

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0824U000934

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 14-02-2024

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Аліфонова Кіра Володимирівна

2. Kira Alifonova

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 211

Назва наукової спеціальності: Ветеринарна медицина

Галузь / галузі знань: ветеринарна медицина

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Ветеринарна медицина

Дата захисту: 14-02-2024

Спеціальність за освітою: Ветеринарна медицина

Місце роботи здобувача: ФОП "Молчанова Є.І."

Код за ЄДРПОУ: 3305213645

Місцезнаходження: Зелена 2, с. Зелений Гай, Дніпровський р-н., 52066, Україна

Форма власності: Приватна/недержавна

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ID 3796

Повне найменування юридичної особи: Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493675

Місцезнаходження: вул. Сергія Єфремова, буд. 25, Дніпро, Дніпровський р-н., 49600, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

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

Повне найменування юридичної особи: Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493675

Місцезнаходження: вул. Сергія Єфремова, буд. 25, Дніпро, Дніпровський р-н., 49600, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 68.41

Тема дисертації:

1. Жуки-шкідники зернових запасів: резервуар та чинник передачі мікобактерій туберкульозу
2. Beetles-pests of grain stocks: a reservoir and a factor of transmission of mycobacteria tuberculosis

Реферат:

1. Наукова робота присвячена встановленню епізоотологічної ролі рисового довгоносика (*Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763), Coleoptera, Curculionidae) як потенційного резервуару *M. bovis* у процесі виникнення та поширення туберкульозу. Вивчено тривалість накопичення всередині організму комахи та виділення дисоціативної та патогенної форм мікобактерій туберкульозу в зовнішнє середовище довгоносиком. Визначено вплив пасажування через організм жука на морфологію та біологічні властивості (культуральні, тинкторіальні, біохімічні, вірулентні) збудника. У даній роботі дослідження проводили із використанням дисоціативних (117-а та 118 пасажі) і вірулентного (пасаж №100) штамів *M. bovis*, які зберігались у музеї кафедри інфекційних хвороб ДДАЕУ та отриманих із них субкультур. При отриманні субкультури визначали оптимальну температуру культивування збудника. Встановили, що досліджувані штами мають стійкі властивості, які зберігаються при пересіві на свіже живильне середовище. Відмічали пришвидшення появи

первинного росту субкультур 100-го пасажу в 2,1 рази, 117-а пасажу в 1,1-1,3 рази, зниження прояву росту субкультури 118-го пасажу в 2,0-2,3 рази порівняно з вихідними культурами. В отриманих субкультурах визначили життєздатність мікобактерій шляхом підрахунку колонієутворюючих одиниць і з'ясували, що вони придатні для проведення наступних етапів експерименту. Встановили здатність рисового довгоносика до механічного перенесення життєздатних мікобактерій на поверхні тіла. Дослідивши період носійства жуками збудника туберкульозу довели здатність до тривалого резервування мікобактерій у організмі комахи. Зокрема, у I серії експерименту при роботі з дисоціативним штамом протягом 50-ти діб виявляли збудник у гомогенізаті жуків та в змивах із поверхні тіла довгоносика з поступовим зниженням кількості мікробних клітин у полі зорі мікроскопа. При посіві гомогенізату інфікованих жуків на живильне середовище, прояв росту дослідних мікобактерій спостерігали лише до 30-ї доби після початку експерименту, що свідчить про втрату життєздатності мікобактерій після більш тривалого перебування в організмі жука. У II серії досліді при інфікуванні рисового довгоносика вірулентним штамом мікобактерій, у мазках і гомогенізаті з жуків виявляли збудник до 30-ї доби включно, а під час мікроскопії змивів із поверхні тіла – до 20-ї доби. Аналогічно до першої серії експерименту при посіві гомогенізату на живильне середовище – прояв росту спостерігали лише в пробірках, що були засіяні на 30-ту добу експерименту. Дослідивши тривалість виділення мікобактерій та контамінацію об'єктів зовнішнього середовища рисовими довгоносиками з'ясували, що при інфікуванні дисоціативними формами *M. bovis* під час мікроскопічного дослідження суспензії з зерна виявляли до 12-ї доби досліді (до третьої пересадки жуків), а на живильному середовищі ріст реестрували протягом 30-ти діб після початку експерименту (тобто до п'ятої пересадки жуків). В експерименті з патогенним штамом у гомогенізаті з жуків мікобактерії виявлені аналогічно до 12-ї доби, а прояв росту на середовищі – до 20-ї доби після інфікування. За морфологією та культуральними властивостями виділений упродовж двох серій експерименту збудник був ідентичним до вихідної культури. На кожному етапі експерименту виділені культури проходили молекулярно-генетичну ідентифікацію з підтвердженням видової належності. Генотипізацію культур проведено з використанням VNTR-методу. Доведено, що довжина фрагментів ампліконів отриманих в результаті ПЛР із праймерами, що направлені на цільові VNTR-локусу є ідентичною зі штамми *M. bovis* в усіх дослідних зразках. Пасажування збудника через організм рисового довгоносика не спричинило зміну геному, які можна ідентифікувати методом VNTR-генотипування, тобто кількість тандемних повторів у варіабельних локусах залишилась без зміни. Досліджуючи біохімічні властивості дослідних культур встановили, що пасажування мікобактерій через рисового довгоносика сприяє збільшенню ферментативної активності. Результати дисертаційної роботи можна використовувати в науково-дослідницькій роботі кафедр та в освітньому процесі для підготовки фахівців зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина», при виділенні мікобактерій туберкульозу в науково-дослідних установах і плануванні заходів діагностики, боротьби та профілактики туберкульозу.

