

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені. М.І. ПИРОГОВА**

ПАЛІЙ ДМИТРО ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 616.98:616.34-002.1-07-08

**ГАСТРОІНТЕСТИНАЛЬНА ФОРМА САЛЬМОНЕЛЬОЗУ:
УДОСКОНАЛЕННЯ ДІАГНОСТИКИ,
ФАКТОРИ РИЗИКУ, ЛІКУВАННЯ
14.01.13 – інфекційні хвороби**

**Дисертація
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

**Науковий керівник
Лариса Василівна Мороз
заслужений лікар України,
доктор медичних наук,
професор**

Вінниця – 2016

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1 ВИЗНАЧЕННЯ КЛІНІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПЕРЕБІГУ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ ТА ДИНАМІКИ ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ІНТОКСИКАЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	13
РОЗДІЛ 2 ОСНОВНИЙ НАПРЯМОК, МЕТОДОЛОГІЯ, МЕТОДИ ТА ОБСЯГ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	27
2.1 Клінічна характеристика хворих.....	27
2.2 Методи та матеріали дослідження.....	37
РОЗДІЛ 3 АНАЛІЗ ЕТІОЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ТА ЧУТЛИВОСТІ САЛЬМОНЕЛ ДО АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ І ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ.....	51
3.1 Аналіз етіологічної структури у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу	51
3.2 Адгезивна здатність сальмонел та особливості формування їх резистентності до антибактеріальних препаратів	54
РОЗДІЛ 4 ДИНАМІКА ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ГАСТРОІНТЕСТИНАЛЬНУ ФОРМУ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВАЖКОСТІ ЗАХВОРЮВАННЯ ТА ЛІКУВАННЯ...64	
4.1 Динаміка окремих показників інтоксикації та імунологічних та показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості захворювання.....	64
4.2 Динаміка клінічних симптомів , окремих показників інтоксикації та імунологічних та показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу під впливом лікування	67

4.3 Порівняльна оцінка ефективності лікування гастроінтестинальної форми сальмонельозу за швидкістю видужання.....	73
РОЗДІЛ 5 ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ TLR2, TLR4 ТА РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ TLR2, TLR4 В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВАЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ САЛЬМОНЕЛЬОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ.....	90
5.1 Поліморфізм генів TLR2, TLR4 у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу	90
5.2 Експресія генів у лімфоцитах крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу	95
РОЗДІЛ 6 ФАКТОРИ РОЗВИТКУ ТА ВАЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ САЛЬМОНЕЛЬОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ.....	101
АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ	110
ВИСНОВКИ.....	128
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	132
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	133

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

Arg/Arg	– гомозигота Toll – подібного рецептора 2
Arg/Gln	– гетерозигота Toll – подібного рецептора 2
Gln/Gln	– гомозигота Toll – подібного рецептора 2
Asp/Asp	– гомозигота Toll – подібного рецептора 4
Asp/Gly	- гетерозигота Toll – подібного рецептора 4
Gly/Gly	– гомозигота Toll – подібного рецептора 4
ВООЗ	– Всесвітня організація охорони здоров'я
ВНМУ	– Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
ГКІ	– гостра кишкова інфекція
ДДМ	– диско-дифузійний метод
ДІ	– довірчий інтервал
ДКМ [®]	– декаметоксин [®]
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ДС [®]	– декасан [®]
ІМІ	– Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України
Кд	– кілодальтон
МБсК	– мінімальна бактеріостатична концентрація
МБцК	– мінімальна бактерицидна концентрація
МД	– мегадальтон
м.м.	– молекулярна маса
МСМ	– молекула середньої маси
МІК	– мінімальна інгібуюча концентрація
НГ	– неспотстерігаєма гетерогенність
НТС	– нетифоїдна сальмонела
НФ	– ніфуроксазид

ПВ	– показник відмінності
ПВІ	– позакишкове вогнище інфекції
ПЕП (АТЕ)	– порівняльний ефект препаратів
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
СПЕ	– середній парціальний ефект
TLR – Toll	– подібний рецептора
ЦІК	– циркулюючий імунний комплекс (антиген+антитіло)
ЦПМ	– цитоплазматична мембрана
ЦФ	– ципрофлоксацин
ЧВД	– час до видужання
СТХ	– cefotaxime (цефотаксим)
Fi+	– фертильність
ФН	– фагоцитуючий нейтрофіл
LT	– термолабільний токсин
PFGE	– pulsed field gel electrophoresis (гель-електрофорез)
PAMP	– патоген-асоційовані молекулярні структури
PT	– phage type (тип фагу)
S.	– salmonella
ST	– термостабільний токсин
S.tm.	– S. typhimurium
SPI	– the salmonella pathogenicity island

ВСТУП

Актуальність теми

Сальмонельоз залишається однією з найпоширеніших гострих кишкових інфекцій в світі, за даними ВООЗ щорічно реєструється близько 100 млн випадків даного захворювання (Чемич О.М., 2015; Корбут О.В., 2015). В Україні також в останні роки спостерігається тенденція до зростання як поодиноких випадків сальмонельозу, так і його спалахів (Андрейчин М.А., 2016; Ревенко Г.О., 2015).

Відомо, що визначення інвазивних властивостей збудників сальмонельозу в більшості стосується так званих музейних штамів, а не безпосередньо отриманих від хворих збудників (Ковальчук В.П., 2015; Etienne G., 2013). Згідно патогенезу сальмонельозу адгезія збудників відбувається саме в тонкій кишці, та на процес прикріплення сальмонел впливають фактори патогенності збудника та фактори резистентності кишки (Сміян О.І., 2015; Christopher M., 2013).

Для лікування гастроінтестинальної форми сальмонельозу широко застосовуються протимікробні препарати, та їх ефективність напряду пов'язана з чутливістю до них збудників захворювання (Голяр О.І., 2015; Simon L. 2013). В останній час спостерігається зростання циркуляції полірезистентних штамів сальмонел (Harrois D., 2013; Loharikar A, 2013). Припускають, що це перш за все пов'язано з нераціональним застосуванням антибактеріальних препаратів (Soren L., 2013; Назарчук О.А, 2016). Разом з тим, в Україні в загальній клінічній практиці більшість штамів сальмонел, що виділені від хворих, або взагалі не тестуються на чутливість до протимікробних препаратів, або результати отримуються вже після початку етіологічної терапії, що значно знижує її ефективність.

Одним з провідних симптомів гастроінтестинальної форми сальмонельозу є інтоксикаційний, основною складовою якого є ендогенна

інтоксикація (EI), тривалість та вираженість котрої визначають тяжкість перебігу захворювання та його наслідки (Guillir L., 2013; Mellou K., 2013). Потребує подальшого вивчення комплексна оцінка синдрому ендогенної інтоксикації при гастроінтестинальній формі сальмонельозу, що може уточнити важливі питання патогенезу захворювання, сприяти більш точній оцінці ступеню тяжкості хвороби та корекції призначення протимікробних препаратів.

Розвиток імунної відповіді організму на появу генетично чужерідних мікроорганізмів обумовлений взаємодією вродженого та набутого імунітету. В останні роки значна кількість досліджень підтверджує важливу роль поліморфізму генів тол-подібних рецепторів (TLRs), як основних рецепторів вродженого імунітету, в патогенезі різних, в тому числі і інфекційних, захворювань людини (Мороз Л.В., 2015; Дубинська Г.М., 2016). Отримані різними авторами дані вказують на наявність кореляційних зв'язків підвищеної експресії генів TLR2 та TLR4, з тяжкістю клінічного перебігу (Абатуров А.Е., 2012, Kawai T., 2009). В доступній літературі, нажаль, не було знайдено даних про дослідження поліморфізму означених генів TLR та їх експресії у хворих на гострі кишкові інфекції, зокрема на сальмонельоз.

Саме з цієї причини визначення адгезивних властивостей сальмонел, розвитку їх резистентності до протимікробних препаратів та можливість прогнозування тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу для підвищення ефективності терапії є доцільним та потребує подальшого уточнення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана відповідно з науковим планом НДР Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України за темою: «Особливості перебігу вірусних та бактеріальних інфекцій в залежності від генетичних, морфологічних та метаболічних

факторів." (номер державної реєстрації 0104 U 003552)

Мета дослідження – удосконалити підходи до діагностики та встановити фактори ризику розвитку гастроінтестинальної форми сальмонельозу, шляхом визначення окремих імунологічних та генетичних показників.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати етіологічну структуру та чутливість сальмонел до антибактеріальних препаратів і особливості формування резистентності до них.

2. Визначити клінічні особливості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу та динаміку окремих імунологічних показників та показників інтоксикації.

3. Встановити поширеність поліморфізму генів TLR-2, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

4. Визначити рівень експресії генів TLR-2, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

5. Визначити клінічні, біохімічні та молекулярно-генетичні фактори ризику розвитку гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

Об'єкт дослідження - гастроінтестинальна форма сальмонельозу .

Предмет дослідження - клініко-імунологічні, біохімічні, мікробіологічні та молекулярно-генетичні показники

Методи дослідження: епідеміологічні, загальноклінічні, бактеріологічні, біохімічні, імунологічні, серологічні, молекулярно-генетичні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів

Доведено суттєвий вплив мінімальних бактеріостатичних (МБсК) та бактеріоцидних (МБцК) концентрацій ципрофлоксацину (ЦФ) на адгезивні властивості штамів *S. enteritidis* та *S. typhimurium*. При його застосуванні адгезія збудників знижувалась в 1,13-1,82 рази більше, ніж при аналогічних дозуваннях ніфуроксазиду (НФ). Було також виявлено зростання резистентності штамів сальмонел, що були виділені у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу до призначених антибактеріальних препаратів.

На основі комплексного лабораторного обстеження виявлені особливості змін окремих показників інтоксикації та імунологічних показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Встановлено, що у даних хворих спостерігається збільшення рівня молекул середньої маси (МСМ), вмісту фагоцитуючих нейтрофілів (ФН) та зниження кількості Т-лімфоцитів, що зберігається в залежності від тяжкості хвороби.

Встановлено достовірно більш швидке зникнення основних симптомів захворювання та нормалізацію окремих показників інтоксикації та імунологічних показників в групі хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які отримували лікування ЦФ із застосовуванням для оцінки ефективності різних схем лікування семипараметричного визначення базової функції ризику.

Вперше проведено визначення поліморфізму генів TLR2 та TLR4 у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу та співставлення тяжкості захворювання з наявністю поліморфізму даних генів.

Вперше встановлено високі рівні експресії генів TLR2 та TLR4 в лімфоцитах крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу та їх зростання в залежності від тяжкості захворювання.

Вперше за допомогою процедури QLIM статистичної аналітичної системи SAS проведено моделювання тяжкості перебігу

гастроінтестинальної форми сальмонельозу та встановлений вплив на перебіг захворювання, тривалість інкубаційного періоду хвороби, поліморфізм генів TLR-2 та TLR-4, підвищення експресії генів в лімфоцитах крові та рівня MСМ, вмісту ФН в сироватці крові.

Практичне значення роботи

Рекомендовано застосування в практичній діяльності визначення адгезивних властивостей сальмонел, що викликають гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

В якості сучасних та інформативних показників, що впливають на тяжкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу, визначено зростання рівня MСМ, ФН та зниження кількості Т-лімфоцитів .

Запропоновані нові генетичні маркери прогнозування тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

Впровадження результатів дослідження в практику

Результати досліджень впроваджено в навчальні програми кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології; мікробіології, вірусології, імунології; дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України; кафедри мікробіології та інфекційних хвороб Ужгородського національного університету; кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького; кафедри інфекційних хвороб Тернопільського державного університету ім. І.Я. Горбачевського), в роботу інфекційних відділень МКЛ №1 м. Вінниці, інфекційного відділення Вінницької ЦРЛ, кишкового відділення Хмельницької міської інфекційної лікарні, Івано-Франківської обласної клінічної інфекційної лікарні.

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням та виконана на кафедрі інфекційних хвороб з курсом епідеміології імені М.І. Пирогова МОЗ України. Дисертантом особисто проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз та узагальнення даних наукової літератури, сформульовані мета та завдання дослідження, розроблена індивідуальна карта реєстрації хворих. Під час роботи над дисертацією автор проводив самостійне клінічне обстеження хворих, оволодів методиками проведення мікробіологічних, біохімічних, імунологічних та молекулярно-генетичних досліджень. Дисертантом особисто систематизовані отримані дані, узагальнені результати дослідження, написано всі розділи роботи, сформульовано висновки та практичні рекомендації, підготовлені до друку наукові праці та виступи, впроваджені результати наукових розробок в роботу медичних закладів. Статистична обробка отриманих результатів дослідження проводилась дисертантом на кафедрі соціальної медицини та охорони здоров'я ВНМУ ім. М.І Пирогова під керівництвом професора Очередько О.М.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи оприлюднювалися та обговорювались на міжнародних науково-практичних конференціях: Сьомому Російському конгресі «Педиатрическая анестезиология и интенсивная терапия (Третьи Михельсоновские чтения 28 сентября – 1 октября 2013 г., Москва, 2013); The 29th Annual Meeting of the European of Pediatric Infectious Diseases. June 7-11. – Hague, Netherlands, 2011); XIV, XV конгресах світової федерації українських лікарських товариств (4-6 жовтня 2012, Донецьк-Київ-Чикаго, 2012, 16-18 жовтня 2014, Чернівці-Київ-Чикаго, 2014), The 4-th Congress of the European Academy of Pediatric Societies, 5-9 October 2012 (Стамбул, Туреччина, 2012), XIII з'їзді товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (Ялта, 2013),

На міжнародних науково-практичних конференціях «Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів (Вінниця, 2012, 2014, 2016); науково-практичних конференціях за участю міжнародних спеціалістів «Стратегія і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями» (Харків, 2012); Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями (Харків, 2014); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Довкілля і здоров'я» (Тернопіль, 2014, 2015), VII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології (Вінниця, 2013); Другій науковій конференції молодих вчених з міжнародною участю (Вінниця, 2013, 2015), щорічній одинадцятій науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни та туберкульозу» (Львів 2014) IX з'їзді інфекціоністів України 7-9 жовтня 2015 (Тернопіль, 2015).

Публікації

За темою дисертації опубліковано 18 наукових праць, 7 одноосібно (в наукових спеціалізованих виданнях, що входять до переліку, затвердженого МОН України), серед них в іноземних виданнях – 1; 1 стаття – в журналі, що обліковується наукометричною базою Scopus, 2 статті в виданнях, що обліковуються науково-метричною базою Index Copernicus; 9 праць в матеріалах конгресів, з'їздів, наукових конференцій.

Обсяг і структура дисертації

Дисертація викладена на 171 стр. комп'ютерного тексту; містить вступ, огляд літератури, загальну характеристику обстежених осіб, та методів дослідження 4 розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення одержаних результатів, висновки, практичні рекомендації, список використаної літератури, який нараховує 313 джерел на 39 сторінках (126 кирилицею і 187 латиною). Робота ілюстрована 25 таблицями (на 27

сторінках) та 15 рисунками (на 15 сторінках).

РОЗДІЛ 1

ВИЗНАЧЕННЯ КЛІНІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПЕРЕБІГУ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ ТА ДИНАМІКИ ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ІНТОКСИКАЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Гострі кишкові інфекції (ГКІ) продовжують займати провідне місце в інфекційній патології в багатьох регіонах світу. ГКІ включають велику кількість різних за клінічними ознаками та патогенезом нозологічних форм, уступаючи по масовості та економічним збиткам тільки гострим респіраторним захворюванням і грипу. Інфекційна діарея займає друге місце за рівнем захворюваності та смертності в усьому світі. Загальна кількість летальних випадків, причиною яких є діарея, досягає понад три мільйони щорічно (понад 8400 в день). За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) щорічно реєструється близько двох мільярдів випадків ГКІ [1].

Незважаючи на досягнення медицини в боротьбі з гострими кишковими інфекціями, удосконалення діагностики, факторів ризику та персоніфікації фармакотерапії сальмонельозу залишається однією з недостатньо вивчених загальномедичних проблем, що пов'язано з суперечливістю уявлень про патогенез, відсутністю однозначних лабораторних критеріїв, недостатньою ефективністю сучасної стратегії лікування, яка базується на використанні потужних регідратаційних, дезінтоксикаційних, імунокоригуючих, етіотропних засобів. Кардинальні питання діагностики й терапії сальмонельозу залишаються до кінця нез'ясованими та потребують подальшої розробки, оскільки тут приймають участь організм хворого, збудник (мікроорганізм) і навколишнє середовище. Ці три компоненти перебувають у постійній взаємодії та визначають початок, перебіг і закінчення захворювання [1-3, 5].

Необхідно означити основні складові, які постійно взаємодіють і

впливають на розвиток, перебіг, особливості сальмонельозу (вік, стать, генетичні особливості; імунний статус, неспецифічні фактори захисту; фізіологічні бар'єри; психічний, емоційний стан та ін.). Хворобу в чутливому організмі людини спричиняють сальмонели. Розвиток і перебіг хвороби обумовлюють патогенність, вірулентність, токсигенність, інвазивність сальмонел, які корелюють з тропністю, кількістю збудника; способом проникнення в організм пацієнта, рівнем взаємодії з імунною системою та формуванням резистентності до лікарських антимікробних препаратів [1-3, 5].

Сальмонельоз характеризується коротким інкубаційним періодом (4-10 годин); бурхливим початком з явищами гострого гастроентериту та загальною інтоксикацією. Хворі скаржаться на біль в животі, нудоту, блювоту, профузний пронос, підвищену температуру, головний біль, загальну слабкість, деколи судом. Хвороба характеризується коротким перебігом [2, 4, 11, 12, 66-70].

Переважна більшість сальмонел (понад 98 %) зберігали чутливість до сальмонельозного фагу і це дозволило розробити методику фаготипування найпоширенішого збудника сальмонельозу *S. typhimurium*, який має понад 120 фаготипів. Показано, що сальмонели мали високу стійкість до дії несприятливих факторів фізичного, біологічного та хімічного походження. Так, вони витримували нагрівання до 70° С протягом 30 хвилин. Стійкість до високої температури зростала коли сальмонели знаходились в харчових продуктах, особливо в м'ясі. Шматок м'яса, вагою до 400 г і товщиною не більше 19 см, інфікований сальмонелами, був стерильним тільки внаслідок варіння, протягом 150 хв. Засолка та копчення м'яса спричиняли на сальмонели досить слабку дію. В соленому м'ясі з вмістом кухонної солі до 20 % при кімнатній температурі сальмонели зберігали життєздатність до двох місяців [7].

Сальмонели найчастіше створюють небезпеку завдяки високій адгезії, колонізації, інвазії. Крім того, ці бактерії здатні утворювати

ендотоксини. Встановлено, що *S. typhimurium*, деякі інші біовари синтезують два типи ендотоксинів: термолабільний (LT), термостабільний (ST); шигоподібні цитотоксини. Особливістю цих токсинів є те, що вони мають внутрішньоклітинну локалізацію і потрапляють в оточуюче середовище після дезінтеграції бактеріальних клітин [66-75].

Гени інвазивності, які виявлені у *S. enterica* серовар *typhimurium*, є необхідними для бактеріальної інвазії. Вони забезпечують сальмонелам потрапляння в організм, проникнення через кишковий епітелій у ході інфекційного процесу. Значна частка генів, які відповідальні за патогенність, закодovanі на ділянці патогенності 1 (SPI 1). Їх активація відбувається за рахунок HilA, фактору транскрипції, який також локалізований на SPI 1.

Науковці дослідили роль генів інвазивності сальмонел у тварин, які були інфіковані інтрагастральним введенням сальмонел. Встановлено, що штами, які містили мутації в HilA виділяли з вмісту кишечника і кишкової тканини з меншою частотою в порівнянні з іншими штамами. З іншого боку штами у яких ділянка SP 1 була інактивована, виділяли у заражених мишей з частотою подібною до штамів, які не зазнали змін. Delta SPI 1 вказує на те, що *S. enterica* не потребували генів інвазивності, щоб проникнути крізь епітелій кишечника, інфікувати організм господаря.

Одержаний результат змусив дослідників переглянути переконання стосовно того, що гени інвазивності є безпосередньою причиною подолання кишкового бар'єру та розвитку інфекційного процесу. Натомість, отримані результати дозволяють вважати, що HilA є необхідною умовою для бактеріальної колонізації кишечника. Можна припустити, що у патогенезі, характерному для ураження *S. enterica*, HilA та гени інвазивності використовують бактерії для пригнічення відповіді організму хазяїна [76, 77]. Важливо зазначити, що термолабільний токсин сальмонел має структурну та функціональну подібність з LT ентеротоксигенних кишкових паличок. Доведено, що токсиноутворення у

сальмонел поєднується з наявністю у них двох факторів шкірної проникності: швидкодіючого термостабільного, який продукують багато штамів сальмонел; він зберігає активність протягом чотирьох годин. Фактор уповільненої дії є термолабільним, руйнується при 75° С протягом 30 хв., викликає затвердіння шкіри кролика через 18-24 год після введення [77].

