

## **ВІДГУК**

### **на кваліфікаційну наукову працю Юрчишин Оксани Іванівни «Вивчення протимікробної активності екстрактів лікарських рослин флори України відносно шкірних ізолятів мікроорганізмів з різними механізмами MLS-резистентності»**

за спеціальністю 03.00.07- мікробіологія, 22 – охорона здоров'я,  
представленої на здобуття наукового ступеню кандидата медичних наук

**Актуальність теми та її зв'язок з науковими програмами, планами, темами.** Оптимістичні прогнози щодо зменшення тягаря для суспільства інфекційних і паразитарних хвороб на початок нового тисячоріччя не виправдалися. Більше того, епідемічні ускладнення, спричинені відомими збудниками інфекційних хвороб, поява нових актуальних для людей патогенів є дестабілізуючими чинниками соціального розвитку держав і цілих регіонів, суттєво впливають на економічний розвиток, якість життя людей. Час від часу ВООЗ змінює терміни ліквідації низки інфекційних хвороб, що передбачалося ліквідувати до кінця минулого тисячоріччя.

Серед основних медичних проблем особливе занепокоєння світової медичної спільноти викликає швидке зростання стійкості штамів бактеріальних, вірусних і паразитарних захворювань до антибіотиків і хіміопрепаратів. Ця проблема вийшла за межі відповідальності медицини, - стала міжвідомчою з охопленням ще й ветеринарної, аграрної, продуктової сфер діяльності, де широко використовують антибіотики.

Особливе занепокоєння медиків обумовлене появою полірезистентних штамів серед збудників, що викликають інфекції, пов'язані з наданням медичної допомоги, внаслідок чого суттєво ускладнюється лікування пацієнтів, зростає їх летальність, суттєво зростає вартість лікування. Пластичність популяцій мікроорганізмів під тиском несприятливих явищ, до яких належить і використання антибіотиків, сприяє селекції полірезистентних умовно-патогенних і патогенних бактерій.

За даними Євро CDC, щорічно в країнах Єврозони виникає понад 25 тисяч додаткових смертей внаслідок зараження людей мультирезистентними збудниками, а економічні збитки становлять понад 1,5 млрд доларів.

Основними напрямками у подоланні резистентності є створення нових протимікробних препаратів шляхом хімічного синтезу, пошуку ефективних ліків серед природних речовин (переважно рослинного чи тваринного походження). Успіхи у цих дослідженнях лімітуються спроможністю мікроорганізмів використовувати щонайменше шість основних варіантів нейтралізації протимікробних препаратів, не раз ще до початку їх масового використання в клінічній практиці. Досі не виявили препаратів із новими невідомими механізмами дії на мікроорганізми.

Усе вищевикладене визначає актуальність і вагомість теми дисертаційної роботи Юрчишин Оксани Іванівни, що присвячена вивченню протимікробної активності екстрактів лікарських рослин флори України щодо шкірних ізолятів мікроорганізмів з різними механізмами MLS-резистентності.

Дисертаційна робота виконана у розрізі наукових досліджень планової наукової тематики кафедри мікробіології, вірусології та імунології Івано-Франківського національного медичного університету в рамках комплексної науково-дослідної роботи «Вивчення біологічної активності природних і синтетичних гетероциклічних сполук, що містять піридиновий, імідазольний цикли та комплекси з біометалами» (номер державної реєстрації 0103U004919, 2012-2017 рр.). Оксана Іванівна була виконавцем відповідного фрагменту зазначеної планової комплексної науково-дослідної роботи на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології.

**Наукова новизна основних положень, висновків, практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Наукова новизна основних положень, висновків, практичних рекомендацій, сформульованих і викладених у дисертаційній роботі Юрчишин О.І не викликає сумніву. Дисертантка визначила чутливість стафілококів, що були ізольовані від

хворих на піодермії, до антибіотиків MLS-групи і окреслити їх фенотипові детермінанти, що дозволило доповнити знання з регіонального поширення цих збудників в Україні. Вперше було досліджено екстрактів низки лікарських рослин флори України, що виступали як модифікатори MLS-резистентності, на зміни чутливості MLS-резистентних стафілококів до макролідів і виявлено феномен підвищення показників.

Висновки і практичні рекомендації, сформульовані дисертанткою, відповідають суті дисертаційного дослідження, містять новизну і є вагомими в науковому сенсі.

