

## ВІДГУК

### на дисертаційну роботу Яцули Ольги Вікторівни “Мікробіологічне обґрунтування властивостей та застосування лікарських антимікробних препаратів”

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.** Проблема пошуку ефективних протимікробних препаратів є актуальною з огляду значимості інфекційних і паразитарних хвороб в медицині. Цілеспрямовані наукові дослідження у провідних країнах світу щодо створення антибактеріальних препаратів забезпечили можливість використання високоефективних специфічних природних і синтетичних антибіотиків у лікуванні хворих, терміновій профілактиці низки захворювань. Однак, формування резистентності мікроорганізмів до протимікробних препаратів внаслідок еволюції біологічних впливів, коли при дії несприятливих чинників виникають пристосувальні механізми виду зі селекцією нечутливих субпопуляцій біологічних агентів до ушкоджуючих чинників, призвело до неможливості застосування багатьох із відомих антибіотиків і хіміопрепаратів.

Кризова ситуація має місце в антибіотиколікуванні інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, де специфічна резистентність стала маркером госпітальних штамів, які, зокрема, продукують ферменти, що інактивують антибіотики ( $\beta$ -лактамази, карбапенемази).

Резистентність до метициліну ізолятів *Staphylococcus aureus* у закладах охорони здоров'я використовують для позначення госпітальних штамів, так звані метицилін-резистентні штами золотистого стафілококу (MRSA), як і ванкоміцину – VRSA. Окрім цього, продовжують залишатися проблемою у хірургічній й акушерсько-гінекологічній практиці, неонатології та реанімації коагулазонегативні штами *S. epidermidis* (CNS).

У всьому світі у лікувальних закладах продовжують поширюватися карбапенем-резистентні бактерії роду *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*) – ESBLa, які залишаються чутливими лише до кількох класів антимікробних препаратів, як правило, поліміксину, тігецикліну, фосфоміцину та нітрофурантоїну. Ген стійкості *bla<sub>KPC</sub>* локалізований у плазміді, переміщується транспозонами *Tn3*, *Tn4401*, тому легко поширюється від бактерії до бактерії. В окремих країнах ЄС частка карбапенем-резистентних бактерій роду *Enterobacteriaceae* коливається від 1 до 43,7 %. Третина ізолятів *E. coli* (O15:H1-D-ST393, CGA-D-ST69, O25b:H4-B2-ST131) у цих країнах є резистентними до цефалоспоринів 3-го покоління. Різко зростає кількість мультирезистентних штамів як серед грам (-), так і грам (+) бактерій – від 2 до 65 % ізолятів.

Окрім зазначених бактерій, в останні роки увагу дослідників привертають мультирезистентні штами *Stenotrophomonas maltophilia* і *Burkholderia cepacia*. Викликає значне занепокоєння високий показник резистентних до пеніциліну ізолятів *Streptococcus pneumoniae* (PRSP), а також резистентних до ванкоміцину ентерококів (VRE).

Спектр антисептиків і стерилізаторів, які використовують у закладах охорони здоров'я, не є великим, хоча їх застосування може бути ефективним для зниження тягаря проблеми інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги.

Враховуючи вищезазначене, є усі підстави стверджувати, що наукові дослідження з метою пошуку альтернативних препаратів і підходів для боротьби зі збудника інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, зокрема антисептиків, яким і присвячена дисертаційна робота Яцули Ольги Вікторівни, є вкрай актуальними і мають велике значення не лише медичне, але й соціально-економічне.

Дисертаційна робота Яцули О.В. виконана згідно з планом наукових досліджень, комплексних науково-дослідних програм кафедри мікробіології,

вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України «Експериментальне, клінічне дослідження багатовекторності властивостей антимікробних засобів з використанням їх спрямованого транспортування» (№ державної реєстрації 0110U006916); «Вивчення багатовекторності властивостей лікарського антимікробного препарату декаметоксину<sup>®</sup> та його лікарських форм (№ державної реєстрації 0115U006000). Здобувач приймала участь у вивченні та обґрунтуванні властивостей лікарських антимікробних препаратів. Тема і план дисертації затверджені вченою радою Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (протокол № 3 від 19 січня 2017 р.).

