

До разової спеціалізованої ради ДФ 211.001
Закладу вищої освіти
«Подільський державний університет»

Відгук

доктора ветеринарних наук, професора,
директора Національного наукового центру «Інститут експериментальної і
клінічної ветеринарної медицини»

ПАЛІЯ Анатолія Павловича

на дисертаційну роботу

МОЧЕРНЮКА Михайла Михайловича:

**«Характеристика мікробіоти біоаерозолі клінік ветеринарної медицини
та розробка заходів боротьби з антибіотикостійкими мікроорганізмами»**

на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю

211 – Ветеринарна медицина (21 Ветеринарна медицина),

поданої до захисту у разовій спеціалізованій раді

Закладу вищої освіти «Подільський державний університет»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Боротьба з нозокоміальною інфекцією у медичних та ветеринарних лікувальних закладах має надзвичайно важливе значення в системі профілактики розповсюдження антибіотикостійких штамів серед пацієнтів та в навколишньому середовищі. У закритих приміщеннях ветеринарних клінік часто створюються умови для циркуляції та передачі нозокоміальної мікрофлори повітряно-крапельним шляхом через біоаерозоль. Біоаерозоль становить значну загрозу для здоров'я ветеринарного персоналу та тварин-пацієнтів ветеринарних клінік. Оскільки через нього, за даними дослідників, можуть передаватися збудники повітряно-крапельних інфекцій, алергени. Так, внутрішньолікарняні мікроорганізми повітряно-крапельним шляхом можуть контамінувати інструменти, імпланти, обладнання, предмети навколишнього середовища тощо. Нозокоміальна інфекція вважається поширеною причиною виникнення ускладнення основного захворювання серед тварин-компаньйонів у ветеринарних клініках та досить часто призводить до смертності.

На даний час відомі основні збудники нозокоміальних інфекцій дрібних тварин, проте поглиблене дослідження мікрофлори внутрішнього середовища ветеринарних клінік дасть змогу глибше оцінити джерела інфекцій, шляхи передачі та удосконалити превентивні заходи щодо поширення нозокоміальних збудників, як серед тварин, так і ветеринарного персоналу. Крім того в Україні на даний час не розроблено та не впроваджено загальнодержавну систему профілактики розповсюдження

нозокомінальних патогенів у клініках ветеринарної медицини для лікування дрібних тварин. У зв'язку з цим актуальним залишається проведення ґрунтовних досліджень, які дадуть можливість розробити системні заходи щодо зниження розповсюдження антибіотикорезистентних мікроорганізмів у ветеринарних клініках шляхом застосування екологічно-безпечних засобів.

Наукова новизна результатів проведених досліджень та їх наукова обґрунтованість. Уперше в Україні надано характеристику мікробіоти внутрішнього середовища ветеринарних клінік та боксів для перетримування хворих тварин. Встановлено, що до автохтонної мікрофлори біоаерозолі приміщень клінік та боксів для перетримування хворих тварин належать бактерії видів *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* (коагулазонегативні види), *Streptococcus* spp. та *Corynebacterium* spp., які виділялися в 100% випадків. Також були присутні у біоаерозолі коагулазопозитивні види стафілококів – у 5,4 – 27,7% проб. Грамнегативні види бактерій: *Escherichia* spp., *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. та *Pseudomonas* spp. виділялися тільки з біоаерозолі стоматологічної операційної в 2,7 – 9,4% проб та в боксах для перетримування хворих тварин в 8,1 – 43,2% випадків.

Доведено, що через біоаерозоль у ветеринарних клініках можуть передаватися збудники нозокомінальних інфекцій, зокрема *MRSP* і *MRSA*, *Escherichia* spp., *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., тощо. Отримано нові дані щодо можливої перехресної контамінації у ветеринарних клініках коагулазопозитивними стафілококами тварин і ветеринарного персоналу. Так, до 7% ветеринарного персоналу є носіями *S. pseudintermedius* на слизовій оболонці носоглотки.

