

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, старшого наукового співробітника, завідувача лабораторії нових та маловивчених інфекційних захворювань ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України” Похила Сергія Івановича на дисертаційну роботу Частій Тетяни Володимирівни: “Мікробіологічна характеристика грибів роду *Malassezia* та удосконалення методів лабораторної діагностики маласезіозів”, подану 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 Частій Т.В. на тему: “Мікробіологічна характеристика грибів роду *Malassezia* та удосконалення методів лабораторної діагностики маласезіозів” присвячена вирішенню важливого наукового завдання на сучасному етапі розвитку медичної галузі, а саме – підвищенню ефективності лабораторної діагностики маласезіозів у людей на підставі отриманих більш глибоких знань про біологічні властивості (морфологічні, культуральні, біохімічні, антигенні, генетичні та чутливості до антимікотиків) регіональних штамів найбільш клінічно-значущих різновидів грибів роду *Malassezia*.

Актуальність зазначеного напрямку досліджень обґрунтовується рядом об’єктивних положень, а саме: поширеністю інфекційних хвороб (різнокольоровий лишай, МКХ-10, В36.0) і хвороб шкіри (атопічний дерматит, L20, екзема, L30.9, себорейний дерматит, L21, псоріаз L40 тощо), ускладнений і хронічний перебіг яких асоціюється із грибами роду *Malassezia*; критично недостатнім рівнем вивченості патогенезу маласезіозів і механізмів імунного захисту макроорганізму проти вражаючої дії їх збудників; відсутністю в Україні повноцінних відомостей про спектр клінічно–значущих різновидів маласезій, і як наслідок цього, недостатнім рівнем даних щодо біологічних властивостей цих грибів; нерозробленістю (за виключенням традиційної тактики діагностичної мікроскопії) сучасних методів лабораторної діагностики маласезіозів (мікробіологічних, імунологічних, молекулярно-генетичних) із урахуванням актуальних різновидів їх збудників, що негативно впливає на якість лікування і профілактики розвитку хронічних форм та інших ускладнень хвороб.

Дисертаційна робота Частій Т.В. виконана у рамках планових бюджетних науково-дослідних робіт Харківського національного медичного університету (ХНМУ) МОЗ України - “Оптимізація діагностики й протимікробної терапії гнійно-запальних процесів з урахуванням комунікативних властивостей мікроорганізмів” (№ держреєстрації 0111U001402) та ДУ “Інститут дерматології та венерології НАМН України” (ДУ “ІДВ НАМН”) - “Дослідити молекулярно-генетичні механізми

патогенезу захворювань шкіри, викликаних грибами *Candida*, *Malassezia* та іншими мікроміцетами, з метою розробки нових методів діагностики” (№ держреєстрації 0107U012801), “Розробка стандартів проведення вторинної профілактики тяжких і розповсюджених дерматозів” (№ держреєстрації 0109U002513).

Отже, тема дисертаційної роботи Частій Т.В.: “Мікробіологічна характеристика грибів роду *Malassezia* та удосконалення методів лабораторної діагностики маласезіозів” є актуальною для галузі медичної мікробіології та цілком відповідає пріоритетному напрямку розвитку науки і техніки на період до 2020 року “Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань” згідно Закону України № 2519-VI від 09.09.2010 р. “Про внесення змін до Закону України “Про пріоритетні напрями розвитку науки і техніки””.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Використання сучасних методів досліджень, достатня кількість експериментальних даних, їх статистична обробка та порівняння із даними інших дослідників (переважно іноземних) дозволило Частій Т.В. у дисертаційній роботі з дотриманням принципів доказової медицини обґрунтувати і узагальнити наукові положення, висновки та практичні рекомендації.

При виконанні роботи дисертантом використано сучасні і адекватні з точки зору вирішення поставлених завдань методи досліджень, а саме: мікробіологічні – для удосконалення спеціального поживного середовища, розробки схеми-алгоритму ідентифікації різновидів грибів роду *Malassezia*, а також для встановлення частоти і рівня колонізації маласезіями шкіри у хворих на хронічні дерматози та клінічно здорових людей і визначення чутливості клінічних штамів *Malassezia* spp. до антимікотичних препаратів; молекулярно-генетичні – для виявлення ДНК маласезій у змивах/зішкрібках шкіри тематичних пацієнтів і у здорових людей та для встановлення первинної структури внутрішніх транскрибованих спейсерів (ITS-1 і ITS-2) гену рРНК клінічних ізолятів *Malassezia* spp.; біоінформаційного аналізу – для точної філогенетичної верифікації видової приналежності клінічних штамів маласезій, виділених в Україні; імунологічні – для отримання антигенів маласезій діагностичного призначення і визначення рівня протималасезійних імуноглобулінів (Ig E і Ig G) у сироватці крові хворих на хронічні дерматози та здорових людей; математико-статистичні – для обробки отриманих результатів експериментів.