Молекулярні механізми діареї, викликані LT, ST сальмонел, очевидно, обумовлені також порушенням функції аденилат- і гуанілатциклазних систем ентероцитів. Цитотоксин, який утворюють сальмонели, є термолабільним. Його цитотоксична дія проявляється в пригніченні синтезу білка. Встановлено, що окремі штами сальмонел можуть одночасно синтезувати LT, ST і цитотоксин. Вірулентність сальмонел залежить також від виявленої у них плазмід з молекулярною масою 60 mD. Втрата цієї плазмід значно зменшує вірулентність сальмонел. Поява епідемічних клонів сальмонел обумовлена плазмідами вірулентності та R-плазмідами [69, 78-93]. На підставі наведених даних можна стверджувати, що недостатньо з'ясовано патогенетичні механізми виникнення сальмонельозу (адгезивність, колонізація, інвазивність, R-плазмід, плазмід вірулентності). Вищезазначені міркування показали, що існують суперечливі відомості стосовно сальмонельозу у людей.

Для визначення ризику виникнення сальмонельозу у людей, пов'язаного з аліментарним шляхом передачі, автори порівняли пацієнтів в дослідній та контрольній групах, які були обстежені в Нью-Йорку Вашингтоні. Встановлено, що більше випадків сальмонельозу, пов'язаного з контактом з великою рогатою худобою (ВРХ), у людей виникало в результаті безпосереднього контакту з ВРХ, ніж внаслідок вживання продуктів харчування, отриманих від корів.

Дослідники дійшли висновку, що *S. enterica* залишається грізною проблемою громадської охорони здоров'я, призводячи до приблизно одного млн. 200 тисяч випадків захворювання та 400 смертей на рік в

США. Показано, що проявами хвороби були діарея, лихоманка, втрата ваги, болі в животі, блювання, нездужання. Клінічно захворювання тривало 3-7 днів. В роботі показано, що захворюваність на сальмонельоз людей не знизилася за останні 15 років. Харчовий механізм розглядають як і раніше в якості основного шляху передачі збудника [94].

В Австралії, Канаді, США вивчали спалахи сальмонельозу в залежності від демографічних факторів ризику, сезонності, пастеризації молочних продуктів, нехарчових джерел поширення збудника [95-97]. В дослідженні брали участь 295 хворих з лабораторно підтвердженим сальмонельозом, які були розподілені на шість вікових груп. У них оцінювали демографічні, клінічні, лабораторні дані, позакишкові прояви та чутливість до антибіотиків. Автори встановили, що у 88,5 % пацієнтів сальмонели виявляли в калі, у 9,2 % - в крові, а у 2,3 % - виявили в крові і в калі.

Найчастіше у пацієнтів реєстрували анемію, порушення функції печінки, гіпоальбумінемію. Виділені штами сальмонел належали до серогруп В і D. Стійкість сальмонел до ампіциліну і триметоприму/сульфаметоксазолу значно зросла протягом періоду дослідження. Зареєстровано два вікові піки захворюваності на сальмонельоз: у віці 1-5 років; 15-65 років. Бактеріємія була найпоширенішою у цих граничних вікових групах. Вчені прийшли до висновку, що сальмонельозна інфекція мала різні клінічні прояви в залежності від вікових груп. Значне збільшення кількості хворих з бактеріємією в граничних вікових групах вимагало особливої уваги до лікування пацієнтів [90].

Полірезистентність збудника захворювань, спричинених *S. typhimurium* суттєво зросла серед людей у багатьох країнах протягом останніх 2 десятиліть, часто супроводжуючись істотним ростом захворюваності. Для визначення масштабів цієї проблеми дослідження було проведено в країнах де були виявлені штами резистентні до

антимікробних препаратів. Загалом дослідження охоплювало 1992-2001 рр. У ньому взяли участь 29 країн. В першу чергу досліджували промислово розвинені країни. Поширеність полірезистентних штамів *S. typhimurium* невинно зростала протягом усього періоду, особливо в Європі та Північній Америці. Найвищі показники резистентності були отримані в Великобританії. Крім того, зросла частота випадків резистентності *S. typhimurium* до фторхінолонів. Дослідники зробили висновок про те, що полірезистентність *S. typhimurium* становить наростаючу небезпеку для громадської системи охорони здоров'я в багатьох країнах світу, тому важливо впровадити програми нагляду і контролю за даною проблемою [98].

Kariuki S. та Revathi G. проаналізували 336 штамів сальмонел виділених з організму дітей у віці до 13 років, які перебували на лікуванні в період з 1994 по 2005 рр. Для визначення генетичної спорідненості штамів і антимікробної чутливості застосовували метод гел-електрофорезу. Більшість штамів належали до *S. enterica* серовар *typhimurium* (n 114; 33,9 %), *S. enterica* серовар *enteritidis* (n 128; 38,1 %) з мінімальними генотиповими відмінностями. Встановлено зниження рівня резистентності до амоксициліну, ко-тримоксазолу від високого рівня в 69,2 % 68,4 % в 1992-1997 роках до 11 % і 13 % у 2002-2005 роках відповідно ($p < 0,01$). Всі штами залишались повністю чутливими до цефотаксиму і ципрофлоксацину. Результати показали, що загальнодоступні препарати можуть бути корисними при лікуванні інвазивних форм НТС [99].

Доведено, що лікування антибіотиками не є обов'язковим у випадках гастроентеритів, викликаних *S. enterica*, але є визначальним у випадку інвазивних сальмонельозів або у пацієнтів з імунодефіцитом. Хоча фторхінолони і цефалоспорини широкого спектру є препаратами вибору для лікування інвазивного сальмонельозу, стійкість до цих антибіотиків зростає в усьому світі [100]. У період з 2000 по 2003 р., 90 штамів *S. enterica* серовар *virchow* були виділені з м'яса домашньої птиці та інших

продуктів. Лише 11 штамів *S. enterica* серовар *virchow* були виділені у людей. Також відмічено виділення бета-лактамаз широкого спектру, СТХ-М-2, одночасно з бета-лактамазами ТЕМ-1. Ген, який відповідає за продукування бета-лактамаз (СТХ-М-2) був розташований на великій кон'югованій плазміді (> 100 kD).

Внаслідок проведення гель-електрофорезу було відмічено існування клонального зв'язку між штамми, що були виділені від свійської птиці і тими, що були виділені у людей. Для всіх цих штамів була характерна додаткова стійкість до триметоприму\сульфаметоксазолу та тетрациклінів, а також була знижена чутливість до ципрофлоксацину (МПК 0,5-1мкг/мл). Показано, що сальмонели зі зниженою чутливістю до фторхінолонів є серйозною проблемою, оскільки такі штами можуть поширюватись в значних масштабах і ставити під загрозу класичну антибактеріальну терапію у пацієнтів з імунодефіцитом [100].

Полірезистентні нетифоїдні сальмонели є однією з провідних причин захворюваності та високої смертності, що є другим показником після пневмококової інфекції [101]. Автори дослідили НТС, виділені у педіатричних відділеннях госпіталів в Найробі (Кенія). Крім того, було проведено бактеріологічне дослідження калу найближчих родичів та тварин, з якими хворі перебували у близькому контакті. Переважну кількість отриманих штамів становили *S. enterica* серотип *typhimurium* (106 з 193; 54,9 %); *S. enterica* серотип *enteritidis* (64; 33,2 %). Значна частина (34,2 %) штамів були полірезистентні до трьох і більше антибіотиків, включаючи ампіцилін, тетрациклін, котримоксазол і хлорамфенікол. Лише 23,4 % штамів були повністю чутливі до антибіотиків у всіх 10 дослідженнях. З 32 штамів НТС отриманих у осіб, які перебували в контакті з хворими (9 дорослих і 23 дітей) [102].

В інших дослідженнях протягом 10-річного періоду 1993-2002 р. вивчили 1087 пацієнтів з бактеріологічно підтвердженим діагнозом НТС інфекції. Посіви калу та крові регулярно проводили хворим з лихоманкою і

діареєю [61, 102]. В результаті досліджень встановлено, що інвазивний процес частіше зустрічали у дорослих (8,7 %, відносна похибка 0,467, 95 % довірчий інтервал (ДІ) 0,279-0,784, $p = 0,0033$). Серед хворих, у 11 відмічали бактеріємію, а у чотирьох виявили позакишкові прояви (ректальні абсцеси, глибокий абсцес шиї, інфекції сечовивідних шляхів, артрит ліктя). *S. enterica* серовари enteritidis і virchow були найбільш поширені серед усіх інвазивних серотипів. Всі інвазивні штами були чутливі до бета-лактамів. Всі пацієнти одужали, внаслідок внутрішньовенного застосування антибіотиків. Дослідження резистентності до фторхінолонів показали, що це результат мутації. Близька подібність між штамами, що були виділені від людей і птахів, вказує на те, що головним джерелом *S. enterica* серовар virchow у харчовому ланцюзі була свійська птиця [102, 103].

Об'єктом дослідження S. Herrera-Leon та R.Gonzalez-Sanz [104] були штами *S. enterica* серотип virchow з типом фагу 19 (*S. virchow* PT19), що використовували для визначення ступеню різновидності та генетичного підґрунтя розвитку резистентності до бета-лактамів та для подальшого розвитку полірезистентності. Дослідники проаналізували 99 штамів *S. enterica* серотип virchow PT 19. Антимікробну чутливість визначали методом дифузійних дисків на агарі Мюллера-Хінтона. Для молекулярної характеристики розвитку резистентності застосували ПЛР з подальшим секвенуванням отриманих фрагментів. Дослідження полірезистентності серотипу *S. virchow* PT19 дозволило ідентифікувати плазмиду IncH12, яка містила ген відповідальний за синтез бета-лактамаз (CTX-M-9).

Препаратами для лікування сальмонельозу залишаються цефалоспорины широкого спектру, фторхінолони. Розвиток стійкості до цих препаратів викликає все більше занепокоєння у лікарів. Для виявлення бета-лактамаз дослідили 21 штам НТС, що виділені від пацієнтів в період з 2006-2008 рр. [105]. Штами ізолювали з калу, крові, цереброспінальної рідини пацієнтів з діареєю, лихоманкою, блювотою, менінгізмом. Штами

НТС були досліджені за допомогою серотипування і визначення антимікробної чутливості. ПЛР-скринінг також проводили для виявлення ділянок сальмонел, які відповідають за розвиток резистентності. У десяти з 21 виділених штамів (48 %) виявили високу резистентність до цефалоспоринів широкого спектру. За допомогою ПЛР виявили ділянки, які відповідали за розвиток резистентності. Високий відсоток НТС (48 %) нечутливих до бета-лактамаз становив реальну проблему для ефективної антибактеріальної терапії сальмонельозної інфекції з системними проявами.

Для дослідження резистентності ентеробактерій до протимікробних засобів було проведено ряд досліджень [106-116]. В науковій роботі було опрацьовано 470 випадків сальмонельозу спричиненого *S. typhimurium*. У збудника захворювання найпоширенішим типом фагу був DT104, хоча його частота залежала від регіону. Частота виявлення фагу типу DT104 не залежала від сезонності, тоді як фаги інших типів були більш поширені в літній період. НТС стали найбільш частою причиною бактеріємії серед сприйнятливих дітей та ВІЛ-інфікованих дорослих [117].

В масштабному дослідженні було вивчено 4956 епізодів бактеріємії НТС (2439 епізодів у дорослих і 2517 епізодів у дітей). В 75 % від усіх випадків бактеріємія була викликана *S. enterica* серовар *typhimurium*, а в 21 % була обумовлена *S. enterica* серовар *enteritidis*. Зростання частоти бактеріємії було пов'язано з набуттям множинної лікарської стійкості до ампіциліну, котримоксазолу і хлорамфеніколу. Незважаючи на істотне підвищення показників полірезистентності, захворювання супроводжувалось підвищенням летальності. Летальність серед дорослих продемонструвала виражену тенденцію до зниження (з 29 % до 20 %). Можливий зв'язок між використанням триклозану та розвитком резистентності до антибіотиків досліджували на триклозанрезистентних формах *S. enterica* серовар *typhimurium* [118].

Встановлено, що триклозан не призводив до збільшення частоти

мутацій, але недостатньо діяв на бактеріальні штами зі зниженою чутливістю до антибіотиків. Ця властивість залежала від ступеню резистентності до антибіотиків, фенотипу штамів бактерій і концентрації триклозану [118].

Нетифоїдні сальмонели належать до важливих харчових патогенів, що спричиняють розвиток гастроентериту, бактеріємії, подальшої дисемінації інфекційного процесу [119-121]. Ці стійкі бактерії особливо небезпечні у осіб зі зниженим імунітетом, в тому числі, пацієнтів із злоякісними пухлинами, вірусом імунодефіциту людини, діабетом. Ендоваскулярні інфекції, ураження кісткової тканини або вісцеральні абсцеси належать до грізних ускладнень, які погано піддаються лікуванню. Локалізація інфекційного процесу та імунний статус впливали на вибір тактики лікування. Останні повідомлення інформують про розвиток резистентності нетифоїдних сальмонел як до фторхінолонів, так і до цефалоспоринов третього покоління. Подібна резистентність може стати серйозною терапевтичною проблемою в найближчому майбутньому.

В незначній кількості робіт досліджували прогностичні фактори у дорослих пацієнтів хворих на бактеріємію, спричинену НТС. Прогностичні фактори визначали у пацієнтів [122]. Дослідили 79 епізодів бактеріємії, збудниками якої були НТС. Чутливість бактерій до різних протимікробних препаратів вивчали за допомогою методу дифузійних дисків. Доведено, що у більшості хворих бактеріємія викликана НТС перебігала без явищ гастроентериту. Пацієнти в стані шоку або коми мали поганий прогноз відносно подальшого життя. Показано, що чутливість сальмонел до цефалоспоринов третього покоління та карбопенемів була високою. Нетифоїдні сальмонели можуть призвести не тільки до гострих гастроінтестинальних інфекцій, але і до бактеріємії. Фактори ризику у дорослих з НТС бактеріємією у наведеному дослідженні не були чітко вивчені [123].

Оскільки *S. enterica* серотип *typhimurium* є найбільш поширеним

серотипом у хворих на сальмонельоз, визначення конкретного штаму, який спричинив спалах є досить складним. Для оцінки доцільності застосування методу молекулярного субтипуювання для контролю *S. enterica* серотип *typhimurium* було розпочато програму по обов'язковому використанню методу гел-електрофорезу (PFGE) для всіх виділених штамів. Виділені штами *S. enterica* серотип *typhimurium* були субтиповані за допомогою PFGE. Стандартний перелік запитань був використаний для опитування пацієнтів щодо можливих джерел зараження. Виявлено 998 випадків зараження *S. enterica* серотип *typhimurium* (4,4 випадки на 100000 людей за рік). PFGE був проведений для 958 штамів (96 %) в ході якого було виявлено 174 різні субтипи. Шістнадцять спалахів включали 154 випадки. PFGE, проведений для субтипів, дозволив підтвердити 10 спалахів, які включали невелику кількість випадків. П'ятдесят шість (27 %) з 209 штамів були стійкі до антибіотиків, п'яти антимікробних препаратів. У полірезистентних штамів за допомогою PFGE виявлено структурні особливості. Отже, проведення обов'язкового молекулярного субтипуювання за допомогою PFGE субтипів *S. enterica* серотип *typhimurium* може покращити виявлення спалахів і допомогти в ідентифікації полірезистентних штамів [123, 124]. В ході роботи було досліджено 440 випадків захворювання, викликаного *S. enterica* серотип *typhimurium*. Всі випадки інфекції були розподілені в залежності від наявності або відсутності у збудника фагу DT104, а також за антимікробною стійкістю виділених зразків. Автори дослідили зв'язок цих двох факторів з частотою госпіталізації. Випадків госпіталізації було істотно більше і показник відмінності становив 2,3 рази ($p = 003$). Збудники захворювання були резистентні до одного з антибіотиків (ампіцилін, хлорамфенікол, канаміцин, стрептоміцин, сульфаметоксазол, тетрациклін). Частота госпіталізації пацієнтів істотно не відрізнялася у хворих, збудники яких були носіями фагу DT104. Отже, можна зробити висновок, що 57 % випадків госпіталізації хворих, збудники яких не містили фагу DT104 і 72

% випадків госпіталізації хворих, збудники яких не містили цей фаг були обумовлені їх резистентністю до антибіотиків.

В літературі виявлено, що штами нетифоїдних сальмонел виступають причиною виникнення харчових інфекцій. Так, серед більш ніж 2000 досліджених *S. enterica* серотип *choleraesuis* було виявлено найвищу здатність до розвитку системних захворювань людей. Найнебезпечнішим ускладненням бактеріємії, викликаної *S. enterica* серотип *choleraesuis* у дорослих є розвиток аневризми, лікування якої давно вважали практично неможливим. Досягнення в галузі діагностики, хірургічної допомоги і антимікробної терапії значно покращили шанси пацієнтів на виживання. Виявлення резистентних до ампіциліну, хлорамфеніколу, триметопримсульфаметоксазолу, фторхінолонів *S. enterica* серотип *choleraesuis* викликало стурбованість з приводу можливостей використання цих препаратів. Отже, з урахуванням серйозних наслідків ситуації, механізмів передачі, розвитку резистентності необхідно ретельно вивчити для того, щоб зменшити поширення інфекції та загрозу для здоров'я людей [126].

Зростання резистентності до протимікробних препаратів серед умовно-патогенних бактерій є важливою медичною проблемою [77, 127 – 139]. Доведено, що під впливом гранично малих концентрацій дезінфектантів з групи четвертинних амонієвих сполук штами *S. typhimurium* набували резистентності. Отримані резистентні клони сальмонел мали потовщення клітинної стінки, зміни в ліпідах, фосфоліпідах мембран. Крім того, у них змінювалась біохімічна активність, виникала резистентність до антибіотиків, втрачалась рухливість, знижувалась резистентність та рівень адгезії до слизової оболонки кишечника. В ряді досліджень охарактеризовано чутливість понад 140 поширених штамів сальмонел до антибіотиків, антисептика декасану. Встановлено, що клінічні штами *S. enteritidis*, *S. typhimurium* в 97,3 % мали резистентність до 5 антибіотиків. Штами *S. haifa* в 100 %

виявились резистентними до антибіотиків [140, 141]. Важливо зазначити, що на поживному середовищі з декасаном (4 мкг/мл) уповільнювалось формування стійкості в сальмонел до антибіотиків [140].

Результати дослідників показують доволі швидку тенденцію до розвитку резистентності у *S. enterica*. Хоча в окремих регіонах показники полірезистентності дещо знизились, загальна частота випадків зі зниженою чутливості до ципрофлоксацину досягнула високого рівня. Подібні зміни в резистентності відбуваються серед сальмонел в залежності від сероварів [140]. Отже, тривалі спостереження за зміною показників резистентності мають вирішальне значення для клініки. Ріст захворюваності на сальмонельоз актуалізує проблему лікування хворих. Враховуючи патогенні властивості і масивність обсіменіння збудником захворювання організму хворого і його імунобіологічного стану лікування сальмонельозу необхідно проводити комплексно та індивідуально з врахуванням клінічних проявів інфекції.

У науковій літературі накопичилось багато публікацій, що засвідчують ефективність антибактеріальних препаратів в лікуванні сальмонельозів у людей різного віку. Проте, залишаються недостатньо дослідженими нові фторхінолони, лікарські препарати та їх комбінації для терапії гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

Виходячи з актуальності вдосконалення методів лікування гастроінтестинальних форм сальмонельозу в багатьох наукових центрах світу, ведуть різнобічні дослідження по розробці та вдосконаленню діагностики, фармакотерапії [142-154]. Проте, дані щодо сучасних підходів до цієї наукової проблеми носять суперечливий характер. Проведений аналіз літературних джерел переконливо свідчить про те, що до цього часу немає єдиного погляду на ряд питань, які стосуються фармакотерапії гастроінтестинальних форм сальмонельозу.

Сальмонельоз залишається серйозною проблемою інфектології в світі, перш за все через глобальну поширеність. За даними М.А.

Андрейчина та Broide E. [91, 309], незважаючи на значні успіхи в діагностиці, лікуванні, неспецифічній профілактиці, зростання захворюваності спостерігається навіть в розвинутих країнах. В більшості випадків захворювання перебігає переважно з ураженням шлунково-кишкового тракту у вигляді гастроінтестинальних форм. Гастроінтестинальна форма сальмонельозу залишається одним з головних чинників госпіталізації хворих з гастроентероколітом, та займає провідне місце в структурі бактеріальних діарейних захворювань в Україні.

