

Анотація (українською мовою)

Конечний Ю.Т. Видовий спектр та біологічні властивості бактерійних та грибкових збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, та протимікробна активність щодо них похідних 4-тіазолідинонів. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина (Галузь знань 22 Охорона здоров'я) – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2021.

Зміст анотації

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення і розв'язання актуальної науково-практичної проблеми охорони здоров'я - визначення структури та поширеності в Україні ІПНМД останніми роками, особливостей видового спектру збудників вказаних хвороб та рівень поширеності серед них антибіотикорезистентності, клініко-мікробіологічна характеристик ІПНМД, в тому числі викликаних рідкісними збудниками ІПНМД, а також пошук, синтез, скринінг нових хімічних сполук з протимікробною та протигрибковою дією з метою впровадження нових прототипів протимікробних лікарських засобів.

Згідно дизайну дослідження проведено аналіз даних ЦГЗ України щодо зареєстрованості випадків ІПНМД в Україні протягом 2009-2020 років. Вперше в Україні було проаналізовано зареєстрованість ІПНМД за останні 12 років, за результатами якої щорічно реєструвалося в середньому $4\,759 \pm 710$ випадків ІПНМД. Проаналізовані матеріали дають підставу стверджувати про значну недооцінку рівня захворюваності на ІПНМД в країні.

За результатами комплексного, динамічного, клінічного та лабораторно-інструментального обстеження 250 хворих ВІТ 4-х ЗОЗ міста Львова з підозрою на ІПНМД та на основі результатів мікробіологічних та епідеміологічних критеріїв відповідний діагноз було підтверджено у 205 пацієнтів. Серед осіб з ІПНМД 46.8% становили чоловіки та 53.2% - жінки. Серед усіх випадків ІПНМД 24.9% становили діти (в т.ч. 8.8% новонароджені), 64.9% - люди віком

18-60 років, люди похилого віку (> 60 років) становили 10.2%. Найчастішими нозологіями були ІДШ (36.6%) та ІСВШ (34.1%). Здебільшого ІПНМД (58.6%) виникали з 5-го до 14-го дня перебування в стаціонарі.

Було забрано 389 матеріалів різних біологічних матеріалів, з яких ізольовано 309 штамів мікроорганізмів, серед яких превалювали (51.5%) Грам-негативні бактерії, видовий спектр яких включав представників 27 різних видів. Найбільше виділено представників роду *Pseudomonas* - 50 ізолятів, що становить 16.2% від загальної кількості збудників. Грам-позитивна мікробіота представлена 15 різними видами збудників, найбільше - представників роду *Staphylococcus* - 52 ізоляти, що становить 16.8% від загальної кількості збудників. Серед грибків було ізольовано 12 різних видів збудників, найбільше представників *Candida non-albicans* - 20 ізолятів, що становить 6.5% від загальної кількості збудників.

Вперше в Україні було ідентифіковано та описано клінічні випадки, спричинені рідкісними збудниками *Raoultella (Klebsiella) terrigena* та *Vibrio metchnikovii*. Проведено порівняння зареєстрованих нами випадків захворювань з описаними клінічними випадками в літературі. Показано, що ізолят *R.terrigena* має плівкоутворювальні властивості, більшою мірою виражені в порівнянні з стандартним штамом *Raoultella terrigena* ATCC 33257, і швидкість формування плівки перевищує швидкість плівкоутворення стафілококами.

Аналізуючи клінічний випадок, спричинений *Vibrio metchnikovii*, слід зазначити, що найімовірнішою причиною інфекції є інтраопераційна мікробна контамінація судинних протезів.

Видову ідентифікацію збудників проведено з допомогою біохімічних тест-систем (MIKRO-LA-TEST ErbaLachema, Чеська Республіка), використання MALDI-TOF (проводилося на кафедрі мікробіології Колегіуму медичного в м. Бидгощ, Польща) та для окремих штамів - 16sRNA-ID. Індекс точності біохімічної ідентифікації культур становив $\geq 95\%$, або $\geq 99\%$ для 87.4% ізолятів (n=270). 50.8% штамів (n=157) мали індекс атиповості (Tin) 0.25-0.49, тобто дані штами можна охарактеризувати як атипові. MALDI ID-score 95.5%

ізолятів (n=295) становив ≥ 2.0 , тобто засвідчив добру видову ідентифікацію, інші ізоляти мали ID score 1.7-1.9, що свідчить про родову ідентифікацію. PCA аналіз грам-негативних паличок роду *Klebsiella* дозволив розділити їх на 4 основні кластери та продемонстрував суттєву схожість ізолятів та разом з RAPD-аналізом дав змогу підтвердити в/лікарняну передачу збудників. За результатами 16S рРНК аналізу проведено порівняння ізолятів *Klebsiella pneumoniae*, що засвідчили спільне походження інфекції. Застосування різних методів ідентифікації встановило, що повне співпадіння результатів зафіксовано для 76.1% штамів (n=235). Найвищу точність ідентифікації показано для 16sRNA-аналізу, проте швидкість – для MALDI-TOF.

Результати антибіотикограми засвідчили, що 62.8% (n=194) ізолятів були MDR, 7.4% (n=23) були EDR, 28.8% (n=89) були not-MDR. 1% (n=3) штамів віднесено до PDR: 2 - *P.putida* та 1 – *P.aeruginosa* 33.8% (n=25) досліджених ентеробактерій продукували ESBL, з іншої вибірки 47 досліджених ізолятів (83.9%) продукували OXA-48, серед яких усі ізоляти були MDR. Переважна більшість штамів грибків (82.9%) були стійкими до флуконазолу, що можна пояснити найчастішим вибором флуконазолу в якості емпіричного лікування грибкової інфекції.