Для виконання завдань дисертаційної роботи щодо удосконалення мікробіологічного методу виявлення, вилучення та ідентифікації грибів роду *Malassezia*, а також для встановлення частоти присутності останніх на інтактній шкірі та у зоні враження (*locus morbi*) у хворих на хронічні дерматози і на шкірі здорових людей, з використанням світлової мікроскопії та культурального методів здійснено дослідження 170 змивів/зішкрібків шкіри

від тематичних пацієнтів (у тому числі з: атопічним дерматитом, АД – 35, екземою – 40, різнокольоровим лишаєм, РЛ – 24, себорейним дерматитом, СД – 11, розповсюдженим псоріазом, РП – 21, обмеженою склеродермією, ОСД – 21, хронічним червоним вовчаком, ХЧВ – 18), що знаходились на лікуванні в ДУ “Інститут дерматології та венерології НАМН України”. При цьому, вибіркою порівняння слугували 34 зразки аналогічного біоматеріалу від клінічно здорових осіб адекватного віку і гендерної приналежності (донори крові).

Рівень колонізації шкіри грибами роду *Malassezia* методом відбитків було вивчено при обстеженні 107 хворих на хронічні дерматози (у тому числі з: РП – 21, екземою – 27, АД – 20, ОСД – 21 та з ХЧВ - 18 на) і 20 клінічно здорових осіб.

Всього дисертантом виділено і вивчено біологічні властивості 68 культур *Malassezia* spp., за морфологічними, культуральними та біохімічними характеристиками яких ідентифіковано види: 22 штами - *M. furfur*, 28 штамів - *M. sympodialis*, 16 штамів - *M. globosa* та 2 штами - *M. slooffiae*.

Ефективність методу стандартної ПЛР-детекції ДНК маласезій із використанням родоспецифічної системи праймерів F992 + R1279 визначено шляхом тестування 69 зразків відповідного біоматеріалу від хворих на дерматози (включно: на АД - 28, РЛ – 21, СД – 11 та на екзему – 9) і 14 – від клінічно здорових людей.

У шести виділених здобувачем клінічних штамів маласезій проведено секвенування внутрішніх транскрибованих спейсерів (ITS-1 - 5,8 S - ITS-2) гену рРНК, біоінформаційний аналіз нуклеотидних послідовностей яких дозволив здійснити точну філогенетичну ідентифікацію кожного із цих штамів: *M. furfur* і *M. sympodialis* (по 2 штами кожного виду), *M. globosa* та *M. slooffiae* (по 1 штаму кожного виду). П'ять із зазначених штамів маласезій (*M. furfur* 973, *M. furfur* 1169, *M. sympodialis* 97, *M. sympodialis* 1218 та *M. globosa* 102) депонувано у Музеї патогенних для людини мікроорганізмів ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України”.

Для вивчення сенсibiliзації до грибів роду *Malassezia* у хворих на дерматози дисертантом апробовано 2 відмінні за технологіями отримання і властивостями експериментальні зразки антигенів із штаму *M. sympodialis* 97, а методом ІФА наявність і рівні протималасезійних Ig E та Ig G визначено у 72 зразках сироватки крові хворих на дерматози (у тому числі з АД – 40 і екземою – 32) та у 18 – від клінічно здорових людей.

