

ВІДЗИВ

офіційного опонента доктора медичних наук, доцента

Назарчука Олександра Адамовича

на дисертаційну роботу аспіранта кафедри мікробіології

Львівського національного медичного університету

імені Данила Галицького МОЗ України

Конечного Юліана Тарасовича

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

представлену до захисту в спеціалізовану вчену раду ДФ 35.600.024 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Проблема інфекційних хвороб, пов'язаних з наданням медичної допомоги (ІПНМД), потребує постійного моніторингу, спільного вирішення питань щодо підвищення ефективності заходів з попередження ІПНМД та їхнього лікування мікробіологів, епідеміологів та інфекціоністів. Несвочасна або неточна діагностика значно погіршує прогноз перебігу основної хвороби, подовжує термін і збільшує вартість лікування. Однією з причин зниження ефективності заходів боротьби із ІПНМД є антимікробна резистентність мікроорганізмів, які є збудниками цих хвороб. Разом з тим, існує тісний зв'язок між розвитком антимікробної резистентності серед збудників ІПНМД у світі та зростанням відповідної захворюваності.

Актуальність роботи Конечного Юліана пов'язана з необхідністю вивчення поширеності, встановленню особливостей видового спектру мікробної етіологічної структури ІПНМД та сучасного стану антибіотикорезистентності збудників в Україні, а також з пошуком нових

синтетичних молекул з протимікробною дією як одним з важливих підходів боротьби з антимікробною резистентністю мікроорганізмів. Перспективними у цьому плані є похідні 4-тіазолідинонів, відомі як сполуки з поліфармакологічною активністю.

Враховуючи вищенаведене, тема та мета дисертаційної роботи Конечного Юліана Тарасовича, що полягають у аналізі структури провідних збудників ІПНМД в Україні та її поглибленому регіональному дослідженні видового спектру, біологічних властивостей цих патогенів в межах лікувальних закладів Львівської області та мікробіологічного обґрунтування розробки нових антимікробних хімічних сполук для підвищення ефективності боротьби з ними є гостро актуальними і своєчасними.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність. Автором проведено науково-патентний пошук, вивчено та проаналізовано 280 джерел вітчизняної та зарубіжної літератури, переважно за останні 10 років. Наукові положення, які викладено в дисертації є обґрунтованими, оскільки базуються на результатах власних мікробіологічних, клінічних досліджень та епідеміологічного аналізу стану антибіотикорезистентності збудників ІПНМД. Автором обстежено 250 хворих відділень інтенсивної терапії 4-х лікарняних закладів Львова з підозрою на ІПНМД. З 389 зразків клінічного матеріалу автором було виділено 309 штамів мікроорганізмів, досліджено рівень антибіотикорезистентності. Проведено порівняння різних методів ідентифікації мікроорганізмів і проаналізовано їхню точність та чутливість. Серед виділених мікроорганізмів доведено етіологічну значущість окремих умовно-патогенних бактерій у спричиненні ІПНМД. Серед 55 новосинтезованих похідних тіазолу, які було використано для пошуку та дослідження нових хімічних сполук з антимікробною дією, встановлено найактивніші хімічні групи речовин і окремі «лікоподібні молекули» з вибірковою антимікробною дією на гриби, стафілокок, кишкову паличку, псевдомонади та визначено відповідні мінімальні інгібуючі концентрації.

Статистичну обробку результатів дослідження проведено з використанням ліцензованої програми Microsoft Excel 2016. Ступінь обґрунтованості та вірогідності результатів дисертаційної роботи підтверджується її чітким дизайном, обраними сучасними методами, наукового пошуку, достатнім обсягом проведених досліджень і відповідною їх математико-статистичною обробкою, що забезпечили вірогідність отриманих наукових результатів. Вище зазначене дає змогу вважати результати дисертаційної роботи обґрунтованими та значущими. Висновки, практичні рекомендації роботи витікають з результатів проведених досліджень та підтверджують досягнення мети – оптимізувати методи мікробіологічної діагностики ІПНМД, шляхом застосування клініко-мікробіологічних та епідеміологічних критеріїв та комплексного підходу при встановленні етіологічної ролі збудника, а також мікробіологічного обґрунтування розробки нової «лікоподібної молекули» з ефективною протимікробною дією.