**Практичне значення отриманих результатів.** Проведені дослідження є підґрунтям для подальших пошуків у створенні нових комбінованих лікувальних засобів для місцевого лікування піодермій. Оксана Іванівна дослідила і підтвердила доцільність і можливість створення для топічної терапії поєднаних препаратів у складі антибіотиків групи макролідів та лікарських рослин, біологічно активні речовини (БАР) яких виступають в ролі модифікаторів MLS-резистентності. Автор експериментально довела переваги і доцільність такого підходу в терапії піодермій, зазначивши не лише високу можливість підвищення терапевтичної ефективності лікування зазначеної патології, але й вирішення питання зниження ймовірності формування резистентності стафілококів до антибіотиків, що при цьому використовують. Зменшення здатності до формування мікробної резистентності шляхом використання комбінованих препаратів відкриває нові перспективи у зменшенні тягаря стафілококових інфекцій в структурі інфекційної патології назагал.

Результати досліджень впроваджені автором у навчальний процес низки провідних вітчизняних вищих медичних навчальних закладів: кафедри мікробіології, вірусології та імунології Івано-Франківського національного медичного університету та низки інших кафедр цього ВНМЗ, кафедри мікробіології та вірусології ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України; ДВНЗ «Тернопільський державний

медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» та Харківського національного фармацевтичного університету; кафедрах мікробіології, вірусології та імунології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Практична вагомість означена двома патентами України на корисні моделі.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Правильність здійснення усіх етапів планування, вибору методів і обсягів досліджень, адекватних до означеної мети, обумовили отримання обґрунтованих і достовірних даних, а на їх підставі – формулювання основних положень дисертаційної роботи.

Дисертантка використала класичні методи мікробіологічних досліджень: бактеріологічний, експериментальний, а також хроматографічний, математичний і статистичні методи, що дозволило провести дослідження на високому методичному і науковому рівні. Відповідність стандартам доказової медицини була досягнута адекватністю обсягів досліджень і статистичним опрацюванням результатів кожного з етапів роботи.

Усі етапи досліджень виконані відповідно до плану дисертаційних пошуків, логічні та достатні за обсягом для отримання достовірних даних. Викладені висновки випливають з отриманих результатів досліджень, належать дисертантці як підсумок і узагальнення власних досліджень. Практичні рекомендації зроблені фахово і розкривають подальші перспективи досліджень у цьому напрямку, їх використання для практичної медицини.

Слід зазначити також, що автор володіє на належному рівні навичками систематизації й аналізу наукових даних, у тому числі отриманих нею безпосередньо при виконанні дисертаційної роботи.

**Особистий внесок здобувача.** Надані дисертанткою матеріали дозволяють зробити заключення, що усі етапи, як того вимагає виконання такого роду наукових досліджень: від планування до виконання і написання роботи, - виконані Оксаною Іванівною самостійно, а визначення мети і

завдань роботи здійснено під керівництвом наукового керівника проф., д. мед. н. Куцика Романа Володимировича.

Дисертантка самостійно здійснила літературний пошук і аналіз різнопланових першоджерел щодо досліджуваної проблеми, патентно-інформаційний пошук; особисто провела весь обсяг бактеріологічних і експериментальних досліджень, узагальнила і проаналізувала результати з адекватним статистичним опрацюванням і тлумаченням.

Автор описала і виклала результати досліджень, зокрема з ідентифікації шкірних ізолятів MLS-резистентних стафілококів, скринінгу прямої протимікробної активності та синергізму макролідів і досліджуваних лікарських та пряно-ароматичних рослин.

Важливо, що результати наукових досліджень дисертант запровадила у навчальний процес багатьох ВНМЗ нашої держави. Формулювання висновків і практичних рекомендацій також належать О.І. Юрчишин.

**Повнота викладення та апробації основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій дисертаційної роботи.**

Результати дисертаційного дослідження опубліковані у 24 наукових працях, з яких 3 є одноосібними: 5 статей у фахових виданнях, рекомендованих ДАК України, 1 стаття – у виданні України, що включене до міжнародних наукометричних систем; 1 стаття – у закордонному виданні; 16 тез - у матеріалах з'їздів, конгресів і науково-практичних конференціях. Отримано патент України на корисну модель. У роботах, виконаних у співавторстві, ідея й основні наукові положення належать дисертантові. Усі дані, викладені в зазначених публікаціях, за змістом і за формою відповідають дисертаційному рукопису.