З метою виконання завдання дисертаційної роботи щодо визначення чутливості вилучених від хворих на дерматози штамів маласезій до антимікотиків здобувачем здійснено (у порівнянні з чутливістю референтного штаму *C. albicans* ATCC 10231) шляхом тестування 15 культур трьох різновидів *Malassezia* (*M. furfur*, *M. sympodialis* та *M. globosa*, по 5 штамів кожного виду) до 6 препаратів/субстанцій різних хімічних груп двома

різними методами: напівкількісним (диско-дифузійним) і кількісним (ферментометричного мікротитраційного визначення мінімальної інгібуючої концентрації препаратів, МІК та фракційного індексу інгібуючої концентрації, ФІК, антифунгіальної дії комбінації тербінафіну, ТФ із бензоїл пероксидом, БП). При вивченні *in vitro* дії ліпосомальних форм ТФ по відношенню до *Malassezia* spp. випробувано (на двох штаммах маласезій - *M. furfur* 973 та *M. sympodialis* 97) три варіанти ліпосомальних часток із ТФ, що дозволило встановити найбільш перспективний із них.

Всі експерименти (за виключенням фрагменту роботи щодо здійснення секвенування ITS гену рРНК маласезій) було виконано у декількох повторах і їх результати пройшли статистичну обробку.

Дисертант детально проаналізував особисті результати експериментів, провів їх критичне порівняння із даними інших вітчизняних і закордонних науковців, чітко і логічно сформулював наукові положення та висновки.

Запропоновані автором практичні рекомендації ґрунтуються на об'єктивних даних результатів досліджень і відображають доцільність їх подальшого застосування у медичній науковій, практичній та навчально-освітній сферах.

Перераховане вище дозволяє оцінити наукові положення, висновки та практичні рекомендації дисертаційної роботи Частій Т.В. як цілком обґрунтовані.

Достовірність і новизна положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Достовірність основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих в дисертаційній роботі Частій Т.В., ґрунтується на: достатньому обсязі виконаних тематичних експериментів; використанні адекватних і сучасних методів досліджень (мікробіологічних, молекулярно-генетичних, імунологічних, математико-статистичних) для виконання поставлених завдань; специфікації взятих в експерименті штамів *Malassezia* spp., поживних середовищ і реактивів, протигрибкових препаратів, систем праймерів, реакційних сумішей для відтворення ПЛР, експериментальних зразків виготовлених маласезійних антигенів, ліпосомальних форм ТФ тощо; достатньо повному описі всіх використаних здобувачем методів дослідження; стандартизації робочих суспензій мікроорганізмів та уніфікованості відтворення багаторазово повторених експериментів; дотриманні процедур внутрішнього контролю якості експериментальних досліджень; повноцінної статистичної обробки отриманих результатів та їх об'єктивному аналізу з порівнянням із тематичними даними вітчизняних і зарубіжних фахівців.

Приклади багатьох результатів мікробіологічних і молекулярно-генетичних досліджень зафіксовано методом фотографування.

Викладене вище засвідчує те, що сформульовані в дисертаційній роботі Частій Т.В. основні наукові положення і висновки є достовірними, а

практичні рекомендації – обґрунтованими, їх наукова новизна полягає в наступному.

В Україні вперше визначено поширеність (73,0 %) і видовий спектр грибів роду *Malassezia* у хворих на дерматози: *M. sympodialis* (41,2 %), *M. furfur* (32,4 %), *M. globosa* (23,5 %) та *M. slooffiae* (2,9 %). При цьому встановлено відносно вищий рівень колонізації шкіри маласезіями (>2,0 КУО/см²) у 30 % хворих на АД та у 18,6 % хворих на екзему, тоді як на інтактній шкірі у 40,1 % клінічно здорових осіб, у яких було виявлено ці мікроорганізми, рівень колонізації останніх не перевищував 1,0–1,5 КУО/см².

З метою підвищення продуктивності первинного виділення, вирощування чистих культур грибів роду *Malassezia* та їх видової ідентифікації автором роботи модифіковано базове поживне середовище Лімінга-Нотмана (для оптимізації складу якого додано певну кількість твінів 20, 40 і 80, олеїнову кислоту, дріжджовий екстракт, гліцерин та зібране молоко), що у сукупності із вивченими фенотиповими властивостями (морфологічними, культуральними, біохімічними) 68 ізолятів різних видів маласезій (у тому числі: 22 - *M. furfur*, 28 - *M. sympodialis*, 16 - *M. globosa* та 2 - *M. slooffiae*) дало можливість здобувачу розробити уніфіковану схему-алгоритм ідентифікації одинадцяти різновидів роду *Malassezia*.

Для швидкої і точної детекції ДНК маласезій у змивах/зішкрябах шкіри розроблено ПЛР у стандартному форматі відтворення із використанням оригінальної системи родоспецифічних праймерів F992 і R1279, застосування яких істотно прискорює виявлення *Malassezia* spp. у зразках біоматеріалу.