2. The scientific work is devoted to the establishment of the epizootological role of rice weevil (*Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763), Coleoptera, Curculionidae) as a potential reservoir of *M. bovis* in the process of emergence and spread of tuberculosis. The duration of accumulation inside the insect body and the release of dissociative and pathogenic forms of mycobacteria tuberculosis into the environment by the weevil was studied. The effect of passage through the organism of the weevil on the morphology and biological properties (culture, tinctorial, biochemical, virulence) of the pathogen was determined. In the present study, the research was conducted using dissociative (117 and 118 passages) and virulent (passage №100) strains of *M. bovis* stored in the museum of the Department of Infectious Diseases of the State Academy of Environmental Health and the subcultures obtained from them. The optimal temperature of cultivation of the pathogen was determined upon obtaining the subculture. It was found that the studied strains have stable properties that are preserved when inoculated into fresh culture medium. The acceleration of the primary growth of subcultures of the 100th passage by 2.1 times, 117th passage by 1.1-1.3 times, and a decrease in the growth of subculture 118th passage by 2.0-2.3 times compared to the original cultures were noted. The viability of mycobacteria was determined in the obtained subcultures by counting colony-forming units and found that they were suitable for the next stages of the experiment. The ability of the rice weevil to mechanically transfer viable mycobacteria on the body surface was determined. By studying the

period of carriage of the tuberculosis pathogen by the beetles, we proved the ability to store mycobacteria in the insect's body for a long time. In particular, in the first series of the experiment, when working with a dissociative strain for 50 days, the pathogen was detected in the homogenized beetle fluid and in the flushes from the surface of the weevil's body with a gradual decrease in the number of microbial cells in the microscope field of view. When sowing the homogenized homogenate of infected beetles on the nutrient medium, the growth of the experimental mycobacteria was observed only by day 30 after the start of the experiment, indicating a loss of viability of mycobacteria after a longer stay in the beetle's body. In the second series of the experiment, when rice weevil was infected with a virulent strain of mycobacteria, the pathogen was detected in smears and homogenized beetle fluid up to day 30 inclusive, and during microscopy of body surface washings - up to day 20. Similarly to the first series of the experiment, when the homogenized material was inoculated on the culture medium, growth was observed only in the tubes inoculated on the 30th day of the experiment. After studying the duration of mycobacterial isolation and contamination of environmental objects by rice weevils, it was found that during infection with dissociative forms of *M. bovis*, during microscopic examination, grain suspensions were detected by day 12 of the experiment (up to the third transplantation of beetles), and growth on the nutrient medium was recorded within 30 days after the start of the experiment (i.e., up to the fifth transplantation of beetles). In the experiment with the pathogenic strain, mycobacteria were detected in the homogenized beetle homogenate similarly up to day 12, and growth on the medium was detected up to day 20 after infection. In terms of morphology and culture properties, the pathogen isolated during the two series of the experiment was identical to the original culture. At each stage of the experiment, the isolated cultures were subjected to molecular genetic identification with confirmation of species affiliation. Genotyping of the cultures was performed using the VNTR method. It was proved that the length of amplicon fragments obtained as a result of PCR with primers targeting the VNTR locus was identical to the *M. bovis* strains in all the experimental samples. The passage of the pathogen through the rice weevil organism did not cause genome changes that can be identified by VNTR genotyping, i.e., the number of tandem repeats in the variable loci remained unchanged. Investigating the biochemical properties of the experimental cultures, it was found that the passage of mycobacteria through the rice weevil increases enzymatic activity. The results of the dissertation can be used in the research work of the departments and in the educational process for the training of specialists in the specialty 211 "Veterinary Medicine", in the isolation of mycobacteria of tuberculosis .

