

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук,
професора Коваль Галини Миколаївни на дисертаційну роботу
Гушилика Бориса Івановича

**«Мікробіологічне обґрунтування розробки нових композицій для
ерадикації збудників найбільш поширених захворювань шлунково-
кишкового тракту»,**

яка подається у спеціалізовану вчену раду Д 64.618.01 ДУ "ІМІ НАМН" на
здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07
- мікробіологія

Актуальність обраної теми. Дисертаційна робота Гушилика Бориса Івановича, яка має назву "Мікробіологічне обґрунтування розробки нових композицій для ерадикації збудників найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту", присвячена актуальному завданню медичної мікробіології - розробці нових більш ефективних та безпечних протимікробних препаратів для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу, що є однією з найбільш невирішених проблем сучасної медицини. За даними ВООЗ у світі щорічно реєструється близько 500 млн. випадків кишкових інфекцій, які займають 4 місце в "рейтингу значимості" глобального тягаря хвороб. Летальність від кишкових інфекцій входить в десятку основних причин смертності в світі і щорічно сягає майже 1,5 млн. випадків. Протягом останніх десятиліть відмічається динамічна зміна етіологічної структури кишкових інфекцій. Серед мікробних чинників значна роль належить бактеріям родів: *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* та інші. На теперішній час доведено, що 92 % виразок дванадцятипалої кишки і близько 80 % виразок шлунку патогенетично асоціюється з наявністю бактерій *Helicobacter pylori*.

Сучасний протокол надання медичної допомоги при кишкових інфекціях та виразкових хворобах, асоційованих з *H. pylori* передбачає використання

різних груп антибіотиків та хіміопрепаратів. Застосування останніх за традиційними схемами нерідко супроводжуються негативною побічною дією та зниженням ефективності лікування, внаслідок формування резистентності у патогенів.

Метою дисертаційної роботи є мікробіологічне обґрунтування розробки високоактивних протимікробних композицій на основі сполук напівсинтетичного, синтетичного та природного походження для підвищення ефективності лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу. У відповідності з метою були поставлені наукові і практичні завдання.

При виконанні цих завдань дисертантом досліджувалися зразки нових протимікробних композицій із напівсинтетичними, синтетичними антибіотиками і хіміопрепаратами (пеніцилінами, цефалоспоринами, фторхінолонами, макролідами, декамтоксином, нітазолем) та допоміжними речовинами природного походження (кислота сорбінова, гліцирам, пектин, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль кукурудзяний, цукор).

У дисертаційній роботі Борис Іванович Гушилик визначив рівень антибактерійної активності експериментальних композицій щодо клінічних штамів *H. pylori*. Дослідив протимікробну активність нових композицій щодо референтних тест-штамів та клінічних збудників найбільш поширених бактерійних кишкових інфекцій. Вивчив швидкість формування резистентності у *H. pylori*, *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli* до найбільш перспективної протимікробної композиції.

Враховуючи вищезазначене, дисертаційна робота Бориса Івановича Гушилика на тему "Мікробіологічне обґрунтування розробки нових композицій для ерадикації збудників найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту" є актуальною на сучасному етапі розвитку медичної мікробіології.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційна робота виконана у рамках планових прикладних науково-дослідних робіт ДУ "ІМІ НАМН" "Розробка та впровадження в медичну практику лікарських форм на основі композицій природних та

синтетичних протимікробних засобів для лікування захворювань мікробної етіології" (№ держреєстрації 0102U001572), "Дослідження впливу допоміжних речовин на зростання біологічної активності антибіотиків в лікарських формах" (№ держреєстрації 0105U001116) та "Феноменологія індукції біоцидами некультурабельного стану патогенних ентеробактерій" (№ держреєстрації 0114U000241), в яких здобувачем виконано експериментальні дослідження з визначення спектру і рівнів протимікробної активності нових композицій з антибіотиками, хіміопрепаратами та допоміжними речовинами природного походження щодо музейних і клінічних штамів збудників захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу, а також вивчено швидкість формування резистентності у *H. pylori*, *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli* до найбільш перспективних протимікробних композицій.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Застосування сучасних методів досліджень, достатньої кількості експериментальних даних, їх статистична обробка та порівняння із даними вітчизняних та зарубіжних дослідників дозволило здобувачу обґрунтувати і узагальнити наукові положення, висновки та практичні рекомендації.

При виконанні роботи дисертант використовував сучасні і адекватні з точки зору вирішення поставлених завдань методи досліджень, а саме: мікробіологічні (дослідження антибактерійної і протигрибкової активності розроблених протимікробних композицій із напівсинтетичними, синтетичними антибіотиками і хіміопрепаратами (пеніцилінами, цефалоспоринами, фторхінолонами, макролідами, декаметоксином, нітазолом) та допоміжними речовинами природного походження (кислота сорбінова, гліцирам, пектин, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль кукурудзяний, цукор). Вивчення швидкості формування резистентності у мікроорганізмів до нових композицій з протимікробною дією. Математико-статистичні (обробка отриманих даних з оцінюванням значень протимікробної активності досліджуваних композицій з препаратами порівняння).