Здобувачем вперше вивчено первинну структуру внутрішнього транскрибованого спейсеру гену рРНК шести регіональних штамів маласезій, що дозволило методом біоінформаційного аналізу здійснити їх точну філогенетичну ідентифікацію: *M. furfur* і *M. sympodialis* (2 штами кожного виду), *M. globosa* та *M. slooffiae* (по 1 штаму кожного виду). Безсумнівне позитивне значення має факт депонування цих штамів у Музеї патогенних для людини мікроорганізмів ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України”, що створило можливість для їх використання вітчизняними й іноземними фахівцями для проведення подальших наукових досліджень.

Дисертантом уперше в Україні отримано діагностичний антиген зі вітчизняного штаму-продуценту *M. sympodialis* 97, первинна структура ITS гену рРНК якого на 1 % відрізняється від аналогічного фрагменту геному відомого типового штаму *M. sympodialis* ATCC 42132. Завдяки використанню експериментального зразку нового діагностичного антигену у 37,1 % хворих на АД виявлено протималасезійні Ig E (проти 5,1 % - у хворих на екзему і 0 % - у клінічно здорових людей), наявність яких слід вважати додатковим (факультативним) діагностичним критерієм АД.

Для лікування асоційованих із маласезіями дерматозів здобувачем доведено доцільність сумісного використання ТФ та БП, комбінована дія яких проявляється адитивним ефектом. Крім того, результати експериментів

in vitro обґрунтували перспективність застосування ліпосомально–жирової форми ТФ, МІК якої щодо клінічних штамів *Malassezia* spp. у 10 разів є нижчою за аналогічний показник вихідного препарату ТФ.

Академічного плагіату у матеріалах дисертаційної роботи Частій Т.В. не виявлено.

Апробація результатів дисертації, повнота викладу сформульованих у роботі наукових положень, висновків і рекомендацій в опублікованих працях та авторефераті.

Результати досліджень, основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації кандидатської дисертації Частій Т.В. оприлюднено і обговорено на 11 наукових форумах (конференціях, з'їздах і конгресах) з міжнародною участю, опубліковано в 23 наукових працях, у тому числі: 8 статей (5 - у вітчизняних фахових наукових виданнях, визначених МОН України, з яких 3 включено до міжнародних науково метричних баз; 2 – у закордонних виданнях; 1 – у тематичному збірнику), 2 патенти України (1 – на винахід і 1 – на корисну модель), 1 методичні рекомендації, 1 галузеве нововведення, 11 тез у збірках матеріалів наукових форумів.

Автореферат дисертаційної роботи Частій Т.В. викладено із дотриманням вимог МОН України на 24 сторінках машинописного тексту, він містить 5 таблиць і 7 рисунків. Автореферат складається із загальної характеристики роботи, найбільш важливих положень кожного розділу основного змісту дисертації з результатами досліджень та їх аналізом, висновків, списку опублікованих праць за темою дисертації, 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 відомості про обсяг апробації, опубліковані праці автора та автореферат повною мірою розкривають основні наукові положення, висновки і рекомендації його дисертаційної роботи.

Оформлення, структура, основний зміст і завершеність дисертаційної роботи.

Кандидатська дисертація Частій Т.В. оформлена згідно з вимогами МОН України, затвердженими наказом від 12.01.2017 року № 40 “Про затвердження вимог до оформлення дисертації”.

Робота викладена на 145 сторінках машинописного тексту, містить 12 таблиць, 17 рисунків і складається із: титульного аркушу, анотації (українською та англійською мовами), змісту, переліку умовних скорочень; основної частини, в тому числі: вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, чотирьох розділів результатів власних експериментальних досліджень, висновків; практичних рекомендацій; додатків; списку використаних джерел, який налічує 178 посилань (81 кирилицею і 97 латиницею) та двох додатків.

У вступі лаконічно і переконливо обґрунтовано актуальність для медичної галузі вирішення задачі підвищення ефективності лабораторної діагностики маласезіозів на підставі поглибленого вивчення біологічних властивостей (мікроскопічних, культурально-морфологічних, біохімічних, генетичних, антигенних) клінічно-значущих різновидів грибів роду *Malassezia*, вилучених в Україні від хворих на дерматози. Висвітлено зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами, сформульовано мету, визначено завдання дослідження для її досягнення, окреслено об'єкт та предмет дослідження, розкрито наукову новизну, теоретичне та практичне значення отриманих результатів, наведено дані щодо апробації і опублікування останніх, а також відомості про обсяг та структуру дисертації.

