Міністерство Охорони Здоров'я України
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Конечний Юліан Тарасович

УДК 616.9-022.36:614.256]-036.22-085.281/.282(477)

ДИСЕРТАЦІЯ

Видовий спектр та біологічні властивості бактерійних та грибкових збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги та протимікробна активність щодо них похідних 4-тіазолідинонів

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»
Спеціальність 222 «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня: доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Ю.Т. Конечний

Науковий керівник: Корнійчук Олена Петрівна, проф., д.мед.н., завідувач кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Львів – 2021

ЗМІСТ

Анотація (українською мовою) ..... - 6 -

Анотація (англійською мовою) / Abstract in English ..... - 11 -

Анотація (польською мовою) / Abstrakt (w języku polskim) ..... - 16 -

Список публікацій здобувача за темою дисертації / List of publications - 21 -

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ..... - 29 -

ВСТУП ..... - 30 -

РОЗДІЛ 1 ІНФЕКЦІЇ, ПОВ'ЯЗАНІ З НАДАННЯМ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ - СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ (аналітичний огляд літератури)- 40 -

1.1. Загальні положення про ІПНМД, коротка історія вивчення, поширеність... - 40 -

1.2. Етіологічні чинники ІПНМД ..... - 43 -

1.3. Основні клінічні типи ІПНМД, фактори ризику та методи профілактики ... - 46 -

1.4. ІПНМД в Україні: стан проблеми, критерії діагностики ..... - 57 -

1.5. Розробка нових «лікоподібних молекул», як спосіб боротьби з ІПНМД та АМР - 58 -

РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ..... - 62 -

1.1. Дизайн експериментального етапу дослідження ..... - 62 -

2.1.1. Загальна схема дослідження ..... - 64 -

2.1.2. Клінічна характеристика випадків ІПНМД ..... - 66 -

2.1.3. Виділення чистої культури. ..... - 67 -

2.1.4. Біохімічна ідентифікація. ..... - 68 -

2.1.5. Молекулярно-генетичні методи (16sRNA-ID, RAPD-PCR, PCR). ..... - 70 -

2.1.6. Мас-спектрометрична ідентифікація (MALDI_TOF, PCA, MSP)..... - 71 -

2.1.7. Визначення ступеня антимікробної резистентності..... - 72 -

2.1.8. Виявлення продукції β-лактамаз ..... - 75 -

2.1.9. Методи дослідження біоплівкоутворювальних властивостей мікроорганізмів ..... - 78 -

2.2. Статистичні методи дослідження поширеності зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні ..... - 80 -

2.3. Синтез та протимікробна дія похідних 4-тіазолідинонів ..... - 80 -

2.3.1. Синтез похідних 4-тіазолідинонів ..... - 81 -

2.3.2. Скринінг хімічних похідних на антимікробну активність ..... - 82 -

2.3.3. Молекулярний докінг ..... - 84 -

2.4. Дослідження з використанням тварин. ..... - 85 -

2.4.1. Гостра токсичність «сполук-лідерів» похідних 4-тіазолідинонів ..... - 85 -

2.4.2. Дослідження алергенної, протизапальної дії, а також впливу на імунну систему лабораторних тварин «сполуки-лідера» ..... - 86 -

2.4.3. Дослідження вірулентності виділених культур мікроорганізмів ..... - 90 -

РОЗДІЛ 3 СТАН ЗАХВОРЮВАНОСТІ НА ІПНМД В УКРАЇНІ ПРОТЯГОМ 2009-2020 РР ..... - 92 -

3.1. Статистичний аналіз офіційних даних щодо захворюваності на ІПНМД в Україні протягом 2009-2020 рр ..... - 92 -

3.2. Статистичний аналіз офіційних даних щодо захворюваності на ІПНМД у Львівській області протягом 2010-2020 рр ..... - 98 -

РОЗДІЛ 4 ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИПАДКІВ ТА ЕТІОПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ІПНМД ..... - 102 -

4.1. Загальна клінічна характеристика випадків ІПНМД ..... - 102 -

4.2. Клінічний випадок, спричинений рідкісним збудником *Raoultella terrigena* та порівняння з іншими випадками за даними літератури ..... - 106 -

4.3. Клінічний випадок рідкісного збудника *Vibrio metchikovii* інфекції та порівняння з іншими випадками в літературі .....- 117 -

РОЗДІЛ 5 ХАРАКТЕРИСТИКА ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙ, ПОВ'ЯЗАНИХ З НАДАННЯМ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ..... - 133 -

5.1. Характеристика збудників ІПНМД.....- 133 -

5.2. Антимікробна резистентність основних збудників ІПНМД .....- 142 -

5.3. Фенотипові та генотипові детермінанти антимікробної резистентності - 149 -

5.4. Формування біоплівки деяким штамами ІПНМД .....- 150 -

5.5. Вірулентність збудників ІПНМД *Achromobacter xylosoxidans* (№ LMU-147), *Candida utilis* (LMU-127), *Serratia marcescens* (№ LMU-48) *in vivo* .....- 155 -

РОЗДІЛ 6 Поліфармакологічна дія похідних 4-тіазолідинонів – перспективних сполук з протимікробною дією ..... - 165 -

6.1. Протимікробна дія деяких похідних 4-тіазолідинонів, та молекулярний докінг сполуки-лідера.....- 165 -

6.2. Токсичність, прозапальна дія, та вплив сполуки 3-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота та імунну систему лабораторних тварин.....- 183 -

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ- 191 -

ВИСНОВКИ ..... - 203 -

ПОДЯКИ ..... - 206 -

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ..... - 208 -

ДОДАТКИ..... - 246 -

Додаток 1. Дозвіл на роботу зі збудниками III-IV груп патогенності.....- 246 -

Додаток 2. Загальна методика синтезу, фізико-хімічні, спектральні характеристики деяких синтезованих досліджуваних сполук, а також їхні структурні формули. .....- 247 -

Додаток 3. Кількість зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні (абсолютні цифри) за період 2009-2020 років відповідно до локалізації інфекційного процесу (дані Центру громадського здоров'я України).....- 259 -

Додаток 4. Географічний розподіл кількості зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні за областями у 2009-2020 рр (абсолютні числа). .....- 261 -

Додаток 5. Кількість зареєстрованих випадків ІПНМД у Львівській області (абсолютні цифри) за період 2009-2020 років відповідно до локалізації інфекційного процесу (дані Центру громадського здоров'я України).....- 262 -

Додаток 6. Критерії встановлення діагнозу ІПНМД в Україні, відповідно до рекомендацій Центру Громадського Здоров'я України.....- 264 -

Додаток 7. Огляд усіх зареєстрованих випадків зараження *Vibrio metschnikovii* (опублікованих до 2020 року). .....- 270 -

Додаток 8. Видовий спектр збудників ІПНМД, розподілений відповідно до досліджуваного біоматеріалу, загальна к-сть виділених ізолятів n=309. .....- 276 -

Додаток 9. Порівняльна характеристика клінічних випадків інфекції *Raoultella terrigena* (*Klebsiella terrigena*) у світі з 1988 по 2021 роки. .....- 280 -

Додаток 10. Порівняння антибактеріальної та протигрибкової активності сполук (1)–(51).....- 284 -

Додаток 11. Чутливість до антибіотиків *Pseudomonas aeruginosa* , ізольованої з відділень інтенсивної терапії лікарняних установ міста Львова .....- 285 -

Додаток 12. Чутливість до антибіотиків *Pseudomonas aeruginosa* , ізольованої з ВІТ ЛОКЛ .....- 286 -

Додаток 13. Чутливість до антибіотиків *Enterococcus spp*., ізольованої з відділень інтенсивної терапії лікарняних установ міста Львова .....- 287 -

Додаток 14. Акти впровадження результатів дисертації та протокол комісії з біоетики.....- 288 -

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 наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина (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 задачі охорони здоров'я - визначення структури та поширеності в Україні інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги (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 ± 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%) грамнегативні бактерії, видовий спектр яких включав представників 27 різних видів. Найбільше виділено представників роду *Pseudomonas* - 50 ізолятів, що становить 16.2% від загальної кількості збудників. Грампозитивна мікробіота представлена 15 різними видами збудників, найбільше - представників роду *Staphylococcus* - 52 ізоляти, що становить 16.8% від загальної кількості збудників. Серед грибів було ізольовано 12 різних видів збудників, найбільше представників *Candida non-albicans* - 20 ізолятів, що становить 6.5% від загальної кількості збудників.

Вперше було ідентифіковано та описано клінічні випадки, спричинені рідкісними збудниками *Raoultella (Klebsiella) terrigena* та *Vibrio metchikovii*. 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 *Raoutella terrigena* ATCC 33257, і швидкість формування плівки перевищує швидкість плівкоутворення стафілококами.

Аналізуючи клінічний випадок, спричинений *Vibrio metchikovii,* слід зазначити, що найймовірнішою 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 >=95%, або >=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 грамнегативних 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 грибів (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 ІПНМД. 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/тіазолідинону. Виявлено виражену протигрибкову дію в сполуки на основі 5-амінометиліден-роданін-3-пропіонової кислоти з мінімальною інгібуючою концентрацією до грибів роду *Candida* 25 μg/mL та селективну протимікробну дію щодо *Escherichia coli* в сполуки

3-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота з аналогічним інгібуючим ефектом (MIC=25 μg/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 похідного 2-ціано-2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-*N*-(о-толіл)ацетаміду, який не вміщує фенілєнаміновий чи бензиліденовий фрагмент у структурі у положенні С5 положенні тіазолідонового ядра 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 3-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота. 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, а також наявність протигрибкової активноті, вказують на перспективність подальшого дослідження «лікоподібних молекул» з політаргетною дією серед похідних тіазолу/тіазолідинону.

Приведений в дисертаційній роботі аналіз поширення ІПНМД, 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» 7-(3,4-Диметоксифеніл)-5-метил-3H-тіазоло[4,5-b]піридин-2-он продемонструвала хороше 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 статтей, в тому числі 8 статтей індексовані у журналах Web of Science та/або Scopus, 1 стаття в українському фаховому журналі (категорія «Б»), 1 стаття в українському 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 Halytskyy 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 ± 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 metchikovii* 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 *Raoutella terrigena* ATCC 33257, and the rate of film formation exceeds the rate of film formation by staphylococci.

Analyzing the clinical case caused by *Vibrio metchikovii*, 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 > = 95%, or > = 99% for 87.4% of isolates (n=270). 50.8% of strains (n=157) had an atypicality index (Tin) 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 3-[5-(1H-Indol-3-ylmethylene)-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl]-propanoic acid with a minimum inhibitory concentration against fungi of the genus *Candida* 25 μg/mL and a selective antimicrobial effect against *Escherichia coli* in 2-[5-(1H-Indol-3-ylmethylene)-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl]-ethanesulfonic acid 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 a 2-cyano-2- [5- (ethoxymethylene) -4-oxo-3-phenyl-thiazolidin-2-ylidene] -N- (o-tolyl) acetamide derivative which does not contain a phenyleneamine or benzylidene moiety in the structure at position C5 position of the thiazolidone nucleus showed the highest activity against the multidrug-resistant clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa*.

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" 7-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-methyl-3H-thiazolo[4,5-b]pyridin-2-one 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, 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. Spektrum gatunkowe i właściwości biologiczne bakteryjnych i grzybiczych patogenów, związanych z zakażeniami w opiece zdrowotnej i oraz aktywność przeciw drobnoustrojowa pochodnych 4-tiazolidynonów. - Kwalifikacyjne prace badawcze na prawach rękopisu.

Dysertacja o stopień Doktora nauk medycznych (Ph.D.) 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 pracy przedstawiono teoretyczne podstawy i praktyczne rozwiązania związane z zapewnieniem opieki zdrowotnej. Określono postaci i drogi szerzenia się IZOM (infekcji związanych z opiekią medycznej zdrowotną) w ostatnich latach na Ukrainie. W pracy ujęto występowanie różnych gatunków patogenów oraz ich antybiotykooporność, kliniczne i mikrobiologiczne aspekty IZOM, w tym wywoływane przez rzadkie patogeny. Przedstawiono także syntezę i właściwości nowych związków chemicznych o działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybiczym, potencjalnie nowych prototypów leków przeciw drobnoustrojowych.

Zgodnie z projektem, przeanalizowano dane Centrum Zdrowia Publicznego Ukrainy dotyczące zarejestrowanych przypadków IZOM na Ukrainie w latach 2009-2020. Po raz pierwszy wykonano taką analizę na Ukrainie w ciągu ostatnich 12 lat. Średnio rocznie zarejestrowano 4759 ± 710 przypadków IZOM. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić znaczne niedoszacowanie przypadków IZOM w kraju.

Do badania włączono 250 pacjentów oddziałów intensywnej terapii 4 lwowskich zakładów opieki zdrowotnej z podejrzeniem IZOM na podstawie wyników badań klinicznych i laboratoryjnych. W oparciu o wyniki badań mikrobiologicznych i dane epidemiologiczne rozpoznanie potwierdzono u 205 pacjentów. Wśród osób z IZOM - 46,8% stanowili mężczyźni, a 53,2% kobiety. Wśród wszystkich przypadków IZOM 24,9% stanowiłydzieci (w tym 8,8% noworodki), 64,9% – osoby w wieku 18-60 lat, a osoby starsze (>60 lat) - 10,2%. Najczęstszymi postaciami były infekcje dróg

oddechowych (36,6%) i infekcje dróg moczowych (34,1%). Większość przypadków IZOM (58,6%) odnotowano między 5 a 14 dniem hospitalizacji.

Pobrano 389 różnych próbek materiału, klinicznego, z których wyizolowano 309 szczepów mikroorganizmów. Dominowałyszczepy bakterii Gram-ujemnych (51,5%), których spektrum gatunkowe obejmowało przedstawicieli 27 różnych gatunków. Najwiecej szczepów należało do rodzaju *Pseudomonas* - 50 izolatów, co stanowi 16,2% ogólnej liczby izolowanych patogenów. Spośród bakterii Gram-dodatnich hodowano 15 różnych gatunków patogenów, z rodzaju *Staphylococcus* - 52 izolaty, co stanowi 16,8% ogólnej liczby patogenów. Wśród grzybów wyizolowano 12 różnych gatunków, większość z nich należała do grupy *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 tj. *Raoultella (Klebsiella) terrigena* i *Vibrio metchikovii*. Porównano powyższe przypadki zakażeńz dostępnymi w piśmiennictwie przypadkami klinicznymi. Wykazano, że izolat *R. terrigena* ma właściwości błonotwórcze, wyraźniejsze w porównaniu z wzorcowym szczepem *Raoutella terrigena* ATCC33257, a szybkość tworzenia błony przewyższa szybkość tworzenia błony przez gronkowce.

Analizując przypadek kliniczny wywołany przez *Vibrio metchikovii*, należy zauważyć, że najbardziej prawdopodobną przyczyną infekcji była śródoperacyjna kontaminacja protez naczyniowych.

Identyfikację gatunkową patogenów przeprowadzono za pomocą: testów biochemicznych (MIKRO-LA-TEST ErbaLachema, Czechy), z wykorzystaniem metody spektrometrii mas MALDI-TOF MS (MALDI-TOF, Bruker, Niemcy) w Katedrze Mikrobiologii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu oraz dla wybranych szczepów metodą sekwencjonowania 16sRNA-ID. Wskaźnik wiarygodnej identyfikacji biochemicznej szczepów wyniósł >=95% lub >=99% dla 87,4% izolatów (n=270). Dla 50,8% szczepów (n=157) uzyskano wskaźnik nietypowości (Tin) 0,25-0,49, czyli szczepy te można scharakteryzować jako

nietypowe. Dla 95,5% izolatów (n=295) metodą spektrometrii mas uzyskano wynik >=2,0, tj. wiarygodną identyfikację do rodzaju i prawdopodobną do gatunku. Dla pozostałych izolatów i otrzymano wynik ID 1,7-1,9, co wskazuje na identyfikację. prawdopodobną do rodzaju i do gatunku. 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 potwierdziła szerzenie się tych szczepów w szpitalu. Wyniki analizy 16S rRNA dla izolatów *Klebsiella pneumoniae*, potwierdziły wspólne pochodzenie szczepów i prawdopodobne zakażenie szczepem z tego samego klonu. Zastosowanie różnych metod identyfikacji wykazało całkowitą zbieżność wyników dla 76,1% szczepów (n=235). Najwyższą wiarygodność identyfikacji uzyskano metodą sekwencjonowania 16sRNA, ale najszybszą metodą była spektrometria mas.

Na podstawie wyników antybiogramów stwierdzono, że 62,8% (n=194) izolatów to szczepy wielolekooporne (MDR), 7,4% (n=23) to EDR (rozszerzona oporność), a 28,8% (n=89) to nie-MDR. Jeden procent (n=3) szczepów określono jako PDR: 2 — *P. putida* i 1 — *P. aeruginosa*. Dwadzieścia pięć 33,8% badanych szczepów Enterobakterales wytwarzało enzymy typu ESBL, a 47 badanych izolatów (83,9%) wytwarzało enzymy z grupy OXA-48. Wszystkie te izolaty określono jako MDR. Większość badanych szczepów grzybów (82,9%) była oporna na flukonazol, co można wyjaśnić najczęstszym wyborem flukonazolu jako empirycznego leczenia infekcji grzybiczych.

Wśród badanych szczepów izolowano *Achromobacter xylosoxidans*(nr LMU-147) i *Serratia marcescens* (nr LMU-48), dla których udowodniono ich rolęw wywoływaniu IZOM. Wymienione szczepy zaliczane są do IV klasy patogenności, ale posiadają zdolność do penetracji narządów wewnętrznych, właściwości te są silniej wyrażone u gatunku *Serratia marcescens.* Izolowano również szczep *Candida utilis* (LMU-127) o niskiejpatogenności, który nie posiada właściwości inwazyjnych.

Do poszukiwania i badania nowych związków chemicznych o działaniu antybiotycznym wykorzystano 55 nowych zsyntetyzowanych pochodnych tiazolu.

Stwierdzono wyraźny efekt przeciwgrzybiczy w kwas 3-[5-(1H-indol-3-ilometyleno)-4-okso-2-tioksotiazolidyn-3-ylo]-propanowy przy minimalnym stężeniu hamującym 25 μg/mL w stosunku do grzybów z rodzaju *Candida* oraz selektywne działanie przeciwbakteryjne wobec szczepów *Escherichia coli* w kwas 2-[5-(1H-indol-3-ilometyleno)-4-okso-2-tioksotiazolidyn-3-ylo]-etanosulfonowy o podobnym działaniu hamującym (MIC=25 μg/mL). Najaktywniejsza wobec *Staphylococcus aureus* była grupa 2-(5-ylideno-4-okso-2-tioksotiazolidyn-3-ylo)-sukcynoimidów z fragmentem ciminalum w pozycji C5.

Dla pochodnej 2-cyjano-2-[5-(etoksymetyleno)-4-okso-3-fenylo-tiazolidyn-2-ylideno]-N-(o-tolilo)acetamidu, która nie zawiera ugrupowania fenylenoaminy lub benzylidenu w struktura w pozycji C5 w jądrze tiazolidonu wykazała największą aktywność wobec wielolekoopornego klinicznego szczepu *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 absorpcyjnych neutrofili. Selektywność takiej aktywności biologicznej może być użyteczna w leczeniu niektórych stanów immunopatologicznych.

Zidentyfikowane efekty towarzyszące działaniu przeciwgrzybiczemu wskazująna możliwość dalszych badań nad „molekułą lekopodobną” o działaniu wielocelowym.

Analiza występowania IZOM opisana w pracy, ich rejestracja, możliwości diagnostyki mikrobiologicznej, porównanie nowoczesnych metod identyfikacji

drobnoustrojów z materiału klinicznego wskazuje na potrzebę podniesienia poziomu badań mikrobiologicznych, wprowadzenie wystandaryzowanego systemu rejestracji oraz badanie zakażeńszpitalnych 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 molekularne wykazały, że związek wiodący 7-(3,4-dimetoksyfenylo)-5-metylo-3H-tiazolo[4,5-b]pirydyn-2-on wykazuje dobre wiązanie z wybranymi docelowymi białkami w porównaniu z wzorcowym inhibitorem N21 i ciprofloksacyną.

Słowa kluczowe:

Zakażenia związane z opieką medyczną (IZOM), zakażenia szpitalne, oporność przeciwdrobnoustrojowa, oporność na antybiotyki, kontaminacja sprzętu przez patogeny, działanie antybakteryjne, działanie przeciwgrzybicze, 4-tiazolidynony, tiazole, odporność komórkowa, działanie immunotropowe, świnki morskie, MALDI-TOF MS, rzadkie patogeny.

Publikacje

Na podstawie wyników uzyskanych w 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”), oraz 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 PMCID: PMC8077321 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, Lozynskyi A, **Konechnyi 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, Korniychuk O, **Konechnyi 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 PMCID: PMC8123537 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. Lozynskyi AV, Derkach HO, Zasidko VV, **Konechnyi 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, публікація ретроградно індексована 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.:39-46. «актуальні проблеми профілактичної медицини» Збірник наукових праць Випуск двадцять перший. **(не фахове)** *(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 om Applied Microbiology, 8th Edition of International Conference on Antibiotics, Antimicrobials

& Resistance, 12th International Conference on Allergy & Immunology, October 21-22, 2019, 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 симпозіум в рамках концепції "Єдине здоров'я" за підтримки ПЗБЗ в Україні* Kyiv, Ukraine / 20-24 May 2019 (секція Антибіотикорезистентність па 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 симпозіум в рамках концепції "Єдине здоров'я" за підтримки ПЗБЗ в Україні* Kyiv, 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 прктика, додаток №1, 1’2019. Науково-практична конференеція 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 xvi 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. Шикула 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 Шикула, 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 C07D 277/08 (2006.01) A61P 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-(1н-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 C07D 277/08 (2006.01) A61P 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 нозокомінальних 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).

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ІПНМД - інфекції пов’язані з наданням медичної допомоги

ВІТ - відділеннях інтенсивної терапії

ЗОЗ - заклад охорони здоров’я

ЄС – Європейський Союз

ЦГЗ – Центр громадського здоров’я

АМР - антимікробна резистентність

ІК – інфекції кровотоку

КАІК – катетер-асоційовані інфекції кровотоку

ІПХВ – інфекції, пов’язані з хірургічним втручанням

ІСВШ – інфекції сечовивідних шляхів

КАІСВШ – катетер-асоційовані інфекції сечовивідних шляхів

ІДШ – інфекції дихальних шляхів

ЦСК – центральний судинний катетер

ПСК – периферичний судинний катетер

ВАП – вентилятор-асоційована пневмонія

ШВЛ – штучна вентиляція легень

ІНДШ – інфекції нижніх дихальних шляхів

MDR – полірезистентні до антибіотиків (Multidrug-resistant)

EDR – з розширеною резистентністю (extensively drug-resistant)

PDR – панрезистентні (pandrug-resistant)

MRSA – метицилін резистентний *Staphylococcus aureus*

БАЛ – бронхоальвеолярний лаваж

ФІ – фагоцитарний індекс

ФЧ – фагоцитарне число

ВСТУП

Актуальність. Інфекції пов'язані з наданням медичної допомоги (ІПНМД), які раніше називали нозокоміальними інфекціями, внутрішньолікарняними чи шпитальними інфекціями, - за даними ВООЗ, виявляють у 15% пацієнтів. Для прикладу, протягом минулого десятиліття, щороку в Німеччині 500 000 пацієнтів (в середньому в ЄС 7.1%) хворіли на ІПНМД, з них біля 10 000 помирали від них. У країнах з високим рівнем доходу громадян від 3.5% до 12.0% госпіталізованих пацієнтів хворіють ІПНМД, при цьому показник захворюваності ІПНМД у відділеннях інтенсивної терапії (ВІТ) складає біля 30.0%. У країнах з низьким або середнім рівнем доходу, до яких відноситься Україна, частота ІПНМД становить від 5.7% до 19.1%, а у ВІТ у 2-3 рази вища, ніж у країн з високим рівнем доходу, тобто може сягати до 88.9% госпіталізованих пацієнтів [1–3].

Відповідно до офіційної статистики, в Україні в середньому реєструється 7 000 випадків ІПНМД щороку, що становить менше 1 % госпіталізованих пацієнтів, а за розрахунками Центру громадського здоров'я (ЦГЗ) України, число зареєстрованих ІПНМД мало б складати не менше 1 000 000 випадків щороку. Відповідно до даних ЦГЗ, у Львові та Львівській області за останні роки фіксувалося лише декілька випадків ІПНМД, для прикладу у 2018 році було зареєстровано 17 випадків (з них 3 випадки – бактеріальні інфекції, а 13 – вірусні гепатити В та С). У 2019-2020 роках бактеріальних ІПНМД у Львові та Львівській області не було зареєстровано жодного випадку.

Відповідно до законодавства України, ІПНМД – це хвороби, що виникають у пацієнта під час перебування у закладі охорони здоров'я (ЗОЗ) або іншому закладі, який надає медичну допомогу. Інфекційні захворювання, що наявні або знаходяться в інкубаційному періоді на момент госпіталізації або початку лікування, до ІПНМД не відносяться. До ІПНМД входять інфекційні захворювання, які набуті в ЗОЗ, але клінічно проявилися після закінчення лікування, у разі достовірно доведеного зв'язку із проведеними лікувальними або діагностичними

заходами. Окремою групою ІПНМД є інфекційні захворювання серед медичних працівників, що надбані безпосередньо під час виконання професійних обов’язків, що є особливо актуальним у період пандемічного поширення COVID-19.

Загалом, бактеріальні ІПНМД – це інфекційні процеси в пацієнтів, які вперше виникли понад 48 годин після госпіталізації, або протягом 30-ти днів після отримання медичної допомоги за умови, що на момент госпіталізації пацієнти не знаходилися в інкубаційному періоді [4].

Інфекційний контроль разом із дослідженням клінічних, епідеміологічних та мікробіологічних властивостей збудників є основним методом боротьби з ІПНМД. Тому актуальність роботи пов'язана з необхідністю вивчення поширеності ІПНМД як в Україні, так і в м. Львові зокрема, аналізу видового спектру та біологічних властивостей (антимікробна резистентність (АМР) та ін) збудників ІПНМД, враховуючи клініко-мікробіологічні взаємодії за типом «макроорганізм-патоген».

За даними літератури, однією з причин зниження ефективності заходів боротьби із ІПНМД є АМР збудників [5]. Разом з тим, існує тісний взаємозалежний зв’язок між розвитком АМР у світі та збільшенням частки ІПНМД [6,7].

За рекомендацією ВООЗ, нові синтетичні молекули з протимікробною дією є одним з основних короткотермінових підходів боротьби з АМР збудників інфекційних хвороб, як прогнозованої основної причини смертності у світі до 2050 року, що перевершить смертність від онкологічних захворювань. Похідні 4-тіазолідинонів є одним з перспективних класів сполук із поліфармакологічним профілем, що містять декілька реакційних центрів в базовому гетероциклі та відносно легко надаються до хімічній модифікації. Саме тому даний клас хімічних сполук є перспективним для пошуку «лікоподібної молекули» з протимікробною дією, ефективною щодо варіабельних механізмів АМР актуальних збудників інфекційних хвороб, в тому числі ІПНМД.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексних наукових тем кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького:

1. Спільно з кафедрою хірургії та ендоскопії ФПДО та кафедрою інфекційних хвороб, НДР (ініціативно-пошукова тематика) «Оптимізація діагностично-лікувальної тактики при госпітальній та позагоспітальній інфекції в ургентній абдомінальній хірургії» 2020-2024 рр (0120U002138)

2. Спільно з кафедрою хірургії та ендоскопії ФПДО, НДР (ініціативно-пошукова тематика) «Обґрунтування моніторингу діагностики, стратегія профілактики та стандартизація методів лікування кровотеч в шлунково-кишковий тракт» 2015-2019рр (0115U000042).

3. Спільно з кафедрою генетики та біотехнології (Львівський національний університет імені Івана Франка), прикладне дослідження, що фінансується за рахунок коштів державного бюджету на 2018-2020 рр «Скринінг вторинних метаболітів стрептоміцетів активних щодо полірезистентних збудників нозокомінальних інфекцій» (КПКВК 2301020 Прикладна 0118U000111).

4. Колективного гранту 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.

5. Кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, 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 фундаментальна).

Мета: Оптимізація методів мікробіологічної діагностики ІПНМД, шляхом застосування клініко-мікробіологічних та епідеміологічних критеріїв, та комплексного підходу при встановленні етіологічної ролі збудника, а також мікробіологічне обґрунтування розробки нової «лікоподібної молекули» з ефективною протимікробною дією.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз офіційних даних щодо захворюваності на ІПНМД в Україні з встановленням видового спектру та поширеності основних збудників ІПНМД в Україні та в деяких стаціонарах міста Львова за період 2009-2020 рр.

2. Вивчити біологічні властивості і визначити клінічну значимість рідкісних збудників ІПНМД.

3. Вивчити біологічні властивості мікробних збудників ІПНМД (антибіотикорезистентність, плівкоутворення, вірулентність).

4. Порівняти різні методи видової ідентифікації основних збудників ІПНМД (біохімічний, молекулярно-генетичний, мас-спектрометричний).

5. Одержати «лікоподібні молекули» серед новосинтезованих похідних 4-тіазолідинонів, дослідити їхню протимікробну дію щодо актуальних збудників ІПНМД.

6. Виявити потенційну токсичну, імунотоксичну, алергенну та прозапальну дії «сполуки-лідера» *in vivo*.

Об'єкт дослідження: ІПНМД, вплив похідні 4-тіазолідинонів на збудників ІПНМД

Предмет дослідження: видова характеристика збудників ІПНМД та їхні біологічні властивості (чутливість до антибіотиків, біоплівкоутворювальні властивості), клініко-мікробіологічна характеристика чинників ІПНМД, антимікробна, імунотропна та протизапальна дія похідних 4-тіазолідинонів.

Методи дослідження:

1) мікробіологічні: культуральний – для виділення чистої культури збудників ІПНМД; біохімічний – для видової ідентифікації збудників ІПНМД;

2) клінічні – (разом із лікуючими лікарнями збір анамнезу, клінічного перебігу, проведення об'єктивного обстеження пацієнтів ВІТ); анкетне опитування – для оцінки факторів ризику ІПНМД;

3) молекулярно-генетичні (випадкового посилення поліморфної ДНК (RAPD), 16sRNA-ID, PCR) – для видової ідентифікації збудників ІПНМД, детекції генів АМР та визначення спорідненості штамів мікроорганізмів;

4) мас-спектрофотометричні (MALDI-TOFF, метод головних компонент (PCA)) – видова ідентифікація збудників ІПНМД та визначення спорідненості штамів.

5) імуноферментні –для визначення рівнів цитокінів в крові лабораторних тварин;

6) мікроскопічні (світлова мікроскопія, темного поля та флуоресцентна) – дослідження біоплівок;

7) спектрофотометричні – для визначення оптичної щільності біоплівок;

8) біологічні – експериментальне дослідження місцевоподразнюючої, алергенної, протизапальної дії та гострої токсичності «сполуки-лідера» *in vivo*;

9) статистичного аналізу – обробка та аналіз отриманих результатів;

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше проведено оцінку рівня зареєстрованості офіційно зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні за 2009-2020 роки, в тому числі за географічною, нозологічною, віковою, етіологічною структурами. Проведено порівняння з відповідними даними в Україні та деяких сусідніх країнах, країн ЄС.

Досліджено етіологічну структуру та деякі клінічні особливості збудників ІПНМД лікарняних закладів міста Львова. Встановлено ряд біологічних властивостей виділених збудників ІПНМД (морфо-тинкторіальні, біохімічні властивості, ступінь та механізми АМР, плівкоутворення, ступінь вірулентності *in vivo*). Підтверджено субвидову спорідненість ряду ізолятів збудників ІПНМД та їхнє етіологічне значення у розвитку інфекційних процесів у різних пацієнтів. Проведено порівняльне вивчення діагностичної значимості різних методів ідентифікації мікроогранізмів (MALDI-TOF, біохімічна ID, 16sRNA-ID) для встановленни чинника ІПНМД.

Виділено збудники ІПНМД, що рідко зустрічаються (*Raoultella terrigena*, *Vibrio metschnikovii*), описано клінічні випадки та визначено клінічну значимість цих збудників, проведено порівняння виявлених ІПНМД з іншими клінічними випадками у світі. На момент виділення та ідентифікації (2018) збудника *Raoultella terrigena,* виявлений випадок був одним з восьми описаних клінічних випадків у світі, і перший в Україні, та перший випадок неретроспективного підтвердження етіологічної ролі збудника в інфекційному процесі.

Проведено скринінг протимікробної дії ряду похідних 4-тіазолідинонів щодо актуальних збудників ІПНМД з різним ступенем та механізмами АМР. Вперше визначено "лікоподібні" молекули, як "кандидати в лікарський засіб та перевірено їхню алергенну, протизапальну дії *in vivo*. Вперше з використанням методу молекулярного докінгу показано, що сполука-лідер Les 6431 продемонструвала виражене зв'язування з обраними білковими мішенями порівняно з еталонним інгібітором N21 та ципрофлоксацином, що підтверджує хороший антибактеріальний потенціал сполуки Les 6431.

Практичне значення одержаних результатів.

Одержані результати наукового дослідження розширюють знання про мікробіологічні, епідеміологічні та клінічні аспекти основних збудників ІПНМД в Україні, що покращує систему інфекційного контролю за ІПНМД. Особливу увагу приділено оцінці видового спектру та АМР збудників ІПНМД, включаючи збудників, що рідко зустрічаються, та ізоляти збудників з підвищеною стійкістю до антибіотиків (панантибіотикорезистентні та ізоляти з розширеною АМР).

Підкреслено необхідність покращення системи реєстрації випадків ІПНМД в Україні, та дослідження кожного випадку на різних рівнях.

Встановлено ефективність ряду похідних 4-тіазолідинонів щодо полірезистентних збудників ІПНМД та запропоновано декілька «сполук-лідерів» як потенційних протигрибкових засобів.

Впровадження у практику

За результатами роботи розроблено два патенти на корисну модель:

1. 3-[5-(1*H*-індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-пропіонова кислота, що проявляє протигрибкову дію (патент України № 140203 від 10.02.2020.)

2. 2-[5-(1*H*-індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-етансульфонова кислота, що проявляє протигрибкову дію (патент України № 142763 від 25.06.2020.)

Результатом дослідження було депонування трьох штамів мікроорганізмів та отримання відповідного сертифікату:

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.

Результати дослідження впроваджені у наукову та в лікувальну роботу закладів охорони здоров’я: Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, АТ "Галичфарм" Корпорації «Артеріум», Комунального некомерційного підприємства «Богородчанська центральна районна лікарня», Комунального некомерційного підприємства «Солотвинська лікарня» (Додаток 14).

Особистий внесок здобувача

Автором особисто проведено та систематизовано патентно-інформаційний пошук, результати якого свідчать про актуальність обраної теми, сформульовано

мету та завдання дослідження. Самостійно обрано та аргументовано вибір методик дослідження. Самостійно проведено статистичну обробку отриманих результатів, обґрунтовано висновки. Самостійно та разом при консультативній допомозі наукового керівника підготовлено основний текст дисертації.

Участь автора в підготовці рукописів до друку та наукових розробок для оформлення патентів є основною. Персональний внесок автора у всіх опублікованих працях вказано за текстом дисертації.

Запозичень ідей і розробок співавторів публікацій не було. Дисертант декларує відсутність конфлікту інтересів.

Апробація результатів дисертації.

Результати та основні наукові положення дисертаційної роботи було представлено, обговорено та позитивно оцінено на ряді конференції, зокрема:

1. World Microbe Forum Jun 20, 2021 – Jun 24, 2021 (iPoster Presentation, N2)
2. FEMS Online Conference on Microbiology 28 – 31 October 2020 in association with the Serbian Society of Microbiology (усна доповідь)
3. 6th World Congress and Expo om Applied Microbiology, 8th Edition of International Conference on Antibiotics, Antimicrobials & Resistance, 12th International Conference on Allergy & Immunology, October 21-22 Rome, Italy (усна доповідь)
4. 19th International Congress of Young medical Scientists, May 30th-June 1 st 2019, Poznan, Poland (усна доповідь)
5. Мікробіологічні читання пам’яті професора Юрія Леонідовича Волянського: матеріали науково-практичної конференції (12 лютого 2020 року, Харків) (усна доповідь)
6. *Четвертий щорічний регіональний науковий симпозіум в рамках концепції "Єдине здоров'я" за підтримки ПЗБЗ в Україні* Kyiv, Ukraine / 20-24 May 2019 (постерна доповідь, N2)

7. 10th RECOOP Annual Project Review Meeting Haston City Hotel Wroclaw, October 11-12, 2019. (усна доповідь)

8. Молодь і поступ біології: міжнародна наукова 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.). (усна доповідь)

Дисертація апробована на спільному засіданні кафедри мікробіології, науково-дослідного інституту епідеміології та гігієни Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Публікації.

За матеріалами дисертації опубліковано 10 статтей, в тому числі 9 статтей індексовані у журналах Web of Science та/або Scopus, 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.

Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації).

За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації, що підтверджено висновком комісії з виявлення та запобігання плагіату Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (довідка про проведення первинної експертизи на наявність плагіату №288/2021 від 25.05.2021).

Обсяг і структура дисертації.

Дисертація викладена на 293 сторінках друкованого тексту, з яких 154 сторінки займає основний текст та складається зі вступу, огляду літератури, розділу

методів досліджень, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків і списку використаних джерел, який містить 280 джерел, з них 266 латиною та 14 кирилицею, а також 14-ма додатками. Робота ілюстрована 38 таблицями та 49 рисунками.

РОЗДІЛ 1

ІНФЕКЦІЇ, ПОВ'ЯЗАНІ З НАДАННЯМ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ - СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ (аналітичний огляд літератури)

1.1. Загальні положення про ІПНМД, коротка історія вивчення, поширеність

Інфекції пов'язані з наданням медичної допомоги – це інфекційні процеси, які виникають у пацієнтів під час надання медичної допомоги [8]. Під терміном «ІПНМД» спочатку розуміли інфекційні процеси у пацієнтів відділень невідкладної медичної допомоги (попередня назва «нозокоміальні інфекції»), але цей термін зараз включає в себе розвиток інфекційних процесів у різних системах органів пацієнтів та у госпіталях різної скерованості роботи (таких як паліативна допомога, амбулаторії сімейної медицини, догляд за хворими в домашніх умовах, інша амбулаторна допомога, наприклад денні стаціонари). Вважається, що ІПНМД – це інфекції, що вперше виникають через 48 годин чи пізніше після госпіталізації, або ж 30 днів після отримання медичної опіки [9]. Ряд досліджень підтверджують, що найбільш поширеними несприятливими побічними наслідками від госпіталізації є побічні дії лікарських засобів, ІПНМД, та ускладнення після хірургічних втручань [10–13]. Центр з контролю та профілактики хвороб (CDC) США щороку фіксує біля 1 700 000 випадків ІПНМД на території США[14], при цьому понад 98 000 пацієнтів (кожен 17-й) помирає з причини ІПНМД [15], що є одним з найчастіших ускладнень медичної допомоги. Серед кожних 100 госпіталізованих пацієнтів, у близько 7-ми пацієнтів у розвинутих країнах та 10-ти пацієнтів у країнах, що розвиваються матимуть ІПНМД [16]. Деякі дослідження демонструють, що в розвинутих країнах 5%-15% госпіталізованих пацієнтів хворіють ІПНМД, і ця кількість може зростати у ВІТ до 9-37% [2,17]. Численні

дослідження в ЄС демонструють, що частка ІПНМД становить 4.6%-9.3% [18–26]. Разом з тим, ВООЗ у своїх звітах зазначає, що ІПНМД привертають до себе більше уваги тільки під час епідемій [3], і що 80% летальності у ЗОЗ тим чи іншим чином пов'язані з ІПНМД [27]. Особливої уваги заслуговують ІПНМД у ВІТ та імуноскомпроментрованих осіб, оскільки частка ІПНМД для цих категорій зростає [19,28–30].

Коротка історія

У філософії медицини тривалий час існує усвідомлення того, що медицина може бути рівноцінно шкідливою, як і корисною [31]. ІПНМД порушують один з базових принципів медицини «не зашкодь», адже надання допомоги веде до розвитку хвороби у пацієнта. У 1847 році Земмельвейс, угорський акушер, припустив, що як скальпель, так і руки акушера можуть бути причиною розвитку сепсису у жінок. Він запропонував миття рук хлорним вапном, що призвело до суттєвого зменшення материнської смертності. А вже у 1890 році Кох запропонував свої постулати з інфекційної теорії розвитку хвороб. Теорія Земмельвейса про те, що лікар може бути джерелом хвороби для пацієнта виявилася релевантною, тому вважається, що саме Земмельвейс був тим, хто вперше описав ІПНМД та запропонував методи їхньої профілактики [32–37].

Поширеність ІПНМД

Нещодавнє дослідження у 183 госпіталях у США, яке включало 11 282 пацієнтів показало, що 4% з них мали ІПНМД, з найбільш поширеним збудником *Clostridium difficile*. Найбільш поширеними формами інфекції були інфекції асоційовані з хірургічним втручанням, пневмонія та інфекції шлунково-кишкового тракту [38]. Інше дослідження показало, що понад 6% пацієнтів мали ІПНМД, з них 75.8% були ІПХВ, інфекції сечовивідних шляхів (ІСВШ), пневмонія та інфекції кровотоку (ІК). *Staphylococcus aureus* був найбільш поширеним збудником [39,40]. Іншим прикладом є дослідження у Сінгапурі, в якому частота ІПНМД складала 11.9%, здебільшого клінічними формами були ІК та інфекції дихальних шляхів (ІДШ). Найпоширенішими збудниками були *S. aureus* та *P. aeruginosa*. Дане

дослідження також повідомило про *Acinetobacter spp.* та *P. aeruginosa*, що були повністю стійкими до карбапенемів [41]. Одне з Європейських досліджень, що включало 2 609 911 пацієнтів із Європейської економічної зони повідомило, що у кожного 20-го пацієнта було зафіксовано принаймі 1 випадок ІПНМД. *Klebsiella pneumoniae* та *Acinetobacter spp* були надзвичайно стійкими до численних протимікробних препаратів [1]. В Греції частка ІПНМД становить біля 9.1% із найбільш поширеними формами ІДШ, ІК, ІСВШ [42]. Інший мета-аналіз контролю за ІПНМД у країнах південної Азії (Бруней, М'янма, Камбоджа, Східний Тимор, Індонезія, Лаос, Малайзія, Філіппіни, Сінгапур, Таїланд та В'єтнам) продемонстрував, що поширеність ІПНМД становила 9.1%, а найпоширенішими патогенами були *P. aeruginosa, Klebsiella spp* та *Acinetobacter baumannii* [43].

Дослідження поширеності ІПНМД в Ірані показало частоту 9.4%, з найпоширенішими формами ІК, ІПХВ, ІСВШ та пневмонія [44]. Логістичний регресійний аналіз показав, що коефіцієнт шансів для чоловіків був вищим ніж для жінок (1.56 [1.21-2.02]). Додаткові фактори ризику ІПНМД включали центральний венозний катетер (3.86 [2.38–6.26]), сечовий катетер (3.06 [2.19–4.28]). Фактором ризику є не факт госпіталізації у ВІТ, а перебування пацієнта у лікарні довше 8-ми днів (3.24 [2.34–4.47]) [38]. 71% госпіталізованих пацієнтів отримували протимікробні препарати, проте тільки 9.4% з них мали принаймі 1 ознаку інфекційного процесу, що вказує на ще одну грань проблеми ІПНМД – нераціональну антиботикотерапію.

Інше дослідження показало, що рівень мікробного забруднення різне на різних поверхнях, для прикладу на робочих поверхнях (1.64×10^{12}), на дверних ручках (1.71×10^{12}), і найвища кількість на кранах умивальників (2.08×10^{12}) [45]. В іншому дослідженні найбільшу кількість патогенів було виявлено на лікарняній підлозі. Проте більшість (53.86%) виявлених мікроорганізмів були непатогенними. 14.42% виділених з середовища мікроорганізмів були *S. aureus*, а 45.2% були *Bacillus subtilis*.

Більшість збудників ІПНМД в США належить до так званої ESKAPE- групи [46], яка включає у себе як грампозитивні патогени (*K. pneumoniae, A. baumannii, P. aeruginosa,* та *Enterobacter spp.*), так і грамнегативні патогени (*Enterococcus faecium* та *S. aureus*) [47,48]. Численні дослідження підтверджують, що грамнегативні патогени відповідальні за 10% [49] - 40% [50] всіх ІПНМД, що становить вагому частку економічного тягаря боротьби з АМР [51], та спонукає до пошуку нових антибіотиків, ефективних щодо саме грамнегативних патогенів [52].

Серед новіших аміноглікозидів було виявлено плазоміцин, активний проти штамів, що генерують β-лактамазу розширеного спектру дії (ESBL), наприклад *Enterobacter spp., Escherichia coli* та *K. pneumoniae* [53], та більш ефективний у лабораторних експериментах проти *A. baumannii*, ніж гентаміцин, тобраміцин та амікацин [54,55].

Інше дослідження показало, що в порівнянні між ІПНМД, викликаними MRSA та MSSA, статистично достовірно ($P<0.005$) ізоляти були більш стійкими до ципрофлоксацину, кліндаміцину, триметоприм/сульфаметоксазол, еритроміцин, гентаміцин, та тетрацикліну [56].

Лікарські відходи, особливо забруднені хірургічні відходи, часто перетворюються на резервуар для патогенних високовірулентних мікроорганізмів, тому деякі дослідники вважають, що 20%-25% відходів із ЗОЗ мають високий потенціал спричиняти ІПНМД, тому питання утилізації медичних відходів потребує окремої уваги [57,58].

1.2. Етіологічні чинники ІПНМД

Бактерії

Бактерії є найпоширенішими збудниками, що викликають ІПНМД. Деякі з них належать до коменсальної мікробіоти пацієнта і викликають інфекцію лише тоді, коли імунна система пацієнта стає схильною до інфекцій. *Acinetobacter* – це рід

патогенних бактерій, особливо відповідальний за інфекції, що виникають у ВІТ. Цей збудник трапляється у ґрунті та воді і у деяких відділеннях може становити 80% зареєстрованих випадків ІПНМД [59]. *Bacteroides fragilis* - це комменсальна бактерія, що міститься в тонкій і товстій кишці. Він викликає інфекції у поєднанні з іншими бактеріями [58]. *Clostridium difficile* є причиною антибіотикасоційованої діареї, та за даними Європейського CDC виникає у 1/31 пацієнтів [60], спричиняючи псевдомембранозний коліт, що призводить до асоційованої з антибіотиками діареї та коліту, головним чином через елімінацію корисних бактерій. *C. difficile* часто передається через невірно оброблені руки медичного персоналу [58]. *Enterobacteriaceae* (стійкі до карбапенемів) часто викликають інфекції внаслідок потрапляння патогенів з кишечника в інші нетипові для них біоніші. *Enterobacteriaceae* складають види *Klebsiella, Escherichia coli*, та інші. Їх висока стійкість до карбапенемів ускладнює захист від них. Резистентний до метициліну *S. aureus* (MRSA) передається через прямий контакт, відкриті рани та заражені руки. Він спричиняє сепсис, пневмонію та ІПХВ, мігруючи з органів або крові, має високу стійкість до β-лактамних антибіотиків [61].

Загалом біля 12-17 мікроорганізмів є причиною 80%-87% всіх випадків ІПНМД у світі [51,62,63], це такі патогени як:

1) *Staphylococcus aureus*,
2) *Enterococcus species* (eg, *faecalis*, *faecium*),
3) *Escherichia coli*,
4) coagulase-negative *Staphylococci*,
5) *Candida species* (eg, *albicans*, *glabrata*, *auris*),
6) *Klebsiella pneumoniae* та *Klebsiella oxytoca*,
7) *Pseudomonas aeruginosa*,
8) *Acinetobacter baumannii*,
9) *Enterobacter species*,
10) *Proteus species*,
11) Дріжджові грибки, що мають NO-сигнальні молекули (Yeast NOS),

12) *Bacteroides species,*

13) інші патогени.

Серед цих патогенів, 16%-20% включають у себе фенотипово полірезистентні до антибіотиків мікроорганізми (MDR): MRSA, ванкоміцин резистентний *E. faecium*, карбапенемазо-резистентну *P. aeruginosa*, з розширеною стійкістю до цефалоспоринів *K. pneumoniae, K. oxytoca, E. coli* та *Enterobacter*, та карбапенем-стійкі *P. aeruginosa, K. pneumoniae/ K. oxytoca, E. coli, Enterobacter species* та *A. baumannii* [51,63]. Деякі грамнегативні мікроорганізми мають набагато вищу частоту антибіотикорезистентності (20%-40%), аніж інші [51], та разом із мікроорганізмами виділеними із медичних девайсів становлять групу найбільш антибіотикорезистентних мікроорганізмів [62]. В іншому дослідженні, хоча був виявлений схожий відсоток резистентності для більшості фенотипів, проте була підкреслена 100% стійкість *E. coli* до фторхінолонів [62]. Серед ізолятів *Acinetobacter, Burkholderia spp*. та *Pseudomonas spp*. були на 92%-100% стійкими до цефалоспоринів відповідно. Стійкість до фторхінолонів встановлено у 100% ізолятів *Burkholderia spp*., 94.2% ізолятів *Acinetobacter spp*. та 95.8% ізолятів *Pseudomonas spp*. Це ж саме дослідження продемонструвало 86.4% *Acinetobacter spp*. та 62.5% стійкість *Pseudomonas spp*. до карбапенемів у ВІТ. Карбапенеми були більш ефективними щодо *Burkholderia spp*. із 20% резистентністю [64]. В іншому дослідженні було виявлено 100% стійкість ізолятів *Enterobacteriaceae* щодо цефалоспоринів 3-го покоління [65]. Понад 80% ізолятів *Klebsiella spp*. були стійкими до ципрофлоксацину, гентаміцину, піперациліну, тазобактаму, та щодо іміпенему стійкість становила до 48.6%. *E. coli* мала схожу стійкість, хоча карбапенеми були ефективними майже у 80% випадків. Хоча ІПМНД, пов’язані з *Citrobacter spp*., складали відносно незначну частка, вони також виявилися стійкими до цефалоспоринів, фторхінолонів та аміноглікозидів [65]. Інше дослідження повідомило, що *Acinetobacter spp*. у 76,99%-92,01% випадків, проявляв стійкість до більшості протимікробних препаратів [66].

Отже, можна констатувати, що збудники ІПНМД, які спричиняють інфекційні хвороби у різних країнах відрізняються між собою за рівнем поширення стійкості та основними патернами антибіотикорезистентності.

Віруси

Крім бактерій, віруси також є важливою причиною ІПНМД. Поточний регулярний моніторинг показує, що 5% усіх збудників ІПНМД складають віруси [67]. Вони можуть передаватися повітряним та фекально-оральним шляхом, через кров [68]. Поширеними збудниками ІПМНД є віруси гепатиту В та С, ВІЛ, що часто є ятрогенними інфекціями. Збудниками ІПНМД можуть бути й віруси грипу, ротавірус, віруси герпесу, коронавіруси.

Гриби

Грибкові патогени спричиняють ІПНМД у людей з ослабленим імунітетом. Факторами зараження *Aspergillus spp*. є об'єкти довкілля (перш за все ґрунт). *Candida albicans, Cryptococcus neoformans* також відповідальні за розвиток ІПНМД. Кандидамікози виникають як ендогенна інфекція пацієнта, а інфекції *Aspergillus* - через вдихання спор грибів із забрудненого повітря під час будівництва або поточного ремонту у ЗОЗ [37,68]. Наприклад, смертність від кандидемії коливається від 36% до 63%, залежно від особливостей пацієнта. Старше населення особливо вразливе, ймовірно, через різні фактори, включаючи похилий вік, високу супутню захворюваність, вікові фізіологічні зміни, поліфармакотерапію [69].

1.3. Основні клінічні типи ІПНМД, фактори ризику та методи профілактики

Клінічні типи ІПНМД

Поряд з інфекціями, викликаними перехресним зараженням між пацієнтами та медичними працівниками, пацієнтами, сприйнятливими до інфекцій через зниження рівня імунної відповіді, та ІПХВ, багато ІПНМД виникають через

інфікування імплантів та протезів. До них відносяться ІК, що пов’язані зі встановленням центральних судинних катетерів (ЦСК), катетер-асоційовані ІСВШ (КАІСВШ) вентилятор-асоційована пневмонія (ВАП, як частина ІДШ) [64,70,71].

Класифікація ІПНМД залежить від механізму передачі збудника та джерела інфекції, класифікація ІПНМД за видовим спектром менш поширена, окрім хвороби, спричинених «найсерйознішими» патогенами. Центр контролю та профілактики захворювань США у звіті за 2018 рік класифікує ІПНМД на різні типи, в залежності від типу медичного закладу (таб. 1.1.) [3,17,71–73].

Таблиця 1.1.

Класифікація ІПНМД за CDC США.

Лікарні екстренної медичної допомоги	**Стаціонарні реабілітаційні заклади**	**Стаціонари для лікування хронічних хворіб**
Інфекції кровообігу асоційовані з судинними катетерами	Інфекції кровообігу асоційовані з судинними катетерами	Інфекції кровообігу асоційовані з судинними катетерами
Катетерасоційовані інфекції сечовидільних шляхів	Катетерасоційовані інфекції сечовидільних шляхів	Катетерасоційовані інфекції сечовидільних шляхів
Вентиляторасоційовані події	антибіотикоасоційована діарея	Вентиляторасоційовані події
Інфекції пов’язані з хірургічними маніпуляціями	MRSA бактеріємія	антибіотикоасоційована діарея
Псевдомембранозний коліт (антибіотикоасоційована діарея)		MRSA бактеріємія
MRSA бактеріємія		

Інфекції кровотоку, пов’язані з цетральним венозним катетером

Інфекції ЦСК істотно характеризуються суттєвим збільшенням захворюваності, смертності та витратами на охорону здоров'я, тому їм приділяється велика увага [74,75]. Як наслідок, у 2009 році було зафіксовано 25 000 випадків у ВІТ США, що засвідчило зменшення кількості випадків ІК пов’язаних з ЦВК на 58% у порівнянні з 2001 роком. Це сприяло зменшенню витрат на лікування на 414$ [76]. За оцінками, в період з 2001 до 2009 рр. на профілактику ІК пов’язаних з ЦСК в США було витрачено ~ 1,8 млрд доларів США, що дозволило зберегти 27 000 життів. Незважаючи на ці інвестиції, значна кількість ІК все ще зустрічається, особливо в амбулаторних центрах гемодіалізу та стаціонарних відділеннях.

Інше дослідження продемонструвало зв'язок між ІК пов’язаними з ЦСК та значною смертністю, хоча кількість зареєстрованих випадків (від 20% до 62.5%) у різних країнах, що розвиваються, суттєво відрізняються [77]. Дослідження проведене у Тайланді продемонструвало, що ІК пов’язані з ЦВК виникали з частотою 3.93 з 1 000 катетер-днів [78]. Найчастіше виявляли грамнегативні мікроорганізми (39.2%), грампозитивні мікроорганізми складали 27.6%, та грибки *Candida* становили 27.6%. У цьому дослідженні у пацієнтів ІК розвивалися в середньому на 8-й день після встановлення ЦСК. Мультицентровий аналіз за шкалою Пітта з оцінки ризику розвитку бактеріємії продемонстрував, що чим більший інтервал встановленого ЦСК, тим вищий ризик смертності (OR 1.10; 95% CI=1.02–1.20). Інше схоже дослідження продемонструвало схожу залежність між тривалістю встановленого периферичного судинного катетеру для парантерального годування дітей у ВІТ та смертністю [79].

Інфекції, пов’язані з хірургічним втручанням

ІПХВ (раніше називалися «раневими інфекціями») все ще є одними з найпоширеніших ускладнень, які виникають в оперованих госпіталізованих пацієнтів, або під час амбулаторних хірургічних заходів, незважаючи на досягнення профілактичної медицини [80]. ІПХВ є найпоширенішими ускладненнями у післяопераційних хірургічних пацієнтів, пов'язані зі значною

захворюваністю, високою смертністю та фінансовим стресом як для національних бюджетів, так окремих пацієнтів [81–83]. ІПНМД визначаються як інфекції, що виникають через 30–90 днів після оперативного втручання у пацієнтів, якім трансплантували орган, групу клітин або якийсь медичний девайс, і вражають як ділянку розріз, так і глибші тканини навколо місця операційного поля [72,73].

Тип операції визначає поширеність ІПХВ. Від 2% до 36% пацієнтів можуть мати ІПХВ [19,73,84,85]. Тривалість перебування у стаціонарі для пацієнтів із ІПХВ збільшується з 4 до 32 днів у порівнянні з пацієнтами без післяопераційних інфекцій [86–88]. Найбільший ризик мають пацієнти після ортопедичного, серцево-судинного та внутрішньочеревного втручання. Приблизно у 25% пацієнтів із ІПХВ розвивається важкий сепсис та шок і їх переводять у ВІТ [77].

ІПНМД є найбільш поширеними після кардіохірургічних втручань, та становлять 5,0%-21,7% пацієнтів [89,90], часто супроводжуються поліорганною недостатністю та тривалим перебуванням в стаціонарі, що в свою чергу веде до збільшення смертності. Трьома найпоширенішими локалізаціями ІПНМД після хірургічних втручань на серці є легені, центральні венозні катетери і ділянки прямих хірургічних розрізів [81]. Другими за поширеністю ІПХВ, після кардіохірургічних втручань, є целюліт, та системні глибокі інфекції [91–93]. ІПХВ є вкрай прогностично несприятливими для ортопедичних пацієнтів, яким проведено хірургічне ортопедичне лікування. В одному дослідженні в Саудівській Аравії повідомлялося про частоту ІПХВ в таких пацієнтів на рівні 2.55%, причому найпоширенішими збудниками були *Staphylococcus spp*, в т.ч. MRSA (29.11%), *Acinetobacter spp* (21.5%), *Pseudomonas spp* (18.9%) та *Enterococcus spp* (17.7%) [94]. При аналізі факторів ризику ІПХВ варто розглядати клінічний стани пацієнтів, тип операції та тривалість операції. Переміщення та кількість персоналу, а також структурні особливості оперативного втручання також впливають на частоту виникнення ІПХВ [95,96]. Одне дослідження показало, що 73.33% випадків ІПХВ після ортопедичної операції супроводжувалися висіванням бактеріальної культури, і всього було виділено 35 бактеріальних штамів, серед яких 65.72% - грампозитивні

ізоляти, а 34.28% - грамнегативні бактерії [97]. Близько 68.6% усіх бактеріальних ізолятів були стійкими до цефуроксиму, який використовується для лікування ІПХВ після ортопедичних хірургічних втручань. Це дослідження також виявило, що цукровий діабет, тютюнопаління, операції тривалістю більше 3 годин, відсутність антибіотикопрофілактики та історія попередньої операції були позитивними факторами ризику, пов'язаними зі значним зростанням частоти ІПХВ [97].

ІПХВ складають щонайменше 14%-22.2% всіх ІПНМД для оперативних втручань на черевній порожнині [98–100] і часто призводять до тривалої госпіталізації та підвищення витрат на протимікробне лікування. Мікроорганізми, загалом залучені до таких ІПХВ, включають *S. aureus*, коагулазонегативні *Staphylococcus spp.* та *Enterococcus spp*., а також *E. coli* [83]. Відомо, що *S. aureus* є основною причиною ІПНМД уже понад 100 років [101]. При першому виділенні збудника,А майже всі штами були чутливими до пеніциліну, але після широкого і часто нераціонального застосування *S. aureus* почав ставати стійким, виробляючи фермент β-лактамазу. До 1960 р. 95% лікарняних варіантів *S. aureus* були стійкими [101,102]. Для боротьби з резистентністю було розроблено кілька нових пеніцилінів для протидії стафілококовій *β-лактамазі*, таких як метицилін, оксацилін, клоксацилін та флуклоксацилін. Однак, протягом 1 року з моменту продажу метициліну в 1960 році, в Англії був зареєстрований перший штам MRSA *S. aureus* [103]. На сьогодні відсоток штамів MRSA становить 50% ІПНМД в США та Європі та викликають інфекції, які дуже важко контролювати через їх потенційну стійкість до численних протимікробних препаратів [104–106]. В одному дослідженні частота ІПХВ після гастректомії становила 11.3%, після оперативного втручання на колоректальній ділянці 15.5%, після гепатектомії 11.3% та після панкреатикодуоденектомії 36.9% [98,107]. Показники ІПХВ не відрізнялися серед загальні типи швів при хірургії шлунка або при апендектомії. Американське дослідження педіатричних пацієнтів показало, що хоча це становить лише 2.5% випадків, колоректальна хірургія 7.1% випадків. Показники ІПХВ для

всіх видів колоректальної хірургії становили 5.9%, причому найвищий показник - колектомія (11.4%), що супроводжується частковою колектомією (8.3%) та закриттям колостоми (5.0%) [108]. Нарешті, дослідження з використанням одновимірного аналізу визначило 13 статистично значущих змінних, пов'язаних із ІПХВ. Це були пацієнти віком старше 60 років, цукровий діабет, застійна серцева недостатність, імунодефіцитний стан, вживання протипухлинних препаратів, імуносупресивних засобів, відкрита холецистектомія, лапаротомія, оцінка за шкалою Американського товариства анестезіологів вище 2, введення дренажу та забруднена п/о рана. За допомогою багатоваріантного регресійного аналізу це дослідження також виявило, що імуносупресивні засоби (2.5 [1.099–143.443]), відкрита холецистектомія (2.25 [2.242–40.109]) та заражена рана (2.179 [3.80–20.551]) були статистично достовірно пов'язані з ІПХВ [109,110].

Катетерасоційовані інфекції сечовидільних шляхів

ІСВШ є найпоширенішими ІПНМД у світі, поширеність яких становить близько 18.7-40%, що має значні наслідки для захворюваності та смертності та значні фінансові наслідки [19,110,111]. Приблизно 80% усіх КАІСВШ викликані постійним уретральним катетером та мають такі клінічні форми як простатит, пієлонефрит та цистит [112]. Хоча КАІСВШ зазвичай доброякісні, деякі пацієнти мають асимптомне бактеріоносійство, і ці пацієнти мають у 3 рази вищу смертність, ніж у пацієнти без бактеріурії [113,114]. Багатоваріантний аналіз вказує на фактори ризику ІСВШ, такі як подовження тривалості перебування катетера, жіночу стать, літній вік, цукровий діабет, відсутність системного шляху призначення антибіотиків, введення катетера поза операційною кімнатою та порушення у закритій системі дренажу катетера [113,115]. За оцінками, ризик виникнення ІСВШ зростає приблизно на 5% на добу, незалежно від тривалості перебування катетера, причому *E. coli* є основним патогенним мікроорганізмом, хоча був виявлений широкий спектр інших мікроорганізмів, включаючи й еукаріотичні грибки [116,117]. Повторюване нераціональне призначення антимікробних препаратів часто призводить до більшої антимікробної

резистентності. КАІСВШ зазвичай призводять до утворення біоплівки як на позапросвітній, так і на внутрішньопросвітній портальній катетерній поверхні, переважно мікроорганізмами з позапросвітньої поверхні [118–120]. Біоплівка захищає збудників як від антимікробних засобів, так і від механізмів імунного захисту господаря [121]. Хоча захворюваність на КАІСВШ при короткостроковому використанні катетера невелика, проте якщо катетери належним чином вставлені та очищені, а особливо у пацієнтів з тривалими постійними катетерами, частота КАІСВШ становить від 1 на 100 до 1 на 1000 катетерних днів. Пацієнти, які перебувають на стаціонарному лікуванні з тривалими катетерами, мають більший ризик наявності розвитку КАІСВШ, ніж пацієнти без катетерів [118]. За даними мета-аналізу встановлено, що КАІСВШ були пов'язані зі статистично достовірно вищими показниками смертності (OR = 1.99; [1.72-2.31]), та днями перебування у ВІТ (+12 днів; [9–15]) та днями на стаціонарному лікуванні (+21 день; [11–32]) [122]. За даними автралійських вчених, проведене протягом 4 років поспіль, встановлено, що термін перебування пацієнтів у стаціонарі продовжується на додаткові 4 дні [3.1–5.0 днів] у зв’язку з ІПНМД. Далі в цьому дослідженні повідомлялося, що рівень інфікування був статистично достовірно зменшений за допомогою моделі регресії Кокса (0.78; [0.73-0.83]), коли пацієнтів швидше виписували з лікарні. ІПНМД дуже рідко спричиняють смерть (0.71; [0.66–0.75]), особливо у великих лікарнях порівняно з іншими закладами охорони здоров’я, навіть із врахуванням віку та статі (0.74; [0.69–0.78]), хоча літні пацієнти частіше помирали (1.40; [1.38-1.43]) [123].

Інфекції дихальних шляхів

Ризик летального кінця для пацієнтів у ВІТ пов'язаний не тільки з їхньою основною хворобою, але часто й через ІПНМД [9,124,125]. Пневмонія є другою за частотою ІПНМД після ІСВШ, і вражає ¼ пацієнтів [126,127]. Біля 86% всіх ІПНМД тим чи іншим чином асоційовані із вентиляторами легень [126]. У 9%-27% пацієнтів з допоміжною вентиляцією легень розвивається ВАП. Середній критичний час для розвитку ВАП після ендотрахеальної інтубації становить 2–3

дні [128]. У пацієнтів зазвичай спостерігається лихоманка, аускультативно зміна бронхіальних звуків, зменшується кількість лейкоцитів, зміни у виділеннях мокротиння, часто вдається виділити збудник [129,129–133]. За даними дослідження у США виявилено, що частота розвитку ВАП становить 1.2 до 8.5 на 1000 днів штучної вентиляції легень [134], хоча міжнародна група повідомила про значно більшу частоту ВАП, що становить 13.6/1000 днів штучної вентиляції легень [135]. У країнах Азії інша картина – 3.5–46 інфекцій/1000 днів штучної вентиляції легень [136], з дуже високим показником захворюваності в Індії - 40.1 на 1000 днів штучної вентиляції легень [137]. Початкові 5 днів ШВЛ є найкритичнішим часом для розвитку ВАП, середня тривалість між інтубацією та розвитком ВАП - 3.3 дні [129,132–138]. Інше індійське дослідження повідомило, що неферментативні грамнегативні палички [139] були переважними мікроорганізми, відразу ж після роду *Pseudomonas* та *Klebsiella*. У цьому дослідженні поширеність *S. aureus* знизилася з 50.0% до 34,9% у період між 2011 та 2013 роками, але між 2012 та 2013 роками частота виявлення резистентних до ванкоміцину *Enterococcus* зросла з 4.3% до 8.3%, тоді як стійкість до метициліну серед *S. aureus* перевищила 50.0% у 2013 році. Крім того, спостерігалася тенденція до зростання резистентності представників роду *Pseudomonas* до піперацилін-тазобактаму, амікацину та іміпенему. Частота резистентності неферментуючих бактерій залишалася дуже високою, за винятком чутливості до амікацину та іміпенему (33.1%) та поліміксину-В (2.4%) [139]. Дослідження транстрахеальних аспіратів або бронхоальвеолярного лаважу пацієнтів, які мали ВАП, у Південній Кореї показало, що *S. aureus* (44%) - найчастіше виявлений збудник, за яким слідують *A. baumannii* (30%), *P. aeruginosa* (12%), *Stenotrophomonas maltophilia* (7%), *K. pneumoniae* (6%) та *Serratia marcescens* (2%) [140]. Крім того, *S. aureus* було виявлено як MRSA, а 69% *Acinetobacter baumannii* були стійкими до іміпенему. Не виявлено статистично значущої різниці у стійких до іміпенему *A. baumannii* між групами досліджень, пов'язаних з ранньою та пізньою ВАП. У цьому дослідженні 67% *K. pneumoniae* були ESBL-позитивними [140]. ВАП часто поєднана із

підвищеною захворюваністю, включаючи пролонговану інтенсивну терапію та госпіталізацію, а також більшу кількість днів штучної вентиляції легень та більші витрати на медичне обслуговування [141]. Актуальною проблемою також є стійкість *Pseudomonas aeruginosa* до цефтолозан/тазобактаму, хоча дана комбінація залишається актуальною у 2021 році для лікування ВАП, спричиненої даним патогеном [142].