**Наукова новизна основних положень, висновків, практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Представлені на опоненцію матеріали дозволяють зробити позитивне заключення щодо основних положень, висновків, практичних рекомендацій, сформульованих і викладених у дисертаційній роботі. Автор підтвердила ефективність декаметоксину<sup>®</sup>, декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup>, септефрилу проти музейних штамів мікроорганізмів, що було раніше встановлено, і показала протимікробну дію зазначених препаратів щодо клінічних штамів, вивчила формування резистентності до досліджуваних препаратів у *Staphylococcus spp.* і *Candida albicans* та феномен адгезії у бактерій з різних таксономічних груп.

Вперше проведено електронномікроскопічне дослідження впливу декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup> на стафілококи та сальмонели.

**Практичне значення отриманих результатів.** Вагомим є практичне значення отриманих результатів. Реєстраційні посвідчення на лікарські засоби декаметоксин<sup>®</sup>, декасан<sup>®</sup>, горостен<sup>®</sup> використовують у промисловому виробництві на фармацевтичних підприємствах України як препаратів для лікування, профілактики бактеріальних, вірусних, грибкових гнійно-запальних захворювань.

Практична значимість декаметоксину<sup>®</sup>, декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup> підтверджена автором при дослідженні госпітальних штамів стафілококів, ешерихій, сальмонел.

Результати досліджень впроваджені автором у навчальний процес низки провідних в Україні ВНЗ: Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова МОЗ України, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», ДВНЗ «Буковинський державний медичний університет МОЗ України», Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України, ДВНЗ «Ужгородський національний університет МОН України».

**Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Оцінювання ступеню обґрунтованості та достовірності основних положень дисертаційної роботи Яцули О.В. дозволяє стверджувати про належне виконання етапів планування, правильний вибір методів, достатній обсяг досліджень для отримання репрезентативних результатів. Дисертант використала загальноприйнятій бактеріологічний метод в мікробіологічних дослідженнях, що дозволив правильно визначити видову приналежність ізолятів, дослідити адгезивні властивості мікроорганізмів в експериментальній частині досліджень, вивчити формування резистентності до антисептиків. Використання електромікроскопічного прийому дозволило об'єктивізувати процеси впливу декасану<sup>®</sup> і горостену<sup>®</sup> на клітинному рівні на стафілококи і сальмонели.

Результати кожного із досліджень було систематизовані, статистично опрацьовані та ретельно проаналізовані, що дозволяє стверджувати про обґрунтованість отриманих даних і висновків, які зроблені з достатнього обсягу експериментального матеріалу.

Висновки відповідають загальному плану дисертаційних досліджень, у повній мірі розкривають проблему в розрізі завдань дослідження і є узагальнення власних досліджень дисертантки.

Практичні рекомендації ґрунтуються на застосуванні нормативної документації на антисептики у промисловому виробництві, що висвітлює перспективи використання декаметоксину<sup>®</sup>, декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup> в закладах охорони здоров'я.

**Особистий внесок здобувача.** Здійснений нами аналіз дисертаційних матеріалів свідчить про особисту участь Ольги Вікторівни у всіх етапах планування, виконання, узагальнення і викладення дисертації. Вона за участі наукового керівника д. мед. н., проф., заслуженого діяча науки і техніки України Г.К. Палія визначилася з темою, метою і завданнями досліджень. Самостійно дисертант провела поглиблене вивчення стану проблеми використання антисептиків у медичній практиці у розрізі проблеми антимікробних препаратів, оволоділа методами і методиками, необхідними для усіх видів досліджень і успішно їх використала відповідно до етапу дисертаційної роботи. Значний обсяг досліджень вона здійснила у процесі вивчення декаметоксину<sup>®</sup>, декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup> щодо їх впливу на адгезію мікроорганізмів, прогнозування резистентності до антимікробних препаратів у бактерій та ультраструктурних змін бактеріальних клітин під дією антисептиків. Автор самостійно узагальнила, статистично опрацювала, описала і проаналізувала результати власних досліджень, співставивши їх з літературними даними. Важливо, що Ольга Вікторівна запровадила отримані результати у практику охорони здоров'я і навчальний процес п'яти ВНМЗ України. Висновки і практичні рекомендації також належать О.В. Яцулі.

**Повнота викладення та апробації основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій дисертаційної роботи.** За результатами дисертаційного дослідження опубліковані 27 наукових праць, з яких 10 статей у фахових виданнях, рекомендованих ДАК України, 15 робіт у матеріалах з'їздів і конференцій. Ольга Вікторівна є автором одного

нововведення. У роботах, виконаних у співавторстві, ідея й основні наукові положення належать дисертантці. Усі викладені в зазначених публікаціях дані за змістом і за формою відповідають дисертаційному рукопису.