Ізольовано культури *Achromobacter xylosoxidans* (№ LMU-147) та *Serratia marcescens* (№ LMU-48), для яких доведено їхню роль у спричиненні ППНМД. Виділені штами віднесено до IV класу патогенності, проте вони мають здатність до пенетрації у внутрішні органи, більшою мірою виражену для серрації. *Candida utilis* (LMU-127) – малопатогенний штам, що не має інвазивних властивостей.

Для пошуку та дослідження нових хімічних сполук з антибіотичною дією використано 55 нових синтезованих похідних тіазолу. Виявлено виражену протигрибкову дію в сполуки I (похідна 5-амінометиліден-роданін-3-пропіонової кислоти) з мінімальною інгібуючою концентрацією до грибів роду *Candida* 25 $\mu\text{g/mL}$ та селективну протимікробну дію щодо *Escherichia coli* в сполуки III з аналогічним інгібуючим ефектом (MIC=25 $\mu\text{g/mL}$).

Найактивнішою щодо *Staphylococcus aureus* була група 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-сукцинімідів із фрагментом циміналю у С5 положенні.

Для похідної 2-ціано-2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-(о-толіл)ацетамід 4.88 без феніл-єнамінового чи бензиліденового замісника у С5 положенні тіазолідону встановлено найвищу активність щодо полірезистентного клінічного штаму *Pseudomonas aeruginosa*.

На моделі лабораторних тварин було досліджено імунотоксичну/алергенну/гостру токсичну дію «сполуки-лідера» з протимікробною дією. Встановлено відсутність імунотоксичного та алергенного впливів, проте наявний помірний протизапальний ефект. На тлі зростання абсолютної кількості Т-лімфоцитів CD3 на 21.46% зафіксовано незначне зниження кількісного рівня В-лімфоцитів CD22 (на 1.98%). Активація супресорної ланки зумовила деяке зниження імунорегуляторного індекса (показник недостовірний).

Вплив досліджуваної речовини на рівень імуноглобулінів та інтерлейкінів лабораторних тварин засвідчив достовірне зменшення IgA на 21.4% ($p < 0.05$) та збільшення IgG на 21.2%. Було відзначено зростання активності фагоцитарної системи за показником зростання фагоцитарного числа і поглинальних властивостей нейтрофілів. Вибірковість такої біологічної активності може бути корисною при лікуванні деяких імунопатологічних станів.

Виявлені ефекти, які супроводжують протигрибкову активність, вказують на перспективність подальшого дослідження «лікоподібної молекули» з політаргетною дією.

Приведений в дисертаційній роботі аналіз поширення ПНМД, їхньої реєстрації, стану специфічної діагностики, порівняння сучасних методів ідентифікації мікробних ізолятів з клінічного матеріалу вказує на необхідність підвищення рівня проведення мікробіологічних досліджень, впровадження стандартизованої системи реєстрації та дослідження внутрішньолікарняних інфекцій з потенційно небажаними наслідками для здоров'я населення.

За результатами дисертаційної роботи і дослідження біологічних властивостей ізолятів відповідні штами були задепоновані в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України.

На основі проведених досліджень було оформлено 2 патенти на корисну модель. Дослідження методом молекулярного докінгу показали, що «сполука-лідер» Les 6431 продемонструвала достатньо сильне зв'язування з обраними білковими мішенями порівняно з еталонним інгібітором N21 та ципрофлоксацином.

Ключові слова

Інфекції, пов'язані з наданням медичної допомоги (ІПНМД), нозокоміальні інфекції, антимікробна резистентність, антибіотикорезистентність, девайсасоційовані збудники, протимікробна дія, протигрибкова дія, 4-тіазолідинони, тіазоли, клітинний імунітет, імунотропна дія, морські свинки, MALDI, рідкісні збудники.

Публікації.

За матеріалами дисертації опубліковано 10 статей, в тому числі 8 статей індексовані у журналах Web of Science та/або Scopus, 1 стаття в українському фаховому журналі (категорія «Б»), 1 стаття в не фаховому виданні.

Результати роботи були представлені на 17 конференціях, і тому числі у формі усної доповіді на 3-х міжнародних конференціях за межами України та 1 конференції в Україні.

За результатами роботи опубліковано 2 патенти на корисну модель та 3 свідоцтва про первісне депонування штаму мікроорганізму.

АНОТАЦІЯ (АНГЛІЙСЬКОЮ МОВОЮ) / Abstract in English

Yulian Konechnyi Species spectrum and biological properties of bacterial and fungal causative agents of health-care-associated infections and study of antimicrobial activity against them using 4-thiazolidinone derivatives. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Ph.D. in the specialty 222 Medicine (Area of knowledge 22 Health care). - Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2021.

Thesis summary

The thesis presents a theoretical generalization and solution of the current scientific and practical problem of health care, as determination of the structure and distribution of Healthcare-Associated Infections (HAIs) in Ukraine in recent years, features of the species spectrum of pathogens, and the spreading of antibiotic resistance, clinical and microbiological characteristics of HAIs, including those caused by rare pathogens of HAIs, as well as a search, synthesis, screening of new chemical compounds with antimicrobial and antifungal activity in order to introduce new prototypes of antimicrobial drugs.

According to the study design, and analysis of the data of the CDC of Ukraine on the registration of HAIs cases in Ukraine during 2009-2020 was conducted. As a result, for the first time in Ukraine, the registration of HAIs for the last 12 years was analyzed; according to the results, an average of $4,759 \pm 710$ cases of HAIs have been registered annually. The analyzed materials give grounds to claim a significant underestimation of the incidence of HAIs in the country.

According to the results of a comprehensive, dynamic, clinical, and laboratory-instrumental examination of 250 patients of 4 local hospitals` ICU departments, and based on microbiological and epidemiological criteria, the corresponding diagnosis was confirmed in 205 patients. Among persons with HAIs, 46.8% were men, and 53.2% were women. Among all cases of HAIs, 24.9% were children (including 8.8% newborns), 64.9% - people aged 18-60 years, older adults (> 60 years) were 10.2%. The most common nosologies were respiratory tract infections (36.6%) and urinary

tract infections (34.1%). Most HAIs (58.6%) occurred from the 5th to the 14th day of hospital stay.

