

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0824U002155

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 10-06-2024

Статус: Наказ про видачу диплома



Реквізити наказу МОН / наказу закладу: Наказ Білоцерківського національного аграрного університету № 126/О від 12 липня 2024 р.

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

- Шевченко Максим Віталійович
- Maksim V. Shevchenko

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-7002-1494

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: 18-06-2024

Спеціальність за освітою: Ветеринарна медицина

Місце роботи здобувача: Білоцерківський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493712

Місцезнаходження: пл. Соборна, буд. 8/1, Біла Церква, Білоцерківський р-н., 09100, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ

27.821.023_5445

Повне найменування юридичної особи: Білоцерківський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493712

Місцезнаходження: пл. Соборна, буд. 8/1, Біла Церква, Білоцерківський р-н., 09100, 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: Білоцерківський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493712

Місцезнаходження: пл. Соборна, буд. 8/1, Біла Церква, Білоцерківський р-н., 09100, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 68.41.35, 68.41.53

Тема дисертації:

1. *Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus*: поширеність у тварин, мікробіологічна і молекулярно-генетична характеристика та антибіотикорезистентність
2. *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus aureus*: prevalence in animals, microbiological and molecular genetic characterization and antibiotic resistance

Реферат:

1. Дисертаційна робота Шевченка М.В. присвячена вивченню поширеності та характеристикі мікроорганізмів *Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus* серед собак, котів та корів в Україні. Дослідження охоплювало визначення стійкості цих бактерій до антибіотиків, здатності до утворення біоплівок, а також визначено наявність генів, пов'язаних з факторами патогенності зокрема, продукцію токсинів та адгезією. Результати показали, що *Staph. pseudintermedius* активно колонізує носові порожнини (24,1%) та вушні канали (7,6%) клінічно здорових собак. Цей вид був домінуючим збудником дерматологічних та ранових інфекцій, його виявляли у 23,4% хворих собак та 12,5% котів. Серед усіх виявлених стафілококів від собак *Staph. pseudintermedius* становив переважну більшість – 58%, тоді як у котів його частка сягала 30,8%. *Staph. aureus* зустрічався значно рідше – лише у 5,2% собак та 6,3% котів. У великої рогатої худоби *Staph. aureus* був

одним з основних збудників внутрішньомамарних інфекцій, його виявили у 33,3% випадків маститу. При цьому саме *Staph. aureus* частіше, ніж інші види стафілококів (16,6%), спричиняв клінічну форму захворювання. Для повної характеристики польових ізолятів було досліджено їхні морфологічні та культуральні властивості. Видову ідентифікацію та диференціацію *Staph. pseudintermedius* і *Staph. aureus* проводили з використанням комплексу мікробіологічних тестів, ПЛР з видоспецифічними та родоспецифічними праймерами, секвенування фрагменту гена термонуклеази та високороздільної MALDI-TOF масс-спектрометрії. Важливим аспектом дослідження було вивчення антибіотикорезистентності виділених ізолятів. Мета-аналіз літературних даних щодо стійкості *Staph. pseudintermedius* та *Staph. aureus* від собак і котів в країнах Європи у 2016-2020 роках виявив значну гетерогенність результатів між різними дослідницькими групами. Загалом спостерігався високий рівень резистентності ізолятів *Staph. pseudintermedius* до еритроміцину (52,9%), тетрацикліну (43,8%) та пеніциліну (34,8%). *Staph. aureus* найчастіше проявляв стійкість до пеніциліну (66,9%) та тетрацикліну (55%). Серед польових ізолятів *Staph. pseudintermedius*, виділених від собак і котів з інфекціями в Україні, найбільшу стійкість виявлено до триметоприму з сульфаметоксазолом (36,8%), пеніциліну (18,2%) та еритроміцину (18,2%). Ізоляти *Staph. aureus* від хворих тварин найчастіше були резистентними до пеніциліну (50%). Особливу увагу привертає виявлення метицилінрезистентних штамів – одного ізоляту *Staphylococcus pseudintermedius* від клінічно здорового собаки та 23,3% метицилінрезистентних *Staphylococcus aureus* серед ізолятів, отриманих від корів, хворих на мастит. Паралельно з фенотиповим визначенням стійкості до метициліну було проведено скринінг на молекулярному рівні для виявлення генів *mecA*, наявність яких детермінує резистентність цих штамів до метициліну. Більшість ізолятів *Staph. pseudintermedius* (77,3%) та *Staph. aureus* (83,4%) проявляли різну здатність до утворення біоплівки на абіотичних поверхнях. За допомогою ПЛР у цих бактерій було виявлено гени *icaA* та *icaD*, які відіграють ключову роль у процесі міжклітинної адгезії та формування біоплівки. Додатково було визначено наявність генів, що кодують токсини та фактори колонізації. Усі проаналізовані штами *Staph. pseudintermedius* містили ген *siet*, відповідальний за продукцію потужного ексфоліативного токсину. Крім того, у 90% ізолятів було виявлено ген *lukS*, а у 100% – *lukF*, які кодують два компоненти високоактивного стафілококового лейкоцитоксину. Ці дані свідчать про високий патогенний потенціал *Staph. pseudintermedius* як збудника інфекцій у тварин. Для остаточної верифікації видової належності ізолятів до *Staphylococcus pseudintermedius* було проведено секвенування ПЛР-ампліфікованого фрагменту гена *pus*, що кодує термостабільну нуклеазу. Порівняння отриманих нуклеотидних послідовностей з еталонними геномними послідовностями, наявними в базі даних GenBank, показало їхню високу ідентичність – 99,3% та 99,2% відповідно – до послідовностей виду *Staph. pseudintermedius*. Водночас філогенетичний аналіз продемонстрував відмінність отриманих послідовностей від близькоспоріднених видів групи SIG, таких як *Staph. delphini* та *Staph. intermedius*. Отримані нуклеотидні послідовності зареєстровані в міжнародній базі даних під номерами OR555770 і OR555771. Результати дисертаційного дослідження мають вагомe значення для оцінки сучасного стану поширення *Staphylococcus pseudintermedius* та *Staphylococcus aureus* серед різних видів тварин в Україні, їхніх антибіотикорезистентних профілів та потенційної небезпеки, що становлять резистентні та патогенні штами цих бактерій. Запропоновані діагностичні підходи можуть бути із впроваджені та використовуватись в роботі ветеринарних і медичних діагностичних лабораторій.