У Великій Британії та Республіці Ірландія європейське дослідження ІПНМД, пов'язаних з респіраторною інфекцією, виявило рівень поширеності ІПНМД 7.59%. Серед цих ІПНМД 15.7% діагностовано як пневмонія, а 7% - інфекціями нижніх дихальних шляхів (ІНДШ), за виключенням пневмонії. Близько 21% пацієнтів в обох групах мали штучну вентиляцію легень. MRSA був основним збудником як для пневмонії, так і для ІНДШ. Пацієнти з ІНДШ більше страждали від діареї, спричиненої *C. difficile,* ніж пацієнти з ВАП [143]. За результатами досліджень китайських вчених у 14.94% пацієнтів розвиток ІПНМД був причиною продовження терміну перебування в лікарні та збільшив витрати на лікування на 2853.93 $ на випадок [144]. Інше дослідження показало, що 9.6% пацієнтів мали ІПНМД, серед яких домінували ІДШ – 65.8%. Найбільш часто виявленим респіраторним збудником був грамнегативний вид *Acinetobacter spp* (40.4%), серед якого 21 % штамів були MDR [145].

У значної кількості пацієнтів після оперативного втручання розвивається пневмонія, яка включає як госпітальну пневмонію (пневмонія, що розвивається через 48–72 години після поступлення у ЗОЗ), так і (як обговорювалося вище) ВАП (пневмонія, що розвивається через 48–72 години після ендотрахеальної інтубації) [125]. Післяопераційна пневмонія була описано як один з провідних наслідків усіх видів хірургічних втручань з високим рівнем захворюваності та смертності [146]. Це збільшує час перебування в лікарні в середньому на 7–9 днів та збільшує витрати на охорону здоров’я з 12 000 до 40 000 доларів США у розвинених країнах [127,138,147].

Фактори ризику

Основними факторами ризику ІПНМД є [3,17,71,72]:

• тривале та нераціональне використання інвазивних методів лікування та антибіотиків;

• медичні процедури з високим ризиком та складністю (фактори ризику, які залежать від лікувальної установи);

• імуносупресивний стан у пацієнта (фактори ризику, які залежать від самого хворого);

• недостатнє застосування запобіжних заходів щодо поширення ІПНМД (організаційні фактори ризику).

Факторами, які підвищують ймовірність виникнення ІПНМД є [3,17,71,72]**:**

• неадекватні екологічні та гігієнічні умови та переробка відходів;

• погана інфраструктура;

• недостатня оснащеність лікарень;

• недостатня кількість професійних медичних кадрів;

• переповнення лікарень пацієнтами;

• погана поінформованість про застосування основних заходів боротьби зі збудниками інфекцій;

• відсутність знань щодо безпеки ін'єкцій та переливання крові, а також застосування препаратів крові;

• відсутність локальних та національних настанов та протоколів із запобігання ІПНМД.

Окремо слід виділити фактори, пов'язані з біологічними особливостями мікроорганізмів, які є чинниками ІПНМД. Збудники ІПНМД мають виражену здатність до плівкоутворення як на слизових організму людини, так і на поверхнях катетерів, зондів, імплантів та інших засобів лікування та догляду за хворими. У таких штамів виявляють також гени адгезії до поверхонь штучних матеріалів. Але основним фактором, який виявляють у шпитальних штамів мікроорганізмів, є, звісно, виражена антибіотикорезистентність.

Економічні наслідки

Економічні наслідки ІПНМД суттєві та складають 7 млд євро на рік у країнах ЄС, в т.ч. прямі витрати на лікування та оплату 16 млн. днів додаткової госпіталізації; та близько 6.5 млд доларів на рік у США. Біля 4888 доларів на 1 випадок катетер-асоційованої інфекції кровообігу та 2255 доларів для ВАП [3,17,60].

Основними шляхами боротьби та профілактики ІПНМД є:

1. виявлення локальних випадків ІПНМД та вивчення можливих причинних дермінант;
2. вдосконалення систем звітності та нагляду на національному рівні;
3. забезпечення мінімальних вимог щодо засобів та виділених ресурсів для нагляду за ІПНМД на інституційному рівні, включаючи потужності мікробіологічних лабораторій;
4. забезпечення наявності основних компонентів для контролю ІПНМД на національному рівні;
5. виконання стандартних запобіжних заходів, особливо гігієни рук біля ліжка хворого;
6. поліпшення якості освіти та відповідальності персоналу;
7. проведення досліджень з адаптації та затвердження протоколів спостереження за ІПНМД на основі реальних даних у країнах, що розвиваються;
8. проведення досліджень щодо потенційного залучення пацієнтів та членів їх сімей до звітності та контролю за ІПНМД
9. видоспецифічна профілактика полірезистентних до антибіотиків збудників ІПНМД, для прикладу, рекомендації щодо профілактики MRSA та ESBL-продукуючої *E. coli* можуть відрізнятися
10. ізоляція MDR-позитивних пацієнтів (особливо MRSA) від інших пацієнтів та повідомлення інших лікувально-профілактичних установ про MDR-статус

11. скринінг медичних працівників та пацієнтів перед плановими оперативними втручаннями на MDR-збудники (особливо на MRSA)

1.4. ІПНМД в Україні: стан проблеми, критерії діагностики

В Україні

Відповідно до українського законодавства, ІПНМД - захворювання, які виникають у пацієнта під час перебування у ЗОЗ, або в іншому закладі, що надає медичну допомогу. Інфекційні захворювання, наявні або в інкубаційному періоді під час госпіталізації або на початку лікування, не належать до ІПНМД. ІПНМД включають інфекційні захворювання, отримані у ЗОЗ, але клінічно проявлені після закінчення лікування, у разі надійно доведеного зв'язку з лікуванням або діагностичними заходами. Окрему групу ІПНМД становлять інфекційні захворювання серед медичних працівників, отримані безпосередньо під час виконання професійних обов'язків [4].

Проблема ІПНМД в Україні залишається недостатньо вивченою. Існують клінічні, лабораторні та епідеміологічні критерії діагностики ІПНМД на основі наказу Міністерства охорони здоров'я України від 28.12.2015 № 905, який базується на критеріях ВООЗ. В Україні епідеміологи місцевих лікарень та лікарі стаціонарних відділень можуть реєструвати випадки ІПНМД та повинні бути звітні до місцевого центру громадського здоров'я, який має ініціювати створення комісії з розслідування випадків ІПНМД для розслідування з можливими санкціями для відділу охорони здоров'я. На нашу думку, в українських медичних колах все ще існує тенденція мовчати і не реєструвати випадки ВГАІ через можливий санкційний механізм, який карає лікаря та лікарню за кожен випадок ІПНМД, а не конструктивно розслідує його.

В Україні інфраструктура системи інфекційного контролю за ІПНМД залишається малорозвиненою. З 2017 року практично була наявна тільки 1 клінічна

настанова «Настанова 00013. Внутрішньолікарняні мультирезистентні штами бактерій» [148], яка класифікувала основні збудники ІПМНД на 4 типи, які очевидно не охоплювали всіх потенційних збудників:

1) МРЗС (метицилін-резистентний золотистий стафілокок *Staphylococcus aureus*)
2) БЛРС (штами бактерій, що продукують β-лактамази розширеного спектру)
3) КПЕ (карбапенемаза-продукуючі ентеробактерії)
4) ВРЕ (ванкоміцин-резистентні ентерококи).

Критерії встановлення діагнозу ІПНМД в Україні

Особливості діагностики ІПНМД висвітлені у відповідних до рекомендаціях Центру Громадського Здоров'я України [149]**.** Враховуються як епідеміологічні показники, так і результати мікробіологічних досліджень. Особливо важливими є кількісні показники висівання імовірних збудників ІПНМД, їхня коректна ідентифікація та встановлення значимості виявленого мікроорганізма в розвитку ІПНМД (Додаток 6).

1.5. Розробка нових «лікоподібних молекул», як спосіб боротьби з ІПНМД та АМР

Розробка молекул із поліфармакологічним профілем є одним із перспективних підходів в створенні нових лікарських засобів. Ця стратегія є прикладною при пошуку агентів для лікування мультифакторних патологій, таких як хвороба Альцгеймера, атеросклероз, астма, ревматоїдний артрит, діабетичні ускладнення, малярія, туберкульоз, рак, різноманітні захворювання ЦНС, зокрема розсіяний склероз, що характеризуються складною етіопатологією. За рекомендацією ВООЗ, нові синтетичні молекули з протимікробною дією є одним з основних короткотермінових підходів боротьби з антибіотикорезистентністю збудників

інфекційних хвороб [150], як основної причини смертності у світі до 2050 року, що перевершить смертність від онкологічних захворювань. Зважаючи на цілий комплекс патофізіологічних змін в організмі спричинених онкологічною патологією, інфекційними та паразитарними захворюваннями даний підхід є актуальним й перспективним [151]. У цьому контексті виправданою є концепція використання т.з. «привілейованих структур», що характеризуються широким спектром біологічної активності, до яких належать похідні 2/4-тіазолідинону (рис. 1.1.), які, окрім того, завдяки наявності декількох реакційних центрів в базовому гетероциклі відносно легко надаються до хімічної модифікації [152–154].

Проблемою синтезу, вивчення фармакологічної активності та впровадження в медичну практику похідних тіазолідинону займаються ряд провідних фармацевтичних компаній та лабораторій світу: Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd., (Tochigi, Японія), Dr. Reddy's Research Foundation (Індія), Central Pharmaceutical Research Institute (Osaka, Японія), Wyeth-Ayerst Research, Inc. (Princeton, New Jersey, США), Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd. (Ibaraki, Японія); Pharma-Forschung, Ciba-Geigy AG (Basel, Швейцарія), Warner-Lambert Co. (США) та багато інших. Висока активність наведених вище наукових колективів зумовила ряд принципово нових наукових рішень, які привели до впровадження у медичну практику цілої групи інноваційних лікарських засобів, серед яких гіпоглікемічні тіазолідиндіони (піоглітазон та його аналоги), інгібітори альдозоредуктази (епальрестат), подвійні інгібітори COX-2/5-LOX (дарбуфелон), діуретики нового покоління (етозолін), тощо.

Останніми роками одним з успішних напрямків дизайну структури потенційних лікарських засобів є «гібрид-фармакофорний» підхід, який передбачає поєднання в одній молекулі різних фрагментів, що можуть бути частинами, біоміметиками та/або біоізостерами біологічно активних молекул чи лікарських засобів, що дозволяє потенціювати бажану дію чи появу нових ефектів. Ця стратегія є актуальною для пошуку нових високоактивних сполук на основі 2/4-тіазолідинонів як ефективних біофорів. Так, сучасні дослідження

фармакологічного потенціалу тіазолідинонів дозволили суттєво розширити спектр їх активності, включно із протитрипаносомною [155], протираковою [156–158], антиоксидантною [159], протизапальною [160–162], антибактеріальною та протигрибковою [163,164], противірусною [165,166], протипаразитарною, протитуберкульозною, тощо. Поряд з цим отримані незаперечні докази афінності цих похідних до біомішеней, що беруть участь у біохімічних процесах росту пухлинних клітин (TNF-α-TNFRc-1, JSP-1, антиапоптичний комплекс Bcl-XL-BH3), життєвому циклі мікроорганізмів (UDP-NmurNAc/L-Ala-лігази), розвитку запальних станів (COX-2/5-LOX) та у розвитку цукрового діабету II типу (PPARγ).

Оцінка антимікробної активності також є актуальною та перспективною для сполук на основі тіазолу. Так, серед тіазолідинонів, особливо роданінів, було виявлено декілька β-лактамаз [167], сортазу A (SrtA) [168], пептиддеформілазу [169], білок маннозилтрансферазу 1, UDP-галактопіранозну мутазу (UGM) [169], Інгібітори синтази UDP-N-ацетилмурамату/L-аланінлігази (MurC) [170] та доліхолфосфатманози [171]. Окрім того, тіазольний гетероцикл присутній у препаратах з протимікробною дією, таких як пеніцилін, монобактам, сульфатіазол, тіабендазол, нізатідин, а також препаратах для лікування раку, таких як сунітіміб, що робить похідні тіазолу/тіазолідинону потенційним джерелом нових агентів з політаргетною дією.

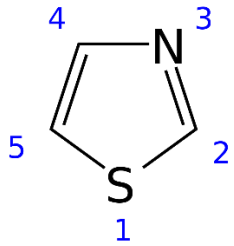


Рис. 1.1. Тіазольне кільце (https://en.wikipedia.org/wiki/Thiazole)

Серед вітчизняних закладів у дослідженні тіазолідинонів як потенційних лікарських засобів пріоритет належить кафедрі фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені

Данила Галицького, що обгрунтовано понад 60-річними традиціями наукової школи професора Миколи Туркевича. Останніми десятиліттями раціональне поєднання органічного синтезу та фармакологічного скринінгу (в тому числі в рамках міжнародних програм Національного інституту здоров'я США, програми українсько-французського наукового співробітництва «Дніпро») дозволили виокремити тіазолідинони та їх поліциклічні похідні як потенційні протипухлинні та протипаразитарні агенти. На основі in silico підходів (COMPARE-аналіз, QSAR, молекулярний докінг) запропоновано ймовірні механізми реалізації біологічної дії високоактивних похідних, що є теоретичною основою для експериментальних досліджень механізмів дії. З огляду на все вище сказане розробка нових агентів з поліфармакологічним профілем серед похідних тіазолідинону є актуальним та перспективним завданням медичної хімії як етап створення інноваційних вітчизняних лікарських засобів.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

1.1. Дизайн експериментального етапу дослідження

Матеріали даного дослідження були розглянуті та схвалені «Комісією з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького» (25.06.2018 № 6, комісії з біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького та протокол № 6 від 22.06.2020) (Додаток 14).

В ході виконання даної роботи планувалося наукове клінічне дослідження за участю людей та експериментальне дослідження з використанням тварин.

Наукове клінічне дослідження за участі людей було проведене з метою виділення бактеріальних та грибкових збудників ІПНМД. Учасниками дослідження були пацієнти ВІТ деяких лікарняних установ міста Львова, а саме: Львівської обласної клінічної лікарні, Військово-медичного клінічного центру західного регіону, Львівської Обласної Дитячої Клінічної Лікарні Охматдит, КНП "8-а міська клінічна лікарня м. Львова", згідно угод про співпрацю між ЛНМУ імені Данила Галицького та вищевказаними лікувальними установами. Додатково учасниками дослідження були пацієнти, котрі були скеровані працівниками суміжних підрозділів ЛНМУ імені Данила Галицького в наукову лабораторію кафедри мікробіології науково-експериментального центру НДІ епідеміології і гігієни ЛНМУ імені Данила Галицького, з метою проведення бактеріологічних досліджень з науковою метою. Загальна кількість учасників дослідження – 250 осіб.

Критеріями включення учасників у дослідження були клінічні, епідеміологічні та мікробіологічні критерії постановки діагнозу «інфекція,

пов’язана з наданням медичної допомоги (нозокоміальна інфекція, внутрішньолікарняна інфекція)», згідно рекомендацій Центру громадського здоров’я МОЗ України [172]. Учасників дослідження розділяли на групи, відповідно до локалізації інфекційного процесу та джерела інфекції. Проведено анкетування учасників з метою збору анамнезу антибіотикотерапії та вживання інших лікарських препаратів з антибіотичною дією, оскільки ця інформація важлива для розуміння механізмів розвитку антибіотикорезистентності в учасників. Також залучено інформацію з медичної документації (історія хвороби, результати клінічно-лабораторних досліджень).

Обстеження пацієнтів проводили згідно чинної нормативно-правової документації: Наказ охорони здоров'я України 10.05.2007 N 234 (z0694-07); Направлення на дослідження оформляються відповідно до форм медичної облікової документації № 204/о та № 205/о затверджених наказом МОЗ України від 4 січня 2001 р. № 1; Наказ МОЗ 05.04.2007.

Забір клінічного матеріалу для мікробіологічного дослідження (кров, сеча, бронхо-альвеолярний аспірат, мазки з післяопераційних ран, мазки з ротоглотки, випорожнення, змиви з ендотрахеальних трубок та катетерів) проводився одноразово. Окремим учасникам було проведено повторні забори клінічного матеріалу у зв’язку з тривалим перебування учасників в стаціонарі та клінічною необхідністю у повторі мікробіологічної діагностики.

Ризик та незручності пов’язані з участю у дослідженні передбачали дискомфорт при заборі матеріалу ватним тампоном із ротоглотки учасника або з ділянки післяопераційної рани при перев’язці. Додаткових незручностей чи ризику при заборі інших біоматеріалів не було, оскільки біоматеріал для даного наукового дослідження відбирався від забраного біометріалу для рутинних діагностично-лікувальних процедур в лікувально-профілактичній установі.

Очікувана користь для учасника дослідження передбачала безкоштовне мікробіологічне дослідження з виділенням збудника інфекцій з

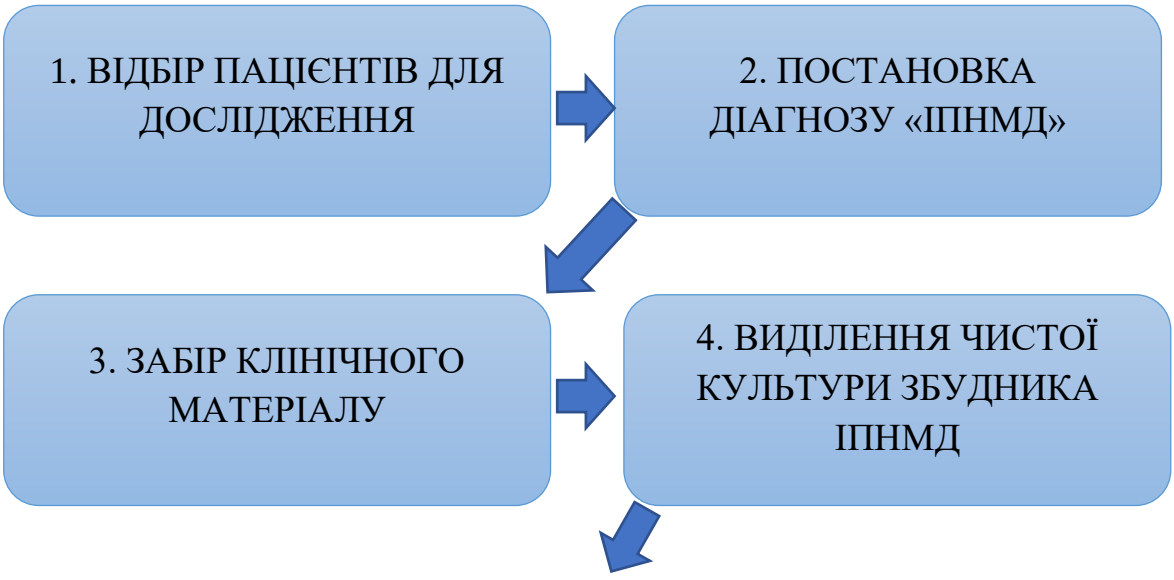
антибіотикограмою, що дозволило лікуючим лікарям коригувати антибіотикотерапію, враховуючи етіологічні фактори.

Експериментальне дослідження з використанням тварин проводилося на базі кафедри мікробіології та віварію НДІ епідеміології та гігієни ЛНМУ імені Данила Галицького, за участі ЦНДЛ та лабораторії промислової токсикології ЛНМУ імені Данила Галицького. Для експерименту були використані щурі (36 голів), миші (45 голів), мурчаки (40 голів) та кролі (5 голів). Тварин отримали з віварію ЛНМУ імені Данила Галицького та утримувати згідно із «Санітарними правилами по облаштуванню, обладнанню та утриманню експериментально-біологічних клінік (віварію)».

2.1.1. Загальна схема дослідження

Алгоритм експериментального на тваринах, та наукового за участю людей, досліджень продемонстровано на рис. 2.1.

Підготовчий етап передбачав аналіз даних ЦГЗ України щодо зареєстрованості випадків ІПНМД в Україні протягом 2009-2020 років.



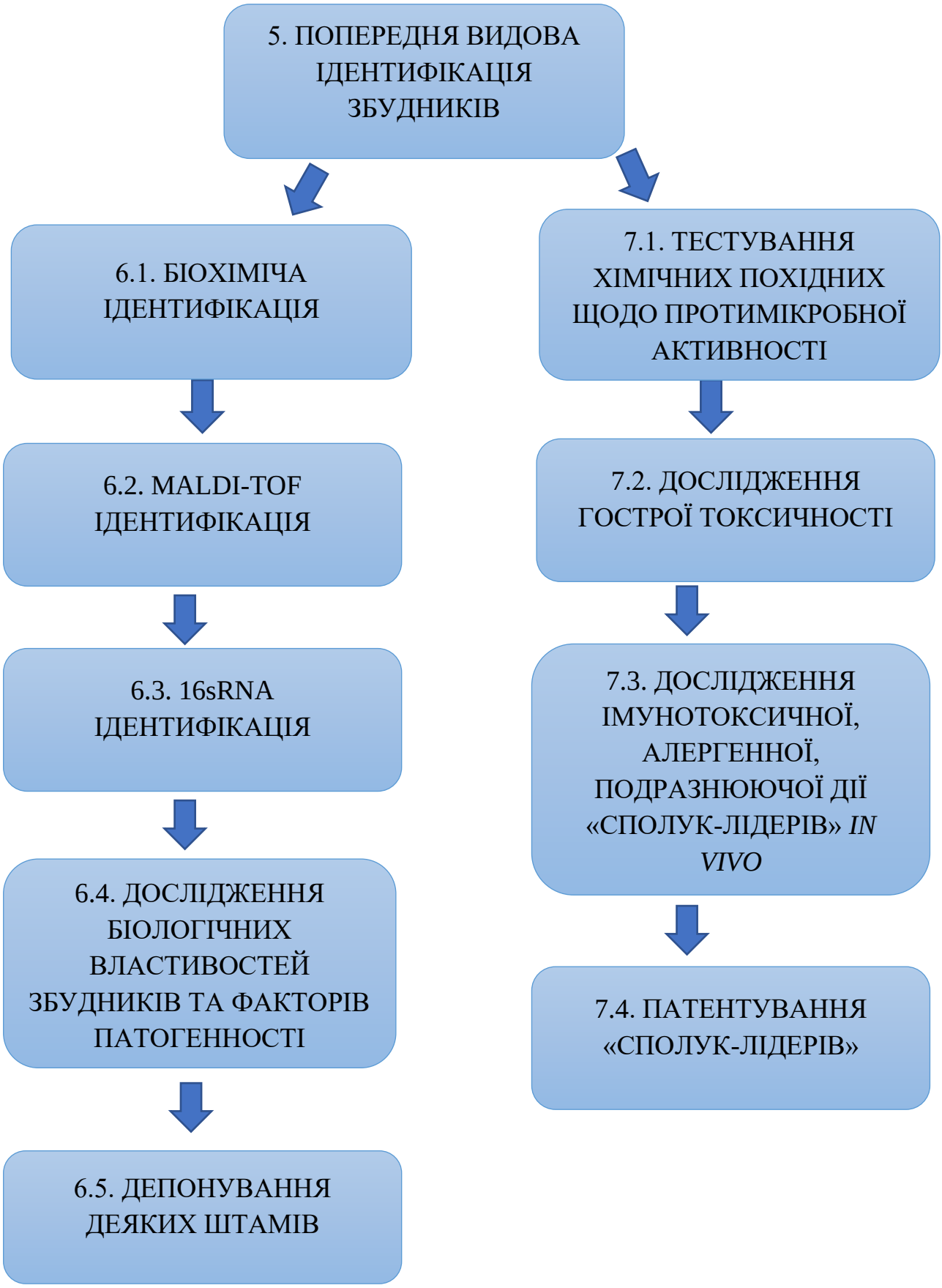


Рис. 2.1. Схематичне зображення послідовності кроків наукового та експериментального етапів дослідження

2.1.2. Клінічна характеристика випадків ІПНМД

Дослідження за участю людей проводили на базі ВІТ 4-х ЗОЗ міста Львова в проміжку червень 2018 року – червень 2019 року. Діагноз «ІПНМД» виставлявся на основі клінічних, епідеміологічних та мікробіологічних критеріїв, наведених у Розділі 1, підрозділі 1.4. Усім пацієнтам проводили анкетування, враховували інформацію з історії хвороби, детальне збирання скарг, анамнезу хвороби та життя, комплексний об'єктивний огляд і аналіз результатів додаткових лабораторних, а також інструментальних обстежень, як рутинних, так і додаткових за системами органів. Зібрану інформацію записували у відповідну анкету (рис. 2.2.).

Установа

Дата заповнення картки/забору матеріалу

Дата поступлення у стаціонар

Тривалість перебування у стаціонарі

Номер історії хвороби №

Забраний біоматеріал

1	Прізвище ім'я по батькові		
2	Вік		
3	Діагноз		
4	Результати лабораторних обстежень, ознаки запалення на момент забору ('+', '-', 'число')	Лейкоцитоз ШОЕ Температура тіла СРП Інші	
5	Бак.посіви + а/б грами (якщо були, можна зробити фото посіву)		
6	Чи проводились: інтубація трахеї, ендотрах. трубка, катетеризація вени, катетер. сеч міхура (скільки часу встановлені катетери)		
7	Антибіотикотерапія (назви антибіотиків, протимікробних препаратів, протигрибкових препаратів) На момент забору матеріалу		
	Антибіотикотерапія в анамнезі		

Рис. 2.2. Анкета учасника дослідження.

2.1.3. Виділення чистої культури.

Робота виконана в науково-дослідній лабораторії кафедри мікробіології, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (дозвіл у додатку 1). Мікробіологічні дослідження проведено у відповідності до вимог «Правил влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю ДСП 9.9.5.-080-02», затверджених постановою №1 Головного державного санітарного лікаря України 28.01.2002 р.

Забір та мікробіологічне дослідження зразків клінічного матеріалу проводився згідно з чинними нормативно-директивними документами зі спеціальності «Бактеріологія та вірусологія» [173,174] та «Керівництвом з клінічної мікробіології» 12-го перегляду від Американської асоціації мікробіології [175] з використанням стандартних поживних середовищ (МПА, МПБ, жовтково-сольовий агар, кров'яний агар, Ендо, Сабуро) та хромогенних диференційно-діагностичних поживних середовищ. Забір матеріалу, його доставку проводили відповідно до існуючих вимог щодо транспортування матеріалу для бактеріологічних досліджень. Доставку біоматеріалу здійснювали протягом двох годин після забору при температурі навколишнього середовища (18–25 ℃) в спеціальних пробірках для транспортування біоматеріалу (тампон з транспортним середовищем).

Визначення кількості мікроорганізмів проводили шляхом посіву зразків біоматерів секторальним методом на поживні середовища, окремі колонії згодом пересівали для виділення чистих культур та видової ідентифікації мікроорганізмів. Кількісний показник мікробного інфікування подавали у колонієутворюючих одиницях мікроорганізмів в 1 мл (КУО/мл) у десяткових логарифмах (lg). [174].

2.1.4. Біохімічна ідентифікація.

Біохімічну ідентифікацію збудників ІПНМД проводили за допомогою наборів MIKRO-LA-TEST NEFERMtest24, ENTEROtest24 (рис. 2.6.), CANDIDAtest21 (рис. 2.7.), STAPHYtest24 (рис. 2.8.), STREPTOtest24 (ErbaLacema, Czech Republic), а також хромогенних диференційно-діагностичних середовищ CHROMID*S.aureus Elite, CHROMID*VRE (рис. 2.4.), CHROMID*MRSA SMART, CHROMID*CARBA SMART, CHROMID* ESBL (рис. 2.4.), CHROMID*OXA-48, CHROMID*Candida (рис. 2.5.), CHROMID*PAID (рис. 2.3.) (Biomerieux).

Рис. 2.3. Хромогенне диференційно-діагностичне середовище CHROMID*PAID.

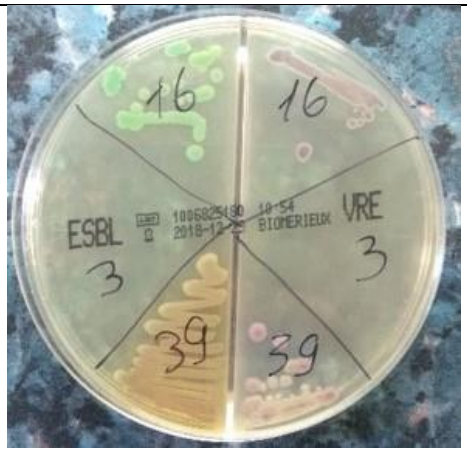


Рис. 2.4. Хромогенне диференційно-діагностичне середовище CHROMID* ESBL/VRE.

Рис. 2.5. Хромогенне диференційно-діагностичне середовище CHROMID*Candida.

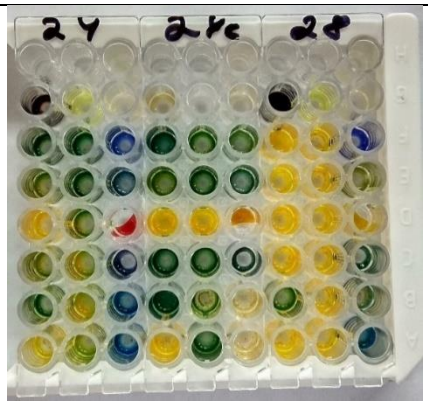


Рис. 2.6. Набір для біохімічної ідентифікації ENTEROtest24.

Рис. 2.7. Набір для біохімічної ідентифікації CANDIDAtest21.

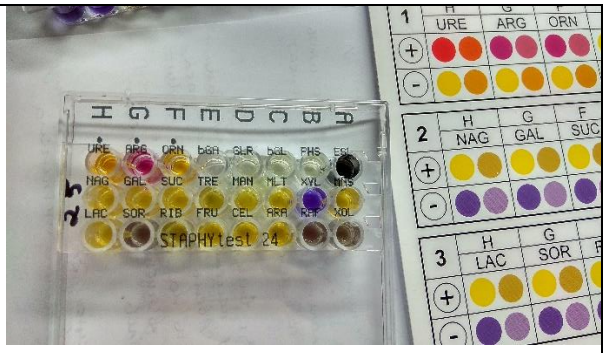


Рис. 2.8. Набір для біохімічної ідентифікації STAPHYtest24.

Біохімічну ідентифікацію за допомогою вищевказаних наборів (MIKRO-LA-TEST NEFERMtest24, ENTEROtest24 (рис.2.6.), CANDIDAtest21) проводили згідно інструкцій виробника [176], із залученням додаткових тестів для специфічнішої ідентифікації: INDOLtest, OXItest, PYRAtest, VPtest ((реакція Фогес-Проскауера). Набори дозволяли кожному штаму присвоїти 8-ми або 9-ти значний номер для подальшої ідентифікації, за допомогою книги кодів.

Книга кодів давала змогу встановити відсоток точності ідентифікації, а також Т-індекс (індекс атиповості штаму). Можливі варіанти відсотку точності ідентифікації:

% Id> = 99 - таксон відмінно відрізняється від інших таксонів

% Id> = 95 - таксон дуже добре відрізняється від інших таксонів

% Id> = 90 - таксон задовільно відрізняється від інших таксонів

% Id <90 - таксон незадовільно відрізняється від інших таксонів

Можливі варіанти Т-індексу:

Т-індекс> = 0.75- типовий штам

Т-індекс> = 0.50- менш типовий штам

Т-індекс> = 0.25- атиповий штам

Т-індекс <0.25- повністю атиповий штам

2.1.5. Молекулярно-генетичні методи (16sRNA-ID, RAPD-PCR, PCR).

Хромосомну ДНК із ізолятів *S. aureus* екстрагували згідно інструкції до наборів Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep Kit (Zymo Reserch, США).

Ампфлікацію проводили в термоциклері «Mastercycler nexus» (Eppendorf AG 22331, Німеччина). Реакційна суміш містила 5 мкл Dream Tag Green Buffer, 1 мкл dNTP 10M, 0,5 мкл прямого і зворотного праймерів, 2,5 мкл ДМСО, 37 мкл бідистильованої води, 0,5 мкл полімерази Dream Tag і 3 мкл ДНК стафілокока.

Програма ПЛР: початкова денатурація при 94 °С, 4 хв, а потім 30 циклів 94 °С - 40 сек., 48 °С - 30 сек. і 72 ° С 1 хв., і кінцевий етап розширення при 72 °С, 10 хв. Продукти ПЛР аналізували за допомогою електрофорезу в агарозному гелі з фарбуванням бромід етидієм (0,2 мкг / мл). Фотографування гелів проводили за допомогою апаратно-програмного комплексу Gene Genius (Syngene, Німеччина).

Наявність генів резистентност до ванкоміцину гени *Van A* та *Van B* визначали методом ПЛР. Праймери, що використовуються для виявлення генів, що кодують резистентність до ванкоміцину, Van AF (5'-GGGAAACGACAATTTGC-3 ') і Van A R (5'-GTACAATGCGGCCGTTA-3'), розмір амплікона 732 bp, Van BF (5'-CATCGCCGTCCCCAATTCA) Van B R (5 ' - GATGCGGAAGATACCGTGGCT -3') амплікон розміром 297 bp. та з методом випадкової ампліфікації поліморфної ДНК (RAPD-PCR) з використанням праймерів AP3 (5'ATG TCC CGC GTC AGG3 '), AP4 (5'GCC CGA GCA ACA CCC3') та AP5 (5'CGG GTC ATT TAT TGT ACC CCT AGT CAC GGC3 ') (Genomed).

Ампліфікацію та секвенування генів 16S рРНК проводили за допомогою універсальних праймерів: 27F, 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 1492R, 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'. Штами вирощували у 10 мл середовища TSB при 28 ° С протягом 3 днів при 180 об/хв, і загальну ДНК виділяли, як описано у методиці [177]. Ампліфікацію гена 16S рРНК проводили за допомогою універсальних бактеріальних праймерів: 27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) та 1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) [178]. Отримані фрагменти очищали гелем

за допомогою набору для екстракції гелю QIAquick (Qiagen, Нідерланди) і секвенували ті ж праймери, щоб генерувати майже повну послідовність генів (наприклад для *K. pneumoniae* 1351 ~ 1396 п.н.). Пряма і зворотна послідовності були зібрані за допомогою програмного забезпечення SeqMan DNAStar (Lasergen, Х'юстон, США). Отримані консенсусні послідовності були проаналізовані BLAST на основі бази даних 16S SILVA. Послідовності були депоновані в GenBank (наприклад для *K. pneumoniae* номери приєднання: KT266894-KT266903).

Випадкова ампліфікація поліморфної ДНК (RAPD) [179] була використана за допомогою праймерів AP3 (5'ATG TCC CGC GTC AGG3 '), AP4 (5'GCC CGA GCA ACA CCC3') і AP5 (5'CGG GTC ATT TAT TGT ACC CCT AGT CAC GGC3 ') (Genomed), порівняння здійснювали за допомогою електрофореграм. За допомогою цього методу було проведено порівняння між різними штамами-збудниками ІПНМД для мікробіологічного підтвердження шляху передачі збудників ІПНМД.

2.1.6. Мас-спектрометрична ідентифікація (MALDI_TOF, PCA, MSP).

Мас-спектрометричну ідентифікацію збудників було проведено на кафедрі мікробіології Колегіуму медичного ім. Людвіка Ридигера, Торунського університету ім. Миколая Коперника, Польща.

Виділені ізоляти збудники ІПНМД були ідентифіковані в системі MALDI TOF (Bruker) з різним ступенем ідентифікації [180]. Оцінка ≥2.0 демонструвала ідентифікацію до виду; значення від 1.7 до 1.9 вказувало на ідентифікацію роду, а значення балів <1.7 не вказувало на достатню ідентифікацію.

Ізоляти порівнювали між собою за допомогою аналізу основних компонентів (PCA) у програмному забезпеченні MALDI Biotyper Compass Explorer [181].

Списки спектральних піків для конкретного штаму були перенесені в MSP (Main spectra profiles), що містить інформацію про середні пікові маси, середні пікові інтенсивності та пікові частоти. Для візуалізації деформаційного зв’язку

була сформована дендрограма на основі MSP. Подібний MSP призводить до високого значення відповідності. Кожен з цих MSP порівнюється з усіма MSP аналізованого набору. Список значень балів використовується для обчислення нормованих значень відстані між аналізованими видами, в результаті чого формується матриця відповідних балів. Візуалізація відповідного співвідношення між MSP відображається на дендрограмі з використанням наступних налаштувань програмного забезпечення MALDI Biotyper 3.0: міра відстані була встановлена на кореляцію, зв'язок на середній і порогове значення для окремого організму на 700. На основі Sauer et. ін. (2008) , кластери штамів з рівнями відстані <500 були класифіковані як види.

2.1.7. Визначення ступеня антимікробної резистентності

Чутливість виділених штамів мікроорганізмів визначали загальноприйнятим диско-дифузійним методом (метод Кірбі-Бауера), відповідно до наказу МОЗ України №167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [182], а також відповідно до методичних рекомендацій «Методичні рекомендації з визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів», розроблених та адаптованих до Керівництва Європейського комітету з визначення чутливості до антимікробних препаратів (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Nesting – EUCAST) [183]. Також брали до уваги власне рекомендації EUCAST [184,185].

За чутливістю до протимікробних препаратів бактеріальних збудників, відповідно до рекомендацій Європеського CDC [186], класифікували на:

1. нерезистентні (неполірезистентні) до антибіотиків (non-MDR);
2. полірезистентні до антибіотиків (MDR);
3. з розширеною резистентністю (XDR);

4. панрезистентні (PDR).

Для визначення чутливості мікроорганізмів застосовували стандартні диски з антибіотиками (таб. 2.1.) виробництва ТОВ «Фармактив» (Україна) відповідно до переліку, рекомендованому МОЗ України, та диски з антибіотиками «Himedia» (Індія), диски з антибіотиками «Аспект» (Україна).

Таблиця 2.1.

Перелік дисків з антибіотиків, використаних у даному дослідженні

№	Назва антибіотика	скорочення	мкг
1	**2**	**3**	**4**
1	бензилпеніцилін	бен	6 ОД
2	ампіцилін	амп	10
3	амоксиклав	амо/амд	20;10
4	піперацилін	пір	100
5	іміпенем/циластатин	імп	10
6	меропенем	мер	10
7	цефазолін	цеф	30
8	цефуроксим	цур	30
9	цефтріаксон	цфа	30
10	цефотаксим	цфт	30
11	цефепім/єфіпім	цфп	30
12	ванкоміцин	ван	30
13	метронідазол	мтр	5
14	бацитрацин S	B-S	
15	оксацилін	окс	1
16	ципрофлоксацин	цип	5
17	левофлоксацин	лвф/лоф	5;5
18	гатіфлоксацин	гат	5

1	2	3	4
19	сульбактомакс	сул	45
20	тобраміцин	tob10	10
21	гентаміцин	гет	10
22	офлоксацин	офл	5
23	сизоміцин	SS10	10
24	амікацин	амк	30
25	моксифлоксацин	мок	5
26	рифампіцин	риф	5
27	азтреонам	ат30	30
28	тетрациклін	тет	30
29	кліндаміцин	клн	2
30	нетилміцин	нет	30
31	ко-тримоксазол	ктр	25
32	новобіоцин	nov	
33	фуразолідон	фрз	300
34	лінезолід	лнз	30
35	еритроміцин	ерт	15
36	фуразидин	фур	300
37	азитроміцин	азт	15
38	цефтазидим	цфз/цфд	30;30
39	сульперазон	сул	75
40	ампісульбін	амп	10
41	тейкопланін	tei 30	30
42	фосфоміцин	фмц	100
43	доксициклін	док	30
44	тіґециклін	tgc 15	15
45	колістин	cl 25	25

1	2	3	4
46	левоміцетин	лев	30
47	ністатин	нст/ns100u	80од/100u
48	канаміцин	кан	30
49	цефалексин	цфл	30
50	стрептоміцин	стр	10
51	лінкоміцин	лнк	15
52	кларитроміцин	клр	15
53	норфлоксацин	нор	10
54	цефоперазон	цфп	75
55	цефоперазон/сульбактам	цфр	50/50
56	цефіксим	цфк	5
57	нітрофурантоїн	нфр	300
58	флуконазол	флу	25
59	поліміксин В	pb 300u	300u
60	кетоконазол	кет	20
61	клотримазол	СС 10/кло	10;10
62	ітраконазол	it30/itp	30;10
63	амфотерицин В	амв/ap100u	40;100
64	нітроксолін	нтр	30

Тести на чутливість до антибіотиків досліджуваних штамів проводили в системі Phoenix (Becton Dickinson) з використанням панелей NMIC-402.

2.1.8. Виявлення продукції β-лактамаз

Фенотипове виявлення продукції β-лактамаз проводили на основі методичних рекомендацій EUCAST [183,185]. Зокрема використовували скринінгові методи виявлення карбапенемаз (виявлення продукування

ентеробактеріями карбапенемаз із застосуванням меропенему та ертапенему (таб. 2.2.) [187,188].

Таблиця 2.2.

Клінічні граничні та скринінгові порогові значення
діаметрів зон затримки росту для виявлення карбапенемазопродукуючих ентеробактерій (за методологією EUCAST)

Карбапенеми	Діаметр зони затримки росту (мм), 10 мкг/диск	
	граничнез наченняЧ/ПР	Порогове значення для скринінгу
Меропенем	≥ 22	< 28[1]
Ертапенем	≥ 25	< 29[2]

Примітки:

[1]Якщо зона пригнічення росту знаходиться в межах 25–27 мм, пошук продукування карбапеменаз продовжується лише у випадку резистентності ізоляту до піперацилін/тазобактаму або темоциліну (темоцилін володіє більшою специфічністю). Якщо діаметр зони пригнічення росту складає <25 мм, виявлення карбапеменаз проводитьсяобов'язково.

[2] [188]

Також застосовували хромогенні диференційно-діагностичні середовища CHROMID*ESBL (рис.2.4.), CHROMID*OXA-48 (Biomerieux) для детекції β-лактамах розширеного спектру дії, та карбапенемаз ОХА-48.

Додатково скринінгові методи виявлення ESBL у ентеробактерій передбачали застосування дисків з антибіотиками, відповідно до рекомендацій EUCAST (таб 2.3.; таб. 2.4.), інтерпретацію результатів проводили за використання маркерів цефалоспоринів та методом комбінованих дисків [183].

Таблиця 2.3.

Скринінг продукції ESBL

у ентеробактерійза використання маркерів цефалоспоринів

Метод	Антибіотик	Облік результатів: + продукція ESBL за умови, що
Диско-дифузійний метод	Цефотаксім (5 мкг) і цефтазидим (10 мкг)	Діаметр зони інгібуванняросту ентеробактерій < 21 мм і < 22 мм відповідно
	Цефтріаксон (30 мкг) і цефтазидим (10 мкг)	Діаметр зони інгібуванняросту ентеробактерій < 23 мм і < 22 мм відповідно

До 1-ї групи ESBL ентеробактерій належать *E. coli*, *Klebsiella spp*., *P. mirabilis*, а також *Salmonella spp*., *Shigella spp*., яких ми не виявляли. До 2-ї групи ентеробактерій належать *Enterobacter spp*., *Seratia spp*., *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, а також *Providencia spp*., *Hafnia alvei*, яких ми не виявляли.

Фенотиповий метод виявлення резистентності *Enterococcus faecium* і *Enterococcus faecalis* до ванкоміцину полягав у застосуванні диско-дифузійного методу, у відповідності до рекомендацій EUCAST для невимогливих бактерій [183,185]. Для виявлення індуцибельної резистентності, яку можуть мати деякі ізоляти мікрококів, інкубація повинна продовжуватися протягом 24 год. При цьому особливо ретельно вивчають чіткість країв зони інгібування росту з визначеннями – чіткий, розмитий або наявність мікроколоній у зазначеній зоні. Чіткі краї зони інгібування росту свідчать про чутливість ізоляту до АМП. Отже, ізолят з чітким краєм і діаметром, більшим за граничне значення, оцінюють, як чутливий до ванкоміцину. Розмиті краї зони інгібування росту або з ростом мікроколоній

всередині зони, незалежно від розмірів її діаметру, повинні оцінюватися, як резистентні до ванкоміцину. Сумнівні результати були перевірені на чутливість методом розведень з визначенням МІК.

Таблиця 2.4.

Підтвердження продукції ESBL методом комбінованих дисків для ентеробактерій 1-ої і 2-ої груп за позитивних результатів скринінгу

Ентеробактерії	**Назва цефалоспоринів (у дисках)**	**Продукція ESBL підтверджується, якщо:**
1-ої групи	Цефотаксим (30 мкг/диск) +/клавуланова кислота(10 мкг/диск)	Збільшення діаметру зони інгібування росту на ≥ 5 мм
	Цефтазидим (30 мкг/диск) +/клавуланова кислота(10 мкг/диск)	Збільшення діаметру зони інгібування росту на ≥ 5 мм
2-ої групи	Цефепім (30 мкг/диск) +/клавуланова кислота (10 мкг/диск)	Збільшення діаметру зони інгібування росту на ≥ 5 мм

2.1.9. Методи дослідження біоплівкоутворювальних властивостей мікроорганізмів

Дослідження біоплівкових властивостей проводили на бактеріях роду *Staphylococcus* та *Raoultella*. Первинно відбір мікроорганізмів, що могли належати до плівкоутворюючих форм, здійснювали за характерними культуральними властивостями, а саме за підвищеною в’язкістю біомаси колонії. Після цього плівкоутворюючу чисту культуру засівали на живильний агар та інкубували в термостаті упродовж 24 год за температури 37 °С. Біоплівки на дні пластикових

чашок (ø 50 мм) формували наступним чином: у кожну чашку вносили по 4 мл живильного бульйону («Фармактив», Україна) та по 10 мкл культури мутністю 1.5×10^9 кл/мл (що відповідає 5 од. за стандартом McFarland) так, щоб суспензія рівномірно розподілилася на дні чашки. Для визначення контрольного показника у чашки вносили стандартну культуру *S. aureus* ATCC 25923.

Оптичну щільність плівки вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 (довжина хвилі 545 нм). Згідно з технічним описом та інструкцією з експлуатації приладу, межі допустимої абсолютної похибки у вимірюванні коефіцієнта пропускання в спектральному діапазоні від 400-750 нм, що відповідає максимуму поглинання для генціанвіолету, становить ±0,5 %. Визначення оптичної густини проводили згідно з методикою [189]. Необхідності у калібруванні приладу не виникало, оскільки не було потреби визначати абсолютну концентрацію барвника в розчині або кількість клітин. На основі значення оптичної густини можна проводити якісну оцінку щільності плівки. Щільність сформованих біоплівок вважали низькою, якщо показник становив менше 0.5 од., середньою - від 0.5 до 1.0 од. і високою за оптичної густини розчину більше 1.0 од. Усі дослідження повторювали тричі.

Для визначення кількості життєздатних клітин досліджуваних культур із біоплівок (бікультури) проводили посіви 10 мкл на щільне середовище відразу після інокуляції та через 12, 24, 48 год. У разі значної густини одержаної культури перед посівом її розводили, що давало змогу встановити кількість проростих колоній.

У процесі вивчення життєздатності бактерій у біоплівках використовували подвійне прижиттєве фарбування за допомогою флуоресцентних барвників, а саме Hoechst-33258, який вільно проникає крізь клітинні мембрани, зв’язується з ДНК на зовнішньому боці спіралі, зумовлюючи при цьому флуоресценцію в зеленій ділянці спектра [190]. Пропідіум йодид (PI) проникає лише у мертві клітини та зв’язується з ДНК, зумовлюючи флуоресценцію в червоній ділянці спектра [191,192]. Для виявлення життєздатних бактерій плівки вирощували на стерильних покривних скельцях. Мікроскопію бактеріальних біоплівок проводили за

допомогою мікроскопа Nikon Eclipse (об'єктив 63×/1.4NA) методом інтерференційної (диференційно-інтерференційний контраст - DIC) мікроскопії з використанням конденсора темного поля та флуоресцентної мікроскопії.

Підготовку зразків для трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) проводили з використанням класичних методик [193].

2.2. Статистичні методи дослідження поширеності зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні

Окрім наукового дослідження за участю людей та експериментального дослідження за участі тварин, нами було проведено статистичний аналіз поширеності зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні за період 2009-2020 років, за даними ЦГЗ МОЗ України. Зокрема зі «Звітів про окремі інфекції та паразитарні захворювання» обласних «Лабораторних центрів МОЗ України», а також сумарні статистичні дані по Україні про «внутрішньолікарняні інфекції», в тому числі з розподілом по нозологіях та збудниках, за останні 12 років, надані Державною установою «Центр громадського здоров'я Міністерства охорони здоров'я України» для використання з науковою метою. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою Microsoft Excel 2019.

2.3. Синтез та протимікробна дія похідних 4-тіазолідинонів

Синтез ряду похідних 4-тіазолідинонів було здійснено на кафедрі фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Об'єктом дослідження були новосинтезовані похідні 4-тіазолідинонів як потенційні лікоподібні молекули.

2.3.1. Синтез похідних 4-тіазолідинонів

Проведено синтез лікоподібних молекул» шляхом кон'югації 4-тіазолідинонового чи тіазольного фрагментів на основі «гібрид-фармакофорного» підходу з відомими «біофорними» гетероциклічними системами, зокрема ядром індолу та піридину, що дозволяє передбачити збереження фармакологічного профілю цих сполук та проаналізувати взаємозв'язок "структура-активність". На основі логіко-структурного підходу було обрано оптимальні напрямки синтезу та структурної модифікації цільових похідних на основі 4-тіазолідинону за умов конденсації Кньовенагеля, реакцій [3+3]/[2+3]-циклоконденсації. Проведено дизайн та синтезовано сфокусовану суб-бібліотеку 1-[2-аміно-4-метилтіазол-5-іл]-3-арилпропенони та ряду нових тіазоло[4,5-*b*]піридинів. Показано, що 1-[2-аміно-4-метилтіазол-5-іл]-етанон є ефективним реагентом в реакціях з ароматичними альдегідами, що дозволило одержати ряд 3-арилпропенонів для фармакологічного скринінгу. Встановлено, що оптимальними умовами зазначеної реакції є використання трет-бутилату калію як основного каталізатора в середовищі етанолу. Вивчено реакцію [3+3]-циклоконденсації між 4-аміно-5*H*-тіазол-2-оном та α,β-ненасиченими карбонільними сполуками, що супроводжується утворенням конденсованих похідних тіазоло[4,5-*b*]піридину.

На основі комплексного ЯМР аналізу встановлено особливості структури похідних 5-метил-7-феніл-3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-онів.

Загальна методика синтезу, фізико-хімічні та спектральні характеристики деяких синтезованих сполук наведено в додатку 2.

2.3.2. Скринінг хімічних похідних на антимікробну активність

Протимікробну та протигрибкову дію визначали методом дифузії в агар (метод «колодязів») та методом серійних розведень (розщеплення резазурину в бульйоні), використовуючи референс-культури та клінічні ізоляти мікроорганізмів, виділених від пацієнтів з інфекціями пов'язаними з наданням медичної допомоги. Референс-культури: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (F-51), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 26923 (F-49), *Candida albicans* ATCC 885/653, *Aspergillus neger* муз. №162; клінічні ізоляти: *Pseudomonas aeruginosa* №7, *Escherichia coli* №5, *Raoultella terrigena* №1, *Staphylococcus lentus* №21, *Staphylococcus lugnuniensis* №142, *Staphylococcus simulans* №151, *Candida albicans* №60, *Candida dubliniensis* №67, *Candida membranifaciens* №117.

Метод дифузії в агар [185,194] передбачав внесення 50 мкл досліджуваної речовини у лунку діаметром 5,5 ± 0,5 мм, з попередньо нанесеною на пластинку агару (МПА, Сабуро) суспензію культури мікроогранізму (McFarland 2.0). Як контроль використали DMSO. Лідером вважалася сполука при діаметрі затримки росту більше 10 мм. Схему методу дифузії в агар створено нами та зображено на рис. 2.9. (Created with BioRender.com).

Метод серійних розведень (Resazurin Reduction-Based Assay) [184,194] передбачав внесення в 96-лункову планшетку 50 мкл поживного середовища (бульйон Мюллера-Хінтона), 100 мкл досілджуваної речовини та 50 мл суспензії мікрооранізму (McFarland 2.0), з додаванням 15 мкл 0,02% резазурину в кожну лунку. Схему методу серійних розведень створено нами та зображено на рис. 2.10 (Created with BioRender.com).

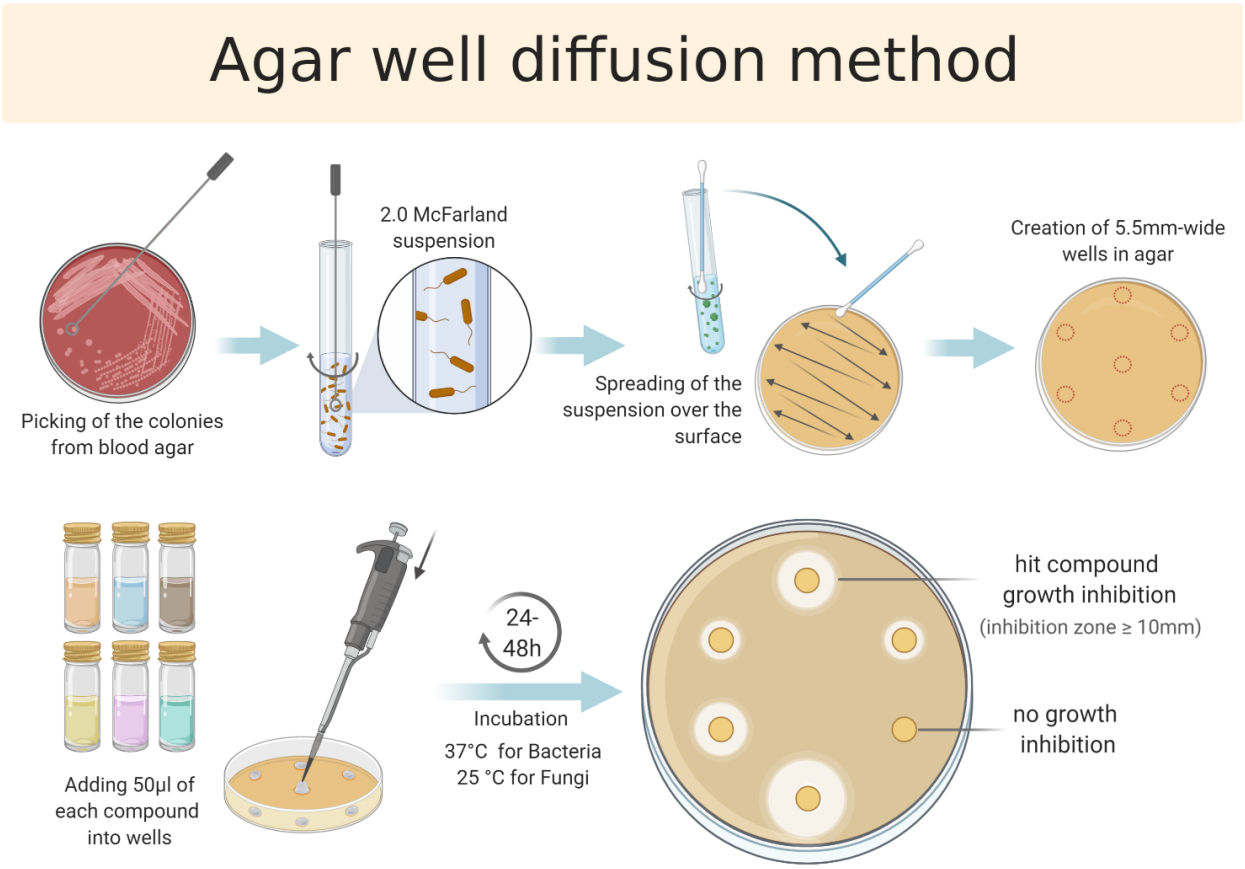


Рис. 2.9. Схематичне зображення методу дифузії в агар.

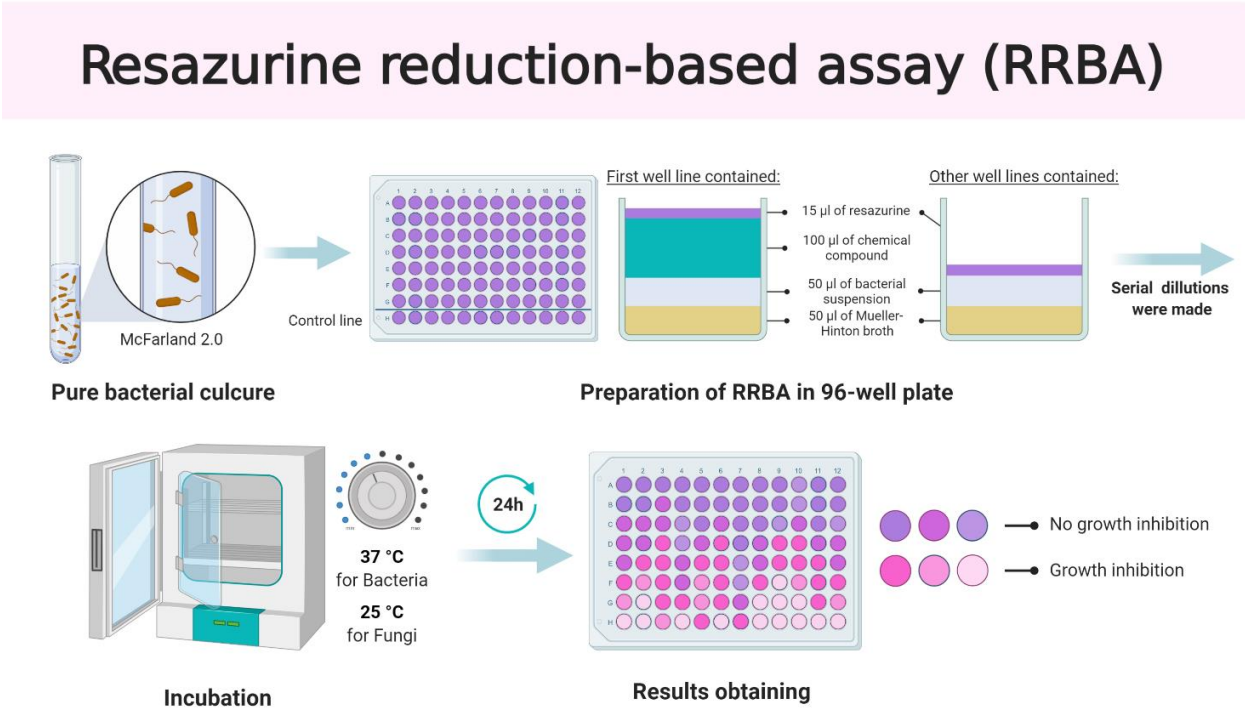


Рис. 2.10. Схематичне зображення методу серійних розведень шляхом розщеплення резазурину в бульйоні.

2.3.3. Молекулярний докінг

Молекулярний докінг є найбільш поширеним методом для розрахунку та прогнозування взаємодій протеїн-ліганд. Для оцінки можливого способу дії однієї сполуки-лідера (7-(3,4-диметоксифеніл)-5-метил-3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-он) були проведені докінгові дослідження. Для моделювання *in silico* було обрано MurD лігазу (код PBD 2Y67) [195] та ДНК-гіразу (код PBD 2XCT) [196]. Рентгенівські кристалічні структури цільових білків були завантажені з бази даних Protein Data Bank (https://www.rcsb.org/). Інструменти Auto-Dock були використані для підготовки ферментів для взаємодії, що включає видалення всіх зв'язаних лігандів і молекул води, додавання полярних атомів водню та визначення всіх обертових зв'язків [197]. Крім того, заряди Коллмана були розраховані та розподілені по всіх атомах в залишках. Хімічна структура зазначеної сполуки була створена за допомогою Biovia Draw, а мінімізація енергії була проведена Hyperchem 7.5 за допомогою квантової техніки AM1, доки градієнт RMS не становив менше 0,01 ккал/(моль Å). Тривимірні блоки сітки були створені з розміром 50 × 50 × 50 точок xyz, відстань між точками сітки становила 0,375 Å, а карти сітки, що представляють неушкоджений ліганд у фактичному цільовому місці стикування, були створені за допомогою Auto Grid Tool. Для більш точних результатів ми змінили параметри генетичного алгоритму Ламарка (LGA) із налаштування за замовчуванням на покращені, включаючи 100 запусків, 300 популяцій та 2 50 000 оцінок енергії, швидкість мутації 0,02 та швидкість перехресного переходу 0,80 [197]. Взаємодії оцінювали з точки зору енергії зв'язування (ккал/моль) і константи інгібування (мкМ), а також кількості водневих зв'язків, що утворюються з оточуючими амінокислотними залишками. Перевірку вибраних параметрів докінгу проводили шляхом повторного докінгу вихідних лігандів із використаних ферментних структур. Точність експериментів повторного докування оцінювали шляхом розрахунку середньоквадратичного відхилення (RMSD) та відрізання результатів із RMSD>2. Візуалізація та

інтерпретація отриманих даних виконана Discovery Studio Visualizer компанії Dassault Systemes Biovia ®.

2.4. Дослідження з використанням тварин.

2.4.1. Гостра токсичність «сполук-лідерів» похідних 4-тіазолідинонів

Експериментальних тварин утримували у стандартних умовах віварію згідно з санітарно-гігієнічними нормами на стандартному раціоні та стандартизованих за фізіологічними та біохімічними показниками. При проведенні експериментальних досліджень тварини перебували у звичайних умовах згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових досліджень [198] з урахуванням наказу N 356 від 25.07.2003 Про затвердження методичних рекомендацій "Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації".

Дослідження гострої токсичності проведено на 36 безпородних білих щурах обох статей масою 190–220 г [199,200]. Визначення гострої токсичності досліджуваних речовин на щурах проведено в два етапи: орієнтовний та розгорнутий.

На попередньому етапі досліджень було застосовано широкі інтервали доз і на кожну дозу було використано по 3 лабораторні тварини. За внутрішньошлункового введення сполуки вводили білим щурам в дозах від 5000 до 25000 мг/кг, з інтервалом 5000 мг/кг, попередньо розчинивши їх у декількох краплях полісорбату 80 (Tween-80®). За внутрішньом'язового введення білим щурам препарат вводили в дозах від 500 до 20000 мг/кг маси тіла, з інтервалом 2000 мг/кг. За результатами досліджень встановлені максимально переносима (DL0) та смертельна (DL100) дози. На розгорнутому етапі, дослідження проводили з

використанням 21-єї тварини, яких розділили на 3 групи. Дози речовин при цьому підбирали таким чином, щоб нижча з них не викликала загибелі тварин (DL0), а вища — забезпечила 100% смертність (DL100) і між ними 4 проміжних дози, що викликали летальність більше або менше 50% тварин. Речовини вводили внутрішньом'язово в дозах: від 15000 до 17500 мг/кг та від 11500 до 14000 мг/кг, з інтервалом доз 500 мг/кг маси.

При виборі дози під час вивчення гострої токсичності за умов внутрішньошлункового введення орієнтувались на максимальну дозу IV класу токсичності – 5000 мг/кг відповідно до методичних рекомендацій [201] за методом Litchfield-Wilcoxon.

Спостереження за тваринами проводили протягом двох тижнів. Реєстрували прояви порушень фізіологічного стану щурів, виживаність, динаміку маси тіла. Під час експерименту тварин утримували на звичайному раціоні з вільним доступом до води та їжі.

2.4.2. Дослідження алергенної, протизапальної дії, а також впливу на імунну систему лабораторних тварин «сполуки-лідера»

Експеримент проводили на 16 мурчаках (по 8 тварин у кожній групі) білої масті віком 3–3.5 місяці і масою тіла 280–350 г. Тварини утримувались в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького за температури 19.0–20.5°C в умовах природного світлового циклу. Харчовий раціон стандартний з вільним доступом до води та їжі [202]. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувались принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей” (Страсбург, 1985). Директиви Ради Європи № 2010/63/ЄС та Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» в редакції № 440-IX від

14.01.2020.,

Дослідження алергенної дії сполуки проводили згідно методичних вказівок [203,204]. Сенсибілізацію проводили за методом О. Г. Алєксєєвої, А. І. Петкевич [205] шляхом внутрішньошкірного введення 200 мкг препарату розведеного в 0.02 мл розчинника (фізіологічний розчин для контрольної групи чистої і 20 % розчин етилового спирту) в шкіру зовнішньої поверхні вуха тварини. Контрольним тваринам вводили по 0.02 мл розчинника. Через 10 діб додатково наносили 20 аплікацій на попередньо депільовану ділянку бокової поверхні тулуба. Ступінь сенсибілізації встановлювали після постановки внутрішньошкірних проб в розведеннях: 1:10, 1:100. Вираженність алергенної дії сполуки встановлювали у порівняні з контролем, за інтенсивністю місцевої гіперемії, набряку, наявності ерозій та некрозу тканин. Реакцію організму оцінювали шляхом візуального огляду поверхні шкіри (діаметр еритеми, інфільтрат чи набряк в місці інокуляції або генералізований) на місці введення проб через 20–30 хв., 4–5 год та 24 год. після введення і за результатами клінічних та алергічних тестів.

Визначали зміни показників периферійній крові (лейкоцитів та лейкоцитарну формулу) [206,207]. На основі лейкоцитарної формули проводили обчислення співвідношення окремих популяцій лімфоцитів (CD-3, CD-4, CD-8. CD-16, CD-22), які можуть бути використані в якості загальної характеристики клітинних реакцій неспецифічного і специфічного захисту організму. Враховували гематологічні індекси: індекс співвідношення лімфоцитів та моноцитів (ІСЛМ), що вказує на наявність взаємодії ефекторної та афекторної ланок імунної відповіді; індекс співвідношення нейтрофілів та моноцитів (ІСНМ), індекс співвідношення нейтрофілів та еозинофілів (ІСНЕ), що характеризують роль кожного компонента мікрофагальної та макрофагальної системи захисту організму [208,209].

Стан неспецифічної резистентності організму вивчали за фагоцитарним індексом (ФІ) – відсотком нейтрофілів, які беруть участь у процесі фагоцитозу; фагоцитарним числом (ФЧ) – кількістю часточок полістиролового латексу, поглинутих одним фагоцитом [210]. Для визначення фагоцитарної активності

нейтрофілів в лунку пластикової планшетки вносили 0.5 мл крові, 0.5 мл суспензії полістиролового латексу і перемішували. Після 30-хвилинної інкубації при 37 °С пробірки центрифугували. З осаду готували мазки, висушували на повітрі не менше 1 години, фіксували і забарвлювали. Під світловим мікроскопом підраховували 200 нейтрофілів, визначали відсоток клітин, які вміщують гранули латексу (фагоцитарний індекс) та середню кількість гранул латексу у 1 фагоциті (фагоцитарне число).