**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.

**Ідентичність змісту автореферату і основних положень дисертації.**  
**Структура та зміст дисертації.** Автореферат за змістом ідентичний дисертації у розрізі висвітлення основних її частин: вступ, викладення результатів власних досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку друкованих робіт автора. Оформлення автореферату і дисертаційної роботи здійснене згідно з вимогами ДАК України.

Структура дисертаційної роботи відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, у тому числі змінам, викладеним у Наказі МОН України № 40 від 12.01.2017 року «Вимоги до оформлення дисертації». Робота містить титульну сторінку, анотацію українською і англійською мовами зі списком публікацій здобувача, зміст, перелік умовних скорочень, вступ, огляд літератури, власні дослідження: матеріали та методи дослідження, чотири розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення одержаних результатів, висновки і практичні рекомендації, список використаних джерел з 287 найменування (кирилицею – 211; латиною – 76), додатки. Робота представлена на 181 сторінці, містить 19 таблиць і 18 рисунків.

Вступ є ідентичним в авторефераті та дисертації, містить короткий опис актуальності обраної теми, її зв'язок з науково-дослідними темами; окреслену мету і завдання дисертаційної роботи, також висвітлено наукову новизну, теоретичну і практичну значимість проведених досліджень. Здобувач зазначила особистий внесок у процесі виконання дисертації, рівні апробації та впровадження.

Розділ 1 - огляд літератури, присвячений характеристиці властивостей

медичних антисептичних препаратів з огляду їх використання з профілактичною і терапевтичною метою. Здобувач висвітлила досягнення у створенні лікарських антисептичних препаратів із врахуванням вимог до них з огляду безпеки використання, їх властивостей і механізмів дії, побічних реакцій і ускладнень у хворих, фармакокінетики і формування стійкості до них. Варто зазначити логічну побудову і науковий стиль викладення матеріалу у цьому розділі, правильно розставлені акценти щодо антисептиків, що найбільше використовують у медичній практиці. При тому, маємо відзначити, що при викладенні інформації здобувач не завжди наводила посилання на першоджерела (стор. 31, стор. 32), використовувала термін «внутрішньолікарняні інфекції», тоді як на сучасному етапі належить «інфекції, пов'язані з наданням медичної допомоги». Слід наголосити на вмінні Ольги Вікторівни визначити пріоритети і перспективні напрями наукових пошуків.

На загал, цей розділ дисертаційної роботи свідчить про спроможність здобувача до аналітичного оцінювання наукових проблем і належного володіння інформацією у розрізі теми наукових досліджень.

Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження» містить стислу інформацію про фізико-хімічну характеристику досліджених у процесі виконання дисертаційної роботи лікарських антимікробних препаратів. Здобувач описала використані методи ідентифікації мікроорганізмів, оцінювання антимікробних властивостей досліджуваних мікроорганізмів з музею живих культур кафедри мікробіології ВНМУ імені М.І. Пирогова та ізолятів від хворих із визначенням чутливості до антибіотиків у 98 штамів *S. aureus*.

Частину інформації з цього розділу (стор. 38), на наш погляд, було би доцільно викласти в попередньому розділі огляду літератури, так як і описування властивостей виділених із клінічного матеріалу штамів (стор. 40-44) – у наступному розділі.

Інформація щодо методів визначення протимікробних лікарських препаратів, формування резистентності до антисептичних препаратів, впливу

цих препаратів на адгезивні властивості, ультрамікроскопічні дослідження дії декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup> на *S. aureus* ATCC 25923 і *S. typhimurium* 03270 свідчить про високий методичний рівень роботи, що забезпечило отримання науково вагомих даних.

Використання методів статистичного опрацювання результатів досліджень забезпечили достовірність результатів та їх доказовість, а використання математичних – можливість проведення аналітичного прогнозування чутливості 127 штамів *Pseudomonas aeruginosa* до низки антибіотиків.