Положення і висновки дисертаційної роботи, в яких відображено достовірно рівень та спектр антибактерійної та протигрибкової активності відносно музейних та клінічних культур мікроорганізмів, об'єктивно відображають узагальнені результати досліджень, які були отримані із застосуванням класичних методик відтворення тематичних експериментів.

Всі експерименти було виконано у п'яти повторях і їх результати пройшли статистичну обробку.

Дисертант детально проаналізував особисті результати експериментів, провів їх порівняння із даними вітчизняних та зарубіжних дослідників і логічно сформулював наукові положення та висновки.

Запропоновані автором практичні рекомендації ґрунтуються на об'єктивних даних результатів досліджень і відображають доцільність їх подальшого застосування в якості нових протимікробних засобів, а також в науковій, медичній та навчально-освітній сферах.

Перераховане вище дозволяє оцінити наукові положення, висновки та практичні рекомендації, викладені в дисертаційній роботі, як цілком обґрунтовані.

Достовірність і новизна положень, висновків та рекомендацій. Достовірність основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих в дисертаційній роботі, ґрунтується на: достатньому обсязі виконаних тематичних експериментів; використанні загальноновизнаних методів досліджень (мікробіологічних, математико-статистичних); достатньої кількості взятих в експерименти культур мікроорганізмів; повноцінної статистичної обробки отриманих результатів та їх об'єктивному аналізі.

В матеріалах дисертації чітко вказано кількість і походження використаних штамів мікроорганізмів, наведено результати експериментів із урахуванням їх повторних відтворювань (у п'яти повторях).

Викладене вище засвідчує те, що сформульовані в дисертаційній роботі основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації є достовірними.

Для підвищення ефективності лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу розроблено 15 зразків нових

протимікробних композицій на основі антибіотиків, хіміопрепаратів та допоміжних речовин природного походження у формі водорозчинних гранул із високою біодоступністю.

Мікробіологічно обґрунтовано ефективність нової композиції № 5 для ерадикації *H. pylori* асоційованого із виразковою хворобою шлунку та дванадцятипалої кишки, яка містить компоненти у такому співвідношенні (мас. %): амоксицилін 8,33; нітазол 2,50; декамтоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100. Запропонована композиція у порівнянні із комерційним препаратом "HELICOCIN®" (виробництва фірми "Biochemie GmbH", Австрія) характеризується достатньо високим рівнем протихелікобактерної активності завдяки поєднаній дії компонентів і знизить вірогідність виникнення негативних побічних ефектів завдяки присутності допоміжних речовин природного походження.

Дисертантом встановлено високу протимікробну активність стосовно музейних і клінічних штамів збудників кишкових інфекцій нових композицій №№ 1-15, до складу яких входили антибіотики ампіцилін, амоксицилін, цефалексин, норфлоксацин, кларитроміцин у поєднанні із хіміопрепаратами нітазолом, декамтоксином та допоміжними речовинами. Найбільш перспективною визначено композицією № 11, що містить компоненти у такому співвідношенні (мас. %): норфлоксацин 6,67; нітазол 2,50; декамтоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100.

Також вперше доведено, що у *H. pylori*, *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli* до дії зазначених композицій резистентність формується повільно.

Досить детально описано застосовані автором методи досліджень та вказано першоджерела їх запозичення. Наведено результати експериментів із урахуванням їх повторних відтворювань (у п'яти повторях).

Результати досліджень вперше обґрунтовують перспективність розробки нових протимікробних засобів у формі гранул на основі амоксициліну, норфлоксацину, нітазолу, декамтоксину та допоміжних речовин природного

походження: гліцирам, пектин; кислота сорбінова; мікрокристалічна целюлоза; крохмаль кукурудзяний, цукор для підвищення ефективності лікування найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту бактеріального генезу.

Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, в опублікованих працях та авторефераті.

Результати досліджень кандидатської дисертації Бориса Івановича Гушилика опубліковано в 29 наукових роботах (5 - одноосібні), серед них 13 статей (11 – у наукових фахових журналах України, 2 – у міжнародних виданнях, 5 – включено до міжнародних наукометричних баз), 2 патенти України на корисну модель, 1 методичні рекомендації, 1 інформаційний лист, 12 тез доповідей на наукових міжнародних конгресах, з'їздах, конференціях.