Three hundred eighty-nine biomaterials were taken, from which 309 strains of microorganisms were isolated, among which Gram-negative bacteria prevailed (51.5%), the species spectrum of which included representatives of 27 different species. Representatives of the genus *Pseudomonas* were the most isolated - 50 isolates, 16.2% of the total number of pathogens. Gram-positive microbiota is represented by 15 different species of pathogens, the most - members of the genus *Staphylococcus* - 52 isolates, which is 16.8% of the total number of pathogens. Among the fungi, 12 different species of pathogens were isolated, most of them *Candida non-albicans* - 20 isolates, which is 6.5% of the total number of pathogens.

For the first time in Ukraine, clinical cases caused by rare pathogens *Raoultella (Klebsiella) terrigena* and *Vibrio metchnikovii* have been identified and described. Our reported cases were compared with the clinical cases described in the literature. It was shown that the isolate of *R. terrigena* has film-forming properties, more pronounced than the standard strain *Raoultella terrigena* ATCC 33257, and the rate of film formation exceeds the rate of film formation by staphylococci.

Analyzing the clinical case caused by *Vibrio metchnikovii*, it should be noted that the most likely cause of infection is intraoperative microbial contamination of vascular prostheses.

Species identification of pathogens was performed using biochemical test systems (MIKRO-LA-TEST ErbaLachema, Czech Republic), using MALDI-TOF (conducted at the Department of Microbiology of the College of Medicine in Bydgoszcz, Poland) and for individual strains - 16sRNA-ID. The Identification score (index) of biochemical identification of cultures was $\geq 95\%$, or $\geq 99\%$ for 87.4% of isolates (n=270). 50.8% of strains (n=157) had an atypicality index (T_{in}) of 0.25-0.49, i.e., these strains can be characterized as atypical. MALDI ID-score 95.5% of isolates (n=295) was ≥ 2.0 , ie showed good species identification, other isolates had ID score 1.7-1.9, which indicates generic identification. PCA analysis of Gram-negative rods of the genus *Klebsiella* allowed to divide them into 4 main clusters and

showed significant similarity of isolates and, together with RAPD analysis, allowed to confirm the in-hospital transmission of pathogens. According to the results of 16S rRNA analysis, comparisons of *Klebsiella pneumoniae* isolates were performed, which testified to the common origin of the infection. Different identification methods established that a complete coincidence of results were recorded for 76.1% of strains (n=235). The highest identification accuracy is shown for 16sRNA analysis, but the speed is for MALDI-TOF.

The results of the antibiotic sensitivity showed that 62.8% (n=194) of isolates were MDR, 7.4% (n=23) were EDR, 28.8% (n=89) were not-MDR. 1% (n=3) strains were attributed to PDR: 2 - *P.putida* and 1 - *P.aeruginosa*. 33.8% (n=25) of the studied enterobacteria produced ESBL from another group of 47 studied isolates (83.9%) produced OXA-48, among which all isolates were MDR. The vast majority of fungal strains (82.9%) were resistant to fluconazole, which the most common choice of this drug can explain as empirical treatment of fungal infection.

Cultures of *Achromobacter xylosoxidans* (№ LMU-147) and *Serratia marcescens* (№ LMU-48) were isolated, for which their role in causing HAIs was proved. The isolated strains are classified as class IV pathogenicity, based on UA classification (US CDC classification - Biosafety level 1), but they can penetrate internal organs, more pronounced for serration. *Candida utilis* (LMU-127) is a low pathogenic strain that does not have invasive properties.

Fifty-five new synthesized thiazole derivatives were used to search for and study new chemical compounds with antibiotic activity. There was a pronounced antifungal effect in compounds I (5-aminomethylidene-rhodanine-3-propionic acid derivative) with a minimum inhibitory concentration against fungi of the genus *Candida* 25 µg/mL and a selective antimicrobial effect against *Escherichia coli* in compound III with a similar effect (MIC=25 µg/mL). The most active against *Staphylococcus aureus* group was 2-(5-ylidene-4-oxo-2-thioxo-thiazolidin-3-yl)-succinimides with a terminal fragment in the C5 position.

For the 2-cyano-2-[5-(ethoxymethylene)-4-oxo-3-phenyl-thiazolidin-2-ylidene]-N-(o-tolyl) acetamide 4.88 derivative without phenyl-enamine or

benzylidene substituent at the C5 position of the thiazolidone the highest activity against the multidrug-resistant clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa* was found.

A laboratory animal model studied the immunotoxic/allergenic/acute toxic effect of the "leader compound" with antimicrobial activity. No immunotoxic and allergenic effects were found, but there is a moderate anti-inflammatory effect. Against the background of an increase in the absolute number of CD3 T-lymphocytes by 21.46%, a slight decrease in the quantitative level of CD22 B-lymphocytes (by 1.98%) was recorded. Activation of the suppressor link caused some decrease in the immunoregulatory index (indicator is unreliable).

The effect of the test substance on the level of immunoglobulins and interleukins of laboratory animals showed a significant decrease in IgA by 21.4% ($p < 0.05$) and an increase in IgG by 21.2%. Thus, there was an increase in the activity of the phagocytic system in terms of the growth of the phagocytic number and absorption properties of neutrophils. The selectivity of such biological activity may be useful in the treatment of some immunopathological conditions.

The identified effects accompanying antifungal activity indicate the prospects for further study of the "drug-like molecule" with polytargetative action.