Стан імунологічної реактивності організму оцінювали за відносним та абсолютним вмістом в периферичній крові субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів за допомогою реакції розеткоутворення з еритроцитами, на яких адсорбовані моноклональні антитіла проти рецепторів $СД_3$ (Т-лімфоцитів), $СД_4$ (Т-хелпери), $СД_8$ (Т-цитотоксичні), $СД_{16}$ (природні кілери), $СД_{22}$ (В-лімфоцити). Дослідження проводили з використанням діагностикумів еритроцитарних (виробництва ТОВ НВЛ “Гранум”, Україна, м. Харків). Також розраховували імунорегуляторний індекс (відношення СД4/СД8).

Отримані дані виражали у відсотках і в абсолютних одиницях у перерахунку на 1 літр крові (10^9/л), (Г/л). Достовірність отриманих змін оцінювали з використанням t-критерію Стьюдента.

Методика проведення випробувань наведена в інструкції з використанням тест-системи для визначення імуноглобуліна Е, Guinea Pig Immunoglobulin E, ELISA Kit, 48 Test, Catalog CSB-E12102Gp, Lot:Z23067970, EXP: 13 May 2021, інтерлейкіна IL-2, ELISA Kit, інтерлейкіна-6, ELISA Kit, ELISA Kit, Guinea Pig Tumor Necrosis Factor Alpha, 48 test. MyBioSource, Inc. CatalogMBS762335, Lot GP0049G020, August 2, 2021, TNF-α, ELISA Kit, тест-системи для визначення імуноглобулінів А, М, G, ТОВ НВЛ «Гранум», м.Харків.

Дозвіл на проведення експериментів на тваринах затверджений протоколом № 6 комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів ЛНМУ імені Данила Галицького від 25 червня 2018 року.

Статистичну обробка даних проводили із залученням програмного

забезпечення Microsoft Excel. Дані представляли у вигляді середнього арифметичного (M) та стандартної похибки (m). Достовірність отриманих даних оцінювали з використанням t-критерію Стьюдента (за вірогідні приймали зміни при $p<0.05$).

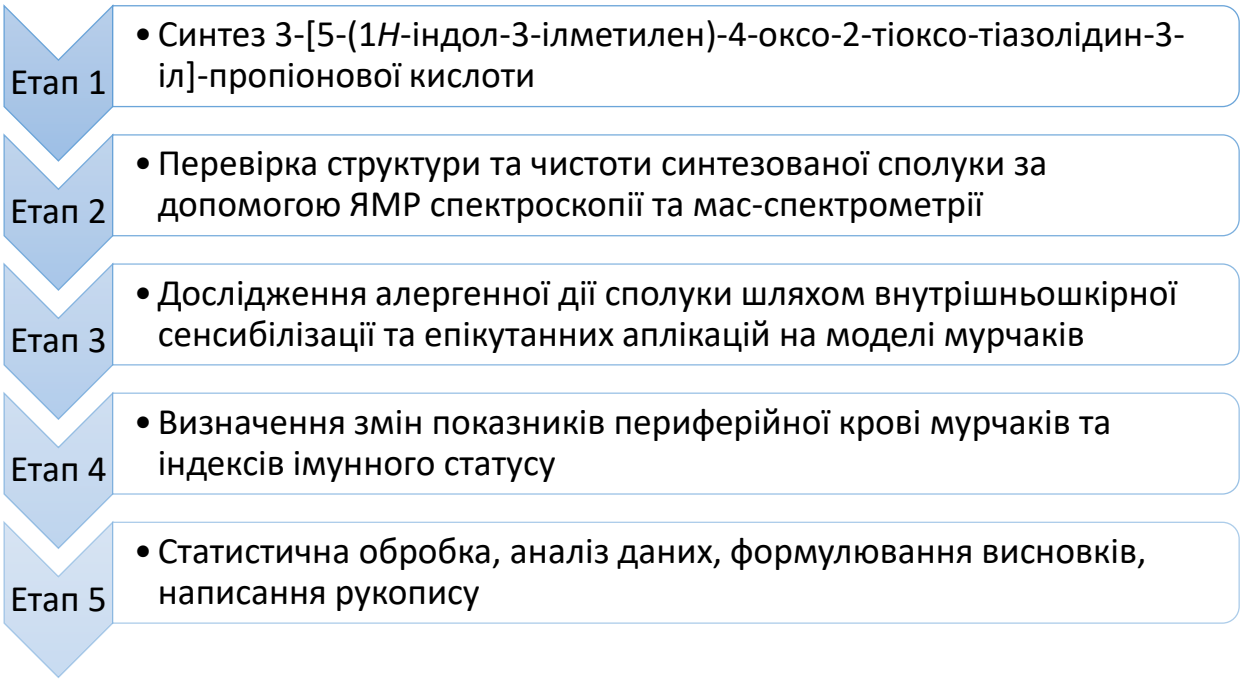


Рис. 2.11. Дизайн дослідження алергенної дії «сполуки-лідера».

Встановлення місцевої подразнювальної дії «сполук-лідерів» на моделі ока кроля.

Для цього досліджувані речовини вносили в кон'юнктивальний мішок правого ока кроля в дозі 0.05 мл (1 мг/мл), а в ліве око закапували ізотонічний розчин натрію хлориду в такому ж об’ємі. Для внесення речовини відтягували внутрішній кут кон'юнктивального мішка, після чого протягом 1 хв притискали слізно-носовий канал. Через 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 та 24 години після інстиляції речовини враховували клінічний стан організму тварин (температуру тіла, частоту пульсу, дихальних рухів), а також звертали увагу на появу і вираженість гіперемії, набряку, зміни діаметра зіниці, стан рогівки і повік, наявність лакримації та виділень. Оцінку дії речовини на слизові оболонки очей кролів проводили за бальною системою [211].

2.4.3. Дослідження вірулентності виділених культур мікроорганізмів

Перевірку вірулентних властивостей деяких рідкісних штамів мікроорганізмів виконано з використанням 45-ти статевозрілих безпородних білих мишей.

Визначали вірулентність суспензії живої культури, отриманої при культивуванні штаму в аеробних умовах за температури 37 ^{0}С. Штам вирощували протягом 1 доби на м'ясопептонному агарі (МПА). Готували суспензію культури на стерильному фізіологічному розчині, концентрацію клітин визначали за допомогою оптичного стандарту мутності McFarland Standart Set з урахуванням розміру клітин культури. Також визначали інфективність (інвазивність) штаму при пероральному зараженні з урахуванням можливих природних шляхів надходження в організм - шляхом дослідження взаємодії між макроорганізмом і мікроорганізмом за спроможністю клітин проникати всередину тканин органів тварин після перорального зараження. Вводили одноразово свіжовирощену добову культуру бактерій. Введення суспензій бактеріальних клітин перорально через зонд та внутрішньочеревинно в ін'єкціях в об’ємі 0.5 мл.

Через 1 добу та 14 діб після зараження і закінчення терміну спостережень тварин, які не загинули, виводили з експерименту та проводили розтин і макроскопічне дослідження внутрішніх органів та висіви їх зразків на поживне середовище для виявлення ретрокультур. Для контроля паралельно висівали на чашки з тим же агаризованим середовищем чисту культуру штама. Посіви культивували в аеробних умовах при 37±1^{0}С протягом 1 доби.

Критерієм вірулентності слугувала наявність інфекційної патології та загибелі мишей протягом 1 доби та 14 діб при максимальних рекомендованих дозах введених мікробних клітин. Для дослідження вірулентності культури при внутрішньочеревному введенні керувалися рекомендованими $ЛД_{50}$ для мікроорганізмів IV класу патогенності не менше 10^9 КУО/тварину, а для бактерій

III класу небезпеки в межах $10^7 \div 10^9$КУО/тварину. При дослідженні вірулентності при внутрішньошлунковому введенні керувалися рекомендованими максимальними інфекційними дозами для бактерій IV групи небезпеки $ЛД_{50} \geq 10^{11}$КУО клітин/тварину, а для бактерій III групи небезпеки $ЛД_{50} \geq 10^8$ або $ЛД_{50} \geq 10^9$ КУО/тварину [212,213].

Евтаназія всіх тварин проводилась шляхом декапітації на фоні інгаляційного наркозу діетиловим ефіром або хлороформом для мишей, мурчаків та щурів, із забором крові та розтином деяких тварин для огляду внутрішніх органів. Евтаназія кролів не проводилася. Використання методів альтернативних дослідженням на лабораторних тваринах в даній роботі не було можливим.

РОЗДІЛ 3

СТАН ЗАХВОРЮВАНОСТІ НА ІПНМД В УКРАЇНІ ПРОТЯГОМ 2009-2020 РР

3.1. Статистичний аналіз офіційних даних щодо захворюваності на ІПНМД в Україні протягом 2009-2020 рр

Згідно з офіційними звітами Міністерства охорони здоров'я України, загальна кількість зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні (абсолютні цифри) за 2009-2020 роки наведена на рисунку 3.1., і має тенденцію до зменшення. У 2020 році було зареєстровано 1 463 випадки ІПНМД, що є найнижчим рівнем річної реєстрації ІПНМД за останні дванадцять років. Максимальна кількість ІПНМД у 2011 році становила 7 448, шо відповідає захворюваності ІПНМД 16.3 випадки на 100 тис. населення. Щорічно реєструвалося в середньому 4 759 ± 710 випадків ІПНМД [214].

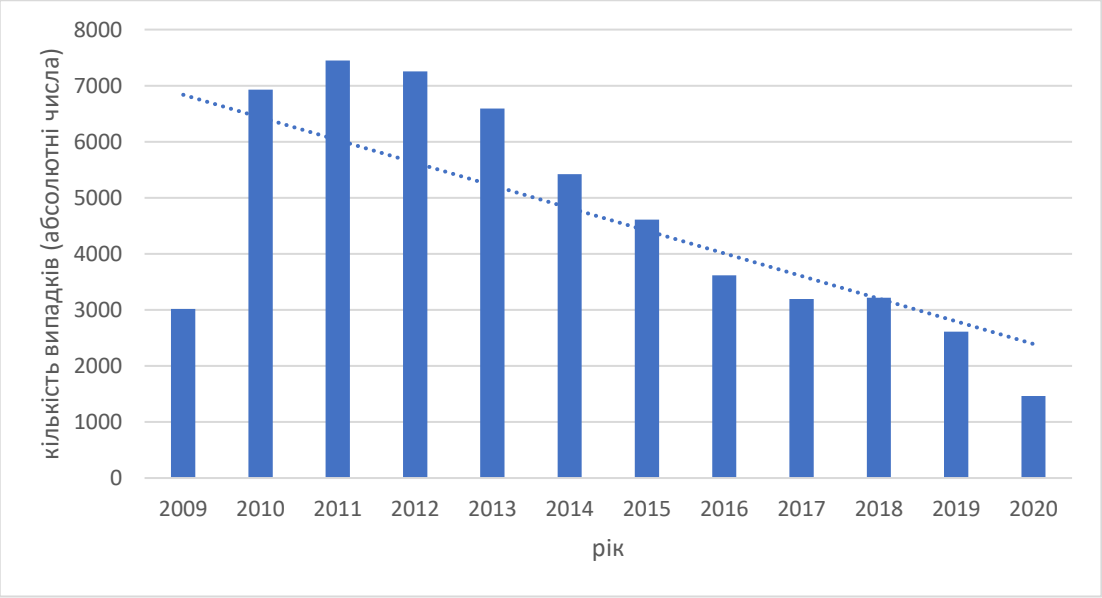


Рис. 3.1. Щорічна кількість зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні (абсолютні цифри) за 2009-2020 роки.

Відповідно до зміни загальної кількості ІПНМД порівняно з попереднім роком (рис. 3.2.), у 2010 р. відбулося значне зростання на 129.8% порівняно з 2009 р., та на 7.5% у 2011 р., у порівнянні з 2010 р. Подальші події показують поступове щорічне зменшення реєстрації випадків ІПНМД, в середньому на 13.2 % щорічно впродовж 2011-2020 років. Таким чином, загальна зареєстрована кількість ІПНМД у 2020 році зменшилася на 79.8% порівняно з 2011 роком.

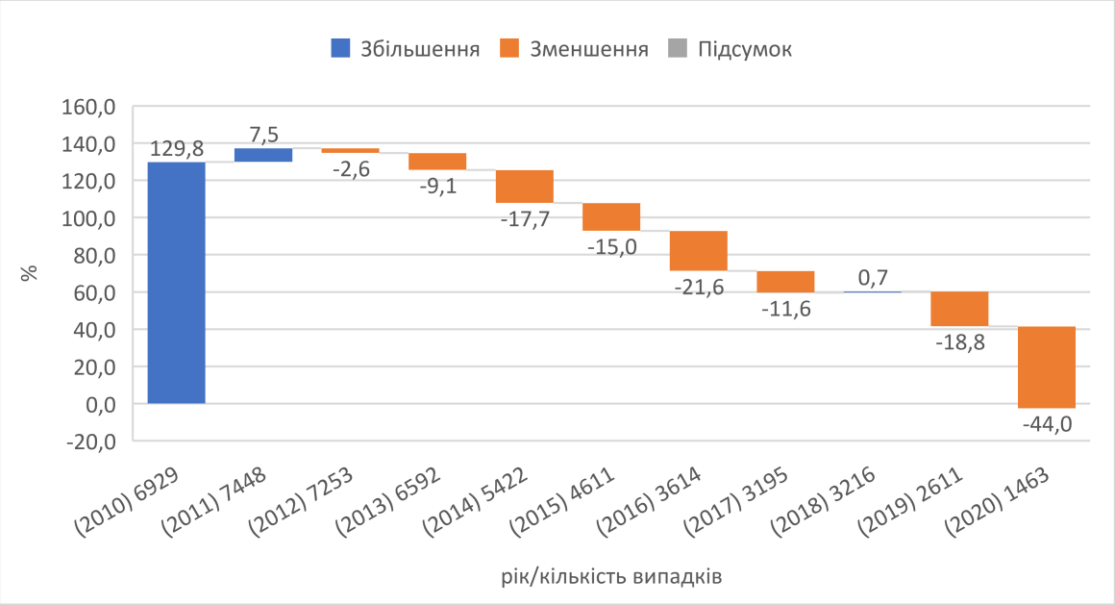


Рис. 3.2. Динаміка зміни кількості зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні в порівнянні з попереднім роком за 2009-2020 роки.

За віковою структурою ІПНМД у дорослих за 2009-2020 роки становило 77.5 % (рис. 3.3.) та 22.5 % у дітей (0-17 років). Найвищий рівень ІПНМД серед дітей (0-17 років) був у 2009 році (33.6 %), проти 15.7 % у 2015 році.

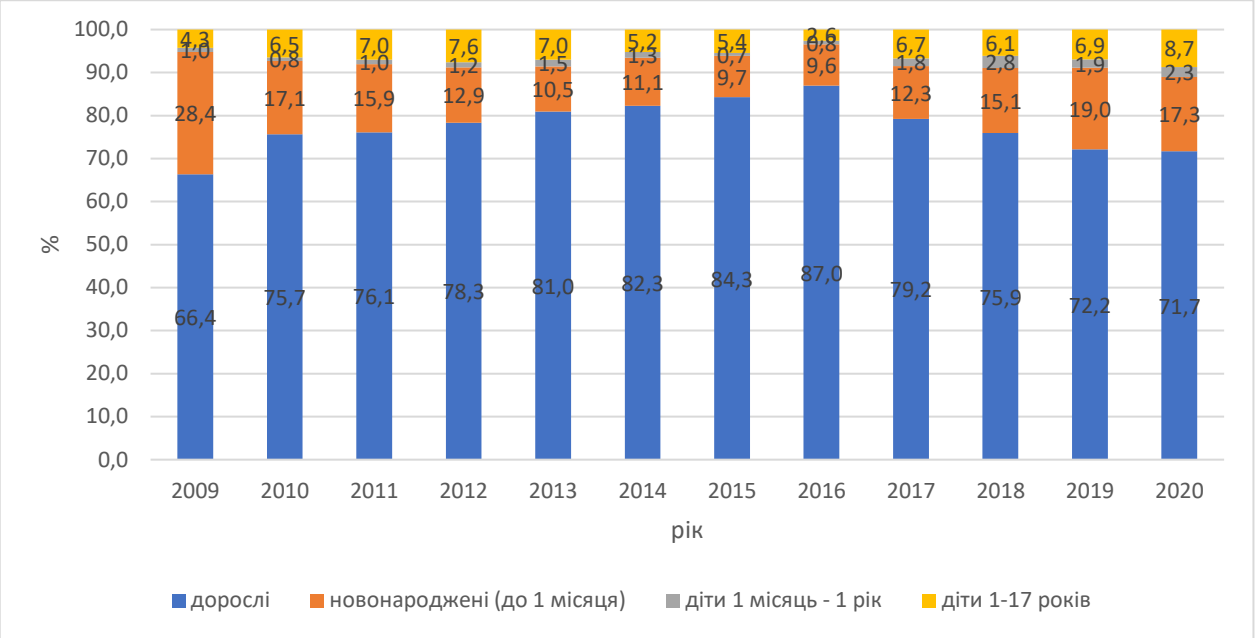


Рис. 3.3. Вікова структура зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні за 2009 - 2020 роки.

За віковим розподілом серед дітей, кількість випадків ІПНМД найбільша серед новонароджених, що становить 14.9 % від усіх зареєстрованих ІПНМД у 2009 - 2020 роках (рис. 3.4.).

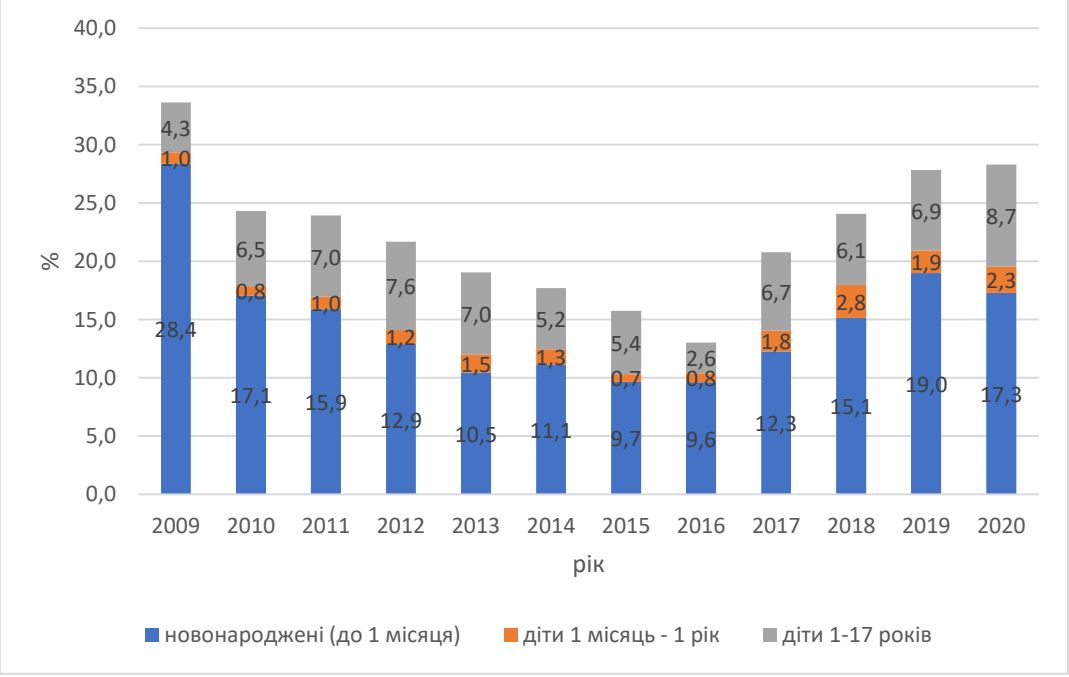


Рис. 3.4. Вікова структура зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні за 2009 - 2020 роки серед дітей.

Щодо типів ІПНМД, то в Україні випадки ІПНМД реєструють за нозологіями згідно з класифікацією МКХ-10 та згруповані у 18 груп, відповідно до систем органів, у яких виник інфекційний процес (додаток 3).

За нозологічною структурою найбільшу кількість випадків ІПНМД припадало на «Інфекції, що виникають внаслідок хірургічних та терапевтичних втручань», в середньому 26.4 % від загальної кількості ІПНМД, «Інфекції вагітності, пологів та післяпологового періоду» становили 13.1% та «Інфекції окремих станів, що виникають в перинатальному періоді» 12.9% (рис. 3.5.). У середньому на всі інші групи ІПНМД припадало 10.0% або менше від загальної середньої кількості ІПНМД, наприклад, «Інфекції шкіри та підшкірної клітковини» 10.0%, респіраторні інфекції – 7.7% та 7.4% - інфекції сечовивідних шляхів.

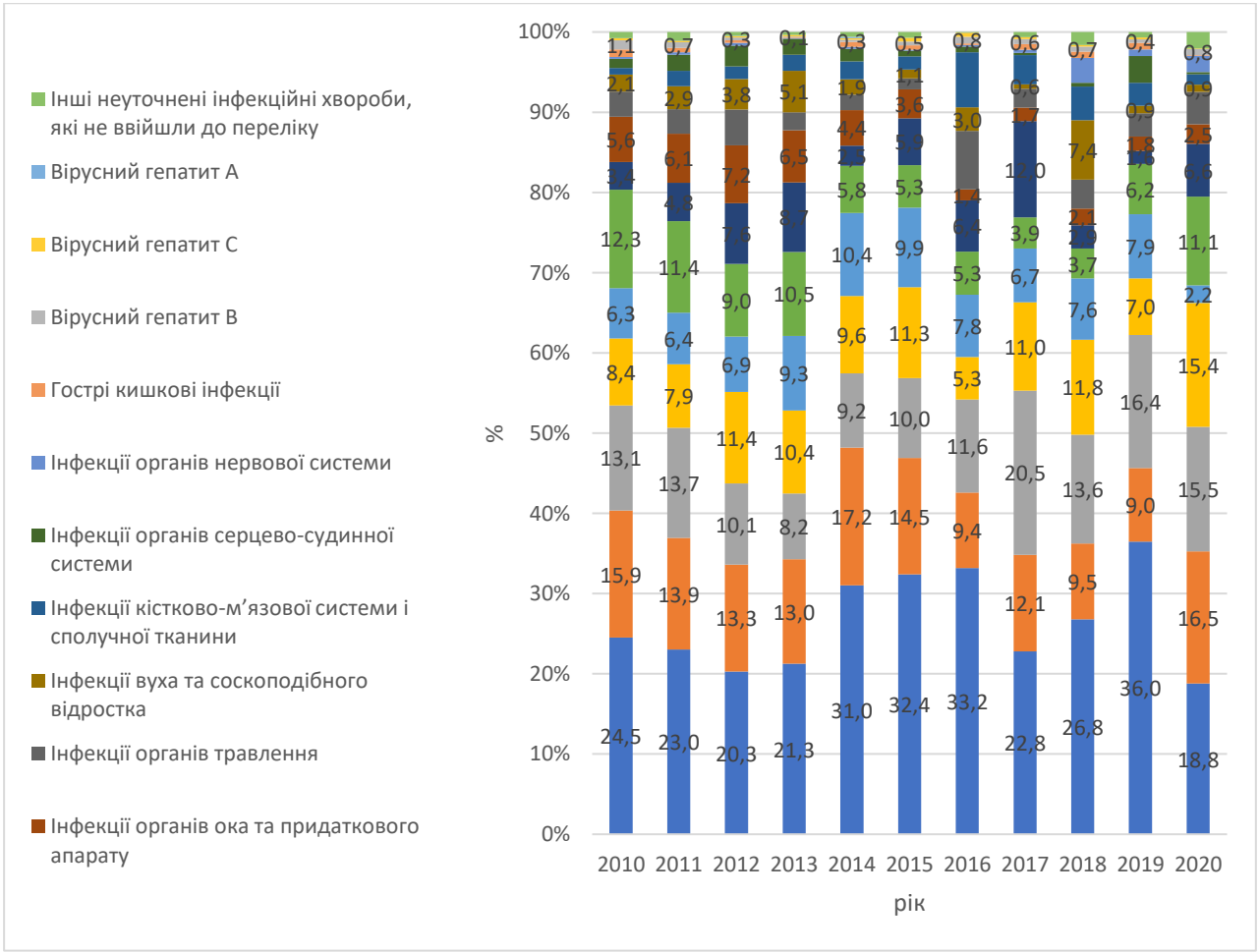


Рис. 3.5. Нозологічна структура ІПНМД в Україні в період 2010-2020 рр., Дані у відсотках від загальної кількості ІПНМД у поточному році.

Щодо географічного розподілу ІПНМД, то 77.3% усіх випадків ІПНМД у період 2009-2020 рр. були зареєстровані в Одеській області, і в окремо взятому 2020 році 87.9 % всіх ІПНМД в Україні припадали на Одеську область. (додаток 4, рис. 3.6., рис. 3.7.). На другому місці - Донецька область – 4.8%, на третьому - Київ та Київська область з сумарною часткою 3.4%.

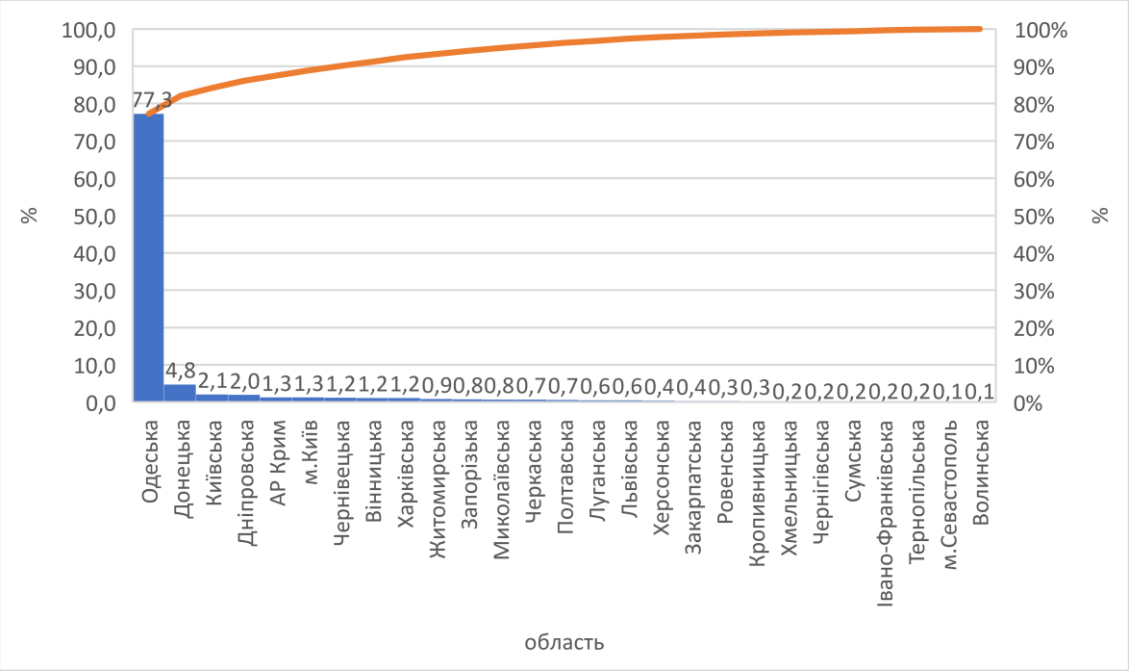


Рис. 3.6. Розподіл середньої кількості зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні за регіонами, 2009-2020 рр.

Рис. 3.7. Розподіл середньої кількості зареєстрованих випадків (абсолютна кількість) ІПНМД в Україні за регіонами, 2009-2019 рр.

Щодо видового спектру збудників ІПНМД, то така інформація відсутня в офіційних звітах МОЗу. Фрагментарні дані за 2019 рік демонструють, що найбільша частота висівання припадала на *Staphylococcus* та *Klebsiella* (рис. 3.8.).

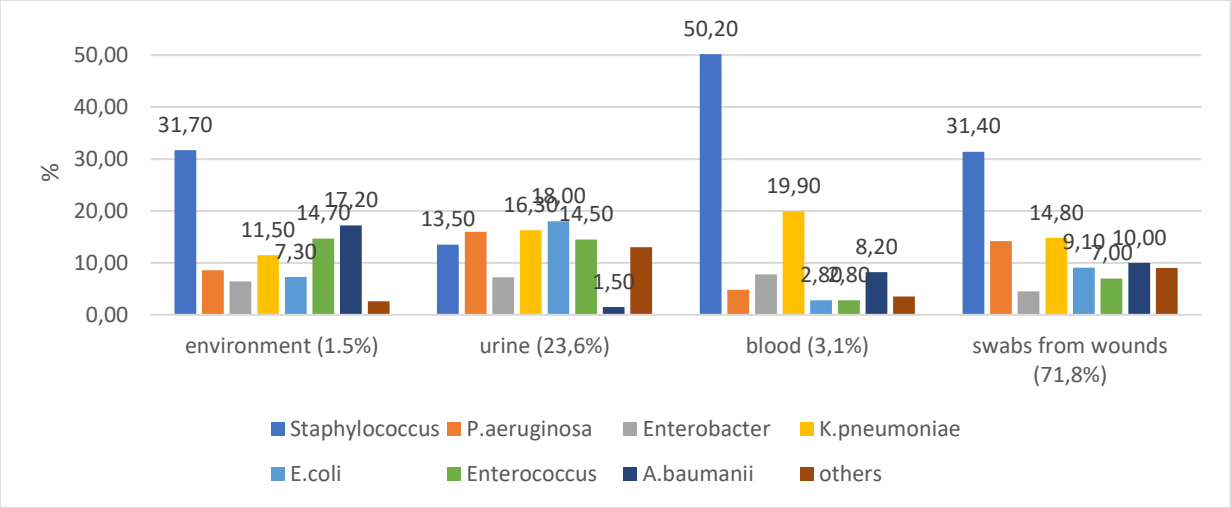


Рис. 3.8. Видовий спектр мікроорганізмів MDR збудників ІПНМД, виділених в 2019 році в Україні.

3.2. Статистичний аналіз офіційних даних щодо захворюваності на ІПНМД у Львівській області протягом 2010-2020 рр

У Львівській області середня кількість (абсолютні числа) зареєстрованих випадків ІПНМД протягом 2010-2020 рр становила 29.2±3 випадки, з максимумом 80 зареєстрованих випадків у 2010 році та мінімумом 4 випадки у 2019 році (рис. 3.9.).

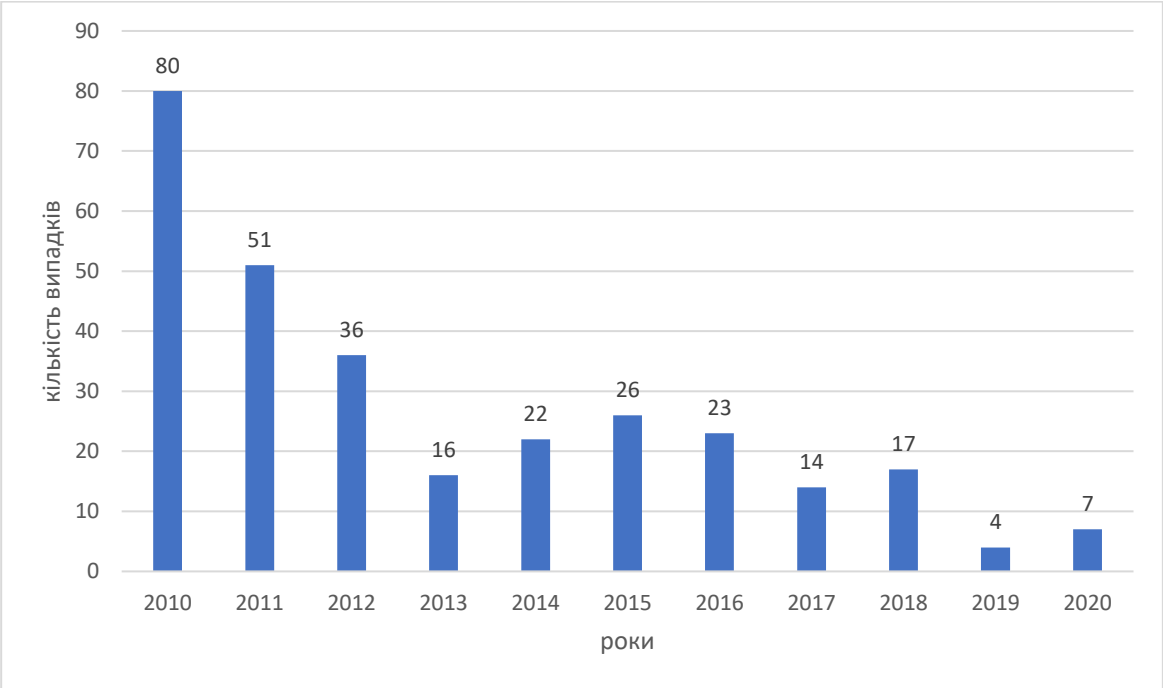


Рис. 3.9. Щорічна кількість зареєстрованих випадків ІПНМД у Львівській області (абсолютні числа) за 2009-2020 роки.

У структурі ІПНМД серед дітей більшість (93.7%) дітей були новонародженими, і це становило 21.3% від усіх зареєстрованих ІПНМД у 2009 - 2020 роках у Львівській області (рис. 3.10.).

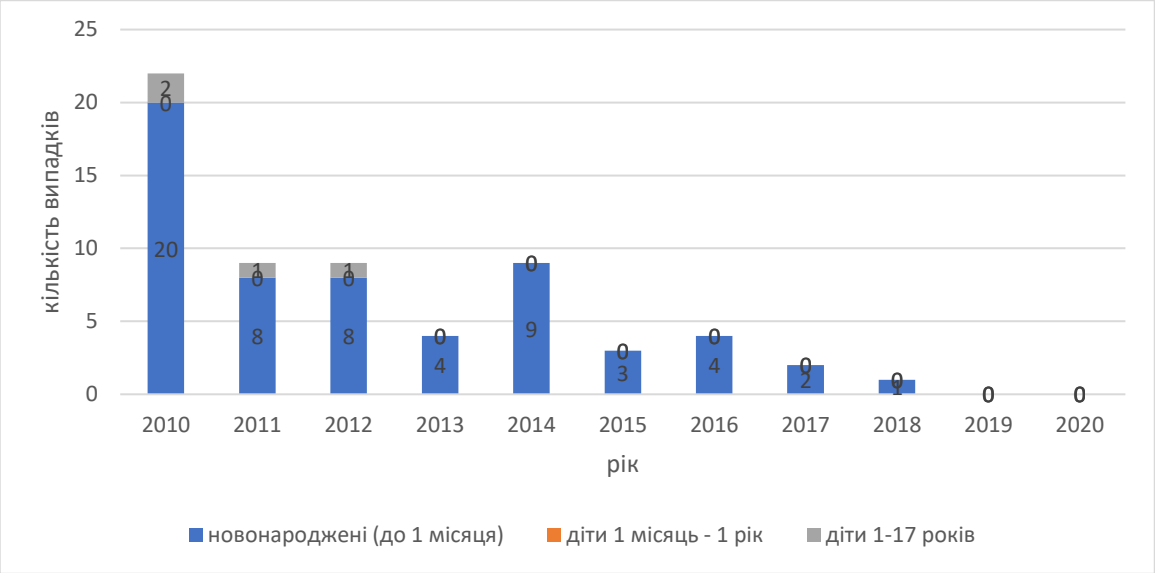


Рис. 3.10. Вікова структура зареєстрованих випадків ІПНМД у Львівській області за 2009 - 2020 роки серед дітей (абсолютні числа).

Щодо типів ІПНМД у Львівській області, як і по Україні, випадки ІПНМД реєструють за нозологіями згідно з класифікацією МКХ-10 та згруповані у 18 груп, відповідно до систем органів, у яких виник інфекційний процес (додаток 5).

За нозологіями найбільшу частку випадків ІПНМД становили –«Вірусний гепатит В», в середньому 46.7% від загальної кількості ІПНМД у 2010-2020 рр., "Інфекції вагітності, пологів та післяпологового періоду" становили 19.4% та «Інфекції, що виникають внаслідок хірургічних та терапевтичних втручань» 8.8% (рис. 3.11.). Варто зазначити, що у 2019-2020 роках бактеріальних ІПНМД у Львівській області зареєстровано не було, а у 2018 році бактеріальні ІПНМД становили 17.6% (3 випадки).

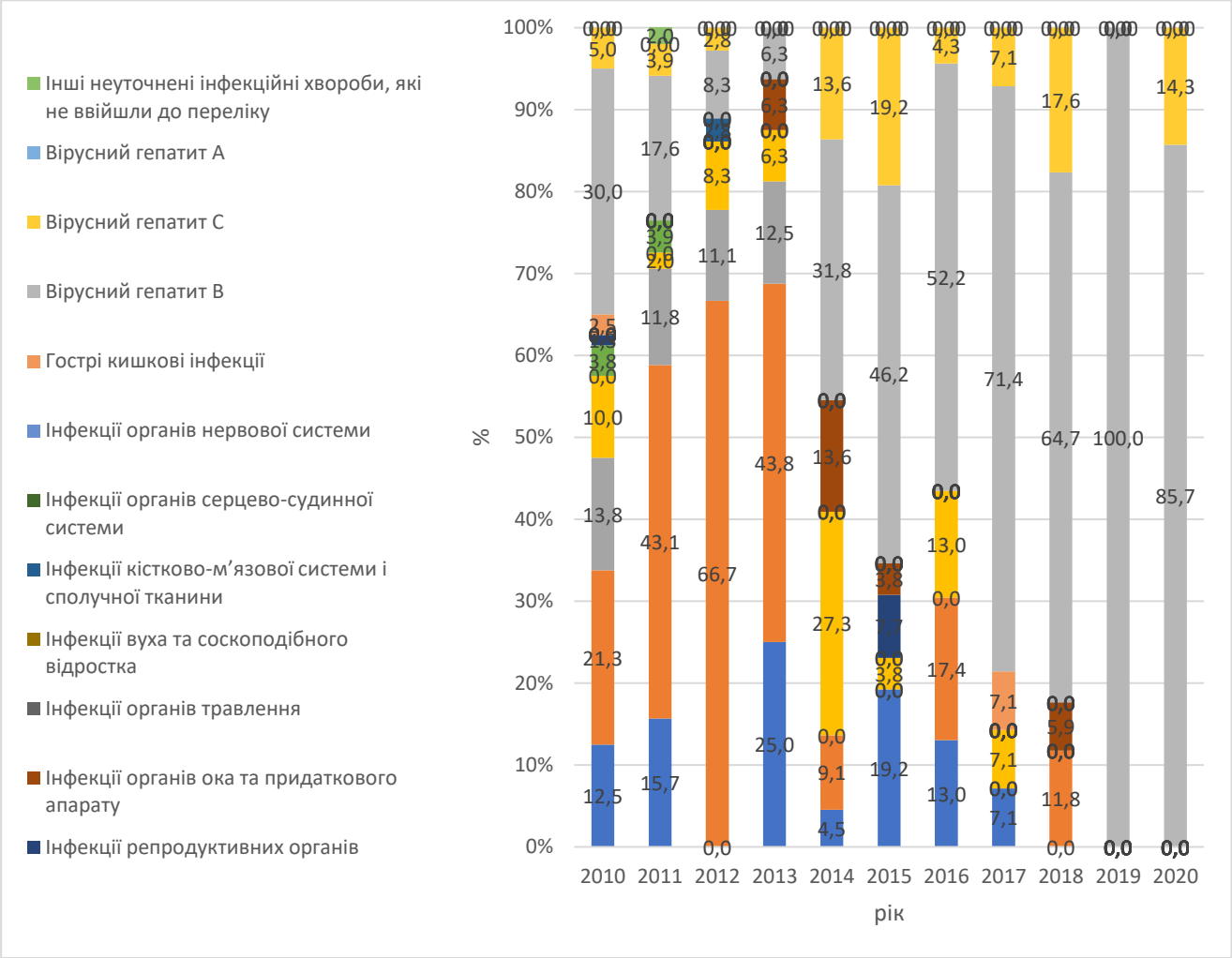


Рис. 3.11. Нозологічна структура ІПНМД у Львівській області в період 2010-2020 рр., Дані у відсотках від загальної кількості ІПНМД у поточному році.

Розділ висвітлено в матеріалах публікацій:

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) [214]

2. Конечний ЮТ, Панас МА, Тимчук ІВ, Корнійчук ОП. Клініко-мікробіологічна характеристика інфекцій пов'язаних з наданням медичної допомоги в Україні. Випуск 21.:39-46.

3. Y. Konechnyi, O. Korniychuk, Epidemiological and Microbiological Profile of Healthcare-associated infections in Ukraine, World Microbe Forum Jun 20, 2021 – Jun 24, 2021

4. 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.

5. Hospital-acquired infections in Ukraine, Yulian Konechnyi, Andrij Albokrinov, Olena Korniychuk, 6th World Congress and Expo om 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

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.

РОЗДІЛ 4

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИПАДКІВ ТА ЕТІОПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ІПНМД

4.1. Загальна клінічна характеристика випадків ІПНМД

Клінічне дослідження за участю людей було проведено на базі 4-х ВІТ різних стаціонарів міста Львова. До дослідження було залучено 250 пацієнтів, у 205 випадках на основі клінічних критеріїв було встановлено діагноз «ІПНМД», який було підтверджено за допомогою мікробіологічних критеріїв діагностики. 46.8% становили чоловіки та 53.2% жінки, 24.9% становили діти (в т.ч. 8.8% новонароджені), 64.9% становили люди віком 18-60 років, люди похилого віку (> 60 років) становили 10.2% (таб. 4.1.).

Таблиця 4.1.

Вікова та статева структура пацієнтів з ІПНМД

		абсолютні числа	**%**
стать (n=205)	чоловіки	96	46.8
	жінки	109	53.2
вік (n=205)	< 1 місця	18	8.8
	1 місяць-1 рік	13	6.3
	2-17 років	20	9.8
	18-44 роки	63	30.7
	45-60 років	70	34.1
	>60 років	21	10.2

Для підтвердження діагнозу від 205 пацієнтів було забрано 389 зразків. Розподіл забраних біоматеріалів продемонстровано у таблиці 4.2., більшість (41.1%) становив трахео-бронхо-альвеолярний лаваж.

Таблиця 4.2.

Кількість біоматеріалів для мікробіологічного дослідження

	абсолютні числа	**%**
кров	43	11.1
сеча	125	32.1
трахео-бронхо-альвеолярний лаваж	160	41.1
п/о рана	40	10.3
мазок з ротоглотки	21	5.4
загальна кількість	389	100

Діагноз «ІПНМД» включав розподіл на 4 підгрупи: ІСВШ, ІПХВ, ІДШ, ІК, розподіл яких наведено у таблиці 4.3. Найчастіше виявляли ІДШ (36.6%) та ІСВШ (34.1%).

Таблиця 4.3.

Кількість випадків ІПНМД за локалізацією патологічного процесу

підгрупа	**абсолютні числа**	**%**
ІДШ	75	36.6
ІСВШ	70	34.1
ІК	31	15.1
ІПХВ	29	14.1
загальна кількість	205	100.0

* ІДШ – інфекції інфекції дихальних шляхів; ІСВШ – інфекції сечовидільних шляхів; ІК – інфекції кровотоку; ІПХВ – інфекції після/пов’язані з хірургічними втручаннями.

Найчастіше ІПНМД (58.6%) розвивалися між 5-м та 14-м днями перебування в стаціонарі (таб. 4.4.).

Таблиця 4.4.

Тривалість перебування пацієнтів в стаціонарі на момент діагностики ІПНМД

	к-сть випадків	
День виникнення ІПНМД після госпіталізації	абсолютні числа	%
1-2	11	5.4
3-4	24	11.7
5-7	36	17.6
8-14	84	41.0
15-21	25	12.2
> 22	22	10.7
немає інформації	3	1.5
загальна кількість	205	100.0

Більшість випадків ІДШ (57.4%) розвивалися до 48-ї години з моменту встановлення трахеостоми або інтубаціної трубки. Більшість випадків ІСВШ (52.9%) були пов’язані з тривалістю встановленого сечового катетеру довше 7-ми днів. Щодо ІК, то 51.6% випадків ІК були пов’язані зі встановленим ЦСК, а 72.4% ІПХВ були пов’язані зі встановленням раневого дренажу (таб. 4.5).

Таблиця 4.5.

Характеристика основних випадків ІПНМД

підгрупа		**абсолютні числа**	**% від к-сті в підгрупі**
ІДШ (n=75)	інтубація трахеї довше 48 годин	15	20.0
	трахеостома довше 48 годин	14	18.7
	інтубація трахеї менше 48 годин	20	26.7
	трахеостома менше 48 годин	23	30.7
	не інтубовані/трахеостоми	3	4.0
ІСВШ (n=70)	сечовий катетер довше 7 днів	37	52.9
	сечовий катетер менше 7 днів	24	34.3
	без сечового катетеру	9	12.9
ІК (n=31)	центральний катетер	16	51.6
	периферичний катетер	5	16.1
	без катетеру	10	32.3
ІПХВ (n=29)	з дренажем п/о рани	21	72.4
	без дренажу	8	27.6
загальна кількість		205	

4.2. Клінічний випадок, спричинений рідкісним збудником *Raoultella terrigena* та порівняння з іншими випадками за даними літератури

Case №1

Пацієнтка М. – жінка, 42 роки. У вересні 2018 року переведена у реанімаційне відділення клінічної лікарні Х міста Львова на третю добу після третіх пологів, проведених операцією кесаревого розтину, у зв'язку з еклампсією. Діагностовано антенатальну загибель плоду. В анамнезі кісти правої нирки, конкремент жовчевого міхура, пацієнтка тривало палить. В лікарні у пацієнтки розвинулись загострення хронічного бронхіту, гострий псевдомембранозний коліт, гіпоальбумінемія.

На момент забору матеріалу для мікробіологічного дослідження (8-ма доба після госпіталізації) пацієнтка перебувала в комі, на штучній вентиляції легень (ШВЛ), мала сечовий та центральний венозний катетери; знаходилася на лікуванні іміпенемом (6 днів), флюконазолом (6 днів), ністатином (6 днів). За 5 днів до забору посівів пацієнтці було проведено переливання крові. Результати лабораторних показників на 8-му добу після госпіталізації: лейкоцитоз ($13.7*10^9$/л (N 4-9) з зсувом вліво – паличкоядерні нейтрофіли 20% (N 1-5)), підвищене ШОЕ (23 мм/год (N 1-15)), СРП +++ (N -). Після відключення пацієнтки від ШВЛ (на 9-ту добу) її турбував продуктивний кашель з відходженням слизово-гнійного мокротиння.

Мікробіологічне дослідження сечі на 8-му добу після госпіталізації росту аеробної мікробіоти не виявило. За результатами мікробіологічного дослідження бронхіального секрету, взятого на 8-му добу шляхом аспірації через ендотрахеальну трубку, на фоні антибіотикотерпії іміпенемом, було виділено збудник *R. terrigena* у кількості 10^7 КУО/мл. Результат антибіотикограми наведено у таблиці 4.6. (Case №1). Посів крові на стерильність на 16-ту добу після госпіталізації росту аеробних мікроорганізмів не виявив. Після антибіотикотерапії іміпенемом (15 діб), ванкоміцином (10 днів), метронідазолом (10 днів), на 24-ту

добу після госпіталізації, пацієнтку із покращенням загального стану було переведено у терапевтичне відділення [215].

Таблиця 4.6.

Антибіотикограма виділених збудників Raoultella terrigena

Препарат	Case №1	Case №2	Препарат	Case №1	Case №2
Азитромізин	R	R	Норфлоксацин	R	R
Амікацин	S	S	Піперацилін	R	S
Амоксиклав	R	R	Сульперазон	pS	S
Амоксицилін	R	R	Тейкопланін	R	R
Ампіцилін	R	R	Тетрациклін	R	R
Ванкоміцин	R	R	Тіґециклін	S	S
Гентаміцин	S	S	Тобраміцин	S	S
Доксициклін	R	pS	Фосфоміцин	R	pS
Іміпенем	S	S	Цефазолін	R	R
Колістин	S	S	Цефепім	R	R
Левофлоксацин	R	R	Цефотаксим	R	R
Лінезолід	R	R	Цефтазидим	R	R
Меропенем	pS	pS	Цефтріаксон	R	R
Моксифлоксацин	R	R	Цефуроксим	R	R
Нетилміцин	S	S	Ципрофлоксацин	R	R
Нітроксолін	S	S			

R-стійкий; pS-з проміжною чутливістю; S-чутливий

Case №2

Пацієнтка Я. – жінка, 18 років. У листопаді 2018 року госпіталізована у реанімаційне відділення клінічної лікарні Х міста Львова з діагнозом цукровий діабет І тип, стадія декомпенсації, кома І ступеня, в анамнезі субдуральна гематома

та періодичні епізоди декомпенсації ЦД у зв'язку з недотриманням дієти. Пацієнтці було встановлено центральний венозний катетер, проведено люмбальну пункцію (на 2-гу добу), інтубацію трахеї (на 2-гу добу), трахеостомію (на 5-ту добу), переливання еритроцитарної маси (на 4-ту добу). Після інтубації трахеї температура тіла підвищилася з 37.0-37.8°С на момент госпіталізації до 38.5-39.0°С на 5-й день, лівобічний гідроторакс (за даними Rtg), набряк легень. Призначено цефтріаксон (з 2-ї доби), левофлоксацин (з 1-ї доби), флюконазол (з 2-ї доби).

На 5-ту добу після госпіталізації проведено мікробіологічне дослідження аспірату з бронхів через трахеостому. На момент забору матеріалу у пацієнтки був лейкоцитоз $16*10^9$/л (N 4-9) з зсувом вліво – мієлоцити 1 (N 0), юні (мета-лейкоцити) 2 (N 0-1), підвищене ШОЕ (35 мм/год (N 1-15)). За результатами посіву було виявлено культуру *R. terrigena* у кількості 10^6 КУО/мл. Результат антибіотикограми наведено у таблиці 4.6. (Case №2). Таргетно усунути легеневу інфекцію не вдалося, оскільки на другу добу після отримання результатів посіву, пацієнтка померла від декомпенсації цукрового діабету. Патологоанатомічний розтин окрім основного захворювання виявив супутню двобічну дрібновогнищеву нижньочасткову ацинарну гнійну бронхопневмонію.

Для виділення чистої культури збудника застосували бактеріологічний метод. У обох випадках *R. terrigena* – невибагливий до культивування збудник, культивується на звичайних поживних середовищах (м'ясо-пептонний агар, кров'яний агар, гірше на середовищі Ендо) за 37 °С, гемоліз (-), без специфічного запаху чи пігменту. Колонії неспецифічні (рис. 4.1.; рис. 4.2.).

Біохімічну ідентифікацію збудника проводили за допомогою набору MIKRO-LA-TEST ENTERO (ErbaLacema, Чеська Республіка) у 5-ти повторах та відповідної книги кодів. Результати біохімічної ідентифікації наведені у таблиці 4.7. Досліджені 2 штами мали незначну відмінність у профілі біохімічної активності, яка стосувалася ферментації дульциту.

Рис. 4.1. Чиста культура *R. terrigena* на кров'яному агарі.

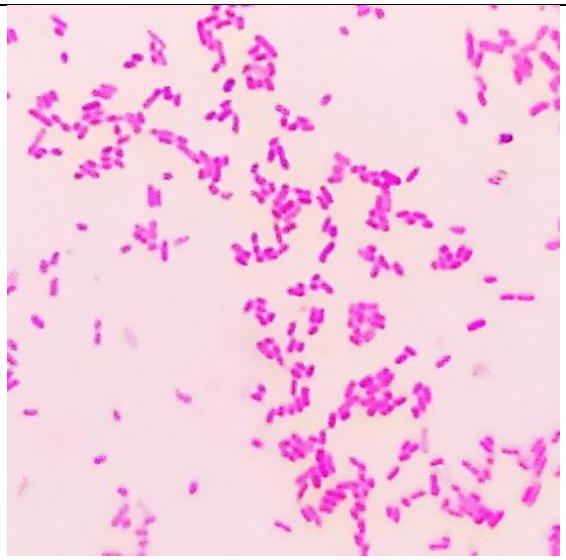


Рис. 4.2. Світлова мікроскопія *R. terrigena* (забарвлення за Грамом, збільшення 10*100).

Таблиця 4.7.

Профіль біохімічних властивостей *R. terrigena*.

Case №1

XI	RE	AC	AL	RG	AN	LT	RN	RE	EL	YS	YL	UC	AM	RA	NO	GL	GA	GT
AG	GA	HS	CI	AL	SL	ND	HE	PT	2S	NP	OR	DO	HA	LB	AF	UL	AL	LU

Case №2

XI	RE	AC	AL	RG	AN	LT	RN	RE	EL	YS	YL	UC	AM	RA	NO	GL	GA	GT
AG	GA	HS	CI	AL	SL	ND	HE	PT	2S	NP	OR	DO	HA	LB	AF	UL	AL	LU

OXI – oxidase, URE - urea hydrolisis, LAC - acid from lactose, GAL - acid from galactose, ARG - arginindihydrolase, MAN - acid from mannitol, MLT - acid from maltose, ORN - ornithindecarboxylase, TRE - acid from trehalose, CEL – acid from cellobiose, LYS - lysindecarboxylase, XYL - acid from xylose, SUC - acid from saccharose , AAM - acetamide utilization, ARA - acid from L-arabinose, INO – acid from myo-inositol, BGL – β-glukosidase, AGA – α-glukosudase, GGT – γ-glutamyle-transferase, NAG – N-acetyl-glucosaminidase, BGA - β-galactosidase, PHS – phosphatase production, SCI – citrate utilization, MAL – malonate utilization, ESL – aecsuline hydrolysis, IND – indole production, PHE - phenylalanindeaminase, VPT- acetonin production, H2S – hydrogen sulfide production, ONP - β-galactosidase (ONPG), SOR – acid from sorbitol, ADO – acid from adonitol, RHA – acid from rhamnose, MLB – acid from mellibiose, RAF – acid from raffinose, DUL – acid from dulcitol, MAL – malonate utilization, GLU – acid from glucose.

Примітка. Червоний колір – не метаболізує субстрат; зелений колір – метаболізує субстрат; жовтий субстрат – результати відрізняються у різних тестах або з часом.

Нами опрацьовано секвеновані геноми та складено філогенетичне дерево родини Enterobacteriaceae (рис. 4.3.). Геноми завантажено вручну із ncbi. Критерієм для завантаження вважали закінченість геному (збірка на стадії повного геному) та репрезентативність виду. Види роду *Klebsiella* та *Raoultella* завантажено всі, зважаючи на закіченість геному. Для визначення маркерів філогенії користувались програмою Phylophlan2 [216] із базою даних amphora2 (176 білків). Для пошуку гомологів використано алгоритм diamond а для подальшого множинного вирівнювання алгоритм MAFFT (все із phylophlan2) [217,218]. Для подальшого констрюювання філогенії використано суперкластер CIPRES, а саме програмне забезпечення IQTree із стандартними налаштуваннями та критерієм перевірки достовірності топології ultrafastbootstrap (n=1000) [219,220].

З кладограми видно, що бактерії роду *Raoultella* формують окрему кладу, що може свідчити про їх відмінність від *Klebsiella*. Також серед представників досліджуваної родини роди *Klebsiella* та *Raoultella* можна віднести до тих, що найбільш відмінні.

Рід *Raoultella* було відділено від *Kleibsiella* у 2001 році на основі аналізу послідовностей 16S рРНК та гена *rpoβ* [221]. Ретроспективне дослідження 240 зразків крові з колекції лабораторії Ramón у Cajal University Hospital у Мадриді (Іспанія, 2015), у яких раніше було виявлено бактерії роду *Kleibsiella*, та показано, що 11 із них відносилися до роду *Raoultella*. У більшості випадків бактеріємій, спричинених *Raoultella*, збудниками виступають *R. planticola* та *R. ornithinolytica*. Також до даного роду відносять види *R. terrigena* та *R. electrica*. Типовими середовищами існування для цих збудників виступають прісна вода, рослини та ґрунт. Переважно, *Raoultella* виступає умовно-патогенною складовою мікробіоти, спричиняючи інфекції жовчних протоків. Оскільки у геномі представників даного роду міститься ген β-лактамази класу А, для всіх ізолятів *Raoultella* спостерігалась характерна універсальна резистентність до ампіциліну [222]. Наразі, відомо 80 випадків бактеріємій, вторинно спричинених *Raoultella spp*, з різними джерелами первинної інфекції [223].

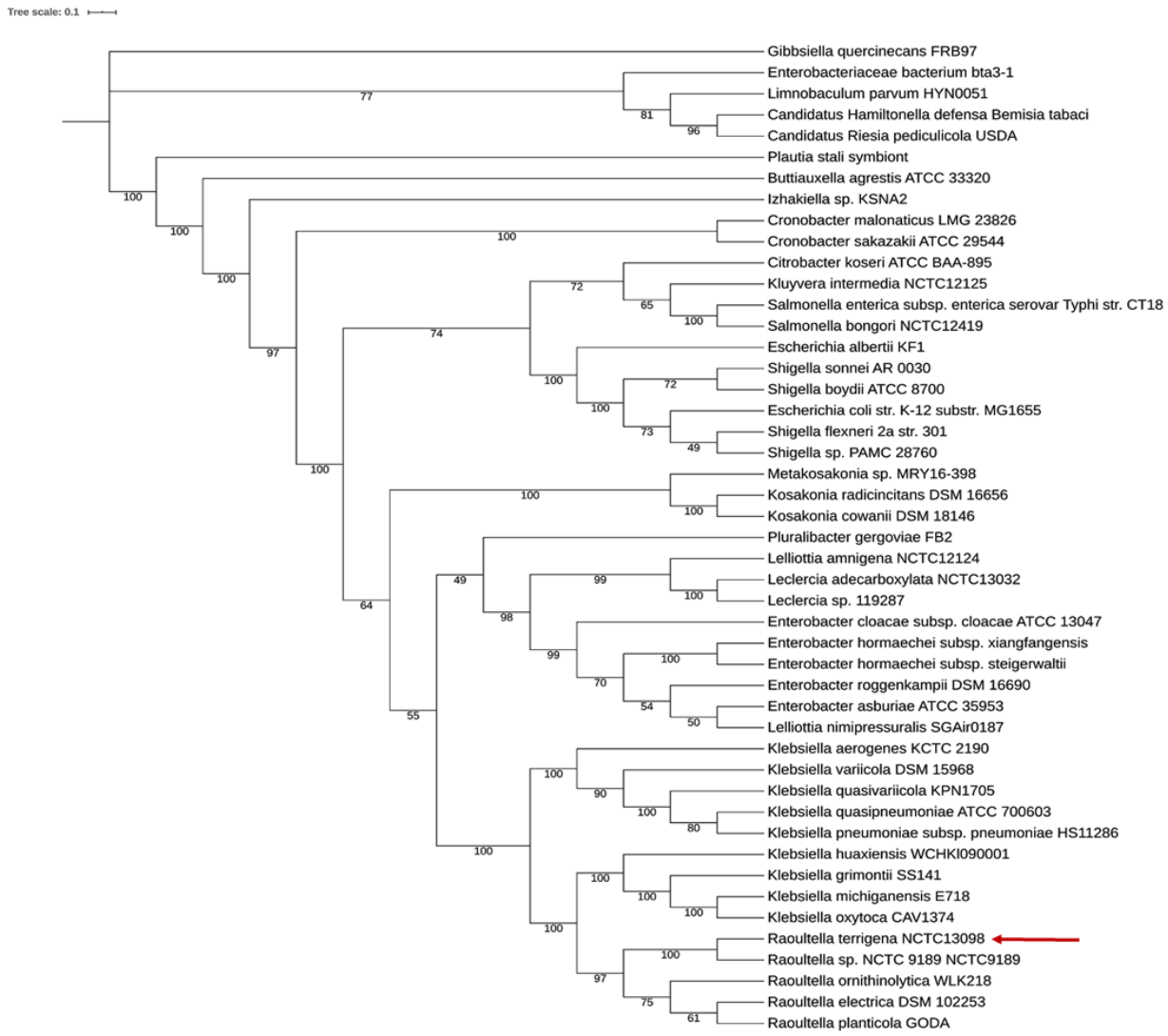


Рис. 4.3. Кладограма родини *Enterobacteriaceae*. Цифри - відсотки достовірності топології. Як метод достовірності використано ultrafastbootstrap (n=1000).

На загал, ці бактерії виступають чутливими до амоксициліну, піперациліну, піперацилін-тазобактаму, цефалоспоринів 2-4 поколінь, капбапенемів, аміноглікозидів, триметопрім/сульфатметоксазолу та тігецикліну. Як і *Kleibsiella*, *Raoultella* здатна набувати генів антибіотикорезистентності, що може привести до збільшення числа MDR ізолятів. Роботи останніх років з опису інфекцій, спричинених *Raoultella* показали, що для даних бактерій характерні різні механізми стійкості, яка найчастіше виявляється для сульфонамідів та квінолонів, а також антибіотиків β-лактамного спектру [224,225]. Гени стійкості до таких препаратів

було локалізовано в плазмідах бактерій, тобто вони не є конститутивною складовою їх геному [226–228].

Бактерії роду *Raoultella* не демонструють високого рівня вірулентності. У патогенезі захворювань, спичинених *Raoultella*, важливими є наявність: ліпополісахаридів (О-антиген), полісахаридної капсули (К-антиген), адгезинів (а саме, фімбрій класу 1 та класу 3), сидерофорів (ентеробактину та аеробактину), тетродоксину, гідролітичних ферментів та бактеріоцину раультелліну L. Дані бактерії також здатні формувати біоплівки [226,229]. Показано, що обробка сільськогосподарських культур, зокрема помідорів, суспензією *R. terrigena* з додаванням екстракту Wasabia japonica допомагає ефективно боротися із круглими червами Maloigyne incognita, які здатні пошкоджувати понад 3000 видів рослин, паразитуючи на їх корінні [230].

Raoultella terrigena – це грамнегативні, нерухомі капсульні палички, що належать до родини *Enterobacteriaceae*. Факультативні анаероби, що мають як дихальний, так і ферментативний типи метаболізму. Поруч із *R. electrica*, інфекції, спричинені *R. terrigena,* є поодинокими, а виявлення та вивчення випадків зараження даною бактерією – перспективним та важливим напрямком сучасної клінічної мікробіології [231].

***Raoultella terrigena* (*Klebsiella terrigena*) інфекція – короткий огляд клінічних випадків, описаних в літературі**

Станом на сьогодні існують 363 зареєстровані випадки *Raoultella* (*Klebsiella*) *terrigena* у людей з 1988 по 2021 рік, включаючи 2 випадки у цьому дослідженні. 132 випадки (36.3%) *K. terrigena* в Німеччині, 69 випадків (19.0%) з Пакистану, 56 випадків (15.4%) з Палестини, 36 випадків (9.9%) з Ефіопії, 27 випадків (7.4%) з Нігерії та 43 випадки (11.8%) з інших країн (Сполучені Штати, Туреччина, Ірак, Південна Корея, Україна, Австрія, Китай (рис. 4.4.; додаток 9.). У 140 зареєстрованих випадках (38.6%)) *R. terrigena* були MDR. У 13.6% випадків *R. terrigena* виділяли з калу людини без будь-яких клінічних симптомів.

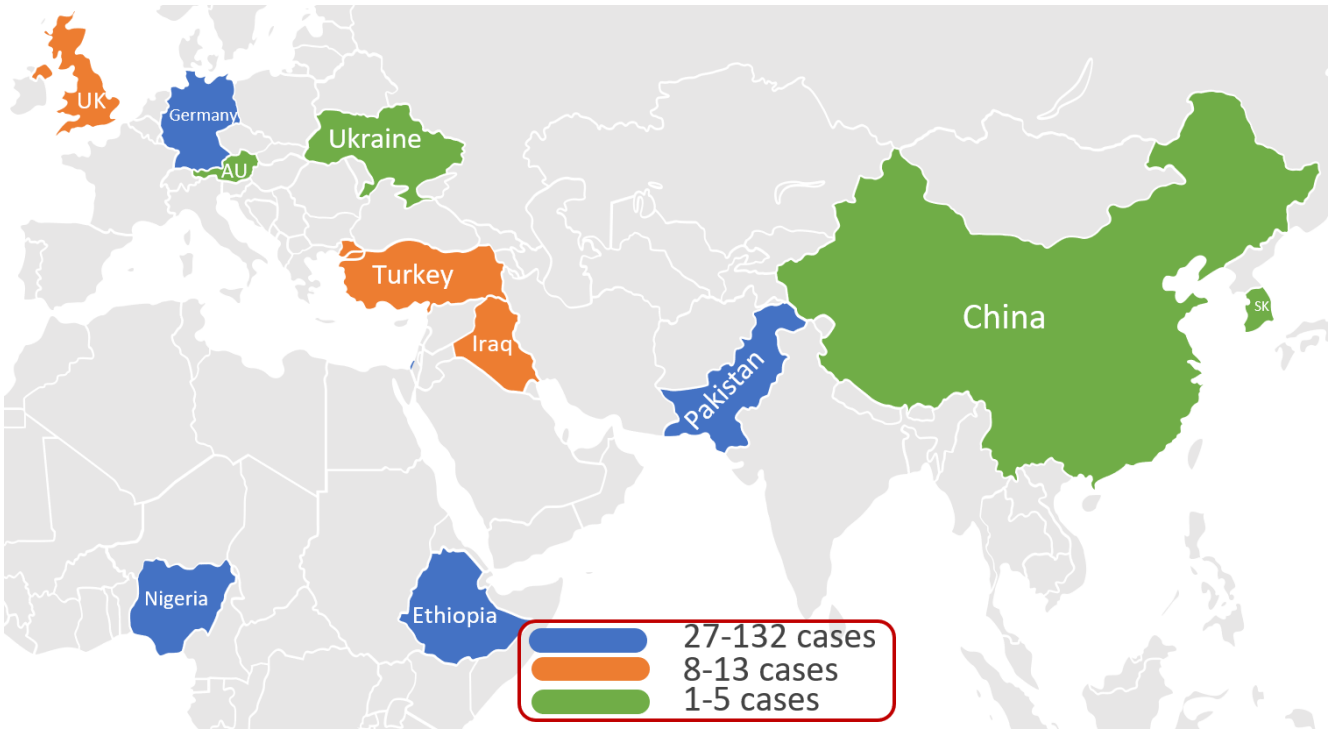


Рис. 4.4. Поширеність випадків інфекції *R. terrigena* (*Klebsiella terrigena*) зареєстрованих у світі з 1988 по 2021 рік.

Інфекція *R. terrigena* показала високу летальність (44.4%), 4 пацієнти з 9 окремо зареєстрованих клінічних випадків з представленою інформацією про результати померли (Додаток 9). Подібні рівні смертності (44.7%) були зареєстровані в Пакистані протягом 2013-2018 років [232]. У нашому випадку 1 пацієнтка нашого дослідження мала вагітність, еклампсію та анамнез тривалого куріння; у випадку 2 у пацієнта була декомпенсація цукрового діабету 1 типу, тому ми можемо сказати, що обидва пацієнти мали імунодефіцит [233].

Ретроспективний аналіз виділення 50 штамів *K. terrigena* з фекалій людини був проведений у 1990 р. в Кільському університеті (Німеччина). Проте про його клінічне значення не повідомлялося, тому була припущена гіпотеза про *K. terrigena* як частини нормальної мікробіоти людини [234]. А вже за 2 роки ті ж автори повідомили про 10 клінічних випадків зараження *K. terrigena* [235]. 50 випадків (фекалії) *Klebsiella terrigena* були виділені від здорових людей і 22 випадки з

клінічних випадків (15 респіраторних виділень, 1 посів крові, 2 сечі, 4 рани) у 2000 році у Великобританії [236].