Розділ 1 “Огляд літератури” складається із 4 підрозділів, в яких досить детально проаналізовано еволюцію таксономії грибів роду *Malassezia* та їх властивості, висвітлено роль цих мікроорганізмів у патогенезі інфекційно-запальних та atopічних хвороб шкіри, розглянуто існуючі у світі методи виявлення, вилучення та ідентифікації маласезій, а також критично оцінено сучасний стан вивчення маласезійної інфекції в Україні.

Розділ 2 “Матеріали і методи досліджень” включає 7 підрозділів, в яких наведено дані, що характеризують групи обстежених осіб (тематичних хворих і клінічно здорових людей контрольної вибірки), використані штами маласезій та інших мікроорганізмів, поживні середовища, реактиви та обладнання, мікробіологічні методи виділення, ідентифікації та визначення чутливості культур *Malassezia* spp. до антимікотичних препаратів. Досить детально описано методи: молекулярно-генетичних досліджень (процедури виділення ДНК із змивів/зішкрябів шкіри та із культур маласезій, відтворення діагностичної ПЛР для детекції в зразках біоматеріалу від пацієнтів пошукових фрагментів ДНК цих грибів, секвенування внутрішніх транскрибованих спейсерів гену рРНК останніх); біоінформаційного аналізу (для точної філогенетичної ідентифікації вітчизняних клінічних ізолятів *Malassezia* spp.); імунологічних досліджень (способи отримання маласезійних антигенів діагностичного призначення, відтворення ІФА для визначення рівня специфічних імуноглобулінів в сироватці крові груп обстежених осіб) та методи статистичної обробки результатів досліджень.

Повнота викладення автором методів досліджень є цілком достатньою для оцінки їх сучасності, обґрунтованості вибрану цих методів з точки зору виконання поставлених завдань, забезпечення якості проведення експериментів, можливості їх відтворення та статистичної обробки отриманих результатів.

Розділ 3 “Вилучення та ідентифікація грибів роду *Malassezia*” складається із 3 підрозділів і містить важливі з науково-прикладної точки зору відомості щодо суті удосконалення мікробіологічного методу діагностики маласезіозів (який ґрунтується на відтворенні послідовних етапів первинного виділення, культивування чистих культур, ідентифікації виду маласезій та визначенням чутливості останніх до антимікотичних

препаратів), а також результати лабораторно-клінічного апробування його ефективності.

У матеріалах розділу наведено: склад модифікованого автором поживного середовища для первинного виділення і культивування грибів роду *Malassezia* та розроблену схему ідентифікації їх видів з урахуванням морфологічних, культуральних та біохімічних властивостей цих мікроорганізмів; частоту вилучення, видовий спектр *Malassezia* spp. і рівень колонізації шкіри у хворих на дерматози та у клінічно здорових людей групи порівняння. Зазначені результати досліджень, їх статистична обробка та порівняльний аналіз із тематичними даними інших науковців дозволили дисертанту сформулювати перші два узагальнюючі висновки роботи.

Розділ 4 “Молекулярно-генетичні методи діагностики маласезіозів” включає 2 відносно самостійні за сутністю вирішуваних завдань підрозділи результатів дисертаційної роботи, які логічно об’єднано за груповою приналежністю (до молекулярно-генетичних технологій) використаних автором методів досліджень.

У першому підрозділі цього розділу представлено дані щодо ефективності застосування методу ПЛР (у стандартному форматі відтворення із використанням родоспецифічної системи праймерів F992 + R1279) при виявленні ДНК грибів роду *Malassezia* у змивах/зішкрібах шкіри від хворих на дерматози та від клінічно здорових людей. У другому підрозділі викладено пріоритетні результати точної філогенетичної ідентифікації видової приналежності вітчизняних клінічних штамів маласезій, що вдалося досягнути завдяки поетапному поєднанню декількох сучасних молекулярно-біологічних методів у єдиний комплекс: постановка стандартної ПЛР із групоспецифічними панфунгальними праймерами (ITS4 + ITS5) для ампліфікації внутрішніх транскрибованих спейсерів гену рРНК маласезій; автоматичне секвенування отриманих ампліконів; біоінформаційний аналіз із множинним автоматизовано-програмним порівнянням отриманих автором нуклеотидних послідовностей (ITS-1 -5,8 S -ITS-2) із відомими аналогічними послідовностей видів *Malassezia* spp., депонованими у загальнодоступних базах секвенсів нуклеїнових кислот.