The analysis of the HAIs prevalence, their registration, the state of specific diagnostics, comparison of modern methods of identification of microbial isolates from clinical material indicates the need to increase the level of microbiological research, implementation of a standardized registration system, and research of nosocomial infections with potentially adverse health effects.

According to the thesis results and research of isolates' biological properties, the corresponding strains were deposited in the Depository of the Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Based on the research, 2 utility model patents were issued. In addition, molecular docking studies have shown that the "leader compound" Les 6431 has shown good binding to selected protein targets compared to the reference N21 inhibitor and ciprofloxacin.

Keywords

Healthcare-Associated Infections (HAIs), nosocomial infections, antimicrobial resistance, antibiotic resistance, device-associated pathogens, antimicrobial activity, antifungal activity, 4-thiazolidinones, thiazoles, cellular immunity, immunotropic action, guinea pigs, MALDI, rare pathogens.

Publications.

According to the thesis materials, 10 articles were published, including 8 articles indexed in the journals Web of Science and/or Scopus, 1 article in the Ukrainian professional journal (category "B"), 1 article in a non-professional journal.

The work results were presented at 17 conferences, including in the form of an oral report at 3 international conferences outside Ukraine and 1 conference in Ukraine.

Based on the work results, 2 utility model patents and 3 certificates of initial deposition of the microorganism strain were published.

АНОТАЦІЯ (ПОЛЬСЬКОЮ МОВОЮ) / Abstrakt (w języku polskim)

Konechnyi Yu.T. Widmo gatunkowe i właściwości biologiczne patogeny bakteryjne i grzybicze, związane z zapewnieniem opieki medycznej, i aktywność przeciwbakteryjna w stosunku do nich pochodne 4-tiazolidynonów. - Kwalifikacyjne prace badawcze na prawach rękopisu.

Dysertacja o stopień Doktor Filozofii w specjalności 222 Medycyna (Obszar Wiedzy 22 Zdrowie). - Narodowy Uniwersytet Medyczny im. Danyła Halickiego we Lwowie, Ministerstwo Zdrowia Ukrainy, Lwów, 2021 r.

Treść adnotacji

W dysertacji przedstawiono teoretyczne uogólnienie i rozwiązanie aktualnego problemu naukowego i praktycznego opieki zdrowotnej - określenie struktury i rozpowszechnienia IZZOM (infekcje związane z zapewnieniem opieki medycznej) na Ukrainie w ostatnich latach, cechy spektrum gatunkowego patogenów oraz występowanie antybiotykooporności, kliniczne i mikrobiologiczne cechy IZZOM, w tym wywoływane przez rzadkie patogeny IZZOM, a także poszukiwanie, synteza, screening nowych związków chemicznych o działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybiczym w celu wprowadzenia nowych prototypów leków przeciwbakteryjnych.

Zgodnie z projektem, przeanalizowano dane Centrum Zdrowia Publicznego Ukrainy w sprawie rejestracji przypadków IZZOM na Ukrainie w latach 2009-2020. Po raz pierwszy na Ukrainie przeanalizowano rejestrację IZZOM w ciągu ostatnich 12 lat, zgodnie z wynikami których rejestrowano średnio 4759 ± 710 przypadków IPNMD rocznie. Analizowane materiały dają podstawy do stwierdzenia znacznego niedoszacowania zachorowalności na IZZOM w kraju.

Zgodnie z wynikami kompleksowego, dynamicznego, klinicznego i laboratoryjno-instrumentalnego badania 250 pacjentów oddziałów intensywnej terapii 4 lwowskich zakładów opieki zdrowotnej z podejrzeniem IZZOM oraz na podstawie wyników kryteriów mikrobiologicznych i epidemiologicznych rozpoznano potwierdzono u 205 pacjentów. Wśród osób z IZZOM, 46,8% stanowili mężczyźni, a 53,2% kobiety. Wśród wszystkich przypadków IZZOM 24,9%

stanowiły dzieci (w tym 8,8% noworodki), 64,9% – osoby w wieku 18-60 lat, osoby starsze (>60 lat) stanowiły 10,2%. Najczęstszymi nozologiami były infekcje dróg oddechowych (36,6%) i infekcje dróg moczowych (34,1%). Większość IZZOM (58,6%) wystąpiła od 5 do 14 dnia hospitalizacji.

Pobrano 389 różnych materiałów biologicznych, z których wyizolowano 309 szczepów mikroorganizmów. Wśród nich przeważały bakterie Gram-ujemne (51,5%), których spektrum gatunkowe obejmowało przedstawicieli 27 różnych gatunków. Najwięcej było przedstawicieli rodzaju *Pseudomonas* - 50 izolatów, co stanowi 16,2% ogólnej liczby patogenów. Mikrobiota Gram-dodatnia jest reprezentowana przez 15 różnych gatunków patogenów, najwięcej - członków rodzaju *Staphylococcus* - 52 izolaty, co stanowi 16,8% ogólnej liczby patogenów. Wśród grzybów wyizolowano 12 różnych gatunków patogenów, większość z nich to *Candida non-albicans* - 20 izolatów, co stanowi 6,5% ogólnej liczby patogenów.

Po raz pierwszy na Ukrainie zidentyfikowano i opisano przypadki kliniczne wywołane przez rzadkie patogeny *Raoultella (Klebsiella) terrigena* i *Vibrio metchnikovii*. Porównaliśmy zarejestrowane przez nas przypadki chorób z opisanymi w literaturze naukowej przypadkami klinicznymi. Wykazaliśmy, że izolat *R.terrigena* ma właściwości błonotwórcze, wyraźniejsze w porównaniu ze standardowym szczepem *Routella terrigena* ATCC33257, a szybkość tworzenia błony przewyższa szybkość tworzenia błony przez gronkowce.

Analizując przypadek kliniczny wywołany przez *Vibrio metchnikovii*, należy zauważyć, że najbardziej prawdopodobną przyczyną infekcji jest śródoperacyjne skażenie mikrobiologiczne protez naczyniowych.