РОЗДІЛ 2

ОСНОВНИЙ НАПРЯМОК, МЕТОДОЛОГІЯ, МЕТОДИ ТА ОБСЯГ ДОСЛІДЖЕННЯ

Основним напрямком дослідження було визначення клінічних особливостей перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу, динаміки окремих імунологічних, мікробіологічних показників у хворих з вивченням етіологічної структури збудників, їх адгезивної здатності формування резистентності, чутливості до антибактерійних препаратів у сальмонел.

Методологія даної роботи включає верифікацію діагнозу гастроінтестинальної форми сальмонельозу з дослідженням біологічних властивостей сальмонел. Окрім того, в хворих вивчали рівень інтоксикації за даними молекул середньої маси, роль Toll-подібних рецепторів TLR2, TLR4, показники імунологічної реактивності організму (вміст в сироватці крові комплементу, циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), фагоцитуючих нейтрофілів, загальну кількість Т-лімфоцитів).

2.1 Клінічна характеристика хворих

Для вирішення поставлених у дисертаційній роботі завдань нами було обстежено 102 хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які склали основну групу. В контрольну групу увійшло 90 практично здорових людей. За віковою та статевою приналежністю порівнювані групи були ідентичними.

Усі хворі знаходились на стаціонарному лікуванні в інфекційному відділенні міської клінічної лікарні м. Вінниці, Хмельницькій міській інфекційній лікарні протягом 2013-2015 рр. Матеріалом для дослідження були історії хвороб пацієнтів з гастроінтестинальною формою

сальмонельозу.

Хворим проводили комплексне обстеження, яке включало вивчення скарг, анамнезу життя та анамнезу захворювання, епідеміологічного анамнезу. Об'єктивне обстеження виконували загальновизнаними методиками, що враховували наявність чи відсутність диспепсичного, астено-вегетативного синдромів, ураження дихальної системи, шлунково-кишкового тракту, дослідження неврологічного статусу, комплекс лабораторних (загально-клінічні, бактеріологічні, біохімічні, імунологічні), інструментальних досліджень. Всі випадки захворювання підтверджували виділенням чистої культури сальмонел.

Усі пацієнти були проінформовані про мету та можливі наслідки проведення процедури забору крові та випорожнень для виконання лабораторних досліджень. Пацієнти підписали перед маніпуляціями інформовану згоду для участі в дослідженні. Суб'єктивні, об'єктивні дані, а також результати допоміжних методів досліджень заносили в спеціально розроблені реєстраційні карти.

Серед обстежених пацієнтів було 58 (56,87 %) чоловіків, 44 (43,13 %) особи жіночої статі (рис. 2.1).

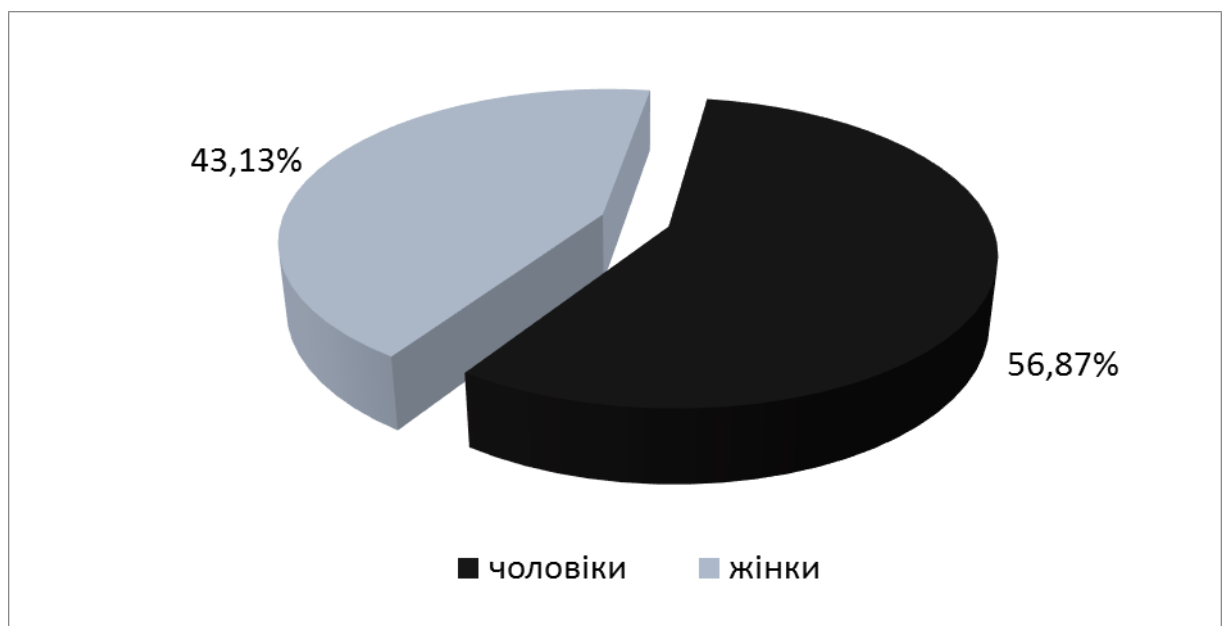


Рис. 2.1. Статева структура хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу.

Діагноз сальмонельозу встановлювали згідно клінічної класифікації (Андрейчин М.А.) та підтверджували на основі результатів клінічного, бактеріологічного досліджень. В комплекс лабораторних методів аналізу були включені загальноклінічні, біохімічні, імунологічні, молекулярно-біологічні дослідження. Штами сальмонел були виділені та ідентифіковані у бактеріологічних лабораторіях за місцем лікування пацієнтів.

Аналіз сезонності виникнення захворювання (зима, весна, літо, осінь) показав, що найбільшу кількість пацієнтів з сальмонельозом (49-48,04%) виділяли в літній період, що було в 1,75 більше, ніж восени та в 2,45 рази більше, ніж весною. Найменша кількість хворих на сальмонельоз зверталася за медичною допомогою взимку (5 осіб-4,90%). Поширення захворювання у вигляді спалахів не було зареєстроване в період наших спостережень. По місяцях найбільшу кількість хворих на сальмонельоз реєстрували в серпні (19-18,62%); червні (18-17,64%); липні (12-11,76%) та вересні (10-9,8%); найменшу - в грудні та лютому, оскільки за медичною допомогою звернулися лише по одній особі (0,99%) (рис. 2.2).

Хворих за віком розподіляли згідно класифікації, затвердженої на симпозіумі за віковою морфологією, фізіологією АПН СРСР (1965), яку систематично використовують в процесі проведення антропогенетичних досліджень. Першу групу склали пацієнти віком 18-19 років, другу – 20-29 років, третю – 30-39 років, четверту – 40-49 років, п'яту – 50-60 років.

Як видно з даних рисунку 2.3, найбільша кількість обстежених хворих була у віці 20-29 років – 35 (34,31 %). Найменшу кількість хворих було зареєстровано у п'ятій віковій групі 50-60 років – 7 (6,86 %) осіб; у віковій групі 40-49 років – 14 (13,72 %) осіб відповідно. Пацієнтів у віці 18-19 років було 27, що склало 26,47%. Найбільша кількість 68 (66,67 %) хворих була у віці від 20 до 49 років. Найменше 7 (6,86 %) хворих зареєстровано в групі 50-60 років. У всіх вікових групах, окрім 40-49 років, серед хворих на сальмонельоз переважали чоловіки.

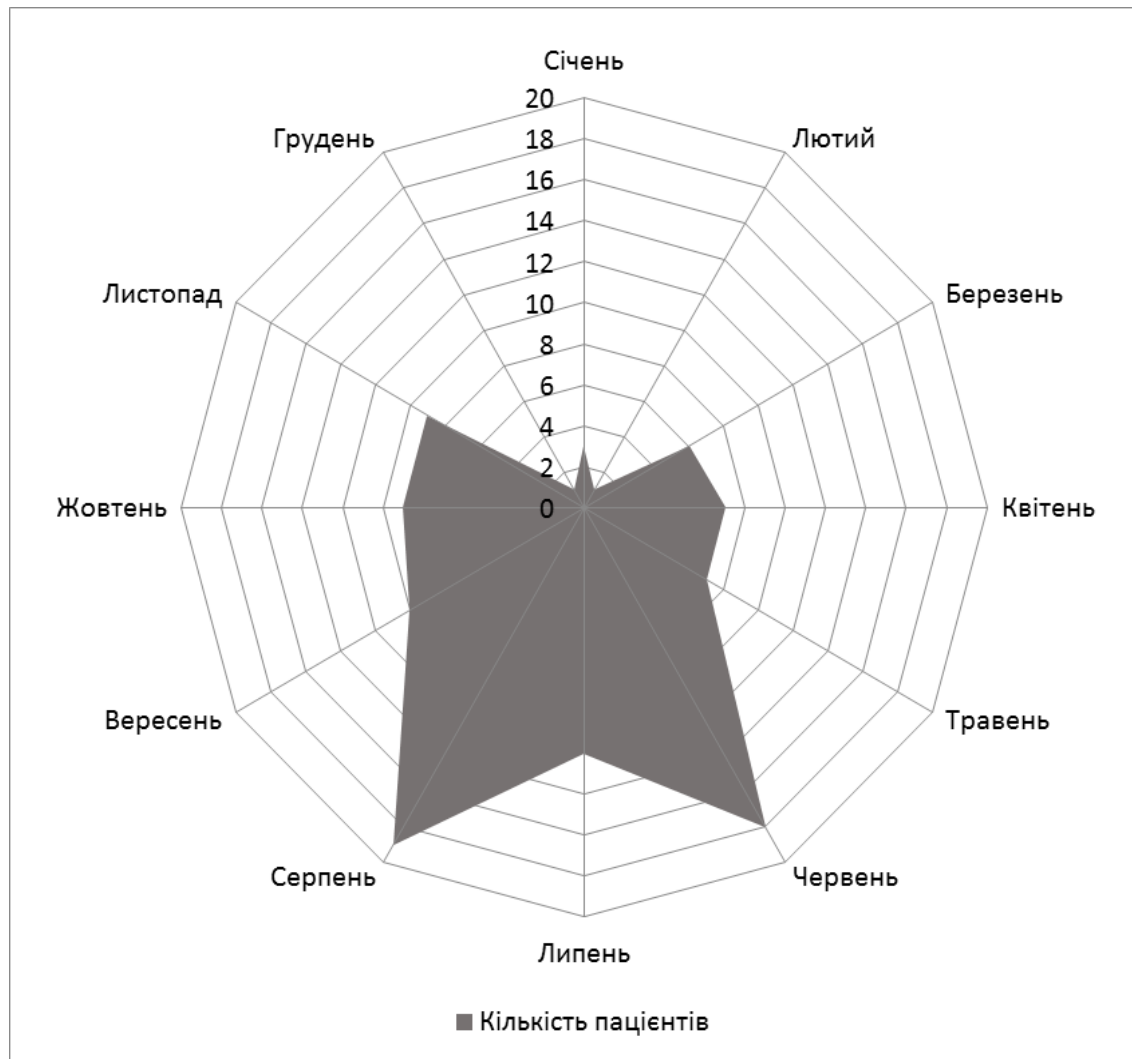


Рис. 2.2. Сезонність захворювання на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

З метою встановлення можливих джерел та шляхів інфікування обстежених хворих ретельно вивчали епідеміологічний анамнез з врахуванням спектру факторів та шляхів передачі збудників сальмонельозу.

Виявлено, що основним механізмом інфікування виявився фекально-оральний, на який вказали 96 (94,12%) пацієнтів, в 6 (5,88%) випадках механізм зараження встановити не вдалося.

Найчастіше, в 26,47% (27 осіб) випадків пацієнти пов'язували розвиток захворювання з вживанням яєць птиці(курей та качок), в 24,51% (25 осіб) випадків – м'яса тварин (табл. 2.1). Пташине м'ясо, як фактор

передачі сальмонельозної інфекції, був встановлений у 16,64% (17 осіб) хворих, а молоко та молочні продукти - у 13,73% (14 осіб) пацієнтів. З кондитерськими виробами пов'язували своє захворювання 7,84 % (8 осіб) обстежених хворих на сальмонельоз. У 2,94 % (3 особи) випадків факторами передачі захворювання були страви з риби. Лише двоє хворих (1,96%) в якості фактору передачі вказали на вживання овочів та фруктів. Нами не було виявлено відмінностей в шляхах передачі сальмонельозу в залежності від статі хворих.

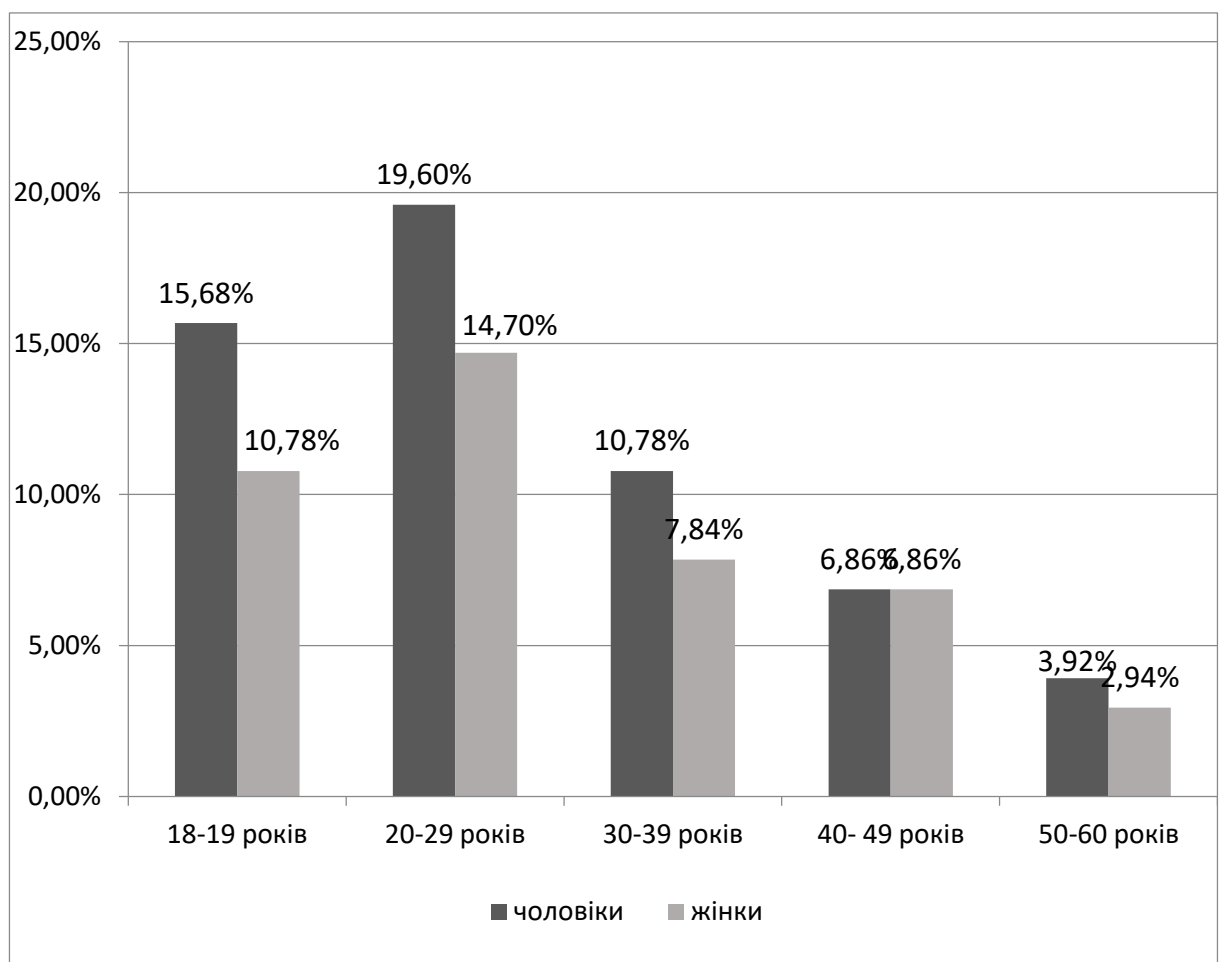


Рис. 2.3. Розподіл пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу за статтю та віком.

У всіх пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу були скарги на гострий початок, загальну слабкість, біль в животі та

діарею (табл. 2.2). Дещо менша кількість хворих (99,02%) скаржилась на порушення апетиту, у 95,09 % (97 пацієнтів) захворювання супроводжувалось гарячкою, у 94,14% (95 пацієнтів) – нудотою та блювотою.

Таблиця 2.1

Розподіл хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу за факторами передачі

Фактори передачі	Хворі на Сальмонельоз n-102		Жінки n-44		Чоловіки n-58	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Яйця домашніх птахів (кури, качки)	27	26,47	12	11,76	15	14,72
М'ясо тварин	25	24,51	11	10,78	14	13,74
М'ясо домашніх птахів (кури, качки, гуси)	17	16,67	8	7,84	9	8,82
Молоко, молочні вироби	14	13,73	6	5,88	8	7,84
Кондитерські вироби	8	7,84	3	2,94	5	4,90
Вироби з риби	3	2,94	1	0,98	2	1,96
Овочі та фрукти	2	1,96	1	0,98	1	0,98
Фактор передачі не встановлено	6	5,88	2	1,96	4	3,92

Встановлено, що тривалість інкубаційного періоду у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу знаходилась в межах від кількох годин до понад 24 годин та залежала від важкості перебігу, джерела інфікування, інфікуючої дози, фізіологічного стану організму пацієнтів.

Таблиця 2.2

Основний спектр клінічних проявів у пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу

Основні симптоми захворювання	Кількість хворих	
	абс.	%
Загальна слабкість	102	100,00
Порушення апетиту	101	99,02
Гарячка	97	95,09
Нудота, блювота	95	93,14
Біль у животі	102	100,00
Урчання, здуття живота	97	95,09
Діарея	102	100,00

Більше половини обстежених хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу (57,86%- 59 осіб) мали середню тривалість інкубаційного періоду (12-24 години), що було в 4,92 та 1,90 рази частіше, ніж короткий (до 12 годин) та тривалий (більше 24 годин).

Легкий перебіг гастроінтестинальної форми сальмонельозу характеризувався інкубаційним періодом понад 24 години, гострим початком захворювання на тлі нормальної або субфебрильної температури тіла тривалістю до 4 діб. У пацієнтів цієї групи ознаки токсико-ексикозу були відсутні. Хворі вказували, що стілець був від 2 до 7 разів на добу тривалістю до 4 діб. Хворі скаржилися на періодичну нудоту, біль в животі, загальну слабкість, здуття живота та порушення апетиту. Перебіг

захворювання був гострий циклічний, з тривалістю до 7 діб.

Середній ступінь важкості у хворих гастроінтестинальною формою сальмонельозу характеризувався гострим початком з появою основних симптомів в перший день захворювання. Характерною ознакою середнього ступеню важкості була температурна реакція з підвищенням до 37,9°C.

Перебіг захворювання в залежності від основних клінічних проявів був поділений на легкий, середнього ступеню важкості та важкий (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Основні клінічні симптоми у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості захворювання

Основні симптоми	К-сть хворих		Клінічні форми сальмонельозу					
			легка (n=35)		середня (n=57)		важка (n=10)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Загальна слабкість	102	100	35	100	57	100	10	100
Порушення апетиту	101	99,02	33	94,28	57	100	10	100
Гарячка	97	95,09	30	85,71*	57	100	10	100***
Нудота, блювота	95	100	28	80,00*	57	100	10	100***
Біль у животі	102	100	35	100	57	100	10	100
Урчання, здуття живота	97	95,09	30	85,71*	57	100	10	100***
Діарея	102	100	35	100	57	100	10	100

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ при порівнянні легкого ступеню важкості з середнім;
2. ** – $p < 0,05$ при порівнянні середнього ступеню важкості з важким;
3. *** – $p < 0,05$ при порівнянні легкого ступеню важкості з важким.

Важка клінічна форма сальмонельозу мала короткий, до 12 годин інкубаційний період, гострий початок з раптовими різкими болями в животі, блювотою, діареєю 7-14 разів, температурною реакцією до 38,9°, відсутністю апетиту, різкою загальною слабкістю. У хворих виявляли ознаки токсико-ексикозу. Гострий період захворювання продовжувався протягом 10-12 днів.

Усім 102 хворим основної групи виконували розгорнутий аналіз крові з визначенням кількості лейкоцитів, лейкоцитарної формули, ШОЕ, кількості еритроцитів і тромбоцитів (табл. 2.4.)