Узагальнені результати цього етапу досліджень відображено у третьому висновку роботи.

Розділ 5 “Вивчення сенсibiliзації до грибів роду *Malassezia* у хворих на дерматози” містить 2 підрозділи, матеріали яких стосуються аспектів імунологічної діагностики маласезіозів. Спочатку, в окремому підрозділі, викладено дані, які розкривають найбільш перспективний метод отримання експериментального зразку діагностичного антигену із штаму *M. sympodialis* 97 та його основні властивості. А у наступному підрозділі представлено результати визначення методом ІФА наявності і рівня специфічних до експериментального маласезійного антигену Ig E та Ig G у зразках сироватки крові від хворих на дерматози та від клінічно здорових людей групи порівняння.

За результатами даного фрагменту досліджень сформульований четвертий висновок дисертаційної роботи.

Розділ 6 “Вивчення чутливості до антимікотичних препаратів клінічних штамів грибів *Malassezia* spp.” теж розділено на 2 підрозділи, у першому з яких відображено результати визначення чутливості вилучених від хворих на дерматози штамів маласезій до антимікотиків, що здійснено напівкількісним диско-дифузійним методом, а також кількісними методами ферментометричного мікротитраційного визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) препаратів та фракційного індексу інгібуючої концентрації (ФІК) антифунгіальної дії комбінації ТФ із БП.

У другому підрозділі наведено короткі відомості щодо відмінностей складу трьох варіантів ліпосомальних часток із ТФ та встановлення експериментальним шляхом *in vitro* найбільш перспективного їх варіанту за показником зниження для клінічних штамів *Malassezia* spp. рівня МІК ліпосомально-жирової форми ТФ у порівнянні з аналогічним показником вихідного препарату ТФ.

Матеріали даного розділу роботи обґрунтовують зміст і значення п'ятого висновку дисертаційного дослідження.

Висновки (іх 5) включають стисле формулювання здобувачем наукових узагальнень, які в сукупності повною мірою відображають теоретичні та практичні результати роботи і вирішення завдання медичної мікробіології - удосконалення методів лабораторної діагностики маласезіозів на підставі отриманих здобувачем даних про морфологічні, культуральні, біохімічні, генетичні, антигенні властивості та чутливості до антимікотиків грибів роду *Malassezia*, вилучених із шкіри хворих на дерматози. Висновки сформульовані чітко і зрозуміло, їх послідовність та зміст логічно відображає завершеність дисертаційної роботи.

Практичні рекомендації використання результатів дисертаційної роботи Частій Т.В. спрямуванні на підвищення ефективності лабораторної діагностики та етіотропної терапії маласезіозів. З цією метою автором запропоновано: поживне середовище з оптимізованим складом інгредієнтів, що дозволяє культивувати широкий спектр різновидів *Malassezia*, мікробіологічний метод діагностики асоційованих із ними захворювань та ферментометричний метод (тест-фермент – уреаза, мікротитраційний формат відтворення) визначення чутливості грибів роду *Malasezia* до антимікотичних препаратів, які впроваджено в діяльність закладів охорони здоров'я у формі галузевого нововведення та методичних рекомендацій МОЗ і АМН України: “Виділення, культивування, типування ліпофільних грибів роду *Malassezia* та визначення їх чутливості до антимікотиків” (– Київ: Знання України, 2009). Крім того, для здійснення ПЛР–діагностики атипичних форм мікозів шкіри, включно з маласезіозами, здобувачем рекомендовано використання систем групспецифічних панфунгальних праймерів (ITS4 + ITS5) і родоспецифічних праймерів (F992 + R1279), застосування яких

істотно підвищує швидкість і точність виявлення відповідних збудників у змивах/зішкрібах шкіри (патент України на корисну модель № 68645).

Список використаних джерел викладено на 21 сторінці із дотриманням чинних бібліографічних вимог МОН України. Список складено за алфавітним порядком прізвищ перших авторів і назв процитованих джерел. Усього в списку 178 джерел, у тому числі: 81 кирилицею та 97 – латиною. Більше 50 % використаних джерел опубліковані за останні 10 років.