Матеріали роботи доповідалися на 16 міжнародних, всеукраїнських і регіональних конференціях.

**Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради.** Дисертація за актуальністю обраної теми, змістом та обсягом матеріалу, науковою новизною, практичним значенням відповідає профілю

спеціалізованої вченої ради К.05.600.05 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України.

**Структура та зміст дисертації.** Структура дисертаційної роботи відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, у тому числі змінам, викладеним у Наказі МОН України № 40 від 12.01.2017 року. Робота містить анотації українською й англійською мовами, список опублікованих праць за темою дисертації. Наступними за змістом і переліком умовних позначень, скорочень і термінів є вступ, розділ 1 - огляд літератури, розділ 2 - матеріали та методи досліджень, три розділи власних досліджень щодо предмету дисертаційних пошуків, аналіз і узагальнення одержаних результатів, висновки і практичні рекомендації, список використаних джерел з 228 найменування, з яких 64 – викладені кирилицею, 164 латиною (займає 27 сторінок), додатки А, Б і В (22 сторінки). Робота представлена на 203 сторінках, де основний зміст дисертації – на 121 сторінці; містить 20 таблиць і 21 рисунок.

У вступі автор обґрунтувала і висвітлила актуальність обраного напрямку дисертаційного дослідження, зазначила мету і завдання, наукову новизну, теоретичну і практичну значимість проведеної роботи.

Оксана Іванівна вказала взаємозв'язок дисертаційного дослідження з науково-дослідною темою, свій особистий внесок, рівні апробації, оприлюднення і впровадження результатів досліджень, що відповідає як того вимогам ДАК України до такого роду робіт.

Огляд літератури виконано у традиційній манері для дисертаційних робіт, що дозволило автору висвітлити декілька важливих проблем: механізми та детермінанти MLS-резистентності стафілококів; лікарські рослини як джерело сполук з протимікробною активністю щодо стафілококів – основних збудників піодермій; результати пошуку серед БАР рослинного походження модифікаторів антибіотикорезистентності; значимість пошуку нових препаратів з протимікробною активністю, у тому числі серед лікарських рослин як перспективних біологічно активних сполук із широким

спектром дії.

Варто відзначити повноту висвітлення проблеми як в динаміці її вивчення, так і з позицій різних наукових шкіл, що дозволило Оксані Іванівні розкрити вагомість предмету вивчення з позначенням перспективних напрямків наукових досліджень.

Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження» викладений з належним зазначенням предмету, об'єктів, обсягів і методів дисертаційного дослідження. Важливо, що у цьому розділі адекватно викладена інформація щодо використаних штамів мікроорганізмів. Автор чітко дотрималася методичних прийомів вивчення дії препаратів, що дає підставу стверджувати про сучасний науковий рівень роботи. Належно обрані методи статистичного опрацювання отриманих даних забезпечили достовірність результатів та їх доказовість, як того вимагають засади доказової медицини.

У розділах власних досліджень, дисертантка як мікробіолог дослідила етіологічне значення стафілококів у виникненні піодермій, визначила поширеність MLS-резистентних *S. aureus* при цій патології. Вперше у регіоні дослідження було встановлено, що домінуючими серед ідентифікованих MLS-резистентних шкірних ізолятів *S. aureus* були штами з конститутивним фенотипом, що характеризувалися високим рівнем резистентності до всіх антибіотиків даної групи, тоді як серед ідентифікованих MLS-резистентних шкірних ізолятів коагулазо-негативних стафілококів переважали штами з індукцибельним фенотипом.

Оксана Іванівна провела первинний мікробіологічний скринінг протимікробної та антибіотикопотенціюючої активності 241 екстрактів лікарських рослин флори України з визначенням їх ефективних протимікробних концентрацій. Найвищою антибактеріальною активністю щодо шкірних ізолятів стафілококів з різними механізмами MLS-резистентності володіли екстракти надземної частини герані лугової *Geranium pratense L.* (МБцК 29,76–43,08 мкг/мл) і герані болотної *Geranium palustre L.* (МБцК 56,25–225,0 мкг/мл), плодів калини звичайної *Viburnum opulus L.*, а також

слані евернії злущеної *Evernia furfuracea* (L.) Mann. (МБЦК 29,76–43,08 мкг/мл).