Таблиця 2.4

Гематологічні показники у хворих гастроінтестинальною формою сальмонельозу ($M \pm \sigma$)

Показники	Здорові особи (n 90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу (n 102)
Гемоглобін (г/л)	129,5 $\pm$ 7,28	129,28 $\pm$ 1,2
Еритроцити ($\times 10^{12}$ /л)	4,2 $\pm$ 0,16	4,35 $\pm$ 0,06
Тромбоцити ($\times 10^9$ /л)	262 $\pm$ 8,32	260 $\pm$ 0,36
Лейкоцити ($\times 10^9$ /л)	5,52 $\pm$ 0,18	10,86 $\pm$ 0,32**
ШОЕ (мм/год)	5,4 $\pm$ 0,12	9,6 $\pm$ 0,56**
Нейтрофіли (%)	67,14 $\pm$ 0,8	85,24 $\pm$ 1,2*
Лімфоцити (%)	32,5 $\pm$ 0,36	14,68 $\pm$ 0,16

Примітка:

1. * $p < 0,05$ – між групами здорових та хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу;
2. ** $p < 0,01$ – між групами здорових та хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу

У пацієнтів з гастроінтестинальною формою були виявлені достовірні зміни гематологічних показників в порівнянні з групою здорових осіб. Так, кількість лейкоцитів була в 1,97 разів вища серед хворих на сальмонельоз (табл. 2.4). Також в групі обстежених хворих в 1,27 рази збільшувався відсоток нейтрофілів в порівнянні зі здоровими особами, та в 1,78 рази був вищим показник ШОЕ.

На підставі епідеміологічного анамнезу, клінічних проявів хвороби проводили бактеріологічне дослідження калу, крові, на гемо культуру, блювотних мас, промивних вод шлунку, сечі. У хворих виділяли чисту культуру збудника захворювання та проводили ідентифікацію виділених штамів і визначення властивостей, чутливості до антимікробних препаратів.

Характеристика контрольної групи. В контрольну групу включали 90 практично здорових жителів Вінницької області, відбір яких проводили на базі науково-дослідного центру Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України. Серед них було 47 чоловіків (52,2 %) та 43 жінок (47,8 %). Середній вік склав $32,6 \pm 2,1$ років). До контрольної групи включали осіб, які не пред'являли скарг, в анамнезі не було випадків захворювання на сальмонельоз, хронічних захворювань, шкідливих звичок з нормальними клініко-лабораторними показниками (загальний аналіз крові, сечі, бактеріологічне дослідження калу). У всіх осіб даної групи була отримана письмова згода на включення в дослідження.

2.2 Методи та матеріали дослідження

Епідеміологічні методи дослідження. У всіх хворих з дослідної групи був ретельно зібраний епідеміологічний анамнез з визначенням ймовірного джерела та факторів передачі інфекції.

Бактеріологічні методи дослідження. Для бактеріологічного

дослідження від хворих на сальмонельоз забирали блювотні маси, промивні води шлунка, випорожнення. Досліджуваний матеріал поміщали в стерильний посуд в таких кількостях блювотні маси – 50 мл; промивні води – 100 мл. Перед посівом випорожнення розміщували в стерильному фізіологічному розчині 1:10 і сіяли в середовище накопичення (селенітовий або жовчний бульйон), а також паралельно на агар Плоскирева. Наступного дня досліджували ізольовані лактозонегативні колонії (безбарвні на середовищі Плоскирева), мікроскопували їх і пересівали на трицукровий агар Олкеницького для накопичення чистої культури; на третій день виділену культуру сальмонел ідентифікували.

Для визначення біохімічних властивостей чисту культуру сіяли у середовища Гісса або досліджували у стандартних ентеротестах. Більшість штамів сальмонел розкладали глюкозу, мальтозу, маніт до кислоти і газу; не ферментували адоніт, лактозу, саліцин, не продукували індол, виділяли сірководень, не розкладали сечовину, не розріджували желатин, давали негативну реакцію Фогеса-Проскауера.

Для надійної ідентифікації сальмонел ставили реакцію аглютинації на склі з адсорбованими груповими сироватками А,Б,С,D,E. Після одержання позитивного результату із однією груповою сироваткою, наступну реакцію аглютинації проводили з адсорбованими О-сироватками, характерними для даної серогрупи, а потім з монорецепторними Н-сироватками (першої, а при необхідності другої фази). На основі реакції аглютинації з адсорбованими і монорецепторними сироватками робили остаточний висновок про вид і серовар збудника.

Для виконання досліджень використано 102 свіжовиділені штами сальмонел. Біохімічну ідентифікацію сальмонел визначали наборами Enterotest[®] 24H, (Lachema O.P. Brno).

Дослідження проводились в бактеріологічних лабораторіях Вінницької міської клінічної лікарні № 1, Хмельницької міської інфекційної лікарні, кафедри мікробіології ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

Дію лікарських антибактеріальних препаратів на бактерії, показники адгезії сальмонел визначали уніфікованою методикою [157-160]. Для вивчення адгезивних властивостей мікроорганізмів в присутності хіміотерапевтичних препаратів використовували суспензію добових культур досліджуваних бактерій; добові агарові культури з розрахунку 10^9 мікробних клітин/мл у забуферному фосфатами фізіологічному розчині (ЗФР) хлориду натрію (склад г/літр: натрій фосфорно-кислий 8,01; калій фосфорно-кислий одно замінений 0,4; натрій фосфорно-кислий двічі замінений 1,78; рН 7,2); формалізовані еритроцити людини 0 (1) групи Rh(+). У приготовленому ЗФР триразово промивали свіжі еритроцити людини 0 (1) Rh(+) при 5000 об./хв., протягом 10 хв. Потім до відмитих ЗФР еритроцитах добавляли 50 % нейтральний формалін, інкубували суміш протягом 2 год при t 37°C. Потім еритроцити триразово промивали ЗФР при 5000 об/хв. протягом 10 хв. Одержані еритроцити зберігали при t 4°C; суспензію еритроцитів - 10^8 /мл у ЗФР. В хімічно чисті пробірки вносили по 0,5 мл суспензії бактерій (10^9 /мл), формалізованих червоних кров'яних клітин (10^8 /мл) та 0,1 мл антимікробного препарату з відповідною концентрацією. Контролем служили пробірки, в які вносили по 0,5 мл вказаної суміші та 0,1 мл ЗФР без антибактеріального препарату. Отримані суміші інкубували протягом 30 хв при t 37°C, періодично струшуючи. Після чого готували мазки на предметних скельцях, висушували фіксували метанолом, фарбували за методом Романовського-Гімзи. Під світловим мікроскопом на 50 еритроцитах визначали індекс адгезивності мікроорганізмів – число адгезованих бактерій на одному приймаючому участю в адгезії еритроциті [158, 159].

Вивчення протимікробної активності лікарських препаратів (ципрофлоксацин, ніфуроксазид) проводили за допомогою методу серійних розведень відповідно до «Методичних вказівок МВ 9.9.5-143-2007 «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [156]. Диско-дифузійний метод (ДДМ) застосовували для

визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних засобів. ДДМ заснований на здатності антимікробних препаратів дифундувати з стандартизованих паперових дисків у поживне середовище і пригнічувати ріст бактерій, посіяних на поверхні твердого поживного середовища. На підставі визначення граничних значень діаметрів зон пригнічення росту (мм) мікроорганізми поділяли на резистентні, помірно чутливі, чутливі.

На специфічну дію антибактерійних препаратів негативно впливають величина інфікуючої дози збудників сальмонельозу, осмолярність, температура, рН середовища, білки сироватки крові, іони кальцію, магнію, цинку. Формування резистентних варіантів сальмонел до антибактерійних лікарських засобів досліджували за методом пасажів *in vitro*. Для кожного наступного пасажу використовували культури бактерій, які росли на середовищі з найбільшою концентрацією лікарського препарату [161]. Швидкістю появи росту бактерій на поживному середовищі з антибактеріальним препаратом визначали інтервали між пасажами сальмонел. Досліди тривали протягом 30 пасажів бактерій.

У роботі використовували наступні лікарські антимікробні препарати:

- ципрофлоксацин (Виробник Ranbaxy Laboratories Limited, Індія). Реєстраційне посвідчення № UA 2897/02/01. Наказ МОЗ України 05.05.11р. № 75.

- ніфуроксазид (Виробник спільне українсько-іспанське підприємство «Сперко Україна»). Реєстраційне посвідчення № UA8638/01/01. Наказ МОЗ України 14.06.13, № 261.

Дослідження проводилися в лабораторії кафедри мікробіології ВНМУ ім. .М.І.Пирогова(зав. лабораторією проф. Ковальчук В.П.)

Визначення показників ендогенної інтоксикації та імунологічних показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу проводили згідно з існуючими регламентами та науковими рекомендаціями [166-168].

Визначення рівня молекул середньої маси (МСМ) в крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу базувалося на осадженні білків в досліджуваній рідині 10% розчином трихлороцтової кислоти (РТХОК) з наступним центрифугуванням і визначенням поглинання світла в 10 раз розведеним дистильованою водою. В якості контролю використовували розчин РТХОК в 30 разів розведеної дистильованою водою.

Вимірювання проводили на спектрофотометрі в ультрафіолетовому світлі з довжиною хвилі 280 нм для визначення ароматичних амінокислот і з довжиною хвилі 254 нм для визначення нуклеотидів. Рівень МСМ виражали в умовних одиницях, які кількісно дорівнювали показникам екстинції. Оптична густина в контролі знаходилась в межах 0,12-0,123 умовних одиниць з довжиною хвилі 254 нм при 23-25°C (169).

Методика визначення рівня ЦІК в сироватці крові хворих на сальмонельоз заснована на використанні поліетиленгліколевого (ПЕГ) тесту, який включає селективну преципітацію комплексів АТ-АГ (антитіло-антиген) в 3,75% ПЕГ з наступним визначенням густини преципітату. На спектрофотометрі з довжиною хвилі 450 нм визначають густину в кюветах. Потім вираховували різницю показників оптичної густини; результат множили на 1000 та одержували кількість ЦІК в умовних одиницях в 100 мл сироватки [169]..

Для оцінки рівня імунологічного статусу в хворих інтестинальною формою сальмонельозу визначали кількість Т-лімфоцитів з допомогою методу розеткоутворення. Визначення кількості лімфоцитів починали з підготовки буферного фізіологічного розчину NaCl (рН 7,2-7,4), розчину фіколверографіну, які готували наступним способом. У мірний циліндр вносили 9,5 г фіколу та розчиняли його теплою дистильованою водою об'ємом 100 см³, додавали 20 см³ 76% розчину верографіну. В якості маркерів для приготування індикаторної системи використовували еритроцити барана (ЕБ). Їх отримували з дефібринованої крові. Еритроцити відмивали 3 рази ізотонічним розчином NaCl до світлого

надосаду шляхом центрифугування при 1500 об/хв., протягом 10 хв. З осаду еритроцитів готували 0,5 % завис ЕБ, для Т-лімфоцитів.

Мононуклеарну фракцію лейкоцитів виділяли з цільної гепаринізованої крові, яку розводили забуференим ізотонічним розчином NaCl у співвідношенні 1:3; центрифугували протягом 3- хв. при 1500 об/хв. Отриману фракцію мононуклеарних клітин відбирали в пробірку та тричі відмивали забуференим фосфатними солями, ізотонічним розчином NaCl, центрифугуючи при 1500 об/хв. протягом 10 хв. для одержання суспензії лімфоцитів.

Після підраховували кількість клітин в камері Горяєва, доводили забуференим розчином до концентрації $2 \cdot 10^6$ /мл. Постановка досліду включала визначення кількості Т-лімфоцитів методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана в якості маркерів. Розетки підраховували у пофарбованих за Романовським-Гімза мазках. До Т-розеткоутворюючих лімфоцитів відносили клітини, які мали на собі не менше трьох еритроцитів барана.

Для визначення загальної кількості Т-лімфоцитів у пробірку вносили 0,1 мл суспензії лімфоцитів, додавали до них 0,1 мл 0,5 % зависі еритроцитів барана. Суміш інкубували в термостаті при 37°C протягом 7 хв. Отриману суміш центрифугували 5 хв. при 1000 об/хв. і ставили в холодильник при температурі 4°C на одну годину. Після цієї експозиції проводили фіксацію суміші 0,1 мл 0,3 % розчином глутарового альдегіду протягом 20 хв., далі зупиняли реакцію додаванням 0,4 мл дистильованої води. Потім суміш центрифугували 3 хв. по 1000 об/хв., надосад видаляли, осад ресуспендували; виготовляли мазки на предметних скельцях; проводили підрахунок кількості розеткоутворюючих клітин під мікроскопом. Після підрахунку кількості розеткоутворюючих лімфоцитів поділяли їх за щільністю рецепторів. Так лімфоцити, які приєднали 3-5 еритроцитів вважали малодиференційованими. Лімфоцити з 6-10 еритроцитами відносили до клітин з середньою щільністю рецепторів;

лімфоцити, що приєднали до своїх рецепторів 11 та більше еритроцитів, належали до високодиференційованих клітин. Лімфоцити, що не приєднали жодного еритроцита барана називали нульовими клітинами.

Методика вивчення кількості фагоцитуючих нейтрофілів полягала в наступному. В пацієнта брали 0,1 мл крові за загальновідомою методикою, наносили на знежирене покривне скельце і витримували у вологій камері при 37°C протягом 45 хвилин. Після чого згусток видаляли пінцетом. Покривне скельце з фіксованими нейтрофілами промивали в розчині Хенкса; наносили на скельце дві краплі завису (10^5) добової культури *S. aureus* 25923 та знову інкубували у вологій камері 30 хв. По закінченні експозиції скельце промивали, висушували, фіксували спиртом. Препарати фарбували за Романовським-Гімза. Всього підраховували 200 нейтрофілів. Облік проводили, визначаючи відсоток активних нейтрофілів із фагоцитованими коками.

Методика визначення активності системи комплементу полягала в тому, що в 10 пробірок вносили сироватку хворого в розведенні 1:10, починаючи з 0,05 мл в першу, збільшуючи кількість в кожній наступній на 0,05 мл і до 0,5 мл. Відповідно до загального об'єму 1,5 мл ізотонічного розчину хлориду натрію додавали в кожну пробірку. Потім вносили по 1,5 мл в кожну пробірку попередньо сенсibilізованих еритроцитів (гемолітична система). Після інкубації при 37°C протягом години пробірки охолоджували, еритроцити осаджували центрифугуванням і проводили оцінку результатів за гемолізом.

Молекулярно-генетичне дослідження по визначенню поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Asp299Gly TLR-4 та експресії генів Toll-подібних рецепторів 2, 4 проведено на базі НДІ Генетичних та імунних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

Геномну ДНК виділяли з периферичної венозної крові, забір якої проводився із кубітальної вени в стерильні вакуутайнери зі стабілізатором

(ЕДТА) за допомогою «Комплекту для виділення ДНК/РНК з сироватки або плазми крові» (НПФ «ЛиТех», Росія).

Поліморфну ділянку Arg753Gln гену TLR-2 та Asp299Gly TLR-4 ампліфікували за допомогою ПЛР з використанням специфічних олігонуклеотидних праймерів, відповідно.

Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технология», Москва). Суміш для ПЛР об'ємом 25 мкл містила 2,5 мкл 10-х буферу для ампліфікації; 2 мМ хлориду магнію; по 0,2 мМ кожного dNTP; по 66 нг специфічних праймерів; 2,5 ед. акт. Taq-ДНК-полімерази (СибЭнзим, Росія); 20-50 нг геномної ДНК. У пробірки нашаровували 25 мкл мінерального масла. Температура відпалу для визначення поліморфної ділянки Arg753Gln гену TLR-2 - 62°C, для Asp299Gly TLR-4 - 58°C. Для ідентифікації алелей гену TLR4 застосовували рестрикційний аналіз ампліконів за допомогою ендонуклеази рестрикції Bsp19 (СибЭнзим, Росія) при температурі 37°C. Поліморфну ділянку гену TLR2 ідентифікували за допомогою рестрикційного аналізу з використанням ендонуклеази рестрикції Pst I (СибЭнзим, Росія).

Продукти розщеплення поліморфної ділянки генів TLR4 та TLR2 виявляли за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі в 1 x TBE-буфері (протягом 2 год. при напрузі 2V на 1 см. гелю). У ролі маркера молекулярної ваги ДНК використовували pBR322/BsuRI. Гелі фарбували етидіумом бромідом із подальшою візуалізацією результатів в УФ-світлі.

Рівень експресії генів Toll-подібних рецепторів 2, 4 визначали методом ПЛР в режимі "реального часу" (Real-time PCR). Загальну РНК виділяли з біологічного зразку за допомогою комплексу реагентів «РИБО-золь-В» (AmpliSens, Росія). Для отримання кДНК використовували набір реагентів для проведення реакції оберненої транскрипції (СИНТОЛ, Росія). Реакційна суміш містила: 10 x буфер для оберненої транскрипції, 25 мМ дезоксинуклеотидтрифосфати, 15 ОД/мл праймера оліго(dT)₁₅, 50 од/мкл оберненої транскриптази MMLV-RT, 5 од/ мкл інгібітора РНКаз, 1-2 мкг

тотальної РНК та деіонізуючу воду вільну від РНКаз.

Визначення експресії генів Toll-подібних рецепторів 2, 4 проводили в методом ПЛР в реальному часі з використанням детектувального ампліфікатора ДТ-322 («ДНК-Технология», Росія) в реакційній суміші:- 10 x Bui для ампліфікації з барвником SYBR Green I;- 25 мМ хлорид магнію;- 2,5 мМ дезоксинуклеотидтрифосфатів;- по 66 нг праймерів (SibEnzyme, Росія);- 2,5 од. ДНК-полімерази Tag;- 20-50 нг к-ДНК. В якості референтного гену використовували ген b-актину. Для аналізу даних застосовували відносний Ct метод з розрахунком за формулою: $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Пацієнтам, які хворіли на сальмонельоз призначили етіотропну терапію, регідратаційне симптоматичне лікування, ліжковий режим. Ефективність терапії оцінювали за швидкістю зникнення клінічних ознак недуги, тривалістю стаціонарного лікування, найближчими наслідками.

Клінічне лабораторне обстеження хворих здійснювали на етапі госпіталізації, 3-5 день знаходження в стаціонарі та+ перед випискою з стаціонару.

Критеріями виключення з дослідження були злякисні пухлини, вагітність та період лактації, печінкова та ниркова недостатність, серцево-судинні захворювання в стадії декомпенсації, аневризми великих судин, невстановленої етіології, пацієнти молодше вісімнадцяти років, хворі, що страждали на алкоголізм та наркоманію.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою пакету програм SPSS, 12 (ліцензійний номер 9593869, належить кафедрі інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова) та «STATISTICA 5,5» з використанням параметричних і непараметричних(Мана Уїтні) методів оцінки отриманих результатів. Останній належить ЦНІТ ім. М. І. Пирогова, ліцензійний № AXXR910A374605FA. Оформлення та друк роботи виконували в текстовому редакторі Word.

Суттєвість різниці між окремими показниками вибіркового

дослідження оцінювали за коефіцієнтом вірогідності (критерій Стьюдента), який визначали за формулою:

$$t = \frac{[p_1 - p_2]}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}},$$

де p_1, p_2 – відносні показники; m_1, m_2 – середні похибки.

Для оцінки вірогідності більшої від двох кількості показників клініко-статистичних груп використовували критерій відповідності Пірсона (χ^2), який визначали за формулою:

$$\chi^2 = \frac{\sum [p_1 - p_2]^2}{p_1},$$

де p – реальні частоти, p_1 – теоретичні частоти.

Для оцінки ефективності різних схем лікування застосовували семипараметричні визначення базової функції ризику. Були використані кускові експоненційні праярси (Brezger et al., 2008, 23; Ibrahim et al., 2001) для специфікації базового ризику λ_j для кожного часового інтервалу j . Кількість часових інтервалів визначалась за 20% квантилями. Квантильний підхід важливий для забезпечення збалансованого наповнення подіями (факт видужання) проміжків часу (дні 4-13 після початку хвороби). В кожний визначений у такий спосіб проміжок приходилось $0,2 \cdot 102 = \min 20$ випадків видужання. Крім того, вибір саме 20%-го квантильного інкременту забезпечував 5 ($100/20$) часових проміжків, на які розбиті спостережені значення ЧДО, що уможливило однозначну рангову ідентифікацію меж проміжків, довжина яких (крім останнього) зручно співпала з днями захворювання. А саме, значення 0% квантиля склало 4-й день перебігу захворювання, 20% - 5-й день, 40% - 6-й день, 60% - 7-й день, 80% - 8-й день, і 100% - 13-й день, що значно полегшувало

інтерпретацію результатів, зокрема оцінок базового ризику як добового. Для більш валідної ідентифікації базового ризику λ_j використали не лише події даного проміжку, але й сусідніх через апріорні значення випадкового переміщення першого порядку (RW1), які у тексті програми задані як:

```
lam[j]~dgamma(a0, b0[j])
b0[j] <- a0/lam[j-1]
lam[1]~dgamma(0.1,0.1),
a0~dgamma(0.1,0.1)
```

Тобто, кожний λ_j (lam[j]) отримувався як модифіковане значення ризику попереднього часового інтервалу λ_{j-1} . Модифікація аддитивна з стрибком, який визначався випадковою реалізацією гамма розподілу з нульовим очікуваним значенням та дисперсією $(\lambda_{j-1})^2/a_0$. Апріорне значення базового ризику на першому часовому проміжку λ_1 отримувалось як випадкова реалізація гамма розподілу з параметрами $a=b=0,1$. З виразу для дисперсії очевидно, що більші значення параметру a_0 обумовлюють більш згладжену послідовність λ_j .