2. The dissertation work of M. Shevchenko is devoted to the study of the prevalence and characterization of microorganisms *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus aureus* among dogs, cats and cows in Ukraine. The study included the determination of antibiotic resistance of these bacteria, the ability to form biofilms, and the presence of genes associated with pathogenicity factors, including toxin production and adhesion. The results showed that *Staph. pseudintermedius* actively colonizes the nasal cavities (24.1%) and ear canals (7.6%) of clinically healthy dogs. This species was the dominant pathogen of dermatologic and wound infections, it was detected in 23.4% of sick dogs and 12.5% of cats. Among all the detected staphylococci from dogs, *Staph. pseudintermedius* accounted for the vast majority (58%), while in cats its share reached 30.8%. *Staph. aureus* was much less common – only 5.2% of dogs and 6.3% of cats. In cattle, *Staph. aureus* was one of the main

causative agents of intrauterine infections, it was detected in 33.3% of mastitis cases. At the same time, it was *Staph. aureus* that caused the clinical form of the disease more often than other types of staphylococci (16.6%). For a complete characterization of field isolates, their morphological and cultural properties were studied. Species identification and differentiation of *Staph. pseudintermedius* and *Staph. aureus* were performed using a set of microbiological tests, PCR with species-specific and genus-specific primers, sequencing of a fragment of the thermonuclease gene and high-resolution MALDI-TOF mass spectrometry. An important aspect of the study was the study of antibiotic resistance of the isolates. A meta-analysis of the literature on *Staph. pseudintermedius* and *Staph. aureus* resistance in dogs and cats in Europe in 2016 – 2020 revealed significant heterogeneity of results between different research groups. Overall, a high level of resistance was observed in *Staph. pseudintermedius* isolates to erythromycin (52.9%), tetracycline (43.8%), and penicillin (34.8%). *Staph. aureus* was most often resistant to penicillin (66.9%) and tetracycline (55%). Among the field isolates of *Staph. pseudintermedius* isolated from dogs and cats with infections in Ukraine, the highest resistance was found to trimethoprim with sulfamethoxazole (36.8%), penicillin (18.2%) and erythromycin (18.2%). *Staph. aureus* isolates from sick animals were most often resistant to penicillin (50%). Particular attention is drawn to the detection of methicillin-resistant strains – one isolate of *Staphylococcus pseudintermedius* from a clinically healthy dog and 23.3% of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among isolates obtained from cows with mastitis. In parallel with the phenotypic determination of methicillin resistance, a molecular screening was performed to identify *mecA* genes, the presence of which determines the resistance of these strains to methicillin. The majority of *Staph. pseudintermedius* (77.3%) and *Staph. aureus* (83.4%) isolates showed different abilities to form biofilms on abiotic surfaces. PCR analysis of these bacteria revealed the *icaA* and *icaD* genes, which play a key role in the process of intercellular adhesion and biofilm formation. Additionally, the presence of genes encoding toxins and colonization factors was determined. All analyzed strains of *Staph. pseudintermedius* contained the *set* gene, which is responsible for the production of a potent exfoliative toxin. In addition, 90% of the isolates contained the *lukS* gene and 100% contained the *lukF* gene, which encode two components of the highly active staphylococcal leukotoxin. These data indicate a high pathogenic potential of *Staph. pseudintermedius* as a pathogen of infections in animals. For the final verification of the species affiliation of the isolates to *Staphylococcus pseudintermedius*, the PCR-amplified fragment of the *nuc* gene, which encodes a thermostable nuclease, was sequenced. Comparison of the obtained nucleotide sequences with the reference genomic sequences available in the GenBank database showed their high identity (99.3% and 99.2%, respectively) to the sequences of *Staph. pseudintermedius*. At the same time, phylogenetic analysis showed that the obtained sequences differ from closely related species of the SIG group, such as *Staph. delphini* and *Staph. intermedius*. The obtained nucleotide sequences were registered in the international database under the numbers OR555770 and OR555771. The results of the dissertation research are important for assessing the current state of distribution of *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus aureus* among different animal species in Ukraine, their antibiotic resistance profiles and the potential danger posed by resistant and pathogenic strains of these bacteria. The proposed diagnostic approaches can be implemented and used in the work of veterinary and medical diagnostic laboratories.