Різноманітність можливих клінічних проявів не відрізняється від тих, які характерні для представників родини *Enterobacteriaceae* або роду *Klebsiella*.

З 1990 по 2021 рік в Україні не зареєстровано та не описано клінічних випадків зараження *Raoultella terrigena*. Однак огляд поширеності *R. terrigena* у всьому світі, показаний на рисунку 4.4., вказує на те, що деякі випадки R. terrigena були помічені в Європі в цей період. Крім того, у таблиці 1 наведено дані про випадки інфекції *R. terrigena* станом на 2021 рік, узагальнюючи клінічну історію пацієнтів, включаючи джерело інфекції та схему лікування. У випадках, описаних у таблиці 4.8., не було кореляції між географією, умовами навколишнього середовища, сезонами року, пацієнтами або тканинною мішенню.

Перший випадок підтвердженої інфекції *R. terrigena* (як *Raoultella*, а не *Klebsiella*) датується 2007 роком (Австрія). Останні докази інфікування *R. terrigena* на момент написання цієї дисертації були отримані з трьох клінічних випадків у мережі Indu Health Network, Пакистан.

Порівняння з іншими клінічними випадками

Інфекція *R. terrigena* може пошкоджувати різні органи (легені, рани, загальна септична інфекція), особливо у пацієнтів із хронічними захворюваннями (таб. 4.8.; додаток 9). У випадку № 1 було цікаво знати, що введення іміпенему протягом п’яти днів до забору біологічної проби для інокуляції не вплинуло на інокуляцію збудника, навіть якщо культивований штам *R. terrigena* був чутливим до іміпенему, свідчить про постійне джерело інфекції. для пацієнта, що потенційно може бути пов’язано з трубками пристрою, як описано раніше Hurrel et al. показуючи ріст збудника *R. terrigena*, пов'язували з трубками для годування новонароджених.

В обох випадах цього дослідження ізоляти *R. terrigena* були невибагливі до умов вирощування; культивується на звичайних живильних середовищах (агар з яловичим екстрактом, кров’яний агар, але варто вирощувати в середовищі Ендо (з лактозою)) при 37 °C, гемоліз (-), без специфічного запаху чи пігменту.

Таблиця 4.8.

Клінічна характеристика випадків *Raoultella terrigena*

Ознака	**Випадок 1**	**Випадок 2**	**За даними л-ри**
1	**2**	**3**	**4**
	Жінка,32 р.	Жінка, 18 р.	22 випадки
Діагноз на момент поступлення	Еклампсія після кесаревого розтину	субдуральна гематома	Пневмонія, резекція панкреас, холецистектомія, панариций
Обтяження анамнезу	Кісти правої нирки, жовчно-кам. хвороба, тривале	Цукровий діабет I типу, стадія декомпенсації,	Діабет,трансплантація органів, гепатит С, діабет, ІХС
	Загострення хрон. Бронхіту, гострий ПМК, гіпоальбумінемія		Ендокардит, сепсис,
Проведене лікування	Переливання крові,	Переливання еритромаси, інтубація трпхеї	
Антимікрорбна терапія	Іміпенем, ванкоміцин, метнронідазол	Цефтриаксон, левофлоксацин, флуконазол	Піперацилін-тапзобактам, цефоперазон, іміпенем, ванкоміцин фосфоміцин,тегіциклін

1	**2**	**3**	**4**
Лейкоцитарна формула	Лейкоцитоз, зсув вліво, ШОЕ 23мм/год, ЦРБ +++	Лейкоцитоз, зсув вліво, ШОЕ 35 мм/год, ЦРБ +++	Лейкоцитоз, зсув вліво, підвищенняШОЕ мм/год, ЦРБ +++
Стан хворого на момент мікроб. дослідження	кома	Гідроторакс, набряк легень	
Матеріал для мікробіол. дослідження	Бронхіаль ний аспірат	Трахеостомічний бронхіальний аспірат	Респіраторний секрет, кров, сеча, раневий ексудат, жовч
Термін посіву після госпіталізації	8 день	5 день	
Результат посіву	*R. terrigena,* 10^7 КОЕ/мл	R. terrigena було виявлено у кількості 106 КУО/мл.	
	Хвора одужала	Хвора померла	Смертність 44%

Відстрочений початок інфекції у пацієнтів (тобто щонайменше через 48 годин після госпіталізації), а також той факт, що обидва пацієнти перебували в одному відділенні реанімації (у різний час) і на ШВЛ з подібними профілями антибіотикотерапії, участь внутрішньолікарняної передачі інфекції для двох клінічних випадків, ми припускаємо, що *R. terrigena* може відігравати важливу роль у нозокоміальних опортуністичних інфекціях, пов’язаних з медичними девайсами [237].

Ці два клінічні випадки, що розглядаються тут, підкреслюють необхідність створення в Україні більш стандартизованої системи реєстрації та дослідження

внутрішньолікарняних інфекцій з потенційно небажаними наслідками для здоров'я населення.

4.3. Клінічний випадок рідкісного збудника *Vibrio metchikovii* інфекції та порівняння з іншими випадками в літературі

Представники роду переважно живуть як вільний планктон, асоційонаний з вільним хітиновим матеріалом, водоростями [238]. 13 представників асоційовані з хворобами у людини, викликають діарею чи позакишкові симптоми (раневі інфекції, інфекції м'яких тканин, бактеріємію), зокрема *V. cholerae, V. parahaemolyticus* та *V. vulnificus* вважаються найбільш значущими. Найчастіше факторами передачі є вода та морські продукти. Бактерії роду *Vibrio* викликають хвороби у риб (зокрема, форелі), молюсків, тархунів, вугрів, устриць.

Vibrio metschnikovii повсюдно поширений у воді (як морській так і у прісній), зокрема у 2020 році було виділено 38 штамів *Vibrio metschnikovii* з води Норвезького моря біля берегів Норвегії та з оселедців цього ж моря [239]. *Vibrio metschnikovii* асоційований зі здатністю викликати хвороби у людей - здебільшого діарею, інфекції м'яких тканин та бактеріємію, проте деякі автори стверджують, що *Vibrio metschnikovii* притаманні тільки позакишкові прояви. Найчастіще збудника можна виділити з крові, сечі, раневих поверхонь, жовчі, калу. Збудник здебільшого викликає хвороби у риб, зокрема у сардин (*Sardinella longiceps*) з ураженням зябер, травної системи та яєчників у самок, з відсутністю ураження (на відміну від інших видів *Vibrio* spp), яєчок самців риб сардин [240].

Vibrio metschnikovii, як і інші представники роду *Vibrio*, відносяться до галофільних мікроорганізмів (організми, що мешкають в умовах високої солоності). *Vibrio metschnikovii* характеризується мінливістю та за певних умов дефіциту нутрієнтів може зменшуватися в розмірах та втрачати в об'ємі (15-67%), перетворюючись з паличкоподібних форм на кокоподібні (сферичні

ультрамікрококи) [241]. Основними факторами патогенності є: гемолізин (ген *tlh*), також присутні гени токсикоутворення (*rtx*A, відповідальний за продукування голотоксинів). Здатність продукувати цитотоксин підтвердилася, коли *Vibrio metschnikovii* виявили в абортованих плодах свиней, ВРХ та коней, а також в різних частинах мозку качок та гусей у Німеччині. Також цей збудник був виявлений у кишечнику курей, та разом з *E.coli* викликав гепатит птиці [242]. Виявлені біля берегів Норвегії у воді 38 штамів мали гени резистентності adeF (відповідальний за поліфармакологічний ефлюксний механізм), blaCARB (відповідальний за резистентність до карбеніциліну), catB-related (відповідальний за резистентність до хлорамфенікому) та гени відповідальні за фактори патогенності Hem *III* (гемолізин типу III), *hylA, tlh* [239]. Часто збудник має великі плазміди 190-340 кВ, функція яких достеменно невідома.

Виявлені 10 штамів з озер, зокрема, з озер на місці графітових кар'єрів у Словаччині свідчать про 100% резистентність до пеніциліну та 90% резистентність до стрептоміцину [238]. А 13% «норвезьких» штамів виявилися стійкими до тобраміцину та у 21% випадків - до ампіциліну [239]. Також деякі автори [243] повідомляють про 91% стійкість до пеніциліну G, 95% стійкість до сульфадіазину, 86% стійкість до канаміцину та 69% стійкість до ампіциліну.

Культивується збудник відносно нескладно. Є екологічно пластичним: хоча оптимальним pH є 6, але здатний рости навіть при pH 10, за температури 30-40°C. Росте у вигляді жовтих колоній на тіосульфат-цитрат-жовчно-соле-цукровому агарі (TCBS agar) [243] (таб. 4.9.). *Vibrio metschnikovii* викликає гемоліз еритроцитів, як в організмі людини, так і альфа- або бета-гемоліз на кров'яному агарі. Найкраще росте при вмісті NaCl 1.0-8.0%. З навколишнього середовища частіше виділяється в теплі місяці року (з травня до серпня для територій з помірним кліматом). На відміну від інших видів роду *Vibrio* більшою мірою є холодовитривалим. Через високий рівень варіабельності біохімічних властивостей *Vibrio metschnikovii,* встановлення ролі збудника у виникненні ІПНМД потребує використання додаткових методів дослідження.

Таблиця 4.9.

Оптимальні умови для культивування та варіативність біохімічних властивостей для різних *Vibrio metschnikovii* [243].

Умови росту та біохімічні властивості	***Vibrio metschnikovii,* Відсоток позитивних**
1	**2**
Біохімічні властивості	
Виробництво індолу:	
Пептонна вода	22
Пептонна вода + 1% NaCl	26
Сердечний настій + 1% NaCl	17
метиловий червоний:	
Стандартний	17
Стандарт + 1% NaCl	96
Фогес – Проскауер:	
Стандартний	26
Стандарт + 1% NaCl	24
Стандарт + 1% NaCl; Метод Барріта	96
Аргініндигідролаза:	
Мьоллерс	0
Меллерс + 1% NaCl	59
Лізиндекарбоксилаза:	
Мьоллерс	13
Меллерс + 1% NaCl	36
Орнітиндекарбоксилаза:	
Мьоллерс	0
Меллерс + 1% NaCl	0

1	**2**
Гідроліз желатину:	
Стандартний	65
Стандарт + 1% NaCl	38
Гідроліз ескуліну:	
Стандартний	4
Стандарт + 1% NaCl	59
Відновлення нітратів до нітритів:	
Стандартний	0
Стандарт + 1% NaCl	0
Цитрат, Сіммонс	75
H2S на TSI	0
Гідроліз сечовини	0
Фенілаланіндеаміназа	0
Рухливість, (36 С)	74
Тест KCN (відсоток зростання)	0
Використання малонату	0
D-глюкоза, вироблення кислотис	100
D-глюкоза, виробництво газус	0
Виробництво кислоти з:	
D-адонітол	0
L-арабіносек	0
D-арабітол	0
Целобіосек	9
дульцитол	0
Еритритол	0
D-галактоза	45
гліцерин	100

1	**2**
міо-інозитол	40
лактосек	50
мальтосек	100
D-манітол	96
D-маноза	100
Мелібіоз	0
-Метил-D-глюкозид	25
Рафіноза	0
L-рамноза	0
Salicinc	9
D-сорбіт	45
Сакросек	100
Трегалоза	100
D-ксилоза	0
Продукція мукатної кислоти	0
Тартрат-Йорданія	35
Використання ацетату	25
Оксидасек	0
ДНКаза (25 С)	50
Ліпасец	100
ONPG testc	50
Жовтий пігмент при 25 С	0
Очищення від тирозину	5
Зростання в поживному бульйоні з:	
0% NaClc	0
1% NaClc	100
6% NaClc	78

1	**2**
8% NaClc	44
10% NaClc	4
12% NaClc	0
Роїння (морський агар, 25 С)	-
Тест на струну	100
О/129, зона гальмуванняс	90
Поліміксин В, % із зоною гальмування	100
Поживне середовище	
Середовища та збагачення, які часто використовуються в лабораторіях клінічної мікробіології:	
Овечий кров'яний агар	+ + + +
агар МакКонкі	+ +
Лужна пептонова вода	+ + + +
Неселективні «морські» медіа:	
Морський бульйон	+ + + +
Морський агар	+ + + +
Фотобактерійний агар	+ + + +
Відвар фотобактерій	+ + + +
Вибірковий носій для Vibrio:	
TCBS агар	+ + + + жовті колонії
Вібріон-агар	+ + + +

Vibrio metschnikovii разом з *Vibrio gazogenes* є унікальними представниками роду *Vibrio*, оскільки вони є нітрат-негативними (не відновлюють нітрати до нітритів) та оксидазо-негативними (деякі штами), а також відрізняються від інших видів роду *Vibrio* імунологічним відношенням до супероксиддисмутази та за

результатами досліджень шляхом ДНК-ДНК гібридизації, що на думку деяких авторів може бути основою для подальшої їх рекласифікації в окремий рід. [243].

Case

Пацієнт, чоловік 70 років, госпіталізований в ургентному порядку у жовтні 2019 року в реанімаційне відділення однієї з лікарень міста Львова (Україна) з ознаками шлунково-кишкової кровотечі імовірно виразкового генезу. Після стабілізації стану та зупинки активної кровотечі консервативними методами на 3 добу був переведений у хірургічне відділення з постгеморагічною анемією. В анамнезі у 1991 оперований з приводу синдрому Леріша - біфуркаційне аорто-стегнове алопротезування, у 1999 р. через тромбоз біфуркаційного протезу виконано біфуркаційне аорто-стегнове репротезування, через 2 роки тромбоз правої бранші біфуркаційного протезу, з приводу чого виконано екстраанатомічне аксілярно-стегнове алошунтування справа з раннім тромбозом реконструкції, після чого виконано ампутацію правої нижньої кінцівки. Згодом оперований з приводу стегново-підколінної оклюзії зліва - виконано аутовенозне стегново-підколінне алошунтування, на час даного клінічного спостереження – аутовенозний шунт тромбований, ознаки загрозливої ішемії кінцівки відустні.

На 5 добу перебування на стаціонарному лікуванні у пацієнта спостерігалась клініка рецидиву шлунково-кишкової кровотечі, однак при ендоскопічному моніторингу джерела кровотечі у шлунку чи 12-палій кишці не виявлено. Пацієнту виконано МСКТ в ангіорежимі, на якій верифіковано формування псевдоаневризми центрального анастомозу біфуркаційного аорто-стегнового алопротеза та аорто-тонкокишкової нориці, що стало причиною рецидиву ШКК. Ультрасонографічно біфуркаційний протез навколо оточений ексудатом, імовірно є інфікованим. Пацієнта кваліфіковано до хірургічного лікування. Виконано екстраанатомічне аксілярно-глибокостегнове алошунтування зліва, виключення аневризми центрального анастомозу біфуркаційного аорто-стегнового алопротеза, видалення інфікованого біфуркаційного аорто-стегнового алопротеза, ліквідацію

аорто-тонкокишкової нориці (під комбінованим знечуленням). Крововтрата становила 2250 мл, застосовувалася реінфузія аутокрові (селл-сейвер), контроль системи гемостазу здійснювали за допомогою тромбоеластографії та агрегометрії.

Перебіг післяопераційного періоду ускладнений розвитком ниркової дисфункції, госпітальної двобічної пневмонії, часткової закритої неускладненої евентрації з подальшим формуванням вентральної грижі, вторинне загоєння п\о рани черевної стінки (проводилася ВАК-терапія рани), виникненням антибіотик-асоційованої діареї.

Після хірургічного видалення дакроновий біфуркаційний аорто-стегновий протез було скеровано на мікробіологічне дослідження. Виділено збудника *Vibrio metschnikovii* у значній кількості (біля 10^8 КУО/мл). Біохімічні властивості у таблиці 4.11. Чутливість до антибіотиків представлена у таблиці 4.10.. З цього ж таки фрагменту протезу було ізольовано культуру грибів *Trichosporon spp* у незначній кількості (пізніше краще ідентифікований як *Candida guilliermondii*), резистентну до клотримаозолу та чутливу до флуконалозу.

У результаті 10-тиденного лікування меропенемом, метронідазолом впродовж трьох днів та флюконазолом - 7 днів, пацієнт з покращенням стану переведений на палатний режим.

Після 10-денної антибіотикотерапії посів крові виявив *Staphylococcus piscifermentans* у кількості 10^6 КУО/мл, який згідно даних літератури не є патогенним, стан пацієнта був стабільний, активного інфекційного процесу не спостерігалося, тому вважаємо, що було допущено помилку при заборі крові.

На 67 добу стаціонарного лікування пацієнт виписаний у задовільному стані. Протягом 6 міс спостереження стан пацієнта характеризувався позитивною динамікою, пацієнту виконано герніопластику з приводу післяопераційної вентральної грижі [244].

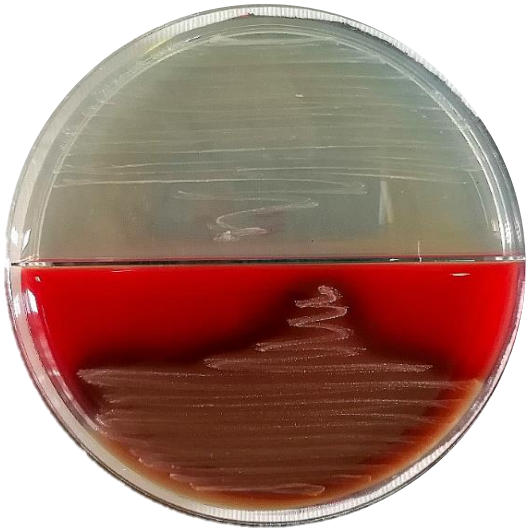
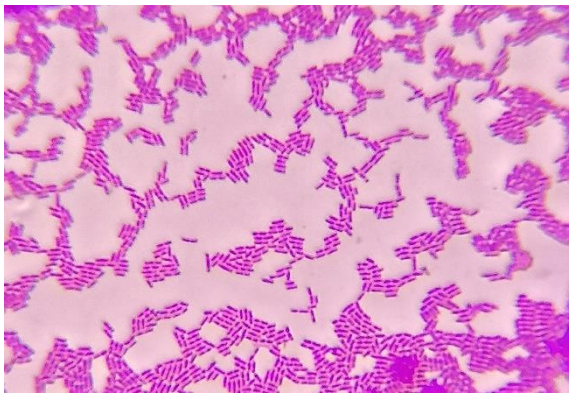
	

Рис. 4.5. Чиста культура *Vibrio metschnikovii* на кров'яному агарі та простому м'ясо-пептонному агарі	Рис. 4.6. Світлова мікроскопія *Vibrio metschnikovii* (забарвлення за Грамом, збільшення 10×100). грамнегативні паличкоподібні нерухливі бактерії, 1-2 мкм, типово для роду Vibrio.

Таблиця 4.10.

Антибіотикограма виділеного збудника *Vibrio metschnikovii*

Препарат	**чутливість**
1	**2**
1. Ампіцилін	S
2. Амоксиклав	S
3. Піперацилін	S
4. Ванкоміцин	S
5. Меропенем	S
6. Цефазолін	S
7. Цефуроксим	S
8. Сульперазон	S

1		**2**
9.	Ампісульбін	S
10.	Цефотаксим	S
11.	Ванкоміцин	S
12.	Ципрофлоксацин	S
13.	Левофлоксацин	S
14.	Моксифлоксацин	S
15.	Гентаміцин	S
16.	Тобраміцин	S
17.	Амікацин	S
18.	Тетрациклін	S
19.	Доксициклін	S
20.	Лінезолід	S
21.	Тігециклін	S
22.	Сизоміцин	S
23.	Кліндаміцин	S
24.	Азитроміцин	S
25.	Нетилміцин	S
26.	Еритроміцин	S
27.	Фуразолідон	S
28.	Фуразидин	S
29.	Іміпенем	S
30.	Амоксицилін	S
31.	Гатифлоксацин	S
32.	Новобіоцин	S
33.	Рифампіцин	S
34.	Цефтріаксон	R
35.	Цефепім	R

1	2
36. Цефтазидим	R
37. Сульбактомакс (цефтріаксон/сульбактам)	R
38. Тейкопланін	R
39. Фосфоміцин	R
40. Метронідазол	R
41. Ко-тримоксазол	R
42. Колістин	R
43. Бензилпеніцилін	R
44. Оксацилін	R
45. Цефазолін	R
46. Азтреонам	R
47. Бацитрацин S	R
48. Офлоксацин	R
49. Піофаг (бактеріофаг полівалентний)	R
50. Інтестіфаг (бактеріофаг полівалентний)	R

R-resistance, iS-intermediate sensitivive, S-sensitive

Огляд інших клінічних випадків

Використовуючи інформаційний ресурс PubMed, за пошуком *Vibrio metschnikovii* ми знайшли 13 описаних клінічних випадків *Vibrio metschnikovii* інфекції.

Короткий опис клінічних випадків представлено в Додатку 7.

Таблиця 4.11.

Профіль біохімічних властивостей *Vibrio metschnikovii*

(даний клінічний випадок).

Профіль біохімічних властивостей																	
XI	RE	AC	AL	RG	AN	LT	RN	RE	EL	YS	YL	UC	A M	RA	NO	GL	GA	GT
AG	GA	HS	CI	AL	SL	ND	HE	PT	2S	NP	OR	DO	HA	LB	AF	UL	AL	LU

OXI – oxidase, URE - urea hydrolisis, LAC - acid from lactose, GAL - acid from galactose, ARG - arginindihydrolase, MAN - acid from mannitol, MLT - acid from maltose, ORN - ornithindecarboxylase, TRE - acid from trehalose, CEL – acid from cellobiose, LYS - lysindecarboxylase, XYL - acid from xylose, SUC - acid from saccharose , AAM - acetamide utilization, ARA - acid from L-arabinose, INO – acid from myo-inositol, BGL – β-glukosidase, AGA – α-glukosudase, GGT – γ-glutamyle-transferase, NAG – N-acetyl-glucosaminidase, BGA - β-galactosidase, PHS – phosphatase production, SCI – citrate utilization, MAL – malonate utilization, ESL – aecsuline hydrolysis, IND – indole production, PHE - phenylalanindeaminase, VPT- acetonin production, H2S – hydrogen sulfide production, ONP - β-galactosidase (ONPG), SOR – acid from sorbitol, ADO – acid from adonitol, RHA – acid from rhamnose, MLB – acid from mellibiose, RAF – acid from raffinose, DUL – acid from dulcitol, MAL – malonate utilization, GLU – acid from glucose.

Примітка. Синій колір – метаболізує субстрат; Помаранчевий колір – НЕ метаболізує субстрат.

Порівняння з іншими клінічними випадками

Vibrio metschnikovii – рідкісний для організму людини патоген, якого можна класифікувати, як частково зоонозний мікроорганізм з водним та харчовим шляхами передачі до людини. Збудник поширений повсюдно, немає чіткої географічної локалізації. За період 1981-2014 було повідомлено про 13 клінічних випадків (додаток 7, таб. 4.12.) *Vibrio metschnikovii* інфекції, і жодного випадку в проміжку 2014-2020 (за базою даних PubMed). *Vibrio metschnikovii* інфекція може мати фатальний перебіг, проте з 14-ти випадків зафіксовано лише 1 смертельний. Більшість пацієнтів бути старшого віку та з тривалими супутніми хворобами, які спричинюють вторинні імунодефіцитні стани, наприклад цукровий діабет, хронічна серцева недостатність, хронічна ниркова недостатність.

Таблиця 4.12.

Клінічна характеристика ІПНМД, спричиненої *Vibrio metschnikovii*

Ознака	**Даний випадок**	**За даними літератури (дорослі пацієнти, 14 осіб)**
1	**2**	**3**
	Чоловік, 70 р.	Особи старшого віку
Діагноз на момент поступлення	Шлунково-кишкова кровотеча, постгеморагічна анемія, псевдоаневризм центрального анастомозу біфуркаційного аорто-стегнового алопротеза та аорто-тонкокишкова нориця	Післяопераційні ускладнення, септичний шок, діарея, інфекції м’яких тканин
Обтяження анамнезу	Синдром Леріша, біфуркаційне аорто-стегнове алопротезування, ускладнення – ампутація правої нижньої кінцівки, аутовенознестегново-підколінне алошунтування	Хронічні хвороби: цукровий діабет, хронічна серцева недостатність, ниркова недостатність
	Загострення хрон. Бронхіту, гострий ПМК, гіпоальбумінемія	Бактеріємія, перитоніт тощо
Проведене лікування	Видалення інфікованого біфуркаційного аорто-стегнового алопротеза, ліквідацію аорто-тонкокишкової нориці, реінфузія аутокрові	Хірургічне лікування вогнища інфекції
Антимікрорбна терапія	меропенем, метронідазол флюконалоз	β-лактами (амоксиклав), аміноглікозиди (тобраміцин)

1	**2**	**3**
Стан хворого на момент мікроб. дослідження	антибіотик-асоційована діарея	Гідроторакс, набряк легень
Матеріал для мікробіол. Дослідження	біфуркаційний аорто-стегновий протез	Гній, кров, жовч, бронх. Аспірат, випорожнення
Термін посіву після госпіталізації	6 день,	5 день і більш віддалені терміни
Результат посіву	*1)Vibrio metschnikovii,* біля 10^8 КУО/мл, *Trichosporon spp.* -102 КУО/мл	*Vibrio metschnikovii* в моно- чи мікст-культурі
	Хворий одужав	Смертність близько 7%

В жодному з описаних випадків не вдалося встановити джерело інфекції, оскільки пацієнти заперечували контакт з морською водою чи вживання морепродуктів напередодні.

Аналізуючи описаний нами клінічний випадок, слід зазначити, що інтраопераційна мікробна контамінація є найчастішою причиною інфекції судинних протезів. На другому місці – поширення інфекції із суміжних анатомічних ділянок, таких як ранева інфекція чи абсцеси черевної порожнини або малого тазу. 30 % інфікувань судинних протезів виникають внаслідок формування протезно-дигестивної ерозії та згодом нориці, що спричинює контакт кишкового вмісту із судинним протезом, що теж імовірно мало місце у нашому спостереженні. Інші причини – це мікробна колонізація тромботичних мас або пряма інокуляція мікроорганізмів під час інших хірургічних процедур, а найрідше - внаслідок бактеріємії, у т.ч. транзиторної. [245]. Вважаємо, що вірогідною причиною інфікування судинного протеза у нашому випадку була мікробна контамінація внаслідок формування аорто-дигестивної нориці. Проте, слід врахувати, що від

пацієнтів реанімаційного відділення цієї ж лікарні з періодичністю у кілька місяців було виділено декілька збудників роду *Aeromonas*. Дані збудники *Aeromonas spp*. були виділені з крові та сечі пацієнтів і мали характеристики збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги (виникнення інфекційного процесу після госпіталізації, полірезистентність до антибіотиків та інші). Як відомо, бактерії роду *Aeromonas* мають здебільшого водний шлях передачі та за рядом властивостей схожі до збудників роду *Vibrio*,з якими їх часто не диференціюють при автоматизованій ідентифікації [246]. Також від іншої пацієнтки цього ж відділення через 3 місяці був виділений збудник за характером росту колоній та за морфологічними властивостями схожий до *Vibrio spp*. Пацієнтка була прооперована з приводу хвороби Такаясу та на мікробіологічне дослідження будо надано фрагмент судини аорти, з якого було виділено збудник в незначній кількості. Пацієнтка не мала проявів інфекційного процесу, кількість виділеного збудника не свідчила про його патогенну роль, тому антибіотикотерапія не застосовувалася. Тому не виключаємо, що з малою імовірністю *Vibrio metschnikovii* може бути інфекцією, пов'язаною з наданням медичної допомоги.

Trichosporon spp може бути причиною інфікування артеріальних судинних протезів [247], проте у нашому випадку *Trichosporon spp* був виділений у невеликій кількості, тому говорити про провідну роль в інфікуванні протезу не можна.

У нашому випадку *Vibrio metschnikovii* – невибагливий до культивування збудник, культивується на кров'яному агарі за 37 °С, спричинює бета-гемоліз, культура не має специфічного запаху чи пігменту. Колонії неспецифічні, розмір - близько 0.3 мм. (рис. 4.5.). При мікроскопії первинних колоній збудник нагадував мікрококи, і тільки після пасажування набув форми паличок з незначно зігнутими кінцями. Біохімічні властивості не відрізнялися від описаних в літературі.

У всіх описаних випадках *Vibrio metschnikovii* не проявляв поліантибіотикорезистентності чи схожості профілю резистентності до антибіотиків, наприклад частина штамів була стійка до ампіциліну, проте інша

частина була чутлива до ампіциліну. Може бути кваліфікований як чинник екзогенної (здебільшого, ятрогенної) опортуністичної інфекції.

Розділ висвітлено в матеріалах публікацій:

1. Lekhniuk N, Fesenko U, Pidhirnyi Y, Sękowska A, Korniychuk O, Konechnyi 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 PMCID: PMC8123537 PMID: 34026135 (Web of Science)

2. 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)

3. 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)

4. 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

РОЗДІЛ 5

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙ, ПОВ'ЯЗАНИХ З НАДАННЯМ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ

5.1. Характеристика збудників ІПНМД

З 389-ти зразків було ізольовано 309 ізолятів мікроорганізмів. Розподіл ізолятів за Грамом наведено у таблиці 5.1., найбільшу кількість (51.5%) становили грамнегативні мікроорганізми (рис. 5.1.) [248].

Таблиця 5.1.

Кількість виділених мікроорганізмів

	абсолютні числа	**%**
Грам "+" збудники	109	35.3
Грам "-" збудники	159	51.5
Дріжджеподібні гриби	41	13.3
загальна кількість	309	100

Рис. 5.1. Розподіл виділених ізолятів мікроорганізмів

Загалом було виділено 54 різних види та підвиди мікроорганізмів (Додаток 8). Найбільшу кількість ізолятів мікроорганізмів було виділено з БАА (130 ізолятів), а також з сечі (102 ізоляти) (рис. 5.2.).

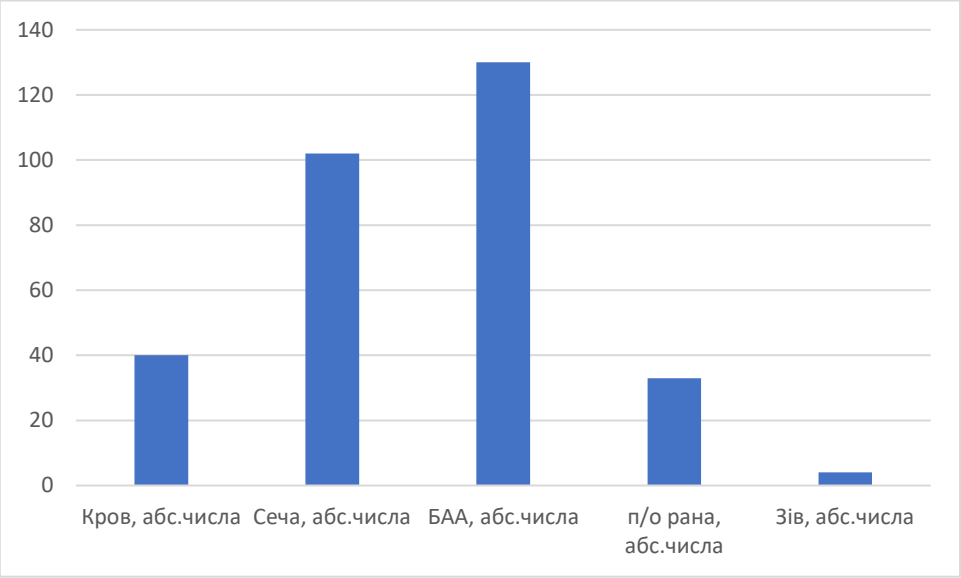


Рис. 5.2. Кількість виділених ізолятів мікроорганізмів з різних біоматеріалів

Серед грампозитивних патогенів було ізольовано 15 різних видів збудників, найбільше представників роду *Staphylococcus* – 52 ізоляти, що становить 16.8% від загальної кількості збудників (рис. 5.3.).

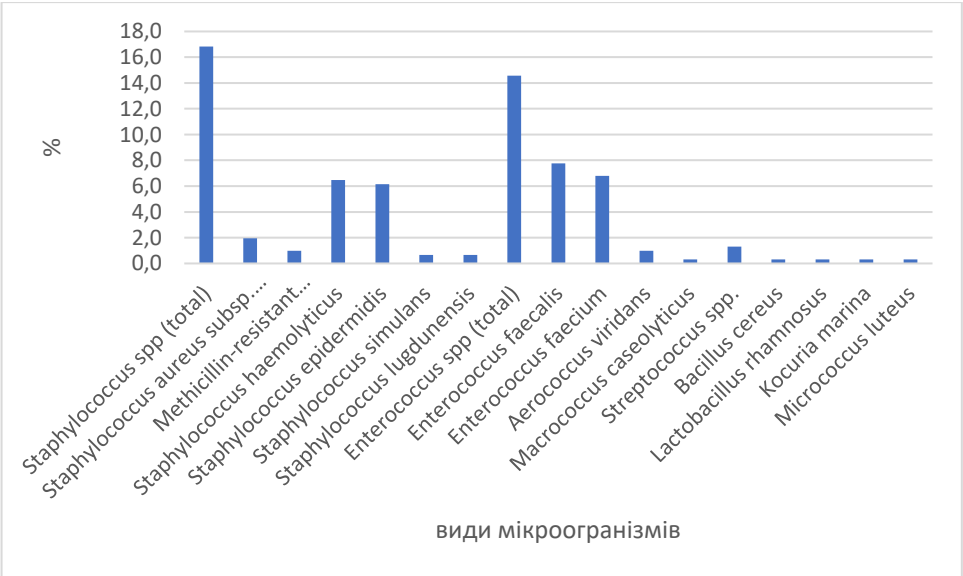


Рис. 5.3. Видовий розподіл грампозитивних ізолятів мікроорганізмів, % від загальної кількості.

Серед грамнегативних патогенів було ізольовано 27 різних видів збудників, найбільше представників роду *Pseudomonas* – 50 ізолятів, що становить 16.2% від загальної кількості збудників (рис. 5.4.).

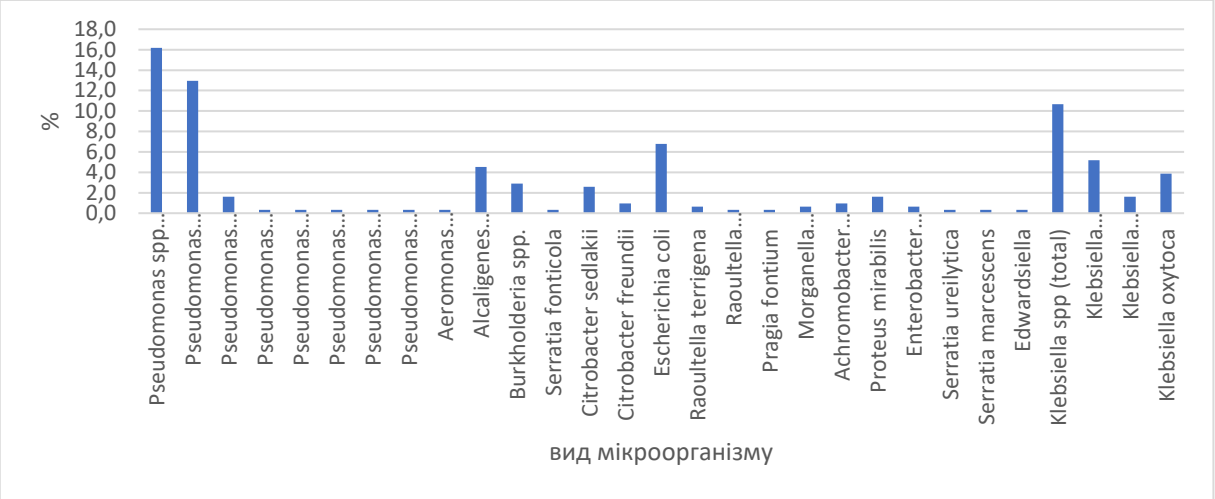


Рис. 5.4. Видовий розподіл грамнегативних ізолятів мікроорганізмів, % від загальної кількості.

Серед грибів було ізольовано 12 різних видів збудників, найбільше представників *Candida non-albicans* – 20 ізолятів, що становить 6.5% від загальної кількості збудників (рис. 5.5.), *Candida albicans* було виділено 15 ізолятів (4.9% від загальної кількості збудників).

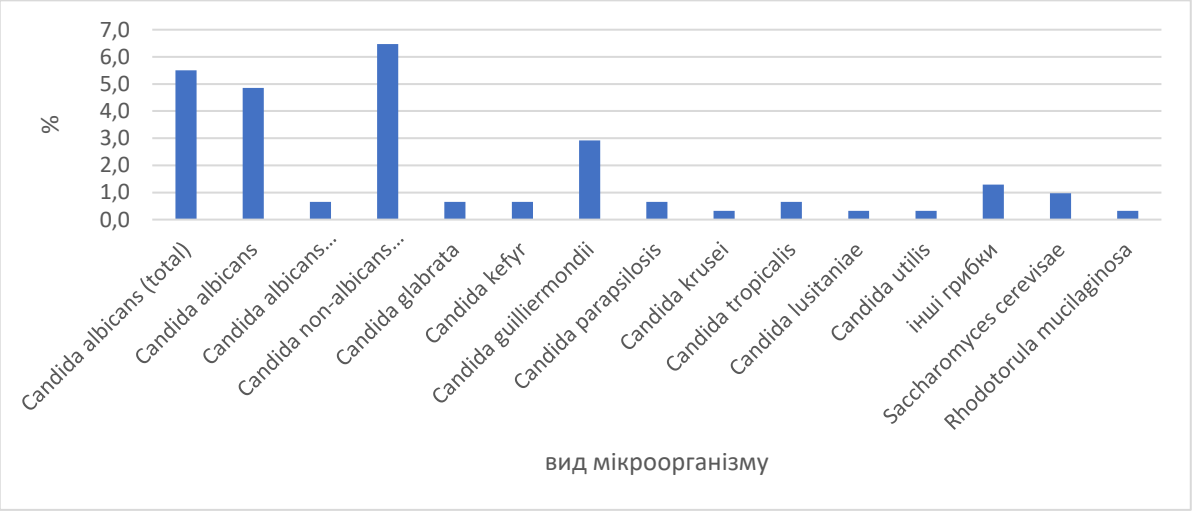


Рис. 5.5. Видовий розподіл грибів, % від загальної кількості.

Індекс точності біохімічної ідентифікації культур становив >=95% (таксон дуже добре відрізняється від інших таксонів) або >=99% (таксон відмінно відрізняється від інших таксонів) для 87.4% ізолятів (n=270). ID>=90% (таксон задовільно відрізняється від інших таксонів) був для 9.4% (n=29) ізолятів, а для 3.2% ізолятів (n=10) %id<90% (таксон незадовільно відрізняється від інших таксонів).

T індекс (Tin) – показує, наскільки близько профіль відповідає більшості типових реакцій даного таксона. Його величина варіює від 0 до 1 і обернено пропорційна кількості атипових тестів. 50.8% штамів (n=157) мали індекс атиповості 0.25-0.49, тобто дані штами можна охарактеризувати як атипові. 21.0% штамів (n=65) були «менш атиповими» (Tin 0.5-0.74). 28.2% ізолятів (n=87) мали типові біохімічні властивості (Tin >=0.75).

Всі штами мікроорганізмів були ідентифіковані за допомогою MALDI-TOF на кафедрі мікробіології Колегіуму медичного в м. Бидгощ (Польща). MALDI ID-score 95.5% ізолятів (n=295) становив >=2.0, тобто звідчив про добру видову ідентифікацію, інші ізоляти мали ID score 1.7-1.9, що свідчить про родову ідентифікацію.

Схожість різних штамів мікроорганізмів з метою підтвердження потенційного зв’язку шляхів передачі штамів між пацієнтами одного відділення, було проведене порівняння патернів масс-спектру білків та створені дендрограми порівняння. Таким чином було підтверджено буде близьку схожість ряду штамів мікроорганізмів, що може свідчити про в/лікарняну передачу. Для прикладу, аналіз спектрограм 17 штамів (1-113/3; 2-150; 3-157; 4-16/1; 5-17; 6-1i; 7-1U; 8-22; 9-54/2; 10-5U; 11-9U; 12-11U; 13-142; 14-156; 15-149; 16-138; 17-155) грамнегативних паличок роду *Klebsiella* дозволив розділити їх на 4 основні кластери, та продемонстрував суттєву схожість ізолятів №№ 1/6/17; 12/9; 3/14; 2/16/13; 4/15; 8/11/7 (рис. 5.6.), в порівнянні з референтними штамами (рис. 5.7.).

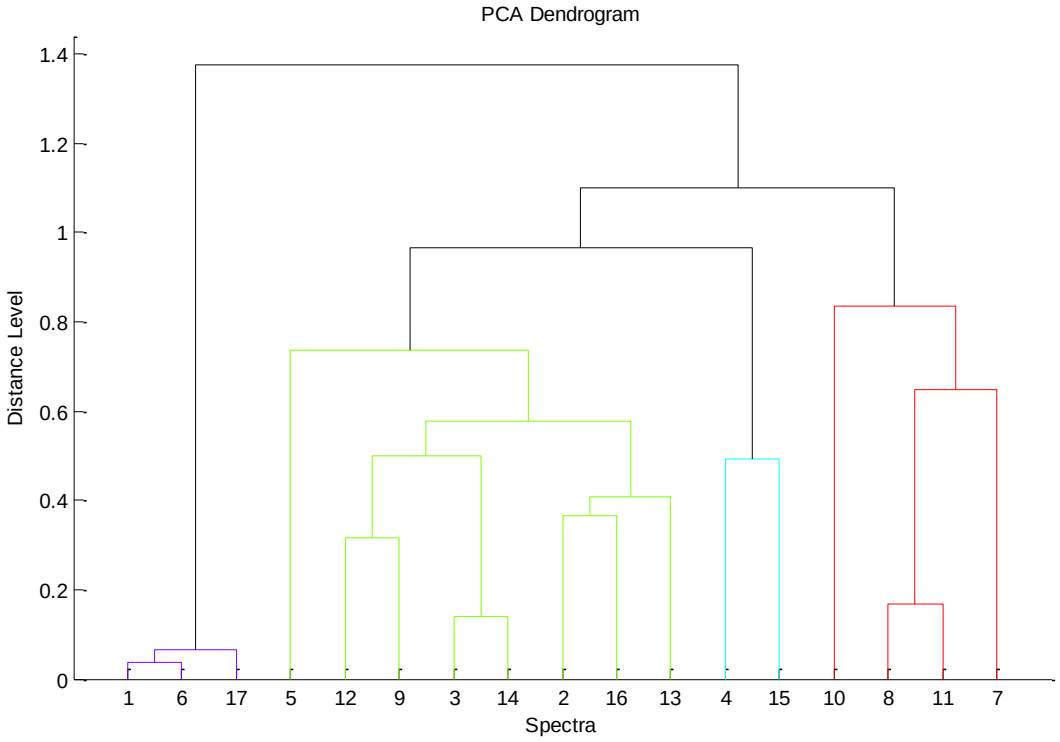


Рис. 5.6. PCA дендрограма подібності штамів за MALDI-TOF. Кольором виділені 4 основні кластери.

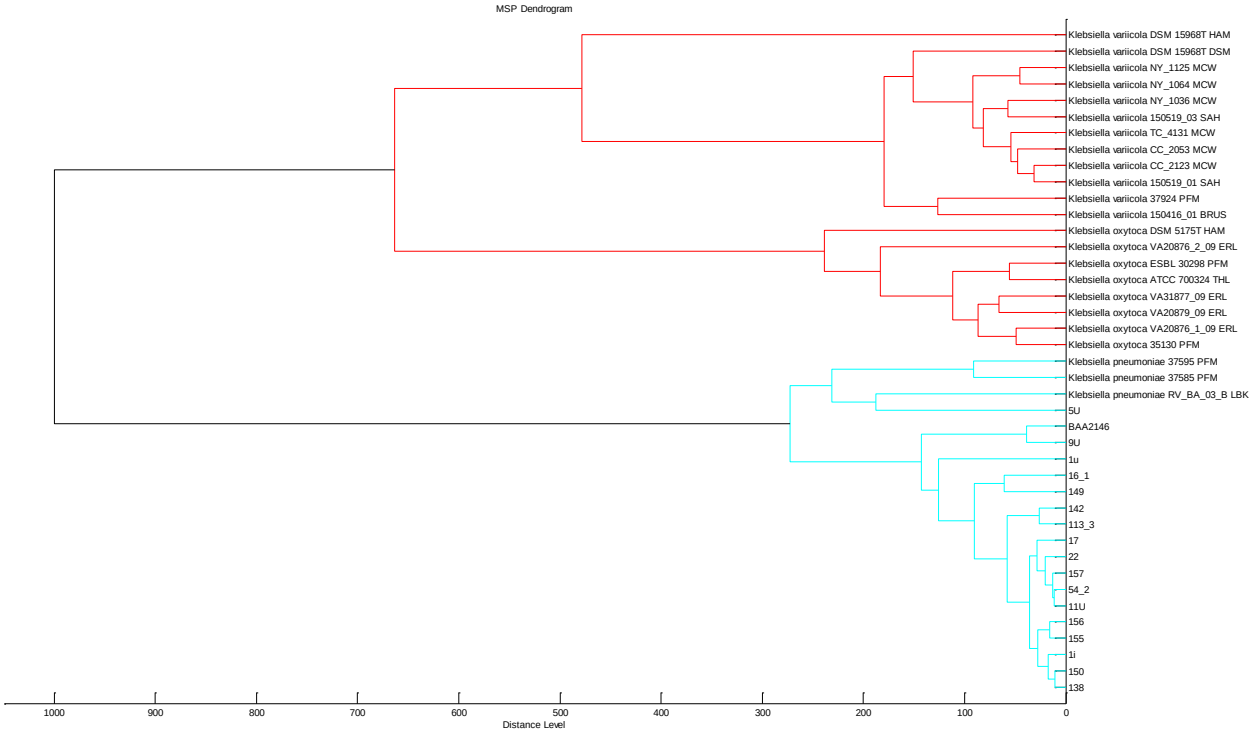


Рис. 5.7. MSP дендрограма подібності штамів за MALDI-TOF.

В деяких випадках використано RAPD для додаткового підтвердження джерела інфекції, шляхом порівняння генотипів ізолятів. За допомогою техніки RAPD, було отримано ідентичний електрофоретичний профіль випробуваних штамів (рис. 5.8.) [249].

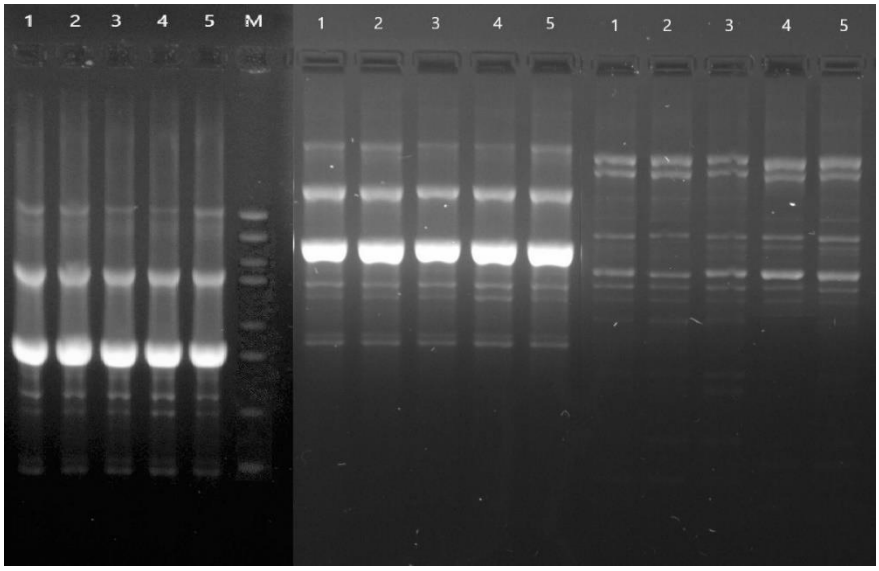


Рис. 5.8. Картина ампліфікації RAPD-PCR ізолятів *K. pneumoniae* (з лівого праймера AP3, AP4, AP5), 1-5 аналізовані штами. Маркер М (100-1000 Кб).

Ампліфікацію та секвенування гена 16S рРНК проводили за допомогою універсальних праймерів: 27F, 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3 '; 1492R, 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' з метою видової ідентифікації. Деякі послідовності порівнювалися між собою (рис. 5.9.), що дозволяло порівняти окремі штами та встановити ступінь (%) подібності.

Для прикладу, було порівняно 2 штами *Klebsiella pneumoniae* (рис. 5.10.), та встановлено, що вони мали високий ступінь подібності, що може свідчити про спільне джерело інфекції.

Застосування різних методів ідентифікації встановило, що повне співпадіння результатів зафіксовано для 76.1% штамів (n=235). Порівняння між собою різних методів ідентифікації не дозволило виокремити окремий метод як основний з перевагами. Кожен метод продемонстрував свої переваги та недоліки. Для прикладу, точність ідентифікації є найвищою за використанням секвенування

16sRNA, проте найбільш швидким методом ідентифікації однозначно є MALDI-TOF.

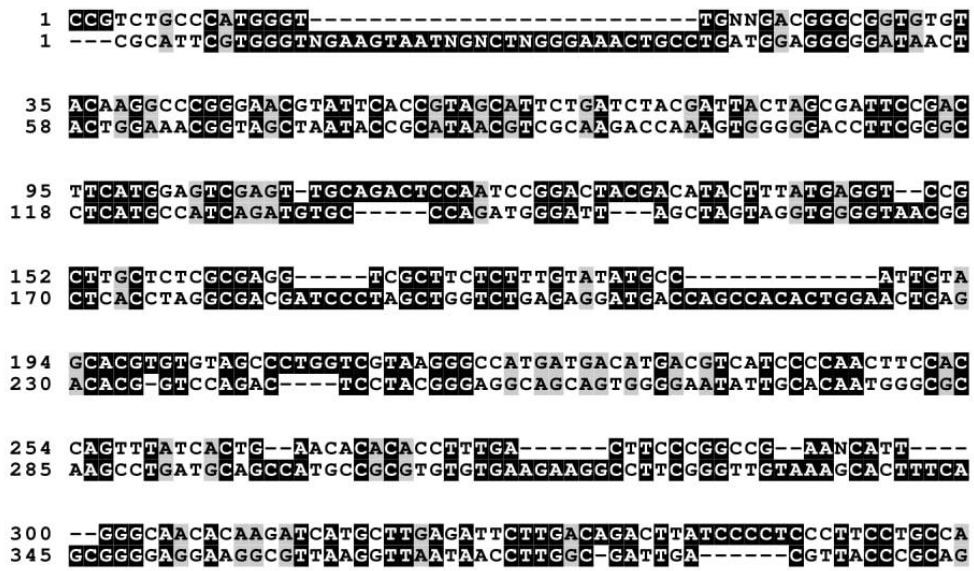


Рис. 5.9. Фрагмент множинного вирівнювання послідовностей з двома отриманими послідовностями 16S рРНК.

Складність остаточної ідентифікації виникає в основному при дослідженні грамнегативних слабоферментуючих паличок. Так, кластер *Alcaligenes denitrificans-Achromobacter xylosoxidans* є найближчим сусідом *Bordetella*. Вказані грамнегативні палички можуть бути збудниками аналогічних інфекційних станів. Близькими видами з родини ентеробактерій є *Raoultella ornithinolytica* та *Klebsiella oxytoca* (таб. 5.1.).

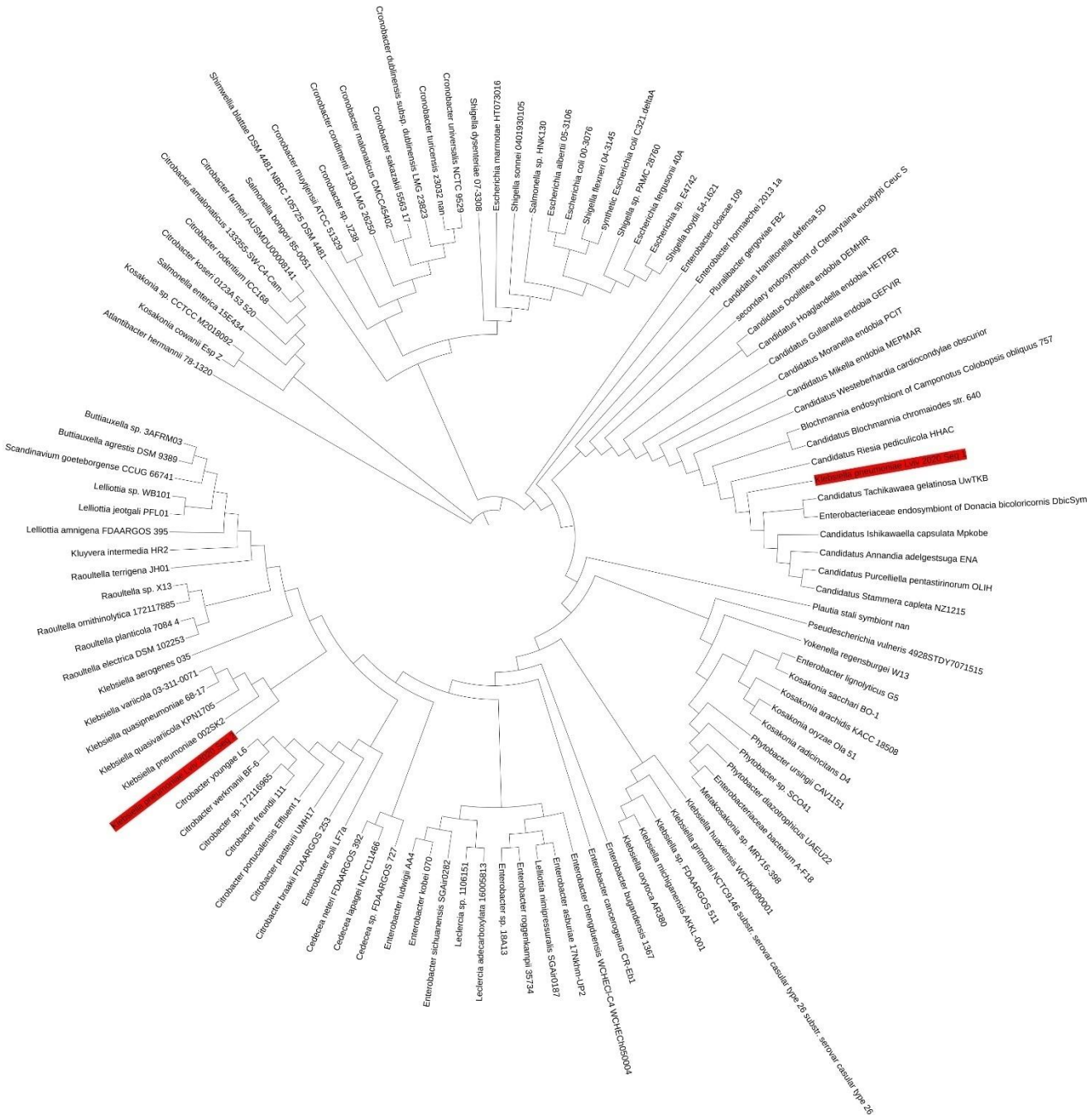


Рис. 5.10. Філогенетичне дерево таксонів *Enterobacteriaceae*. Червоний колір позначає дві секвеновані 16S рРНК.

Таблиця 5.1.

Результати видової ідентифікації деяких штамів мікроорганізмів

Робочий № штаму	BiochemID	MALDI-TOF MS	16sRNA
12	Pseudomonas spp	Alcaligenes faecalis	Citrobacter freundii
10u	Klebsiella oxytoca	Raoultella ornithinolytica	Klebsiella oxytoca
147	Bordetella bronchoseptic	Achromobacter xylosoxidans	Achromobacter xylosoxidans
13	Burkholderia cepacia complex	E. coli	E. coli
19	Enterococcus faecium	Enterococcus faecium	Enterococcus faecium
31	Enterococcus faecium	Enterococcus faecium	Enterococcus faecium
55	Pseudomonas aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa	Morganella morganii
133	Kocuria marina	Kocuria marina	Kocuria marina
136	Micrococcus luteus	Micrococcus luteus	Staphylococcus aureus
143	Pseudomonas spp	Serratia ureilytica	Acinetobacter baumannii
166	Serratia marcescens	Serratia marcescens	Serratia marcescens
2709	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae

5.2. Антимікробна резистентність основних збудників ІПНМД

Від 250 пацієнтів ВІТ 4-х стаціонарів міста Львова було виділено 309 культур мікроорганізмів.

Виділені культури досліджено на предмет чутливості до антибактеріальних засобів відповідно до методичних матеріалів та рекомендацій EUCAST. За використання диско-дифузійного встановлено чутливість до 33 сучасних протибактерійних антибіотиків різних класів хімічних груп та 8 протигрибкових препаратів.

Ізоляти класифікували на not-MDR/MDR/XDR/PDR, відповідно до рекаомендацій Magiorakos, A. P. (2012) [186].

Результати засвідчили, що 62.8% (n=194) ізолятів були MDR, 7.4% (n=23) були EDR, 28.8% (n=89) були not-MDR. Варто зазначити, що 1% (n=3) штамів був PDR (рис. 5.11.). Ізольовано 3 штами (2 - *P.putida* та 1 – *P.aeruginosa*) з PDR.

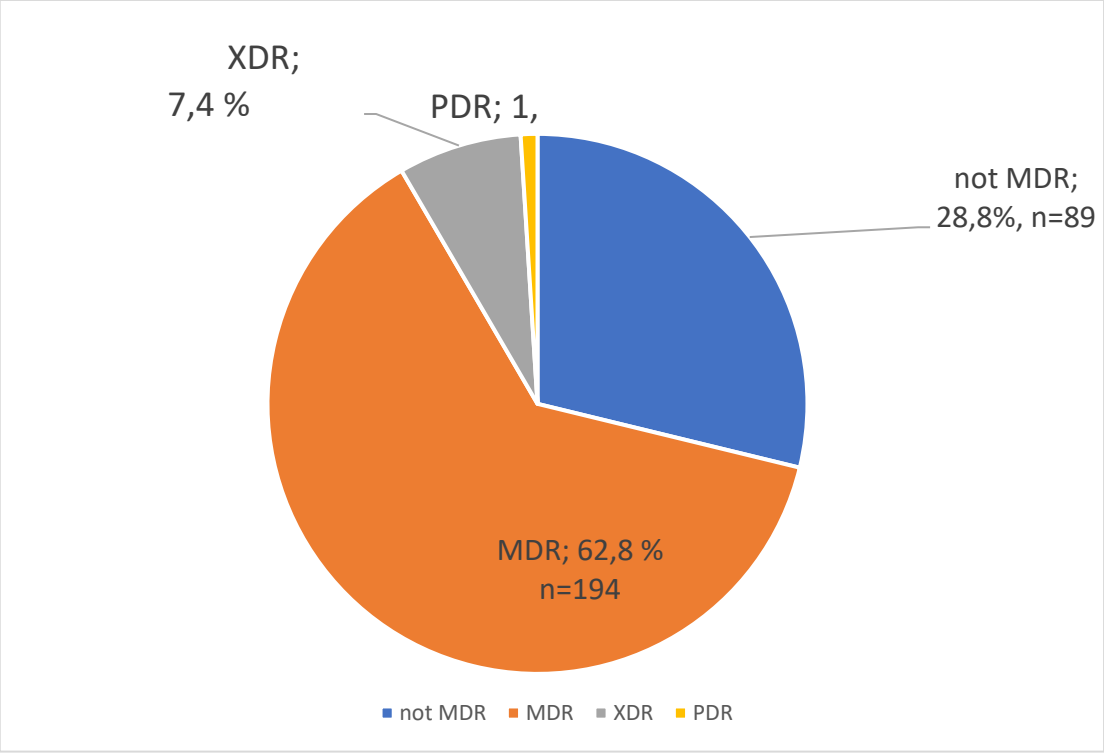


Рис. 5.11. Антимікробна резистентність виділених ізолятів мікроорганізмів (n=309).

Серед грамнегативної мікробіоти превалювала синегнійна паличка. Причому антибіотикочутливість ізолятів від пацієнтів різних лікарняних установ відрізнялася, що не дало змогу об'єднувати їх при аналізі (таб. 5.2.)

Спостерігалося широке розщеплення ізолятів роду *Pseudomonas* (додатки 11-12) за видовим спектром. Крім *P aeruginosa*, одержано 5 штамів *P.putida* і по одному штаму *P.stutzeri, P.monteilii, P.mendicola* і *P.azyzihabitans*. Усі ізоляти вказаних представників псевдомонад були чутливими до колістину. Для *P.monteilii*, і *P.mendicola* встановлено також чутливість до піперациліну , а *P.azyzihabitans* крім колістину, був чутливим до піперациліну, меронему, карбапенему та слабо чутливим до аміноглікозидів та тегіцикліну.

У таблиці 5.3. подано показники чутливості до антибіотиків 9 штамів *S.aureus,*виділених від різних пацієнтів, що перебували на лікуванні у лікарняних закладах Львова.

Із 9 штамів *S.aureus,* який становив 8.25% усіх грампозитивних мікроорганізмів лише 3 штами (22.2% із числа ізолятів стафілококів) були метицилінорезистентними і виділені із сечі. Виділений у наших дослідженнях *S.aureus* був резистентним до усіх пеніцилінів, що поєднувалося також із зниженням чутливості до карбапенемів та стійкістю до фторхінолонів. Наявність в 1 культури резистентності до усіх β-лактамів свідчить про наявність у неї цинк-вмісних β-лактамаз, які не чутливі до інгібіторів. В іншого штама спостерігаємо β-лактамази функціональної групи 2b TEM-1, TEM-2 и SHV-1, які, розщеплюючи пеніциліни, є менш активні відносно цефалоспоринів. Вказаниц штам стійкий до кліндаміцину та азитроміцину. 1 штам продукував β-лактамази молекулярного класу С (тип AmpC), які більш активно розщеплювали цефалоспорини, ніж пеніциліни. Виділена культура була стійка до аміноглікозидів, макролідів та лінкозамінів, що є свідченням плазмідно детермінованої здатності до метилування рибосомальної РНК.

Таблиця 5.2.

Розподіл за чутливістю до антибіотиків *P. aeruginosa*, виділених від пацієнтів

Антибіотик	Кількість штамів					
	чутливих		слабочутливих		резистентних	
	абс	%	абс	%	абс	%
піперацилін	17	42.5	4	10	19	47.5
іміпенем	23	57.5	0	0	17	42.5
меронем	22	55	2	5	16	40
цефотаксим	3	7.5	16	40	21	52.5
цефепім	10	25	19	47.5	11	27.5
цефтріаксон	11	27.5	3	7.5	26	65
цефтазидим	15	37.5	8	20	17	42.5
цефуроксим	0	0	0	0	40	100
амоксиклав	0	0	11	27.5	29	72.5
сульфперазон	15	37.5	3	7.5	22	55
ампіцилін-с/б	3	7.5	12	30	25	62.5
фосфоміцин	3	7.5	2	5	35	87.5
ципрофлоксацин	7	17.5	11	27.5	22	55
моксифлоксацин	4	10	7	17.5	29	72.5
левофлоксацин	15	37.5	7	17.5	28	70
гентаміцина	7	17.5	8	20	25	62.5
аміккцин	17	42.5	7	17.5	16	40
тобраміцин	15	37.5	7	17.5	18	45
тетрациклін	0	0	12	30	28	70
доксициклін	0	0	0	0	40	100
тегіциклін	15	37.5	11	27.5	14	35
колістин	35	87.5	3	7.5	2	5

Таблиця 5.3.

Чутливість до антибіотиків 9 штамів *S.aureus*,виділених від різних пацієнтів

Антибіотик	**номер штаму**								
	LMU-23	**LMU-140**	**LMU-141**	**LMU-19**	**LMU-20**	**LMU-21**	**LMU-115**	**LMU-135**	**LMU-136**
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Бензилпеніцилін	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Оксацилін	R	R	R	R	R	R	R	S	S
Ампіцилін	R	R	S	R	S	S	R	R	S
Амоксицилін/ клавуланова кислота	R	R	S	R	S	S	R	R	S
Піперацилін	R	I	I	R	S	S	R	S	S
Іміпенем	R	I	I	R	S	S	R	S	S
Меропенем	R	I	I	R	S	S	R	S	S
Цефазолін	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Цефуроксим	R	I	R	R	R	R	R	S	S
Цефтриаксон	R	I	R	R	R	R	R	S	S
Цефтриаксон/ Сульбактам	R	I	R	R	R	R	R	S	S
Цефотаксим	R	I	I	R	R	R	R	S	S
Цефепім	R	R	I	R	R	R	R	R	S
Ванкоміцин	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Бацитрацин С	R	R	R	R	R	R	R	S	S

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ципрофлоксацин	R	R	S	R	R	R	R	S	S
Офлоксацин	R	NT	NT	R	R	R	R	S	S
Левофлоксацин	R	R	I	R	R	R	R	S	S
Гатифлоксацин	R	NT	I	R	R	R	I	S	S
Моксифлоксацин	R	I	S	R	R	R	R	S	S
Новобіоцин	S	S	I	S	I	I	S	S	S
Рифампіцин	I	S	I	R	I	S	R	S	S
Гентаміцин	R	R	R	R	R	R	R	S	S
Нетилміцин	S	NT	R	R	R	R	S	S	S
Тобраміцин	NT	R	I	NT	NT	NT	NT	S	S
сизоміцин	R	NT	I	R	R	R	I	S	S
Амікацин	I	R	R	R	R	R	S	S	S
Тетрациклін	R	R	R	R	R	S	S	S	S
Кліндаміцин	S	R	R	S	R	R	I	R	S
Лінезолід	S	S	S	S	S	S	I	S	S
Азитроміцин	I	R	I	R	R	R	I	S	S
Еритроміцин	S	R	S	R	R	R	I	S	S
Ко-тримоксазол	I	S	I	R	R	S	R	S	S
Фуразолідон	I	NT	I	I	S	S	S	S	S
Фуразидин	I	I	NT	S	S	S	S	S	S

R-стійкий; I-з проміжною чутливістю; S-чутливий; NT-не проводилося тестування

З грампозитивної мікробіоти найчастіше у клінічному матеріалі виявляли *E.faecalis*. Вказана коагулазо-негативна бактерія в порівнянні з золотистим стафілококом характеризується меншою вірулентністю і порівняно кращою чутливістю до антибіотиків.

Ізоляти *E.faecalis* характеризувалися вираженою стійкістю до пеніцилінів (у тому числі до оксациліну), цефалоспоринів, фторхінолонів, а також еритроміцину та азитроміцину, кліндаміцину за збереженої чутливості до ванкоміцину та лінезоліду (додаток 13).

Таким чином, результати дослідження антибіотикочутливості бактеріальної мікробіоти серед псевдомонад свідчить про значну кількість резистентних штамів до піперациліну, карбапенемів (40.0 та 42.5%) та цефалоспоринів III покоління (42.5-52.5%).

Встановлено наявність значного відсотка резистентних штамів і до інгібітор-захищених β-лактамів. Серед фторхінолонів найменший відсоток резистентних культур виявлено до ципрофлоксацину. Абсолютну резистентність (100%) серед досліджених псевдо монад виявлено лише до цефуроксиму. Очікувано ефективним відносно сине гнійної інфекції виявився коліс тин – 95% чутливих та помірно чутливих ізолятів

Оскільки чутливих до гентаміцину виявлено лише 17.5% та слабо чутливих 25%, можна стверджувати проте, що переважна більшість ізольованих псевдо монад є госпітальними штамами.