Важливо наголосити, що дисертанткою вперше було встановлено для виділених та ідентифікованих нею MLS-резистентних штамів стафілококів феномен збереження чутливості лише до окремих офіційних фітопрепаратів (настоянка листя м'яти перцевої, прополіс та препарат «Альтан»), тоді як усі штами стафілококів, незалежно від фенотипу MLS-резистентності, володіли високою чутливістю до хлоргексидину (МБЦК  $\leq 6,25$  мкг/мл відносно 100% штамів), горостену (МБЦК  $\leq 6,25$  мкг/мл відносно 81,8% штамів *S. aureus* та 64,2% штамів *S. epidermidis*) та декасану (МБЦК 10–20 мкг/мл відносно 100% штамів). При цьому механізми набуття MLS-резистентності не впливали на ступінь чутливості стафілококів до поверхнево-активних антисептиків.

На наступному етапі виконання дисертаційної роботи Оксана Іванівна дослідила антибіотикопотенціюючу активність рослинних екстрактів, відібраних в процесі первинного мікробіологічного скринінгу. Вперше було встановлено, що достовірний синергізм протимікробної дії з еритроміцином проявляли БАР екстракту плодів вільхи сірої *Alnus incana* L., кореневищ герані лугової *Geranium pratense* L. та препарат «Альтан», відновлюючи чутливість до еритроміцину у штамів з індукбельним фенотипом MLS-резистентності. Активні компоненти екстрактів бруньок берези бородавчастої *Betula verrucosa* L., трави рути садової *Ruta graveolens* L. та листків мучниці звичайної *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. підвищували чутливість до еритроміцину штамів стафілококів з неіндукбельним фенотипом MLS-резистентності. Усі досліджувані екстракти знижували МБЦК еритроміцину щодо MLS-резистентних шкірних ізолятів стафілококів до терапевтичних концентрацій.

Важливим був четвертий етап дисертаційного дослідження, присвячений вивченню впливу екстракту плодів вільхи сірої *Alnus incana* L. на постантибіотичний ефект еритроміцину і темпи набуття MLS-резистентності



у шкірних ізолятів стафілококів. Оксана Іванівна виявила, що в присутності екстракту плодів вільхи сірої *Alnus incana* L. спостерігалось збільшення тривалості постантибіотичного ефекту еритроміцину (від 0,5 до 3,1 год) щодо *S. aureus* з індуцибельним фенотипом MLS-резистентності.

Дисертантка встановила, що під впливом селективного тиску еритроміцину штам з низьким початковим рівнем резистентності, зумовлений ефлюксом еритроміцину з клітини, швидко набував резистентності високого рівня. Біологічно активні сполуки екстракту плодів вільхи сірої *Alnus incana* L. ( $\frac{1}{4}$  МБсК) після 30 пасажів на середовищі з антибіотиком (1 МБсК) знижували МБсК еритроміцину в 32 рази у даного штаму. Крім того, в присутності суббактеріостатичних концентрацій екстракту плодів вільхи спостерігалась достовірна елімінація фенотипічної ознаки резистентності, властивої вихідному штаму.

Заслуговують позитивного оцінювання результати вивчення адгезивних властивостей MLS-резистентних шкірних ізолятів стафілококів. Виявлено найвищу активність щодо тест-штаму *S. epidermidis* з індуктивним фенотипом екстрактів плодів вільхи сірої *Alnus incana* L., бруньок берези бородавчастої *Betula verrucosa* L. та препарату «Альтан». Крім того, високу протиадгезивну активність встановлено для екстракту листків скумпії звичайної *Cotinus coggygia* Scop. (*Rhus cotinus* R.), кореневищ родовика лікарського *Sanguisorba officinalis* L. та надземної частини брусниці *Vaccinium vitis-idaea* L., плодів біоти східної *Biota orientalis* L. та листків мучниці звичайної *Arctostaphylos uvaursi* (L.) Spreng. Шкірний ізолят *S. epidermidis* з фенотипом Neg виявився більш стійким до біологічно активних речовин лікарських рослин, усі досліджувані екстракти характеризувалися меншим ступенем впливу на його адгезивну здатність. Найбільшими протиадгезивними властивостями щодо цього тест-штаму володів екстракт плодів біоти східної *Biota orientalis* L., препарат «Альтан», екстракти плодів вільхи сірої *Alnus incana* L. і кореневищ герані лугової *Geranium pratense* L..