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: Впровадження нових технологій та обладнання для якісного медичного обслуговування, лікування, фармацевтики

Підсумки дослідження: Теоретичне узагальнення і вирішення важливої наукової проблеми

Публікації:

- Шевченко, М. В., Савченко, М. О., Ярчук, Б. М., Сахнюк, Н. І., Царенко Т. М. (2021). Коагулазопозитивні стафілококи у собак та їх антимікробна резистентність (систематичний огляд). Науковий вісник

ветеринарної медицини, 1, 104–118. DOI: 10.33245/2310-4902-2021-165-1-104-118

- Шевченко, М. В., Тишківська, Н. В., Андрійчук, А. В., Мартиненко, О.А., Царенко, Т. М. (2022) Внутрішньолабораторна апробація протоколу ПЛР для молекулярно-генетичної ідентифікації бактерій роду *Staphylococcus* spp. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2, 81–91. DOI: 10.33245/2310-4902-2022-173-1-81-91
- Шевченко, М. В., Тарасов, О. А., Андрійчук, А. В., Гончаренко, В. П., Царенко, Т. М. (2023). Оптимізація лабораторних ПЛР-протоколів для точної ідентифікації *S. aureus* та *S. pseudintermedius* у собак. Ветеринарна біотехнологія, 43, 175–185. DOI: 10.31073/vet_biotech43-17
- Шевченко, М. В., Андрійчук, А. В. (2023). Антибіотикорезистентність ізолятів *Staphylococcus* spp. та *Streptococcus* spp., що спричиняють мастит на молочних фермах України. Науковий вісник ветеринарної медицини, 1, 81–88. DOI: 10.33245/2310-4902-2023-180-1-81-88
- Shevchenko M., Tsarenko T. Microbiological and molecular genetic characterization of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius*. *Nauk. visn. vet. med.*, 2023. № 2. PP. 135–144. DOI: 10.33245/2310-4902-2023-184-2-135-144
- Shevchenko, M., Andriichuk, A., Goncharenko, V., Dovhal, O. (2023) Mastitis prevention and control: Integration of microbiological and management approaches. *Scientific Horizons*. 26 (7), 19–33. DOI: 10.48077/scihor7.2023.19
- Shevchenko, M., Andriichuk, A., Bilyk, S., Dovhal, O., Mazur, T., & Tsarenko, T. (2023). Biofilm forming ability of coagulase-positive staphylococci isolated from animals in Ukraine. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(4), 576–580. DOI: 10.15421/022384
- Shevchenko, M., Andriichuk, A., Naumchuk, V., Petruk, I., Bilyk, S., & Tsarenko, T. (2023). Zoonotic *Staphylococcus* spp. among domestic animals in Ukraine: Antibiotic resistance and diagnostic approaches. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(3), 378–385. DOI: 10.15421/10.15421/022356
- Шевченко, М. В. та Царенко Т. М. (2021). Коагулазопозитивні стафілококи за концепцією “Єдине здоров’я”. Біобезпека, захист та благополуччя тварин: тези доповідей Міжнародної науково-практичної конференції. Київ. 129–131
- Шевченко, М. В. Виявлення колонізації собак бактеріями роду *Staphylococcus* spp. методом полімеразної ланцюгової реакції. Сучасні досягнення та перспективи клінічної лабораторної медицини у діагностиці хвороб людини та тварин: матеріали II Науково-практичної міжнародної дистанційної конференції. Харків. 63–65.
- Шевченко, М. В. та Царенко, Т. М. (2022). Оптимізація протоколу визначення *Staphylococcus* spp. методом ПЛР. Ветеринарна медицина: сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та продовольчої безпеки: матеріали Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції. Житомир. 256–258.
- Шевченко, М. В. та Царенко, Т. М. (2022). Ідентифікація коагулазопозитивних стафілококів (CoPS) мікробіологічними методами. Єдине здоров’я – 2022: матеріали Міжнародної наукової конференції. Київ. 304–306.
- Шевченко, М. В., Андрійчук, А. В. та Царенко, Т. М. (2022). Використання ПЛР для виявлення метицилінрезистентних штамів стафілококів. Досягнення та перспективи ветеринарної науки: тези доповідей Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції молодих вчених. Полтава. 113–115.
- Шевченко, М. В., Андрійчук, А. В. та Царенко, Т. М. (2022). Ідентифікація родин *Staphylococcus* spp. групи КПС мікробіологічними методами. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту: матеріали міжнародної науково-практичної конференції. Біла Церква. 48–50.
- Шевченко, М. В., Білик, Б. П. та Царенко, Т. М. (2022). Диференціація *Staph. aureus* та *Staph. pseudintermedius* методом ПЛР. Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини. Житомир. 303–305.