Ризик визначався за класичним пропорційним принципом Кокса, а саме, він пропорційний до базового і модифікований експонентою суми зважених коваріат (векторний добуток $\beta_j \bullet x_i$):

$$h(t_i \in (q_{j-1}, q_j] | x_i) = \lambda_j \exp(\beta_j \bullet x_i)$$

У базовій моделі $\beta_j \bullet x_i$ представлений як:

$$\text{beta} * \text{Treatment} + \text{beta2} * \text{Treatment} * b_j + b_j$$

Головним параметром тестування АТЕ був коефіцієнт «beta», ідентифікація якого від зміщень внаслідок порушення рандомізації призначення програми забезпечується включенням компоненти $\text{beta2} * \text{Treatment} * b_j$, яка відповідала контрольній функції $w(x - \check{x})\theta$ в (5.7).

b_j виражала індивідуальний ефект пацієнта (т.н. «фрейлті»), який децентровано приписанням функції генерації його апіорних значень нормальному закону з нульовим середнім ($b[j] \sim \text{dnorm}(0, \text{tau})$ в тексті програмного коду). Фактично індивідуальний ефект пацієнта вбирав в себе усі можливі фіксовані ефекти, тобто як спостережені ковариати, так і не спостережені ознаки (НГ), являючись, таким чином, потужною прокси-змінною для незміщеного тестування ефекту призначення ПР. Несуттєвість коефіцієнта «beta2» свідчила про відсутність зміщень оцінки АТЕ внаслідок порушення рандомізації призначення виду препарату.

Оцінка кумулятивного ризику та виживаності

Кумулятивний ризик (позначений в тексті програмного модуля як H_0) розраховувався як накопичення (моментного) ризику $h(t_i \in (q_{j-1}, q_j] | x_i)$ протягом квантильного часового інтервалу $q_j - q_{j-1}$, тобто:

$$H_{0j} = h(t \in (q_{j-1}, q_j] | x) * (q_j - q_{j-1}) = \lambda_j \exp(\beta_j \bullet x_i) * (q_j - q_{j-1})$$

Відповідно виживаності представників експериментальної та контрольної когорт (в тексті програмного модуля позначені як $S[1]$ та $S[2]$) вираховувались як:

$$S[1] = \left[\exp \left(- \sum_{j=1}^{40} H_{0j} \right) \right]^{\exp(\text{beta})}$$

$$S[2] = \exp \left(- \sum_{j=1}^{40} H_{0j} \right)$$

Слід зазначити, що в даному разі статистичний термін виживаність має зміст вірогідності залишатись хворим.

Функція правдоподібності (ФП) була інтегратором розподілів імовірності випадків наступної госпіталізації. Так, i -й випадок госпіталізації, який трапився на квантильному інтервалі $q_{j-1} < t_i \leq q_j$ за відсутності цензурування (забезпечено організацією даних) вносить

наступний фрагмент в функцію правдоподібності (логарифм фрагменту i -го випадку госпіталізації та j -му квантильному інтервалі позначений в тексті програмного модуля як $LL[i,j]$):

$$LL[i, j] = \lambda_j \exp(\beta_j \bullet x_i) * \exp[-\lambda_j (t_i - q_{j-1}) \exp(\beta_j \bullet x_i)]$$

Ми використали модифікацію фрагментів ФП за Клейтоном (Aitkin and Clayton, 1980; Orbe and Nunez-Anton, 2006) з використанням генерацій фактів видужання з розподілу Пуассона ($y[i,k] \sim \text{dpois}(\mu[i,k])$), описаний в тексті програмного модуля під заголовком «# likelihood»

Потужним сучасним драйвером імплементації ієрархічних мікст моделей, до яких відноситься наша модельна структура, є MCMC алгоритми. Був обраний найбільш відпрацьований і потужний семплер Гіббса (Gibbs sampler) Семплер Гіббса заснований на повному умовному постеріорному розподілу. Згенеровані у такий спосіб нові значення параметрів θ завжди приймаються алгоритмом. Зручність ще й у тому, що нові значення генеруються з однорозмірних розподілів.

Аналітичний програмний модуль написано нами мовою WinBUGS, що є аббревіатурою виразу Bayesian inference using Gibbs (software). Розрахунок параметрів моделей здійснювався в середовищі пакету WinBUGS версії 1.4. Попередня підготовка даних, а також дослідження конвергенції в ланцюгах Маркова здійснена в середовищі математичної аналітичної системи R версії 3.1.0 на основі пакету CODA. Усі наведені графічні зображення теж створені в середовищі R (пакет GRAPHICS). Текст програмного модуля разом з деталізацією застосування наведений в Додатку Д. Він працює в середовищі R. Для цього його слід скопіювати у новостворений файл скрипту. З середовища R частина коду обробляється процесором WinBUGS, який активується з передачею даних через call «**bugs**» пакету R2WinBUGS системи R. Результати симуляцій повертаються в середовище R у вигляді об'єкта спеціального класу

WinBUGS (в тексті програмного модулю об'єкт позначено як «results»).
Ефекти оцінені на основі 20 тис. ітерацій семплера Гіббса.

Моделювання важкості перебігу сальмонельозу за трансформованими даними здійснено за процедурою QLIM статистичної аналітичної системи SAS, що зручна для оцінки параметрів моделі ординальної регресії.

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ ЕТІОЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ТА ЧУТЛИВОСТІ САЛЬМОНЕЛ ДО АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ І ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ

Успішна боротьба з можлива тільки на основі всебічних мікробіологічних досліджень, стеженні за етіологічною структурою збудників сальмонельозів, визначенні їх видового складу та епідеміологічної значущості окремих їх сероварів у поширенні даного інфекційного захворювання. Важливим кроком в проведенні аналізу етіологічної структури сальмонельозів є визначення видового складу збудників гастроінтестинальної форми сальмонельозу від хворих, які були госпіталізовані в інфекційні відділення.

Адгезія і колонізація сальмонел складають важливу ланку патогенезу сальмонельозу, отже наступна частина нашої роботи присвячена визначенню впливу бактеріостатичних та бактерицидних концентрацій антибактерійних препаратів на адгезивні властивості сальмонел та дослідженню формування резистентних варіантів у клінічних штамів сальмонел.

3.1 Аналіз етіологічної структури у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу

Згідно отриманих нами даних бактеріологічного дослідження випорожнень та блювотних мас 102 хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу провідним етіологічним чинником збудником була *S. enteritidis*, що була виділена у 71 хворого (69,61%). У 30,39 % пацієнтів (31 особа) була виділена *S. typhimurium* (рис. 3.1). Серед збудників було використано 2 штами *S. enteritidis* (3267 та 3277), та 2 штами *S. typhimurium* (3227 та 3270) для подальшого детального дослідження їх властивостей.

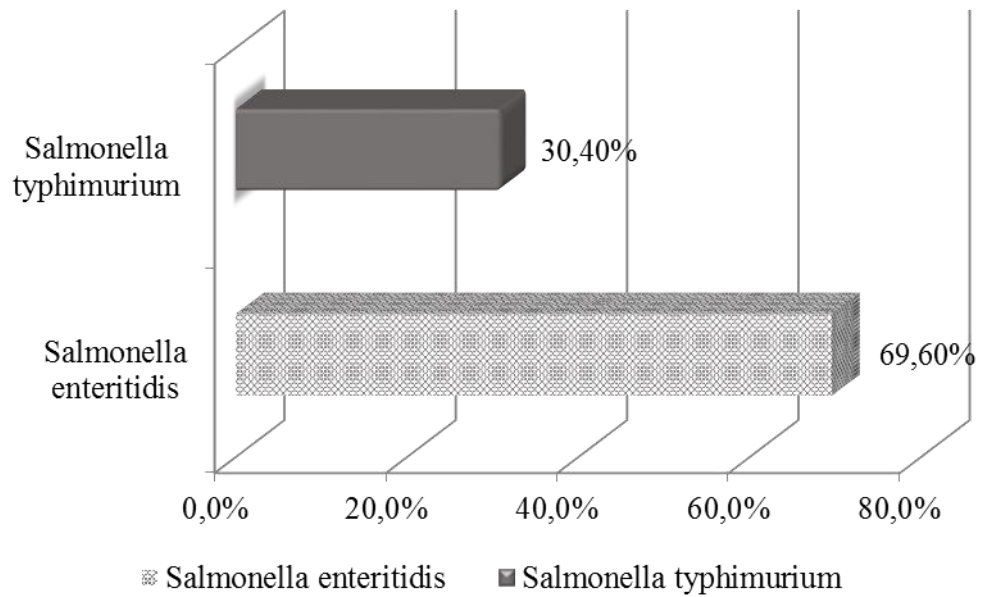


Рис. 3.1. Етіологічна структура збудників гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

Біохімічні властивості збудників сальмонельозу, що були отримані з випорожнень хворих, характеризувалися здатністю гідролізувати субстрати з утворення кислоти і газу, а саме аргінін, орнітин, малонат натрію, В-галактозидазу, саліцин, сорбіт, мелібіозу, целобіозу, трегалозу, манітол, глюкуронідазу, сахарозу, інозітол, рафінозу, В- ксилоксидазу (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Біохімічні властивості клінічних штамів сальмонел, виділених від хворих гастроінтестинальною формою сальмонельозу (n 102) згідно Enterotest 24H

Штами/тест	<i>S. enteritidis</i> n 71	<i>S. typhimurium</i> n 31
1	2	3
Уреаза URE	-**	-
Аргінін ARG	+*	+
Орнітин ORN	+	+
Лізин Lys	S***	S
Сірководень H ₂ S	-	-

1	2	3
Цитрат Сімонса SCi	+	+
Малонат MAL	+	+
В-галактозидаза ONP	+	+
Саліцин SAL	+	+
Сорбіт SOR	+	+
Мелібіоза MLB	+	+
Целобіоза CEL	+	+
Лактоза LAC	+	+
Трегалоза TRE	+	+
Манітол MAN	+	+
В-глюкуронідаза GLR	+	+
Дульцит DUL	-	-
Адонітол ADO	-	-
Арабітол ART	-	-
Сахароза SUC	+	+
Інозитол INO	+	+
Рафіноза RAF	+	+
Ескулин ESL	-	-
В-ксилоксидаза BXY	+	+

Примітки:

1. ⊕* - позитивна реакція;
2. -**- негативна реакція;
3. s*** - слабка позитивна реакція.

Результати вивчення чутливості клінічних штамів сальмонел до антибактерійних препаратів наведено в таблиці 3.2.

Чутливість штамів сальмонел до антибактерійних препаратів (n 102)

Антибактерійні препарати	Ступінь чутливості штамів					
	чутливі		помірно чутливі		Резистентні	
	абс.	М±σ, %	абс.	М±σ, %	абс.	М±σ, %
Ципрофлоксацин	97	95,09±1,21	3	2,94±0,84	2	1,97±0,41
Ніфуроксазид	91	89,22±1,42	6	5,88±0,58	5	4,90±0,36

Проведені дослідження виявили, що, отримані від хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу штами збудників в переважній більшості зберігали чутливість до антибактеріальних препаратів, що застосовувалися в лікуванні захворювання. Так, виділені штами були в 89,22% чутливими до ніфуроксазиду та у 95,09% - до ципрофлоксацину. Лише два штами сальмонел (1,97%) були стійкі до ципрофлоксацину, в той час, як до ніфуроксазиду таких було 5 (4,90%).

3.2 Адгезивна здатність сальмонел та особливості формування їх резистентності до антибактеріальних препаратів

Нами було встановлено, що МБсК, МБцК ніфуроксазиду та ципрофлоксацину змінювали адгезивну здатність клінічних штамів *Salmonella enteritidis* (2 штами) та *Salmonella typhimurium* (2 штами). Так, серед МБсК лікувальних препаратів найбільше знижувало адгезію досліджуваних штамів сальмонел МБсК ципрофлоксацину (0,25 мкг/мл)- в 1,88 рази у штама *S. enteritidis* 3267, в 1,94 рази у штама *S. enteritidis* 3277, а також в 1,75 та навіть в 2,05 рази у штамів *S. typhimurium* 3227 та 3270, відповідно (рис. 3.2-3.5).

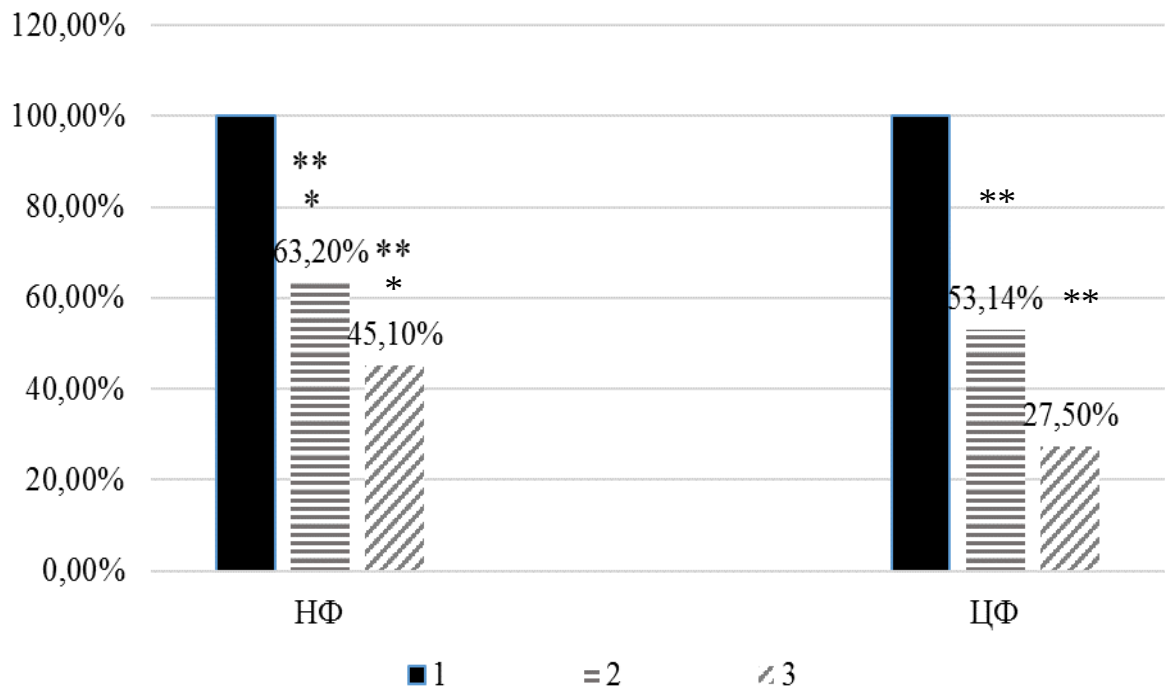


Рис. 3.2. Показники впливу НФ, ЦФ на адгезію *Salmonella enteritidis* 3267 (1 – контроль; 2 – МБсК; 3 – МБцК)

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ при порівнянні між ЦФ та НФ;
2. ** – $p < 0,05$ при порівнянні МБсК, МБцК та контролю.

В дещо меншій мірі знижувала адгезивні властивості збудників МБсК ніфуроксазиду (50 мкг/мл). Дана доза в 1,58 рази пригнічувала адгезію *S. enteritidis* 3267, що, однак, було в 1,19 рази менше, ніж МБсК ципрофлоксацину (рис. 3.2). Адгезія штаму *S. enteritidis* 3277 зменшувалась в 1,71 рази, що також, достовірно, в 1,13 рази відрізнялося від даних стосовно впливу МБсК ципрофлоксацину. Штам *S. typhimurium* 3227 пригнічував свою адгезію при застосуванні МБсК ніфуроксазиду в 1,64 рази, що достовірно не відрізнялося від результатів при впливі МБсК ципрофлоксацину. Зниження адгезивних властивостей *S. typhimurium* 3270 під дією МБсК ніфуроксазиду відбувалося в 1,86 разів, та було в 1,3 рази меншим, ніж при застосуванні МБсК ципрофлоксацину.

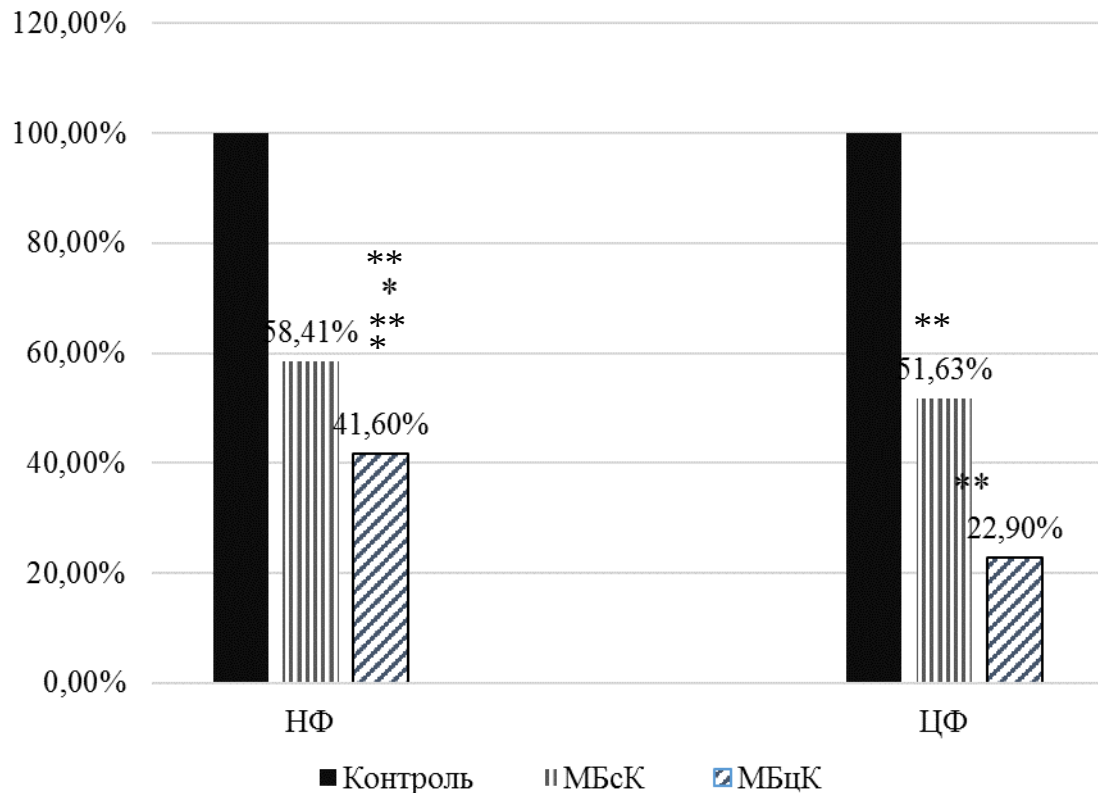


Рис. 3.3. Показники впливу НФ, ЦФ на адгезію *Salmonella enteritidis* 3277 (1 – контроль; 2 – МБсК; 3 – МБцК)

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ при порівнянні між ЦФ та НФ;
2. ** – $p < 0,05$ при порівнянні МБсК, МБцК та контролю.

Подібна картина спостерігалася і стосовно МБцК лікарських засобів, що були призначені в лікуванні хворих на сальмонельоз. Дані дозування викликали наростаюче зниження адгезивної здатності у клінічних штамів сальмонел, що було достовірно більшим при застосуванні МБцК ципрофлоксацину. Так, МБцК ципрофлоксацину пригнічувала адгезію *S. enteritidis* 3267 в 3,64 рази, це було в 1,64 рази більше, ніж МБцК ніфуроксазиду (рис. 3.2). Адгезивна активність штаму *S. enteritidis* 3277 знижувалась вже в 4,37 рази, що було в 1,82 більше, ніж при застосуванні МБцК ніфуроксазиду (рис. 3.3). Стосовно штаму *S. typhimurium* 3227 було зафіксовано зниження адгезії під впливом МБцК ципрофлоксацину в 2,29 рази, що достовірно не відрізнялося від дії МБцК ніфуроксазиду (рис. 3.4).

Було також виявлено зниження адгезивних властивостей *S. typhimurium* 3270 в 3,01 рази під впливом МБцК ципрофлоксацину (рис. 3.5). Дане зниження було в 1,24 рази більшим, ніж при МБцК ніфуоксазиду.