Identyfikację gatunkową patogenów przeprowadzono za pomocą biochemicznych systemów testowych (MIKRO-LA-TEST ErbaLachema, Czechy), z wykorzystaniem metody MALDI-TOF w Zakładzie Mikrobiologii Akademii Medycznej w Bydgoszczy oraz dla poszczególnych szczepów – 16sRNA-ID. Wskaźnik dokładności biochemicznej identyfikacji kultur wyniósł $\geq 95\%$ lub $\geq 99\%$ dla 87,4% izolatów (n=270). 50,8% szczepów (n = 157) miało wskaźnik nietypowości (Tin) 0,25-0,49, czyli szczepy te można scharakteryzować jako

nietypowe. Wynik MALDI ID 95,5% izolatów (n = 295) był $\geq 2,0$, tj. wykazywał dobrą identyfikację gatunkową, inne izolaty miały wynik ID 1,7-1,9, co wskazuje na identyfikację generyczną. Analiza PCA pałeczek Gram-ujemnych z rodzaju *Klebsiella* pozwoliła podzielić je na 4 główne klastry i wykazała znaczne podobieństwo izolatów, a wraz z analizą RAPD pozwoliła na potwierdzenie przenoszenia szpitalnego patogenów. Zgodnie z wynikami analizy 16S rRNA przeprowadzono porównania izolatów *Klebsiella pneumoniae*, które świadczyły o wspólnym pochodzeniu zakażenia. Zastosowanie różnych metod identyfikacji wykazało, że całkowita zbieżność wyników została odnotowana dla 76,1% szczepów (n = 235). Najwyższa dokładność identyfikacji jest pokazana dla analizy 16sRNA, ale najszybsza analiza wykazuje się MALDI-TOF.

Wyniki antybiotylogramu wykazały, że 62,8% (n = 194) izolatów to MDR, 7,4% (n = 23) to EDR, 28,8% (n = 89) to not-MDR. 1% (n = 3) szczepy zostały przypisane do PDR: 2 - *P.putida* i 1 - *P.aeruginosa* 33,8% (n = 25) badanych enterobakterii wytworzyło ESBL, z innej próbki 47 badanych izolatów (83,9%) wytworzyło OXA-48, wśród których wszystkie izolaty były MDR. Zdecydowana większość szczepów grzybów (82,9%) była oporna na flukonazol, co można wyjaśnić najczęstszym wyborem flukonazolu jako empirycznego leczenia infekcji grzybiczych.

Wyizolowano kultury *Achromobacter xylosoxidans* (nr LMU-147) i *Serratia marcescens* (nr LMU-48), dla których udowodniono ich rolę w wywoływaniu IZZOM. Wyizolowane szczepy zaliczane są do IV klasy patogeniczności, ale posiadają zdolność do penetracji narządów wewnętrznych, bardziej wyraźne w przypadku *Serratia marcescens*. *Candida utilis* (LMU-127) to szczep o niskiej patogenności, który nie ma właściwości inwazyjnych.

Do poszukiwania i badania nowych związków chemicznych o działaniu antybiotycznym wykorzystano 55 nowych zsyntetyzowanych pochodnych tiazolu. Stwierdzono wyraźny efekt przeciugrzybiczy w związku I (pochodna kwasu 5-aminometylidenorodanino-3-propionowego) przy minimalnym stężeniu hamującym 25 $\mu\text{g/mL}$ na grzyby z rodzaju *Candida* oraz selektywne działanie przeciwbakteryjne

na *Escherichia coli* w związkach III o podobnym działaniu hamującym (MIC = 25 µg/mL). Najaktywniejsza wobec *Staphylococcus aureus* była grupa 2-(5-ylideno-4-okso-2-tioksotiazolidyn-3-yl)-sukcynoimidów z fragmentem ciminalum w pozycji C5.

Dla pochodnej 2-cyano-2-[5-(etoksymetyleno)-4-okso-3-fenylotiazolidyn-2-ylideno]-N-(o-tolilo)acetamidu 4.88 bez podstawnika fenylloenaminy lub benzylidenu na C5 pozycji tiazolidonu wykazano najwyższą aktywność przeciwko wielolekoopornemu klinicznemu szczepowi *Pseudomonas aeruginosa*.

Toksyczność immunotoksyczną/alergiczną/ostrą "związków wiodących" o działaniu przeciwbakteryjnym badano na laboratoryjnym modelu zwierzęcym. Nie stwierdzono działania immunotoksycznego i alergizującego, ale zaobserwowano umiarkowane działanie przeciwzapalne. Na tle wzrostu bezwzględnej liczby limfocytów T CD3 o 21,46% odnotowano nieznaczny spadek ilościowego poziomu limfocytów B CD22 (o 1,98%). Aktywacja łącznika supresorowego spowodowała pewien spadek wskaźnika immunoregulacyjnego (wartość nie jest wiarygodna).

Wpływ badanej substancji na poziom immunoglobulin i interleukin zwierząt laboratoryjnych wykazał znaczny spadek IgA o 21,4% ($p < 0,05$) oraz wzrost IgG o 21,2%. Nastąpił wzrost aktywności układu fagocytarnego w zakresie wzrostu liczby fagocytarnej oraz właściwości absorpcyjne neutrofilii. Selektowność takiej aktywności biologicznej może być użyteczna w leczeniu niektórych stanów immunopatologicznych.

Zidentyfikowane efekty towarzyszące działaniu przeciwgrzybiczemu wskazują na perspektywy dalszych badań nad „molekułą lekopodobną” o działaniu wielocelowym.