Представлена дисертаційна робота виконана на сучасному науковому рівні та відповідає вимогам щодо проведення наукових досліджень.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Матеріали дисертаційної роботи Ю. Т. Конечного достатньо повно висвітлені в наукових працях. За матеріалами дисертації опубліковано 10 статей, в тому числі 9 статей індексовані у журналах наукометричних баз *Scopus* і *Web of Science*, з них 1 стаття у фаховому журналі МОН України, а також 1 стаття в нефарховому науковому виданні. Результати роботи були представлені на 17 конференціях, в 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.

Наукова новизна одержаних даних. Автором проведено поглиблений аналіз рівня захворюваності на ІПНМД за останні 12 років в Україні. Проведено порівняння статистичних даних зареєстрованих ІПНМД, в тому числі за географічною, нозологічною, віковою, етіологічною структурами, в Україні з

даними наукових джерел літератури в Україні, ряду сусідніх країн та країн ЄС. Досліджено етіологічну структуру та деякі клінічні особливості збудників ІПНМД лікарняних закладів міста Львова. Показано, що видовий спектр збудників ІПНМД розширений за рахунок інших, менш вірулентних, проте більш резистентних в довкіллі і більш пластичних за своїми біологічними характеристиками видами.

Автором було поповнено новими даними уявлення щодо клінічної значущості ряду умовно-патогенних мікроорганізмів *Raoultella (Klebsiella) terrigena* та *Vibrio metchnikovii* та встановлено їх роль у спричиненні ІПНМД серед пацієнтів, які знаходились на лікуванні в лікувальних закладах в Україні. Автором було виділено клінічні ізоляти даних бактерій, проведено їх ідентифікацію та описано клінічні випадки, спричинені цими збудниками. Новизною відзначаються дані, якими підтверджено субвидову спорідненість ряду ізолятів збудників ІПНМД та їхнє етіологічне значення у розвитку інфекційних процесів у різних пацієнтів. Досліджено діагностичну значущість різних методів ідентифікації мікроорганізмів (MALDI-TOF, біохімічна ID, 16sRNA-ID) для встановлення етіології ІПНМД.

Проведено скринінг протимікробної дії ряду похідних 4-тіазолідинонів щодо актуальних збудників ІПНМД з різним ступенем та механізмами антимікробної резистентності. Виділено «лікоподібні» молекули, як найбільш перспективні для подальшого дослідження, вивчено на предмет їхньої алергенної, протизапальної дії *in vivo*. Вперше з використанням методу молекулярного докінгу автором показано достатній антибактеріальний потенціал досліджуваної сполуки Les 6431.

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.

Доповнено новими даними сучасні уявлення щодо мікробіологічних, епідеміологічних та клінічних аспектів основних збудників ІПНМД в Україні, що покращує інфекційний контроль за ІПНМД. Особливу увагу приділено оцінці видового спектру та АМР збудників ІПНМД, включаючи збудників, які рідко відносять до збудників інфекцій, та ізоляти збудників з підвищеною

стійкістю до антибіотиків (панантибіотикорезистентні та штами з розширеною антимікробною резистентністю). Автором показано, що застосування нових технологій при проведенні лікувальних заходів в інтенсивній терапії супроводжується новими ризиками інфікування.

На основі проведеного поглибленого епідеміологічного аналізу етіологічної структури ІПНМД та мікробіологічних досліджень автором в дисертації викладено обґрунтування необхідності 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 ряд «сполук-лідерів» як потенційних антибактерійних та протигрибкових засобів.

Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці. Отримані автором результати наукового дослідження щодо мікробіологічних, епідеміологічних та клінічних аспектів ІПНМД в Україні мають вагомое практичне значення, оскільки можуть бути використані для підвищення ефективності інфекційного контролю за ІПНМД та боротьби з антибіотикорезистентністю основних збудників ІПНМД, більш точній мікробіологічній діагностиці, включаючи виявлення збудників, які рідко зустрічаються. Встановлено ефективність ряду похідних 4-тіазолідинонів щодо полірезистентних збудників ІПНМД та запропоновано декілька «сполук-лідерів» як потенційних протимікробних засобів. Результати дослідження впроваджені у наукову та в лікувальну роботу Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, АТ "Галичфарм" Корпорації «Артеріум» та закладів охорони здоров'я (Комунального некомерційного підприємства «Богородчанська центральна районна лікарня», Комунального некомерційного підприємства «Солотвинська лікарня»).

