

## В І Д Г У К

офіційного опонента на дисертаційну роботу на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 «ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія»

**Козицької Тамари Григорівни**

на тему «**Метицилінрезистентний стафілокок: поширення, біологічні властивості та діагностика**» представлена в спеціалізовану вчену раду Д 26.004.03 у Національному університеті біоресурсів та природокористування України

**Актуальність теми дослідження.** Стафілококози на сьогодні є однією з найбільш поширених інфекційних патологій сільськогосподарських тварин. Патогенність стафілококових збудників пов'язана з токсиноутворенням, інвазивністю, стійкістю до дії антибіотиків і є етіологічним фактором багатьох захворювань людини і тварин. Серед представників роду *Staphylococcus spp* найбільшим патогенним потенціалом володіє *S. aureus*. *Staphylococcus spp* досить поширені у довкіллі, стафілококові інфекції поширені серед тварин та людей, швидко розповсюджуються; в останні десятиріччя постало питання про формування набутої резистентності до дії антибактеріальних препаратів (АБП) серед популяцій *S. aureus*. Серед популяцій *S. aureus* з набутою стійкістю до АБП особливу увагу та занепокоєння лікарів і дослідників викликають штами *S. aureus*, стійкі до метициліну. Метицилінрезистентні *S. aureus* (*MRSA*) адаптувалися до виживання в присутності до метициліну, діклоксациліну та оксациліну, стійкі до  $\beta$ -лактамних антибіотиків. З *MRSA* найбільш часто пов'язані нозокомональні інфекції, також досить часто в останні роки виділяють *MRSA* з об'єктів довкілля та побуту. На молекулярно-генетичному рівні набута стійкість до метициліну обумовлена продукцією додаткового пеніцилінзв'язуючого протеїну (ПСБ), що кодує ген *tesA*.

Також істотною проблемою є поширення популяцій *S. aureus*, здатних до формування бактерійної біоплівки високої щільності. За таких умов *S. aureus* набуває додаткового захисту і може проявляти підвищену стійкість до дії антибактеріальних речовин.

На сучасному етапі означені питання є високо актуальними, тому стали основою цієї дисертаційної роботи.

Докторська дисертація Козицької Т. Г. є актуальною, оскільки присвячена вивченню біологічних властивостей *S. aureus* – збудників актуальних захворювань тварин та людини, вивченню поширення феномену стійкості до мецитіліну, здатності до біоплівкоутворення, дослідженню чутливості до дезінфікуючих засобів ізолятів *MRSA* та *S. aureus* з набутою множинною стійкістю до антибактеріальних препаратів.

### **Ступінь обґрунтованості й достовірність основних наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації.**

Назва дисертаційної роботи цілком відповідає поставленим завданням та одержаним результатам. У вступі дисертації представлена актуальність теми і мета роботи, наукова новизна і практичне значення досліджень та особистий внесок автора. Мета, що сформульована в дисертації, логічно відображає суть роботи. Найбільш важлива інформація щодо поставлених в роботі завдань послідовно і повно викладена в огляді літератури. Для вирішення поставлених завдань автор ретельно опрацював 224 літературних джерел з проблеми, яка розглядається.

Експериментальна частина роботи виконана на високому науковому і методичному рівні з використанням сучасних досягнень науки і техніки і на достатній кількості дослідного матеріалу. Результати експериментів в повній мірі розкривають тему роботи та відповідають на поставленні завдання. Положення, висновки і пропозиції, що сформульовані в дисертації, обґрунтовані результатами власних досліджень.

Сформульовані в дисертації висновки повністю відповідають поставленим завданням досліджень.

Практичні рекомендації підтверджені документально. Наукові положення, розроблені дисертантом, базуються на використанні методів статистичної обробки даних, що підтверджує їх достовірність.

### **Наукова новизна та практичне значення одержаних результатів.**

Дисертантом досліджено та здійснено аналіз результатів бактеріологічних досліджень щодо поширення *S. aureus* серед різних видів тварин, у зразках продукції тваринного походження, об'єктів довкілля, що підлягають ветеринарно-санітарному контролю, в Україні; встановлено широке розповсюдження зоонозного патогену *S. aureus* в зазначених об'єктах.