Уперше обґрунтовано застосування безпечного стабілізованого водного озону для дезінфекції біоаерозолі та поверхонь об'єктів ветеринарних клінік за присутності тварин. Встановлено, що бактерицидна концентрація стабілізованого водного озону щодо ізолятів *S. aureus* та *P. aeruginosa* у суспензійному методі становила 1,71 мг/л, а щодо *E. coli* – 1,22 мг/л з експозицією протягом 2 хв. З внутрішнього середовища приміщень ветеринарних клінік після аерозольної обробки стабілізованим водним озоном виділялися мікроорганізми тільки в 10 – 57% випадків у кількості 10 – 30 КУО/м³, що залежало від початкової кількості МАФАНМ у повітрі. Ефективність застосування стабілізованого водного озону для дезінфекції столів у приміщеннях ветклінік становила 99,9 – 100%.

Практичне значення отриманих результатів полягало в тому, що за даними досліджень розроблено методичні рекомендації з організації контролю та профілактики розповсюдження збудників нозокомінальних інфекцій стійких до антимікробних препаратів.

Доведено, що *MRSP* є серйозною проблемою для ветеринарних клінік з лікування дрібних тварин, оскільки вони можуть колонізувати господарів та ветеринарний персонал і бути проблемою для охорони здоров'я в цілому. Тому отримані дані можуть бути основою для розроблення способів профілактики захворювань серед власників тварин.

Дослідження бактерицидної активності стабілізованого водного озону щодо ізолятів основних умовно-патогенних мікроорганізмів у лабораторних умовах та його ефективності щодо мікрофлори біоаерозолі та поверхонь об'єктів ветеринарних клінік дозволило обґрунтувати і запропонувати безпечний засіб для покращення гігієнічної чистоти повітря за мікробіологічними показниками.

Оцінка змісту дисертації, її завершеності та відповідності встановленим вимогам. Дисертаційну роботу викладено на 193 сторінках комп'ютерного набору тексту. Робота складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури, додатків. Список використаної літератури налічує 267 джерел. Дисертація ілюстрована 24 таблицями, 15 рисунками і містить 3 додатки. До додатків увійшли копії перших сторінок методичних рекомендацій та акти виробничих випробувань стабілізованого водного розчину озону у клініках ветеринарної медицини.

Розділ 1 «ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ» складається з п'яти підрозділів, у яких висвітлюються питання щодо мікрофлори ветеринарних клінік та поширення нозокомінальних збудників біоаерозольним шляхом. Наводяться дані про сучасні профілактичні заходи, які застосовують для попередження інфікування тварин у клініках ветеринарної медицини. Розділ завершується висновками, які вказують на проблему, яку необхідно вирішити.

Розділ 2 «ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ». У даному розділі наводиться інформація про основні напрямки та етапи, за якими виконувалася дисертаційна робота. Під час виконання дослідження використовували наступні методи: мікробіологічні (виділення та ідентифікація мікробіоти, чутливість до антимікробних препаратів, бактерицидна активність стабілізованого водного розчину озону, ультрафіолетових ламп), клінічні та статистичні.

Розділ 3. «РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ» відображає результати експериментальних даних, які отримано дисертантом. Акцентовано увагу на вивчені ролі внутрішнього середовища ветеринарних клінік (біоаерозолі, обладнання, інструментів), боксів для перетримання хворих тварин, як джерела передачі збудників нозокомінальних інфекцій у

ветеринарних клініках за впливу різних санітарних заходів. Встановлено, що найчастіше з поверхонь боксів для утримання тварин виділяються бактерії видів *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp. та *Bacillus* spp. Серед грамнегативних – це види *Escherichia* spp., *Acinetobacter* spp. та *Enterobacter* spp. Бокси з нержавіючої сталі краще піддавалися дезінфекції, ніж пластикові, оскільки після обробки біоцидом виявлялися тільки бактерії видів *Staphylococcus* spp. і *Pseudomonas* spp. в 2,7% проб. При цьому кількість мікроорганізмів у пробах в яких виявляли бактерії після дезінфекції на поверхнях боксів з нержавіючої сталі була в 2,0 рази менша, ніж на поверхнях пластикових боксів. Виявлено, що після вологої дезінфекції поверхонь боксів відбувається зменшення мікробного числа повітря боксів, в середньому в 3,7 рази, порівнюючи цей показник до дезінфекції. Основу мікрофлори повітря після дезінфекції становлять види *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp. та *Staphylococcus* spp. які можуть передаватися повітряно-крапельним шляхом.