Analiza rozprzestrzeniania się IZZOM, podana w pracy, ich rejestracja, stan specyficznej diagnostyki, porównanie nowoczesnych metod identyfikacji izolatów drobnoustrojów z materiału klinicznego wskazuje na potrzebę podniesienia poziomu badań mikrobiologicznych, wprowadzenie standaryzowanego systemu rejestracji oraz badanie zakażeń szpitalnych o potencjalnie niekorzystnych skutkach zdrowotnych.

Zgodnie z wynikami tej pracy i badania właściwości biologicznych izolatów, odpowiednie szczepy zostały zdeponowane w Depozycie Instytutu Mikrobiologii i Wirusologii Narodowej Akademii Nauk Ukrainy.

Na podstawie przeprowadzonych badań wydano 2 patenty na wzory użytkowe. Badania dokowania molekularnego wykazały, że związek wiodący Les 6431 wykazuje dobre wiązanie z wybranymi docelowymi białkami w porównaniu z wzorcowym inhibitorem N21 i ciprofloksacyną.

Słowa kluczowe:

Zakażenia związane z opieką medyczną (IZZOM), zakażenia szpitalne, antybakteryjny opór, odporność na antybiotyki, patogeny związane z urządzeniem, działanie antybakteryjne, działanie przeciwgrzybicze, 4-tiazolidynony, tiazole, odporność komórkowa, działanie immunotropowe, świnki morskie, MALDI, rzadkie patogeny.

Publikacje

Na podstawie materiałów pracy opublikowano 10 artykułów, w tym 8 artykułów indeksowanych w czasopismach Web of Science i/lub Scopus, 1 artykuł w ukraińskim czasopiśmie fachowym (kategoria „B”), 1 artykuł w publikacji nieprofesjonalnej.

Wyniki prac zostały zaprezentowane na 17 konferencjach, w tym w formie ustnej na 3 konferencjach międzynarodowych poza Ukrainą i 1 na Ukrainie.

Na podstawie wyników pracy opublikowano 2 patenty na wzór użytkowy oraz 3 świadectwa wstępnej depozycji szczepu drobnoustroju.

Список публікацій здобувача за темою дисертації / List of publications

Статті / Articles

1. **Konechnyi Y**, Panas M, Tymchuk I, Havur O, Borysiuk O, Hubytska I, Zhurakhivska L, Konechna R, Korniychuk O. Epidemiological and microbiological aspects of healthcare-associated infections in Ukraine during the 2009-2019 period. *Przegl Epidemiol.* 2021;75(1):86-95. doi: 10.32394/pe.75.09. PMID: 34338474. (**Scopus**) *(Здобувачу належить ідея, проведення аналізу науково-фахової літератури, опрацювання та узагальнення отриманих статистичних даних, формулювання основних висновків роботи та написання основного тексту рукопису).*
2. **Konechnyi Y**, Khorkavyi Y, Ivanchuk K, Kobza I, Sękowska A, Korniychuk O. *Vibrio metschnikovii*: Current state of knowledge and discussion of recently identified clinical case. *Clin Case Rep.* 2021;00:1–10. <https://doi.org/10.1002/ccr3.3999> PMID: 33936672 (**Web of Science**) *(Здобувачу належить проведення аналізу науково-фахової літератури, написання огляду літератури, частково опис клінічного випадку та написання мікробіологічної частини тексту рукопису).*
3. Sękowska A, **Konechnyi Y**, Gospodarek-Komkowska E. *Klebsiella pneumoniae* infection in a liver transplant patient: A case report and review of the literature. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2021 Jul 24. (**Scopus**) *(Здобувачу належить проведення та опис 16sRNA ідентифікації).*
4. **Konechnyi Y**, Hrushka O, Pryzyhley H, Konechna R, Lozynskyi A, Korniychuk O, Lesyk R. Cell Immunity of Laboratory Animals Under the Influence of 5-Indolylmethylene Rhodanine-3-Carboxylic/Sulphonic Acid Derivative. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*,(1 (29), 76–81. doi: 10.15587/2519-4852.2021. 224328. 2021 Feb 28. (**Scopus**) *(Здобувач організував та провів експеримент, проаналізував та описав отримані результати, написав частину основного тексту рукопису).*
5. **Konechnyi YT**, Lozynskyi AV, Horishny VY, Konechna RT, Vynnytska RB, Korniychuk OP, Lesyk RB. Synthesis of indoline-thiazolidinone hybrids with

- antibacterial and antifungal activities. *Biopolymers and Cell*. 2020;36(5):381-91. doi: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A3A> (**Scopus**) *(Здобувачу належить проведення, аналіз та опис мікробіологічної частини експерименту)*.
6. Holota S, Lozynskiy A, **Konechniy Y**, Shepeta Y, Lesyk R. 5-[4-(tert-Butyl)cyclohexylidene]-2-thioxothiazolidin-4-one. *Molbank*. 2021 Dec;2021(4):M1281. (**Scopus**) *(Здобувачу належить проведення, аналіз та опис мікробіологічної частини експерименту)*.
7. Lekhniuk N, Fesenko U, Pidhirnyi Y, Sękowska A, Korniyuchuk O, **Konechniy Y**. *Raoultella terrigena*: Current state of knowledge, after two recently identified clinical cases in Eastern Europe. *Clinical Case Reports*. 2021 May;9(5).<https://doi.org/10.1002/ccr3.4089> PMID: 34026135 (**Web of Science**) *(Здобувачу належить проведення аналізу науково-фахової літератури, написання огляду літератури, частково опис клінічного випадку та написання мікробіологічної частини тексту рукопису)*.
8. Lozynskiy AV, Derkach HO, Zasadko VV, **Konechniy YT**, Finiuk NS, Len YT, Kutsyk RV, Regeda MS, Lesyk RB. Antimicrobial and cytotoxic activities of thiazolo [4, 5-b] pyridine derivatives. *Biopolymers and Cell*. 2021 Mar 1;37(2):153-64. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A53> (**Scopus**) *(Здобувачу належить проведення, аналіз та опис мікробіологічної частини експерименту)*.
9. **Конечний Ю**, Скуратівський Ю, Тимчук І, Підгірний Я, Корнійчук О. Видовий профіль мікробних чинників нозокоміальних інфекцій. *Праці наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки*. 2019(55,№ 1):56-64. <https://doi.org/10.25040/ntsh2019.01.05> (**фахове видання, в процесі індексації у Scopus**) *(Здобувачу належить ідея, проведення аналізу науково-фахової літератури, проведення клінічної та мікробіологічної частин, опрацювання та узагальнення отриманих даних, написання основного тексту рукопису)*.
10. **Конечний ЮТ**, Панас МА, Тимчук ІВ, Корнійчук ОП. Клініко-мікробіологічна характеристика інфекцій пов'язаних з наданням медичної допомоги в Україні. *Випуск 21*:39. *(Здобувачу належить ідея, проведення*