Два додатки, матеріали яких представлено на 17 сторінках. Перший додаток містять список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію її результатів. Другий додаток включає копії: п'яти свідоцтв про депонування штамів *Malassezia* spp., трьох актів впровадження результатів роботи, двох титульних аркушів патентів України на винахід і на корисну модель, одного опублікованого галузевого нововедення та обкладинки виданих тематичних методичних рекомендацій.

Зауваження і запитання до змісту дисертаційної роботи.

Суттєвих зауважень до змісту дисертації немає. Недоліки роботи, які було виявлено на етапі попереднього її рецензування, здобувачем усунуто.

Перелік і суть запитань, які виникли на етапі опонування дисертації.

Будь-який метод лабораторної діагностики хвороб інфекційного чи іншого генезу у порівнянні з існуючими та з альтернативними методами подібної спрямованості (розробленими різними фахівцями) характеризується як певними перевагами, так і – недоліками й обмеженнями. У дисертаційній роботі Частій Т.В. більш детально висвітлено саме переваги запропонованих методів лабораторної діагностики маласезіозів (мікробіологічного, молекулярно-генетичного, імунологічного).

1. Які недоліки загальновідомого мікроскопічного методу діагностики асоційованих із маласезіями дерматозів спонукали Вас виконати дисертаційне дослідження для підвищення ефективності їх лабораторної діагностики ?

2. Вкажіть недоліки та обмеження, які притаманні розробленому мікробіологічному методу діагностики маласезіозів ?

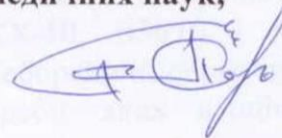
3. Якими недоліками і обмеженнями з діагностичної точки зору характеризується метод ПЛР-детекції ДНК *Malassezia* spp. у змивах/зішкрібах шкіри із використанням родоспецифічної системи праймерів F992 + R1279 ?

4. Вкажіть недоліки і обмеження, які притаманні імунологічному методу визначення у сироватці крові від хворих на atopічний дерматит рівня специфічних Ig E та Ig G при застосуванні експериментального зразку діагностичного антигену із штаму *M. sympodialis* 97 ?

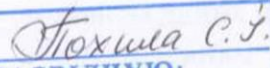
Висновок щодо відповідності дисертаційної роботи встановленим вимогам. Кандидатська дисертація Частій Тетяни Володимирівни “Мікробіологічна характеристика грибів роду *Malassezia* та удосконалення методів лабораторної діагностики маласезіозів” є актуальною, самостійною, завершеною науковою працею, виконаною на сучасному науково-

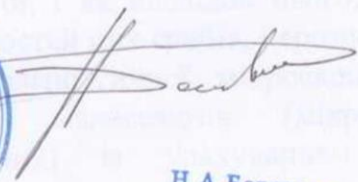
методичному рівні. Робота містить нові експериментальні результати та наукові узагальнення щодо біологічних властивостей (морфологічних, культуральних, біохімічних, антигенних, генетичних, чутливості до антимікотиків) циркулюючих на території України штамів клінічно-значущих різновидів грибів роду *Malassezia*, що у сукупності вирішують важливу наукову задачу медичної мікробіології - підвищення ефективності лабораторної діагностики асоційованих із маласезіями дерматозів. Дисертаційна робота Частій Т.В. є такою, що цілком відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, які визначено "Порядком присудження наукових ступенів", затвердженим постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 (із змінами, внесеними згідно з постановами КМ від 19.08.2015 р № 656., від 30.12.2015 р. № 1159, від 27.07.2016 р.№ 567), та наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 року № 40 "Про затвердження вимог до оформлення дисертації", галузі науки – охорона здоров'я, паспорту (формулі) спеціальності – медицина, 03.00.07 – мікробіологія, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія.

Завідувач лабораторії нових та маловивчених
інфекційних захворювань Державної установи
"Інститут мікробіології та імунології
ім. І.І. Мечникова Національної академії
медичних наук України", доктор медичних наук,
старший науковий співробітник



С.І. Похил

Підпис 
ЗАСВІДЧУЮ:
Начальник відділу кадрів
ДУ "ІМІ НАМН"

Н.А.Белякова