Розділ 3 власних досліджень присвячений вивченню медичних, фізико-хімічних антимікробних властивостей декаметоксину<sup>®</sup>, враховуючи наявність препаратів-генериків, що можуть не мати суттєвих відмінностей поміж собою за основними характеристиками властивих їм ефектів. Здобувач дослідила субстанцію декаметоксину<sup>®</sup>, яку отримала з дослідного виробництва Інституту органічної хімії Національної академії наук України, ТОВ «Юрія-Фарм». За результатами досліджень дисертант дійшла висновку, що за протимікробними властивостями щодо клінічних штамів *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *Candida albicans* досліджений препарат володів мікробоцидною дією, що не відрізнялася від запатентованого декаметоксину<sup>®</sup>.

У Розділі 4 здобувач виклала результати досліджень щодо формування і прогнозування резистентності до антимікробних препаратів у бактерій. Вона дослідила формування стійкості до декаметоксину<sup>®</sup> у штамів *S. aureus* ATCC 25923 і *S. aureus* 27, використовуючи методику 30-кратного пасажування їх на поживних середовищах з наростаючими концентраціями препарату. Автор виявила, що формування резистентності відбувалося повільно і чутливість стафілококів до препарату була в межах 3,9-7,8 мкг/мл, що забезпечувало ефективність декаметоксину<sup>®</sup> в реальній клінічній ситуації. Досліджуваний ефект супроводжувався змінами макроскопічних властивостей: меншим розміром колоній, втратою пігментоутворюючої



функції; а також змінами біохімічних властивостей, втратою до продукції гемолізинів, лецитовітєлази.

Дослідження формування резистентності до декаметоксину<sup>®</sup> у *C. albicans* (штами 14 і 51) виявило, що, як і у попередньому випадку, стійкість формувалася повільно і зростає у 16 разів після 30-кратного пасажу, при цьому відзначалися зміни морфології клітин, культуральних і біохімічних властивостей.

Здобувач дослідила формування резистентності до декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup>, септефрилу у стафілококів та мікоміцетів і виявила аналогічні закономірності, як і у випадку застосування декаметоксину<sup>®</sup>.

Варто відзначити ще один напрям досліджень, що стосувався прогнозування чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa* до бета-лактамічних антибіотиків. Здобувач, провівши великий обсяг мікробіологічних досліджень, при обстеженні 295 хворих у стаціонарах закладів охорони здоров'я отримала 127 ізолятів *P. aeruginosa*, які були досліджені на чутливість до бета-лактамічних антибіотиків. Ці результати були використані як об'єктивні дані у процесі створення моделі на підставі математично-аналітичного прогнозування чутливості синьогнійної палички до низки клінічно актуальних антибіотиків.

Автор вперше запропонувала підходи для прогнозування формування резистентності до конкретних антибіотиків, що слід розглядати як важливий компонент у напрацюванні програм профілактики виникнення резистентних штамів *P. aeruginosa* до бета-лактамічних антибіотиків: ампіциліну / сульбактаму, амоксициліну / клавуланату, цефалеразону / сульбактаму, цефтазидиму, цефепіму, імпіпенему, меропенему.

У розділі 5 здобувач висвітлила результати вивчення дії антисептиків на адгезію мікроорганізмів як пусковий механізм патологічного процесу при інфекційних бактеріальних захворюваннях, що забезпечує можливість формування біоплівки. Враховуючи принципові відмінності процесу адгезії у грампозитивних і грамвід'ємних бактерій, дослідження були проведені на

широкому спектрі мікроорганізмів: *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* 27, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* M-17, *S. enteritidis* 3267, 3277; *S. typhimurium* 3227, 3270. Хочу наголосити, що здобувач правильно здійснила вибір препаратів порівняння, що забезпечило доказовість результатів вивчення впливу антисептиків в бактеріостатичних і бактерицидних концентраціях. Результати цього розділу мають не лише практичне, але й суттєве наукове значення, адже дозволяють з'ясувати механізми впливу препаратів і науково обґрунтувати їх застосування для профілактики і лікування інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, прогнозувати ефективність в залежності від етіології захворювання.

Наступний розділ 6 присвячений вивченню мікробіологічних і електронномікроскопічних характеристик впливу декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup> на ультраструктуру грампозитивних і грамнегативних бактерій. Здобувач дослідила зміни ультраструктури бактеріальних клітин референс-штамів *S. aureus* ATCC 25923, *S. typhimurium* 03270, а також клінічних штамів *S. aureus* (n 53), *S. typhimurium* (n 15). Вважаю за необхідне наголосити на великому обсязі та складності здійснення такого роду експериментів з вивчення впливу бактеріостатичних і бактерицидних концентрацій антисептиків.