Автором досліджено й експериментально обґрунтовано доцільність проведення комплексних досліджень із застосуванням мікробіологічних та молекулярно-генетичних методів для визначення набутих механізмів резистентності у *S. aureus* (виявлення гену *mecA*) та вивчення метицилінрезистентних *S. aureus*.

Дисертантом досліджено та проведено порівняльний аналіз здатності до утворення біоплівки у штамів *S. aureus*. Отримано нові наукові дані про стійкість виявлених *MRSA S. aureus* до дезінфікуючих засобів на основі бензалконію хлориду, глутарового альдегіду, формальдегіду; на основі гліоксалевого альдегіду, глутарового альдегіду, бензалконію хлориду, додецилдиметиламонію хлориду та на основі глутарового альдегіду, гліоксалевого альдегіду, четвертинних амонієвих сполук, полігексаметиленгуанідину гідрохлориду.

Результати досліджень автора роботи стали науковим підґрунтям для розроблення та впровадження в систему лабораторної діагностики «Методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів», «Методичні вказівки. Сучасні методи визначення чутливості та виявлення механізмів резистентності *S. aureus* до антибактеріальних препаратів», «Методичні рекомендації з визначення бактерицидної активності дезінфікуючих засобів на бактеріях у біоплівках»; паспорту штаму *S. aureus MRSA «22-22»* (Свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії ДНКІБШМ від 18.02.2019 р.).

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота Козицької Т. Г. виконана відповідно до чинних вимог за традиційною схемою. Робота складається з анотації, вступу, огляду наукової літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел, що включає 224 джерел, додатків. Дисертацію викладено на 176 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 19 таблицями та 21 рисунком.

У вступі дисертації автором доведена актуальність теми та визначені мета роботи, наукова новизна і практичне значення досліджень та особистий внесок. Результати експериментів у повній мірі відображені в наукових виданнях. Вони були висвітлені та проаналізовані під час наукових звітів та конференцій.

Перший розділ дисертації являє собою масивний огляд джерел літератури, в якому здійснено аналіз основних наукових публікацій за темою дисертаційної роботи з використанням робіт вітчизняних і іноземних авторів. В огляді літератури автор наголошує на тому, що незважаючи на всебічне вивчення представників роду *Staphylococcus spp* , зокрема *S. aureus* проблема набутої стійкості до антибактеріальних препаратів, зокрема *MRSA* надалі залишається актуальною ветеринарної медицини.

Автором проаналізовано ступінь поширення *MRSA* в сфері ветеринарної та гуманної медицини в Україні та в країнах Європи, зазначено, що протязі багатьох років питома вага *MRSA* на півдні Європи (Португалія, Греція, Іспанія, Італія), досягає 50%; в той же час в південних країнах Європи реєструють традиційно низькі рівні *MRSA* .

Автором зазначено, що на сьогодні існує ряд методів виявлення та диференціації метицилінорезистентності у стафілококів, зокрема це мікробіологічні методи, метод виявлення пеніцилінозв'язуючого білка - ПЗБ2а в реакції аглютинації, молекулярно-генетичні методи.

Обґрунтовано, що найбільш ефективним методом виявлення та

диференціації метицилінорезистентності у стафілококів є безпосереднє визначення наявності гена *tesA* молекулярно-генетичними методами (за допомогою ПЛР).

Другий розділ дисертаційної роботи Козицької Т. Г. містить в собі інформацію про установу, яка була базою для виконання роботи. Дисертантом описуються методики, які були використані при виконанні експериментальної частини роботи, а також методи статистичного аналізу, що дає підстави стверджувати, що в дисертаційній роботі використані сучасні та класичні методи досліджень. Загалом роботу виконано із застосуванням бактеріологічних (культурально-морфологічних, ферментативних, біохімічних, визначення чутливості до антибактеріальних препаратів, вивчення здатності до формування біоплівки високої щільності, встановлення стійкості до дезінфікуючих засобів); біологічних (патогенність *S. aureus* для білих мишей); молекулярно-генетичних (підтвердження наявності гену *tesA* методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі) методів досліджень. Опрацювання результатів за допомогою сучасних статистичних методів підтверджує їх достовірність.

Зміст третього розділу дисертації викладено цілеспрямовано та раціонально. Логічно представлений аналіз експериментів, що дає право на певні узагальнення, та конкретні висновки.