аналізу науково-фахової літератури, опрацювання та узагальнення отриманих статистичних даних, формулювання основних висновків роботи та написання основного тексту рукопису).

Тези доповідей / Conference abstracts

1. BTRP Ukraine 2021 International Biothreat Reduction Symposium Ukraine 2021 # 598. Prevalence and the Structure of Healthcare-associated Infections in Lviv Konechnyi Yu., Lozynska N., Tymchuk I., Korniychuk O. https://swmprogramua.com/wp-content/uploads/2021/09/IBTRS-2021_Abstract-Book_final-version-for-web-page-and-distribution.pdf (постерна доповідь)
2. Y. Konechnyi, O. Korniychuk, Epidemiological and Microbiological Profile of Healthcare-associated infections in Ukraine, World Microbe Forum Jun 20, 2021 – Jun 24, 2021 (постерна доповідь)
3. Y. Konechnyi, A. Lozynskyi, R. Lesyk, Antimicrobial and Antifungal activity of 5-indolylmethylene rhodanine-3-carboxylic/sulphonic acid derivative, World Microbe Forum Jun 20, 2021 – Jun 24, 2021 (постерна доповідь)
4. First verified clinical case of Raoultella terrigena nosocomial infection in eastern europe (case report) Konechnyi Yu., Hrab P., Lechniuk N., Korniychuk O. FEMS Online Conference on Microbiology 28 – 31 October 2020 in association with the Serbian Society of Microbiology p.132. Participant – author with presentation. (усна доповідь)
5. Hospital-acquired infections in Ukraine, Yulian Konechnyi, Andrij Albokrinov, Olena Korniychuk, 6th World Congress and Expo on Applied Microbiology, 8th Edition of International Conference on Antibiotics, Antimicrobials & Resistance, 12th International Conference on Allergy & Immunology, October 21-22 Rome, Italy, volume 5, P.18 (усна доповідь)
6. Microbiological profile of nosocomial infections in some intensive care units Konechnyi Yu., Shykula S. Tutors: Korniychuk O., Shykula R., 19th International Congress of Young medical Scientists, May 30th-June 1 st 2019, Poznan, Poland, p.177. (усна доповідь)

7. Мікробіологічна характеристика нозокоміальних інфекцій у м.Львові. Мікробіологічні читання пам'яті професора Юрія Леонідовича Волянського: матеріали науково-практичної конференції (12 лютого 2020 року, Харків). – Х.: ФОП Бровін О.В., 2020. – 142с. (ст118) (усна доповідь)
8. Мікробіологічний профіль грамнегативних бактерій, що спричиняють нозокоміальні інфекції в деяких відділеннях інтенсивної терапії у Львові *Четвертий щорічний регіональний науковий симпозиум в рамках концепції "Єдине здоров'я" за підтримки ПЗБЗ в Україні* Київ, Ukraine / 20-24 May 2019 (секція Антибіотикорезистентність на Інфекційний Контроль) Конечний Ю., Тимчук І., Панас М., Корнійчук О. ст 309, # 425 (постерна доповідь)
9. *Staphylococcus lentus*, як новий патоген у клінічній Мікробіології *Четвертий щорічний регіональний науковий симпозиум в рамках концепції "Єдине здоров'я" за підтримки ПЗБЗ в Україні* Київ, Ukraine / 20-24 May 2019 (секція Антибіотикорезистентність та Інфекційний Контроль) Тимчук І., Панас М., Конечний Ю. ст306, # 380 (постерна доповідь)
10. Case of *Serratia marcescens* detection in sealed quaternary ammonium compound-based disinfectant, Lekhniuk N, Babko A, Korniychuk O, Konechnyi Y. Youth and modern problems of microbiology and virology National Academy of Sciences of Ukraine Danylo Zabolotny Institute of microbiology and virology, conference materials iii young scientists conference, 9-11 November 2021 Kyiv, Ukraine <http://www.imv.kiev.ua/index.php/en/publications/confmaterials>
11. Проблема резистентності позагоспітальних ізолятів стафілококів до хіміотерапевтичних антимікробних засобів, Шикула Р.Г., Корнійчук О.П., Конечний Ю.Т., Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (Харків 24-26 червня 2019 року) «Актуальні питання сучасної мікробіології та імунології», Харків ХНМУ 2019, с. 95-96
12. Чутливість внутрішньолікарняних полірезистентних стафілококів до дії бактеріофагів, І.В. Тимчук, М.А. Панас, Ю.Т. Конечний, Т.М. Руминська, А.Р. Гураль, Імунологія та алергологія, наука і практика, додаток №1, 1'2019. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Перший