Чутливість дріжджеподібних грибів щодо антимікотиків.

Було ізольовано 41 штам дріжджоподібних грибів (таб. 5.4.).

Таблиця 5.4.

Розподіл за чутливістю дріжджеподібних грибів, виділених від пацієнтів

	Група препаратів	Препарат	кількість штамів n=41					
			чутливих		слабочутливих		резистентних	
			абс	%	абс	%	абс	%
1	Вплив на цілісність клітинної мембрани	Амфотерицин В	17	41.5	11	26.8	13	31.7
2		Ністатин	18	43.9	6	14.6	17	41.5
3	Вплив на синтез ерогостеролу	Клотримазол	10	24.4	5	12.2	26	63.4
4		Кетоконазол	8	19.5	3	7.3	30	73.2
5		Ітраконазол	2	4.9	11	26.8	28	68.3
6		Флуконазол	3	7.3	4	9.8	34	82.9
7	Вплив на синтез ланостеролу	Тербінафін	27	65.9	4	9.8	10	24.4
8	Вплив на синтез нуклеїнових кислот	Флуцитозин	15	36.6	2	4.9	24	58.5

Переважна більшість штамів (82.9%) були стійкими до флуконазолу, що можна пояснити найчастішим вибором флуконазолу в якості емпіричного лікування грибкової інфекції.

Особливу увагу привертають 2 штами *Candida albicans*, що виділені з БАЛ (1 штам) та сечі (1 штам), та були резистентними до всіх 8-ми протигрибкових засобів, адже в цьому випадку лікувальна тактика ускладнюється.

5.3. Фенотипові та генотипові детермінанти антимікробної резистентності

Було ізольовано 45 штамів *Enterococcus spp*, з них 25 *Enterococcus faecalis* та 21 *Enterococcus faecium*. Фенотипово 31.1% (n=14) штамів були стійкими до ванкоміцину. Методом ПЛР було перевірено наявність генів стійкості до ванкоміцину *Van A* та *Van B*. Ген *Van A* було виявлено у 13 ізолятах, та ген *Van B* в 1 ізоляту. Наявність резистентності до ванкоміцину може впливати на стійкість до дезінфектантів [250]. Оскільки ці гени локалізовані в плазмідах, можливе перенесення цього гену на інші мікроорганізми, зокрема, *S. aureus,* що створить проблему під час лікування антибіотиками [251].

Enterobacteriaceae є умовно-патогенними мікроорганізмами, які зустрічаються як коменсали в кишковому тракті людей і тварин і часто асоціюються з різноманітними інфекціями. β-лактами, включаючи амінопеніциліни, цефалоспорини, азтреонам і карбапенеми, є основним терапевтичним вибором для лікування екстраінтестинальних інфекцій *Enterobacteriaceae* і становлять приблизно 60% усіх клінічно використовуваних антибіотиків [252], тому визначення ESBL та OXA-48 продукувальних можливостей патогенів є важливим скринінговим методом призначення адекватного лікування антибіотиками. ESBL та OXA-48 продукування було визначено фенотиповим методом (диско-дифузійним та за допомогою хромогенно-діагностичних середовищ). 33.8% (n=25) досліджених ентеробактерій продукували ESBL (таб. 5.5.), серед яких усі 25 ізолятів були MDR.

Зростає кількість клінічних ізолятів карбапенемазопродукучих ентеробактерій, які синтезують OXA-48. Поширення, опосередковане плазмідами, призвело до того, що це стало проблемою, яка набуває все більшої загрози. Фермент OXA-48 є β-лактамазою класу D Ambler, яка гідролізує карбапенеми, але проявляє дуже слабку активність проти цефалоспоринів, таких як цефепім і цефтазидим, хоча ізоляти часто характеризуються множинною стійкістю до антибіотиків, оскільки поєднують множинні механізми резистентності [253]. 47

досліджених бактерійних ізолятів (83.9%) продукували ОХА-48, серед яких усі ізоляти були MDR (таб. 5.6.).

Таблиця 5.5.

Поширеність ESBL продукуючих ентеробактерій

Ізолят (n=74)	К-сть ізолятів-продуцентів ESBL (n=25) , 33.8%
1. *E. coli* (n=21)	6 (28.6%)
2. *Klebsiella spp*. (n=33)	14 (42.4%)
3. *P. mirabilis* (n=5)	1 (20.0%)
4. *Seratia spp*. (n=2)	1 (50%)
5. *Citrobacter spp.* (n=11)	2 (18.2%)
6. *Morganella morganii* (n=2)	1 (50%)

Таблиця 5.6.

Поширеність ОХА-48 продукуючих ентеробактерій

Ізолят (n=56)	К-сть ізолятів-продуцентів ОХА-48 (n=47), 83.9%
1. *E. coli* (n=21)	15 (71.4%)
2. *Klebsiella spp*. (n=33)	31 (93.9%)
3. *Enterobacter spp* (n=2)	1 (50.0%)

5.4. Формування біоплівки деяким штамами ІПНМД

Важливою особливістю госпітальних штамів мікроорганізмів є здатність до плівкоутворення, що ґрунтується на продукуванні такими штамами мукоїдного екзополісахариду – компонента біопівки. Клінічне значення такої особливості розглядається як потенційний показник вірулентності.

Було проведено дослідження здатності до плівкоутворення 2 культур *S. aureus* та представника грам негативної мікробіоти *Raoultella terrigena* (2 штами).

Первинно плівкоутворювальні стафілококи відбиралися при тестуванні їхніх культуральних властивостей (зростання в'язкості мікробної біомаси). Утворення відібраними штамами біоплівки моделювалося *in vitro* трьома способами: у лунках полістиролової планшети, у пластикових чашках Петрі та на предметних скельцях.

При дослідженні культур за використання полістиролових планшетів визначали оптичну щільність завісі бактерій за допомогою спектрофотометричного методу за G.D. Christensen (MtP-test «microtiter plate test"), які оцінювали за ступенем поглинання барвника у одиницях оптичної щільності (Од.ОЩ) спектрофотометрично (довжина хвилі 620 нм).

Показники оптичної щільності (таб. 5.7.) утворених структур характеризували біоплівку як таку, що має високу щільність (≥0.400), середню – 0.221-0.390 та низьку ≤ 0.120. Стандартний біоплівкоутворювальний штам S. aureus ATCC 25923 і S. aureus ATCC 12228, що не утворює плівку, використовували для визначення контрольного показника.

При цьому щільність біоплівки золотистих стафілококів через 12 год визначалася як середня і становила 0.35±0.02 ОЩ, а через 24 год – досягала високих значень – 0.40±0.03ОЩ.

Утворення плівки з використанням світлової мікроскопії спостерігали у динаміці і фіксували результат на 12 і 24 год. На рис. 5.12. представлено плівко утворення на пластиковій чашці, а на рис. 5.13.- на предметному склі.

Застосування для мікроскопічного дослідження плівкоутворення (5.14.-5.15.-5.16.) тестованими представниками грампозитивної та грамнегативної мікробіоти з допомогою DIC- та флуоресцентної мікроскопії дає змогу зафіксувати відсоток задіяних до біоплівки мікробних клітин. Так на 12 год до плівкової структури було задіяно 29% клітин стафілококу, то на 24 год – 77%. Формування плівкової структури для *R.terrigena* відбувалося швидше і на 12год становило 31%, а на 24 – 86% задіяних до біоплівки клітин раультелли.

Визрівання біоплівки на 12 та 24 год подано на рисунку 5.13.

Таблиця 5.7.

Оптична щільність біоплівки, утворена клінічними ізолятами *Staphylococcus aureus* і *Raoultella terrigena in vitro* (M±m)

№	Вид бактерій	Час спостереження	
		12 год	24 год
	Тестові штами		
1.	*S. aureus* (n=6)	0.35±0.02	0.40±0.03
	Контролі		
2.	*S. aureus* ATCC 25923 (F-49) (біоплівкоутворювальна форма)	0.38± 0.04	0.42± 0.04
3.	*S. aureus* ATCC 12228 (планктонна форма)	0.17± 0.01	0.19± 0.02
	Тестові штами		
4.	*Routella terrigena* (n=2)	0.36±0.10	0.45±0.15
	Контроль		
5.	*Routella terrigena* ATCC33257	0.37±0.03	0.44±0.03

Рис. 5.12. Біоплівка, утворена *S.aureus* на 12 (А) та 24 год спостереження

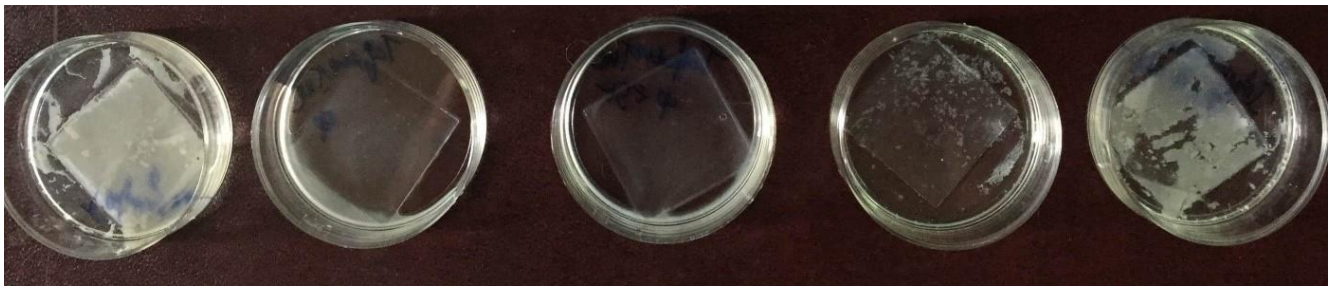
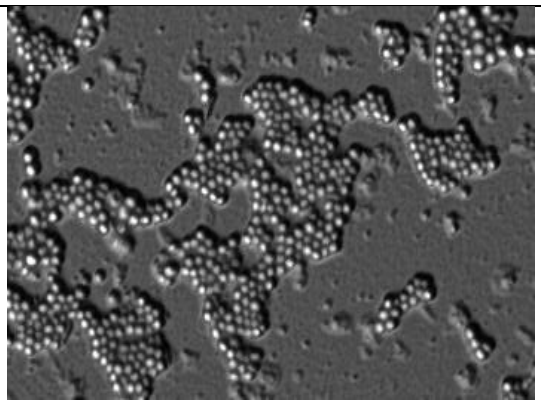
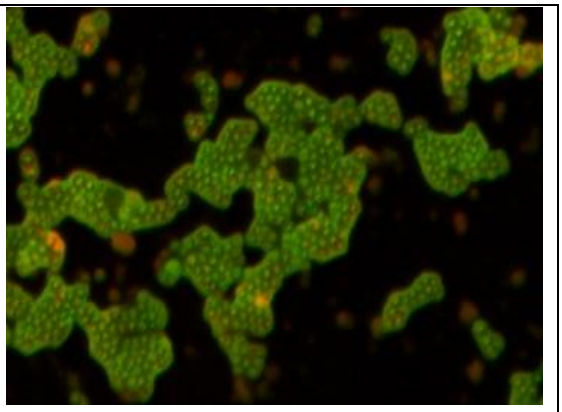


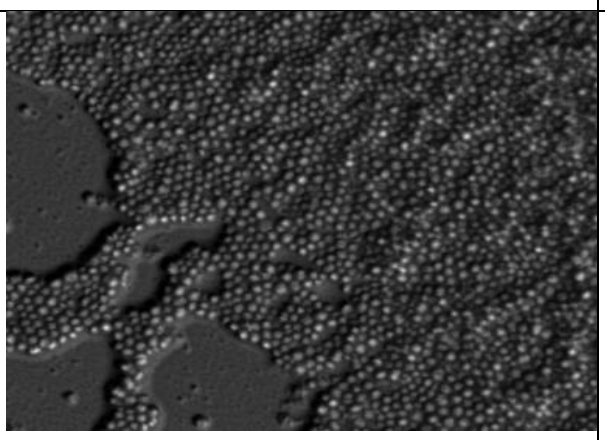
Рис. 5.13. Плівкоутворення клінічним ізолятом *S. aureus* біоплівки на предметному склі. Зразок 1-позитивний контроль; зразок 2 –негативний контроль(планктонна форма), зразки 4,5,6 – дослідний штам. Утворення біоплівки на 6, 12, 24 год спостереження



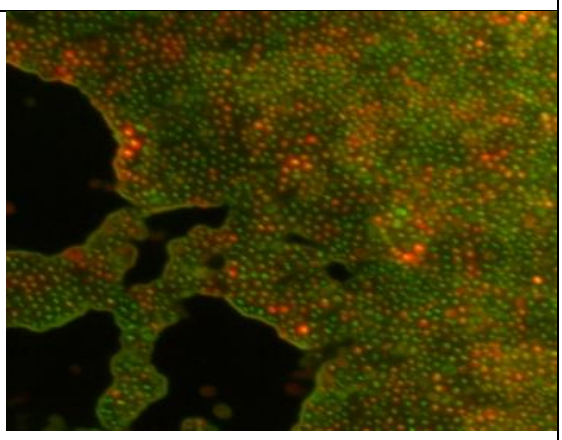
А



А



Б



Б

Рис. 5.14. Біоплівка *S.aureus* на 12 (А) та 24 (Б) год спостереження. DIC мікроскопія (зліва); флуоресцентна мікроскопія з забарвленням Hoechst-33258 та PI (справа). Зб.×1000

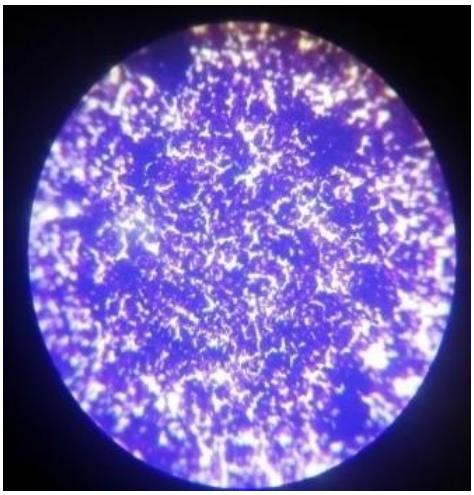
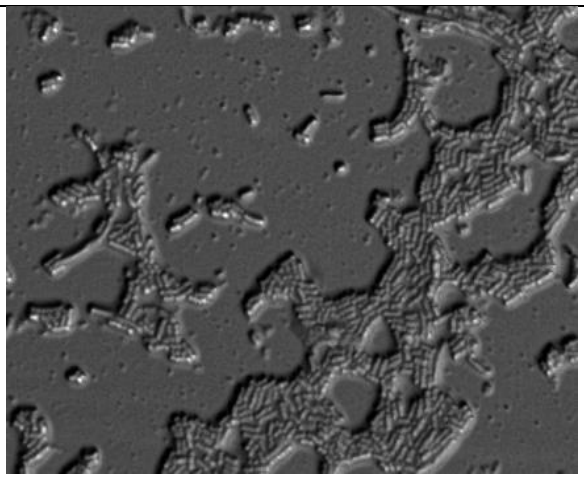
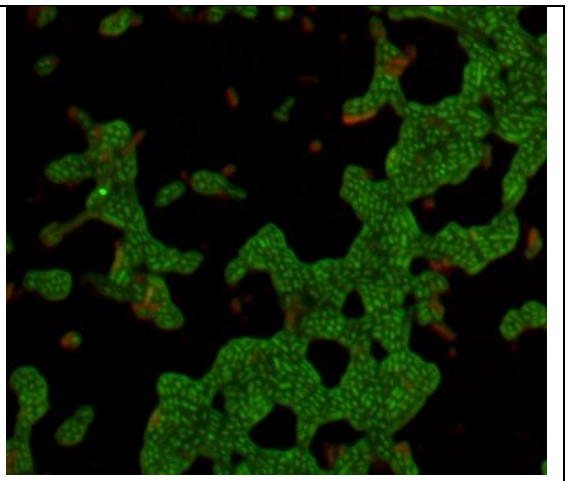


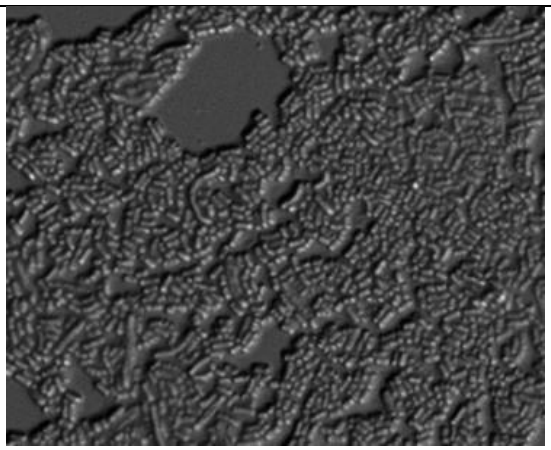
Рис. 5.15. Біоплівка *S.aureus* на 24 год спостереження.



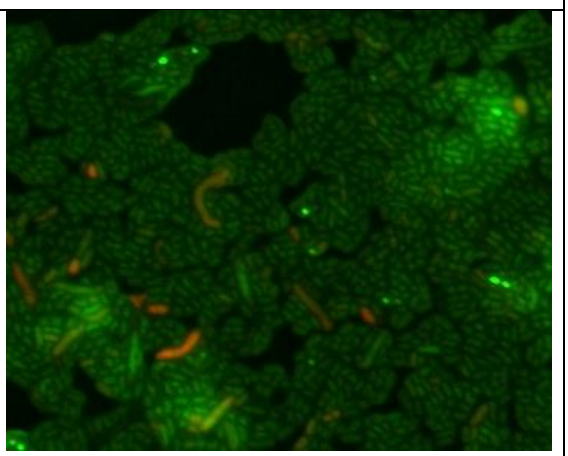
А



А



Б



Б

Рис. 5.16. Біоплівка *R.terrigena* на12(А) та 24 год спостереження.

DIC мікроскопія (зліва); флуоресцентна мікроскопія з забарвленням Hoechst-33258 та PI (справа).Зб.×1000

Таким чином, можна стверджувати про наявність властивостей продукувати біоплівку дослідженими штамами стафілококу, ізольованого з лікарняного середовища, та ізолята *R.terrigena,* що свідчить про їхню потенційну вірулентність.

Формування плівкової структури для *R.terrigena* відбувалося швидше і на 12 год становило 31%, а на 24 – 86% задіяних до біоплівки клітин раоултели. Аналіз швидкості плівкоутворення представником грамнегативної мікробіоти та стафілококом вказує на більшу швидкість формування біоплівки від 12 до 24 год. Так, приріст щільності біоплівки для клінічних ізолятів стафілококів становив 14.0% (у контролі – 10.5%), а для раоутели – 25% (у контролі 18.9%). Стійкість до антибіотиків та швидкість утворюваної нею біоплівки вимагає якомога раннього призначення антимікробної терапії.

5.5. Вірулентність збудників ІПНМД *Achromobacter xylosoxidans* (№ LMU-147), *Candida utilis* (LMU-127), *Serratia marcescens* (№ LMU-48) *in vivo*

Оскільки в процесі виконання наукового дослідження біли виділені мікроорганізми, що рідко визначаються як фактор ІПНМД в Україні, було проведено дослідження вірулентності штамів *Achromobacter xylosoxidans* (№ LMU-147), *Candida utilis* (LMU-127), *Serratia marcescens* (№ LMU-48). Використано моделі білих мишей, в рамках 2-х дослідів.

При дослідженні вірулентності штаму *Achromobacter xylosoxidans* (№ LMU-147), у досліді №1 (таб. 5.7.) через 24 години після в/ч введення мишам суспензії живих бактерій у дозах $1x10^9$ клітин/тварину та введення *per os* суспензії живих бактерій у дозі $3x10^9$ клітин/тварину у мишей не спостерігалося ознак розвитку інфекційного процесу і токсикозу (миші були активними, рухомими, добре споживали корм, фізіологічні відправлення у них не порушувались, поведінкові реакції були звичайними, змін з боку хутряного покрову не помічено).

У досліді №2 через 14 діб після в/ч введення суспензії живих бактерій у дозах $1x10^9$ клітин/тварину, у 4-х тварин спостерігались клінічні ознаки розвитку інфекції; після введення *per os* суспензії живих бактерій у дозах $3x10^9$ клітин/мишу у 1-ї тварини спостерігалися ознаки розвитку інфекції (миші були неактивними, малорухомими, погано поїдали корм, змін з боку хутряного покрову не помічено). Результати розтину мишей показали:

- серце звичайної форми і розміру;

• легені в об'ємі не збільшені, циркуляторних порушень у тканинах легень не виявлено, спайок не відмічено;

• шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;

• печінка темно-червоного кольору, нормальної консистенції, нормального кровонаповнення;

• нирки звичайних розмірів і форми, поверхні не змінені, у 1-ї миші з ознаками розвитку інфекції на розрізі нечіткий малюнок коркової і мозкової речовини;

• селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин у досліді № 1 не виявили носійство культур. У досліді № 2 в 2 дослідних мишей у нирках виявлено персистенцію культури і ретрокультуру, у печінці ще залишалися життєздатні клітини штаму і виявлені ретрокультури (1 миша дослід №2). Також висівалися дані бактерії з кишечника 2-ох тварин (Дослід №1 *per os*).

Це свідчить, що пероральне та внутрішньочеревне введення суспензії живої культури може спричиняти пенетрацію бактерій у внутрішні органи тварин, що є ознакою здатності до персистенції.

Таблиця 5.7.

Результати дослідження вірулентності штаму

Achromobacter xylosoxidans (№LMU-147)

Матеріал для введення	Кіль-кість мишей	Доза		Шлях введення	Курс введення	Кількість мишей		
						Захво-ріло	Заги-нуло	Вижи-ло
		мл	млрд. клітин		діб			
Дослід 1:								
Суспензія 1-добової культури	10	0.5	3	в/ч	1	0	0	10
	10	0.5	1	per os	1	0	0	10
Контроль:								
Фізіологічний розчин	10	0.5	0	в/ч	1	0	0	10
	10	0.5	0	per os	1	0	0	10
Дослід 2:								
Суспензія 1-добової культури	10	0.5	3	в/ч	14	4	0	10
	10	0.5	1	per os	14	1	0	10
Контроль:								
Фізіологічний розчин	10	0.5	0	в/ч	14	0	0	10
	10	0.5	0	per os	14	0	0	10

*Примітка: в/ч - внутрішньочеревинні ін'єкції, *per os* - введення в шлунок з допомогою зонда.

Отримані результати свідчать про слабку вірулентність та інвазивність *Achromobacter xylosoxidans* (№LMU-147) для досліджених теплокровних тварин

($ЛД_{50в/ч}$>1,0 млрд. клітин/тварину, $ЛД_{50per\ os}$>3 млрд. клітин/тварину). Штам відноситься до IV класу небезпеки.

Усім мишам, у тому числі і контрольні, після закінчення терміну спостережень і забиття, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів.

Таким чином, культура *Achromobacter xylosoxidans* (№LMU-147) відповідно до отриманих результатів у гострих дослідах та відповідних нормативних матеріалів належить до групи вірулентних мікроорганізмів, здатних до пенетрації у внутрішні органи теплокровних тварин - білих мишей. Штам належить до IV класу патогенності мікроорганізмів.

При дослідженні вірулентності штаму *Candida utilis* (LMU-127), у досліді №1 (таб. 5.8.) через 24 години після в/ч введення суспензії живих грибів у дозах $1x10^9$ клітин/тварину та введення *per os* у дозі $3x10^9$ клітин/тварину у мишей не спостерігали ознак розвитку інфекційного процесу (миші були активними, жвавими, добре їли корм, змін з боку хутряного покрову не помічено).

У досліді №2 через 14 діб після в/ч введення суспензії живої культури грибів у дозах $1x10^9$ клітин/мишу, у 2-х тварин спостерігались клінічні ознаки розвитку хвороби (миші були неактивними, малорухомими, погано поїдали корм, змін з боку хутряного покрову не помічено); після введення per os суспензії живих грибів у дозах $3x10^9$ клітин/мишу у тварин не спостерігалися ознаки розвитку хвороби (миші були активними, рухомими, добре їли корм, фізіологічні відправлення у них не порушувались, поведінкові реакції були звичайними, змін з боку хутряного покрову не помічено). Результати розтину мишей показали:

- серце звичайної форми і розміру;
- легені в об'ємі не збільшені, циркуляторних порушень у тканинах легень не виявлено, спайок не відмічено;
- шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;
- печінка темно-червоного кольору, нормальної консистенції, нормального кровонаповнення;

• нирки звичайних розмірів і форми, поверхні не змінені, на розрізі чіткий малюнок коркової і мозкової речовини;

• селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин у досліді № 1 та досліді №2 не виявили бактерійне носійство культур. Досліджуваний штам висіяли з кишечника 3-ох тварин.

Це свідчить, що пероральне та внутрішньочеревне введення суспензії живої культури не спричиняє інвазію грибів *Candida utilis* (LMU-127) у внутрішні органи тварин.

Отримані результати свідчать про авірулентність та неінвазивність *Candida utilis* (LMU-127) для досліджених теплокровних тварин ($ЛД_{50в/ч}$>1,0 млрд. клітин/мишу, $ЛД_{50per\ os}$>3 млрд. клітин/тварину). Штам відноситься до IV класу патогенності.

Всі миші, у тому числі і контрольні, після закінчення терміну спостережень, були вбиті, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів.

Таким чином, культура *Candida utilis* (LMU-127) відповідно до нормативних матеріалів належить до групи мікроорганізмів, не здатних до інвазії у внутрішні органи досліджених теплокровних тварин - білих мишей. Штам належить до IV класу небезпеки мікроорганізмів.

Таблиця 5.8.

Результати дослідження вірулентності штаму

Candida utilis (LMU-127)

Матеріал для введення	Кіль-кість мишей	Доза		Шлях введення	Курс введення	Кількість мишей		
		мл	млрд. клітин		діб	Захво-ріло	Заги-нуло	Вижи-ло
Дослід 1:								
Суспензія 1-добової культури	10	0,5	3	в/ч	1	0	0	10
	10	0,5	1	per os	1	0	0	10
Контроль:								
Фізіологічний розчин	10	0,5	0	в/ч	1	0	0	10
	10	0,5	0	per os	1	0	0	10
Дослід 2:								
Суспензія 1-добової культури	10	0,5	3	в/ч	14	2	0	10
	10	0,5	1	per os	14	0	0	10
Контроль:								
Фізіологічний розчин	10	0,5	0	в/ч	14	0	0	10
	10	0,5	0	per os	14	0	0	10

*Примітка: в/ч - внутрішньочеревинні ін'єкції, per os - введення в шлунок з допомогою зонда.

При дослідженні вірулентності штаму *Serratia marcescens* (№ LMU-48), у досліді №1 (таб. 5.9.) через 24 години після в/ч введення мишам суспензії живих

бактерій у дозах $1x10^9$ клітин/тварину у 3-х тварин спостерігались клінічні ознаки розвитку інфекційного процесу; після введення *per os* суспензії живих бактерій у дозах $3x10^9$ КУО/тварину у 2-х мишей спостерігалися ознаки розвитку хвороби (миші були неактивними, малорухомими, погано поїдали корм, змін з боку хутряного покрову не помічено).

У досліді №2 через 14 діб після в/ч введення мишам суспензії живих бактерій у дозах $1x10^9$ клітин/тварину 1 тварина загинула, у 3-х тварин спостерігались клінічні ознаки розвитку інфекції; після введення per os суспензії живих бактерій у дозах $3x10^9$ клітин/ тварину у 2-х тварин зафіксовано ознаки розвитку інфекції (миші були неактивними, малорухомими, погано поїдали корм, змін з боку хутряного покрову не помічено). Результати розтину уражених мишей показали:

- серце звичайної форми і розміру;
- легені в об'ємі не збільшені, спостерігалися циркуляторні порушення у тканинах легень, спайок не відмічено;
- шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;
- печінка темно-червоного кольору, рихлої консистенції, збільшеного кровонаповнення;
- нирки звичайних розмірів і форми, поверхні змінені, на розрізі нечіткий малюнок коркової і мозкової речовини;
- селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин у досліді № 1 та досліді №2 показали, що у нирках дослідних мишей виявлено мікроорганізми досліджуваного штаму, персистенцію досліджуваної культури і ретрокультур (4 миші дослід №1 і 3 миші дослід№2), у печінці ще залишалися життєздатні клітини штаму і виявлені ретрокультури (3 миші дослід №1 і 1 миша дослід №2). Також висівалися дані бактерії з кишечника 5-ох тварин.

Це свідчить, що пероральне та внутрішньочеревне введення суспензії живої культури спричиняє пенетрацію бактерій у внутрішні органи тварин, що є ознакою здатності до персистенції.

Таблиця 5.9.

Результати дослідження вірулентності

штаму *Serratia marcescens*

Матеріал для введення	Кіль-кість мишей	Доза		Шлях введення	Курс введення	Кількість мишей		
		мл	10^9		діб	Захво-ріло	Заги-нуло	Вижи-ло
Дослід 1:								
Суспензія 1-добової культури	10	0.5	3	в/ч	1	3	0	10
	10	0.5	1	per os	1	2	0	10
Контроль:								
Фізіологічний розчин	10	0.5	0	в/ч	1	0	0	10
	10	0.5	0	per os	1	0	0	10
Дослід 2:								
Суспензія 1-добової культури	10	0.5	3	в/ч	14	3	1	9
	10	0.5	1	per os	14	2	0	10
Контроль:								
Фізіологічний розчин	10	0.5	0	в/ч	14	0	0	10
	10	0.5	0	per os	14	0	0	10

*Примітка: в/ч - внутрішньочеревинні ін'єкції, per os - введення в шлунок з допомогою зонда.

Отримані результати свідчать про слабку вірулентність та інвазивність *Serratia marcescens* для досліджених теплокровних тварин ($ЛД_{50в/ч}$>1,0 млрд. клітин/тварину, $ЛД_{50per\ os}$>3 млрд. клітин/тварину). Штам відноситься до IV класу патогенності.

Всі миші у тому числі і контрольні, які залишились живими після закінчення терміну спостережень, були виведені з експерименту, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів.

Таким чином, культура *Serratia marcescens* (№ LMU-48) відповідно до отриманих результатів у гострих дослідах та відповідних нормативних матеріалів належить до групи вірулентних мікроорганізмів, здатних до пенетрації у внутрішні органи з можливою наступною персистенцією в організмі досліджених теплокровних тварин - білих мишей. Штам належить до IV класу патогенності мікроорганізмів.

Дослідження проведені для депонування культури як первинна оцінка патогенності штаму.

Розділ висвітлено в матеріалах публікацій:

1. 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 PMCID: PMC8077321 PMID: 33936672 (Web of Science)

2. 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)

3. 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)

4. Мікробіологічний профіль грамнегативних бактерій, що спричиняють нозокоміальні інфекції в деяких відділеннях інтенсивної терапії у Львові *Четвертий щорічний регіональний науковий симпозіум в рамках концепції "Єдине здоров'я" за підтримки ПЗБЗ в Україні* Kyiv, Ukraine / 20-24 May 2019 (секція Антибіотикорезистентність та Інфекційний Контроль) Конечний Ю., Тимчук І., Панас М., Корнійчук О. ст 309, # 425 (постерна доповідь)

5. 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.

6. 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.

7. 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.

РОЗДІЛ 6

Поліфармакологічна дія похідних 4-тіазолідинонів – перспективних сполук з протимікробною дією

Поліфармакологічний підхід базується на властивості однієї речовини діяти нарізні біомішені задіяні в одній патології. З іншого боку, така стратегія пошуку нових агентів передбачає визначення нових шляхів реалізації біологічних ефектів, як існуючих лікарських засобів, так і сполук-хітів/лідерів, з метою встановлення інших, відмінних від первинного призначення чи спрямованої розробки, областей застосування [254,255]. В рамках поліфармакологічного підходу було досліджено протимікробну та протигрибкову дію ряду новосинтезованих похідних серії 5-іліден- роданін-3-сукцинімідів, 2-іліден-4-тіазолідонів та піразолін-тіазолідинонових гібридних молекул з різних класів похідних тіазолідонів [256–258].

6.1. Протимікробна дія деяких похідних 4-тіазолідинонів, та молекулярний докінг сполуки-лідера

Пошук та дослідження нових хімічних сполук з антибіотичною дією є одим з рекомендованих корототермінових світових підходів, згідно плану ВООЗ подолання антибіотикорезистентності.

Дослідження протимікробної дії похідних 4-тіазолідинонів здійснювали попередньо поділивши похідні на вибірки, в том числі базуючись на відмінності за хімічною структурою.

Вибірка №1

У роботі використано сполуки нового синтезу похідних тіазолідинону (сполука I - 3-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота; сполука II - метиловий ефір 3-[5-(1H-індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанової кислоти; сполука III - 2-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-етансульфонова кислота; сполука IV - 3-[5-(1H-Індол-6-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота), структурні формули яких наведено на рисунку 6.1., синтезовані на кафедрі фармацевтичної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

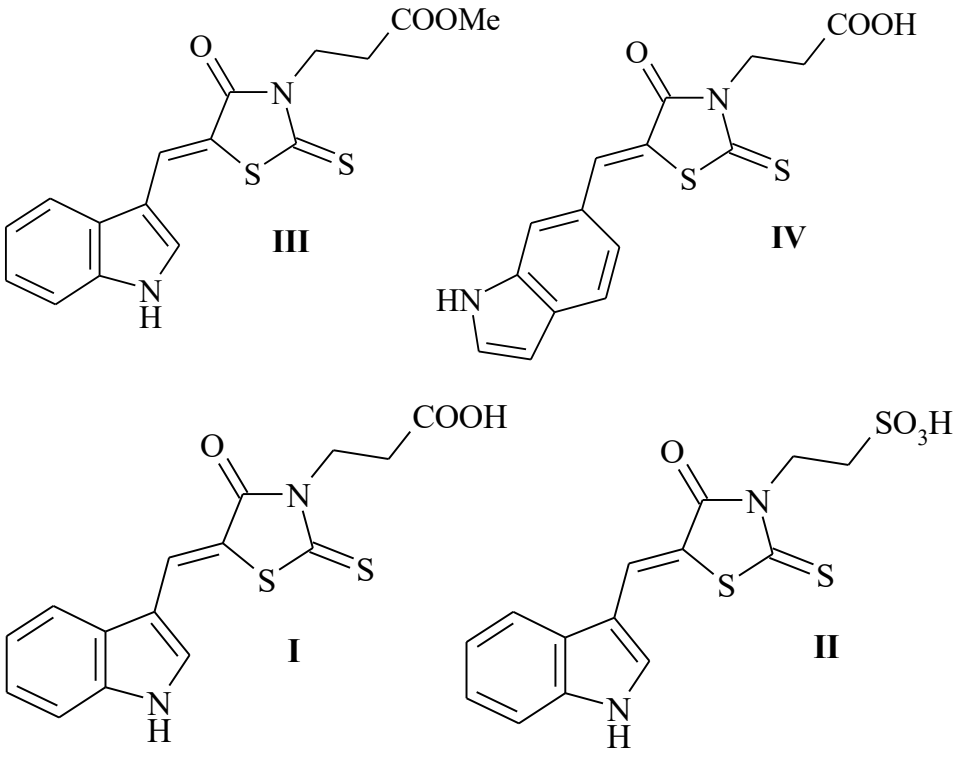


Рис. 6.1. Структурні формули похідних 4-тіазолідинонів, використаних для дослідження протимікробної та протигрибкової дії.

Сполука 2-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-етансульфонова кислота проявила протимікробну дію щодо грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, зокрема щодо стандартних штамів *Escherichia*

coli та *Staphylococcus aureus*, і щодо клінічного штаму *Escherichia coli* (таблиця 6.1.).

Сполуки 3-[5-(1H-індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанової кислоти метиловий ефір та 3-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота проявили виражену селективну дію щодо референтного та клінічного ізолятів грибів роду *Candida* (таб. 6.1.).

Визначено мінімальну інгібуючу концентрацію (MIC) досліджуваних сполук щодо клінічних ізолятів *Escherichia coli* №5 та *Candida albicans* №60. MIC для сполуки I щодо *Candida albicans* №60 становить (25 μg/mL) та MIC для сполуки III щодо *Escherichia coli* №5 становить (25 μg/mL), що є перспективним для подальших досліджень (таб. 6.2.).

Досліджено протимікробну та протигрибкову дію 4-х сполук-лідерів щодо ряду стандартних та клінічних штамів мікроорганізмів. Досліджено, що сполука **I** проявляє виражену протигрибкову дію щодо роду *Candida*, а сполука **III** селективну протимікробну дію щодо *Escherichia coli*.

На основі проведених досліджень було оформлено 2 патенти на корисну модель.

Таблиця 6.1.

Протимікробна дія похідних 4-тіазолідинонів методом дифузії в агар

		сполуки				
	Мікроорганізми	№ I	№ II	№ III	№ IV	Control (DSMO)
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
	Стандартні штами:	Зони затримки росту (mm)				
1	*Candida albicans*	22.0 ± 0.27	17.1 ± 0.32	15.0 ± 0.35	15.5 ± 0.11	15.1 ± 0.12
2	*Pseudomonas aeruginosa*	15.1 ± 0.35	15.3± 0.33	15.4 ± 0.15	15.3 ± 0.14	15.0 ± 0.11

1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
3	*Bacillus subtilis*	15.0 ± 0.32	15.0 ± 0.39	15.0± 0.22	15.0 ± 0.21	15.2 ± 0.14
4	*Escherichia coli*	-	-	20.2 ± 0.16	-	16.0± 0.18
5	*Staphylococcus aureus*	-	-	16.0 ± 0.14	-	-
	Клінічні штами:					
1	*Candida albicans*	16.2 ± 0.41	-	14.0 ± 0.11	14.0 ± 0.23	14.3 ± 0.15
2	*Escherichia coli*	-	-	18.0 ± 0.23	-	-

* Дані наведено разом з ± SD

Таблиця 6.2.

Протимікробна дія похідних 4-тіазолідинонів методом серійних розведень

№	Вид мікроорганізму	Мінімальна інгібуюча концентрація (MIC)							
		Сполука I		Сполука II		Сполука III		Сполука IV	
		MIC (μg/mL)	MBC /MFC (μg/mL)	MIC (μg/mL)	MBC /MFC (μg/mL)	MIC (μg/mL)	MBC /MFC (μg/mL)	MIC (μg/mL)	MBC /MFC (μg/mL)
1	*Escherichia coli* №5	0	0	0	0	1:4 25 μg/mL	1:1 50 μg/mL	0	0
2	*Candida albicans* №60	1:4 25 μg/mL	1:1 50 μg/mL	1:1 50 μg/mL	1:1 50 μg/mL	0	0	0	0

MIC – мінімальна інгібуюча концентрація; MBC – мінімальна бактери/фунгі цидна концентраці

Вибірка №2

Вибірка 2 включала у себе 44 похідних з різних класів. Загалом всі класи досліджуваних сполук виявляли високу протигрибкову активність, інгібуючи ріст, як референс-, так і клінічних штамів *Candida*. Щодо грамнегативних бактерій, найактивнішим класом сполук були похідні 2-ціано-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)-N-феніл-ацетамідів 4.94, 4.108, 4.121, 4.129, 4.133, причому 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 показав найвищу активність щодо клінічного штаму *Pseudomonas aeruginosa* №7 (табл. 4 та рис 13). Грампозитивні бактерії були найбільш чутливими до дії похідних роданін-3-N-фенілсукцинімідів 4.61, 4.71, 4.81, 4.83 із фрагментами коричного альдегіду, ізатину, алілоксифенілу та циміналю та у С5 положенні тіазолідону відповідно. Цікаво, що одними з найактивніших сполук в даному дослідженні виявилися гібридні молекули 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо тіазолідин-4-онів на основі роданін-3-карбонових кислот 7.54, 7.57 (таб. 6.3.; рис. 6.1.).

Зони інгібування росту грампозитивних клінічних штамів *Enterococcus spp.* і *Staphylococcus lugnuniensis* етиловими естрами 2-[5-(3,4-дигідропіразол-2-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-3-феніл-пропіонової кислоти становили від 11 до 17 мм. Загалом, найчутливішими до дії всіх груп тестованих речовин є гриби роду *Candida* із величинами MIC в межах 0.33-1.33 мкМ. Найнижчі мінімальні інгібуючі концентрації розраховано для етилового естру 5-амінометиліден-роданін-3-пропіонової кислоти та етил 4-[[[2-(2-аніліно-1-ціано-2-оксо-етиліден)-4-оксо-3- феніл-тіазолідин-5-іліден]метил]аміно]бензоату 5-Іліден похідні 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-1-феніл-піролідин-2,5-діони інгібували ріст *Staphylococcus aureus,* найнижче значення MIC 0.33 мкМ для сполуки із фрагментом циміналю у С5 положенні. Значення MIC для *Escherichia coli* були дещовищими, в межах 0.64-1.73 мкМ (таб. 6.4., додаток 9).

Таблиця 6.3.

Результати дослідження протимікробної та протигрибкової дії ряду 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-2-(ті)оксо-4-тіазолідинонів, похідних 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-N-феніл-ацетаміду та 2-ціано-N-(о-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетаміду та 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів (d затримки росту (мм))

Лабораторний шифр сполук		Грамнегативні бактерії					Грампозитивні бактерії				Гриби				
		Референс штами		Клінічні штами		Рідкісні клінічні штами	Референс штами	Клінічні штами		Рідкісні клінічні штами	Референс штами	Клінічні штами		Рідкісні клінічні штами	Референс штами
	С, мг/мл	*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 (F-51))	*Escherichia coli* (ATCC 25922)	*Pseudomonas aeruginosa* (№7)	*Escherichia coli* (№5)	*Raoultella terigena* №1	*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 (F-49))	*Enterococcus spp.* (№21)	*Staphylococcus lugnuniensis* (№142)	*Staphylococcus simulans* (№151)	*Candida. albicans* (ATCC 885-653)	*Candida albicans* (№	*Candida dubliniensis* (№67)	*Candida membranifaciens* 117	*Aspergillus neger* муз (№162)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
4.35	0,4	9	0	нт	0	0	0	0	0	10	8	12	0	10	нт
4.39	0,33	0	0	нт	0	0	0	10	0	0	7	15	11	10	0
4.41	0,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	нт

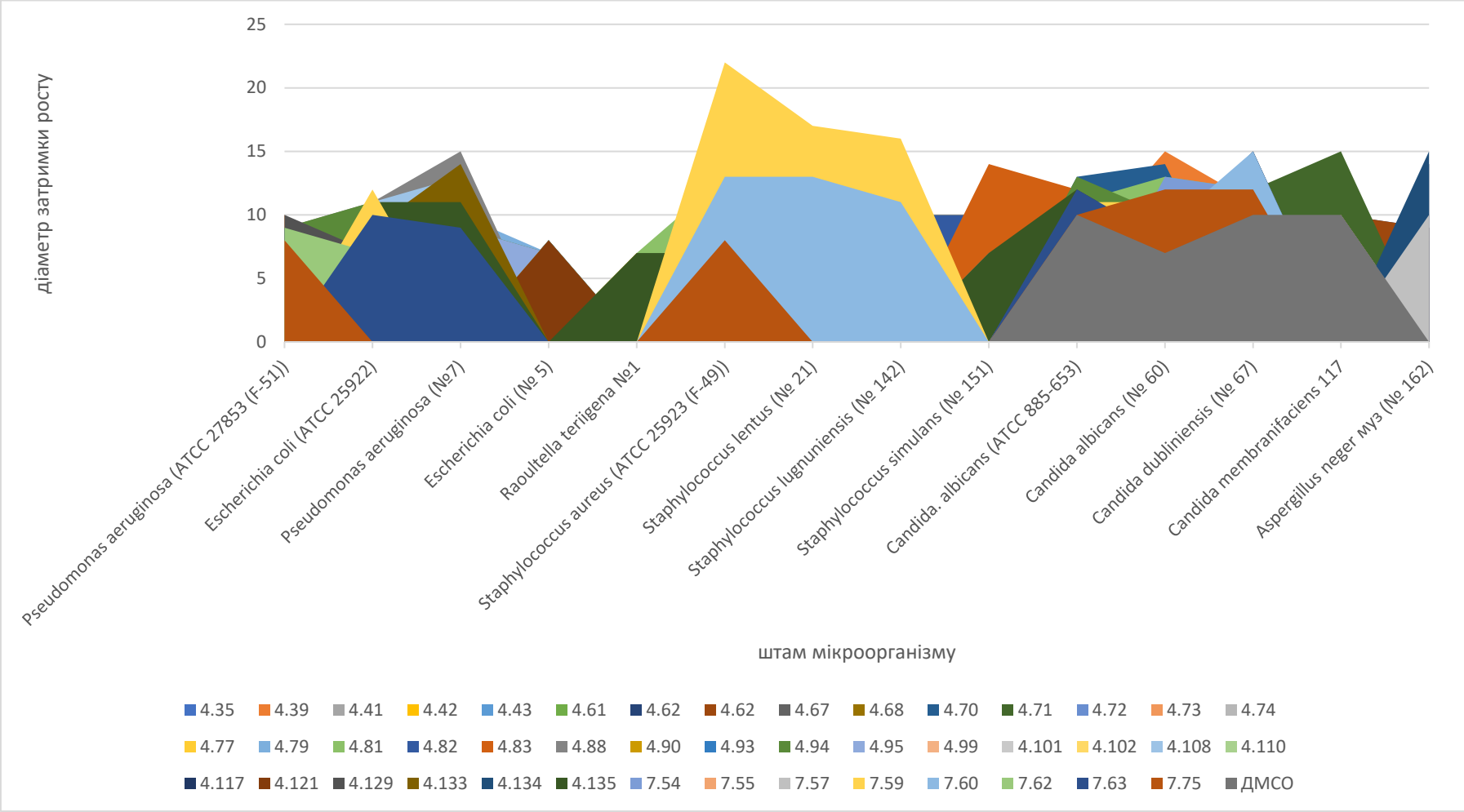
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
4.42	0,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	10	0	0	нт
4.43	0,4	0	0	нт	0	0	0	0	0	0	0	10	0	10	нт
4.61	0,47	9	0	нт	8	0	0	0	0	12	10	8	0	0	нт
4.62	0,53	9	0	нт	0	0	0	0	0	12	12	12	12	10	9
4.62	0,53	9	0	нт	0	0	0	0	0	12	12	12	12	10	9
4.67	0,64	0	0	0	8	0	0	0	0	0	10	12	11	0	нт
4.68	0,47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	0	10	нт
4.70	0,47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	14	0	0	0
4.71	0,53	9	0	0	0	0	0	10	0	12	12	8	12	15	0
4.72	0,56	0	0	нт	8	0	0	0	0	0	10	10	11	0	нт
4.73	0,43	8	0	нт	0	0	0	10	0	0	10	12	0	10	нт
4.74	0,67	9	7	0	0	7	0	0	10	7	12	9	10	нт	8
4.77	0,53	0	0	нт	0	0	0	0	10	10	10	10	0	10	нт
4.79	0,71	0	7	10	7	0	10	7	0	0	8	9	10	нт	нт
4.81	0,67	9	0	0	0	7	13	11	11	0	11	13	12	нт	0
4.82	0,4	9	0	нт	8	0	8	11	10	10	10	10	0	10	нт
4.83	0,47	10	0	нт	0	0	0	12	0	14	12	10	0	0	0
4.88	0,7	9	11	15	0	0	0	0	0	7	11	10	10	нт	14
4.90	0,6	9	0	0	0	7	0	0	0	0	8	11	12	нт	нт
4.93	0,6	0	7	11	0	0	0	7	0	0	10	8	10	нт	нт

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
4.94	0,67	9	11	9	7	0	0	0	0	0	13	10	10	нт	0
4.95	0,67	0	7	9	7	0	7	7	0	0	9	9	12	нт	нт
4.99	0,6	9	7	0	0	0	7	0	0	0	12	8	15	нт	10
4.101	0,65	0	0	0	0	0	9	0	0	0	12	8	15	нт	нт
4.102	0,6	0	8	0	0	0	7	0	0	0	9	10	11	нт	нт
4.108	0,6	0	11	13	0	0	0	7	0	0	12	0	10	нт	нт
4.110	0,64	0	0	0	8	0	0	0	0	0	9	8	12	нт	нт
4.117	0,73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	8	15	нт	14
4.121	0,61	9	0	0	8	0	0	0	0	0	8	9	12	нт	нт
4.129	0,6	10	7	0	0	0	7	0	0	0	8	9	10	нт	нт
4.133	0,67	нт	9	14	0	0	8	7	0	0	12	8	12	нт	нт
4.134	0,69	9	0	0	0	0	0	0	0	0	12	8	15	нт	15
4.135	0,59	0	11	11	0	7	7	8	0	7	12	8	10	нт	нт
7.54	0,47	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	13	12	0	0
7.55	0,47	8	0	0	0	0	10	0	0	0	8	10	0	0	нт
7.57	0,7	8	0	0	0	0	0	0	0	0	11	10	10	нт	10
7.59	0,8	0	12	0	0	0	22	17	16	0	11	11	10	нт	0
7.60	0,8	0	7	0	0	0	13	13	11	0	11	9	15	нт	нт
7.62	0,87	9	7	0	0	0	0	0	0	0	11	8	10	нт	нт
7.63	0,85	0	10	9	0	0	7	0	0	0	12	8	10	нт	нт

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
7.75	0,6	8	0	0	0	0	8	0	0	0	10	12	12	0	нт
ДМСО		0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	7	10	10	0

*похибка складала ± 0.2-0.7 мм, нт-не тестовано

Рис. 6.1. Результати дослідження протимікробної та протигрибкової дії досліджуваних похідних (Вибірка 2)



Пошук протимікробних агентів серед різних неконденсованих поліциклічних похідних тіазолідинону-4 дозіволив ідентифікувати ряд високоактивних протигрибкових сполук-лідерів, що інгібували ріст *Candida albicans* із величинами діаметрів затримки росту до 17 мм., при цьому найактивнішими були похідні 5-амінометиліден-роданін-3-пропіонової кислоти та 5-амінометиліден-2-іліден- 3-феніл-4-тіазолідинону. Найактивнішою щодо *Staphylococcus aureus* була група 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-сукцинімідів), сполука із фрагментом циміналю у С5 положенні.

Таблиця 6.4.

Мінімальні інгібуючі концентрації (MIC) розраховані для 22 сполук-хітів

	інімальна інгібуюча концентрація (MIC мкМ		
Лабораторний шифр сполук	*Escherichia coli* (ATCC 25922)	*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 (F-49))	*Candida albicans* № 60
1	**2**	**3**	**4**
4.39	нт	нт	0.47
4.61	1.03	0.52	Нт
4.62	1.06	Нт	0.53
4.67	Нт	Нт	0.66
4.70	Нт	Нт	1.00
4.71	1.05	Нт	1.05
4.74	Нт	Нт	0.68
4.79	1.33	0.33	Нт
4.81	1.30	нт	0.65

1	2	3	4
4.82	1.01	0.50	нт
4.83	1.06	1.06	1.06
4.88	1.73	0.86	0.86
4.94	Нт	Нт	0.33
4.99	Нт	Нт	0.64
4.134	Нт	Нт	0.67
4.108	1.28	0.64	Нт
4.117	Нт	Нт	0.67
4.135	1.1	0.55	нт
7.54	нт	нт	0.47
7.57	нт	нт	1.33
7.59	1.33	1.33	066
7.60	0.64	нт	нт

нт – не тестовано

Вибірка №3

Вибірка 3 включала 7 похідних.

Найкращу активність проявила сполука Les 6431, яка проявила протигрибкову активність проти грибів роду *Candida*, вибіркову дію проти грампозитивних мікроорганізмів *Micrococcus luteus* та вибіркову дію на декілька грамнегативних мікроорганізмів (таб. 6.5. та рис. 6.2.).

Найкращу протигрибкову активність виявили сполуки Les 6429 та Les 6239, як для грибів роду *Candida*, так і для грибів роду *Saccharomyces*. Ці сполуки також були активні проти деяких грамнегативних мікроорганізмів, зокрема проти клінічних штамів *Citrobacter freundii* та *Achromobacter xylosoxidans*.

Чотири сполуки (Les 6139, Les 6154, Les 6429, Les 6431) продемонстрували значну антимікробну активність як проти клінічних, так і грамнегативних мікроорганізмів.

Випробувані сполуки не виявляли значної антибактерійної активності щодо грампозитивних мікроорганізмів, за винятком сполуки Les 6431, активної проти *Micrococcus luteus*. Чотири провідні сполуки (таблиця 6.6.) тестували на мінімальну інгібуючу концентрацію (MIC). Найнижчий MIC зафіксовано для сполуки Les 6431 проти грамнегативних мікроорганізмів <62.5 мкг / мл.

Отже, випробувані сполуки Les 6139, Les 6154, Les 6429, Les 6431 є перспективними для подальших досліджень, особливо речовини Les 6139 та Les 6429, які показали значну високу протигрибкову та протимікробну активність щодо грамнегативних мікроорганізмів.

Таблиця 6.5.

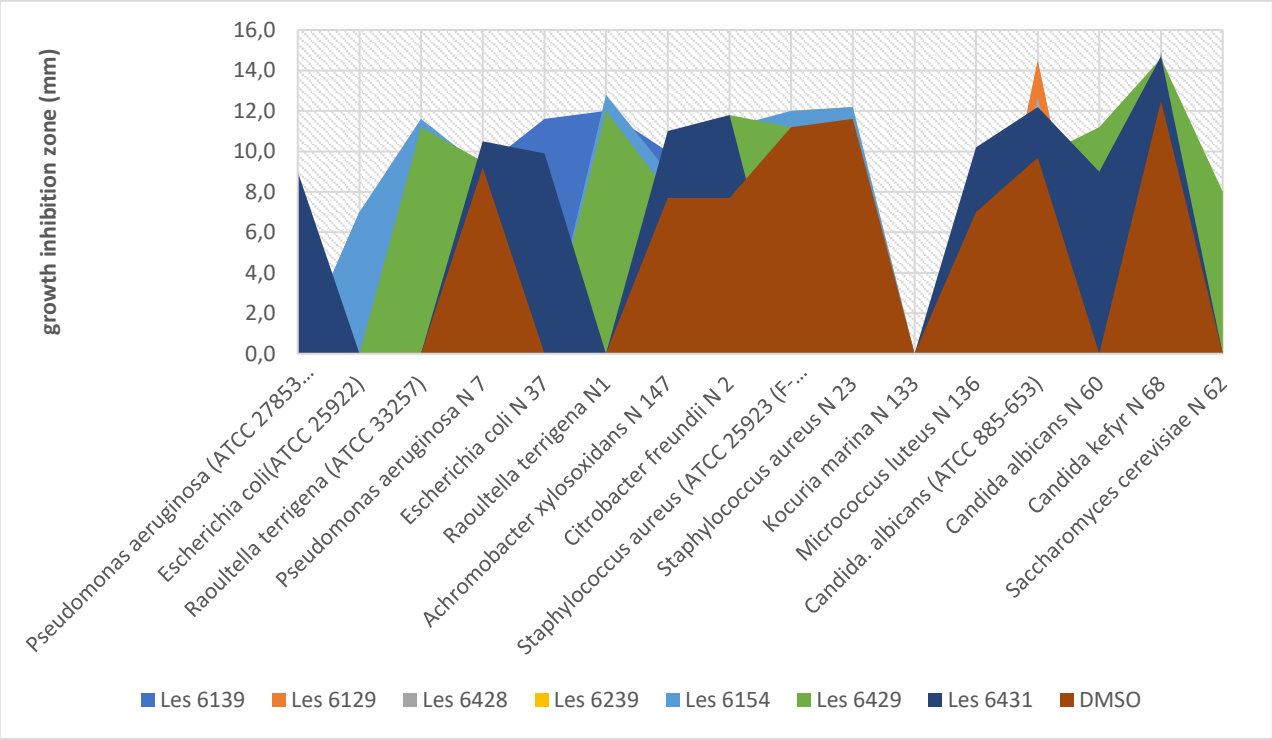
Антимікробна активність сполук *in vitro*.

	Характеристика		**Вид**	**Зона затримки росту (mm ± SE) / лабораторний шифр сполук**								
				Les 6139	Les 6129	Les 6428	Les 6239	Les 6154	Les 6429	Les 6431	DMSO	Vancomycin
1	**2**		**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
1	Грамм-негативні	Референтні штами	*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 (F-51))	00	00	00	00	00	7.0± 0.3**	9.0 ± 0.4**	00	-
2			*Escherichia coli*(ATCC 25922)	7.0± 0.25**	00	7.0± 0.2**	00	7.0± 0.3**	00	00	00	-
3			*Raoultella terrigena* (ATCC 33257)	11.0± 0.4**	00	00	00	11.6 ± 0.3**	11.2± 0.4**	00	00	-
4		Клінічні штами	*Pseudomonas aeruginosa* N 7	9.2± 0.2	9.2± 0.2	9.2± 0.2	9.2± 0.2	9.2± 0.2	9.5± 0.3	10.5± 0.4*	9.2± 0.2	-
5			*Escherichia coli* N 37	11.6± 0.25**	00	00	00	00	00	9.9± 0.2**	00	-
6			*Raoultella terrigena* N1	12.0± 0.5**	00	00	00	12.8± 0.3**	12.0± 0.3**	00	00	-
7			*Achromobacter xylosoxidans* N 147	10.0± 0.4	8.0± 0.3	8.0± 0.3	10.0± 0.4**	9.0± 0.5*	8.0± 0.3	11.0± 0.2**	8.0± 0.2	-

1	2	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
8			*Citrobacter freundii* N 2	7.7± 0.2	7.7± 0.2	7.7± 0.2	10.8± 0.4**	11.2± 0.5**	11.8± 0.4**	11.8± 0.5**	7.7± 0.2	-
9	Грам-позитивні	Референтні штами	*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 (F-49))	00	00	00	12.0± 0.3	12.0± 0.3	11.2± 0.3	00	11.2 ± 0.4	32 ± 0.5
10		Клінічні штами	*Staphylococcus aureus* N 23	00	00	00	12.2± 0.4	12.2± 0.4	11.4± 0.3	00	11.6 ± 0.2	11.4 ± 0.3
11			*Kocuria marina* N 133	00	00	00	00	00	00	00	00	25.1 ± 0.4
12			*Micrococcus luteus* N 136	00	00	00	00	00	00	10.2 ± 0.4**	7.0 ± 0.3	12.0 ± 0.2
13	Гриби	Референтні штами	*Candida. albicans* (ATCC 885-653)	14.4± 0.4**	14.5± 0.5**	12.7± 0.4**	9.6± 0.3	9.7± 0.3	9.7± 0.3	12.2 ± 0.2	9.7 ± 0.2**	-
14		Клінічні штами	*Candida albicans* N 60	00	00	00	9.2± 0.4**	9.8± 0.4**	11.2± 0.5**	9.0 ± 0.3**	00	-
15			*Candida kefyr* N 68	13.8± 0.1**	12.3± 0.4	14.9± 0.3**	14.5± 0.4**	12.5± 0.4	14.6± 0.2**	14.7± 0.2**	12.5± 0.2	-
16			*Saccharomyces cerevisiae* N 62	00	00	00	8,0± 0.2**	00	8,0± 0.2**	00	00	-

(зона інгібування росту при концентрації 1 мг/мл через 24-48 год)

Рис. 6.2. Протимікробна дія *In vitro* (вибірка 3)



Таблиця 6.6.

MIC (µg) деяких похідних (Вибірка 3)

	µg/mL				
	Les 6139	Les 6154	Les 6429	Les 6431	Ванкоміцин
Pseudomonas aeruginosa N 7	-	-	<250	<62.5	-
Escherichia coli N 37	<500	<500	-	<62.5	-
Raoultella terrigena N1	<500	<250	<250	-	-
Citrobacter freundii N 2	-	<500	<500	<500	-
Staphylococcus aureus N 23	-	<250	-	-	< 6
Micrococcus luteus N 136	-	-	-	<500	< 4
Candida. albicans (ATCC 885-653)	<500	<250	<500	<250	-
Candida albicans N 60	<500	<500	<500	<500	-

`-` не протестовано

Молекулярний докінг

Результати дослідження антимікробної активності докінгом представлені в таблиці 6.7. Дослідження показали, що сполука-лідер Les 6431 продемонструвала хороше зв'язування з обраними білковими мішенями порівняно з еталонним інгібітором N21 та ципрофлоксацином (таб. 6.7.).

Таблиця 6.7.

Результати стикування Les 6431 всередині активних сайтів MurD (2Y67) і ДНК-гірази (2XCT)

	MurD (2Y67)		DNA gyrase (2XCT)	
Речовина	Розрахункова вільна енергія зв'язування (ккал/моль)	Розрахункова гальмівна константа, Ki (мкМ)	Розрахункова вільна енергія зв'язування (ккал/моль)	Розрахункова гальмівна постійна, Ki
Les 6431	-6.31	23.63 uM	-8.28	858.77 nM
Ципрофлоксацин	-	-	-8.35	756.11 nM
N21	-6.08	34.80 uM	-	-

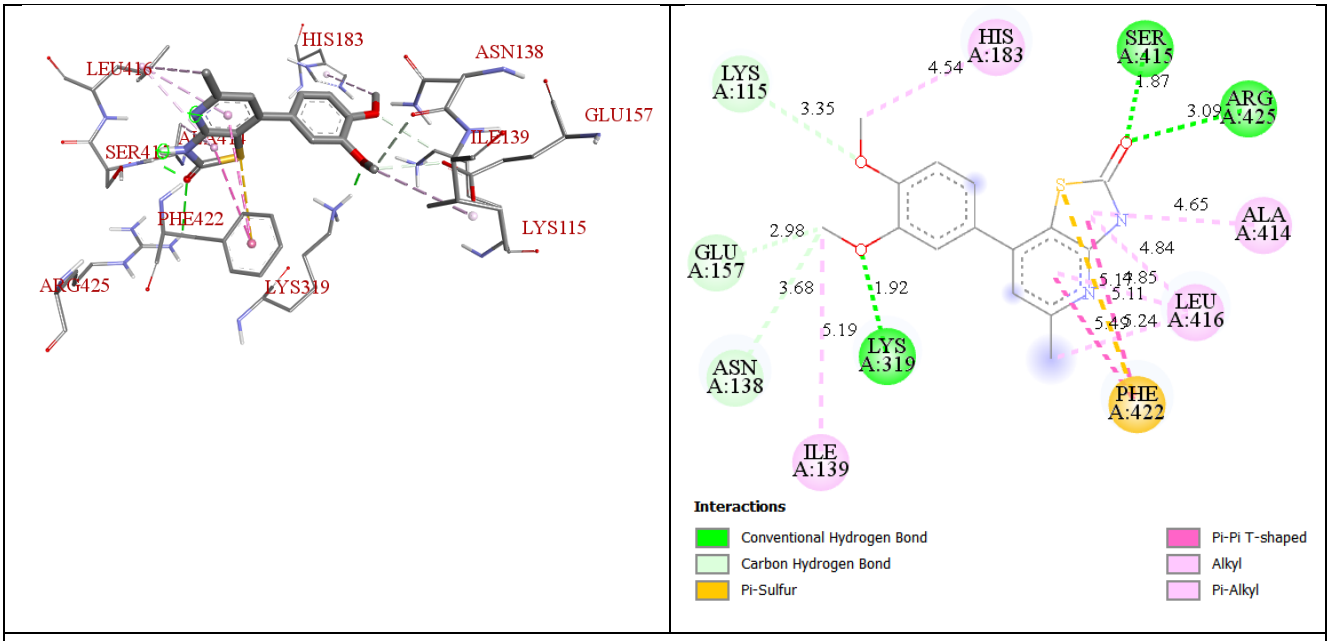


Рисунок 6.3. Режим зв'язування Les 6431 з MurD (PDB 2Y67).

Молекула зв’язується з активним центром білка трьома водневими зв’язками з LYS319 (1,92 Å), SER415 (1,87 Å) і ARG425 (3,09 Å). Підсумкова енергія зв’язування збільшується завдяки додатковому гідрофобному взаємодії Pi-Pi T-подібної, алкілової та пі-алкілової з кількістю ліпофільних амінокислот ALA414, LEU416, PHE422, ILE 139. Крім того, LYS115, GLU1387 утворюють слабкі вуглець-водневий зв'язок з двома метоксигрупами по Les 6431. Однак довжина молекули досить мала, і відсутня взаємодія з TRH36, що є досить необхідним для ефективного інгібування MurD (рис. 6.3.).

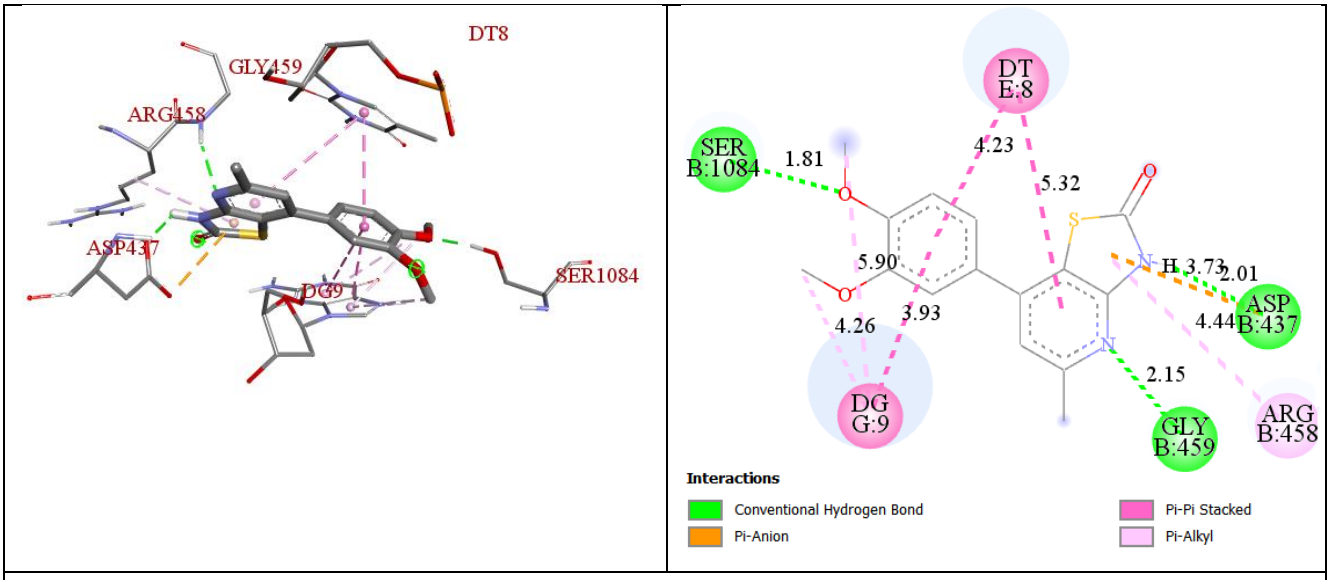


Рисунок 6.4. Режим зв'язування Les 6431 з ДНК-гіразою (PDB 2XCT).