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Не застосовується

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

1. Аліфонова К. В. (2021). Комахи – чинник передачі мікобактерій туберкульозу (оглядова стаття). Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування, 7, 7-11.
<https://doi.org/10.31890/vttp.2021.07.01> (Здобувач провела дослідження та підготувала статтю до друку).
2. Зажарський, В. В., & Аліфонова, К. В. (2022). Особливості інфікування жуків мікобактеріями та їх вплив на життєздатність збудника. Scientific Progress & Innovations, 2(2), 248-255.
<https://doi.org/10.31210/visnyk2022.02.29> (Здобувач провела дослідження та підготувала статтю до друку).
3. Tkachenko, O., Alifonova, K., Gavrylina, O., & Knight, A. (2021a). Epizootological significance of rice weevil as a *Mycobacterium bovis* reservoir. Scientific Horizons, 24(3), 28-37.
[https://doi.org/10.48077/scihor.24\(3\).2021.28-37](https://doi.org/10.48077/scihor.24(3).2021.28-37) (Здобувач провела дослідження та підготувала статтю до друку). Q4

- 4. Zazharskyi, V., Alifonova, K., Bilan, M., Kozak, N., & Kasianenko, O. (2022). Influence of Sitophilus oryzae on biological properties of Mycobacterium bovis. Scientific Horizons, 25(11), 20-30. [https://doi.org/10.48077/scihor.25\(11\).2022.20-30](https://doi.org/10.48077/scihor.25(11).2022.20-30) (Здобувач брала участь у проведенні досліджень, аналізі отриманих результатів та написанні статті). Q4
- 5. Zazharskyi, V. V., Alifonova, K. V., Brygadyrenko, V. V., Zazharska, N. M., Goncharenko, V. P., Solomon, V. V. (2023). The ability of Sitophilus oryzae (Coleoptera, Curculionidae) to transmit Mycobacterium bovis: Morphology, cultural biochemical properties of the bacteria. Regul. Mech. Biosyst., 2023, 14(3), 511-523. (Здобувач брала участь у проведенні досліджень, аналізі отриманих результатів та написанні статті).
- 6. Аліфонова, К. В. (2020). Жуки – резервуар мікобактерій туберкульозу. Матеріали II міжнародної науково-практичної конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку науки та освіти» Львів, 15-16 вересня 2020 року, С. 5-6
- 7. Аліфонова, К. В. (2021). Роль комах у процесі поширення мікобактерій. Збірник тез доповідей Міжнародної науково-практичної конференції «Проблеми та перспективи розвитку науки, освіти та суспільства в XXI столітті» Полтава, 23 вересня 2021 року, С. 48-49
- 8. Kira Alifonova, & Volodymyr Zazharskyi (2021). Effects of low temperature on the weight of guinea pigs. Book of Abstracts 2nd INTERNATIONAL MULTIDISCIPLINARY CONFERENCE FOR YOUNG RESEARCHERS Sustainable Development Trends and Challenges under COVID-19. Sumy, November 29-30, p. 30-31
- 9. Alifonova K., & Zazharskyi V. (2022). The influence of the rice weevil on the pathogenicity of Mycobacterium bovis. Book of Abstracts SUSTAINABLE DEVELOPMENT IN WARTIME UKRAINE AND THE WORLD. Prague, Czech Republic, November 25, p. 8-9

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації: Впроваджено

Зв'язок з науковими темами: 0110U002413 0121U109321

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Зажарський Володимир Володимирович

2. Volodymyr V. Zazharskyi

Кваліфікація: к. вет. н., доц., 16.00.07

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493675

Місцезнаходження: вул. Сергія Єфремова, буд. 25, Дніпро, Дніпровський р-н., 49600, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Палій Анатолій Павлович
2. Anatolii P. Palii

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

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

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

Код за ЄДРПОУ: 00497087

Місцезнаходження: вул. Пушкінська, буд. 83, Харків, Харківський р-н., 61023, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія аграрних наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Радзиховський Микола Леонідович
2. Mykola L. Radsikhovskii

Кваліфікація: д. вет. н., професор, 16.00.02

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Національний університет біоресурсів і природокористування України

Код за ЄДРПОУ: 00493706

Місцезнаходження: вул. Героїв Оборони, буд. 15, Київ, 03041, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Давиденко Павло Олександрович
2. Pavlo O. Davydenko

Кваліфікація: к. вет. н., доц., 16.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493675

Місцезнаходження: вул. Сергія Єфремова, буд. 25, Дніпро, Дніпровський р-н., 49600, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Лещова Марина Олексіївна

2. Marina O. Letchova

Кваліфікація: к. вет. н., доц., 16.00.02

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493675

Місцезнаходження: вул. Сергія Єфремова, буд. 25, Дніпро, Дніпровський р-н., 49600, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

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

Сосницький Олександр Іванович

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

Сосницький Олександр Іванович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Ткаченко Олександр Сергійович

Реєстратор

УкрІНТЕІ

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



Юрченко Тетяна Анатоліївна