Одержана автором дисертаційної роботи інформація сприяє розширенню знань щодо поширення, біологічних властивостей та діагностики MRSA. У третьому розділі наведено нові дані стосовно поширення, біологічних властивостей *S. aureus*, MRSA; охарактеризовано культурально-морфологічні, ферментативні властивості, патогенність, чутливість до антибактеріальних препаратів, здатність до утворення біоплівки досліджуваних ізолятів та визначено ефективність застосування дезінфікуючих засобів. Експериментально доведено ефективність використання методу полімеразної ланцюгової реакції для індикації гену *tesA* у MRSA.

В розділі «Аналіз і узагальнення результатів досліджень» здобувач логічно підводить підсумок результатів роботи, порівнює їх з сучасними науковими досягненнями галузі.

Завершують роботу висновки та практичні пропозиції виробництву, які в повній мірі відповідають поставленій меті та завданням роботи. Вони є логічним завершенням науково обґрунтованих результатів, отриманих під час експериментальних досліджень, виконаних на високому методичному рівні, та є науково виваженими.

Зміст автореферату повністю відображає основні положення дисертаційної роботи.

**В процесі опрацювання матеріалів дисертаційної роботи виникли такі питання, зауваження та побажання:**

1 . Автором роботи було досліджено та проаналізовано поширення *S. aureus* серед тварин різних видів за період 2015-2019 рр. Встановлено зростання відсотку виділення збудника від ВРХ, ДРХ, птиці. В той же час відмічалось зниження кількості виділених *S. aureus* від свиней та відсутність виділених ізолятів від коней. З чим Ви це пов'язуєте?

2. Результати досліджень автора вказують на тенденцію до зниження зареєстрованих випадків виділення *S. aureus* з продукція тваринного походження та зростання цього показника в результаті бактеріологічних досліджень проб, відібраних з об'єктів довкілля за період 2015–2019 рр. З якими факторами Ви пов'язуєте отримані результати ?

3. На рисунку 3.16, зображено ріст резистентних колоній культури *S. aureus* 2/15 в зоні інгібування росту навколо дисків з антибактеріальними препаратами, а на рисунку 3.17 - подвійна зона росту штаму *S. aureus* «37/92» за визначення чутливості до дії фузидієвої кислоти. Які чинні рекомендації діють на сьогодні в Україні відносно інтерпретації таких результатів і які вони дають рекомендації?

4. У пункті 3.7. представлено результати дослідження здатності штамів *S. aureus* утворювати біоплівки. Проте за якими ознаками автор обирала культури *S. aureus* для проведення даного етапу досліджень та з яких об'єктів було виділено ізоляти *S. aureus*, що формували біоплівки високої щільності автор не наводить детальної інформації.

5. У таблиці 3.12 представлено результати досліджень з вивчення бактерицидної дії деяких дезінфікуючих засобів на польові ізоляти *S. aureus*. Проте не акцентовано за яким принципом було обрано ізоляти *S. aureus* та дезінфікуючі засоби для проведення даного етапу випробувань? Як Ви можете пояснити отримані результати?

6. Чи перспективно, на Вашу думку, запровадити обов'язкове використання методу ПЛР – ідентифікації генів стійкості до антибактеріальних препаратів у штамів бактерій з підтвердженою фенотипово стійкістю до певних антибіотиків? Для яких груп бактерій цей метод на сьогодні є найбільш актуальним на Вашу думку?

7. На окремих сторінках тексту дисертаційної роботи помічені невдалі вирази, які потребують наукового та стилістичного редагування, є певні перевантаження таблиць (таблиці 3.4, 3.5, 3.12).

Вважаємо, що зазначені питання та зауваження суттєво не впливають на загальний зміст даної роботи. Робота актуальна, має вагомим теоретичне та практичне значення і новизну, відповідає вимогам до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03.

Таким чином, за актуальністю обраної теми, науковою новизною і практичним значенням отриманих результатів дисертаційна робота Тамари Григоровни Козицької на тему «Метицилінрезистентний стафілокок: поширення, біологічні властивості та діагностика», відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 що висуваються до

кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 – ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія.

**Офіційний опонент:**

Доктор ветеринарних наук,  
старший науковий співробітник,  
завідувач науково-дослідного відділу  
мікробіологічних досліджень  
УЛЯБП АПК НУБІП України

*Лідник за свідченням  
рах. з кадрових  
питань УЛЯБП АПК*



І. М. Виговська