Результати докінгу для сполуки Les 6431 дозволяють припустити, що ці сполуки утворюють ключові взаємодії з важливими залишками на сайті зв’язування ДНК-гірази (рис. 6.4.). Сполука створює міцне з’єднання всередині активного центру ДНК-гірази завдяки 3 водневим зв’язкам з SER1084 (1,81 Å), ASP437 (2,01 Å) і GLY459 (2,15 Å). Крім того, положення молекули стабілізується за рахунок взаємодії Pi-Pi між фенілом, 3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридиновими ядрами та нуклеотидами DG9, DT8. Крім того, 3-метоксигрупа і тіазоловий мотив утворюються за допомогою з'єднань Pi-алкіла з ARG458 і DG9. Ципрофлоксацин також утворює водневий зв’язок із SER1084 та взаємодію Pi-алкілу з ARG458, а

взаємодії з амінокислотами, як зазначено вище, є вирішальними для вираження його антибактеріальної активності. Енергія зв'язування та інгібуюча константа досліджуваної сполуки незначно відрізняється від відповідних показників ципрофлоксацину, що підтверджує хороший антибактеріальний потенціал сполуки 7-(3,4-Диметоксифеніл)-5-метил-3H-тіазоло[4,5-b]піридин-2-он.

6.2. Токсичність, прозапальна дія, та вплив сполуки 3-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота та імунну систему лабораторних тварин

Для синтезованих сполук досліджували гостру токсичність у мишей та визначали їхню середню смертельну дозу (значення LD_{50}). Матеріальні розчини сполук, використаних у цьому дослідженні, готували безпосередньо перед використанням, і зростаючу кількість речовин (100-1000 мг/кг) вводили внутрішньоочеревинно. Значення LD_{50} розраховували за Лічфілдом і Вілкоксоном. Синтезовані сполуки показали низьку гостру токсичність у мишей із значеннями LD50 в межах 300-350 мг/кг (табл. 6.8.) [259].

Таблиця 6.8.

Гостра токсичність деяких цільових сполук

Сполука	LD_{50}, mg/kg
3	960.0 ± 64.5
4	1005.0 ± 67.0
5	1050.6 ± 67.5
6	900.0 ± 57.0

При проведенні хімічною речовиною шкірних аплікацій та після внутрішньошкірних проб в дозах 1:10 і 1:100 зміни на шкірі мурчаків відсутні.

Показники лейкоцитарної формули периферичної крові досліджуваних тварин

(таб. 6.9.) достовірно змінилися в дослідній групі у порівнянні з контрольною. Зокрема, загальна кількість лейкоцитів зросла на 21.76 %, спостерігалося також збільшення абсолютної кількості еозинофілів. Зафіксовано також: абсолютний моноцитоз (зростання кількості моноцитів на 52.09 %), відносне та абсолютне збільшення кількості лімфоцитів (на 5.02 % та 26.87 % відповідно) на тлі зниження процентного вмісту нейтрофільних гранулоцитів. Індекс співвідношення нейтрофілів та моноцитів (ІСНМ) достовірно зменшився на 35.43 %. Інші показники достовірно не змінилися.

Таблиця 6.9.

Показники лейкоцитарної формули крові мурчаків після епікутанної сенсибілізації досліджуваною речовиною(3-[5-(1Н-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота), M±m

Показник	Контроль	Досліджувана речовина	Зміна відносно контролю, %	Достовірність*
Лейкоцити, Г/л	13,79±0,49	16,79±1,16	21,76	p<0.05
Лейкоформула:				
Базофіли, %	0,25±0,16	0,25±0,16	0,00	
Базофіли, Г/л	0,03±0,02	0,04±0,03	35,69	
Еозинофіли, %	2,63±0,18	2,88±0,23	9,52	
Еозинофіли, Г/л	0,36±0,02	0,49±0,05	35,38	p<0.05
Нейтрофіли, %	24,63±1,34	20,13±0,79	-18,27	p<0.05
Нейтрофіли, Г/л	3,39±0,23	3,43±0,35	1,11	
Моноцити, %	2,75±0,25	3,50±0,42	27,27	
Моноцити, Г/л	0,38±0,04	0,58±0,07	52,09	p<0.05
Лімфоцити, %	69,75±1,22	73,25±1,03	5,02	p<0.05
Лімфоцити, Г/л	9,68±0,40	12,28±0,77	26,87	p<0.05

*Достовірність зазначена тільки для p<0.05 та p<0.001, всі інші показники мають p≥0.05

Аналіз кількісних параметрів клітинного адаптивного імунітету (таб. 6.10.) в контрольній групі показав достовірне збільшення абсолютної кількості Т-лімфоцитів CD3 на 21.46 % та абсолютної кількості Т-супресорів CD8 на 27.15 %, а також зменшення відносної кількості NK-клітин CD16 на 11.57 % та В-лімфоцитів CD22 на 23.08 %. Інші показники достовірно не змінилися.

Таблиця 6.10.

Субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові мурчаків після епікутанної сенсибілізації 3-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота, M±m

Показник	Контроль	Досліджувана речовина	Зміна відносно контролю, %	Достовірність*
1	2	3	4	5
Показники клітинного імунітету				
Т-лімфоцити CD3, %	49.75±1.10	47.50±0.93	–4.52	
Т-лімфоцити CD3, Г/л	4.81±0.20	5.84±0.38	21.46	p<0.05
Т-хелпери CD4, %	30.25±0.96	28.00±0.80	–7.44	
Т-хелпери CD4, Г/л	2.93±0.15	3.44±0.23	17.52	
Т-супресори CD8, %	19.50±0.63	19.50±0.38	0.00	
Т-супресори CD8, Г/л	1.89±0.09	2.40±0.15	27.15	p<0.05
NK-клітини CD16, %	15.13±0.79	13.38±0.38	–11.57	p<0.05
NK-клітини CD16, Г/л	1.48±0.11	1.65±0.11	11.77	

1	2	3	4	5
В-лімфоцити CD22, %	22.75±1.08	1.50±0.5	–23.08	p<0.001
В-лімфоцити CD22, Г/л	2.21±0.17	2.16±0.17	–1.98	
Імунорегуляторний індекс, (CD4/CD8)	1.56±0.08	1.43±0.05	–8.47	

*Достовірність зазначена тільки для p<0.05 та p<0.001, всі інші показники мають p≥0.05

Серед індексних показників імунного статусу достовірно збільшилися ФЧ (120-та хв, на 439.87%), ФІ12 (120-та хв, на 62.73%); достовірно зменшилися ФЧ12 (30-та хв, на 28.3%), ФІ12 (30-та хв, на 27.21%), ІЗФ (на 78.72%) та ІСНМ (на 35.43%) (таб. 6.11.). ІСНЕ та ІСЛМ достовірно не змінилися.

Таблиця 6.11.

Індексні показники імунного статусу організму лабораторних тварин, M±m

Показник	Контроль	Досліджуваний показник	Зміна відносно контролю, %	Достовірність*
1	2	3	4	5
ФЧ12 (фагоцитарне число), 30-та хв, ум.од.	60.20±2.63	43.16±3.81	–28.30	p<0.001
ФЧ12 (фагоцитарне число), 120-та хв, ум.од.	13.00±1.39	70.18±2.91	439.87	p<0.001
ФІ12 (фагоцитарний індекс), 30-та хв, %	5.89±0.17	4.29±0.30	–27.21	p<0.001

1	2	3	4	5
ФІ12 (фагоцитарний індекс), 120-та хв, %	3.07±0.12	4.99±0.41	62.73	p<0.001
ІЗФ (індекс завершеності фагоцитозу)	3.47±0.32	0.74±0.03	–78.72	p<0.001
Індекс співвідношення нейтрофілів та моноцитів (ІСНМ)	9.21±1.15	5.95±0.76	–35.43	p<0.05
Індекс співвідношення нейтрофілів та еозинофілів (ІСНЕ)	9.66±1.32	7.11±0.76	–26.33	
Індекс співвідношення лімфоцитів та моноцитів (ІСЛМ)	25.86±2.67	21.44±3.18	–17.09	

*Достовірність зазначена тільки для p<0.05 та p<0.001, всі інші показники мають p≥0.05

Нейтрофільні гранулоцити, які є клітинними факторами неспецифічного захисту, першими приймають на себе дію ксенобіотика і здатні покидати кров'яне русло, мігруючи у вогнища запальної реакції, про що може свідчити зростання загальної кількості лейкоцитів на 21.76%. Досліджувана похідна має відповідний вплив на імунну систему, який супроводжується зростанням абсолютної кількості еозинофілів (на 35.38%) та моноцитів (на 52.09%), абсолютним та відносним лімфоцитозом (збільшення на 26.87% та 5.02% відповідно).

Варто зазначити, що порівнювати показними лейкограми з референтними значеннями лейкограми для мурчаків, то всі показники лейкограми досліджуваної групи залишилися в межах норми, проте референтні значення за різними авторами відрізняються [204,209,260,261].

Було відзначено зростання активності макрофагальної фагоцитарної системи.

Достовірне збільшення ФЧ на 439.87 % на 120-ту хвилину вказує на збільшення поглинальних властивостей нейтрофілів, проте пригнічення перетравлюючої здатності фагосом. Зменшення ФІ на 27.21% на 30-ту хвилину з наступним збільшенням на 62.73 % на 120-ту хвилину вказує на початкове зменшення з подальшим суттєвим збільшенням кількості активних нейтрофілів.

Вплив досліджуваної речовини на рівень імуноглобулінів та інтерлейкінів у сироватці лабораторних тварин засвідчив достовірне зменшення IgA на 21.4% ($p<0.05$) та достовірне збільшення IgG на 21.2%. Рівні інших імуноглобулінів (таб. 6.12.) зменшилися, найсуттєвіше зменшився рівень IgE на 86.8%.

Результати цитокінового профілю засвідчили деяке зниження кількості IL-2 та TNF-a, які продукуються Th1 і стимулюють процеси клітинного імунітету. Імунна відповідь натомість буде регулюватися деяким підвищенням IL-6.

Таблиця 6.12.

Кількісні показники рівнів імуноглобулінів та інтерлейкінів у сироватці лабораторних тварин за дії сполуки 3-[5-(1H-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота

показник	контроль	25 per*	75 per*	сполука	25 per*	75 per*	зміна %	p за t-критерієм
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Імуноглобулін E, нг/мл	173.7	21.60	183.80	22.9	-4.10	40.80	-86.82	
Імуноглобулін E, нг/мл (повтор)	244.6	200.4	302.7	161.6	103.4	144.1	-33.93	
Імуноглобулін A, г/л	1.6±0.2			1.1±0.1			-35.29	p<0.05
Імуноглобулін M, г/л	0.55±0.04			0.48±0.02			-12.73	p>0.05

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Імуноглобулін G, г/л	8.5±0.3			10.3±0.2			21.18	p<0.05
IL-2, пг/мл	115.7	100.7	144	76.9	7.1	106	-33.54	
IL-6, пг/мл	257.6	240.8	285.2	276.11	249.5	296.8	7.19	
TNF-α, пг/мл	44.5	28.6	58.2	26.2	21.1	27.6	-41.12	

*показники таблиці вказано для неправильного розподілу

Розділ висвітлено в матеріалах публікацій:

1. 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)

2. 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)

3. Holota S, Lozynskyi A, Konechnyi Y, Shepeta Y, Lesyk R. 5-[4-(tert-Butyl) cyclohexylidene]-2-thioxothiazolidin-4-one. Molbank. 2021 Dec;2021(4):M1281. (Scopus)

4. Lozynskyi AV, Derkach HO, Zasidko VV, Konechnyi 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)

5. Lozynskyi A, Konechnyi Y, Senkiv J, Yushyn I, Khyluk D, Karpenko O, Shepeta Y, Lesyk R. Synthesis and Biological Activity Evaluation of Novel 5-Methyl-7-Phenyl-

3H-Thiazolo [4, 5-b] Pyridin-2-Ones. Scientia Pharmaceutica. 2021 Dec;89(4):52. (Scopus, Q2)

6. 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)

7. 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.

8. 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 C07D 277/08 (2006.01) A61P 31/10 (2006.01)

9. 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-(1н-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 C07D 277/08 (2006.01) A61P 31/10 (2006.01)

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У практичній медицині загострилися проблеми, що виникають при застосуванні антибіотиків і хіміопрепаратів, основними з яких є розвиток стійкості збудників інфекційних процесів до антимікробних хіміотерапевтичних препаратів (ХТП), антисептиків та дезінфектантів, шпитальні (нозокоміальні) інфекції та явище фомування біоплівок мікробними патогенами на слизових оболонках в організмі людини, на поверхнях медичного інструментарію, імплантів тощо. Поява полірезистетних і «суперштамів» бактерій та грибів становить значну загрозу в аспекті розвитку тяжких інфекційних процесів, що мають несприятливий прогноз для хворого, та зайнятті такими мікроорганізмами ніші внутрішньолікарняних штамів [71–73].

Особливу небезпеку становлять шпитальні інфекції. Із 5 млн.інфекційних захворювань, що діагностуються у США близько 40% становлять інфекції, набуті в лікарняних закладах. В Україні реєструється 3-6 тис. випадків на рік внутрішньо лікарняних інфекцій. В Україні офіційно реєструється 3-6 тис. випадків на рік таких інфекцій. Відповідно до офіційних даних у 2020 році було зареєстровано 1 463 випадки ІПНМД, що є найнижчою річною кількістю зареєстрованих ІПНМД за останні дванадцять років, а максимальну кількість ІПНМД було зафіксовано у 2011 році 7448 випадків (16.3 на 100 тис.населення). За віковою структурою середнє значення кількості випадків ІПНМД у дорослих за 2009-2020 роки становило 77.5 % та 22.5 % для дітей (0-17 років). Найвищий рівень ІПНМД серед дітей (0-17 років) був у 2009 році (33.6 %), проти 15.7 % у 2015 році. Причому, найбільшу кількість випадків ІПНМД становили «Інфекції, що виникають внаслідок хірургічних та терапевтичних втручань», в середньому 26.4 % від загальної кількості ІПНМД. За географічним розповсюдження ІПНМД, то 77.3% усіх випадків ІПНМД у період 2009-2020 рр. були зареєстровані в Одеській області, на другому місці - Донецька область – 4.8%, на третьому - Київ та Київська область з

сумарною часткою 3.4%. Здебільшого ІПНМД були спричинені *Staphylococcus* та *Klebsiella* (фрагментарні дані за 2019 рік) [3,197,201].

У Львівській області кількість зареєстрованих випадків ІПНМД протягом 2010-2020 рр становила 29.2 випадки, з максимумом 80 зареєстрованих випадків у 2010 році та мінімумом 4 випадки у 2019 році. Найбільшу кількість випадків у 2010-2020 рр зафіксовано як «Вірусний гепатит В», в середньому 46.7% від загальної кількості ІПНМД.

За результатами наших досліджень найчастіше ІПНМД діагностовано як ІДШ (36.6%) та ІСВШ (34.1%), які здебільшого розвивалися від 5-го до 14-го дня перебування в стаціонарі. Факторами ризику розвитку інфекційного процесу було встановлення трахеостоми або інтубаціної трубки та тривалість встановлення сечового катетеру (довше 7-ми днів). 72.4% ІПХВ були пов'язані зі встановленням раневого дренажу.

Останніми роками значно розширився видовий спектр збудників ІПНМД. На тлі зниження рівня напруженості імунітету громадян, вживання широкого асортименту продуктів харчування, в тому числі нетрадиційних для регіону, які можуть бути контаміновані мікроорганізмами з довкілля або епіфітною мікробіотою генетично модифікованих продуктів, відбувається адаптація мікробіоти до організму людини. Маловірулентні мікроорганізми за умов застосування інвазивних методів лікування набувають здатності до розмноження в організмі людини, медичному устаткуванні та на засобах догляду за хворими.

З 309 ізолятів бактерій та грибів грамнегативних було 59.33%, а грампозитивні становили 40.67%.

За частотою висівання превалювали бактерії роду *Pseudomonas* (31.4%).Хоча найчастіше висівалася *Pseudomonas asaeruginosa,* зафіксовано розширення спектру представників роду за рахунок *P.putida* (виявлено 5 штамів) та по одному штаму *P. xanthomarina, P. stutzeri, P.monteilii, P. mendicola* та *P.ozyzihabitans.* Представники усіх вказаних видів були полі резистентними і виявляли чутливість лише до коліс тину, крім *P.ozyzihabitan,* яка була чутливою до карбапенемів, слабо чутливою до

цефтріаксону, цефепіму і аміноглікозидів. Серед *Pseudomonas spp* виявлено 3 панрезистентні штами.

Мало місце і розширення серед збудників ІПНМД видового спектру ентеробактерій за домінування ешерихій (13.2%). Так, крім *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumonia,* висівалися і представники видів *Klebsiella pneumoniae subsp. Ozaenae, Klebsiella oxytoca* та інші клебсієли. Близьким до роду *Klebsiella* вперше виявлений в Україні штам *Raoultella terrigena* (2 клінічні випадки).Чинник інфекції в обох випадках виділено від пацієнток молодого віку з обтяженим анамнезом на 5-ту та 8-му добу стаціонарного лікування відповідно, які перебувала на штучній підтримці респіраторної активності, мали центральний венозний катетери. Збудник (*R. terrigena)* виділено з бронхіального секрету у кількості 10^6 КУО/мл та 10^7 КУО/мл. Ізоляти було проідентифіковано з допомогою біохімічних тест-систем, проведено секвенування їхніх геномів та складено кладограму для визначення місця *R. terrigena* у філогенетичному дереві *Enterobacteriaceae.* Виявляючи помірну чутливість лише до іміпенему, меронему, аміноглікозидів та колістину, культура утворювала біоплівкову структуру на пластиковій поверхні більшої щільності в порівнянні з референтним штамом. Хоча за даними наукової літератури ці бактерії виступають чутливими до амоксициліну, піперациліну, піперацилін-тазобактаму, цефалоспоринів 2-4 поколінь, карбапенемів, аміноглікозидів, триметопрім/сульфатметоксазолу та тігецикліну, виділені нами штами виявляюли помірну чутливість лише до іміпенему, меронему, аміноглікозидів та колістину. Очевидно, відбулося набуття плазмідних генів резистентності, як це описано для *Klebsiell*. Оскільки культура утворювала біоплівкову структуру на пластиковій поверхні більшої щільності в порівнянні з референтним штамом, виділена культура має високий потенціал спричинювати ІПНМД. Важливою особливістю раоултелли є наявність фімбрій 3-го типу, що свідчить про здатність прикріплюватися до пластикових поверхонь і персистувати в умовах лікарняного закладу, спричинюючи катетер-асоційовані інфекції. Зокрема *R. terrigena* було виділено з трубок пристрою для годування новонароджених. Рід *Raoultella* був відокремлений

від *Klebsiella* в 2001 році на основі аналізу послідовностей 16SpРНК та гена rpoβ. Однак труднощі з правильною ідентифікацією збудника все ще виникають, що може призвести до недооцінки його присутності та неточностей у визначенні його ролі в розвитку інфекційних процесів [142,215].

Особливості епідеміології (виділення культури від 2-х і більше осіб і зв'язок із термінами перебування у шпиталі) дали підставу одержані ізоляти віднести до збудників ІПНМД. Важливим аспектом вивчення було встановлення їхніх біологічних особливостей. Детально описані властивості збудника, оформлено паспорт і культуру задепоновано.

За результатами клініко-мікробіологічних досліджень іншого випадку виділено у значній кількості *Vibrio metschnikovii* (біля 10^8 КУО/мл) з фрагменту дакронового біфуркаційного аорто-стегнового протезу. *Vibrio metschnikovii* – рідкісний для організму людини патоген, як правило не має властивостей полірезистентності. Проте через невибагливість до умов перебування, значну поширеність в довкіллі може бути причиною інфікування (в тому числі штучних імплантатів) і в осіб з обтяженим анамнезом викликати інфекцію в окремих випадках з фатальним перебігом. Інтраопераційна мікробна контамінація та мікробна колонізація тромботичних мас є найчастішими причинами інфекції судинних протезів. Оскільки біохімічні властивості вібріона з характеризуються значною варіабельністю, для остаточної ідентифікації було використано молекулярно-генетичний метод. Виділена культура була чутливою до основних груп антибіотиків, крім оксациліну, цефепіму, цефтріаксону, тейкопланіну, фосфоміцину, офлоксацину. Бактерія має невисоку вірулентність, проте продукує гемолізин, має здатність продукувати цитотоксин, що є небезпечним на предмет його ерозивних властивостей та здатності брати участь у формуванні нориці.

Ізольовано культури *Achromobacter xylosoxidans* (№ LMU-147) та *Serratia marcescens* (№ LMU-48), які рідко визначаються як фактор ІПНМД в Україні На моделі білих мишей у двох дослідах було проведено дослідження їхньої вірулентності – після в/ч та перорального введення суспензії живих бактерій з

термінами спостереження 24 год і 14 діб. За результатами експериментальних досліджень виділені штами віднесено до IV класу патогенності, проте вони мають здатність до пенетрації у внутрішні органи, більшою мірою виражену для серрації. Досліджено на предмет вірулентності також ізолят *Candida utilis* (LMU-127). Його охарактеризовано як малопатогенний штам, що не має інвазивних властивостей [244,259].

При дослідженні клінічного матеріалу від хворих ВІТ незалежно від локалізації патологічного процесу встановлено превалювання грамнегативних мікроорганізмів. За даними центру моніторинга і контролю епідеміологічно важливих патогенів (SCOPE) у структурі НКІ грамнегативні бацили становлять лише 27.0% випадків, серед яких найчастіше виявляли синегнійну паличку. Проте, відповідно до висновків цього ж джерела, захворюваність на нозокоміальні інфекції залежить від типу лікарні або відділення інтенсивної терапії, популяції пацієнтів і застосування точного визначення (госпітальна інфекція, інфекція, набута в палаті інтенсивної терапії, нозокоміальна пневмонія і т. ін.). За даними, наведеними у відповідному огляді, найпоширенішими патогенами, які спричинюють нозокоміальну пневмонію, є грамнегативні бактерії: *P.aeruginosa, E.coli, K.pneumoniae* і бактерії роду *Acinetobacter*, що узгоджується із результатами нашого дослідження, оскільки відсоток грамнегативних мікрооргнізмів при інфекціях дихальних шляхів становив 70.2%, і дослідженні мокротиння грампозитивні мікроорганізми виявлено у 29.8% від загальної кількості зразків У 70.0% випадків захворювань шпитальну пневмонію пов'язують з *P.aeruginosa*, проте у нашому дослідженні даний відсоток не перевищував 15 % [248].

За результатами дослідження видового спектру інфекцій сечовидільного тракту в Україні, які можуть бути віднесені до шпитальних, грампозитивні мікроорганізми виявляли в 32.8 % випадків, в 67.2 % - грамнегативні. Відповідний характер розподілу мікроорганізмів – чинників шпитальних інфекцій при захворюваннях сечовидільної системи - встановлено також і за результатами

нашого дослідження, хоча домінування грамнегативної ланки становило 58.5%, а грампозитивної – 41.5%, від усіх досліджених зразків сечі.

Ізольовано лише 2 штами дріжджеподібних грибів *C.albicans* - 1 -з сечі та 1 зразок - з крові.

Домінуючим патогеном ІПНМД залишається синегнійна паличка. За відсотком висівання друге місце займають представники роду *Klebsiella*. Причому, основними видами вказаного роду є *K.pneumoniae, K.pneumoniae subsp.pneumonia* та *K.pneumoniae subsp.ozaenae*. Йдеться в першу чергу про інфекції сечовидільної системи та хірургічні інфекції. З 10 ізолятів кишкових паличок 9 виділено із сечі.

Серед представників грампозитивної мікробіоти домінують ентерококи (*Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium*), на частку яких за результатами наших досліджень припадає 41.3%. Вони є нормосимбіонтами травного каналу, меншою мірою представлені в інших біосистемах організму людини (зокрема сечо-генітального тракту) і через відносну стійкість в довкіллі, легко адаптуються до умов стаціонару і колонізують катетери, дренажні трубки, ендотрахеальні трубки тощо. Проте описано випадки участі його в розвитку патологічних процесів у людини, серед яких найбільш небезпечними є ванкоміцин-резистентні штами. За результатами наших досліджень ванкоміцин-резистентних штамів виявлено не було, проте вони характеризувалися вираженою стійкістю до β-лактамів (включно з оксациліном), фторхінолонів та макролідів за збереженої чутливості до лінезоліду.

На частку стафілококів за результатами наших досліджень припадало 48,6%. З 9 штамів *Staphylococcus aureus subsp. aureus*лише 2 культури виявилися *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).Наявність в 1 культури резистентності до усіх β-лактамів свідчить про наявність у них цинк-вмісних β-лактамаз, які не чутливі до інгібіторів. В іншого штама спостерігаємо β-лактамази функціональної TEM-1, TEM-2 и SHV-1, які, розщеплюючи пеніциліни, є менш активні відносно цефалоспоринів. Вказаний штам стійкий до кліндаміцину та азитроміцину. 1 штам продукував β-лактамази молекулярного класу С (тип AmpC),

які більш активно розщеплювали цефалоспорини, ніж пеніциліни. Виділена культура була стійка до аміноглікозидів, макролідів та лінкозамінів, що є свідченням плазмідно детермінованої здатності до метилування рибосомальної РНК.

Слід відмітити розширення видового спектру ізолятів при НКІ за рахунок менш вірулентних і атипових як для патогенів людського організму видів стафілококів. Зокрема, ізольовано також такий вид, як *Staphylococcus lugdunensis,* коагулазонегативний стафілокок, який може виявлятися у частини людей (близько 10%) як сапрофіт, що колонізує слизову носа, але й може спричинювати опортуністичні інфекції. До нормальних симбіонтів шкіри відноситься і *Staphylococcus simulans*,один штам якого виділено із сечі. Цікавим також є виявлення у зразку мокротиння *Aeromonas ichthiosmia*, оскільки донедавна вважалося, що він є патогеном тільки у риб .

Таким чином, спостерігається розширення видового спектру збудників опортуністичних інфекцій, що розвиваються при наданні медичної допомоги.

Індекс точності біохімічної ідентифікації культур становив >=95% (таксон дуже добре відрізняється від інших таксонів) або >=99% (таксон відмінно відрізняється від інших таксонів) для 87.4% ізолятів (n=270). ID>=90% (таксон задовільно відрізняється від інших таксонів) був для 9.4% (n=29) ізолятів, а для 3.2% ізолятів (n=10) %id<90% (таксон незадовільно відрізняється від інших таксонів).

Т індекс (Tin) – показує, наскільки близько профіль відповідає більшості типових реакцій даного таксона. Його величина варіює від 0 до 1 і обернено пропорційна кількості атипових тестів. 50.8% штамів (n=157) мали індекс атиповості 0.25-0.49, тобто дані штами можна охарактеризувати як атипові. 21.0% штамів (n=65) були «менш атиповими» (Tin 0.5-0.74). 28.2% ізолятів (n=87) мали типові біохімічні властивості (Tin >=0.75).

Є підстави вважати існування зв'язку між мінливістю (рекомбінантною або модифікаційною) мікроорганізмів – збудників ІПНМД та рівнем їх вірулентності, особливо, за умов тривалої персистенції в організмі людини.

Застосування декількох методів ідентифікації (традиційне дослідження біохімічних властивостей і застосування методики MALDI) дало змогу підтвердити саме лікарняне походження інфекції. Одержані результати узгоджуються з даними авторів.

За результатами дослідження чутливості до антибіотиків було встановлено, що серед псевдомонад 40 ізолятів *P.aeruginosa* були чутливими або помірно чутливими до колістину (87/5%), 3 ізоляти можуть вважатися панрезистентними – 1 штам *P.putida* і 2 штами *P.aeruginosa*. Дуже низький рівень чутливості до фторхінолонів, який становив для моксифлоксацину 10%, ципрофлоксацину 17.5% лище для левофлоксацину сягав 37/5%. Крім колістину, найбільш активними відносно *P.saeruginosa* були іміпенем та карбапенем, для яких частка чутливих штамів відповідно становила 57/5% і 55%, та піперацилін (42/5%), меншою мірою – тегіциклін 37/5%. Традиційно ефективні відносно псевдомонад аміноглікозиди виявили активність, що не перевищувала 42/5% для амікацину , тобраміцину 37/5%. Лише 7 штамів виявили чутливість до гентаміцину, що підтверджує шпитальне походження решти культур. Крім *P.aeruginosa* від хворих висівалися представники інших видів псевдомонад, які були чутливими до колістину, проте можуть бути віднесені до мультирезистентних штамів. *P.monteilii*, і *P.mendicola* виявляли чутливість до піперациліну, а *P.azyzihabitans* піперациліну, меронему, карбапенему та слабо чутливим до аміноглікозидів та тегіцикліну.

За результатами дослідження білплівкоутворюючих властивостей бактерійних культур, виділених при ІПНМД, встановлено, що культури стафілококів, продукуючи в'язку біомасу, при дослідженні *in vitro* здатні формувати біоплівку вже через 12 год. щільністю 0/35±0/02 ОЩ, а добовий показник становив становив 0,40±0,03, що корелювало з плівкоутворювальним процесом стандартного штаму стафілокока *S. aureus* ATCC 25923 (F-49) і значно перевищувало показники

щільності біоплівки референтного неплівкоутворювального штаму *S.aureus* ATCC 12228 (планктонна форма)

Дослідження поетапного утворення біоплівки *R.terrigena* з допомогою спектрофотометричного вимірювання щільності структури засвідчило визрівання біоплівки на 12 год з показником 0.36±0.10 ОЩ та на 24 год – 0.45±0.15. Застосування DIC-та флуоресцентної мікроскопії дало змогу зафіксувати відсоток задіяних до біоплівки мікробних клітин впродовж 12 – 24 год для стафілококу – від 29 до 77%, а для *R.terrigena* – від 31 до 86%, що свідчить про більш високу інтенсивність біоплівкоутворювального процесу роуотелою, ніж золотистим стафілококом.

Виділені при ІПНМД мультирезистентні і панрезистентні культури бактерій слугували моделлю для дослідження протимікробної активності похідних 4-тіазолідинонів– перспективних сполук з поліфармакологічним ефектом. За результатами скринінгового дослідження 22 сполуки виявлено різний рівень протимікробної активності відносно стандартних штамів *E.coli, S.aureus* та *Candida albicans* і відповідно до встановленої МІК становило близько 50 мкг. Окремі сполуки (3 і 4) виявляли більш виражений протигрибковий ефект як проти дріжджеподібних грибів, так і проти *Aspergillus* без помітної дії на бактеріальні клітини. Сполука 5 виявляла більшою мірою ефективність відносно тестованих бактерійних як грампозитивних, так і грамнегативних культур.

Використання клінічних ізолятів продемонструвало активність сполук 3-6 на рівні МІК 00-50 мкг при розчиненні хімічних зразків у бульйоні. Помірну протигрибкову дію виявлено у сполуки 3 та виражену активність на рівні 25 мкг/мл відносно ешерихій та ентерококу.

На основі SAR -аналізу встановлено, що активність сполук 3-6 залежить від заміщення С-5 іN-3 позиції 2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one (rhodanine) ядра.5-енергоданін-3-пропанова кислота 3 з фрагментом індол-3-ілметилену в молекулі виявляла еквівалентну протимікробну активність до свого ефіру 4. Похідне 5 із замісником етанілсульфонових кислот ядра роданіну при N-3 та індол-3-

ілметилену фрагмент при С-5 був найбільш активним і продемонстрував хороший ефект проти всіх досліджуваних бактерій з МІК 25 мкг/мл. Введення фрагмента індол-6-ілметилену в позицію С-5 роданін-3-пропанової кислоти призводить до втрати антибактеріальної та протигрибкової активності. Особливо перспективним є те, що сполук 3 і 5 виявили біль виражений ефект на клінічні штами *P.aeruginosa* в порівнянні з активністю відносно референтних штамів.

Аналізуючи дію сполук 3 і 4 (3-[5-(1Н-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота та 3-[5-(1Н-індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанової кислоти метиловий ефір) слід відмітити їхню помірну ефективність відносно референтного штаму *S.aureus* за відсутності ефекту на клінічні ізоляти стафілококу та ентерококу. Натомість сполука 5 (2-[5-(1Н-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-етансульфонова кислота) мала виражену на стандартний, і ще більш виражену дію на клінічні ізоляти *S.aureus, Staphylococcus lugnuniensis* (вид стафілококу, що рідко висівається з організму людини) та ентерокок. Дія на клінічні ізоляти грибів в основному достовірно не відрізнялася або незначно була нижчою за активність відносно референтних культур. Причому, сполуки 5 і 6 (2-[5-(1Н-Індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-етансульфонова кислота та 3-[5-(1Н-Індол-6-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота) не виявляли жодного ефекту на клінічні ізоляти *C.albicans* та *Candida dubliniens,* а також *Aspergillus niger.* Отже активність сполук 3-6 розділилася за МІК для бактерій та грибів. Сполуки 3 і 4 були значно активніші відносно грибів. МІК для речовини 3 становила 25 мкг/мл, а для сполуки 4 – 50 мкг/мл Сполуки 5 і 6 були ефективні для бактерій з МІК відповідно 25 і 50 мкг/мл (як для стафілококу, так і для ешерихій).

Гостра токсичность сполук похідних 4-тіазолідинонів для речовин 3 -6 коливалася у межах 900.0 ± 57.0 (сполука 6) - 1050.6 ± 67.5 (сполука 5), що свідчить про їхню малу токсичність і можливість впровадженння у практику.

За показниками впливу на склад периферичної крові мурчаків за умов шкірних аплікацій сполука-лідер похідної 4-тіазолідинонів (3-[5-(1Н-Індол-3-ілметилен)-4-

оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-пропанова кислота) спричинювала зростання кількості еозинофілів (на 21.76 %) та моноцитів (на 52.09 %).

Зафіксовано відносне та абсолютне зростання кількості лімфоцитів на тлі зниження процентного вмісту нейтрофільних гранулоцитів. Дослідження впливу речовини на клітинний імунітет засвідчив активацію Т-лімфоцитів CD3 (на 21.46 %) та абсолютної кількості Т-супресорів CD8 (на 27.15 %,) на тлі зменшення відносної кількості NK-клітин CD16 (на 11.57 %) та В-лімфоцитів CD22 на (23.08 %). Зафіксовано зниження імунорегуляторного індексу (CD4/CD8)від 1.56±0.08 у контролі до 1.43±0.05 в досліді.

При дослідженні активності фагоцитозу, що характеризує здатність організму протидіяти інфекції за умов впливу препарату, мало місце достовірне зростання фагоцитарного числа(у 4.4 рази) та фагоцитарного індекса (у 1.63 рази) на 120 хв за деякого зниження вказаних показників на 30 хв. Отже за результатами дослідження впливу сполуки-лідера похідної 4-тіазолідинонів на імунну систему встановлено певний вплив на клітинну ланку. Хоча зафіксовано зниження регуляторного індекса (показник недостовірний), на загал мало місце зростання активності макрофагальної фагоцитарної системи. Результати цитокінового профілю засвідчили деяке зниження кількості прозапальних IL-2 та TNF- α, які продукуються Th1, і стимулюють процеси клітинногот імунітету. Імунна відповідь натомість буде регулюватися деяким підвищенням IL-6.

На тлі достовірного зниження рівнів імуноглобулінів IgA,IgM на 21.43 та 12.73% мало місце зростання кількості IgG (на 21.18%).

Таким чином, досліджена сполука має відповідний вплив на імунну систему з помірним протизапальним ефектом. Специфічний вплив на продукцію окремих класів імуноглобулінів потребує подальшого вивчення.

Виявлені ефекти, які поєднуються з протимікробною активністю, вказують на перспективність подальшого дослідження «лікоподібної молекули» з політаргетною дією.

Приведений в дисертаційній роботі аналіз поширення ІПНМД, 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 ІПНМД з потенційно небажаними наслідками для здоров’я населення.

ВИСНОВКИ

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 характеристика рідкісних збудників ІПНМД, а також пошук, синтез, скринінг нових хімічних сполук з протимікробною та протигрибковою дією з метою впровадження нових прототипів протимікробних лікарських засобів.

1. Рівень захворюваності ІПНМД в Україні за результатами аналізу офіційних даних, за період 2009-2020 рр. є значно недооціненим, оскільки становить менше як 0.1% прогнозованих реальних рівнів захворюваності на ІПНМД (в середньому на рік було реєстровано близько 7 000 випадків ІПНМД). У Львівській області кількість зареєстрованих випадків ІПНМД в абсолютних числах протягом 2010-2020 рр становила 29.2±3 випадки.

Вікова та статева структури пацієнтів з ІПНМД відповідає світовим тенденціям (46.8% становили чоловіки та 53.2% - жінки; 24.9% становили діти, 64.9% - люди віком 18-60 років, та 10.2% - люди похилого віку >60 років). Найчастішими нозологіями були ІДШ (36.6%) та ІСВШ (34.1%).

2. Видовий спектр основних збудників суттєво не відрізнявся від типового видового спектру збудників ІПНМД з незначним домінуванням грамнегативних чинників (51.5%) та включав як класичні патогени – в першу чергу *Pseudomonas* (16.2%) та *Staphylococcus* (16.8%). На частку грибів припадало 16.8% від загальної кількості збудників з превалюванням *Candida non-albicans* (6.5%). Проте спектр бактерійних чинників розширений за рахунок маловірулентних видів, які характеризуються як симбіонти як людського організму, так і тварин *Staphylococcus simulans, Staphylococcus lugdunensis, Aerococcus viridans, Pragia fontium*, можуть виділятися із питної води та морепродуктів (*Vibrio metschnikovii,*

Aeromonas ichthiosmia), об'єктів довкілля (*Raoultella terrigena*), харчових продуктів тваринного походження (*Macrococcus caseolyticus*).

3. Вперше в Україні ізольовано представників видів, що рідко виявляються в клінічному матеріалі організму людини – *Raoultella terrigena* та *Vibrio metschnikovii*. Показано, що ізолят *R.terrigena* має плівкоутворювальні властивості, більшою мірою виражені в порівнянні з стандартним штамом, і швидкість формування плівки перевищує швидкість утворення плівки на пластиковій поверхні стафілококами, що є потенційним фактором колонізації медичних девайсів полімерної природи. Для *Vibrio metchikovii,* показано як один з імовірних шляхів інфікування інтраопераційна контамінація судинних протезів.

4. Серед ізолятів чинників ІПНМД на частку поліантибіотикорезистентних (MDR) припадало 62.8%. 3 штами віднесено до панантибіотикорезистентних (PDR): 2 - *P.putida* та 1 – *P.aeruginosa*. 33.8% досліджених ентеробактерій продукували ESBL. Усі бактерійні ізоляти - продуценти OXA-48 (83.9%) віднесено до MDR-штамів. Фенотипово 31.1% (14 штамів) ізолятів *Enterococcus faecium* були стійкими до ванкоміцину, у 13 ізолятів виявлено гени *Van A* та *Van B* та в 1-го ізоляту ген *Van B*.

5. *Achromobacter xylosoxidans* (№ LMU-147) та *Serratia marcescens* (№ LMU-48), для яких доведено їхню роль у спричиненні ІПНМД, за результатами експериментального дослідження віднесено до IV класу патогенності із здатністю до транслокації у внутрішні органи, більшою мірою виражену для серрації.

6. За результатами біохімічної ідентифікації клінічних ізолятів патогенів ID-score становив >=95% для 87.4% досліджених штамів. Для 9.4% ізолятів ID-score становив 90-95%, а для решти (3.2%) менше 90% (таксон незадовільно відрізняється від інших). Для 50.8% штамів встановлено атиповість (індекс антиповості 0.25-0.49), що вказує на потребу застосування додаткових методів ідентифікації для визначення чинника ІПНМД.

7. Для підвищення точності ідентифікації та підтвердження патогенної ролі окремого ізолята, як чинника ІПНМД, доцільно застосовувати PCA (на основі

MALDI-TOF), що доведено для 17 ізолятів *Klebsiella spp.*, та RAPD-PCR. Оптимізація мікробіологічної діагностики ІПНМД, спричинених слабоферментуючими грамнегативними паличками (60.5% усіх грамнегативних ізолятів) потребує застосування комплексу вказаних методів.

8. Нові похідні 4-тіазолідинонів, зокрема похідні 3-6 індолілметиленергоданін-3-пропанової/етансульфоновоїкислоти, синтезовані з відповідних роданін-3-пропанової/ етансульфонової кислот та індолекарбальдегідів проявляють високу активність щодо грибів роду *Candida* з високим ступенем стійкості щодо існуючих протигрибкових засобів, що є перспективним для розробки нової «лікоподібної молекули» з протигрибковою дією (MIC <25 мкг/мл). Досліджено вплив новосинтезованої похідної 3-[5-(1*H*-індол-3-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-пропіонової кислоти на імунну систему *in vivo*. Встановлено відсутність імунотоксичного та алергенного впливів, з помірним протизапальним ефектом. Вплив на імунну систему супроводжувався активацією макрофагально-фагоцитарної системи, зниженням рівня IL-2 TNF-α та IgA на 21.4% на тлі зростання IgG на 21.2%.

9. Новосинтезована похідна 7-(3,4-Диметоксифеніл)-5-метил-3H-тіазоло[4,5-b]піридин-2-он проявила вибіркову активність щодо грамнегативних мікроорганізмів (*E.coli; Pseudomonas aeruginosa;* МІК <62.5 мкг/мл). Методом молекулярного докінгу було встановлено схожість констант (показними зв’язування з обраними білковими мішенями) досліджуваної сполуки до відповідних показників ципрофлоксацину, що підтверджує потенційну афінність до ДНК-гірази. Речовини з виявленими ефектами є перспективними для подальшого дослідження та впровадження «лікоподібної молекули» з політаргетною дією, активних щодо збудників ІПНМД та як короткостроковий спосіб боротьби з антимікробною резистентністю.

ПОДЯКИ

Висловлюємо подяку Alicja Sękowska та проф. Eugenia Gospodarek-Komkowska, з кафедри мікробіології, Колегіуму Медичного імені Людвіка Ридигера в Бидгощі, Університет Миколая Коперника в Тору, Польща, за допомогу в роботі з MALDI-TOF, а також проведенні PCA, RAPD аналізі, допомогу з необхідними реактивами.

Висловлюємо вдячність Федерації європейських мікробіологічних товариств (FEMS). Цей проект був частиною гранту на дослідження та навчання FEMS (FEMS-GO-2020-195).

Висловлюю подяку доц. Лозинському Андрію Володимировичу та проф. Лесику Роману Богдановичу, працівникам кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького за синтез похідних 4-тіазолідинонів, підтримку в підготовці рукописів, та всебічну підтримку у формуванні мене, як науковця.

Висловлюємо подяку працівникам компанії «Експлоджен» за допомогу в проведенні молекулярно-генетичних досліджень, а також колективу кафедри генетики та біотехнології ЛНУ імені Івана Франка за допомогу в участі спільних наукових проєктах.

Висловлюємо вдячність працівникам Центральної науково-дослідної лабораторії та лабораторії промислової токсикології та віварію ЛНМУ імені Данила Галицького за допомогу з проведенням експериментальних досліджень на тваринах.

Висловлюємо подяку Національному фонду досліджень України за підтримку молодого науковця шляхом оголошення та проведення Конкурсу “Підтримка досліджень провідних та молодих учених”.

Висловлюю підтримку колективу кафедри мікробіології ЛНМУ імені Данила Галицького, особливо доц. Шикулі Р.Г., Тимчук І.В., Лаврик Г.С. за підтримку в проведенні дослідження.

Висловлюю вдячність доценту кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, Інститут хімії та хімічних технологій, Національний університет «Львівська політехніка» Конечній Р.Т. за всебічну консультативну підтримку та за переклад анотації польською мовою.

Висловлюю подяку своєму науковому керівнику, проф. Корнійчук Олені Петрівні, за участь у формуванні мене, як науковця, та за всебічну підтримку з написанням рукопису дисертації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Cassini A, Plachouras D, Eckmanns T, Abu Sin M, Blank H-P, Ducomble T, et al. Burden of Six Healthcare-Associated Infections on European Population Health: Estimating Incidence-Based Disability-Adjusted Life Years through a Population Prevalence-Based Modelling Study. Harbarth S, editor. PLOS Med [Internet]. 2016 Oct 18;13(10):e1002150. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pmed.1002150
2. Vincent J-L. Nosocomial infections in adult intensive-care units. Lancet [Internet]. 2003 Jun;361(9374):2068–77. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673603136446
3. WHO. Healthcare-associated infections. Fact Sheet. [Internet]. 2018. Available from: https://www.who.int/gpsc/country_work/gpsc_ccisc_fact_sheet_en.pdf
4. Порядок здійснення епідеміологічного нагляду та ведення обліку інфекційних хвороб, пов’язаних з наданням медичної допомоги [Internet]. МОЗ України. 2021. Available from: https://moz.gov.ua/uploads/3/18792-pro_20200212_1_dod_1.pdf
5. Salmanov AG, Slepova LF, Verner OM, Yarema TP, Riabokon PV. ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF PATHOGENS OF HEALTHCARE-ASSOCIATED INFECTIONS IN SURGERY AND INTENSIVE CARE UNITS. Int J Antibiot Probiotics [Internet]. 2018 Sep 17;2(2–3):41–9. Available from: https://antibiotic-probiotic.org.ua/index.php/journal/article/view/29
6. Jenks J. Antibiotic resistance needs global solutions. Lancet Infect Dis [Internet]. 2014 Jul;14(7):550. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24964939
7. Lakoh S, Li L, Sevalie S, Guo X, Adekanmbi O, Yang G, et al. Antibiotic resistance in patients with clinical features of healthcare-associated infections in an urban tertiary hospital in Sierra Leone: a cross-sectional study. Antimicrob Resist Infect Control [Internet]. 2020 Dec 22;9(1):38. Available from:

https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-020-0701-5

8. Collins AS. Preventing Health Care–Associated Infections. In: Patient Safety and Quality: An Evidence-Based Handbook for Nurses [Internet]. 2008. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2683/
9. Revelas A. Healthcare - associated infections: A public health problem. Niger Med J [Internet]. 2012 Apr;53(2):59–64. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23271847
10. Brennan TA. Incidence of adverse events and negligence in hospitalized patients: results of the Harvard Medical Practice Study I. Qual Saf Heal Care [Internet]. 2004 Apr 1;13(2):145–51. Available from: https://qualitysafety.bmj.com/lookup/doi/10.1136/qshc.2002.003822
11. Leape LL, Brennan TA, Laird N, Lawthers AG, Localio AR, Barnes BA, et al. The Nature of Adverse Events in Hospitalized Patients. N Engl J Med [Internet]. 1991 Feb 7;324(6):377–84. Available from: http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199102073240605
12. Garrouste-Orgeas M, Philippart F, Bruel C, Max A, Lau N, Misset B. Overview of medical errors and adverse events. Ann Intensive Care [Internet]. 2012 Dec 16;2(1):2. Available from: https://annalsofintensivecare.springeropen.com/articles/10.1186/2110-5820-2-2
13. Parameswaran Nair N, Chalmers L, Peterson GM, Bereznicki BJ, Castelino RL, Bereznicki LR. Hospitalization in older patients due to adverse drug reactions -the need for a prediction tool. Clin Interv Aging [Internet]. 2016;11:497–505. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27194906
14. Klevens RM, Edwards JR, Richards CL, Horan TC, Gaynes RP, Pollock DA, et al. Estimating Health Care-Associated Infections and Deaths in U.S. Hospitals, 2002. Public Health Rep [Internet]. 2007 Mar 2;122(2):160–6. Available from: http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/003335490712200205
15. Agency for Healthcare Research and Quality. Patient safety primers: healthcare-associated infections [Internet]. 2018. Available from:

https://www.ahrq.gov/professionals/quality-patient-safety/patient-safety-resources/resources/hais/index.html

16. Danasekaran R, Mani G AK. Prevention of healthcareassociated infections: protecting patients, saving lives. Int J Community Med Public Heal [Internet]. 2014;1(1):67–8. Available from: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/sea-175451
17. WHO. The Global Patient Safety Challenge 2005–2006 “Clean Care is Safer Care.” Geneva: WHO; 2005. 2018; Available from: https://www.who.int/infection-prevention/
18. Kim JM, Park ES, Jeong JS, Kim KM, Kim JM, Oh HS, et al. Multicenter surveillance study for nosocomial infections in major hospitals in Korea. Am J Infect Control [Internet]. 2000 Dec;28(6):454–8. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655300534956
19. Nuvials X, Palomar M, Alvarez-Lerma F, Olaechea P, Otero S, Uriona S, et al. Health-care associated infections. Patient characteristics and influence on the clinical outcome of patients admitted to icu. envin-helics registry data. Intensive Care Med Exp [Internet]. 2015 Dec 1;3(S1):A82. Available from: https://icm-experimental.springeropen.com/articles/10.1186/2197-425X-3-S1-A82
20. Klavs I, Bufon Lužnik T, Škerl M, Grgič-Vitek M, Lejko Zupanc T, Dolinšek M, et al. Prevalance of and risk factors for hospital-acquired infections in Slovenia—results of the first national survey, 2001. J Hosp Infect [Internet]. 2003 Jun;54(2):149–57. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670103001129
21. Eriksen HM, Iversen BG, Aavitsland P. Prevalence of nosocomial infections in hospitals in Norway, 2002 and 2003. J Hosp Infect [Internet]. 2005 May;60(1):40–5. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670104004712
22. Prevalence of nosocomial infections in France: results of the nationwide survey in 1996. J Hosp Infect [Internet]. 2000 Nov;46(3):186–93. Available from:

https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670100908338

23. Gikas A, Pediaditis J, Papadakis JA, Starakis J, Levidiotou S, Nikolaides P, et al. Prevalence study of hospital-acquired infections in 14 Greek hospitals: planning from the local to the national surveillance level. J Hosp Infect [Internet]. 2002 Apr;50(4):269–75. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670102911813
24. Pietrantonj C Di, Ferrara L, Lomolino G. Multicenter Study of the Prevalence of Nosocomial Infections in Italian Hospitals. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2004 Jan 2;25(1):85–7. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0195941700076918/type/journal_article
25. Emmerson AM, Enstone JE, Griffin M, Kelsey MC, Smyth ETM. The Second National Prevalence Survey of Infection in Hospitals—overview of the results. J Hosp Infect [Internet]. 1996 Mar;32(3):175–90. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670196901449
26. McLaws M-L, Taylor PC. The Hospital Infection Standardised Surveillance (HISS) programme: analysis of a two-year pilot. J Hosp Infect [Internet]. 2003 Apr;53(4):259–67. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670102913617
27. Sikora A, Zahra F. Nosocomial Infections [Internet]. StatPearls. 2021. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32644738
28. Johnson NB, Hayes LD, Brown K, Hoo EC, Ethier KA, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). CDC National Health Report: leading causes of morbidity and mortality and associated behavioral risk and protective factors--United States, 2005-2013. MMWR Suppl [Internet]. 2014 Oct 31;63(4):3–27. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25356673
29. McDermid RC, Stelfox HT, Bagshaw SM. Frailty in the critically ill: a novel concept. Crit Care [Internet]. 2011;15(1):301. Available from: http://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc9297

30. Chernow B. Variables Affecting Outcome in Critically Ill Patients. Chest [Internet]. 1999 May;115(5):71S-76S. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012369215385263
31. Sokol D. A guide to the Hippocratic Oath [Internet]. BBC. 2008. Available from: http://news.bbc.co.uk/2/hi/7654432.stm
32. Beveridge W. The art of scientific investigation. In: WW Norton & Company, New York [Internet]. 1957. Available from: https://ia801808.us.archive.org/4/items/artofscientifici00beve/artofscientifici00beve.pdf
33. McCannon CJ, Berwick DM, Massoud MR. The Science of Large-Scale Change in Global Health. JAMA [Internet]. 2007 Oct 24;298(16):1937. Available from: http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.298.16.1937
34. McCannon CJ, Hackbarth AD, Griffin FA. Miles to Go: An Introduction to the 5 Million Lives Campaign. Jt Comm J Qual Patient Saf [Internet]. 2007 Aug;33(8):477–84. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1553725007330511
35. Quote J, Brainy B. No Title [Internet]. 2018. Available from: https://www.brainyquote.com/quotes/janine_benyus_560643
36. NOAKES TD, BORRESEN J, HEW-BUTLER T, LAMBERT MI, JORDAAN E. Semmelweis and the aetiology of puerperal sepsis 160 years on: an historical review. Epidemiol Infect [Internet]. 2008 Jan 7;136(1):1–9. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268807008746/type/journal_article
37. Sydnor ERM, Perl TM. Hospital Epidemiology and Infection Control in Acute-Care Settings. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2011 Jan;24(1):141–73. Available from: https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00027-10
38. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. N Engl J Med [Internet]. 2014 Mar 27;370(13):1198–208. Available from:

http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1306801

39. Haque M, Sartelli M, McKimm J, Abu Bakar M Bin. Health care-associated infections – an overview. Infect Drug Resist [Internet]. 2018 Nov;Volume 11:2321–33. Available from: https://www.dovepress.com/health-care-associated-infections-an-overview-peer-reviewed-article-IDR
40. Magill SS, O'Leary E, Janelle SJ, Thompson DL, Dumyati G, Nadle J, et al. Changes in Prevalence of Health Care–Associated Infections in U.S. Hospitals. N Engl J Med [Internet]. 2018 Nov;379(18):1732–44. Available from: http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1801550
41. Cai Y, Venkatachalam I, Tee NW, Tan TY, Kurup A, Wong SY, et al. Prevalence of Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Among Adult Inpatients in Singapore Acute-Care Hospitals: Results From the First National Point Prevalence Survey. Clin Infect Dis [Internet]. 2017 May 15;64(suppl_2):S61–7. Available from: http://academic.oup.com/cid/article/64/suppl_2/S61/3782673/Prevalence-of-HealthcareAssociated-Infections-and
42. Kritsotakis E, Kontopidou F, Astrinaki E, Roumbelaki M, Ioannidou E, Gikas A. Prevalence, incidence burden, and clinical impact of healthcare-associated infections and antimicrobial resistance: a national prevalent cohort study in acute care hospitals in Greece. Infect Drug Resist [Internet]. 2017 Oct;Volume 10:317–28. Available from: https://www.dovepress.com/prevalence-incidence-burden-and-clinical-impact-of-healthcare-associat-peer-reviewed-article-IDR
43. Ling ML, Apisarnthanarak A, Madriaga G. The Burden of Healthcare-Associated Infections in Southeast Asia: A Systematic Literature Review and Meta-analysis. Clin Infect Dis [Internet]. 2015 Jun 1;60(11):1690–9. Available from: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/civ095
44. Askarian M, Yadollahi M, Assadian O. Point prevalence and risk factors of hospital acquired infections in a cluster of university-affiliated hospitals in Shiraz, Iran. J Infect Public Health [Internet]. 2012 Apr;5(2):169–76. Available from:

https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1876034112000081

45. Tagoe D, Desbordes K. Investigating potential sources of transmission of healthcare-associated infections in a regional hospital, Ghana. Int J Appl Basic Med Res [Internet]. 2012;2(1):20. Available from: http://www.ijabmr.org/text.asp?2012/2/1/20/96796
46. Haque M, Sartelli M, McKimm J, Abu Bakar M. Health care-associated infections - an overview. Infect Drug Resist [Internet]. 2018;11:2321–33. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30532565
47. Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. Biomed Res Int [Internet]. 2016;2016:1–8. Available from: http://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/2475067/
48. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, et al. Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis [Internet]. 2009 Jul 1;49(1):1–45. Available from: https://academic.oup.com/cid/article/49/1/1/369414
49. Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, Schneider A, Patel J, Srinivasan A, et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated with Healthcare-Associated Infections Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2013 Jan 2;34(1):1–14. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0195941700031921/type/journal_article
50. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis [Internet]. 2009 Jan;48(1):1–12. Available from: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/595011
51. Kilpatrick C, Allegranzi B, Pittet D. WHO First Global Patient Safety Challenge: Clean Care is Safer Care, Contributing to the training of health-care workers

around the globe. Int J Infect Control [Internet]. 2011 Mar 15;7(2). Available from: http://www.ijic.info/article/view/6515

52. Amin AN, Deruelle D. Healthcare-associated infections, infection control and the potential of new antibiotics in development in the USA. Future Microbiol [Internet]. 2015 Jun;10(6):1049–62. Available from: https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fmb.15.33
53. Galani I, Souli M, Daikos GL, Chrysouli Z, Poulakou G, Psichogiou M, et al. Activity of Plazomicin (ACHN-490) against MDR clinical isolates of Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli , and Enterobacter spp. from Athens, Greece. J Chemother [Internet]. 2012 Aug 12;24(4):191–4. Available from: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/1973947812Y.0000000015
54. Landman D, Kelly P, Backer M, Babu E, Shah N, Bratu S, et al. Antimicrobial activity of a novel aminoglycoside, ACHN-490, against Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa from New York City. J Antimicrob Chemother [Internet]. 2011 Feb 1;66(2):332–4. Available from: https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkq459
55. Cass RT, Brooks CD, Havrilla NA, Tack KJ, Borin MT, Young D, et al. Pharmacokinetics and Safety of Single and Multiple Doses of ACHN-490 Injection Administered Intravenously in Healthy Subjects. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2011 Dec;55(12):5874–80. Available from: https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.00624-11
56. Kumari J, Shenoy SM, Baliga S, M. C, Bhat GK. Healthcare-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: Clinical characteristics and antibiotic resistance profile with emphasis on macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance. Sultan Qaboos Univ Med J [Internet]. 2016 May 15;16(2):e175-181. Available from: https://journals.squ.edu.om/index.php/squmj/article/viewFile/2133/2079
57. Zhang X-L, Li. F. Combined Use of Antibiotics as a Risk Factor for Health Care–Associated Infections: A Case-Control Study. Res Sq [Internet]. 2020; Available

from: https://assets.researchsquare.com/files/rs-116657/v1/45903771-3e03-496f-a547-7e6be8163739.pdf?c=1607533864

58. Khan HA, Baig FK, Mehboob R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. Asian Pac J Trop Biomed [Internet]. 2017 May;7(5):478–82. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2221169116309509
59. Joshi SG. Acinetobacter baumannii : An emerging pathogenic threat to public health. World J Clin Infect Dis [Internet]. 2013;3(3):25. Available from: http://www.wjgnet.com/2220-3176/full/v3/i3/25.htm
60. Kiersnowska Z, Lemiech-Mirowska E, Ginter-Kramarczyk D, Kruszelnicka I, Michałkiewicz M, Marczak M. Problems of Clostridium difficile infection (CDI) in Polish healthcare units. Ann Agric Environ Med [Internet]. 2021 Jun 14;28(2):224–30. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34184502
61. CDC. Diseases and organisms in healthcare settings. Healthcareassociated infections (HAIs). Atlanta, Georgia [Internet]. CDC. 2016. Available from: https://www.cdc.gov/hai/organisms/organisms.html
62. Weiner LM, Webb AK, Limbago B, Dudeck MA, Patel J, Kallen AJ, et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2016 Nov 30;37(11):1288–301. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0899823X16001744/type/journal_article
63. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Annual Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2008 Nov 2;29(11):996–1011. Available

from:
https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S019594170002703X/type/journal_article

64. Messina AF, Berman DM, Ghazarian SR, Patel R, Neustadt J, Hahn G, et al. The Management and Outcome of Spinal Implant-related Infections in Pediatric Patients. Pediatr Infect Dis J [Internet]. 2014 Jul;33(7):720–3. Available from: https://journals.lww.com/00006454-201407000-00010
65. Parajuli NP, Acharya SP, Mishra SK, Parajuli K, Rijal BP, Pokhrel BM. High burden of antimicrobial resistance among gram negative bacteria causing healthcare associated infections in a critical care unit of Nepal. Antimicrob Resist Infect Control [Internet]. 2017 Dec 15;6(1):67. Available from: http://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-017-0222-z
66. Banerjee T, Mishra A, Das A, Sharma S, Barman H, Yadav G. High Prevalence and Endemicity of Multidrug Resistant Acinetobacter spp. in Intensive Care Unit of a Tertiary Care Hospital, Varanasi, India. J Pathog [Internet]. 2018 Jul 2;2018:1–8. Available from: https://www.hindawi.com/journals/jpath/2018/9129083/
67. Aitken C, Jeffries DJ. Nosocomial Spread of Viral Disease. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2001 Jul;14(3):528–46. Available from: https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.14.3.528-546.2001
68. Ducel, G. ; Fabry, J. ; Nicolle L. Prevention of hospital acquired infections: a practical guide [Internet]. 2002. Available from: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20043205361
69. Cristina ML, Spagnolo AM, Giribone L, Demartini A, Sartini M. Epidemiology and Prevention of Healthcare-Associated Infections in Geriatric Patients: A Narrative Review. Int J Environ Res Public Health [Internet]. 2021;18(10). Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34067797
70. Surveillance and Prevention of healthcare associated infections [Internet]. French Society for Hospital Hygiene; 2010. Available from:

https://www.eunetips.eu/fileadmin/pdf/spi.fr.france_surveillance_and_prevention_of_healthcare-associated_infections.pdf

71. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Types of Healthcareassociated Infections [Internet]. U.S. Department of Health & Human Services. Available from: https://www.cdc.gov/hai/infectiontypes.html
72. USCDC. Surgical Site Infection (SSI) Event; 2018 [Internet]. Available from: https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/9pscssicurrent.pdf
73. ECDC. Annual Epidemiological Report 2013 [2011 data] [Internet]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/annual-epidemiological-report-2013-2011-data
74. Blot SI, Depuydt P, Annemans L, Benoit D, Hoste E, De Waele JJ, et al. Clinical and Economic Outcomes in Critically Ill Patients with Nosocomial Catheter-Related Bloodstream Infections. Clin Infect Dis [Internet]. 2005 Dec 1;41(11):1591–8. Available from: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/497833
75. Saint S, Veenstra DL, Lipsky BA. The Clinical and Economic Consequences of Nosocomial Central Venous Catheter-Related Infection: Are Antimicrobial Catheters Useful? Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2000 Jun 2;21(6):375–80. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0195941700042454/type/journal_article
76. Vital Signs: Central Line–Associated Blood Stream Infections—United States, 2001, 2008, and 2009. Ann Emerg Med [Internet]. 2011 Nov;58(5):447–50. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196064411014077
77. ATİLLA A, DOĞANAY Z, KEFELİ ÇELİK H, DEMİRAĞ MD, KILIÇ SS. Central line-associated blood stream infections: characteristics and risk factors for mortality over a 5.5-year period. TURKISH J Med Sci [Internet]. 2017;47:646–52. Available from: http://online.journals.tubitak.gov.tr/openDoiPdf.htm?mKodu=sag-1511-29

78. Lin K-Y, Cheng A, Chang Y-C, Hung M-C, Wang J-T, Sheng W-H, et al. Central line-associated bloodstream infections among critically-ill patients in the era of bundle care. J Microbiol Immunol Infect [Internet]. 2017 Jun;50(3):339–48. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S168411821500804X
79. Advani S, Reich NG, Sengupta A, Gosey L, Milstone AM. Central Line-Associated Bloodstream Infection in Hospitalized Children with Peripherally Inserted Central Venous Catheters: Extending Risk Analyses Outside the Intensive Care Unit. Clin Infect Dis [Internet]. 2011 May 1;52(9):1108–15. Available from: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cir145
80. E. Patchen Dellinger. Surgical Site Infections. In: Elaine C. Jong, and Dennis L. Stevens, editors. [Internet]. Netter's Infectious Diseases 1st ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. 295–298 p. Available from: https://www.worldcat.org/title/netters-infectious-diseases/oclc/808341686
81. National and State Healthcare-Associated Infections Progress report is based on 2014 data; 2016 [Internet]. U.S. Department of Health & Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. Available from: https://www.cdc.gov/HAI/pdfs/progress-report/hai-progress-report.pdf
82. Hagel S, Ludewig K, Frosinski J, Hutagalung R, Porzelius C, Gastmeier P, et al. Nutzen eines krankenhausweiten Infektionspräventions-Programmes zur Reduktion nosokomialer Infektionen und assoziierter Sepsisfälle (ALERTS) - Methodik und Zwischenergebnisse. DMW - Dtsch Medizinische Wochenschrift [Internet]. 2013 Aug 9;138(34/35):1717–22. Available from: http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0033-1349481
83. Owens CD, Stoessel K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. J Hosp Infect [Internet]. 2008 Nov;70:3–10. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670108600171
84. Martin ET, Kaye KS, Knott C, Nguyen H, Santarossa M, Evans R, et al. Diabetes and Risk of Surgical Site Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2016 Jan 27;37(1):88–99. Available

from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0899823X15002494/type/journal_article

85. Horan TC, Gaynes RP, Martone WJ, Jarvis WR, Emori TG. CDC Definitions of Nosocomial Surgical Site Infections, 1992: A Modification of CDC Definitions of Surgical Wound Infections. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 1992 Oct 2;13(10):606–8. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0195941700015241/type/journal_article
86. Jodra VM, Soler LS de los T, Pérez CD-A, Requejo CMS, Farrás NP. Excess Length of Stay Attributable to Surgical Site Infection Following Hip Replacement: A Nested Case-Control Study. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2006 Dec 21;27(12):1299–303. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0899823X00197077/type/journal_article
87. Kusachi S, Kashimura N, Konishi T, Shimizu J, Kusunoki M, Oka M, et al. Length of Stay and Cost for Surgical Site Infection after Abdominal and Cardiac Surgery in Japanese Hospitals: Multi-Center Surveillance. Surg Infect (Larchmt) [Internet]. 2012 Aug;13(4):257–65. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/sur.2011.007
88. Tsai DM, Caterson EJ. Current preventive measures for health-care associated surgical site infections: a review. Patient Saf Surg [Internet]. 2014 Dec 11;8(1):42. Available from: http://pssjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13037-014-0042-5
89. Michalopoulos A, Geroulanos S, Rosmarakis ES, Falagas ME. Frequency, characteristics, and predictors of microbiologically documented nosocomial infections after cardiac surgery. Eur J Cardio-Thoracic Surg [Internet]. 2006 Apr;29(4):456–60. Available from: https://academic.oup.com/ejcts/article-lookup/doi/10.1016/j.ejcts.2005.12.035

90. Kollef MH, Sharpless L, Vlasnik J, Pasque C, Murphy D, Fraser VJ. The Impact of Nosocomial Infections on Patient Outcomes Following Cardiac Surgery. Chest [Internet]. 1997 Sep;112(3):666–75. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012369216317342
91. Joseph L, Jeanmonod R. Delayed Presentation of Deep Sternal Wound Infection. West J Emerg Med [Internet]. 2014;15(2):134–6. Available from: http://escholarship.org/uc/item/6zr9g7jc
92. Rupprecht L, Schmid C. Deep Sternal Wound Complications: An Overview of Old and new Therapeutic Options. Open J Cardiovasc Surg [Internet]. 2013 Jan 13;6:OJCS.S11199. Available from: http://journals.sagepub.com/doi/10.4137/OJCS.S11199
93. Hashemzadeh K, Hashemzadeh S. In-Hospital Outcomes of Delayed Sternal Closure after Open Cardiac Surgery. J Card Surg [Internet]. 2009 Jan;24(1):30–3. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1540-8191.2008.00745.x
94. Al-Mulhim FA, Baragbah MA, Sadat-Ali M, Alomran AS, Azam MQ. Prevalence of Surgical Site Infection in Orthopedic Surgery: A 5-year Analysis. Int Surg [Internet]. 2014 May 1;99(3):264–8. Available from: https://meridian.allenpress.com/international-surgery/article/99/3/264/115522/Prevalence-of-Surgical-Site-Infection-in
95. Spagnolo AM, Ottria G, Amicizia D, Perdelli F, Cristina ML. Operating theatre quality and prevention of surgical site infections. J Prev Med Hyg [Internet]. 2013 Sep;54(3):131–7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24783890
96. Cristina ML, Sartini M, Schinca E, Ottria G, Spagnolo AM. Operating room environment and surgical site infections in arthroplasty procedures. J Prev Med Hyg [Internet]. 2016;57(3):E142–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27980378
97. Li G, Guo F, Ou Y, Dong G, Zhou W. Epidemiology and outcomes of surgical

site infections following orthopedic surgery. Am J Infect Control [Internet]. 2013 Dec;41(12):1268–71. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655313008006

