiv oblast show the appearance of another, third canSNP group, namely Vollum, which is untypical for Ukraine. This group is widely spread in Asian regions (namely in Pakistan). Sequencing of other isolates from Sumy and Kherson oblasts has shown that they are closely-related to Japanese isolates. Also, we prepared recombinant positive controls for the detection of *pagA*, *pXO1* plasmid marker, *capC*, *pXO2* plasmid marker and *gyrA*, *Bacillus multispecies* gene. Their workability for using at diagnostic veterinary laboratories has been proved via qPCR and sequencing. As a result of qPCR method's optimization, we proved that it is specific and reliable for the detection of *pagA* and *capC* genetic markers. Besides, this validation procedure allowed to improve robustness, repeatability and sensitivity of this method. 'Anthrax-DNA-test', test-kit for the detection of anthrax DNA via polymerase chain reaction was created. It includes above-mentioned recombinant positive controls for the detection of anthrax plasmid markers, as well as positive control for the detection of *B. anthracis dhp61* chromosomal marker. It is not inferior in specificity, sensitivity and repeatability from the method of anthrax detection recommended by OIE, as well as foreign analogues.

**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 ОПІВ:**

**Впровадження результатів дисертації:**

**Зв'язок з науковими темами:**

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

### **Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Стегній Борис Тимофійович
2. Stegnyy Borys T.

**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

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

### **Офіційні опоненти**

#### **Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Наливайко Людмила Іванівна
2. Nalyvaiko Liudmyla I.

**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. 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

**Рецензенти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Палій Анатолій Павлович

2. Palij Anatolij 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

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Обуховська Ольга Валеріївна

2. Obukhovska Olga Valeriivna

**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:**