Автореферат дисертаційної роботи викладено (на 24 сторінках тексту, містить 5 рисунка і 7 таблиць) із дотриманням вимог МОН України. Автореферат складається із загальної характеристики дисертаційної роботи, основних положень змісту кожного її розділу з результатами досліджень та їх аналізом, висновків, списку опублікованих праць, анотацій українською, російською та англійською мовами. Матеріали автореферату є ідентичними дисертації, досить ґрунтовно розкривають основні її положення і дозволяють сформулювати повне уявлення про роботу в цілому.

Вказане вище, дозволяє мені визначити, що опубліковані праці та автореферат повною мірою розкривають основні наукові положення, висновки і рекомендації дисертаційної роботи.

Структура, зміст і завершеність дисертаційної роботи. Кандидатська дисертація Бориса Івановича Гушилика викладена на 145 сторінках тексту комп'ютерного набору і складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій і списку літератури. Робота містить 15 таблиць та 9 рисунків. Список літератури включає 185 посилань, серед них 47 кирилицею та 138 латиною.

У вступі обґрунтовано актуальність для медичної галузі проблеми розробки нових більш ефективних та безпечних протимікробних препаратів для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу.

Висвітлено зв'язок роботи з науковими програмами, сформульовано мету, визначено завдання дослідження, окреслено об'єкт та предмет дослідження, розкрито наукову новизну, теоретичне та практичне значення, наведено дані щодо апробації і опублікування отриманих результатів, а також відомості про обсяг і структуру дисертації.

В огляді літератури, який складається із трьох підрозділів, описано сучасні уявлення про поширеність та етіологічну структуру захворювань шлунково-кишкового тракту мікробного генезу, застосування етіотропних препаратів для їх лікування та сучасні напрямки наукових досліджень для протидії поширенню полірезистентних збудників бактерійних інфекцій.

Розділ 2 "Матеріали і методи досліджень" складається із 5 підрозділів, в яких наведено дані про кількість і походження штамів мікроорганізмів, представлено відомості щодо поживних середовищ, лабораторного обладнання, активних протимікробних субстанцій та допоміжних речовин, які були використані дисертантом для проведення досліджень. Повнота викладення автором мікробіологічних, статистичних методів є цілком достатньою для оцінки обґрунтованості вибраних методів досліджень, їх сучасності з точки зору забезпечення якості проведення експериментів.

Розділі 3 "Експериментальні зразки нових протимікробних композицій" містить 4 підрозділи, в яких викладено результати розробки нових композицій за методом вологого гранулювання. Було сконструйовано 15 нових експериментальних зразків композицій у вигляді гранул з напівсинтетичними пеніцилінами, цефалоспоринами, фторхінолонами, макролідами у комбінації з нітазолом та декамтоксином і допоміжними речовинами природного походження для проведення подальших досліджень. Всі розроблені композиції у вигляді гранул за фізичними і фізико-хімічними властивостями відповідали вимогам ДФУ.

У розділі 4 " Протимікробна активність експериментальних зразків нових композицій щодо клінічних штамів *Helicobacter pylori* " автором визначено протимікробну дію нових композицій щодо 12 клінічних штамів *H. pylori*, найвищу активність має склад, який містить компоненти у такому співвідношенні (мас. %): амоксицилін 8,33; нітазол 2,50; декаметоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100.

У розділі 5 " Протимікробна активність експериментальних зразків нових композицій щодо референтних і клінічних штамів найбільш поширених різновидів збудників бактерійних кишкових інфекцій " досліджено протимікробну активність експериментальних зразків розроблених композицій №№ 1-15 щодо референтних і клінічних штамів найбільш поширених різновидів збудників бактерійних кишкових інфекцій.

Відносно референтних штамів бактерій і грибів, більшість розроблених композицій характеризувалась високою інгібуючою дією. При цьому, найвищу ефективність протимікробної дії ($p < 0,05$) виявили нові композиції №№ 4 і 5, що містять амоксицилін (у кількості 16,66 і 8,33 мас. %, відповідно), та композиції №№ 10 і 11, до складу яких входить норфлуксацин (у кількості 13,33 і 6,67 мас. %, відповідно).

За результатами тестування чутливості 27 клінічних штамів 13 різновидів збудників бактерійних кишкових інфекцій найбільш перспективною визначено композицією № 11, що містить компоненти у такому співвідношенні (мас. %): норфлуксацин 6,67; нітазол 2,50; декаметоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100.

У розділі 6 " Швидкість формування резистентності до перспективних нових композицій у представників найбільш клінічно-значущих різновидів збудників бактерійних захворювань шлунково-кишкового тракту (*H. pylori*, *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli*)" дисертантом вивчено швидкість формування резистентності до перспективних нових композицій (№№ 5 і 11) у представників найбільш клінічно-значущих

різновидів збудників бактерійних захворювань шлунково-кишкового тракту (*H. pylori* і *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli*).