- Шевченко, М. В., Андрійчук, А. В., Білик, Б. П. та Царенко, Т. М. (2022). Бактеріальні збудники нозокоміальні інфекцій в ветеринарній медицині. Біобезпека, захист та благополуччя тварин: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. Київ. 136–139.
- Шевченко, М. В., Савченко, М. О., Андрійчук, А. В., Довгаль, О. В., Білик С. А. та Царенко Т. М. (2023). Контамінація серветок для вимені та її вплив на розповсюдження інфекційних маститів. III Міжнародна науково-практична конференція “Актуальні аспекти розвитку науки і освіти”. Одеса. 152–155.
- Шевченко, М. В., Савченко, М. О., Андрійчук, А. В., Довгаль, О.В., Білик, С. А. та Царенко, Т. М. (2023). Секвенування фрагмента пус гена *S. pseudintermedius*. Міжнародна науково-практична конференція “Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту”. Біла Церква. 75–76.
- Шевченко, М. В., Андрійчук, А. В., Тарасов, О. А., Мазур, Т. Г., Богатко, Н. М., Наумчук, В. С., Петрук, І. П., Савченко, М. О., Царенко, Т. М. (2024). Сучасні підходи до дослідження стафілококів: мікробіологічні та молекулярно-генетичні методи діагностики. Біла Церква. 46 с.

Наукова (науково-технічна) продукція: методи, теорії, гіпотези

Соціально-економічна спрямованість: поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Охоронні документи на ОПВ:

Впровадження результатів дисертації: Впроваджено

Зв'язок з науковими темами: 0121U110290 0121U110291

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Царенко Тарас Михайлович
2. Taras M. Tsarenko

Кваліфікація: к. вет. н., доц., 03.00.13

Ідентифікатор ORCID ID: 000-0003-4373-5958

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Білоцерківський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493712

Місцезнаходження: пл. Соборна, буд. 8/1, Біла Церква, Білоцерківський р-н., 09100, 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. Ушкалов Валерій Олександрович

2. Valerii O. Ushkalov

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

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-5694-632

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:

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: 0000-0003-2674-2494

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:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Гриневиц Наталія Євгеніївна

2. Nataliia E. Hrynevych

Кваліфікація: д. вет. н., професор, 16.00.06

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-7430-9498

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Білоцерківський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493712

Місцезнаходження: пл. Соборна, буд. 8/1, Біла Церква, Білоцерківський р-н., 09100, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Шаганенко Раїса Володимирівна

2. Shahanenko V. Raisa

Кваліфікація: к. вет. н., доц., 16.00.05

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-5848-1367

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Білоцерківський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 00493712

Місцезнаходження: пл. Соборна, буд. 8/1, Біла Церква, Білоцерківський р-н., 09100, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

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

Рубленко Ірина Олександрівна

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

Рубленко Ірина Олександрівна

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Шевченко Максим Віталійович

Реєстратор

УкрІНТЕІ

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



Юрченко Тетяна Анатоліївна