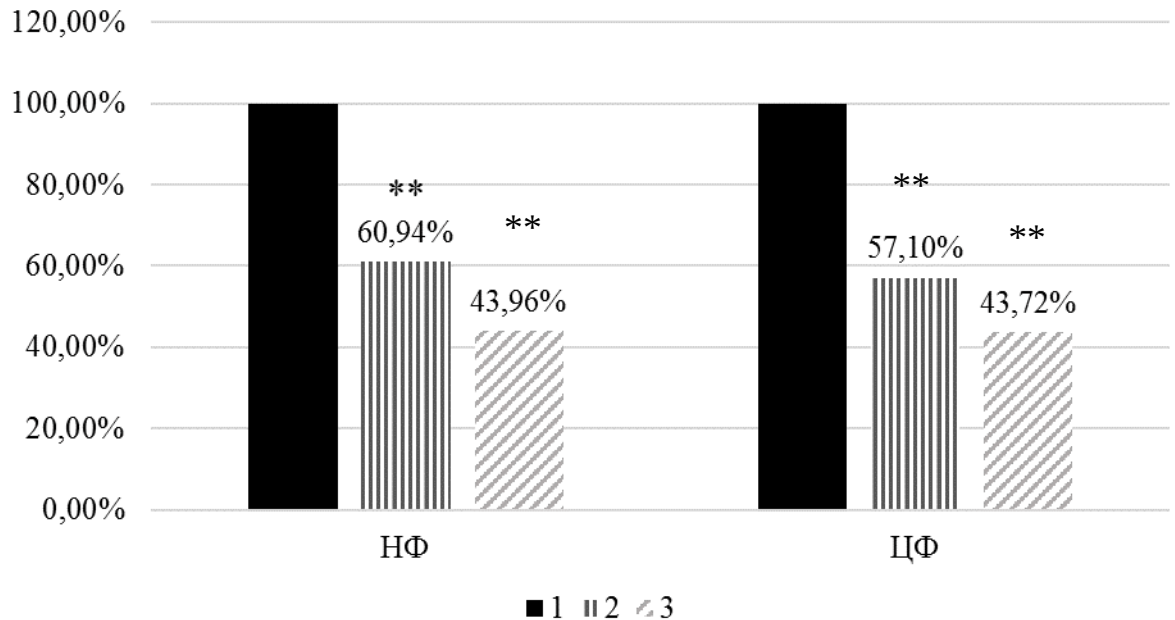


Рис. 3.4. Показники впливу НФ, ЦФ на адгезію *Salmonella typhimurium* 3227 (1 – контроль; 2 – МБсК; 3 – МБцК)

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ при порівнянні між ЦФ та НФ;
2. ** – $p < 0,05$ при порівнянні МБсК, МБцК та контролю.

Проведений аналіз формування резистентності виділених з випорожнень хворих штамів сальмонел встановив, що збудники *S. enteritidis* 3267, 3277 та *S. typhimurium* 3227, 3270 в присутності ЦФ в досліджах *in vitro* перед початком пасування була чутлива до дози 0,24 мкг/мл (табл. 3.3). Після проведених 30 пасажів резистентність бактерій зросла в 8 разів та складала 1,92 мкг/мл.

Встановлено, що резистентність до НФ у клінічних штамів сальмонел формувалась швидше, однак не рівномірно (табл. 3.4). Так, стосовно штамів *S. enteritidis* 3277 та *S. typhimurium* 3227, 3270

резистентність підвищилась у 16 разів після 30 пасажів, досягнувши дозування 800 мкг/мл (контроль 50 мкг/мл). В той же час штам *S. enteritidis* 3267 був резистентний після 30 пасажів вже до дози 1600 мкг/мл, тобто його стійкість до НФ зросла в 32 рази

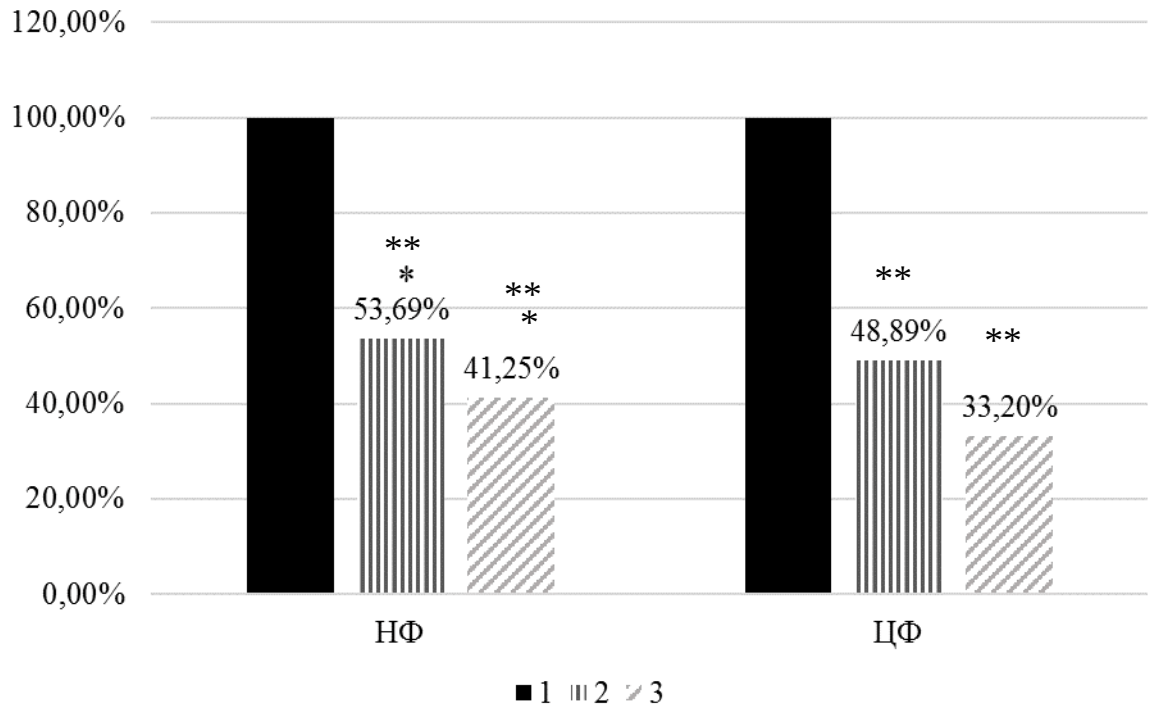


Рис. 3.5. Показники впливу НФ, ЦФ на адгезію *Salmonella typhimurium* 3270 (1 – контроль; 2 – МБсК; 3 – МБцК)

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ при порівнянні між ЦФ та НФ;
2. ** – $p < 0,05$ при порівнянні МБсК, МБцК та контролю.

Таким чином, проведене дослідження встановило, що провідним етіологічним чинником захворювання була *S. enteritidis* (штами 3267 та 3277), що виділялася у 71 хворого (69,6%). У 30,4 % пацієнтів (31 особа) була виділена *S. typhimurium* (штами 3227 та 3270).

Найбільше знижувало адгезію досліджуваних штамів сальмонел МБсК ципрофлоксацину (0,25 мкг/мл)- в 1,75- 2,05 рази в залежності від штамів *S. enteritidis* та *S. typhimurium*., що було в 1,13-1,19 рази більше,

ніж МБсК ніфуроксазиду. Лише відносно штаму *S. typhimurium* 3227 не було виявлено достовірної різниці в пригніченні адгезії при застосуванні МБсК ципрофлоксацину та ніфуроксазиду.

Подібну картину спостерігали стосовно МБцК лікарських засобів, що були призначені в лікуванні хворих на сальмонельоз.. Дані дозування викликали наростаюче, в 3,01-4,37 разів, зниження адгезивної здатності у клінічних штамів сальмонел, що було в 1,24-1,82 більшим при застосуванні МБцК ципрофлоксацину. Стосовно штаму *S. typhimurium* 3227 було зафіксовано зниження адгезії під впливом МБцК ципрофлоксацину в 2,29 рази, що достовірно не відрізнялося від дії МБцК ніфуроксазиду.

При аналізі формування резистентності встановлено, що резистентність всіх штамів сальмонел в присутності ЦФ в дослідях *in vitro* після 30 пасажів стійкість бактерій зросла в 8 разів. Дещо іншу картину спостерігали стосовно резистентності до НФ. Стійкість штаму *S. enteritidis* 3267 до НФ після 30 пасажів зросла в 32 рази, в той час, як резистентність інших штамів сальмонел до цього антибактеріального препарату зросла за такої ж кількості пасажів лише в 16 разів.

Таким чином, результати проведених досліджень дозволяють стверджувати, що антибактерійні лікарські препарати ніфуроксазид, ципрофлоксацин пригнічують адгезивну здатність клінічних штамів сальмонел і завдяки цій біологічній дії прискорюють процес одужання хворих.

Результати досліджень, представлені в розділі, узагальнено і викладено в наступних друкованих працях:

1. Палій Д. В. Вивчення дії антимікробних препаратів на адгезивні властивості бактерій / О. В. Яцула, А. О. Дудар, І. В. Коваленко, Д. В. Палій // Вісник проблем біології і медицини, 2016. – Вип. 2, Т. 3 (130). – С. 174-177.

Таблиця 3.3

Показники формування резистентності до ципрофлоксацину (ЦФ) клінічних штамів сальмонел (мкг/мл)

Пасаж	S.enteritidis 3267		S.enteritidis 3277		S.typhimurium 3227		S.typhimurium 3270	
	МБсК	кратність до контролю	МБсК	кратність до контролю	МБсК	кратність до контролю	МБсК	кратність до контролю
Початкова чутливість до ЦФ (контроль)	0,24	-	0,24	-	0,24	-	0,24	-
Після 5 пасажів	0,24	-	0,48	2	0,24	-	0,24	-
Після 10 пасажів	0,48	2	0,48	2	0,48	2	0,48	2
Після 15 пасажів	0,48	2	0,48	2	0,48	2	0,96	4
Після 20 пасажів	0,96	4	0,96	4	0,96	4	0,96	4
Після 25 пасажів	1,92	8	0,96	4	0,96	4	1,92	8
Після 30 пасажів	1,92	8	1,92	8	1,92	8	1,92	8

Таблиця 3.4

Показники формування резистентності до ніфуроксазиду (НФ) клінічних штамів сальмонел (мкг/мл)

Пасаж	S.enteritidis 3267		S.enteritidis 3277		S.typhimurium 3227		S.typhimurium 3270	
	МБсК	кратність до контролю	МБсК	кратність до контролю	МБсК	кратність до контролю	МБсК	кратність до контролю
Початкова чутливість до НФ (контроль)	50	-	50	-	50	-	50	-
Після 5 пасажів	50	-	100	2	100	2	100	2
Після 10 пасажів	100	2	100	2	100	2	100	2
Після 15 пасажів	200	4	200	4	200	4	200	4
Після 20 пасажів	400	8	400	8	200	4	200	4
Після 25 пасажів	800	16	800	16	400	8	400	8
Після 30 пасажів	1600	32	800	16	800	16	800	16

2. Палій Д.В. Дослідження лікарської стійкості у сальмонел до протимікробних препаратів / О.К. Стукан, Д.В. Палій // Матеріали 6-ої науково-практичної конференції молодих вчених ВНМУ ім. М. І. Пирогова 15 травня 2015 р.: Вінниця, 2015. – С. 22-23.
3. Палій Д. В. Вивчення етіологічної структури збудників сальмонельозу / Д. В. Палій // “Довкілля і здоров’я”: матеріали науково-практичної конференції (24 – 25 квітня 2014 р.). Тернопіль, 2014. – С. 99 – 100.
4. Палій Д. В. Вплив декасану, антибіотиків на формування лікарської резистентності у сальмонел / Д. В. Палій // XV з’їзд Українського науково-медичного товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного «Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності» XV з’їзд Українського науково-медичного товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного «Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності» 23-25.11.2011р. Тези доповідей. Харків. – 2011. – С. 81.
5. Палій Д. В. Дослідження клініко-епідеміологічних особливостей перебігу сальмонельозу / Д.В. Палій // Збірник наукових праць щорічної 11-ої науково-практичної конференції з міжнародною участю приуроченою до дня науки «Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни та туберкульозу». Випуск 11. Травень 2014 р., м. Львів. – 2014. – С. 62 – 65.
6. Палій Д. В. Вивчення етіологічної структури збудників сальмонельозу / Д.В. Палій // «Довкілля і здоров’я». Збірник матеріалів науково-практичної конференції 25 квітня 2014 року, Тернопіль. «Укрмедкнига» 2014.– С. 99-100
7. Палій Д. В. Вивчення адгезії у сальмонел в присутності лікарських антибактерійних препаратів / Д.В. Палій // Збірник

матеріалів V міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених 15 – 16 травня 2014 р., м. Вінниця. 2014. – С. 56.

8. Палій Д. В. Дослідження лікарської стійкості у сальмонел до протимікробних препаратів / О. К. Стукан, Д.В. Палій // Матеріали 6-ої науково-практичної конференції молодих вчених ВНМУ ім. М. І. Пирогова 15 травня 2015 р.: Вінниця, 2015. – С. 22-23.

9. Palii D. Antimicrobial properties of new antiseptic compositson / O. Nazarchuk, S. Nazarchuk, G. Nazarchuk, D. Palii // 32nd Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases. May 6 – 10, 2014. – Dublin, Ireland. – P. A 526. – Режим доступу до журн. <http://espid.kenes.com/scientific-information/espid-abstracts>.

10. Палій Д. В. Дослідження лікувальної, профілактичної дії антибактеріальних засобів на моделі сальмонельозу / Д. В. Палій // Матеріали II наукової конференції молодих вчених з міжнародною участю. 17-18 травня 2011 р. - Вінниця. – 2011. – С. 123.

РОЗДІЛ 4

ДИНАМІКА ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ГАСТРОІНТЕСТИНАЛЬНУ ФОРМУ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВАЖКОСТІ ЗАХВОРЮВАННЯ ТА ЛІКУВАННЯ

Перебіг сальмонельозу, як будь якої бактеріальної інфекції, супроводжується ознаками інтоксикації, що може призводити до змін імунологічних показників, а ефективність фагоцитуючих нейтрофілів (ФН) посилюється в умовах збільшення числа бактерій та ендотоксинів сальмонел. В даному розділі роботи ми визначили ефективність основних схем лікування гастроінтестинальної форми сальмонельозу ,вплив цих схем на тривалість основних симптомів та зміни рівнів імунологічних показників у хворих на сальмонельоз.

4.1 Динаміка окремих показників інтоксикації та імунологічних та показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості захворювання.

Згідно отриманих нами даних ,найбільш відчутні зміни у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу відбувалися стосовно вмісту МСМ в сироватці крові, що був в 1,98 разів вищий, ніж у здорових осіб (табл. 4.1).

Вміст фагоцитующих нейтрофілів в групі хворих в 1,17 рази перевищував аналогічний показник серед здорових. В той же час у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу було виявлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів в 1,30 рази в порівнянні зі здоровими особами. Нами не було встановлено достовірної різниці у вмісті комплементу та ЦІК між групою здорових осіб та хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу .

Окремі показники інтоксикації та імунологічні показники у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу ($M \pm \sigma$)

Показник інтоксикації	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу (n=102)	здорові особи (n=90)
Молекули середньої маси (ум.од.)	$0,439 \pm 0,014$	$0,222 \pm 0,006$
Вміст комплементу (ум.од.)	$1,08 \pm 0,03$	$1,02 \pm 0,03$
Циркулюючі імунні комплекси (ум.од.)	$1,062 \pm 0,011$	$1,042 \pm 0,004$
Вміст фагоцитуючих нейтрофілів (абс. ч.)	$78,28 \pm 0,77$	$67 \pm 1,1$
Загальне число Т-лімфоцитів	$41,25 \pm 1,04$	$53,80 \pm 1,38$

Примітка. * – $p < 0,05$ між здоровими особами та хворими на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Аналіз залежності вмісту основних показників інтоксикації у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу від важкості захворювання встановив достовірне підвищення вмісту МСМ в сироватці крові (табл. 4.2). Так, даний показник у хворих з середньою важкістю хвороби був в 1,44 рази вищим, в порівнянні з вмістом в сироватці крові у хворих з легкою формою. А у хворих з важким перебігом ця різниця була вищою вже у 1,92 рази. Достовірна різниця в даному показнику була також між групами пацієнтів з середнім та важким перебігом (в 1,34 рази). Різниці вмісту комплементу та ЦІК не було виявлено у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості хвороби.

Вміст фагоцитуючих нейтрофілів в сироватці крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу також зростав відповідно важкості

захворювання. Так, у хворих з важким перебігом даний показник був в 1,17 рази вищим, в порівнянні з хворими з легким перебігом. Стосовно інших ступенів важкості достовірної різниці виявлено не було (табл. 4.3).

Таблиця 4.2

Рівень МСМ, комплементу та ЦІК у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості перебігу ($M \pm \sigma$)

Групи Показники інтоксикації	Здорові особи (n=90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу (n=102)	Легкий (n=35)	Середній (n=57)	Важкий (n=10)
Молекули середньої маси (ум.од.)	0,222 $\pm$ 0,006	0,439 $\pm$ 0,014	0,302 $\pm$ 0,009*	0,434 $\pm$ 0,016**	0,581 $\pm$ 0,018***
Вміст комплементу (ум.од.)	1, 02 $\pm$ 0,03	1,08 $\pm$ 0,03	1,05 $\pm$ 0,03	1,08 $\pm$ 0,04	1,10 $\pm$ 0,02
Циркуючі імунні комплекси (ум.од.)	1, 042 $\pm$ 0,004	1,062 $\pm$ 0,011	1,044 $\pm$ 0,006	1,060 $\pm$ 0,004	1,084 $\pm$ 0,024

Примітки:

1. $p < 0,05$ між хворими з легким та середньо важким перебігом;
2. ** – $p < 0,05$ між хворими з середньо важким та важким перебігом;
3. *** – $p < 0,05$ між хворими з легким та важким перебігом.

Навпаки, нами було встановлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості перебігу хвороби. Так, при середньо важкому перебігу їх кількість знижувалася в 1,19 разів в порівнянні з легким перебігом, а при тяжкій формі ця різниця була вже в 1,38 рази (табл. 4.3).

Рівень фагоцитуючих нейтрофілів та загальне число Т-лімфоцитів у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від ступеню важкості

($M \pm \sigma$)

Групи Показник Імунітету	Здорові особи (контроль) (n=90)	Хворі на сальмонельоз (n=102)	Легка (n=35)	Середня (n=57)	Важка (n=10)
Вміст фагоцитуючих нейтрофілів (абс. ч.)	67 ± 1,1	78,28 ± 0,77	71,64 ± 0,92	79,08 ± 0,68	84,12 ± 0,72***
Загальне число Т- лімфоцитів	53,80 ± 1,38	41,25 ± 1,04	48,20 ± 1,02*	40,64 ± 0,82**	34,90 ± 1,28***

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ між хворими з легким та середньо важким перебігом;
2. ** - $p < 0,05$ між хворими з середньо важким та важким перебігом;
3. *** - $p < 0,05$ між хворими з легким та важким перебігом.

4.2 Динаміка клінічних симптомів, окремих показників інтоксикації та імунологічних та показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу під впливом лікування

Згідно отриманих нами даних в групі хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які отримували лікування ЦФ, спостерігалось достовірно більш швидке зникнення основних симптомів захворювання. Так, тривалість загальної слабкості у них була в 1,66 рази меншою, а порушення апетиту - меншим в 1,92 рази (табл. 4.4). В цій групі хворих також було зафіксовані в 1,47 рази менш тривалі скарги на нудоту та блювоту. Щодо здуття живота, то тут різниця становила 1,33 рази. Біль в животі зникав в 1,43 рази швидше у пацієнтів, які отримували ЦФ в порівнянні з хворими на

гастроінтестинальну форму сальмонельозу, яким в лікуванні застосовували НФ. Ще швидше у хворих при лікуванні ЦФ зникала гарячка, це відбувалося в 1,58 рази швидше ніж у хворих, які отримували НФ. Найменша різниця спостерігалась в тривалості діареї, що лише в 1,29 рази була коротшою в групі хворих, які в лікуванні отримували ЦФ.