- національний форум імунологів, алергологів, мікробіологів, паразитологів», 16-17 травня 2019, м.Харків с.126-127.
13. The searching of novel antimicrobial agents among indole-thiazolidone conjugates, A. Lozynski, Yu. Konechnyi, O. Korniychuk, R. Lesyk. 10th RECOOP Annual Project Review Meeting Haston City Hotel Wroclaw, October 11-12, 2019. p 79.
 14. Різноманіття актиноміцетів ризосфери *deschampsia antarctica* e.desv. (антарктика) Та їхня антибіотична активність проти мультирезистентних Штамів хвороботворних мікроорганізмів Скворцова М., Тістечок С., Федоренко В., Тимчук І., Конечний Ю., Громико О. Молодь і поступ біології: збірник тез доповідей хві міжнародної наукової конференції студентів і Аспірантів, присвяченої 75 річниці створення біологічного факультету львівського національного університету Ім. І. Франка та 90 річниці від дня народження проф. М.п. деркача (м. Львів, 27–29 квітня 2020 р.). – Львів, 2020. – 222 с . (ст84-85)
 15. Шидула Соломія, Конечний Юліан, Тістечок Степан, Громико Олександр, Дослідження антимікотичної активності актиноміцетів щодо музейних та клінічних ізолятів *Candida albicans*, XXII Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, Тернопіль, 2018, С.294-295. <https://repository.tdmu.edu.ua/bitstream/handle/123456789/10974/%d0%97%d0%91%d0%86%d0%a0%d0%9d%d0%98%d0%9a.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 16. Роксолана Григорівна Шидула, Олена Петрівна Корнійчук, Юліан Тарасович Конечний, Дослідження резистентності позагоспітальних ізолятів стафілококів, Довкілля і здоров'я, 27-28 квітня 2017, ст 184, <https://conference.tdmu.edu.ua/index.php/DZ/2017-DZ/paper/viewfile/1694/149>
 17. Tymchuk IV, Panas MA, Konechnyi YT, Korniychuk OP, Danyleichenko VV. Pseudomonadaceae as vancomycin resistance gene reservoir in patients with cystic fibrosis. Publishing House “Baltija Publishing”. 2020 Oct 29. DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-588-81-5-2.40>

Патенти / Patents

- 1. Патент на корисну модель.** Ю.Т. Конечний, О.П. Корнійчук, Р.Т. Конечна, А.В. Лозинський, Р.Б. Лесик. Корисна модель “3-[5-(1*H*-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-пропіонова кислота, що проявляє протигрибкову дію” Дата публікації 2020/2/10, номер патенту 140203, номер заявки С07D 277/08 (2006.01) А61Р 31/10 (2006.01)
- 2. Патент на корисну модель.** Ю.Т. Конечний, О.П. Корнійчук, І.В. Тимчук, Р.Т. Конечна, А.В. Лозинський, Р.Б. Лесик. Корисна модель «2-[5-(1*H*-індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-етансульфонова кислота, що проявляє протигрибкову дію» Дата публікації 25.06.2020, номер патенту 142763, номер заявки С07D 277/08 (2006.01) А61Р 31/10 (2006.01)

Свідоцтва про депонування штамів мікроорганізмів/

Certificates of deposition of strains of microorganisms

1. Свідоцтво про первісне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України. **Конечний Ю.Т., Корнійчук О.П., Тимчук І.В., Панас М.А., Alisja Sekowska.** Задепонований штам мікроорганізму: *Candida utilis* LMU-127, IMB Y-5115 від 21.12.2020.
2. Свідоцтво про первісне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України. **Конечний Ю.Т., Корнійчук О.П., Тимчук І.В., Панас М.А., Alisja Sekowska.** Задепонований штам мікроорганізму: *Serratia marcescens* LMU-48, IMB B-7923 від 21.12.2020.
3. Свідоцтво про первісне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України. **Конечний Ю.Т., Корнійчук О.П., Тимчук І.В., Панас М.А., Alisja Sekowska.** Задепонований штам мікроорганізму: *Achromobacter xylosoxidans* LMU-147, IMB B-7924 від 21.12.2020.

Міжнародна мобільність в межах якої виконувалася робота / International mobility within which the work was performed

1. FEMS grantee and internship at Department of microbiology of Nicolaus Copernicus University in Toruń, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Bydgoszcz, Poland as a part of awarded Research and Training Grants from Federation of European Microbiological Societies, from 28 of September to 31 of October 2020. Grant title “Species spectrum and biological properties of the main causative agents of health-care-associated infections, including rarely found pathogens (*Raoultella terrigena* etc)” (FEMS-GO-2020-195).

Гранти та НДР в межах яких виконувалася робота / Grants and research within which the work was performed

1. НДР (ініціативно-пошукова тематика) «Оптимізація діагностично-лікувальної тактики при госпітальній та позагоспітальній інфекції в ургентній абдомінальній хірургії» 2020-2024 рр (0120U002138)
2. НДР (ініціативно-пошукова тематика) «Обґрунтування моніторингу діагностики, стратегія профілактики та стандартизація методів лікування кровотеч в шлунково-кишковий тракт» 2015-2019рр (0115U000042).
3. Прикладне дослідження, що фінансується за рахунок коштів державного бюджету на 2018-2020 рр «Скринінг вторинних метаболітів стрептоміцетів активних щодо полірезистентних збудників нозокоміальних інфекцій» (КПКВК 2301020 Прикладна 0118U000111).
4. Колективний грант від Національного фонду досліджень України, конкурс НФДУ “Підтримка досліджень провідних та молодих учених” за темою «Тіазолідинони з поліфармакологічними властивостями: молекулярний дизайн, синтез та механізми дії протиракових, протизапальних та протимікробних засобів» № 39.02.2020 від 23.10.2020р. (Application ID: 2020.02/0035) during 2020-2022. Function – responsible for microbiological part.
5. Фундаментальне дослідження, що фінансується за рахунок коштів державного бюджету на 2021-2023 рр «Молекулярний дизайн, синтез та вивчення біологічної активності тіазолідинонів та їх похідних як потенційних лікарських засобів» (КПКВК 2301020).