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому. Дисертація викладена українською мовою на 293 сторінках комп'ютерного тексту (основний зміст – на 154 сторінках) 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 14 кирилицею та 266 латиною. Робота достатньо ілюстрована 38 таблицями та 49 рисунками.

Дисертацію написано класичною, літературною українською мовою. Всі розділи дисертації викладено чітко із дотриманням структури роботи відповідно до дизайну дослідження.

У **«Вступі»** стисло викладена актуальність теми дисертації, сформульовані мета і задачі дослідження, представлено загальну характеристику роботи. Звичайно, вступ написано за загальноприйнятою схемою.

У **першому розділі** дисертації, який є достатній за обсягом, представлено ретельно проведений аналіз сучасної вітчизняної та зарубіжної наукової літератури стосовно мікробіологічних, клінічних та епідеміологічних аспектів інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги та пошуку перспективної у плані протимікробної активності «лікоподібної молекули» з групи тіазолідинонів.

У **другому розділі** автором описано дизайн, матеріали та використані методи дослідження. Всі експериментальні та дослідження виконано з дотриманням основних біоетичних норм та вимог Гельсінської декларації. Вказано, за якими критеріями було включено для дослідження пацієнтів лікарняних закладів та умови проведення експериментів на лабораторних тваринах.

Автором використані: сучасні мікробіологічні, клінічні, епідеміологічні, лабораторні і статистичні методи дослідження. Описано новітні методики ідентифікації мікроорганізмів (в тому числі, молекулярно-генетичні) та інтерпретацію результатів дослідження антибіотикорезистентності ізолятів мікроорганізмів, а також подано опис методу молекулярного докінгу для розрахунку та прогнозування взаємодій протеїн-ліганд в пошуку найбільш вдалих хімічних сполук з протимікробною дією. Загалом обрані методики

цілком адекватні для досягнення поставленої мети та розв'язання сформульованих конкретних завдань роботи.

Третій розділ дисертації Ю.Т. Конечного присвячений аналітичному дослідженню офіційних статистичних даних щодо захворюваності на ІПНМД в Україні та порівнянню відповідних показників в інших країнах. Автором встановлено, що за нозологіями найбільшу кількість випадків ІПНМД становили інфекції, які виникали внаслідок хірургічних та терапевтичних втручань, в середньому 26,4 % від загальної кількості ІПНМД. Інфекції вагітності, пологів та післяпологового періоду становили 13,1 %. На основі детального статистичного аналізу автором вивчено характер, особливості поширення ІПНМД у регіонах України та показано структуру захворюваності на ІПНМД.

У **четвертому розділі** дисертаційної роботи подано загальну характеристику випадків ІПНМД на основі результатів мікробіологічного, епідеміологічного та клінічного дослідження за участю 250 пацієнтів, які знаходились на лікуванні в медичних установах Львівської області. Описано клінічні випадки ІПНМД, спричинені нетиповими для даної нозології збудниками ІПНМД – *Raoultella terrigena* та *Vibrio metchnikovii*. Подано детальну (в порівнянні за даними літератури) мікробіологічну характеристику вказаних бактерій. Важливе наукове значення мають наведені в розділі результати детального вивчення геномів даних мікроорганізмів за допомогою генетичного секвенування.

На основі складеного філогенетичного дерева родини *Enterobacteriaceae* представлено результати визначення маркерів філогенії умовно-патогенних мікроорганізмів *R. terrigena* та визначено їх певні генетичні відмінності від бактерій роду *Klebsiella*. Розділ достатньо ілюстрований таблицями та рисунками, наведено кладограму, за допомогою якої наочно представлено характеристику філогенетичного дерева родини ентеробактерій. Наведені порівняльні дані визначених особисто автором показників частоти

появи мікроорганізмів *R. terrigena* та *V. metchnikovii* та їх епідеміологічного поширення в різних країнах світу як збудників ІПНМД.