Таблиця 4.4

Динаміка тривалості основних симптомів у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від схем лікування ($M \pm \sigma$)

Симптоми захворювання	Лікування НФ (n 52 чол.)	Лікування ЦФ (n 50 чол.)
	тривалість симптомів (діб)	
Загальна слабкість	$5,98 \pm 0,38^*$	$3,60 \pm 0,17$
Порушення апетиту	$5,40 \pm 0,22^*$	$2,81 \pm 0,14$
Гарячка	$3,60 \pm 0,25^*$	$2,28 \pm 0,16$
Нудота, блювота	$3,55 \pm 0,15^*$	$2,42 \pm 0,13$
Біль у животі	$5,02 \pm 0,19^*$	$3,51 \pm 0,16$
Здуття живота	$2,94 \pm 0,17^*$	$2,21 \pm 0,14$
Діарея	$6,33 \pm 0,24^*$	$4,89 \pm 0,18$

Примітка. * – $p < 0,05$ між групами хворих, які отримували лікування ЦФ порівняно з НФ.

Вивчення впливу лікування на динаміку основних біохімічних показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу встановило, що на 3-5 добу лікування спостерігалось зниження рівня МСМ в сироватці крові пацієнтів в 1,38 разів в порівнянні з моментом госпіталізації (табл. 4.5).

Навпаки, було зареєстровано зростання вмісту комплекменту в 1,17 разів.

Достовірних даних стосовно змін загального числа Т-лімфоцитів, рівнів ЦК та фагоцитуючих нейтрофілів не було отримано.

Таблиця 4.5

Окремі показники інтоксикації та імунологічні показники у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від періоду захворювання ($M \pm \sigma$)

Показники	Здорові особи (n=90)	Хворі на сальмонельоз (n=102)	Період госпіталізації	3 - 5 доба лікування	Період реконвалесценції
Молекули середньої маси (ум.од.)	0,222 $\pm$ 0,006	0,439 $\pm$ 0,014	0,439 $\pm$ 0,014*	0,317 $\pm$ 0,007**	0,24 $\pm$ 0,003 ***
Вміст комплементу (ум.од.)	1, 02 $\pm$ 0,03	1,08 $\pm$ 0,03	1,08 $\pm$ 0,03	1,27 $\pm$ 0,03**	1,14 $\pm$ 0,003***
Циркулюючі імунні комплекси (ум.од.)	1, 042 $\pm$ 0,004	1,062 $\pm$ 0,011	1,062 $\pm$ 0,011	1,106 $\pm$ 0,003	1,063 $\pm$ 0,004
Вміст фагоцитуючих нейтрофілів (абс. ч.)	67 $\pm$ 1,1	78,28 $\pm$ 0,77	78,28 $\pm$ 0,77	74,8 $\pm$ 1,06	70, 57 $\pm$ 0,91***
Загальне число Т- лімфоцитів	53,80 $\pm$ 1,38	41,25 $\pm$ 1,04	41,25 $\pm$ 1,04	44,45 $\pm$ 1,17	49,65 $\pm$ 0,6***

Примітки:

1. * $p < 0,05$ між періодом госпіталізації та 3-5 добою лікування;
2. ** $p < 0,05$ між 3-5 добою лікування та періодом реконвалесценції;
3. *** $p < 0,05$ між періодом госпіталізації та періодом реконвалесценції.

В реконвалесценцію відбувалася поступова нормалізація рівнів показників, що вивчалися. Так, рівень МСМ в цей період хвороби був в 1,32 рази нижчим порівняно з 3-5 днем лікування та в 1,82 рази – з періодом госпіталізації, та практично не відрізнявся від показника в групі здорових осіб. Вміст

фагоцитуючих нейтрофілів також в 1,11 разів знижувався в період реконвалесценції в порівнянні з періодом госпіталізації. Спостерігалось зростання загального числа Т-лімфоцитів в період реконвалесценції в 1,20 рази в порівнянні з періодом госпіталізації. Рівень ЦК в період реконвалесценції не відрізнявся від початкового на момент госпіталізації. В порівнянні з 3-5 добою лікування вміст комплементу в стадію одужання знижувався в 1,11 рази.

Перед початком лікування (на момент госпіталізації) рівні основних показників, що вивчалися, в групах пацієнтів, які отримували лікування ЦФ та НФ достовірно не відрізнялися (табл. 4.6). Однак, вже на 3-5 добу від початку лікування спостерігалися більш суттєві зміни в групі хворих, які отримували ЦФ. Так, рівень МСМ в сироватці крові хворих на сальмонельоз, які отримували терапію з застосуванням ЦФ, знижувався в 1,48 разів порівнянні з періодом госпіталізації, та був в 1,13 разів нижчим, ніж аналогічний показник при застосуванні в терапії НФ. Рівень МСМ в останній групі на даний момент спостереження знижувався в 1,29 рази. В стадію реконвалесценції зниження було вже в 1,78 рази, однак рівень МСМ в сироватці крові достовірно не відрізнявся у хворих різних груп.

Вміст комплементу в розпал хвороби (3-5 доба) зазнавав більш значного зростання також у групі пацієнтів, які отримували ЦФ. У даних хворих його вміст підвищувався в 1,27 разів в порівнянні з періодом госпіталізації. В групі хворих на сальмонельоз, які отримували НФ, цей показник підвищувався лише в 1,1 рази. Вміст комплементу на 3-5 день хвороби був в 1,13 рази вищим у пацієнтів, які приймали ЦФ. Нами не було виявлено достовірних змін вмісту ЦК в сироватці крові хворих на сальмонельоз протягом перебігу хвороби при застосуванні різних схем лікування.

Вміст фагоцитуючих нейтрофілів починав знижуватись на 3-5 добу лікування та мав показник в 1,15 разів менший в період реконвалесценції в групі хворих, які отримували в лікуванні ЦФ, в порівнянні з періодом госпіталізації. В групі пацієнтів, у яких застосовувалась терапія НФ, спостерігалась лише тенденція до зниження даного показника.

Таблиця 4.6

Окремі показники інтоксикації та імунологічні показники у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від періоду захворювання та схеми антибіотикотерапії ($M \pm \sigma$)

Показник інтоксикації	Період госпіталізації		3 - 5 доба лікування		Період реконвалесценції	
	ЦФ	НФ	ЦФ	НФ	ЦФ	НФ
Молекули середньої маси (ум.од.)	0,438± 0,018*	0,440± 0,010*	0,339± 0,008**	0,295± 0,005**	0,246± 0,004***	0,234± 0,002***
Вміст комплементу (ум.од.)	1,06± 0,03*	1,08± 0,03*	1,19± 0,02**	1,35± 0,03**	1,10± 0,02	1,18± 0,04***
Циркулюючі імунні комплекси (ум.од.)	1,061 ± 0,009*	1,063± 0,013*	1,082± 0,004	1,130± 0,001**	1,052± 0,05	1,074± 0,002
Вміст фагоцитуючих нейтрофілів (абс. ч.)	77,9± 0,94*	78,7± 0,6	72,85± 1,3**	76,76± 0,8**	67,85± 0,92***	73,28± 0,9***
Загальне число Т-лімфоцитів	40,76± 1,08*	41,74± 0,97	45,7± 1,15**	43,2± 1,18**	51,7± 0,7***	47,6± 0,4***

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ між періодом госпіталізації та 3-5 добою лікування;
2. ** – $p < 0,05$ між 3-5 добою лікування та періодом реконвалесценції;
3. *** – $p < 0,05$ між періодом госпіталізації та періодом реконвалесценції.

Навпаки, реєструвалось збільшення кількості Т-лімфоцитів під впливом терапії з застосуванням ЦФ в стадію реконвалесценції в 1,27 разів в порівнянні з періодом госпіталізації та наближався до рівня у здорових осіб. Застосування в лікуванні хворих на сальмонельоз НФ також призводило до підвищення кількості Т- лімфоцитів, однак повільніше та достовірна різниця спостерігалась лише в період реконвалесценції, коли кількість Т-лімфоцитів зростала в 1,14 рази.

4.3 Порівняльна оцінка ефективності лікування гастроінтестинальної форми сальмонельозу за швидкістю видужання

Час до видужання (ЧДВ) є чутливим показником ефективності лікування. Проте тестування ефективності за експериментальним фреймом є складною проблемою, зокрема через ефект порушення рандомізації при виборі препарату, а також внаслідок існування великої множини факторів, рівні яких не контролюються в дослідженні чи навіть невідомі. Основним моментом є вирішення проблеми статистичної ідентифікації порівняльного ефекту препаратів, та статистичне обґрунтування моделі та оцінщика на основі обраного підходу ідентифікації порівняльного ефекту препаратів.

Розподіли тривалості перебігу сальмонельозу за видом призначеного медикаменту свідчили, що пацієнти когорти з призначенням ЦФ мали менші значення ЧДВ з медіаною 5 днів і максимальним значенням 9 день. Значення щільно прилягали до медіани, що одночасно було і модою розподілу. Про можливо меншу ефективність НФ свідчила і вища варіація варіант розподілу із вираженим правим хвостом на значеннях 10-13 днів (рис. 4.1).

Проте такі відмінності можуть і не бути пов'язані з різною ефективністю препаратів.

По-перше, когорти можуть відрізнятися по важливим ковариатам, пов'язаними з перебігом хвороби, наприклад джерело інфекції, час до початку

лікування, важкість хвороби і т. ін. Так, наприклад, структури когорт за важкістю перебігу відрізняються з переважанням важких випадків у когорті НФ (рис. 4.2).

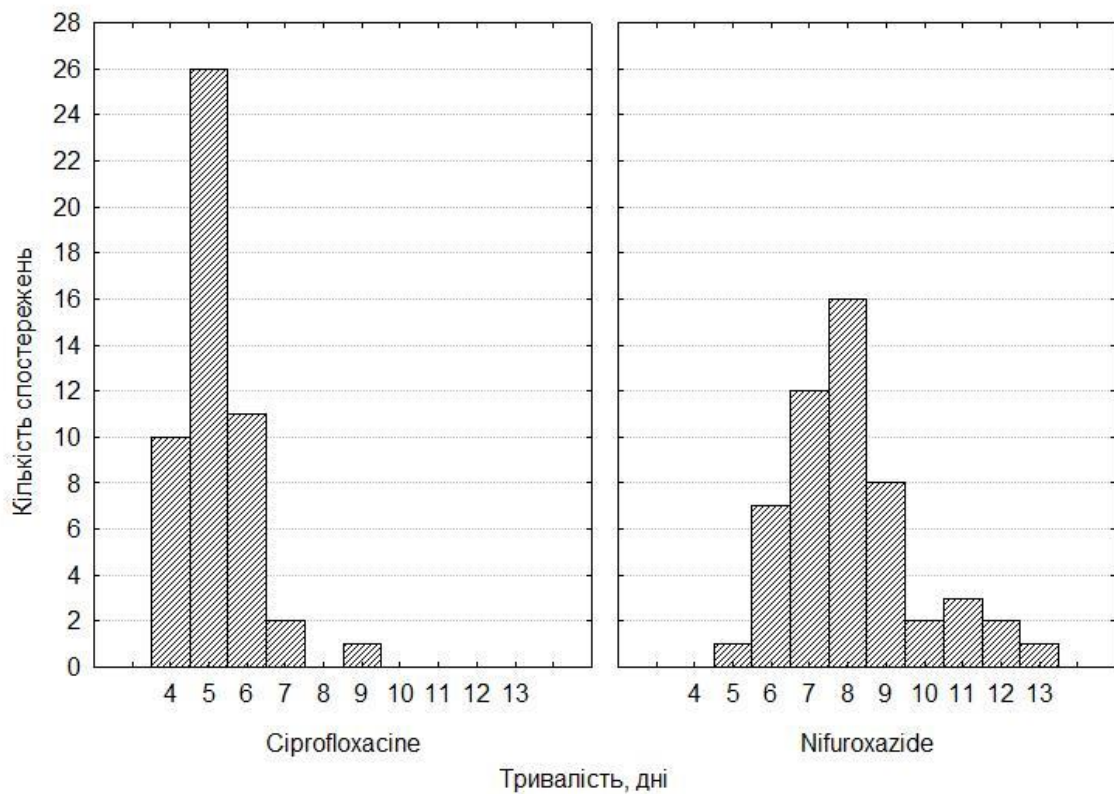


Рис. 4.1. Розподіли тривалості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу за видом призначеного медикаменту.

По-друге, когорти можуть відрізнятися по важливим ковариатам, пов'язаними з характеристиками пацієнта, наприклад, вік, стать, соціальний стан, тощо. Так, наприклад, вікові структури когорт відрізняються з дещо старшим складом пацієнтів у когорті НФ (рис. 4.3). Для візуалізації наведені статистичні характеристики розподілів, що стверджують дещо різні параметри зовнішнього шкалювання (50 проти 52), хоч і досить близькими першими (28,9 проти 30,5) і фактично тотожними другими моментами.

По-третє, проблема зміщення оцінок ефективності препаратів внаслідок порушення рандомізації схеми призначення медикаменту.

Внаслідок важкості корекції цього виду зміщення ми зупинились на застосованому нами методу корекції більш детально.

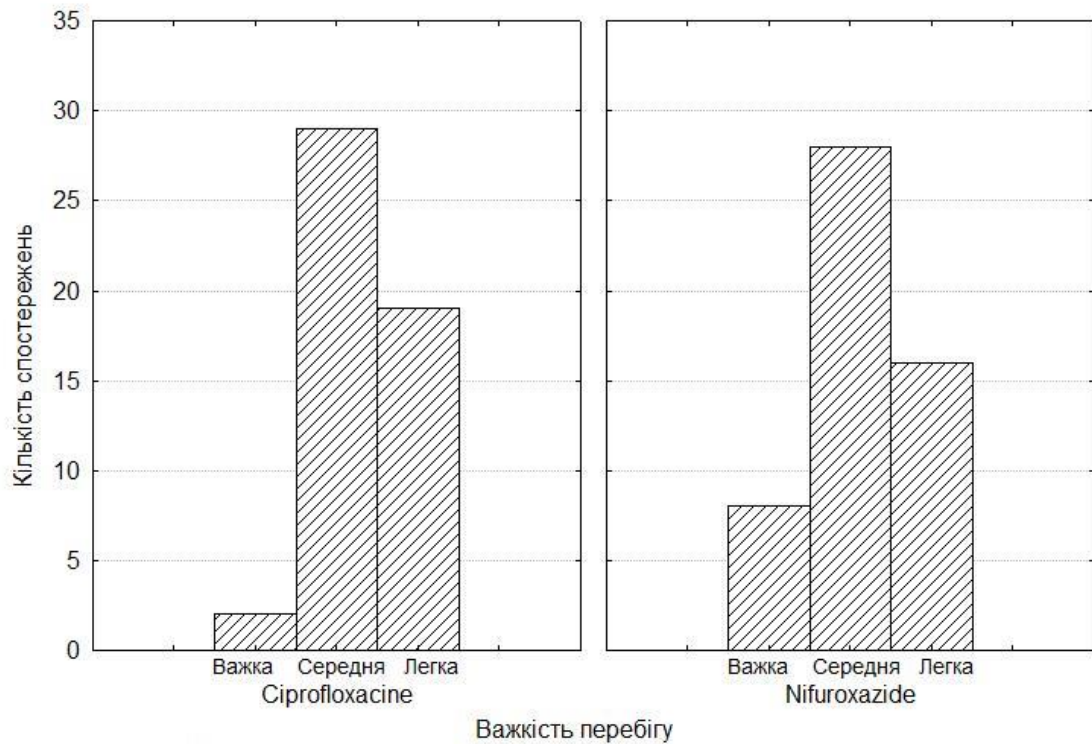


Рис. 4.2. Розподіли важкості перебігу сальмонельозу за видом призначеного медикаменту.

Статистичне обґрунтування тестування порівняльного ефекту препаратів (ПЕП) належало до сегменту технік аналізу даних під загальною назвою «Average treatment effect», АТЕ. Однією з основних проблем було зміщення оцінки ефективності внаслідок порушення рандомізації вибору препарату, зокрема ефекту *self-selection*.

Загальною канвою методик було врахування безпосередньо неспостерігаємої гетерогенності, що, зокрема, призводило до зміщеного тестування ПЕП у разі її зв'язку із параметрами тесту, наприклад, розміщенням пацієнтів до першої (призначення ЦФ) і другої (призначення НФ) когорт.

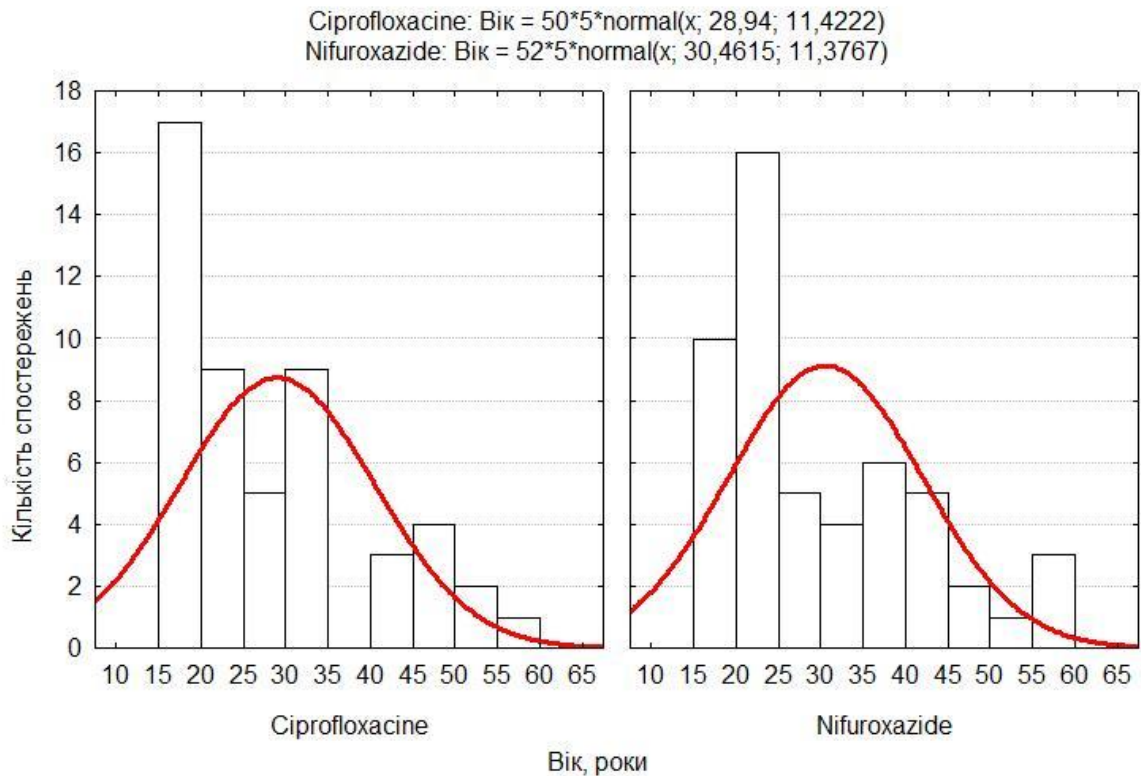


Рис. 4.3. Вікові розподіли важкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу за видом призначеного медикаменту.

Позначимо через y показник ефективності лікування, а через вектор w – складові лікування (препарат) та характеристики пацієнтів. Нас цікавив ефект w на y в структурній моделі:

$$E(y|w, c) = a + bw \quad (4.1)$$

де $c \equiv (a, b)$ і a та b можуть залежати як від спостережених ковариат, так і неспостережуваної гетерогенності (НГ).

Так як ефект є рандомізованим, тобто b не є константом внаслідок залежності від НГ, ми фактично оцінювали середній парціальний ефект (СПЕ) усереднений на популяції:

$$b \equiv E(b \text{ популяції}) \equiv E(b \text{ вибірки}).$$

Якщо у нас була множина ковариат $\mathbf{x}$, частина з яких може вимірювати складові призначеного лікування, тоді ми могли ідентифікувати СПЕ в залежності від $\mathbf{x}$: $E(b|\mathbf{x})$. Необхідними до вектора незалежних змінних $\mathbf{x}$ як валідних прокси-змінних до $\mathbf{c}$ були 2 умови надлишковості $\mathbf{x}$ і $\mathbf{c}$.

1. Вектор $\mathbf{x}$ є надлишковим за наявних векторів $\mathbf{w}$ і $\mathbf{c}$:

$$E(y|\mathbf{w}, \mathbf{c}, \mathbf{x}) = E(y|\mathbf{w}, \mathbf{c}) = a + b\mathbf{w}. \quad (4.2)$$

2. В двох перших моментах $\mathbf{w}$ і $\mathbf{c}$ надлишкове за присутності $\mathbf{x}$:

$$\begin{aligned} \text{(i)} \quad & E(\mathbf{w}|\mathbf{c}, \mathbf{x}) = E(\mathbf{w}|\mathbf{x}); \\ \text{(ii)} \quad & \text{Var}(\mathbf{w}|\mathbf{c}, \mathbf{x}) = \text{Var}(\mathbf{w}|\mathbf{x}) \end{aligned} \quad (4.3)$$

Wooldridge, J.M. (2004) показав (ф.4.1), що за таких умов СПЕ $\mathbf{w}$ на $\mathbf{u}$ незміщено оцінюється як:

$$\text{СПЕ} = E\{[\mathbf{w} - \mu(\mathbf{x})]y/\mathbf{w}(\mathbf{x})\} \quad (4.4).$$

де $\mu(\mathbf{x})$ і $\mathbf{w}(\mathbf{x})$ відповідно середнє значення і дисперсія вектора $\mathbf{w}$.