Кожний розділ власних досліджень після викладення матеріалу

завершено узагальненням і списком власних друкованих праць, у яких оприлюднено ці результати.

Як позитивне, слід відзначити аргументацію дисертантки щодо перспективності подальших досліджень з огляду на просування досліджених субстанцій для створення лікарських препаратів.

На етапі нашого рецензування виникла низка питань, які були узгоджені з дисертанткою, переважно це стосувалося технічних моментів оформлення рукопису, і в завершеному варіанті дисертаційної роботи ми не мали вже суттєвих зауважень.

У наступному розділі Оксана Іванівна провела поглиблений аналіз та узагальнення результатів власних досліджень, співставляючи отримані результати з даними провідних науковців світу і нашої держави, логічно дала тлумачення у разі розходжень чи у спірних питаннях. Цей непростий розділ викладено достатньо аргументовано, хоча, враховуючи унікальність досліджених препаратів, це було непростим завданням.

Висновки відповідають поставленим завданням дисертаційного дослідження, сформульовані чітко, містять власні конкретні дані проведених різнопланових досліджень в процесі виконання дисертаційної роботи і відповідають поставленим завданням у розрізі предмету вивчення.

Список використаних джерел представлений у відповідності до вимог ДАКу, містить першоджерела вітчизняних і зарубіжних авторів включно до 2017 року.

У процесі опоненції у нас виникли ряд зауважень, які не є принциповими, але ми вважаємо за необхідне на них зупинитися. На нашу думку, кращому сприйняттю матеріалу в розділі «Матеріали і методи» сприяло би також представлення алгоритму досліджень у графічному вигляді, оскільки була проведена багатопланова експериментальна частина з використанням не лише мікробіологічних методів.

Виявлені окремі стилістичні та орфографічні помилки, як ми вже зазначали, були виправлені до моменту представлення дисертаційної роботи до офіційного захисту.

**Питання:** У порядку дискусії у мене є деякі запитання, на які б хотілося почути відповідь Оксани Іванівни:

1. Яка частка досліджених Вами препаратів внесена до Фармакопеї України і які для них є показання до використання?

2. Чому Ви не досліджували препарати, отримані іншими варіантами екстрагування (ацетонові, ефірні тощо)?

3. Чим зумовлені штамові відмінності у межах одного виду стафілококів за ознаками MLS-резистентності, а також ефектів впливу екстрактів рослин у поєднанні з еритроміцином?

Наведені запитання не знижують наукової цінності та позитивного оцінювання дисертаційної роботи Юрчишин Оксани Іванівни, а також теоретичного та практичного її значення для охорони здоров'я.

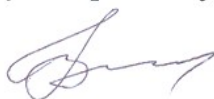
## **ВИСНОВОК**

Дисертаційна робота Юрчишин Оксани Іванівни «Вивчення протимікробної активності екстрактів лікарських рослин флори України відносно шкірних ізолятів мікроорганізмів з різними механізмами MLS-резистентності», що представлена на здобуття наукового ступеню кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія, 22 – охорона здоров'я, є завершеною науково-дослідною роботою, що спрямована на вирішення актуальної для нашої країни проблеми – пошуку високоефективних протимікробних сполук рослинного походження шляхом дослідження антибактеріальної активності.

За актуальністю та новизною дисертація відповідає вимогам МОН України, сформульованим у п. 12 "Положення про порядок присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника" і «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника, затвердженого

Постановою КМУ від 24.07.2013 р. № 567 (зі змінами внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р. та № 1159 від 30.12.2015 р.), Наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р., і може бути представлена у профільну спецраду, яка здійснює захист за фахом 03.00.07 – мікробіологія 22 – охорона здоров'я для здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук.

Завідувач кафедри епідеміології  
Львівського національного медичного університету  
імені Данила Галицького,  
доктор медичних наук, професор



Н.О. Виноград

Підпис д. мед. н., проф. Н.О. Виноград засвідчую.

Вчений секретар ЛНМУ імені Данила Галицького



С.П. Ягело