П'ятий розділ роботи присвячений дослідженню видового спектра і біологічних властивостей збудників ІПНМД, виділених у відділеннях інтенсивної терапії лікарняних закладів Львівської області. Доведено роль відповідних ізолятів у розвитку нозокоміальної інфекції. Проведено порівняння та оцінювання різних методів ідентифікації мікроорганізмів. За результатами аналізу антибіотикочутливості встановлено фенотипові детермінанти стійкості умовно-патогенних мікроорганізмів до антимікробних препаратів. Методом ПЛР було перевірено наявність генів стійкості до ванкоміцину *Van A* та *Van B*.

Показано, що визначення ESBL та OXA-48 продукуючих можливостей патогенів є важливим скринінговим методом призначення адекватного лікування антибіотиками. В розділі наведено дендрограми подібності штамів, що дозволили встановити потенційну закономірність шляхів передачі штамів між пацієнтами одного відділення. Викладено результати порівняльного дослідження ефективності різних методів ідентифікації збудників ІПНМД.

Наведено детальну характеристику антимікробної резистентності, в т.ч. фенотипові та генотипові детермінанти, досліджуваних провідних збудників ІПНМД. Викладено результати дослідження здатності до плівкоутворення як потенційного фактора спричинення ІПНМД клінічних ізолятів *S. aureus* та представника грамнегативної мікробіоти *Raoultella terrigena* з їх графічною ілюстрацією.

Розділ містить також матеріали експериментальних досліджень за участю лабораторних мишей щодо встановлення вірулентності ізолятів *Achromobacter xylosoxidans* (№ LMU-147), *Candida utilis* (LMU-127), *Serratia marcescens* (№ LMU-48). Представлено дані низької вірулентності штамів *Achromobacter xylosoxidans* та *Serratia marcescens* водночас з їх здатністю до інвазії у внутрішні органи пацієнтів в умовах перебування у стаціонарі.

Наступний **шостий розділ** дисертаційної роботи присвячений пошуку перспективних сполук з поліфармакологічною дією серед похідних 4-

тіазолідинонів. В розділі наведено структурні формули похідних вказаної групи, а також показники їхньої протибактерійної та протигрибкової активності методами дифузії в агар та методи серійних розведень. Використано стандартні штами та клінічні ізоляти культур.

Встановлено сполуку з вираженою протигрибковою дією щодо грибів роду *Candida* з мінімальною інгібуючою концентрацією грибків роду *Candida* 25µg/mL, та сполукою з селективною протимікробною дією щодо *Escherichia coli*. В розділі відображено встановлену найвищу активність щодо *S. aureus* засобів групи 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-сукцинімідів із фрагментом циміналю у С5 положенні. Для 22-сполук-«хітів» встановлені МІС. Метод молекулярного докінгу зроблено припущення, що сполуки Les 6431 утворюють ключові взаємодії з важливими залишками на сайті зв'язування ДНК-гірази.

Розділ містить окремі підрозділи, в яких ґрунтовно викладено результати дослідження токсичності, протизапальної дії та вплив сполуки-лідера на імунну систему лабораторних тварин, що всебічно характеризують потенційні антимікробні речовини. Виявлено помірну протизапальну активність хімічної речовини. За результатами дослідження субпопуляційного складу лімфоцитів периферичної крові мурчаків, індексних показників імунного статусу та деяких показників гуморальної ланки встановлено зростання активності макрофагальної фагоцитарної системи, зниження рівня IgA на тлі зростання кількості IgG.

У розділі **«Аналіз та узагальнення результатів дослідження»** об'єднано та систематизовано отримані результати дисертаційного дослідження, проведено коректне порівняння їх з даними інших авторів, представлено власне бачення та розуміння науково-практичної задачі та можливих шляхів її розв'язання.

Дисертація завершується чітко сформульованими автором на основі результатів проведених досліджень конкретними висновками та практичними рекомендаціями. Висновки, які наведені в дисертації, роблені на основі

визначення їх статистичної вірогідності, повністю відповідають поставленим завданням дисертаційного дослідження, відображають зміст роботи та свідчать про досягнення поставленої мети, викладені логічно і послідовно.

Практичні рекомендації ґрунтуються на результатах поведеного автором аналізу поширення та реєстрації ІПНМД, стану специфічної діагностики, що вказує на необхідність підвищення рівня проведення мікробіологічних досліджень, впровадження стандартизованої системи реєстрації та дослідження внутрішньолікарняних інфекцій. За результатами дисертаційної роботи і дослідження біологічних властивостей ізолятів відповідні штами були задепоновані в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Схвальної оцінки заслуговують наведені автором слова вдячності установам та вченим, які брали участь у всебічній співпраці та консультативній підтримці при виконанні Ю.Т. Конечним дисертаційної роботи, що в свою чергу характеризує високий рівень наукової культури та академічної доброчесності здобувача свідчить.