Встановлено, що кількість МАФАНМ у біоаерозолі ветеринарних клінік найбільша була в приміщенні для первинного огляду, у маніпуляційній зоні із боксами для перетримування хворих тварин та у стоматологічній операційній – від $1943,5 \pm 127,1$ до $2725,2 \pm 193,4$ КУО/м³. У біоаерозолі даних приміщень у зимовий період кількість бактерій була в 1,5 рази більша, порівнюючи з вмістом у літній період. Тому, взимку на ветеринарний персонал та тварин-пацієнтів збільшується «тиск» біоаерозольної мікробіоти, що в свою чергу може призвести до передачі збудників повітряно-крапельним шляхом.

Встановлено, що до постійної мікробіоти біоаерозолу ветеринарних клінік можна віднести наступні представники грампозитивних родів: *Staphylococcus* (коагулазонегативні види), *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp. та *Corynebacterium* spp. Дані роди бактерій були наявні в біоаерозолі всіх приміщень у 100% випадків. Грамнегативні види бактерій зустрічалися в незначній кількості в біоаерозолі таких приміщень, як для первинного огляду та маніпуляційній зоні з боксами для перетримування хворих тварин.

Встановлено, що ветеринарний персонал клінік є носіями коагулазопозитивних стафілококів, в середньому в 30% випадків на слизових оболонках носоглотки, що може бути оцінено, як джерело повітряно-крапельної інфекції і можливого зараження тварин-пацієнтів. Здорова шкіра тварин-компаньйонів може бути джерелом розповсюдження коагулазопозитивних стафілококів у середовищі ветеринарних клінік під час їх відвідування. Оскільки з шкіри собак виділяли *S. aureus* в 11,7% проб, а котів – 7,4% проб. *S. pseudintermedius* виділявся з даного біотопу в 35,2% та

14,8%, відповідно. За наявності хвороб шкіри від собак виділяли в 70,8% випадків вид *S. pseudintermedius*, що практично в 2 рази більше, ніж його виявляли на шкірі здорових тварин.

У собак і котів у більшій кількості виявлявся *MRSP*, ніж *MRSA*. Зокрема збудником *MRSP* був 11,6% хворих собак, а *MRSA* – 2,3%. У котів *MRSP* виділяли в 4,9% випадків, а *MRSA* – в 1,9%. Отже, *MRSP* являється серйозною проблемою, оскільки вони можуть колонізувати господарів та ветеринарний персонал і бути проблемою для охорони здоров'я.

Під час обробки біоаерозолі стабілізованим водним озоном методом розприскування у кількості 25 – 50 мл/м³ повітря відмічали, в середньому в 40 разів зниження кількості мікроорганізмів. Після такої процедури з біоаерозолі виділялися тільки в 44,4 – 55,5% проб мезофільні аеробні мікроорганізми у кількості не більше 20 КУО/м³. Виявлено високу антимікробну ефективність від застосування стабілізованого водного озону за дезінфекції столів у ветеринарних клініках, як із значним мікробним забрудненням (5431,5 ± 318,3 КУО/мл змиву), так і з невеликим обсіменінням поверхонь (90 – 100 КУО/мл змиву). Оскільки ефективність обробки становила 99,9 – 100%, пропонується застосувати стабілізований водний озон для санації біоаерозолі та знезараження столів навіть під час робочого дня.

Розділ 4. «АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ», в якому автор дискутує і порівнює отримані дані з наявними концепціями і гіпотезами, щодо боротьби з нозокомінальними патогенами у клініках ветеринарної медицини та розроблення безпечних заходів профілактики щодо поширення антибіотикорезистентних мікроорганізмів серед тварин та ветеринарних працівників. Розділ написаний чітко і кваліфіковано.

Висновки логічно витікають з результатів і їх узагальнення сформульовані коротко, містять вичерпну і найбільш суттєву інформацію, отриману в процесі дослідження.

Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації та в опублікованих працях. Результати досліджень репрезентують високий рівень достовірності та науковості, про що свідчить значна кількість апробаційних матеріалів досліджень у виступах на вітчизняних та міжнародних наукових і науково-практичних конференціях.

За темою дисертаційного дослідження опубліковано 5 наукових праць, із них 3 статті у фахових наукових виданнях України (категорія Б), 2 статті у виданнях, які входять у науково-метричну базу Scopus, 3 праці – у матеріалах

конференцій, 1 – методичні рекомендації. Наукові публікації, оприлюднені за тематикою дисертаційної роботи, містять обґрунтовані наукові результати відповідно до мети та поставлених завдань наукової роботи.

Оцінка рівня виконання наукового завдання та рівня оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності. Дисертант Мочернюк М.М. поставив перед собою мету визначити мікробіологічний склад внутрішнього середовища ветеринарних клінік та боксів для перетримування хворих тварин та розробити заходи профілактики з формування антибіотикостійких мікроорганізмів у клініках. Основні положення дисертаційної роботи добре структуровані, логічно вмотивовані, чітко і послідовно викладені. Структура дисертації, її зміст, висновки, повністю відображають основні положення дисертації.

Дисертант засвідчив високий рівень володіння методами наукових досліджень, про що свідчить відповідність застосованих у роботі методів поставленим завданням.

Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності. При ознайомленні з дисертаційною роботою порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації) та текстових запозичень не виявлено.

Зауваження та дискусійні положення щодо змісту дисертації.

1. Як ви поясните, чому бокси виготовлені з пластику були більш контаміновані мікроорганізмами, ніж аналогічні бокси з нержавіючої сталі?

2. Ви вказуєте, що після волого прибирання боксів для перетримування тварин проводили санітарну обробку дезінфікуючим засобом виробництва Франція, проте не вказано його назву?

3. Скажіть будь ласка, як ви проводили виділення і диференціацію метицилінрезистентних стафілококів з об'єктів ветеринарних клінік?

4. Хотілося б почути від автора, які конкретно заходи ви пропонуєте для зменшення мікробного забруднення біоаерозолі у клініках ветеринарної медицини?

5. Чи могли б ви коротко описати механізм утворення стабілізованого водного озону?

6. Скажіть будь ласка, який метод ви використовували для оцінки мікробного забруднення повітря у приміщеннях ветеринарних клінік?

7. Поясніть, чи не впливає негативно (токсично) стабілізований водний озон на організм тварин?

8. Як ви пропонуєте проводити санацію біоаерозолі у приміщеннях ветеринарних клінік?

9. Вами розроблена система профілактики нозокомінальної інфекції у

клініках ветеринарної медицини для лікування дрібних тварин, скажіть будь ласка чи вона десь впроваджена?

10. У тексті дисертаційної роботи присутні певні технічні, граматичні і термінологічні помилки, невдалі вирази.

Проте, висловлені зауваження не змінюють суть наукового дослідження, вони носять рекомендаційний характер і можуть бути дискусійними і не зменшують цінності наукової роботи. У роботі висвітлено значний факторіальний матеріал, який є систематизованим, має авторську інтерпретацію і в цілому формує цілісну картину дослідження.

Загальний висновок. Аналіз дисертації та наукових праць, опублікованих за темою дозволяє зробити висновок, що дисертаційна робота Мочернюка Михайла Михайловича на тему: «Характеристика мікробіоти біоаерозолі клінік ветеринарної медицини та розробка заходів боротьби з антибіотикостійкими мікроорганізмами» є цілісною науковою працею, яка вирішує актуальну експериментальну задачу. За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, достатньою повнотою викладення матеріалів в опублікованих працях, оформленням робота повністю відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» від 12.01.2017 року № 40, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 03 лютого 2017 року за № 155/30023, постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р. № 44, а її автор Мочернюк Михайло Михайлович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент:

доктор ветеринарних наук, професор,
директор Національного наукового центру
«Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини»

Анатолій ПАЛІЙ

Підпис А. П. Палія засвідчую:
Вчений секретар ННЦ «ІЕКВМ»,
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник



Тариса КОВАЛЕНКО

«19» серпня 2024 року.