98. Watanabe A, Kohnoe S, Shimabukuro R, Yamanaka T, Iso Y, Baba H, et al. Risk factors associated with surgical site infection in upper and lower gastrointestinal surgery. Surg Today [Internet]. 2008 May 30;38(5):404–12. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s00595-007-3637-y
99. Smyth ETM, Emmerson AM. Surgical site infection surveillance. J Hosp Infect [Internet]. 2000 Jul;45(3):173–84. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670100907369
100. Aga E, Keinan-Boker L, Eithan A, Mais T, Rabinovich A, Nassar F. Surgical site infections after abdominal surgery: incidence and risk factors. A prospective cohort study. Infect Dis (Auckl) [Internet]. 2015 Nov 2;47(11):761–7. Available from: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/23744235.2015.1055587
101. Duerden B, Fry C, Johnson AP, Wilcox MH. The Control of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Blood Stream Infections in England. Open Forum Infect Dis [Internet]. 2015 Apr 1;2(2). Available from: https://academic.oup.com/ofid/article/doi/10.1093/ofid/ofv035/1411208
102. Cristea OM, Zlatian OM, Dinescu SN, Bălăşoiu AT, Avramescu C, Bălăşoiu M, et al. A Comparative Study on Antibiotic Resistance of Klebsiella Strains from Surgical and Intensive Care Wards. Curr Heal Sci J [Internet]. 42(2):169–79. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30568829
103. M. Patricia Jevons. “Celbenin” - resistant Staphylococci. Br Med J. 1961;1(5219):124–125.
104. Byrd KK, Holman RC, Bruce MG, Hennessy TW, Wenger JD, Bruden DL, et al. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus– Associated Hospitalizations among the American Indian and Alaska Native Population. Clin Infect Dis [Internet]. 2009 Oct;49(7):1009–15. Available from: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/605560

105. Cimolai N. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Canada: a historical perspective and lessons learned. Can J Microbiol [Internet]. 2010 Feb;56(2):89–120. Available from: http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/W09-109
106. Dulon M, Haamann F, Peters C, Schablon A, Nienhaus A. MRSA prevalence in european healthcare settings: a review. BMC Infect Dis [Internet]. 2011 Dec 20;11(1):138. Available from: https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-11-138
107. Maehara Y, Shirabe K, Kohnoe S, Emi Y, Oki E, Kakeji Y, et al. Impact of intra-abdominal absorbable sutures on surgical site infection in gastrointestinal and hepato-biliary-pancreatic surgery: results of a multicenter, randomized, prospective, phase II clinical trial. Surg Today [Internet]. 2017 Sep 23;47(9):1060–71. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s00595-017-1480-3
108. Feng C, Sidhwa F, Cameron DB, Glass C, Rangel SJ. Rates and burden of surgical site infections associated with pediatric colorectal surgery: insight from the National Surgery Quality Improvement Program. J Pediatr Surg [Internet]. 2016 Jun;51(6):970–4. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022346816001512
109. Haque M, Sartelli M, McKimm J, Bakar MA. Health care-associated infections – An overview. Infect Drug Resist. 2018;11:2321–33.
110. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: Incidence, morbidity, and economic costs. Disease-a-Month [Internet]. 2003 Feb;49(2):53–70. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011502903900009
111. Tenke P, Mezei T, Bőde I, Köves B. Catheter-associated Urinary Tract Infections. Eur Urol Suppl [Internet]. 2017 Apr;16(4):138–43. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1569905616301439
112. Obaid NA. Preventive Measures and Management of Catheter-Associated Urinary Tract Infection in Adult Intensive Care Units in Saudi Arabia. J Epidemiol Glob Health [Internet]. 2021;11(2):164–8. Available from:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33969947

113. Stamm WE. Catheter-associated urinary tract infections: Epidemiology, pathogenesis, and prevention. Am J Med [Internet]. 1991 Sep;91(3):S65–71. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/000293439190345X
114. Elvy J, Colville A. Catheter associated urinary tract infection: what is it, what causes it and how can we prevent it? J Infect Prev [Internet]. 2009 Mar 11;10(2):36–41. Available from: http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1757177408094852
115. P. L, Rao B. K. A study of risk factors for catheter associated urinary tract infection. Int J Adv Med [Internet]. 2018 Mar 21;5(2):334. Available from: http://www.ijmedicine.com/index.php/ijam/article/view/1020
116. Jacobsen SM, Stickler DJ, Mobley HLT, Shirtliff ME. Complicated Catheter-Associated Urinary Tract Infections Due to Escherichia coli and Proteus mirabilis. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2008 Jan;21(1):26–59. Available from: https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00019-07
117. Lo E, Nicolle LE, Coffin SE, Gould C, Maragakis LL, Meddings J, et al. Strategies to Prevent Catheter-Associated Urinary Tract Infections in Acute Care Hospitals: 2014 Update. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2014 May 10;35(5):464–79. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0899823X00191664/type/journal_article
118. Nicolle LE. Catheter associated urinary tract infections. Antimicrob Resist Infect Control [Internet]. 2014 Dec 25;3(1):23. Available from: https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/2047-2994-3-23
119. Tambyah PA, Halvorson KT, Maki DG. A Prospective Study of Pathogenesis of Catheter-Associated Urinary Tract Infections. Mayo Clin Proc [Internet]. 1999 Feb;74(2):131–6. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619611638342
120. Barford J, Coates A. The pathogenesis of catheter-associated urinary tract

infection. J Infect Prev [Internet]. 2009 Mar 11;10(2):50–6. Available from: http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1757177408098265

121. Roilides E, Simitsopoulou M, Katragkou A, Walsh TJ. How Biofilms Evade Host Defenses. Ghannoum M, Parsek M, Whiteley M, Mukherjee P, editors. Microbiol Spectr [Internet]. 2015 Jun 18;3(3). Available from: https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.MB-0012-2014
122. Chant C, Smith OM, Marshall JC, Friedrich JO. Relationship of catheter-associated urinary tract infection to mortality and length of stay in critically ill patients: A systematic review and meta-analysis of observational studies. Crit Care Med [Internet]. 2011 May;39(5):1167–73. Available from: http://journals.lww.com/00003246-201105000-00034
123. Mitchell BG, Ferguson JK, Anderson M, Sear J, Barnett A. Length of stay and mortality associated with healthcare-associated urinary tract infections: a multi-state model. J Hosp Infect [Internet]. 2016 May;93(1):92–9. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670116000682
124. Haniffa R, Isaam I, De Silva AP, Dondorp AM, De Keizer NF. Performance of critical care prognostic scoring systems in low and middle-income countries: a systematic review. Crit Care [Internet]. 2018 Dec 26;22(1):18. Available from: https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-017-1930-8
125. Chughtai M, Gwam CU, Mohamed N, Khlopas A, Newman JM, Khan R, et al. The Epidemiology and Risk Factors for Postoperative Pneumonia. J Clin Med Res [Internet]. 2017;9(6):466–75. Available from: http://www.jocmr.org/index.php/JOCMR/article/view/3002
126. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial Infections in Pediatric Intensive Care Units in the United States. Pediatrics [Internet]. 1999 Apr 1;103(4):e39–e39. Available from: http://pediatrics.aappublications.org/lookup/doi/10.1542/peds.103.4.e39
127. Chastre J, Fagon J-Y. Ventilator-associated Pneumonia. Am J Respir Crit Care Med [Internet]. 2002 Apr;165(7):867–903. Available from:

http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/ajrccm.165.7.2105078

128. McEachern R, Campbell GD. HOSPITAL-ACQUIRED PNEUMONIA: EPIDEMIOLOGY, ETIOLOGY, AND TREATMENT. Infect Dis Clin North Am [Internet]. 1998 Sep;12(3):761–79. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891552005702099
129. Koenig SM, Truwit JD. Ventilator-Associated Pneumonia: Diagnosis, Treatment, and Prevention. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2006 Oct;19(4):637–57. Available from: https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00051-05
130. Hunter JD. Ventilator associated pneumonia. BMJ [Internet]. 2012 May 29;344(may29 1):e3325–e3325. Available from: https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.e3325
131. Craven DE, Hjalmarson KI. Ventilator-Associated Tracheobronchitis and Pneumonia: Thinking Outside the Box. Clin Infect Dis [Internet]. 2010 Aug;51(S1):S59–66. Available from: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/653051
132. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia [Internet]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2005. Available from: https://www.proquest.com/openview/a1f5fc7969996bf33f6aeedad5f37e7e/1?pq-origsite=gscholar&cbl=40575
133. Kalanuria AA, Mirski M, Ziai W. Ventilator-associated Pneumonia in the ICU. In: Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2014 [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2014. p. 65–77. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-03746-2_6
134. Skrupky LP, McConnell K, Dallas J, Kollef MH. A comparison of ventilator-associated pneumonia rates as identified according to the National Healthcare Safety Network and American College of Chest Physicians criteria*. Crit Care Med [Internet]. 2012 Jan;40(1):281–4. Available from: http://journals.lww.com/00003246-201201000-00042

135. Rosenthal VD, Maki DG, Jamulitrat S, Medeiros EA, Todi SK, Gomez DY, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary for 2003-2008, issued June 2009. Am J Infect Control [Internet]. 2010 Mar;38(2):95-104.e2. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655309009523
136. Chawla R. Epidemiology, etiology, and diagnosis of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in Asian countries. Am J Infect Control [Internet]. 2008 May;36(4):S93–100. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655307007158
137. Mathai AS, Phillips A, Isaac R. Ventilator-associated pneumonia: A persistent healthcare problem in Indian Intensive Care Units! Lung India [Internet]. 33(5):512–6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27625445
138. Rello J, Ollendorf DA, Oster G, Vera-Llonch M, Bellm L, Redman R, et al. Epidemiology and Outcomes of Ventilator-Associated Pneumonia in a Large US Database. Chest [Internet]. 2002 Dec;122(6):2115–21. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012369215508349
139. Chaudhury A, Rani As, Kalawat U, Sumant S, Verma A, Venkataramana B. Antibiotic resistance & pathogen profile in ventilator-associated pneumonia in a tertiary care hospital in India. Indian J Med Res [Internet]. 2016;144(3):440. Available from: http://www.ijmr.org.in/text.asp?2016/144/3/440/198679
140. Chi SY, Kim TO, Park CW, Yu JY, Lee B, Lee HS, et al. Bacterial Pathogens of Ventilator Associated Pneumonia in a Tertiary Referral Hospital. Tuberc Respir Dis (Seoul) [Internet]. 2012;73(1):32. Available from: http://e-trd.org/journal/view.php?doi=10.4046/trd.2012.73.1.32
141. Muscedere JG, Martin CM, Heyland DK. The impact of ventilator-associated pneumonia on the Canadian health care system. J Crit Care [Internet]. 2008 Mar;23(1):5–10. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S088394410800004X
142. Puzniak L, Dillon R, Palmer T, Collings H, Enstone A. Systematic Literature

Review of Real-world Evidence of Ceftolozane/Tazobactam for the Treatment of Respiratory Infections. Infect Dis Ther [Internet]. 2021 Sep;10(3):1227–52. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34278551

143. Humphreys H, Newcombe RG, Enstone J, Smyth ETM, McIlvenny G, Davies E, et al. Four country healthcare-associated infection prevalence survey: pneumonia and lower respiratory tract infections. J Hosp Infect [Internet]. 2010 Mar;74(3):266–70. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670109004526
144. Yan T, Li Y, Sun Y, Wang H, Wang J, Wang W, et al. Hospital-acquired lower respiratory tract infections among high risk hospitalized patients in a tertiary care teaching hospital in China: An economic burden analysis. J Infect Public Health [Internet]. 2018 Jul;11(4):507–13. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1876034117302782
145. Pradhan NP, Bhat SM, Ghadage DP. Nosocomial infections in the medical ICU: a retrospective study highlighting their prevalence, microbiological profile and impact on ICU stay and mortality. J Assoc Physicians India [Internet]. 2014 Oct;62(10):18–21. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25906516
146. Kazaure HS, Martin M, Yoon JK, Wren SM. Long-term Results of a Postoperative Pneumonia Prevention Program for the Inpatient Surgical Ward. JAMA Surg [Internet]. 2014 Sep 1;149(9):914. Available from: http://archsurg.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamasurg.2014.1216
147. Warren DK, Shukla SJ, Olsen MA, Kollef MH, Hollenbeak CS, Cox MJ, et al. Outcome and attributable cost of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit patients in a suburban medical center*. Crit Care Med [Internet]. 2003 May;31(5):1312–7. Available from: http://journals.lww.com/00003246-200305000-00003
148. Настанова 00013. Внутрішньолікарняні мультирезистентні штами бактерій [Internet]. МОЗ України. 2017. Available from:

https://guidelines.moz.gov.ua/login?next=%2Fdocuments%2F2918%3Fid%3Debm00013%26format%3Dpdf

149. Derzhavna ustanova «Tsentr hromads′koho zdorov″ya Ministerstva okhorony zdorov″ya Ukrayiny». Kryteriyi vyznachennya infektsiynykh khvorob, pov″yazanykh z nadannyam medychnoyi dopomohy [Internet]. 2019. Available from: https://phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/infekciyniy-kontrol-u-zakladakh-oz/dlya-fakhivciv
150. Mendelson M, Matsoso MP. The World Health Organization Global Action Plan for antimicrobial resistance. South African Med J [Internet]. 2015 Sep 17;105(5):325. Available from: http://www.samj.org.za/index.php/samj/article/view/9991
151. Piggott. Quality, not Quantity: The Role of Natural Products and Chemical Proteomics in Modern Drug Discovery. Comb Chem High Throughput Screen [Internet]. 2004;7(7). Available from: http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cchts/2004/00000007/00000007/art00002
152. Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Lesyk R. Recent developments with rhodanine as a scaffold for drug discovery. Expert Opin Drug Discov [Internet]. 2017 Dec 2;12(12):1233–52. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17460441.2017.1388370
153. Tripathi AC, Gupta SJ, Fatima GN, Sonar PK, Verma A, Saraf SK. 4-Thiazolidinones: The advances continue…. Eur J Med Chem [Internet]. 2014 Jan;72:52–77. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523413007599
154. Mendgen T, Steuer C, Klein CD. Privileged Scaffolds or Promiscuous Binders: A Comparative Study on Rhodanines and Related Heterocycles in Medicinal Chemistry. J Med Chem [Internet]. 2012 Jan 26;55(2):743–53. Available from: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm201243p
155. Kryshchyshyn A, Kaminskyy D, Grellier P, Lesyk R. Trends in research of

antitrypanosomal agents among synthetic heterocycles. Eur J Med Chem [Internet]. 2014 Oct;85:51–64. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523414007077

156. Wang S, Zhao Y, Zhu W, Liu Y, Guo K, Gong P. Synthesis and Anticancer Activity of Indolin-2-one Derivatives Bearing the 4-Thiazolidinone Moiety. Arch Pharm (Weinheim) [Internet]. 2012 Jan;345(1):73–80. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ardp.201100082
157. Verma A, Saraf SK. 4-Thiazolidinone – A biologically active scaffold. Eur J Med Chem [Internet]. 2008 May;43(5):897–905. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523407003054
158. Lozynskyi A, Zimenkovsky B, Radko L, Stypula-Trebas S, Roman O, Gzella AK, et al. Synthesis and cytotoxicity of new thiazolo[4,5-b]pyridine-2(3H)-one derivatives based on α,β-unsaturated ketones and α-ketoacids. Chem Pap [Internet]. 2018 Mar 16;72(3):669–81. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s11696-017-0318-1
159. Lozynskyi A, Zasidko V, Atamanyuk D, Kaminskyy D, Derkach H, Karpenko O, et al. Synthesis, antioxidant and antimicrobial activities of novel thiopyrano[2,3-d]thiazoles based on aroylacrylic acids. Mol Divers [Internet]. 2017 May 19;21(2):427–36. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s11030-017-9737-8
160. Fomenko I, Bondarchuk T, Emelyanenko V, Denysenko N, Pavlo S, Ilkiv I, et al. Changes of nitric oxide system and lipid peroxidation parameters in the digestive system of rats under conditions of acute stress, and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Curr Issues Pharm Med Sci [Internet]. 2015 Mar 1;28(1):37–41. Available from: https://www.sciendo.com/article/10.1515/cipms-2015-0040
161. Ilkiv I, Lesyk R, Sklyarov O. EVALUATION OF NOVEL 4-THIAZOLIDINONE-BASED DERIVATIVES AS POSSIBLE CYTOPROTECTIVE AGENTS AGAINST STRESS MODEL IN RATS. J Appl Pharm Sci [Internet]. 2017;199–203. Available from:

http://www.japsonline.com/abstract.php?article_id=2139

162. Ottanà R, Maccari R, Barreca ML, Bruno G, Rotondo A, Rossi A, et al. 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: Design and synthesis of novel anti-inflammatory agents. Bioorg Med Chem [Internet]. 2005 Jul;13(13):4243–52. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089605003548
163. Horishny V, Kartsev V, Geronikaki A, Matiychuk V, Petrou A, Glamoclija J, et al. 5-(1H-Indol-3-ylmethylene)-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl)alkancarboxylic Acids as Antimicrobial Agents: Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking Studies. Molecules [Internet]. 2020 Apr 23;25(8):1964. Available from: https://www.mdpi.com/1420-3049/25/8/1964
164. Vicini P, Geronikaki A, Anastasia K, Incerti M, Zani F. Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones. Bioorg Med Chem [Internet]. 2006 Jun;14(11):3859–64. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089606000745
165. El-Sabbagh OI, Baraka MM, Ibrahim SM, Pannecouque C, Andrei G, Snoeck R, et al. Synthesis and antiviral activity of new pyrazole and thiazole derivatives. Eur J Med Chem [Internet]. 2009 Sep;44(9):3746–53. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523409001913
166. de Souza MVN. Synthesis and biological activity of natural thiazoles: An important class of heterocyclic compounds. J Sulfur Chem [Internet]. 2005 Aug 1;26(4–5):429–49. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17415990500322792
167. Grant EB, Guiadeen D, Baum EZ, Foleno BD, Jin H, Montenegro DA, et al. The synthesis and SAR of rhodanines as novel class C β-lactamase inhibitors. Bioorg Med Chem Lett [Internet]. 2000 Oct;10(19):2179–82. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X00004443
168. Howard MH, Cenizal T, Gutteridge S, Hanna WS, Tao Y, Totrov M, et al. A Novel Class of Inhibitors of Peptide Deformylase Discovered through High-Throughput Screening and Virtual Ligand Screening. J Med Chem [Internet].

2004 Dec;47(27):6669–72. Available from: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm049222o

169. Carlson EE, May JF, Kiessling LL. Chemical Probes of UDP-Galactopyranose Mutase. Chem Biol [Internet]. 2006 Aug;13(8):825–37. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074552106002171
170. Sim MM, Ng SB, Buss AD, Crasta SC, Goh KL, Lee SK. Benzylidene Rhodanines as Novel Inhibitors of UDP-N-Acetylmuramate/l-Alanine Ligase. Bioorg Med Chem Lett [Internet]. 2002 Feb;12(4):697–9. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X01008320
171. Smith TK, Young BL, Denton H, Hughes DL, Wagner GK. First small molecular inhibitors of T. brucei dolicholphosphate mannose synthase (DPMS), a validated drug target in African sleeping sickness. Bioorg Med Chem Lett [Internet]. 2009 Mar;19(6):1749–52. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X09000985
172. Державна установа “Центр громадського здоров’я МОЗ України.” Критерії визначення інфекційних хвороб, пов’язаних з наданням медичної допомоги [Internet]. Available from: https://phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/infekciyniy-kontrol-u-zakladakh-oz/dlya-fakhivciv
173. МНІАЦ мед. статистики. Бактеріологія і вірусологія : нормативне виробничо-практичне видання. Частина 1. МВЦ «Медінформ»; 2014. 460 p.
174. МНІАЦ мед. статистики. Бактеріологія і вірусологія : нормативне виробничо-практичне видання. Частина 2. МВЦ «Медінформ»; 2014. 472 p.
175. Karen C. Carroll (Editor), Michael A. Pfaller (Editor), Marie Louise Landry (Editor), Alexander J. McAdam (Editor), Robin Patel (Editor), Sandra S. Richter (Editor) DWW (Editor). Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition [Internet]. 2019. 2832 p. Available from: https://clinmicronow.org/doi/book/10.1128/9781683670438.MCM
176. ERBA Lachema. Instructions for LaTests - microbiology instructions [Internet]. 2018. Available from: https://www.erbalachema.com/en/products-and-

solutions/microbiology/mikrolatest-and-sensilatest/

177. Schröttner P, Gunzer F, Schüppel J, Rudolph WW. Identification of Rare Bacterial Pathogens by 16S rRNA Gene Sequencing and MALDI-TOF MS. J Vis Exp [Internet]. 2016;(113). Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27500532
178. Sękowska A, Konechnyi Y, Gospodarek-Komkowska E. Klebsiella pneumoniae infection in a liver transplant patient: A case report and review of the literature. Indian J Med Microbiol [Internet]. 2021 Jul; Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0255085721041669
179. Power EG. RAPD typing in microbiology--a technical review. J Hosp Infect [Internet]. 1996 Dec;34(4):247–65. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8971615
180. Ferreira L, Sánchez-Juanes F, García-Fraile P, Rivas R, Mateos PF, Martínez-Molina E, et al. MALDI-TOF Mass Spectrometry Is a Fast and Reliable Platform for Identification and Ecological Studies of Species from Family Rhizobiaceae. Adler B, editor. PLoS One [Internet]. 2011 May 31;6(5):e20223. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0020223
181. Shao C, Tian Y, Dong Z, Gao J, Gao Y, Jia X, et al. The Use of Principal Component Analysis in MALDI-TOF MS: a Powerful Tool for Establishing a Mini-optimized Proteomic Profile. Am J Biomed Sci [Internet]. 2012;4(1):85–101. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22229059
182. МОЗ України. наказу МОЗ України №167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [Internet]. Available from: https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0167282-07#Text
183. Т.О. Гаркавенко, О.І. Горбатюк, Т.Г. Козицька, В.О. Андріящук, В.М. Гаркавенко, С.М. Дибкова ІВА. Методичні рекомендації з визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів [Internet]. ДНДІЛДВСЕ; 2021. 101 p. Available from:

http://vetlabresearch.gov.ua/derzhavni-zakupivli/docs/Антибіотикорезистентність.pdf

184. EUCAST. EUCAST reading guide for broth microdilution. EUCAST Read Guid broth microdilution [Internet]. 2020;1.0(January). Available from: www.eucast.org
185. EUCAST. Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method Version 8.0 January. Eur Soc Clin Microbiol Infect Deseases [Internet]. 2020;0(January):1–21. Available from: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2020_manuals/Manual_v_8.0_EUCAST_Disk_Test_2020.pdf
186. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2012 Mar;18(3):268–81. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14616323
187. Robert J, Pantel A, Merens A, Meiller E, Lavigne J-P, Nicolas-Chanoine M-H. Development of an algorithm for phenotypic screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the routine laboratory. BMC Infect Dis [Internet]. 2017 Dec 17;17(1):78. Available from: http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-016-2174-y
188. Lolans K, Calvert K, Won S, Clark J, Hayden MK. Direct Ertapenem Disk Screening Method for Identification of KPC-Producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli in Surveillance Swab Specimens. J Clin Microbiol [Internet]. 2010 Mar;48(3):836–41. Available from: https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.01988-09
189. Циганенко А, Лупай О, Мішина М, Граматюк С. Визначення протимікробної дії препарату Гатимак на планктонні клітини та біоплівки штамів Staphylococcus aureus in vitro. Теоретична і експериментальна медицина. 2012;1:11–3.

190. Hawley TS, Hawley RG, editors. Flow Cytometry Protocols [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2011. (Methods in Molecular Biology; vol. 699). Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-1-61737-950-5
191. Krysko D V., Berghe T Vanden, Parthoens E, D'Herde K, Vandenabeele P. Chapter 16 Methods for Distinguishing Apoptotic from Necrotic Cells and Measuring Their Clearance. In 2008. p. 307–41. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S007668790801416X
192. Schlegel K, Füllekrug M. Weltweite Ortung von Blitzen: 50 Jahre Schumann-Resonanzen. Phys unserer Zeit [Internet]. 2002 Nov;33(6):256–61. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1521-3943(200211)33:6%3C256::AID-PIUZ256%3E3.0.CO;2-V
193. Grin I, Schwarz H, Linke D. Electron Microscopy Techniques to Study Bacterial Adhesion. In 2011. p. 257–69. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-94-007-0940-9_16
194. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Anal [Internet]. 2016;6(2):71–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005
195. Zidar N, Tomašić T, Šink R, Kovač A, Patin D, Blanot D, et al. New 5-benzylidenethiazolidin-4-one inhibitors of bacterial MurD ligase: Design, synthesis, crystal structures, and biological evaluation. Eur J Med Chem [Internet]. 2011 Nov;46(11):5512–23. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523411006775
196. Bax BD, Chan PF, Eggleston DS, Fosberry A, Gentry DR, Gorrec F, et al. Type IIA topoisomerase inhibition by a new class of antibacterial agents. Nature [Internet]. 2010 Aug 4;466(7309):935–40. Available from: http://www.nature.com/articles/nature09197
197. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. J Comput Chem [Internet]. 2009 Dec;30(16):2785–91. Available from:

https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.21256

198. van der Meulen-Frank M, Prins J-B, Waarts B-L, Hofstra W. Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes: Principles and Practice for Legislation and Protection. In: Quality in Nuclear Medicine [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017. p. 91–105. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-33531-5_5
199. LITCHFIELD JT, WILCOXON F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J Pharmacol Exp Ther [Internet]. 1949 Jun;96(2):99–113. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18152921
200. Shyshkin IO, Tymchyshyn OL, Gelmboldt VO. ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ 4-КАРБОКСИМЕТИЛПІРИДИНІЮ ГЕКСАФТОРОСИЛІКАТУ. Фармацевтичний часопис [Internet]. 2018 Sep 7;(3):80–4. Available from: https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/pharm-chas/article/view/9319
201. Стефанов О. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. — Київ: Авіцена; 2001. 528 p.
202. US Department of Health and Human Services, Public Health Service NI of H. Institute of Laboratory Animal Resources (US). Committee on Care, Use of Laboratory Animals. Guide for the care and use of laboratory animals. 1986.
203. Fischbach FT, Dunning MB. A manual of laboratory and diagnostic tests. Lippincott Williams & Wilkins.; 2009.
204. Suckow MA, Stevens KA, Wilson RP, Eds. The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents. Academic Press.; 2012.
205. Alekseyeva O, Duyeva L. Allergiya k promyshlennym khimicheskim soyedineniyam. 1978. 272 p.
206. Keohane EM, Otto CN WJ. Rodak’s Hematology-E-Book: Clinical Principles and Applications. [Internet]. Elsevier Health Sciences; 2019. Available from: https://books.google.com.ua/books?hl=en&lr=&id=IoGJDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=manual+of+laboratory+diagnostic+hematology+tests+&ots=1QTsGwgx0_&sig=nVf-

Dt2HmphEr8EWwq0_Oz_K9rg&redir_esc=y#v=onepage&q=manual of laboratory diagnostic hematology tests&f=false

207. Pagana KD, Pagana T. Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests-E-Book. Elsevier Health Sciences.; 2017.
208. Romanyshyn YM, Temnyk IV, Lapovets′ LY. Metodychni rekomendatsiyi dlya otsinky imunnoho statusu lyudyny: kliniko-laboratorna diahnostyka alerhichnykh zakhvoryuvan′, typuvannya leykotsytiv, otsinka imunohramy. Lviv; 1999. 26 p.
209. Clemons DJ, Seeman JL. The Laboratory Guinea Pig (second edition). Taylor & Francis; 2018. 177 p.
210. Trakhtenberh IM, Dmytrukha NM, Molozhava OS, Myronyuk YM. VIOLATION OF THE IMMUNE STATUS OF THE HUMAN ORGANISM UNDER THE ACTION OF CHEMICAL FACTORS AND METHODS OF THEIR DETERMINATION. 2008;82–9.
211. Wilhelmus KR. The Draize Eye Test. Surv Ophthalmol [Internet]. 2001 May;45(6):493–515. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039625701002119
212. Методичні вказівки МОЗ України. Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсико-гігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів. Київ; 2004. 21 p.
213. Шаповалова О. Стандартизація методу виготовлення суспензій мікроорганізмів. In: Збірка «Методи одержання чистих культур мікроорганізмів та їх довгострокового зберігання в колекціях». Київ: Знання України»; 2004. p. 70–5.
214. Epidemiological and microbiological aspects of healthcare-associated infections in Ukraine during the 2009–2019 period. Przegl Epidemiol [Internet]. 2021;86–95. Available from: http://www.przeglepidemiol.pzh.gov.pl/pobierz-artykul?id=2375
215. Lekhniuk N, Fesenko U, Pidhirnyi Y, Sękowska A, Korniychuk O, Konechnyi Y. Raoultella terrigena : Current state of knowledge, after two recently identified

clinical cases in Eastern Europe. Clin Case Reports [Internet]. 2021 May 31;9(5). Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ccr3.4089

216. Segata N, Börnigen D, Morgan XC, Huttenhower C. PhyloPhlAn is a new method for improved phylogenetic and taxonomic placement of microbes. Nat Commun. 2013;4.
217. Buchfink B, Xie C, Huson DH. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. Nat Methods. 2014;12(1):59–60.
218. Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. Mol Biol Evol. 2013;30(4):772–80.
219. Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010 Gateway Computing Environments Workshop, GCE 2010. 2010 Gatew Comput Environ Work GCE 2010. 2010;
220. Nguyen LT, Schmidt HA, Von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. Mol Biol Evol. 2015;32(1):268–74.
221. Drancourt M, Bollet C, Carta A, Rousselier P. Phylogenetic analyses of Klebsiella species delineate Klebsiella and Raoultella gen. nov., with description of Raoultella ornithinolytica comb. nov., Raoultella terrigena comb. nov. and Raoultella planticola comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2001;51(3):925–32.
222. Ponce-Alonso M, Rodríguez-Rojas L, del Campo R, Cantón R, Morosini MI. Comparison of different methods for identification of species of the genus Raoultella: Report of 11 cases of Raoultella causing bacteraemia and literature review. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2016;22(3):252–7. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2015.10.035
223. Castillo-Macías A, Flores-Aréchiga a A, Llaca-Díaz a J, Pérez-Chávez a F, Casillas-Vegaa a N. Microbiology of genus Raoultella, clinical features and difficulties in its diagnosis. Rev Med Inst Mex Seguro. 2018;56(81):486–90.
224. Eser F, Yilmaz GR, Güner R, Hasanoğlu İ, Korkmaz FYÜRKMEZ, Açikgöz ZC, et al. Risk factors for rectal colonization of carbapenem-resistant enterobacteriaceae in a tertiary care hospital: A case-control study from turkey.

Turkish J Med Sci. 2019;49(1):341–6.

225. Furuhata K, Ishizaki N, Fukuyama M. Antibacterial susceptibility of enterobacteriaceae isolated from raw horsemeat intended for human consumption (basashi). Biocontrol Sci. 2015;20(1):19–25.
226. Sękowska A. Raoultella spp.—clinical significance, infections and susceptibility to antibiotics. Folia Microbiol (Praha). 2017;62(3):221–7.
227. Kamii E, Terada G, Akiyama J, Isshiki K. Antibacterial effect of food additives and detergents against histamine-producing bacteria on food contact material surfaces. J Food Hyg Soc Japan. 2011;52(6):340–7.
228. Koc S, Kabatas B, Icgen B. Multidrug and heavy metal-resistant Raoultella planticola isolated from surface water. Bull Environ Contam Toxicol. 2013;91(2):177–83.
229. Sękowska A. The many faces of Raoultella spp. Postepy Hig Med Dosw [Internet]. 2019 Dec 11;73:713–20. Available from: https://phmd.pl/gicid/01.3001.0013.6377
230. Li GJ, Dong QE, Ma L, Huang Y, Zhu ML, Ji YP, et al. Management of Meloidogyne incognita on tomato with endophytic bacteria and fresh residue of Wasabia japonica. J Appl Microbiol. 2014;117(4):1159–67.
231. Mal PB, Sarfaraz S, Herekar F, Ambreen R. Clinical manifestation and outcomes of multi-drug resistant (MDR) Raoultella terrigena infection – A case series at Indus Health Network, Karachi, Pakistan. IDCases [Internet]. 2019;18(December 2018):e00628. Available from: https://doi.org/10.1016/j.idcr.2019.e00628
232. Ahmed I, Nasir N, Ali BJ, Mahmood SF. 1417. Clinical Features and Outcomes of raoultella terrigena Infections. A Single-Center Experience from Karachi, Pakistan . Open Forum Infect Dis. 2020;7(Supplement_1):S715–S715.
233. Riccardi N, Rotulo GA, Castagnola E. Definition of Opportunistic Infections in Immunocompromised Children on the Basis of Etiologies and Clinical Features: A Summary for Practical Purposes. Curr Pediatr Rev [Internet]. 2019;15(4):197–206. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31242834

234. Podschun R. Isolation of Klebsiella terrigena from Human Feces: Biochemical Reactions, Capsule Types, and Antibiotic Sensitivity. Zentralblatt fur Bakteriol [Internet]. 1991;275(1):73–8. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/S0934-8840(11)80769-3
235. Podschun R, Ullmann U. Isolation of Klebsiella terrigena from clinical specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1992;11(4):349–52.
236. Podschun R, Fischer A, Ullmann U. Characterization of Klebsiella terrigena strains from humans: Haemagglutinins, serum resistance, siderophore synthesis, and serotypes. Epidemiol Infect. 2000;125(1):71–8.
237. Gerberding JL. Nosocomial transmission of opportunistic infections. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 1998 Aug;19(8):574–7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9758058
238. Valáriková J, Korcová J, Ziburová J, Rosinský J, Čížová A, Bieliková S, et al. Potential pathogenicity and antibiotic resistance of aquatic Vibrio isolates from freshwater in Slovakia. Folia Microbiol (Praha). 2020;65(3):545–55.
239. Håkonsholm F, Lunestad BT, Aguirre Sánchez JR, Martinez-Urtaza J, Marathe NP, Svanevik CS. Vibrios from the Norwegian marine environment: Characterization of associated antibiotic resistance and virulence genes. Microbiologyopen. 2020;(May):1–19.
240. Deshmukh A. Occurrence of Vibrio sp. in Sardinella longiceps during spawning season along the west coast of India. Indian J Geo-Marine Sci. 2016;45(10):1389–92.
241. Paek J, Shin JH, Shin Y, Park IS, Kim H, Kook JK, et al. Vibrio injenensis sp. nov., isolated from human clinical specimens. Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol. 2017;110(1):145–52.
242. Linde HJ, Kobuch R, Jayasinghe S, Reischl U, Lehn N, Kaulfuss S, et al. Vibrio metschnikovii, a rare cause of wound infection. J Clin Microbiol. 2004;42(10):4909–11.
243. Farmer JJ, Michael Janda J, Brenner FW, Cameron DN, Birkhead KM. Vibrio .

Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. 2015. 1–79 p.

244. 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 Reports [Internet]. 2021 Apr 4;9(4):2236–44. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ccr3.3999
245. Wilson WR, Bower TC, Creager MA, Amin-Hanjani S, O’Gara PT, Lockhart PB, et al. Vascular Graft Infections, Mycotic Aneurysms, and Endovascular Infections: A Scientific Statement From the American Heart Association. Circulation. 2016 Nov;134(20):e412–60.
246. Abbott SL, Seli LS, Catino M. J, Hartley MA, Janda JM. Misidentification of unusual Aeromonas species as members of the genus vibrio: A continuing problem. J Clin Microbiol. 1998;36(4):1103–4.
247. Fadhil RAS, Al-Thani H, Al-Maslamani Y, Ali O. Trichosporon fungal arteritis causing rupture of vascular anastamosis after commercial kidney transplantation: A case report and review of literature. Transplant Proc [Internet]. 2011;43(2):657–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2011.01.082
248. Konechnyi Y, Skurativskyi Y, Tymchuk I, Pidhirnyi Y, Korniychuk O. MICROBIOLOGICAL PROFILE OF NOSOCOMIAL INFECTIONS. Proc Shevchenko Sci Soc Med Sci [Internet]. 2019 Jun 24;55(1):56–64. Available from: https://mspsss.org.ua/index.php/journal/article/view/5
249. Sękowska A, Konechnyi Y, Gospodarek-Komkowska E. Klebsiella pneumoniae infection in a liver transplant patient: A case report and review of the literature. Indian J Med Microbiol [Internet]. 2021 Oct;39(4):548–51. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0255085721041669
250. Hammerum AM, Baig S, Kamel Y, Roer L, Pinholt M, Gumpert H, et al. Emergence of vanA Enterococcus faecium in Denmark, 2005–15. J Antimicrob Chemother [Internet]. 2017 Aug 1;72(8):2184–90. Available from: http://academic.oup.com/jac/article/72/8/2184/3852657/Emergence-of-vanA-Enterococcus-faecium-in-Denmark

251. Beier RC, Harvey RB, Poole TL, Hume ME, Crippen TL, Highfield LD, et al. Interactions of organic acids with vancomycin-resistant Enterococcus faecium isolated from community wastewater in Texas. J Appl Microbiol [Internet]. 2019 Feb 26;126(2):480–8. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jam.14145
252. Mairi A, Pantel A, Sotto A, Lavigne J-P, Touati A. OXA-48-like carbapenemases producing Enterobacteriaceae in different niches. Eur J Clin Microbiol Infect Dis [Internet]. 2018 Apr 8;37(4):587–604. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s10096-017-3112-7
253. Stewart A, Harris P, Henderson A, Paterson D. Treatment of Infections by OXA-48-Producing Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2018 Nov;62(11). Available from: https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01195-18
254. Kryshchyshyn AP, Kaminskyy D V., Atamanyuk D V., Lesyk RB. Computer technologies in pharmacy-Filling in the gaps in Ukrainian PharmD curriculum. Curr Pharm Teach Learn [Internet]. 2015 Jul;7(4):556–9. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1877129715000271
255. Bolognesi ML, Cavalli A. Multitarget Drug Discovery and Polypharmacology. ChemMedChem [Internet]. 2016 Jun 20;11(12):1190–2. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cmdc.201600161
256. Holota S, Lozynskyi A, Konechnyi Y, Shepeta Y, Lesyk R. 5-[4-(tert-Butyl)cyclohexylidene]-2-thioxothiazolidin-4-one. Molbank [Internet]. 2021 Sep 24;2021(4):M1281. Available from: https://www.mdpi.com/1422-8599/2021/4/M1281
257. Lozynskyi A V., Derkach HO, Zasidko V V., Konechnyi YT, Finiuk NS, Len YT, et al. Antimicrobial and cytotoxic activities of thiazolo[4,5-b]pyridine derivatives. Biopolym Cell [Internet]. 2021 Apr 30;37(2):153–64. Available from: http://biopolymers.org.ua/doi/10.7124/bc.000A53
258. Konechnyi YT, Lozynskyi A V., Horishny VY, Konechna RT, Vynnytska RB, Korniychuk OP, et al. Synthesis of indoline-thiazolidinone hybrids with

antibacterial and antifungal activities. Biopolym Cell [Internet]. 2020 Oct 30;36(5):381–91. Available from: http://biopolymers.org.ua/doi/10.7124/bc.000A3A

259. Konechnyi Y, Hrushka O, Pryzyhley H, Konechna R, Lozynskyi A, Korniychuk O, et al. Cell immunity of laboratory animals under the influence of 5-indolylmethylene rhodanine-3-carboxylic/sulphonic acid derivative. Sci Pharm Sci [Internet]. 2021 Feb 27;(1 (29)):76–81. Available from: http://journals.uran.ua/sr_pharm/article/view/224328
260. Zimmerman K, Moore DM, Smith SA. Hematological Assessment in Pet Guinea Pigs (Cavia porcellus). Vet Clin North Am Exot Anim Pract [Internet]. 2015 Jan;18(1):33–40. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1094919414000589
261. Suckow MA, Stevens KA, Wilson RP E. The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents. Academic Press; 2012. 1268 p.
262. Jean-Jacques W, Rajashekaraiah KR, Farmer JJ, Hickman FW, Morris JG, Kallick CA. Vibrio metschnikovii bacteremia in a patient with cholecystitis. J Clin Microbiol. 1981;14(6):711–2.
263. Hardardottir H, Vikenes K, Digranes A, Lassen J, Halstensen A. Mixed bacteremia with vibrio metschnikovii in an 83-year-old female patient. Scand J Infect Dis. 1994;26(4):493–4.
264. Hansen W, Freney J, Benyagoub H, Letouzey MN, Gigi J, Wauters G. Severe human infections caused by Vibrio metschnikovii. J Clin Microbiol. 1993;31(9):2529–30.
265. Dalsgaard A, Alarcon A, Lanata CF, Jensen T, Hansen HJ, Delgado F, et al. Clinical manifestations and molecular epidemiology of five cases of diarrhoea in children associated with Vibrio metschnikovii in Arequipa, Peru. J Med Microbiol. 1996;45(6):494–500.
266. Wallet F, Tachon M, Nseir S, Courcol RJ, Roussel-Delvallez M. Vibrio metschnikovii pneumonia [3]. Emerg Infect Dis. 2005;11(10):1641–2.

267. Pariente Martín M, Escribano Garaizábal E, Liria Sánchez PJ, Crespo Sánchez MD. Vibrio metschnikovii from a human infected leg ulcer. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008;50(5):311–2.
268. Jensen J, Jellinge ME. Severe septic shock and cardiac arrest in a patient with Vibrio metschnikovii: A case report. J Med Case Rep. 2014;8(1):8–10.
269. Uh Y, Park SD, Son JS et al. Identificatiion,Antimicrobial Susceptibility an Epidemiology of Klebsiella species Isolated from Clinical Specimen. Korean J Clin Microbiol [Internet]. 2000;3(2):99–110. Available from: https://www.koreamed.org/SearchBasic.php?RID=1892740
270. Elamreen F. Neonatal sepsis due to multidrug-resistant Klebsiella terrigena in the neonatal intensive care unit in Gaza, Palestine. Crit Care [Internet]. 2007;11(Suppl 4):P12. Available from: http://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc5991
271. Goegele H, Ruttmann E, Aranda-Michel J, Kafka R, Stelzmueller I, Hausdorfer H, et al. Fatal endocarditis due to extended spectrum betalactamase producing Klebsiella terrigena in a liver transplant recipient. Wien Klin Wochenschr. 2007;119(11–12):385–6.
272. Hurrell E, Kucerova E, Loughlin M, Caubilla-Barron J, Hilton A, Armstrong R, et al. Neonatal enteral feeding tubes as loci for colonisation by members of the Enterobacteriaceae. BMC Infect Dis. 2009;9:146.
273. Shaikh MM, Morgan M. Sepsis caused by Raoultella terrigena. JRSM Short Rep. 2011;2(6):1–3.
274. Klebsiella P. DETERMINATION OF PLASMIDS ROLE IN BACTERIOCIN PRODUCTION FROM. 2016;(March).
275. Saeed C, AL-Otraqchi K, Mansoor I. Prevalence of urinary tract infections and antibiotics susceptibility pattern among infants and young children in Erbil city. Zanco J Med Sci. 2015;19(1):915–22.
276. Mohammed Y, Gadzama GB, Zailani SB, Aboderin AO. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase from Escherichia coli and Klebsiella species

from North Eastern Nigeria. J Clin Diagnostic Res. 2016;10(2):DC07-DC10.

277. Demiray T, Köroğlu M, Özbek A, Hafizoğlu T, Altındiş M. The first case of Raoultella terrigena infection in an infant. Turk J Pediatr. 2016;57(6):624–8.
278. Wang Y, Jiang X, Xu Z, Ying C, Yu W, Xiao Y. Identification of Raoultella terrigena as a Rare Causative Agent of Subungual Abscess Based on 16S rRNA and Housekeeping Gene Sequencing. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2016;2016:2–5.
279. Seifu WD, Gebissa AD. Prevalence and antibiotic susceptibility of Uropathogens from cases of urinary tract infections (UTI) in Shashemene referral hospital, Ethiopia. BMC Infect Dis. 2018;18(1):1–9.
280. Ejaz A, Khawaja A, Arshad F, Tauseef A, Ullah R, Ahmad I. Etiological Profile and Antimicrobial Patterns in Blood Culture Specimens in a Tertiary Care Setting. Cureus. 2020;12(10):2–6.

ДОДАТКИ

Додаток 1. Дозвіл на роботу зі збудниками III-IV груп патогенності.

5-966
0

ДЕРЖАВНА САНІТАРНО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА СЛУЖБА УКРАЇНИ
РЕЖИМНА КОМІСІЯ
при Головному управлінні
Держсанепідслужби уЛьвівській області

вул. Зелена, 12, м.Львів, 79005, тел.276-28-38, факс 275-35-48
E-mail:info@ses lviv.ua Код ЄДРПОУ 38287610

09.02.15 № 324/07-03 На №_____від_____

ДОЗВІЛ № 3 -2015 (5-966)
на роботу із збудниками III - IV груп патогенності

Виданий кафедрі мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького на роботу з мікроорганізмами III-IV груп патогенності (Esherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus spp., Bacillus spp.,Corynebacterium xerosis, Aerococcuc faecalis,Candida albicans) при проведенні бактеріологічних досліджень

На підставі:
1. Клопотання ректора Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького від 15.01.2015 року №01-14/25
2. Висновку головного державного санітарного лікаря Личаківського району м.Львова від 30.01.2015 року №105.
3. Акту обстеження Личаківського відділу ЛМУ ГУ ДСЕС у Львівській області (територіальною режимною комісією) від 19-20.01.2015 року.

Дозвіл виданий терміном на 5 років: **з 09.02.2015р.**
до 09.02.2020р.

Голова комісії О. Когут

Секретар О. Пушкарьова

Додаток 2. Загальна методика синтезу, фізико-хімічні, спектральні характеристики деяких синтезованих досліджуваних сполук, а також їхні структурні формули.

Фізико-хімічні та спектральні характеристики синтезованих сполук

Температури плавлення були виміряні відкритим капілярним методом Buchi B-545 і представлені в некорегованій формі. Значення даних елементного аналізу (S, N) знаходилися в межах ± 0,4% від теоретичних значень. 1H-ЯМР-спектри реєстрували на Varian Gemini 400 МГц в ДМСО-d_6 з використанням тетраметилсилану як внутрішнього стандарту. Хімічні зсуви наведені в мільйонних частках використанням δ шкали. Мас-спектри були отримані з використанням методу електроспреєвої іонізації (ESI) Agilent 1100 Series LCMS.

*Загальна методика синтезу 3-арил-1-(4-метил-2-піридинамінотіазол-5-іл)-пропенонів (**1.3-1.10**).* Суміш 0,0014 моль сполуки **1.1** або **1.2**, відповідного ароматичного альдегіду та *трет*-бутилату калію в 10 мл етанолу кип'ятять протягом 3-5 годин. Утворений осад відфільтровують, промивають етанолом, висушують і перекристалізовують із суміші ДМФА-етанол (1:2) або з оцтової кислоти.

Сполука 1.3. Вихід – 59 %, Т.пл. – 212-214 °С. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.65 с (с, 3H, CH_3), 7.02 т (1H, *J* = 5.8 Гц, пірид.), 7.10 д (1H, *J* = 8.0 Гц, пірид.), 7.50 д (1H, *J* = 15.6 Гц, =CH), 7.52 д (2H, *J* = 8.0 Гц, аром.), 7.69 д (1H, *J* = 15.6 Гц, =CHCO), 7.76 т (1H, *J* = 7.4 Гц, пірид.), 7.84 д (2H, *J* = 8.0 Гц, аром.), 7.84 т (1H, *J* = 7.4 Гц, пірид.), 8.37 д (1H, *J* = 4.0 Гц, пірид.), 11.80 с (1H, NH). ESI-MS m/z 356/358 $(M+H)^+$, (95.0%).

Сполука 1.4. Вихід – 65 %, Т.пл. – 212-214 °С. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.65 с (3H, CH_3), 7.01 т (1H, *J* = 5.8 Гц, пірид.), 7.09 д (1H, *J* = 8.0 Гц, пірид.), 7.40 т (2H, аром.) 7.45 д (1H, *J* = 15.0 Гц, =CH), 7.60 д (1H, *J* = 15.0 Гц, =CHCO), 7.65 д (2H, *J* = 7.6 Гц, аром.), 7.75 (т, 1H, *J* = 7.4 Гц, пірид.), 7.75 м (3H, аром., пірид.), 8.37 д (1H, *J* = 4.0 Гц, пірид.), 11.75 с (1H, NH). ESI-MS m/z 400/402 $(M+H)^+$, (98.0%).

Сполука 1.5. Вихід – 57 %, Т.пл. – 223-225 °С. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.56 (с, 3H, CH_3), 7.02 т (1H, *J* = 6.0 Гц, пірид.), 7.09 д (1H, *J* = 8.0 Гц, пірид.), 7.45 т (2H, *J* = 7.4 Гц, аром.), 7.48 д (1H, *J* = 15.4 Гц, =CH), 7.68 д (1H, *J* = 15.4 Гц, =CHCO), 7.76 т (1H, *J* = 7.4 Гц, пірид.), 7.80 м (2H, аром.), 8.39 д (д, 1H, *J* = 4.6 Гц, пірид.), 11.81 с (1H, NH). ESI-MS m/z 340 $(M+H)^+$, (95.5%).

Сполука 1.6. Вихід – 73 %, Т.пл. – 222-224 °С. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.66 с (3H, CH_3), 7.05 т (1H, *J* = 5.8 Гц, пірид.), 7.12 д (*J* = 8.0 Гц, пірид.), 7.28-7.40 м (2H, аром.), 7.48-7.56 м (2H, аром., =CH), 7.69 д (1H, *J* = 15.6 Гц, =CHCO), 7.79 т (1H, *J* = 7.4 Гц, пірид.), 7.96 т (1H, *J* = 7.4 Гц, аром.), 8.43 д (1H, *J* = 4.0 Гц, пірид.), 11.96 с (1H, NH). ESI-MS m/z 340 $(M+H)^+$, (96.3%).

Сполука 1.7. Вихід – 54 %, Т.пл. – 225-227 °С. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.66 с (3H, CH_3), 7.36 т (1H, *J* = 8.0 Гц, пірид.), 7.38 д (1H, *J* = 15.2 Гц, =CH), 7.51 д (2H, *J* = 7.8 Гц, аром.), 7.60 д (1H, *J* = 15.2 Гц, =CHCO), 7.81 д (2H, *J* = 7.8 Гц, аром.), 8.20 д (1H, *J* = 7.6 Гц, пірид.), 8.25 д (1H, *J* = 3.3 Гц, пірид.), 8.83 (с, 1H, пірид.), 11.28 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 356/358 $(M+H)^+$, (100.0%).

Сполука 1.8. Вихід – 83 %, Т.пл. – 198-200 °С.

Сполука 1.9. Вихід – 52 %, Т.пл. – 193-195 °С. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.65 с (3H, CH_3), 4.63 шс (2H, OCH_2), 5.29 м (1H, $=CH_2$), 5.42 м (1H, $=CH_2$), 6.07 м (1H, CH_2=<u>CH</u>), 7.04 с (1H, аром.), 7.35 м (5H, аром., =CH, пірид.), 7.56 д (1H, *J* = 15.2 Гц, =CHCO), 8.19 д (1H, *J* = 7.6 Гц, пірид.), 8.25 д (1H, *J* = 3.3 Гц, пірид.), 8.78 (с, 1H, пірид.), 11.07 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 378 $(M+H)^+$, (100.0%).

Сполука 1.10. Вихід – 59 %, Т.пл. – 235-237 °С. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.66 (с, 3H, CH_3), 7.29-7.36 м (4H, аром., =CH, пірид.), 7.62 д (1H, *J* = 15.6 Гц, =CHCO), 7.88 м (2H, аром.), 8.18 д (1H, *J* = 7.2 Гц, пірид.), 8.26 д (1H, *J* = 3.2 Гц, пірид.), 8.80 с (1H, пірид.), 11.07 с (1H, NH). ESI-MS m/z 340 $(M+H)^+$, (96.0%).

Сполука **1.11**. Вихід 58%, Т.пл. 165–167 °С (AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.82–7.84 (m, 3H, аром.), 8.12–8.18 (m, 6H, аром.), 8.29 (d, 1H, J = 8.4 Hz, аром.), 8.72 (s, 1H, аром.), 8.95 (s, 1H, CH), 12.88 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 115.2, 118.1, 123.2, 124.5, 127.4,128.2, 128.9, 129.4, 129.8, 130.0, 130.1, 131.0,

131.1, 132.8, 134.2, 135.2, 135.6, 142.9, 157.8, 169.8. ESI–MS m/z 389/391 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{22}H_{13}ClN_2OS$: C, 67.95; H, 3.37; N, 7.20. Знайдено: C, 67.80; H, 3.30; N, 7.30.

Сполука **1.12**. Вихід 55%, Т.пл. 168–170 °C (AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz,DMSO-d_6): δ 7.56 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, аром.), 7.67 (d, 2H, J = 8.7 Hz, аром.), 7.78 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, аром.), 7.87(s, 1H, CH), 8.18 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, аром.), 12.91 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 114.9, 116.2,120.0, 126.2, 128.9, 129.7, 134.5, 135.8, 137.1, 142.9, 151.3, 152.7, 160.9, 168.8. ESI–MS m/z 373/375 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{18}H_{10}Cl_2N_2OS$: C, 57.92; H, 2.70; N, 7.50. Знайдено: C, 57.80; H, 2.80; N, 7.70.

Сполука **1.13**. Вихід 50%, Т.пл. 270–272 °C (AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 6.86 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, аром.), 7.09–7.20 (m, 5H, аром., пірид.), 7.60 (d, 2H, *J* = 7.6 Hz, аром.), 7.79 (d, 1H, *J* = 7.9 Hz, пірид.), 8.47 (s, 1H, CH), 12.70 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 114.5, 118.2, 123.8, 125.5, 127.8, 128.5, 133.0, 135.7, 137.9, 145.5, 146.6, 148.0, 149.5, 158.0, 166.1. ESI–MS m/z 306 $(M+H)^+$. Вирахувано $C_{17}H_{11}N_3OS$: C, 66.87; H, 3.63; N, 13.76. Знайдено: C, 66.90; H, 3.50; N, 13.90

Сполука **1.14**. Вихід 61%, Т.пл. 185–187 °C (AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1.42 (s, 18H, CH_3), 7.44–7.49 (m, 6H, аром.,CH), 7.76 (s, 1H, OH), 8.09 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, аром.), 12.71 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d6): δ 30.6, 35.2, 114.4, 116.0, 120.2, 124.6, 127.1, 128.1, 129.2, 129.5, 138.6, 140.2, 152.8, 155.8, 159.9, 164.4. ESI–MS m/z 433 $(M+H)^+$. Вирахувано $C_{26}H_{28}N_2O_2S$: C, 72.19;H, 6.52; N, 6.48. Знайдено: C, 72.10; H, 6.40; N, 6.50.

Сполука **1.15**. Вихід 71%, Т.пл. 178–180 °C (AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3.85 (s, 3H, CH_3), 7.14 (d, 2H, J = 8.6 Hz, аром.), 7.56 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, аром.), 7.72 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz, аром.), 7.81 (s, 1H, CH), 8.15 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, аром.), 12.75 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 55.8, 114.6, 115.6, 115.7, 128.8, 129.1, 129.2, 129.5, 134.4, 137.3, 143.8, 151.2, 152.6, 160.8, 169.0. ESI–MS m/z 369/371 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{19}H_{13}ClN_2O_2S$: C, 61.87; H, 3.55; N, 7.59. Знайдено: C, 61.70; H, 3.40; N, 7.40.

Сполука **1.16**. Вихід 56%, Т.пл. 184–186 ˚С (AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3.83 (s, 3H, CH_3), 3.84 (s, 3H, CH_3), 7.05 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, аром.), 7.13 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, аром.), 7.69–7.72 (m, 3H, аром., CH), 8.08 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, аром.), 12.67 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 55.5, 114.5, 117.0, 120.1, 127.3, 128.7, 129.3, 134.3, 135.6, 137.0, 142.6, 152.2, 152.9, 160.1, 168.2. ESI–MS m/ z 365 $(M+H)^+$. Вирахувано $C_{20}H_{16}N_2O_3S$: C, 65.92; H, 4.43; N, 7.69. Знайдено: C, 65.80; H, 4.50; N, 7.60.

Сполука **1.17**. Вихід 65%, Т.пл. 236–238 ˚С (DMF/AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.49-7.55 (m, 3H, аром.), 7.63 (d, 2H, *J* = 6.8 Hz, аром.), 7.88 (s, 1H, CH), 12.94 (br.s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 119.3, 121.6, 127.9, 129.9, 130.4, 136.5, 143.6, 145.7, 151.4, 166.3, 168.7. ESI–MS m/z 273 $(M+H)^+$. Вирахувано $C_{13}H_8N_2O_3S$: C, 57.35; H, 2.96; N, 10.29. Знайдено: C, 57.40; H, 2.90; N, 10.40.

Сполука **1.18**. Вихід 67%, Т.пл. 315–317 ˚С (DMF/AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3.81 (s, 3H, OCH_3), 7.10 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz, аром.), 7.49 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz, аром.), 7.80 (s, 1H, CH), 13.04 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 55.9, 115.3, 119.3, 126.2, 127.1, 128.5, 131.9, 142.0, 145.1, 161.0, 166.2, 167.8. ESI–MS m/z 303 $(M+ H)^+$. Вираховано $C_{14}H_{10}N_2O_4S$: C, 55.62; H, 3.33; N, 9.27. Знайдено: C, 55.60; H, 3.40; N, 9.20.

Сполука **1.19**. Вихід 70%, Т.пл. 322–324 ˚С (DMF/AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.65 (d, 2H, *J* = 7.0 Hz, аром.), 7.72 (m, 3H, аром.), 7.89 (s, 1H, CH), 13.18 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 119.1, 121.6, 129.8, 129.9, 135.2, 135.3, 142.3, 145.4, 151.4, 166.2, 168.4. ESI–MS m/z 307/309 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{13}H_7ClN_2O_3S$: C, 50.91; H, 2.30; N, 9.13. Знайдено: C, 50.80; H, 2.40; N, 9.20.

Сполука **1.20**. Вихід 71%, Т.пл. 332–334 ˚С (DMF:AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.43 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, аром.), 7.76 (dd, 2H, *J* = 4.4, 6.4 Hz, аром.), 7.88 (s, 1H, CH), 13.15 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 116.8, 117.0, 119.3 (d, *J* = 5.0 Hz, C–F), 121.6, 130.3, 130.4, 132.8, 143.7 (d, *J* = 30.0 Hz, C–F), 146.0, 156.5 (d, *J* = 250.0 Hz, C–F), 166.2, 168.5. ESI–MS m/z 291 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{13}H_7FN_2O_3S$: C, 53.79; H, 2.43; N, 9.65. Знайдено: C, 53.60; H, 2.40; N, 9.70.

Сполука **1.21**. Вихід 75%, Т.пл. 338–340 ˚С (DMF:AcOH). 1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.23 (d, 1H, *J* = 16.3 Hz, CH), 7.38–7.44 (m, 3H, аром.), 7.57 (d, 1H, *J* = 16.3 Hz, CH), 7.76 (d, 2H, *J* = 6.9 Hz, аром.), 8.12 (s, 1H, CH), 13.15 (s,1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 117.1, 120.6, 123.2, 128.1, 129.3, 129.8, 136.0, 136.8, 139.6, 145.2, 151.4, 166.4, 168.5. ESI–MS m/z 299 $(M+H)^+$. Вирахувано $C_{15}H_{10}N_2O_3S$: C, 60.39; H, 3.38; N, 9.39. Знайдено: C, 60.30; H, 3.30; N, 9.50.

Сполука **1.22**. Вихід 75%, Т.пл. 318–320 ˚С (DMF:AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.38 (t, 1H, *J* = 4.4 Hz, тіофен.),7.80 (d, 1H, *J* = 4.6 Hz, тіофен.), 7.99 (d, 1H, *J* = 4.6 Hz, тіофен.), 8.11 (s, 1H, CH), 13.28 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 117.2, 118.9, 129.2, 129.5, 130.5, 136.2, 137.9, 145.5, 151.8, 166.1, 168.2. ESI–MS m/z 279 $(M+H)^+$. Вирахувано $C_{11}H_6N_2O_3S_2$: C, 47.47; H, 2.17; N, 10.07. Знайдено: C, 47.60; H, 2.10; N, 10.00.

*Загальна методика синтезу амідів 2-оксо-7-арил-2,3-дигідротіазоло[4,5-b]піридин-5-карбонових кислот (**3.13-3.18**)*. Розчин 0.01 моль хлорангідриду 2-оксо-7-арил-2,3-дигідротіазоло[4,5-*b*]піридин-5-карбонової кислоти в 10.0 мл діоксану додають до розчину 0.01 моль відповідного аміну та 0.01 моль триетиламіну в 10.0 мл безводного діоксану. Продукт реакції осаджують водою та перекристалізовують з з суміші ДМФА-оцтова кислота (1:2) або ДМФА-етанол (1:2).

Сполука **1.23**. Вихід 80%, Т.пл. 245-247 ºС (DMF:AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3.48-3.56 (m, 2H, морфолін), 3.61-3.66 (m, 2H, морфолін), 7.36-7.48 (m, 3H, CH, аром.), 7.74 (dd, 2H, *J* = 5.6, 8.4 Hz, аром.), 12.92 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 44.9, 45.5, 66.7, 67.2, 116.8, 117.0, 119.3 (d, *J* = 5.0 Hz, C–F), 121.4, 130.3, 130.4, 132.9, 142.6, 145.5 (d, J = 30.0 Hz, C–F), 151.4, 163.2 (d, J = 186.0 Hz, C–F), 166.2, 168.7. ESI-MS m/z 360 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{17}H_{14}FN_3O_3S$: C, 56.82; H, 3.93; N, 11.69. Знайдено: C, 56.70; H, 3.85; N, 11.52.

Сполука **1.24**. Вихід 75%, Т.пл. 324-326 ºС (DMF:AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.39-7.54 (m, 4H, аром.), 7.79 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, аром.), 7.86 (d, 2H, *J* = 7.6 Hz, аром.), 7.91 (s, 1H, CH), 10.44 (s, 1H, NH), 13.20 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100

MHz, DMSO-d_6): δ 116.8, 117.0, 119.3 (d, J = 5.0 Hz, C–F), 121.6, 125.2, 130.3, 130.4, 132.7, 137.0, 140.4, 145.7 (d, J = 30.0 Hz, C–F), 151.3, 155.7, 163.3 (d, J = 198.0 Hz, C–F), 166.2, 168.5. ESI-MS m/z 400/402 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{19}H_{11}ClFN_3O_2S$: C, 57.08; H, 2.77; N, 10.51. Знайдено: C, 57.20; H, 2.65; N, 10.40.

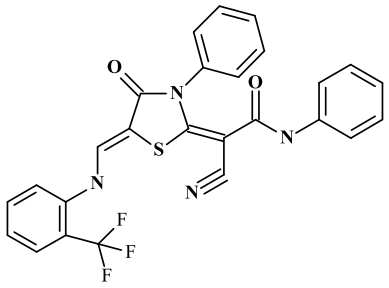
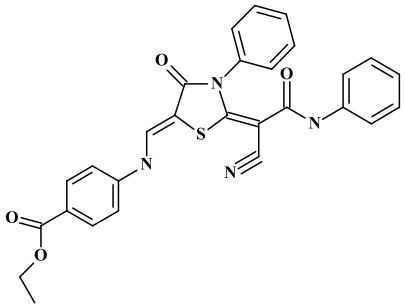
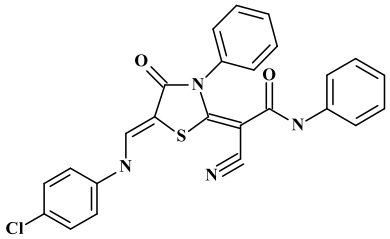
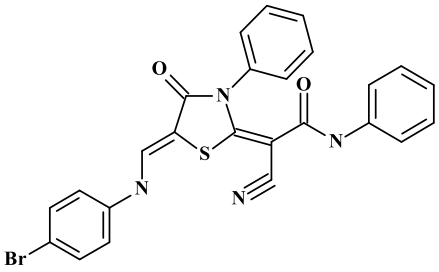
Сполука **1.25**. Вихід 78%, Т.пл. 255-257 ºC (DMF:AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.28 (s, 3H, CH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 7.14-7.19 (m, 4H, аром.), 7.67-7.69 (m, 4H, аром.), 7.90 (s, 1H, CH), 10.12 (s, 1H, NH), 12.95 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 21.0, 55.9, 115.4, 116.4, 120.2, 128.5, 129.5, 129.7, 133.6, 136.1, 143.9, 147.8, 150.3, 161.0, 162.5, 168.8. ESI-MS m/z 392 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{19}H_{11}Cl_2N_3O_2S$: C, 54.82; H, 2.66; N, 10.09. Знайдено: C, 54.91; H, 2.55; N, 10.19.

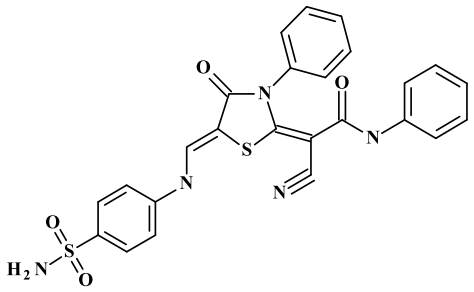
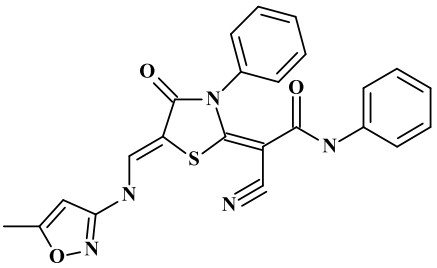
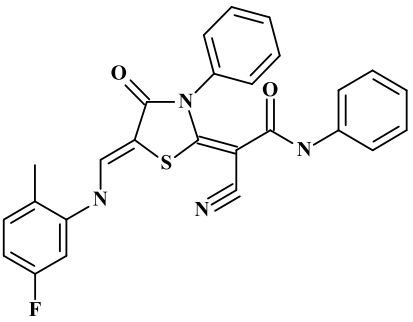
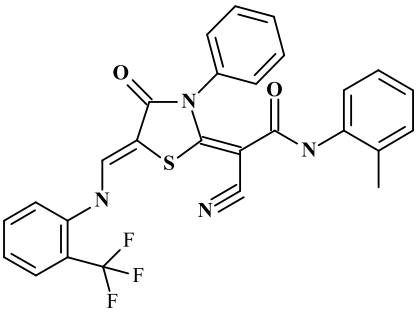
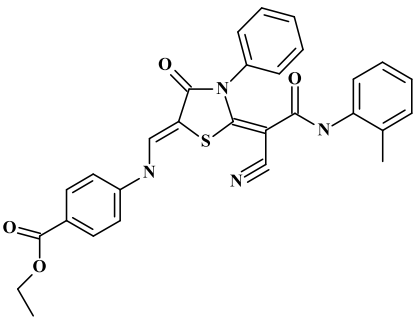
Сполука **1.26**. Вихід 67%, Т.пл. 300-302 ºC (DMF:AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3.83 (s, 3H, OCH_3) 7.14 (d, 2H, J = 8.8 Hz, аром.), 7.55 (d, 2H, J = 8.9 Hz, аром.), 7.68 (d, 2H, J = 8.8 Hz, аром.), 7.79 (d, 2H, J = 8.9 Hz, аром.), 7.89 (s, 1H, CH), 10.39 (s, 1H, NH), 12.95 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 55.9, 115.4, 116.2, 116.5, 120.5, 122.4, 128.5, 129.5, 132.1, 143.8, 147.5, 150.5, 161.0, 163.1, 168.8. ESI-MS m/z 457 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{20}H_{14}BrN_3O_3S$: C, 52.64; H, 3.09; N, 9.21. Знайдено: C, 52.80; H, 3.15; N, 9.12.