Список використаних джерел представлений у відповідності до вимог МОН України, містить першоджерела вітчизняних і зарубіжних авторів включно до 2021 р..

Водночас із загальною позитивною оцінкою дисертаційної роботи слід висловити ряд *зауважень* щодо її змісту та оформлення, а саме:

1. В роботі зустрічаються поодинокі орфографічні, пунктуаційні та стилістичні неточності.

2. В розділі «Матеріали і методи» викладено деякі загальновідомі стандартні методики, в тому числі деякий інструктивний матеріал, деталізований опис яких наводити не обов'язково, можна обмежитися лише посиланням на літературне джерело з характеристикою відповідної методики.

3. Дискутабельним є розділ опису клінічних випадків. У розділах власних досліджень, як правило, наведення матеріалу з джерел наукової літератури, має характер дискусії, і на нашу думку є зайвим при наявності в

дисертації окремого розділу з детальним аналітичним узагальненням та обговоренням результатів досліджень.

Під час ознайомлення з роботою до дисертанта виникли такі *запитання*, на які бажано дати відповідь у процесі наукової дискусії:

1. Які висновки ви могли б подати за результатами проведеного вами анкетування пацієнтів з ІПНМД?
2. Як Ви можете пояснити зниження IgA на тлі зростання кількості IgG під дією досліджуваної речовини?
3. Який механізм інфікування *V.technikovii* в умовах відділення інтенсивної терапії медичного закладу?
4. Чим пояснюється антибактерійний та протигрибковий механізми дії досліджених Вами «лікоподібних молекул» похідних 4-тіазолідинонів?

Зазначені зауваження та запитання не мають принципового характеру, не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи та не зменшують її науково-практичної цінності.

Дані про відсутність порушень академічної доброчесності. Розглянувши матеріали дисертації здобувача наукового ступеня доктора філософії Конечного Юліана Тарасовича «Видовий спектр та біологічні властивості бактерійних та грибкових збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги та протимікробна активність щодо них похідних 4-тіазолідинонів», встановлено, що при комп'ютерному тестуванні електронної форми дисертації та наявних за її темою публікацій за допомогою системи «Strike Plagiarism» академічного плагіату в наданих матеріалах дисертації не виявлено. Текст представлених матеріалів дисертації Конечного Юліана Тарасовича є оригінальним: всі цитати позначені коректно та правильно відображені в списку літератури, всі текстові збіги мають відповідні посилання на першоджерело, що міститься в списку використаних робіт. Отже, дисертаційну роботу слід визнати самостійною науковою працею.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Конечного Юліана Тарасовича «Видовий спектр та біологічні властивості бактерійних та грибових збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги та протимікробна активність щодо них похідних 4-тіазолідинонів» подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» є завершеною науковою працею, що містить нові обґрунтовані наукові положення та результати, які розв'язують важливе науково-прикладне завдання мікробіології щодо оптимізації методів мікробіологічної діагностики ІПНМД, шляхом застосування клініко-мікробіологічних та епідеміологічних критеріїв та комплексного підходу при встановленні етіологічної ролі збудника, а також мікробіологічного обґрунтування розробки нової «лікоподібної молекули» з ефективною протимікробною дією. За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації.

Представлена дисертаційна робота Конечного Юліана Тарасовича є актуальною і своєчасною, вносить суттєвий вклад у теоретичну та практичну медичну мікробіологію. За методологічним рівнем виконання, змістом, науковою новизною, обґрунтованістю основних положень, висновків і рекомендацій відповідає «Вимогам до оформлення дисертації», затверджених наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р. та «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету міністрів України від 06.03.2019 р. № 167, а її автор Конечний Юліан Тарасович заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент
Доцент кафедри мікробіології
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
доктор медичних наук, доцент


Підпис Назарчук О
завіряю
з ст. 16 відділу кадрів
Вінницького національного
медичного університету
ім. М. І. Пирогова
Олександр Назарчук
«23» 11 2021 р.