Встановлено, що резистентність у *H. pylori* до композиції № 5 формується відносно повільно: на 30 пасажі МІК зросла лише у 8 разів, тоді як за цих же умов показник МІК до "HELICOCIN®" зріс у 12 разів.

За результатами експерименту доведено повільне формування резистентності до композиції № 11 у клінічних штамів сальмонел, шигел та ешеріхій. До 30 пасажу за показником МІК набута стійкість до вказаної композиції зросла: у 8 разів у *S. enterica* КЛПЗ-10 та у 7 разів в *S. sonnei* КЛПЗ-9 і *E. coli* КЛПЗ-13, тоді як динаміка зростання резистентності у зазначених патогенів до препарату порівняння "НОРФЛОКСАЦИН-ЗДОРОВ'Я" характеризувалась більшою інтенсивністю ($p < 0,05$) із кратністю зростання МІК на 30 пасажі у 12, 11 і 9 разів, відповідно.

У розділі "Аналіз та узагальнення результатів досліджень" в стислій формі наведено підсумки виконаної роботи, обговорено основні результати експериментів, які дозволили Борису Івановичу Гушилику реалізувати мету і завдання дисертації, обґрунтувати висновки.

Висновки включають стисле формулювання здобувачем наукових узагальнень, які в сукупності повною мірою відображають теоретичні та практичні результати роботи і вирішення завдання щодо перспективи використання нових протимікробних композицій. У висновках представлено кількісні показники основних здобутих результатів, вони сформульовані чітко і зрозуміло, їх послідовність і зміст логічно відображає завершеність дисертаційної роботи.

Практичні рекомендації щодо використання результатів дисертаційної роботи мають медично-прикладне використання (розроблено нові протимікробні композиції у формі гранул, які пропонуються для проведення наступних етапів випробувань, промислового виготовлення лікарських препаратів з подальшим застосуванням їх в медичній практиці) та навчально-педагогічне (використання у навчальному процесі кафедр мікробіології,

вірусології та епідеміології медичних вищих навчальних закладів матеріалів дисертаційної роботи).

Список використаних джерел викладено з дотриманням чинних бібліографічних вимог ДСТУ ГОСТ 7.1:2006. Список складено за порядком появи посилань у тексті дисертації. Всього в списку 185 джерел, у тому числі: 47 - українською та російською кирилицею та 138 – латиною.

Відповідність дисертації спеціальності та профілю спеціалізованої вченої ради. Дисертаційна робота " Мікробіологічне обґрунтування розробки нових композицій для ерадикації збудників найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту " за формулою спеціальності, напрямами досліджень і галуззю науки відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 та спеціальності 03.00.07 – мікробіологія, медичні науки.

Зауваження щодо змісту дисертації.

Дисертаційна робота і автореферат викладені літературною українською мовою, відзначається гарне оформлення і змістовність. Значний обсяг проведених досліджень всебічно охоплює досліджувану проблему. Всі розділи вдало ілюстровані таблицями, малюнками, які доповнюють основний текст.

При рецензуванні матеріалів дисертаційної роботи Бориса Івановича Гушилика виникли наступні зауваження і запитання.

Перелік і суть зауважень:

- В обговоренні є повтор того, що є в огляді літератури. Помилки набору, невдалі стилістичні звороти не впливають на сприймання змісту роботи. Зазначені зауваження не мають принципового значення і не впливають на наукову та практичну цінність дисертаційної роботи та її позитивну оцінку.

У процесі ознайомлення з роботою виникли деякі питання, на які хотілося б отримати відповіді:

Запитання:

1. На якій підставі було проведено вибір антибіотиків?
2. В роботі були взяті допоміжні компоненти природного походження.

Чи проявляють вони протимікробні властивості і в якій мірі?

Висновок. За своєю актуальністю, обсягом проведених досліджень, науковою новизною та практичним значенням отриманих результатів, дисертація «Мікробіологічне обґрунтування розробки нових композицій для ерадикації збудників найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту» є завершеною науковою працею, виконаною на сучасному рівні. Отримані обґрунтовані результати в сукупності вирішують актуальну наукову проблему мікробіології – застосування протимікробних композицій при розробці нових протимікробних препаратів для підвищення ефективності профілактики і лікування захворювань шлунково-кишкового тракту.

Дисертаційна робота Гушилика Бориса Івановича є такою, що цілком відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 і здобувач заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія.

Завідувач кафедри мікробіології,
вірусології та імунології з курсом
інфекційних хвороб
ДВНЗ "Ужгородський національний
університет"
доктор медичних наук,
професор

Коваль

Г. М. Коваль

Гушилик проф. Коваль
Вчений секретар УжНУ



О. О. Мельник