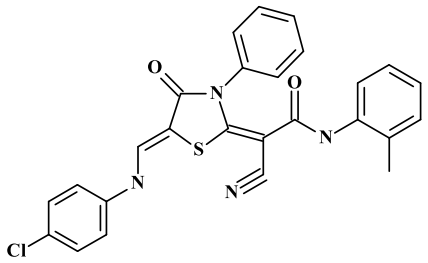
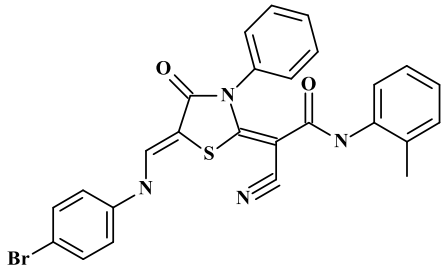
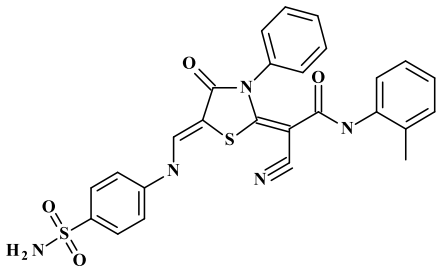
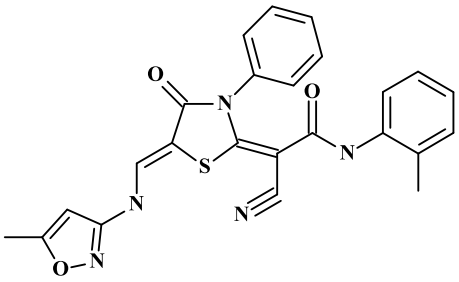
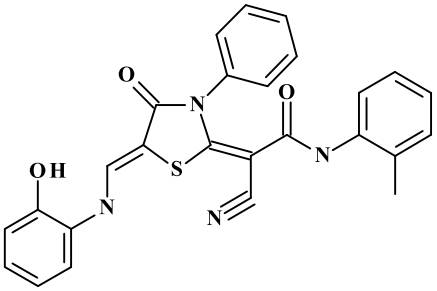
Сполука **1.27**. Вихід 70%, Т.пл. 306-308 ºC (DMF:AcOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.42 (d, 2H, J = 8.5 Hz, аром.), 7.65 (d, 2H, J = 8.2 Hz, аром.), 7.73 (d, 2H, J = 8.2 Hz, аром.), 7.84 (d, 2H, J = 8.5 Hz, аром.), 7.90 (s, 1H, CH), 10.38 (s, 1H, NH), 13.03 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 116.9, 121.1, 122.1, 128.2, 129.2, 130.0, 135.2, 135.3, 137.6, 142.9, 147.7, 150.4, 162.9, 168.6. ESI-MS m/z 417/419 $(M+H)^+$. Вираховано $C_{19}H_{11}Cl_2N_3O_2S$: C, 54.82; H, 2.66; N, 10.09. Знайдено: C, 54.91; H, 2.55; N, 10.19.

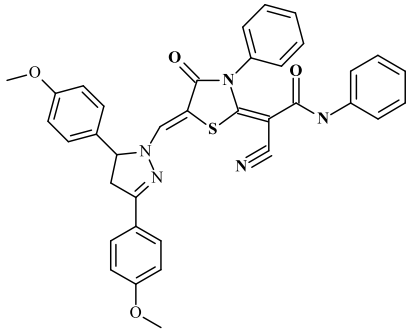
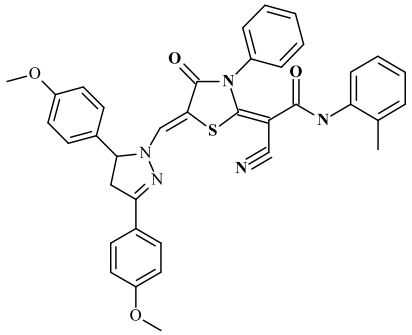
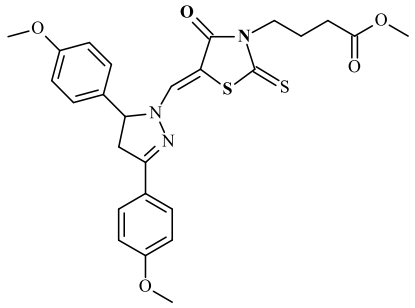
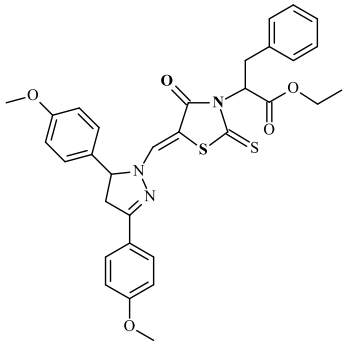
Сполука **1.28**. Вихід 64%, Т.пл. 430-432 ºC (DMF:EtOH). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.72 (brs, 2H, CH_2), 2.87 (brs, 2H, CH_2), 4.87 (s, 1H, OH), 7.59 (d, 2H, J = 8.6 Hz, аром.), 7.68 (d, 2H, J = 8.6 Hz, аром.), 7.94 (s, 1H, CH), 8.47 (s, 1H, NH), 12.45 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 47.1, 58.4, 119.1, 121.6, 129.8, 129.9, 135.2, 135.3, 142.3, 145.7, 151.4, 166.2, 168.4. ESI-MS m/z 350/352 $(M+H)^+$.

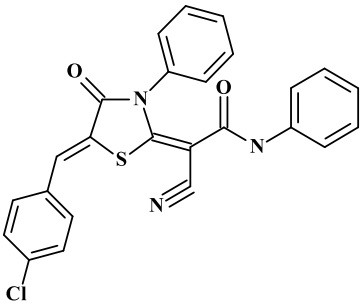
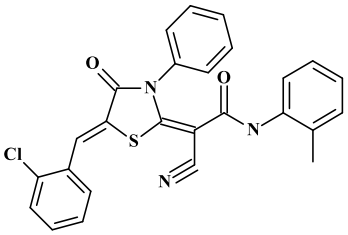
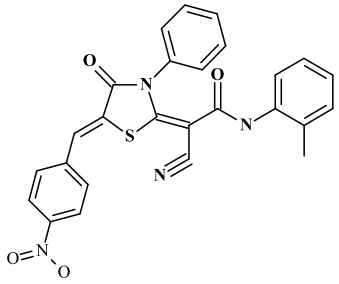
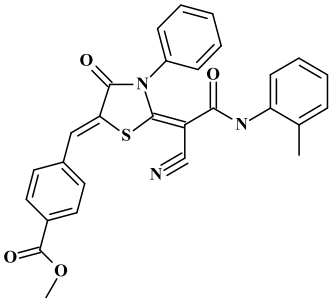
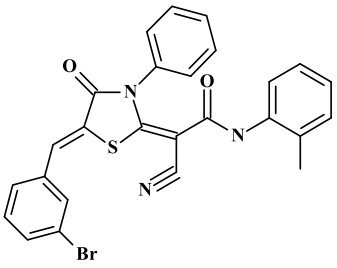
Вираховано $C_{15}H_{12}ClN_3O_3S$: C, 51.51; H, 3.46; N, 12.01. Знайдено: C, 51.41; H, 3.55; N, 12.11.

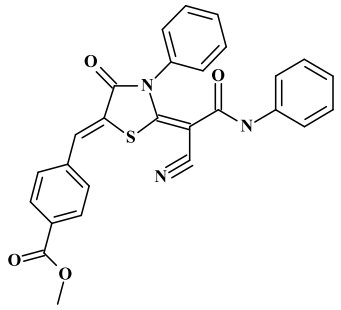
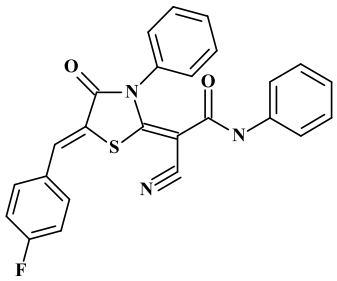
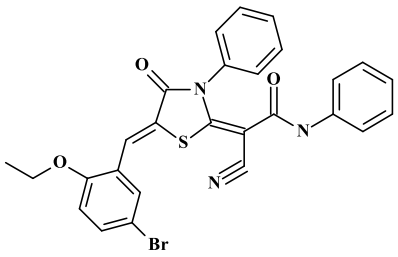
	Лабораторний шифір ID	**Структура**	**Mw**
1	**2**	**3**	**4**
1.	6182		506.5
2.	6192		510.56
3.	6202		472.95
4.	6211		517.4

1	2	3	4
5.	6209		517.58
6.	6235		443.48
7.	6217		470.52
8.	6247		520.5
9.	6249		524.6

1	2	3	4
10.	6248		486.97
11.	6254		531.42
12.	6251		531.61
13.	6253		457.5
14.	6255		468.53

1	2	3	4
15.	6259		627.51
16.	6260		641.74
17.	6257		525.64
18.	6273		601.74

1	2	3	4
20.	2452		457.93
21.	2486		471.96
22.	2487		484.53
23.	2493		495.55
24.	2494		516.41

1	2	3	4
25.	2499		479.55
26.	2532		441.48
27.	2530		546.44

Додаток 3. Кількість зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні (абсолютні цифри) за період 2009-2020 років відповідно до локалізації інфекційного процесу (дані Центру громадського здоров'я України).

Найменування захворювань	**Шифр за МКХ-10**	**2020**	**2019**	**2018**	**2017**	**2016**	**2015**	**2014**	**2013**	**2012**	**2011**	**2010**
Внутрішньолікарняні інфекції, всього:		1463	2611	3216	3195	3614	4611	5422	6592	7253	7448	6929
у т.ч.: Інфекції органів нервової системи	G 00.1-G00.3, G00.8, G00.9, G01, G02.1, G02.8, G04, G05.0, G05.2, G06.0- G07	30	21	100	12	8	5	12	5	24	23	17
Інфекції органів ока та придаткового апарату	H01.8, H05.0, H15.0, H15.1, H16.1 -H16.3, H20, H30, H44, H59	36	46	67	54	49	165	240	429	523	458	390
Інфекції вуха та соскоподібного відростка	H60.0, H61.0, H66.0, H68.0, H70.0, H70.2, H70.8, H73.0, H81.2, H83.0, H95.8, H95.9	13	24	238	18	107	52	103	339	275	213	147
Інфекції органів серцево-судинної системи	I30.1, I33.0, I40.0, I77, I80.0-I80.2, I80.8, K75.1	4	86	15	9	25	32	86	133	188	149	77
Інфекції органів дихання	J01-J06, J12-J16, J18, J20-J21, J85, J86	162	162	120	124	193	243	317	690	656	850	850
Інфекції органів травлення	K04- K06, K 10-K14, K29, K57, K61, K63, K65,K75, K81.0, K82,K83, K85	59	75	116	75	263	63	105	148	325	228	218
Інфекції шкіри та підшкірної клітковини	L02.0-L02.8, L03, L94.8, L98.6	226	182	380	352	191	522	523	684	827	590	579
Інфекції кістково-м'язової системи і сполучної тканини	M46, M49, M50, M65, M71, M86	19	74	135	116	248	76	121	133	113	142	57
Інфекції сечовивідних шляхів	N10-N12, N13.6, N15.1, N30, N34.0, N39.0	32	206	246	214	281	458	563	612	501	478	435
Інфекції репродуктивних органів	N41.2, N45, N49, N61, N70, N71, N73, N75.1, N76	96	41	93	383	232	271	137	571	550	354	239
Інфекції вагітності, пологів та післяпологового періоду	O 08.0, O23, O26.4, O75.2-3, O85, O86, O88.3, O91, O98	241	236	304	385	339	668	930	858	968	1035	1099
Інфекції окремих станів, що виникають в перинатальному періоді	Окремі A 00-B 99, P00.2, P23, P35-P39, P58.8	227	427	436	654	420	460	501	540	734	1024	907
Інфекції, що виникають внаслідок хірургічних та терапевтичних втручань	T 79.3, T80.2, T81.4, T84.5-T84.7, T85.7, T87.4, T88.0	275	940	862	728	1200	1494	1683	1401	1470	1716	1698
Гострі кишкові інфекції	A.00-A09	1	21	25	23	6	26	34	5	24	41	65

Вірусний гепатит А	B15	0						9		3	1	1
Вірусний гепатит В	B16	11	11	21	20	30	22	16	8	25	54	79
Вірусний гепатит С	B17.1	1	6	6	8	19	21	10	11	11	13	19
Інші неуточнені інфекційні хвороби, які не ввійшли до переліку	B99	30	18	52	20	3	33	32	25	36	79	52

*Загалом у 2019 році (2611 випадків), включно 35 некласифікованих випадків.

Додаток 4. Географічний розподіл кількості зареєстрованих випадків ІПНМД в Україні за областями у 2009-2020 рр (абсолютні числа).

Області	Зареєстровано випадків захворювань всього / роки										
	2020	2019	2018	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010
АР Крим								39	65	71	84
Вінницька	21	35	30	33	62	69	60	50	73	91	100
Волинська		1	3	3	3	2	8		3	5	13
Дніпровська	21	66	66	55	60	56	116	141	137	147	173
Донецька	22	47	110	59	49	41	54	378	447	709	619
Житомирська	12	12	32	35	25	24	26	31	64	114	92
Закарпатська			1			5		27	20	22	30
Запорізька	19	22	15	43	33	40	21	27	50	69	92
Івано-Франківська	2	2	10	9	10	6	2	9	11	21	19
Київська	9	36	37	66	50	94	150	137	251	203	84
Кропивницька		7	8	12	15	8	8	9	15	24	30
Луганська	2	19	7	8	2	3	5	26	60	89	80
Львівська	7	4	17	14	23	26	22	16	36	51	80
Миколаївська	1	25	14	23	17	38	49	41	43	70	77
Одеська	1287	2165	2740	2683	3076	3868	4668	5386	5546	5076	4478
Полтавська	5	42	25	28	26	26	22	26	36	58	59
Ровенська	2	22	24		5	4	3	13	20	34	31
Сумська	1	20		3	7	10	9	8	10	12	25
Тернопільська		3	2	5	3	8	8	12	10	13	19
Харківська	8	24	24	23	29	35	38	34	52	124	232
Херсонська	25	28	16	22	14	21	24	14	27	20	21
Хмельницька	1	4	3	3	2	2	3	2	16	34	42
Черкаська	4	5	10	10	10	12	23	26	76	103	97
Чернівецька	6	8	8	36	57	150	36	34	98	120	95
Чернігівська	1	4	4	3	11	20	16	8	16	10	15
м.Київ	7	10	10	19	25	43	51	93	66	145	238
м.Севастополь								5	5	13	4
УКРАЇНА	1463	2611	3216	3195	3614	4611	5422	6592	7253	7448	6929

Додаток 5. Кількість зареєстрованих випадків ІПНМД у Львівській області (абсолютні цифри) за період 2009-2020 років відповідно до локалізації інфекційного процесу (дані Центру громадського здоров'я України).

Найменування захворювань	Шифр за МКХ-10	2020	2019	2018	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010
Внутрішньолікарняні інфекції, всього:		7	4	17	14	23	26	22	16	36	51	80
у т.ч.: Інфекції органів нервової системи	G 00.1-G00.3, G00.8, G00.9, G01, G02.1, G02.8, G04, G05.0, G05.2, G06.0- G07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Інфекції органів ока та придаткового апарату	H01.8, H05.0, H15.0, H15.1, H16.1 -H16.3, H20, H30, H44, H59	0	0	1	0	0	1	3	1	0	0	0
Інфекції вуха та соскоподібного відростка	H60.0, H61.0, H66.0, H68.0, H70.0, H70.2, H70.8, H73.0, H81.2, H83.0, H95.8, H95.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Інфекції органів серцево-судинної системи	I30.1, I33.0, I40.0, I77, I80.0-I80.2, I80.8, K75.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Інфекції органів дихання	J01-J06, J12-J16, J18, J20-J21, J85, J86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3
Інфекції органів травлення	K04- K06, K 10-K14, K29, K57, K61, K63, K65,K75, K81.0, K82,K83, K85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Інфекції шкіри та підшкірної клітковини	L02.0-L02.8, L03, L94.8, L98.6	0	0	0	1	3	1	6	1	3	1	8
Інфекції кістково-м'язової системи і сполучної тканини	M46, M49, M50, M65, M71, M86	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Інфекції сечовивідних шляхів	N10-N12, N13.6, N15.1, N30, N34.0, N39.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Інфекції репродуктивних органів	N41.2, N45, N49, N61, N70, N71, N73, N75.1, N76	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1
Інфекції вагітності, пологів та післяпологового періоду	O 08.0, O23, O26.4, O75.2-3, O85, O86, O88.3, O91, O98	0	0	2	0	4	0	2	7	24	22	17
Інфекції окремих станів, що виникають в перинатальному періоді	Окремі A 00-B 99, P00.2, P23, P35-P39, P58.8	0	0	0	0	0	0	0	2	4	6	11
Інфекції, що виникають внаслідок хірургічних та терапевтичних втручань	T 79.3, T80.2, T81.4, T84.5-T84.7, T85.7, T87.4, T88.0	0	0	0	1	3	5	1	4	0	8	10

Гострі кишкові інфекції	A.00-A09	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
Вірусний гепатит А	B15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Вірусний гепатит В	B16	6	4	11	10	12	12	7	1	3	9	24
Вірусний гепатит С	B17.1	1	0	3	1	1	5	3	0	1	2	4
Інші неуточнені інфекційні хвороби, які не ввійшли до переліку	B99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

Додаток 6. Критерії встановлення діагнозу ІПНМД в Україні, відповідно до рекомендацій Центру Громадського Здоров'я України.

Епідеміологічні зв'язки при ІПНМД:

1. початок появи симптомів спостерігався на третій день перебування у лікарні або пізніше (день госпіталізації рахується першим днем)

2. пацієнт переніс хірургічну операцію на перший або другий день після госпіталізації, і у нього розвиваються ознаки ІПНМД протягом перших трьох днів його перебування у лікарні

3. пацієнту був встановлений інвазивний пристрій на перший або другий день, що призвело до виникнення ІПНМД протягом трьох днів перебування в лікарні

4. пацієнт має ознаки інфекції та був повторно госпіталізований менше ніж через 48 годин після попереднього перебування на стаціонарному лікуванні

5. пацієнт був госпіталізований з інфекцією, яка відповідає визначенню випадку ІПНМД, і або має симптоми, які відповідають визначенню випадку захворювання та/або проходить лікування протимікробними препаратами від цієї інфекції

6. пацієнт був госпіталізований (або у нього розвинулися симптоми протягом двох днів) з інфекцією, викликаною *Clostridium difficile* менш ніж за 28 днів після попередньої виписки з лікарні

Активна ІПНМД реєструється якщо:

• ознаки та симптоми інфекції присутні у день проведення дослідження

або

• проходить лікування від цієї інфекції на дату проведення дослідження

ІПХВ

1. післяопераційне інфікування відбулося протягом 30 днів після операції (або у випадку хірургічного втручання із встановленням імплантату мала місце глибока ІПХВ органу/порожнини, яка розвинулася протягом 90 днів після операції)

2. інфекції, які виникають тільки на шкірі та у підшкірних тканинах в ділянці хірургічного розрізу та принаймні одне з наведеного нижче:

a. гнійні виділення з поверхні розрізу з лабораторним підтвердженням або без нього;

b. виділення мікроорганізмів при дослідженні рідини або тканини, яка отримана із ділянки поверхні розрізу з дотриманням вимог асептики;

c. принаймні одна з наступних ознак або один із симптомів, що відповідають наявності інфекції: біль або болісні відчуття, локалізований набряк, почервоніння або підвищення температури шкіри у ділянці, що межує із розрізом

d. та поверхневий розріз навмисно розкривається хірургом, окрім тих випадків коли є негативний результат бактеріологічного дослідження матеріалу з рани;

e. діагноз ІПХВ встановлено хірургом або практикуючим лікарем

Катетер-асоційовані інфекції кровотоку (КАІК)

Локальні, пов’язані з ЦСК/ПСК:

1. кількісний показник культури крові отриманої з ЦСК/ПСК $\geq 10^3$ КУО/мл або напівкількісний показник культури отриманий з ЦСК/ПСК > 15 КУО

2. та наявні гнійні виділення або запалення у місці введення катетера чи підшкірному тунелі сформованому внаслідок його встановлення.

Генералізовані, пов’язані з ЦСК/ПСК

1. кількісний показник культури отриманої з ЦСК/ПСК $\geq 10^3$ КУО/мл або напівкількісний показник культури отриманої з ЦСК/ПСК > 15 КУО

2. та клінічна картина покращилася (зникли/зменшилися симптоми хвороби) протягом 48 годин після видалення ЦСК.

3. Мікробіологічно підтверджена КАІК пов'язана з ЦСК/ПСК

4. виникає протягом 48 годин після постановки катетеру або після його видалення та виділення культури мікроорганізмів з:

5. кількісний показник культури отриманої з ЦСК/ПСК $\geq 10^3$ КУО/мл або напівкількісний показник культури отриманої з ЦСК/ПСК > 15 КУО;

6. або позитивна культура з тим же мікроорганізмом зі зразка гною, взятого з місця введення катетеру.

КАІК з ЦСК:

1. або кількісне співвідношення КУО/мл культур крові отриманих з ЦСК та шляхом забору периферичної крові > 5;

2. або диференційна затримка позитивної культури крові: культура мікроорганізмів, отримана з ЦВК на дві або більше годин раніше ніж з периферичної крові (зразки крові повинні бути відібрані одночасно);

Інфекція, викликана *Clostridium difficile*

1. у пацієнта наявні діарея або токсичний мегаколон

2. та позитивний лабораторний аналіз на *Clostridium difficile* – позитивний аналіз на токсин А та/або токсин В у випорожненнях або винайдення *Clostridium difficile*, яка утворює токсини, що були виявлені у зразку калу шляхом виділення культури або іншим способом (наприклад, позитивний результат полімеразної ланцюгової реакції);

3. псевдомембранозний коліт, виявлений шляхом колоноскопії;

4. гістопатологічна характеристика КДІ товстого кишківника (незважаючи на наявність або відсутність діареї у пацієнта) при аналізі зразка, отриманого під час колоноскопії, колонектомії або розтину

Вентилятор-асоційована пневмонія (ВАП)

Визначається як така, що пов'язана з інтубацією, якщо був використаний інвазивний тип штучної вентиляції легень (навіть з перервами) за 48 годин до початку проявів захворювання

1. Ознаки пневмонії на рентгенограмі або КТ

2. Та принаймі один з симптомів:

a. лихоманка (температура > 38°C) без будь-якої іншої можливої причини;

b. лейкопенія (< $4{,}0\times10^9$/л) або лейкоцитоз (≥ $12{,}0\times10^9$/л)

c. та принаймні один симптом з наведених нижче або принаймні два симптоми у разі встановлення діагнозу клінічно:

a) вперше виявлене гнійне мокротиння або зміна характеру мокротиння (колір, запах, кількість, консистенція);

b) кашель або ядуха, або тахіпное;

c) аускультативні дані характерні для пневмонії (бронхіальне дихання, хрипи, візинг);

d) погіршення газообміну (наприклад, зниження концентрації кисню в крові або підвищена потреба у кисні, або потреба у інтубації та штучній вентиляції легень)

Мікробіологічні критерії діагностики ВАП

Виділення культури мікроорганізмів з кількісною оцінкою при дослідженні зразка з нижніх дихальних шляхів з низькою вірогідністю контамінації:

1. бронхо-альвеолярний лаваж з пороговим значенням $\geq 10^4$ КУО/мл або $\geq$ 5% клітин, отриманих з бронхо-альвеолярного лаважу, містять внутрішньоклітинні бактерії при проведенні прямого мікроскопічного дослідження;

2. забір проб захищеним катетером-щіткою з пороговим показником $\geq 10^3$ КУО/мл;

3. дистальний захищений аспірат з пороговим значенням $\geq 10^3$ КУО/мл;

Виділення культури мікроорганізмів з кількісною оцінкою з потенційно контамінованого зразка нижніх дихальних шляхів:

виділена культура мікроорганізмів з кількісною оцінкою при дослідженні зразка з нижніх дихальних шляхів (наприклад, ендотрахеальний аспірат) з пороговим показником 10^6 КУО/мл;

ВАП альтернативні мікробіологічні методи:

1. позитивний результат бактеріологічного дослідження крові, який не може бути поясненим наявністю іншого джерела інфекції;

2. позитивний ріст культури мікроорганізмів при дослідженні зразка плевральної рідини;

3. плевральний або легеневий абсцес з позитивною аспіраційною біопсією;

4. гістологічне дослідження легень свідчить про пневмонію;

5. позитивні дослідження на наявність вірусу або конкретного збудника (наприклад, виявлення мікроорганізмів роду *Legionella, Aspergillus, Mycobacterium, Mycoplasma або Pneumocystis jirovecii*);

6. виявлення вірусних антигенів або антитіл до нього при дослідженні зразка мокротиння (наприклад, методом ІФА чи ПЛР);

7. позитивне пряме дослідження чи виділення культури мікроорганізмів при дослідженні бронхіальних секретів або тканин;

8. сероконверсія (наприклад, при грипі або пневмонії, що спричинена легіонелами або хламідіями);

9. виявлення антигенів в сечі (наприклад, *Legionella*);

10. виділення культури мікроорганізмів при дослідженні мокротиння або якісний аналіз культури виділеної при дослідженні зразків нижніх дихальних шляхів;

11. немає мікробіологічного підтвердження.

ІСВШ

Визначається як така, що пов’язана з застосовуванням постійного сечового катетера (навіть якщо застосовували періодично) у разі його використання за сім днів до початку інфекції.

Мікробіологічно підтверджена:

1. наявні принаймні одна з таких ознак або один із симптомів без будь-якої іншої встановленої причини: лихоманка (температура > 38°C), невідкладний позив до сечовипускання, часте сечовипускання, дизурія або болісні відчуття у надлобковій ділянці

2. та виділено культуру мікроорганізмів при дослідженні сечі, тобто ≥ 10^5/мл сечі з не більше ніж двома видами мікроорганізмів.

Не підтверджена мікробіологічно або симптоматична інфекція сечовивідних шляхів:

Наявні як мінімум дві ознаки з пункту 1 та одна ознака з пункту 2, без будь-якої іншої встановленої причини:

1. лихоманка (температура > 38°C), невідкладний позив до сечовипускання, часте сечовипускання, дизурія або болісні відчуття у надлобковій ділянці

2. та пацієнт має як мінімум одну ознаку з наведених нижче:

a) позитивний аналіз сечі, проведений з використанням індикаторної смужки для визначення лейкоцитарної естерази та/або нітратів;

b) показник лейкоцитурії у зразку сечі ≥ 10^4 лейкоцитів/мл;

c) мікроорганізми виявлено при фарбуванні зразку неочищеної сечі за методом Грама;

d) принаймні два бактеріологічні дослідження сечі з повторною ізоляцією одного і того ж уропатогену (грамнегативних бактерій або *Staphylococcus saprophyticus*) з ≥ 10*2* КУО/мл сечі, зразок якої було отримано шляхом аспірації або катетеризації;

e) наявність при бактеріологічному дослідженні сечі ≤ 10^5 КУО/мл мікроорганізму одного виду (грамнегативних бактерій або *Staphylococcus saprophyticus*) у пацієнта, який проходить лікування інфекції сечовивідних шляхів із застосуванням ефективного протимікробного препарату;

f) лікар встановив діагноз інфекції сечовивідних шляхів;

g) лікар призначив відповідну терапію інфекції сечовивідних шляхів

Додаток 7. Огляд усіх зареєстрованих випадків зараження *Vibrio metschnikovii* (опублікованих до 2020 року).

Автор (посилання)	Рік	Стать/вік	Країна	джерело інфекції	Супутні захворювання	Type of infection	Супутні інфекції	Основні клінічні симптоми	Чутливий до	Стійкість до	Лікування антибіотиками	Результат
[262]	1978	F/82	США	Немає інформації	гострий холецистит і висхідний холангіт), цукровий діабет	бактеріємія	Немає інформації	блювота, слабкість, озноб, діарея, біль у животі	Немає інформації	Немає інформації	тобраміцин і кліндаміцин	Вилікуваний
[263]	1992	F/83	Норвегія	Немає інформації	інфаркт міокарда	Bacteraemia	Staphylococcus hominis, E. coli	біль у грудях, втрата свідомості, висока температура, озноб і нездужання	ампіцилін, цефалоспорини, фторхінолони та нетилміцин, ізолят Staphylococcus hominis не продукував β-лактамазу і був чутливий до цефалоспоринів, кліндаміцину, ванкоміцину та нетилміцину	Немає інформації	ampicillin	Вилікуваний

[264]	1993	M/70	Бельгія	Немає інформації	табагізм (куріння більше 50 років), зловживання алкоголем, інсулінозалежний діабет, ниркова недостатність, алкогольний цироз, порушення згортання крові та виразка дванадцятипалої кишки.	бактеріємія	Немає інформації	симптоми задишки III типу, слабкість, болі в животі, діарея, блювота, нудота, запаморочення та головний біль	Немає інформації	Немає інформації	Немає інформації	Помер від інфаркту міокарда
[264]	1993	F/82	Франція	Немає інформації	емфізема, астма, шкірні виразки ніг, серцева недостатність протягом останніх 2	Бактеріємія, зразки мазків з уражень ноги пацієнта	Vibrio metschnikovii в крові та Vibrio metschnikovii + суміш (Morganell	серйозні проблеми з задишкою, значна слабкість і серйозні ураження	Немає інформації	Немає інформації	Амоксициліну клавуланат, тобраміцин	Вилікуваний

					років і гіпертонія		a morganii, Serratia marcescens, Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae) у мазках із виразок ноги та плеврального випоту	шкіри нижніх кінцівок.				
[265]	1994-1995	п'ятеро немовлят 4 чол/1 жін Вік 11-20 місяців	Перу	Немає інформації	Немає інформації	зразок калу або ректальний мазок	Немає інформації	гостра діарея, включаючи часте виділення рідкого або напіврідкого стільця, у двох пацієнтів була	Немає інформації	ампіцилін, еритроміцин і стрептоміцин	Немає інформації	Немає інформації

								діарея з слідами крові.				
[242]	2004	M/64	Німеччина	Немає інформації	кардіохірургія	післяопераційна ранова інфекція	Немає інформації	Ознаки місцевого запалення включали еритему та виділення ексудату після тиску, але без болю	мезлоцилін, піперацилін, піперацилін-сульбактам, карбапенеми, цефалоспорини розширеного та широкого спектру дії, азтреонам, фторхінолони, триметоприм, фосфоміцин, тетрациклін та аміноглікозиди	ампіцилін і сульфаметоксазол	Немає інформації	Вилікуваний
[266]	2005	M/63	Франція	Немає інформації	Хронічне обструктивне захворювання легень	пневмонія	негемолітичні стрептококи	пов'язана з гострою дихальною недостатністю	Немає інформації	ампіцилін, тикарцилін, піперацилін та аміноглікозиди.	амоксицилін/клавуланова кислота, ципрофлоксацин	Вилікуваний
[267]	2008	F/49	Іспанія	Немає інформації	фіброміалгія та часто	інфіковані виразки ніг	Немає інформації	хвороблив і виразки	цефокситин (MIC < 8), амікацин (MIC =	амоксицилін (МІК > 16 мкг/мл),	іміпенем та амікацин	Вилікуваний

					інфіковані виразки ніг			на обох ногах	16), амоксицилін / клавуланова кислота (MIC < 4/2), іміпенем (MIC < 1), ципрофлоксацин (MIC < 0, 12) і триметоприм / сульфаметоксазол (MIC < 2/ 38)	цефазолін (МІК > 8), цефотаксим (МІК = 8), гентаміцин (МІК > 8), тобраміцин (МІК > 8		
[268]	2014	М/78	Данія	Немає інформації	біполярний розлад, множинна мієлома, остеопороз, рання пухлина гіпофіза та розвиток лобно-скроневої деменції.	бактеріємія	Немає інформації	біль, припухлість і почервоніння лівої спини стопи, лихоманка	Меропенем, піперацилін/тазобактам	ампіцилін	Меропенем, піперацилін/тазобактам	Вилікуваний
Дане дослідження	2019	М/70	Україна	Немає інформації	серцева недостатність, мультифокальний	судинний протез, бактеріємія	*Trichosporon spp (Candida guilliermondii)* із	повторна шлунково-кишкова кровотеча, біль у	Tab.4.10.	Tab.4.10	меропенем, метронідазол, флуконазол	Вилікуваний

					атеросклероз, судинні протези, хронічна виразка шлунка, шлунково-кишкова кровотеча, хронічне захворювання нирок		судинного протеза	животі, чорний стілець, кашель, задишка				

Додаток 8. Видовий спектр збудників ІПНМД, розподілений відповідно до досліджуваного біоматеріалу, загальна к-сть виділених ізолятів n=309.

Ізоляти мікроорганізмів	абс.числа	% від загального числа штамів	Кров, абс.числа	% від числа штамів окремого виду	Сеча, абс.числа	% від числа штамів окремого виду	БАА, абс.числа	% від числа штамів окремого виду	п/о рана, абс.числа	% від числа штамів окремого виду	Зів, абс.числа	% від числа штамів окремого виду
1. Грам позитивні мікроорганізми	109	35,3	13	11,9	24	22,0	47	43,1	21	19,3	4	3,7
***Staphylococcus spp* (total)**	52	16,8	12	23,1	8	15,4	16	30,8	16	30,8	0	0,0
· *Staphylococcus aureus subsp. aureus*	6	1,9	2	33,3	0	0,0	3	50,0	1	16,7	0	0,0
· *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*	3	1,0	0	0,0	0	0,0	1	33,3	2	66,7	0	0,0
· *Staphylococcus haemolyticus*	20	6,5	7	35,0	3	15,0	8	40,0	2	10,0		0,0
· *Staphylococcus epidermidis*	19	6,1	0	0,0	5	26,3	3	15,8	11	57,9	0	0,0
· *Staphylococcus simulans*	2	0,6	1	50,0	0	0,0	1	50,0	0	0,0	0	0,0
· *Staphylococcus lugdunensis*	2	0,6	2	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
***Enterococcus spp* (total)**	45	14,6	0	0,0	16	35,6	24	53,3	5	11,1	0	0,0
· *Enterococcus faecalis*	24	7,8	0	0,0	6	25,0	15	62,5	3	12,5	0	0,0
· *Enterococcus faecium*	21	6,8	0	0,0	10	47,6	9	42,9	2	9,5	0	0,0

· *Aerococcus viridans*	3	1,0	0	0,0	0	0,0	3	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Micrococcus caseolyticus*	1	0,3	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Streptococcus spp.*	4	1,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	100,0
· *Bacillus cereus*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Lactobacillus rhamnosus*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Kocuria marina*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Micrococcus luteus*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0
2. Грам негативні мікроорганізми	159	51,5	10	6,3	57	35,8	81	50,9	11	6,9	0	0,0
***Pseudomonas spp* (total)**	50	16,2	6	12,0	4	8,0	35	70,0	5	10,0	0	0,0
· *Pseudomonas aeruginosa*	40	12,9	4	10,0	4	10,0	32	80,0	0	0,0	0	0,0
· *Pseudomonas putida*	5	1,6	0	0,0	0	0,0	1	20,0	4	80,0	0	0,0
· *Pseudomonas xanthomarina*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Pseudomonas stutzeri*	1	0,3	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Pseudomonas monteilii*	1	0,3	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Pseudomonas mendicola*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0
· *Pseudomonas ozyzihabitans*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Aeromonas ichthiosmia*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0

· *Alcaligenes faecalis group*	14	4,5	0	0,0	9	64,3	1	7,1	4	28,6	0	0,0
· *Burkholderia spp.*	9	2,9	0	0,0	0	0,0	9	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Serratia fonticola*	1	0,3	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Citrobacter sedlakii*	8	2,6	0	0,0	6	75,0	2	25,0	0	0,0	0	0,0
· *Citrobacter freundii*	3	1,0	0	0,0	3	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Escherichia coli*	21	6,8	3	14,3	14	66,7	3	14,3	1	4,8	0	0,0
· *Raoultella terrigena*	2	0,6	0	0,0	0	0,0	2	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Raoultella ornithinolytica*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Pragia fontium*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Morganella morganii*	2	0,6	0	0,0	0	0,0	2	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Achromobacter xylosoxidans*	3	1,0	0	0,0	0	0,0	3	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Proteus mirabilis*	5	1,6	0	0,0	3	60,0	2	40,0	0	0,0	0	0,0
· *Enterobacter cloacae*	2	0,6	0	0,0	2	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Serratia ureilytica*	1	0,3	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Serratia marcescens*	1	0,3	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Edwardsiella*	1	0,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0
***Klebsiella spp* (total)**	33	10,7	0	0,0	14	42,4	19	57,6	0	0,0	0	0,0
· *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumonia*	16	5,2	0	0,0	2	12,5	14	87,5	0	0,0	0	0,0

· *Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae*	5	1,6	0	0,0	0	0,0	5	100,0	0	0,0	0	0,0
· *Klebsiella oxytoca*	12	3,9	0	0,0	12	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
3. Гриб ки	41	13,3	17	41,5	21	51,2	2	4,9	1	2,4	0	0,0
***Candida albicans* (total)**	17	5,5	4	23,5	11	64,7	2	11,8	0	0,0	0	0,0
· *Candida albicans*	15	4,9	2	13,3	11	73,3	2	13,3	0	0,0	0	0,0
· *Candida albicans (africana)*	2	0,6	2	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
***Candida non-albicans* (total)**	20	6,5	11	55,0	9	45,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Candida glabrata*	2	0,6	2	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Candida kefyr*	2	0,6	1	50,0	1	50,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Candida guilliermondii*	9	2,9	3	33,3	6	66,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Candida parapsilosis*	2	0,6	2	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Candida krusei*	1	0,3	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Candida tropicalis*	2	0,6	0	0,0	2	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Candida lusitaniae*	1	0,3	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
· *Candida utilis*	1	0,3	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
інші грибки	4	1,3	2	50,0	1	25,0	0	0,0	1	25,0	0	0,0
· *Saccharomyces cerevisae*	3	1,0	1	33,3	1	33,3	0	0,0	1	33,3	0	0,0
· *Rhodotorula mucilaginosa*	1	0,3	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

Додаток 9. Порівняльна характеристика клінічних випадків інфекції *Raoultella terrigena* (*Klebsiella terrigena*) у світі з 1988 по 2021 роки.

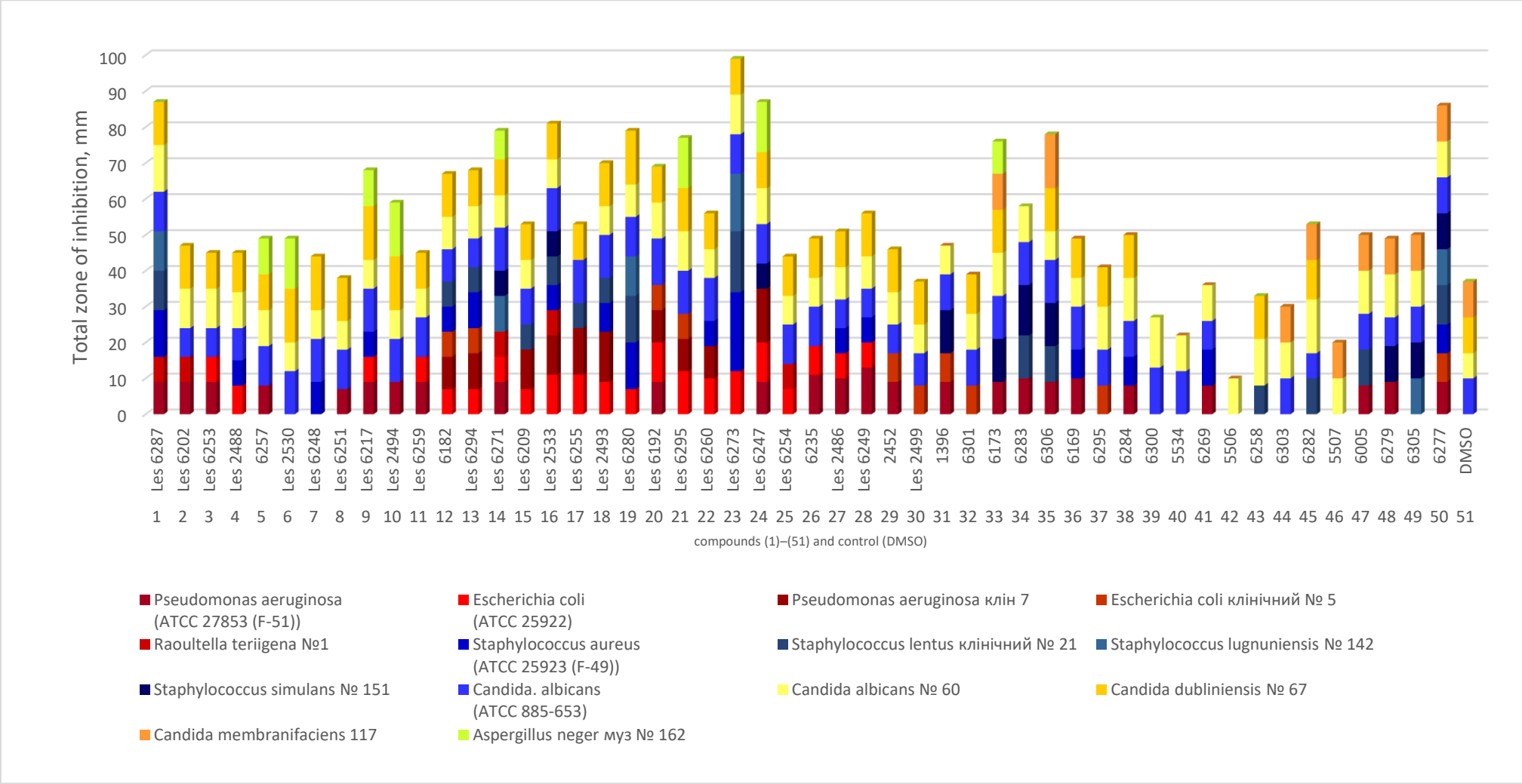
Автор (посилання)	**Країна**	**Рік**	**Кількість випадків**	**Історія хвороби/біоматеріал для тестування**	**Джерело інфекції**	**Лікування або чутливість до антибіотиків**	**Результат**
[235]	Німеччина	1988-1990	10	*Klebsiella terrigena* Дихальні шляхи (8), сеча (1), ранова інфекція (1)	Невідомо	не-MDR	Немає інформації
[234]	Німеччина	1990	50	*Klebsiella terrigena* Кал	Невідомо	не-MDR	Немає інформації
[269]	Південна Корея	1999	5	Дихальні шляхи (3), кров (1), аспірат (1)	Невідомо	не-MDR	Немає інформації
[236]	Німеччина	2000	72	50 випадків (кал) *Klebsiella terrigena* від здорових людей + 22 випадки з клінічних випадків (15 виділень з органів дихання, 1 посів крові, 2 сечі, 4 рани)	Невідомо	не-MDR	Немає інформації
[270]	Палестина (Газа)	2005	56	Кров новонародженого в реанімації	Невідомо	MDR	Немає інформації
[271]	Австрія	2007	1	45 років чоловік. Трансплантація печінки через гепатит С.	Невідомо	Піперацилін/тазобактам	Death
[272]	Об'єднане Королівство	2009	13	Зонди для годування були зібрані з двох відділень	Невідомо	не-MDR	Немає інформації

				інтенсивної терапії новонароджених			
[273]	Об'єднане Королівство	2011	1	69 років чоловік. Процедура Уіппла через рак підшлункової залози	Невідомо	Іміпенем, піперацилін/тазобактам	Успішне лікування
[274]	Ірак	2011	7	Зразки ран і крові	Невідомо	Немає інформації	Немає інформації
[275]	Ірак	2014	1	Сеча (1) у дитини	Невідомо	MDR	Немає інформації
[276]	Нігерія	2014	27	Респ мазок (4), сеча (15), кров (2), спинномозкова рідина (1), мокрота (3), гній (2)	Невідомо	Немає інформації	Немає інформації
[232]	Пакистан	2013-2018	58	дихальні шляхи (13), сечовивідні шляхи (12), кров (12)	Невідомо	меропенем плюс колістметат / >80% MDR	44,7% смертності
[277]	Туреччина	2015	13	Недоношена новонароджена. Матері зробили кесарів розтин через загрозу передчасних пологів.	Нозокоміальний	Цефоперазон / сульбактам	Успішне лікування
[278]	Китай	2016	1	63 роки чоловік. Хворобливий абсцес на великому пальці правої руки після травми.	Річкова вода	Іміпенем	Успішне лікування

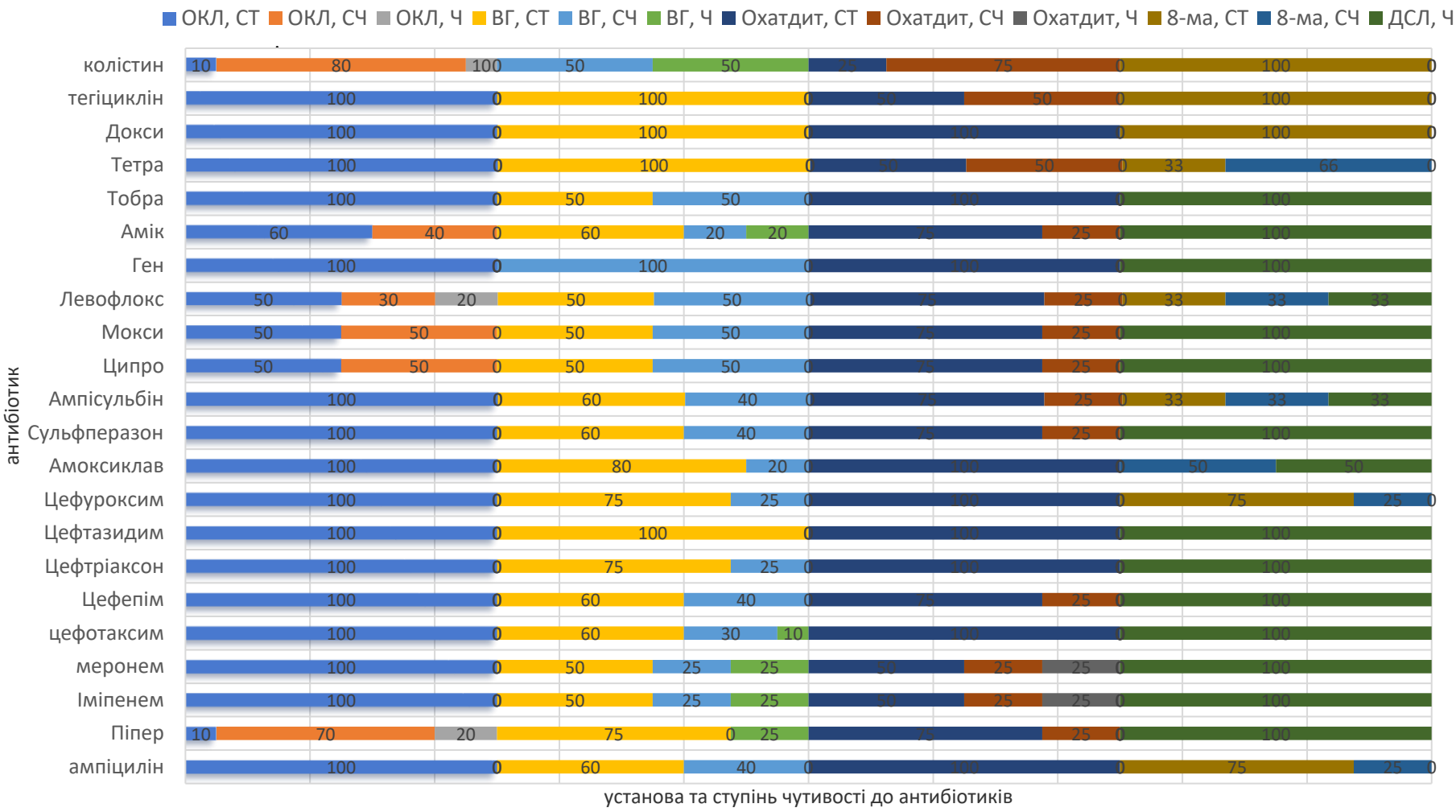
[279]	Ефіопія	2016	36	Сеча	Невідомо	MDR	Немає інформації
[280]	Пакистан	2016-2019	8	Кров	Невідомо	Немає інформації	Немає інформації
Дане дослідження, випадок 1	Україна	2018	1	Жінка 42 роки. Роблено кесарів розтин через еклампсію, діагностовано антенатальну смерть плода. Плеврит, набряк мозку, синдром поліорганної дисфункції.	Нозокоміальний	Іміпенем	Успішне лікування
Дане дослідження, випадок 2	Україна	2018	1	Жінка 18 років. Цукровий діабет 1 типу, внутрішньомозковий крововилив, ретинопатія, синдром поліорганної дисфункції, хронічні захворювання нирок. Випадок субдуральної гематоми.	Нозокоміальний	Цефтриаксон, левофлоксацин	Смерть
[231]	Пакистан	2019	1	Жінка 30 років. Неконтрольований цукровий діабет та повторні викидні в анамнезі, що супроводжуються зміною психіки та сепсисом.	Невідомо	Фосфоміцин, тигециклін, ко-тримоксазол	Смерть

[231]	Пакистан	2019	1	63 роки жінка. Цукровий діабет, гіпертонія, ревматоїдний артрит та ятрогенні синдром Кушинга внаслідок самолікування стероїдами	Невідомо	Фосфоміцин, тигециклін, ко-тримоксазол, флуконазол	Смерть
[231]	Пакистан	2019	1	63 річна жінка. Гіпертонія, ішемічна хвороба серця, хронічна обструктивна хвороба легень та хронічна хвороба нирок. Інфекції нижніх дихальних шляхів та сечовивідних шляхів в анамнезі	Невідомо	Фосфоміцин	Успішне лікування

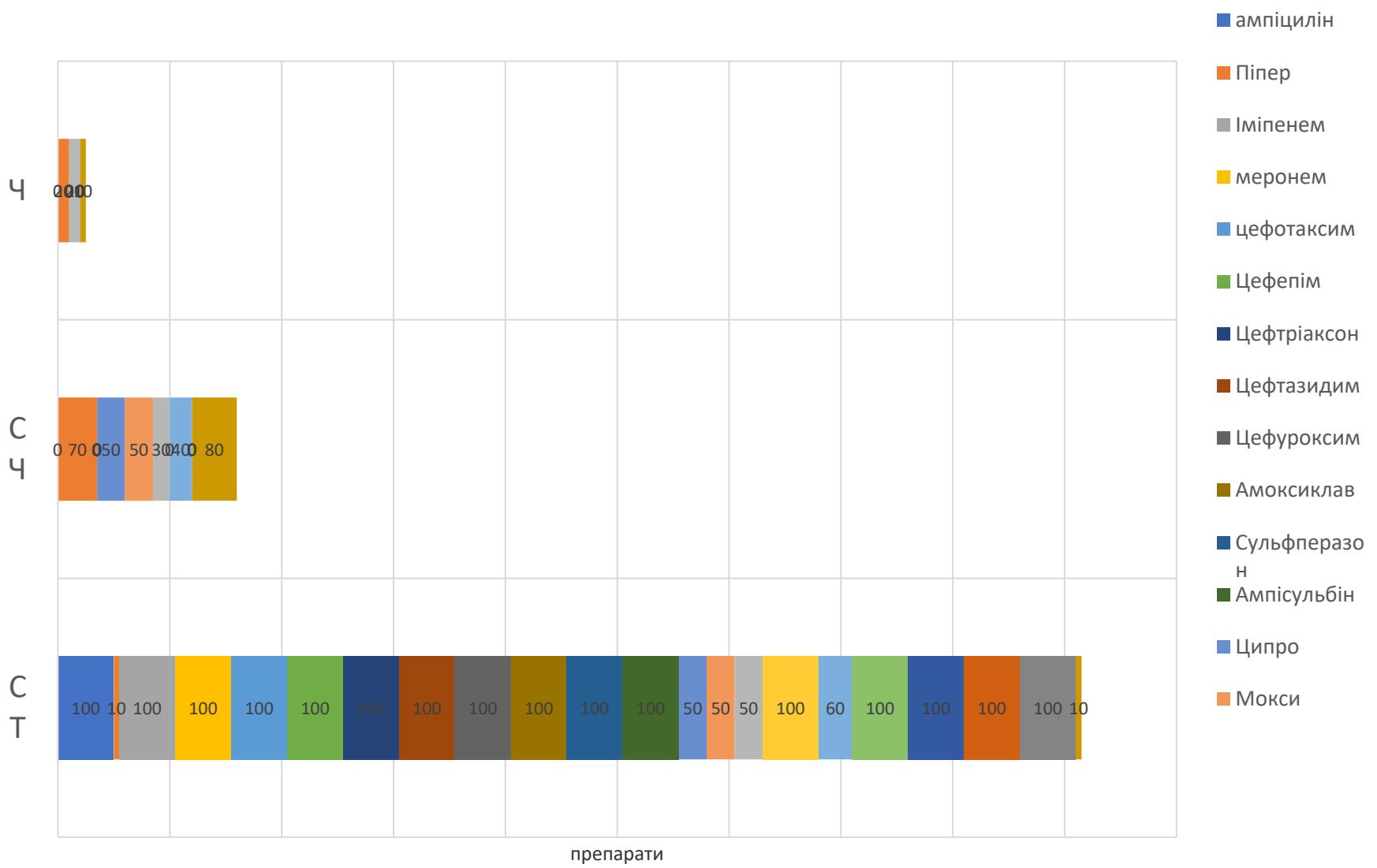
Додаток 10. Порівняння антибактеріальної та протигрибкової активності сполук (1)–(51).



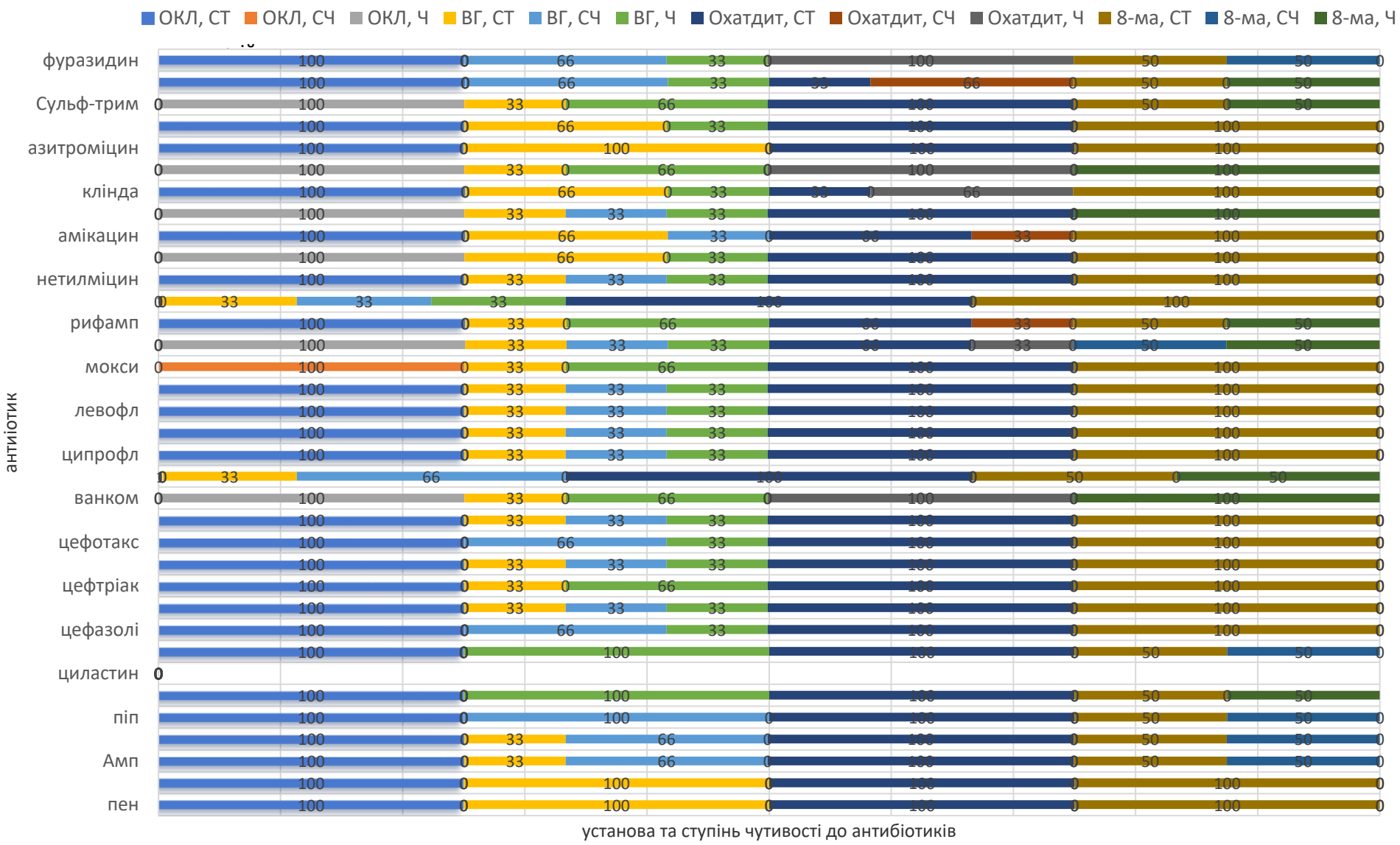
Додаток 11. Чутливість до антибіотиків *Pseudomonas aeruginosa* , ізольованої з відділень інтенсивної терапії лікарняних установ міста Львова



Додаток 12. Чутливість до антибіотиків *Pseudomonas aeruginosa* , ізольованої з ВІТ ЛОКЛ



Додаток 13. Чутливість до антибіотиків *Enterococcus spp*., ізольованої з відділень інтенсивної терапії лікарняних установ міста Львова



Додаток 14. Акти впровадження результатів дисертації та протокол комісії з біоетики

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар
Комунального некомерційного підприємства
«Богородчанська центральна лікарня»
Богородчанської селищної ради
Івано-Франківського району
Івано-Франківської області
_____ Коляджин І.М.
«18» червня 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. ***Найменування пропозицій для впровадження:***

Ідентифікація ізолятів мікроорганізмів, збудників інфекцій пов'язаних з наданням медичної допомоги (нозокоміальні інфекції). Визначення ступеня антимікробної резистентності мікроорганізмів. Вдосконалення методики дослідження протимікробної активності щодо ізолятів новосинтезованих хімічних речовин з протимікробною дією. Покращення системи реєстрації випадків нозокоміальних інфекцій.

2. **Установа, її адреса, виконавці:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького; 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.
   Автори: Ю.Т. Конечний, О.П. Корнійчук.
   (П.І.Б. авторів)

3. ***Джерела інформації:***

1. Konechnyi Y, Skurativskyi Y, Tymchuk I, Pidhirnyi Y, Korniychuk O. MICROBIOLOGICAL PROFILE OF NOSOCOMIAL INFECTIONS. Proceeding of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences. 2019 Jun 24;55(1):56-64.
2. Lozynskyi AV, Derkach HO, Zasidko VV, Konechnyi 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.
3. 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.
4. Hospital-acquired infections in Ukraine, Yulian Konechnyi, Andrij Albokrinov, Olena Korniychuk, 6th World Congress and Expo om 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
5. 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.

4. **Впроваджено:** у лікувальний процес Богородчанської центральної лікарні
5. **Терміни впровадження:** 2021 р.
6. **Ефективність впровадження:** Результати дослідження використовуються для покращеня інфекційного контролю за інфекціями, пов'язаними з наданням медичної допомоги (нозокоміальними інфекціями), відповідно до актуального профілю антимікробної резистентності та видового спектру збудників, враховуючи оновлені клініко-мікробіологічно-епідеміологічні критерії діагностики.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження: Станислок С.В.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В.о. генерального директора
Комунального некомерційного
підприємства «Солотвинська лікарня»
Солотвинської селищної ради
Івано-Франківського району
Івано-Франківської області
_____ Іванцюк В.О.
«14» ____07____ 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. ***Найменування пропозицій для впровадження:***
   Вдосконалення клініко-мікробіологічної діагностики та епідеміологічного нагляду за інфекціями пов'язаними з наданням медичної допомоги (нозокоміальними інфекціями), відповідно до актуальних рекомендацій з інфекційного контролю.

2. **Установа, її адреса, виконавці:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького; 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.
   Автори: Ю.Т. Конечний, О.П. Корнійчук.
   (П.І.Б. авторів)

3. ***Джерела інформації:***
   - Konechnyi Y, Skurativskyi Y, Tymchuk I, Pidhirnyi Y, Korniychuk O. MICROBIOLOGICAL PROFILE OF NOSOCOMIAL INFECTIONS. Proceeding of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences. 2019 Jun 24;55(1):56-64.
   - 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.
   - Роксолана Григорівна Шикула, Олена Петрівна Корнійчук, Юліан Тарасович Конечний, Дослідження резистентності позагоспітальних ізолятів стафілококів, Довкілля і здоров'я, 27-28 квітня 2017, ст 184.
4. **Впроваджено:** у лікувальний процес Солотвинської лікарні
5. **Терміни впровадження:** 2020 р.
6. **Ефективність впровадження:** Результати дослідження використовуються для покращеня інфекційного контролю за інфекціями, пов'язаними з наданням медичної допомоги (нозокоміальними інфекціями), відповідно до актуального профілю антимікробної резистентності та видового спектру збудників, враховуючи оновлені клініко-мікробіологічно-епідеміологічні критерії діагностики.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження: **Бактеріолог** **Гоголь Р.Я.**

КНП «СОЛОТВИНСЬКА ЛІКАРНЯ»
Солотвинської селищної ради
Івано-Франківського району
Івано-Франківської області
Вхідний № 06
«14» 07 21

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Виконавчий директор
АТ «Галичфарм»
Корпорації «Артеріум»

_____ Блонський О.В.
«__» _____ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. ***Найменування пропозицій для впровадження:***
   Ідентифікація ізолятів мікроорганізмів. Використання ізолятів бактерій та грибів для дослідження активності антимікробних агентів
2. **Установа, її адреса, виконавці:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького; 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.
   Автори: Ю.Т. Конечний, О.П. Корнійчук.
   (П.І.Б. авторів)
3. ***Джерела інформації:***

- **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 PMCID: PMC8077321 PMID: 33936672 **(Web of Science)**
- Lekhniuk N, Fesenko U, Pidhirnyi Y, Sękowska A, Korniychuk O, **Konechnyi 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 PMCID: PMC8123537 PMID: 34026135 (**Web of Science)**
- **Konechnyi, Y.**; Panas, M.; Tymchuk, I.; Konechna, R.; Borysiuk, O.; Hubytska, I.; Zhurakhivska, L.; Korniychuk, O. Epidemiological and Microbiological Aspects of Health Care-associated Infections in Ukraine During the 2009–2019 Period. Preprints 2020, 2020090573 (doi: 10.20944/preprints202009.0573.v1). **(Accepted to Przeglad Epidemiologiczny, Scopus Q3, PrePrint)**
- Шикула 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
- 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

4. **Впроваджено:** у процесі контролю якості.
5. **Терміни впровадження:** 2021 р.
6. **Ефективність впровадження:** виконання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелах інформації. Результати дослідження використовуються в роботі біологічної лабораторії ВКЯ.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Начальник ВКЯ **Павлюк І.В.**

ВИТЯГ
з протоколу № 1 засідання Вченої ради медичного факультету №2 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького від 24 вересня 2020 р.

Голова Вченої ради – проф. Надрага О.Б.
Вчений секретар – доц. Гаврилюк І.М.
Присутні: 29 осіб
З них затверджених членів Вченої ради 23 особи

СЛУХАЛИ:
Аспіранта кафедри мікробіології Конечного Ю.Т. про уточнення формулювання теми дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії «Оцінювання хіміорезистентності збудників мікозів органів травного тракту та пошуки нових антимікотиків».

УХВАЛИЛИ:
Уточнити формулювання теми дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії аспіранта кафедри мікробіології Конечного Ю.Т. та представити як: «Видовий спектр та біологічні властивості бактерійних та грибкових збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги та протимікробна активність щодо них похідних 4-тіазолідинонів».

ГОЛОСУВАЛИ: рішення прийнято одноголосно.

Голова Вченої ради **проф. Надрага О.Б.**

Вчений секретар **доц. Гаврилюк І.М.**

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО
(ЛНМУ імені Данила Галицького)

вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, **тел**. (032) 260-30-66, **факс** 276-79-73,
e-mail: office@meduniv.lviv.ua, **http**://www.meduniv.lviv.ua , код ЄДРПОУ 02010793

№ _____ від _____ На № _____ від _____

ВИТЯГ
з протоколу № 6 засідання комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького від 22 червня 2021 р.

Присутні: д.мед.н., проф. Наконечний А.Й., Заслужений діяч науки і техніки України, д.мед.н., проф. Зіменковський А.Б., д.фарм.н., проф. Громовик Б.П., д.мед.н., проф. Негрич Т.І., д.мед.н., проф. Скляров Є.Я., д.філос.н., проф. Держко І.З., д.мед.н., проф. Добрянський Д.О., Заслужений лікар України Федоренко С.М., д.мед.н., проф. Володько Н.А., к.біол.н. Зазуляк Т.С., к.мед.н., доц. Томків В.М., ветеринарний лікар Стефанишин Ю.М., священик Кирилюк С.С., к.юр.н. Богомазова І.О., к.мед.н., доц. Гаврилюк І.М.

Головуючий: проф. Наконечний А.Й.
Секретар: доц. Гаврилюк І.М.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ

1. Слухали:
Про результати розгляду матеріалів, наданих для здійснення експертизи щодо дотримання гуманних, етичних та морально-правових принципів при виконанні дисертаційної роботи на тему «Видовий спектр та біологічні властивості бактерійних та грибкових збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги та протимікробна активність щодо них похідних 4-тіазолідинонів» аспіранта кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького Конечного Ю.Т. на здобуття ступеня доктора філософії.
На розгляд комісії надані документи: заява для одержання погодження комісії щодо проведення наукових досліджень і експериментальних розробок за участю людини та з використанням лабораторних тварин з описом виконаного дослідження; інформація про дослідника.

Члени комісії зазначили, що в наданих на розгляд документах передбачені заходи стосовно дотримання морально-етичних норм у відповідності до принципів Гельсінської декларації, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину, ICH GCP та відповідних законів України. Дослідження на лабораторних тваринах буде проводитись у відповідності до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви Ради Європи 2010/63/EU, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження»

Ухвалили: надати позитивний висновок щодо проведення наукового дослідження із залученням людини та використанням лабораторних тварин для підготовки дисертаційної роботи Конечного Ю.Т. на тему «Оцінювання хіміорезистентності збудників мікозів органів травного тракту та пошуки нових антимікотиків» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії).

Голова комісії
проректор з наукової роботи д.мед.н., проф. А.Й. Наконечний

Секретар комісії к.мед.н., доц. І.М. Гаврилюк