Вперше на ультраструктурному рівні було показано, що антисептики спричиняють деструктивні зміни у клітинах стафілококів, що супроводжувалось явищем дезагрегації екзополісахаридного матриксу, з подальшим руйнуванням клітинної стінки, лізисом клітин. Суттєво інша картина мала місце при дії препаратів на сальмонели, де зміни форми, розмірів клітин супроводжувалися відшаруваннями оболонки від цитоплазми на фоні різкого гальмування процесу розмноження мікроорганізмів.

Кожний розділ власних досліджень містить список власних друкованих праць, у яких оприлюднено ці результати.

Розділ 7 автор присвятила аналізу та узагальненню результатів дослідження. Здобувач у стислій формі виклала отримані у процесі

виконання досліджень результати, Вона аргументовано здійснила прогнозування формування резистентності не лише музейних штамів, але й клінічних ізолятів штамів *P. aeruginosa* до бета-лактамних антибіотиків як одного з основних лімітуючих чинників їх використання в медичній практиці.

Електронномікроскопічні дослідження впливу антисептиків на клітинному рівні на бактерії та мікоміцети та вивчення змін адгезивних властивостей під впливом антисептиків відкривають нові горизонти для розвитку цього наукового напрямку. Однак слід зазначити, що здобувач не співставила отримані результати з подібного роду даними інших авторів.

Висновки відповідають поставленим завданням дисертаційної роботи, містять дані власних досліджень, що були отримані в процесі виконання дисертаційної роботи.

Список використаних джерел представлений у відповідності до вимог ДАКу, містить першоджерела вітчизняних і зарубіжних авторів, але до нього не включені усі друковані роботи здобувачки.

На підставі оцінювання кожного із зазначених розділів маємо підстави стверджувати про відповідність представленої кандидатської дисертації О.В. Яцули вимогам ДАК України до такого роду наукових робіт.

Як у всякій великій роботі, є окремі моменти, що не є принциповими, але ми вважаємо за необхідне на них зупинитися. Зокрема, здобувач не дотрималась використання стилю «італік» при зазначенні родової та видової приналежності мікроорганізмів у дисертації, тоді як у авторефераті все виконано належно. На жаль, автор в авторефераті та дисертації використала низку скорочень ДКМ<sup>®</sup>, ДС<sup>®</sup>, ГС<sup>®</sup>, НФ, ЦФ, не подавши їх розшифрування при першому використанні при зазначенні мети і завдань дослідження. Здобувач не дотримала низки вимог, які запроваджені Наказом МОН України № 40 від 21.01.2017 року щодо підписів під рисунками, оформлення таблиць.

Виявлені окремі стилістичні та орфографічні помилки не були суттєвими.

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

1. Що Ви мали на увазі, використовуючи терміни: «логістика» (стр. 17) при зазначенні методів досліджень, «біологічні властивості» препаратів (стр. 17), «медичне дослідження» декаметоксину<sup>®</sup>, декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup> (стр. 19)?
2. Які, на Вашу думку, перспективи використання антисептиків при вірусних інфекціях? Адже серед інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, є низка захворювань вірусної етіології.
3. Чи доцільним, на Вашу думку, є поєднане використання антисептиків з різним механізмом дії?
4. Яке практичне використання можуть мати результати розділу, присвяченого електронномікроскопічним дослідженням впливу антисептиків на мікроорганізми?

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

## **ВИСНОВОК**

Дисертаційна робота Яцули Ольги Вікторівни “Мікробіологічне обґрунтування властивостей та застосування лікарських антимікробних препаратів”, 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 – мікробіологічного дослідження антимікробних властивостей препаратів декаметоксину<sup>®</sup>, декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup>, септефрилу, ніфуроксазиду, ципрофлоксацину з означенням їх різнопланових ефектів і впливів, у тому числі формуванні

резистентності в стафілококів і мікоміцетів, з прогнозуванням резистентності клінічних штамів *P. aeruginosa* до бета-лактамних антибіотиків, впливом зазначених препаратів на процеси адгезії та вивченням ультраструктурних змін в бактеріальних клітинах під впливом декасану<sup>®</sup>, горостену<sup>®</sup>.

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.), «Вимогам до оформлення дисертації», затвердженим наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р., а її автор заслуговує на присудження наукового ступеню кандидата медичних наук за фахом 03.00.07 – мікробіологія.

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