Існує кілька категорій АТЕ оцінщиків (4.4) за виконання умов (4.2) і (4.3). Перша використовує пропозицію «надлишковості» вектора $\mathbf{w}$ за присутності ковариат $\mathbf{x}$. Фактично техніки сполучні з вирішенням проблеми пропущених змінних за допомогою прокси- змінних, і за особливих умов спрощувалися до OLS регресії з багатьма контрольними когортами (Wooldridge, J.M. (2012)). Друга категорія оцінщиків ґрунтувалася на використанні інструментальних змінних (IV) , які були надлишковими в рівняннях, що описували АТЕ (у нашому випадку з залежною змінною ЧДВ), проте мали унікальний вплив в рівняннях, що описували вірогідність призначення ЦФ проти НФ. Специфікація IV оцінщика залежала від

передбаченої функціональної форми зв'язку між НГ і залежною змінною (ЧДВ).

Ми використали техніку першої категорії з причини відсутності надійних інструментальних змінних. Аналітичні техніки цієї категорії базуються на пропозиції Розенбаума і Рубіна (Rosenbaum and Rubin, 1983), яка відома як ігнорування змінної виду призначеного препарату (ignorability of treatment) за спостережених ковариат $\mathbf{x}$, а саме:

$$(a) E(y_0|\mathbf{x},w) = E(y_0|\mathbf{x}); (b) E(y_1|\mathbf{x},w) = E(y_1|\mathbf{x}) \quad (4.7)$$

де y_0 та y_1 – значення залежної змінної (у нашому випадку ЧДВ) у пацієнтів контрольної (призначення Nifuroxazide) та експериментальної (призначення Ciprofloxacin) когорт. Ідея пропозиції (4.5) наступна: якщо у нас було достатньо інформації в $\mathbf{x}$ про вірогідність призначення певного виду препарату, то середні значення залежної змінної можуть не залежати від факту призначення певного препарату за умовою включення $\mathbf{x}$ в модель. Одним з ефективних методів оцінки АТЕ за виконання (4.5) є метод *контрольних функцій*. А саме, контрольні функції від $\mathbf{x}$ ($g(\mathbf{x})$) додаються в регресію y на 1, w для контролю порушення рандомізації призначення конкретного препарату, а саме:

$$E(y|\mathbf{x},w) = \mu_0 + \alpha w + g_0(\mathbf{x}) + w[g_1(\mathbf{x}) - g_0(\mathbf{x})] \quad (4.6)$$

Коефіцієнт α при індикаторі призначення програми w оцінює АТЕ. Якщо контрольні функції лінійні в $\mathbf{x}$, то вираз (4.6) спрощується до

$$E(y|\mathbf{x},w) = \mu_0 + \alpha w + \beta_0 \mathbf{x} + w[\mathbf{x} - \bar{\mathbf{x}}]\theta \quad (4.7)$$

з нормалізацією значень ковариат $\mathbf{x}$ відносно вектора середніх $\bar{\mathbf{x}}$. Таке децентрування необхідно для збереження незміщеності оцінки α (АТЕ), яка зливається з $w\bar{\mathbf{x}}\theta$ за відсутності центрування.

Вид моделі задавався характером виміру ефекту і функцією зв'язку $y=f(w|\theta, x)$. У нашому випадку ефект представлений проміжками часу до видужання, тобто мали класичні умови моделі виживаності. Специфікація моделі залежала від виду гіпотези, організації даних, та розподілу залежної змінної.

Базовий ризик

Розподіл значень ЧДО членів когорт унімодальний з вираженим правим експесом та масивними хвостами, що свідчили про можливу гетерогенність когорт пацієнтів (рис 4.1). Очевидно, що базовий ризик нестаціонарний і не було припущень щодо його параметричного розподілу. У таких ситуаціях застосовували семипараметричні визначення базової функції ризику.

За допомогою застосування в модельній структурі МСМС алгоритма (Гіббс семплер) було встановлено, що модель має гарні інформативні властивості, тобто гарно відтворювала дані, так як значення подвоєного логарифму функції правдоподібності ($-2\log L$) склало 302, що фактично того ж порядку, що й кількість інформаційних вузлів даних, утвореними нецензурованими інтервалами, а саме 298. Наприклад, перший пацієнт дав 3 інформаційні вузли, так як його одужання прийшлося на 7-й день, що припало на третій проміжок, утвореного квантилями $q_{0.4}$ (6-й день) – $q_{0.6}$ (7-й день) з наступним цензуруванням. Таким чином, перший пацієнт вніс 3 складові у функцію правдоподібності.

Значення сигми розподілу фрейлті пацієнтів (параметр $\text{sig}=0,1022$) вказувало на досить однорідний склад експериментальної та контрольної когорт, з досить жорсткими правилами включення та виключення з дослідження, а можливо, і регуляцій умов госпіталізації пацієнтів.

Перш за все розглянемо значення базового ризику (вектор параметрів $\text{lam}[]$). Базовий ризик вказує на базову вірогідність одужання протягом часової одиниці (в нашому разі добову) без впливу модифікуючих факторів, зокрема кращого лікування. За центильними інтервалами цей ризик природно

зростав як 0,0079 (4-5 день), 0,0169 (5-6 день), 0,0320 (6-7 день), 0,0785 (7-8 день) та 0,1508 (8-13 день), тобто шанси до одужання зростали і за найменш ефективного з розглянутих видів лікування.

Усі отримані оцінки базового ризику достовірно відрізнялись від 0, так як нижні значення довірчого інтервалу перевищували 0, що доводить покращення шансів до одужання з часом незважаючи на вид призначеного препарату. Значення параметру генерації БР $1 < a_0 = 1,12 < 2$ свідчить про досить стрімкий ріст шансів на одужання на наступних часових інтервалах.

Оцінки «виживаності» (вектори $S[1,]$ і $S[2,]$ відповідно для експериментальної та контрольної когорти), а у нашому випадку цей термін інтерпретується як вірогідності залишатись хворим на певний момент часу від початку хвороби, показують значні відмінності по когортам (рис. 4.4). А саме, пацієнти експериментальної когорти мають значно кращі шанси до одужання, так як питома вага хворих $S[1,]$ драматично падає вже після 5-го дня хвороби, у той час як пацієнти контролю мають реальні шанси до одужання лише після 8-го дня хвороби (останній центильний інтервал).

Із центилів апостеріорних розподілів оцінок параметрів впливав достовірний АТЕ, так як 0 знаходиться поза межами 95% інтервалу $[1,4421; 2,7220]$ з медіанним значенням АТЕ 2,0478. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить $\exp(2,0478) = 7,75$ і свідчило про значно кращі шанси скорішого видужання за призначення ЦФ порівняно з НФ. Про діапазон згенерованих на ланцюгах МСМС значеннях ефекту свідчило графічне зображення розвитку ланцюга оцінок АТЕ ПЕП (рис. 4.5, (а)). Зображення свідчило про гарну конвергенцію та змішування згенерованих оцінок, так як мало вигляд «волохатої гусені». Здобуті оцінки було вагомим свідченням достовірно скорішого видужання при призначенні ЦФ порівняно з НФ.

Ефекти оцінені на основі 20 тис. ітерацій семплера Гіббса.

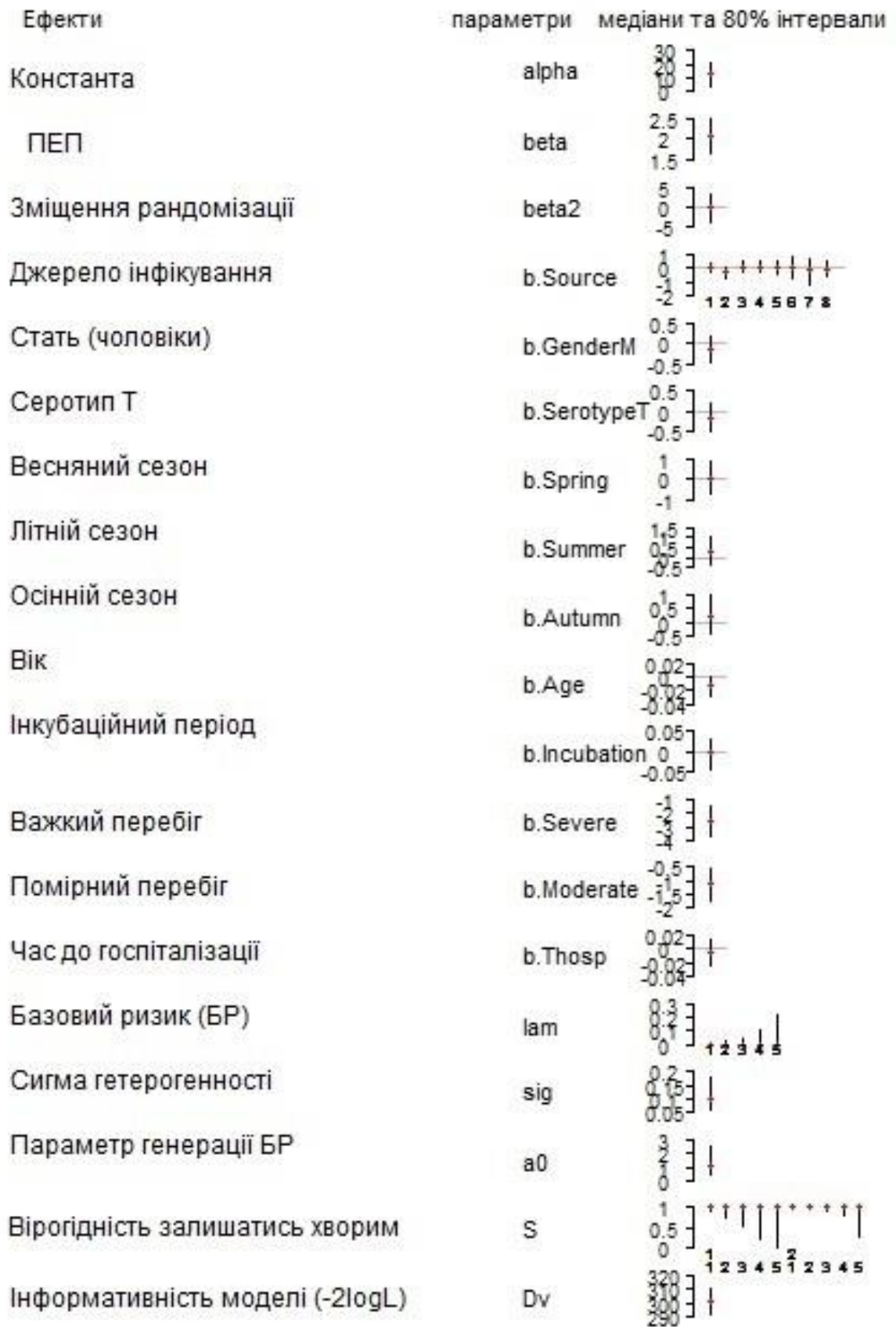
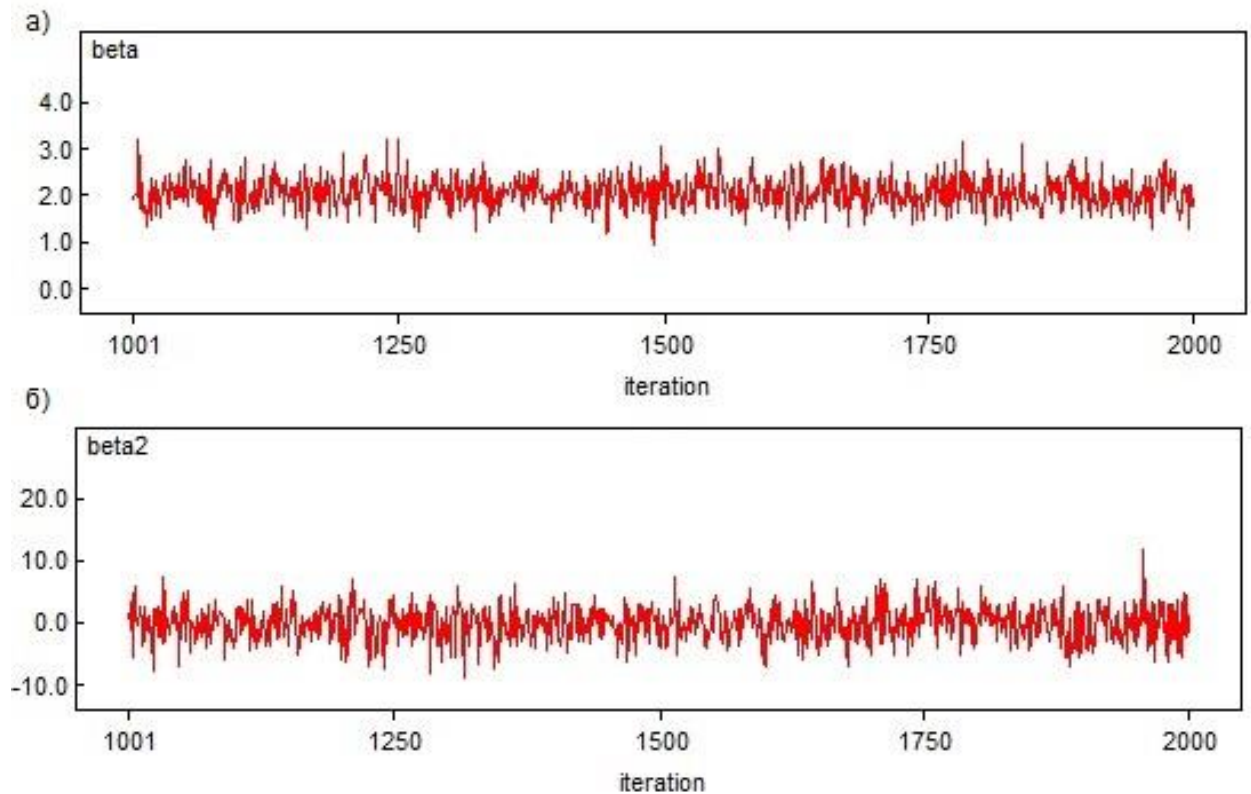


Рис. 4.4. Результати МСМС моделювання АТЕ (ПЕП).



а) параметр beta - ефект АТЕ (ПЕП), порівняльний ефект препарату Ciprofloxacin проти Nifuroxazide
 б) параметр beta2 - ефект порушення рандомізованості призначень препаратів

Рис. 4.5. МСМС ланцюги оцінок ефектів АТЕ (ПЕП) та порушення рандомізованості призначень препаратів.

Найважливішими параметрами були бета (w в (4.4)), яка оцінює АТЕ (ПЕП), а також бета2 (θ в (4.4)), який виправляв і оцінював зміщення оцінки АТЕ (ПЕП) внаслідок гетерогенності контрольної та експериментальної когорт. Значення 5% (0,05) і 95% (0,95) центилів апостеріорного розподілу оцінок зміщення (параметр бета2) впливав відсутність достовірного ефекту, так як 0 знаходиться в межах 95% інтервалу $[-5,6452; 4,9422]$ і близько до його центру. Широкий і досить симетричний відносно 0 діапазон довірчого 95% інтервалу був безсумнівним доказом надлишковості ефекту і його малої інформативності. Таким чином, оцінка ефекту АТЕ ПЕП була незміщеною і за відсутності поправочного ефекту.

Таблиця 4.7

Центилі апостеріорних розподілів оцінок параметрів семипараметричної
фрейлті моделі на ланцюгах Маркова

Параметри моделі		Центильні значення		
Ефекти	Позначення	0,05	Медіана	0,95
1	2	3	4	5
Інформативність моделі (-2logL)	Dv	287,6	301,6	318,6
Базовий ризик (БР) одужання за днями				
Параметр генерації БР	a0	0,2347	1,1201	3,9930
20%, 4 -5 день	lam[1]	0,00007	0,0079	0,1071
40%, 5-6 день	lam[2]	0,00152	0,0169	0,2216
60%, 6-7 день	lam[3]	0,01336	0,0320	0,4578
80%, 7-8 день	lam[4]	0,02046	0,0785	1,2171
100% 8-13 день	lam[5]	0,10998	0,1508	2,0457
Коваріати (фактори), які зміщують БР				
Константа	alpha	5,9524	12,480	25,576
Вік	b.Age	-0,0366	-0,0135	0,0089
Стать (чоловіки)	b.GenderM	-0,5840	-0,1381	0,3615
Інкубаційний п-д	b.Incubation	-0,0639	-0,0036	0,0479
Серотип Т	b.SerotypeT	-0,6868	-0,1621	0,3525
Важкий перебіг	b.Severe	-4,1471	-2,5192	-1,0111
Помірний перебіг	b.Moderate	-1,9912	-1,1141	-0,2018
Джерело інфікув.	b.Source[1]	-0,4159	0,1337	0,6172
	b.Source[2]	-0,9154	-0,3108	0,2858
	b.Source[3]	-0,4448	0,1436	0,6881
	b.Source[4]	-0,4599	0,1456	0,7215
	b.Source[5]	-0,6926	0,0670	0,8162

Продовж. табл. 4.7

1	2	3	4	5
	b.Source[6]	-1,2441	0,1143	1,1791
	b.Source[7]	-1,8702	-0,1290	1,0593
	b.Source[8]	-0,8879	-0,0293	0,7399
Весняний сезон	b.Spring	-1,0304	0,0529	1,2287
Літній сезон	b.Summer	-0,6111	0,3281	1,3959
Осінній сезон	b.Autumn	-0,7562	0,2505	1,3631
Час до госп-ї	b.Thosp	-0,0376	-0,0049	0,0265
ПЕП	Beta	1,4421	2,0478	2,7220
Зміщення рандомізації	beta2	-5,6452	-0,0376	4,9422
ІГ	Sig	0,0521	0,1022	0,2438

Єдиним фактором, який крім ПЕП зміщував суттєво базовий ризик, виявився важкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Градації «важкий» (параметр b.Severe) і «помірний» (середньої важкості, параметр b.Moderate) контрастувались із легким перебігом. Як видно з отриманих оцінок, важкий перебіг типово (за медіанним значенням ефекту) знижував шанси до одужання в $\exp(-2,5192)=0,08$, тобто в 12 разів порівняно з легким перебігом за усіх інших рівних умов. Тоді як перебіг середньої важкості типово (за медіанним значенням ефекту) знижував шанси до одужання в $\exp(-1,1141)=0,33$, тобто в 3 рази порівняно з легким перебігом за усіх інших рівних умов.

Основною для тестування гіпотезою було твердження про наявність відмінності в ефективності призначень препаратів ЦФ та НФ. Відповідно основним ефектом тестування був узагальнений, або в статистичних термінах АТЕ порівняльний ефект препаратів, який показує типовий приріст ефективності одного препарату порівняно з іншим (ЦФ порівняно з НФ). Для отримання незміщеної оцінки ми керувались статистичною теорією

«treatment effect identification», яка зокрема обґрунтовує техніки оцінки і відсіювання зміщення внаслідок порушення рандомізації призначень варіантів втручання. Зокрема, задіяна техніка контрольних функцій.

Не дивлячись на досить однорідний склад експериментальної та контрольної когорт за розподілом індивідуальних гетерогенностей, що вказує на досить жорсткі правила включення та виключення з дослідження, простежуються особливості розподілів важливих коваріат в експериментальній і контрольній когортах. Нерівномірне наповнення часових проміжків випадками одужання обумовлює можливість різких змін базового ризику, а отже, неможливість параметричного його представлення. Саме тому ми застосували семипараметричні визначення базової функції ризику. Ми використали кускові експоненційні праярси для специфікації базового ризику для кожного часового інтервалу. Кількість часових інтервалів визначалась за 20% квантилями. Квантильний підхід важливий для забезпечення збалансованого наповнення подіями (факт видужання) проміжків часу. Ми використали модифікацію фрагментів ФП за Клейтоном (Aitkin and Clayton, 1980; Orbe and Nunez-Anton, 2006) з використанням генерацій фактів видужання з розподілу Пуассона.

Ефекти оцінені на основі 20 тис. ітерацій семплера Гіббса. Модель має гарні інформативні властивості, тобто гарно відтворює дані, так як значення подвоєного логарифму функції правдоподібності ($-2\log L$) склало 302, що фактично того ж порядку, що й кількість інформаційних вузлів даних, утвореними нецензурованими інтервалами, а саме 298.

Оцінки базового ризику засвідчили, що шанси одужання зростали і за найменш ефективного з розглянутих видів лікування. Усі отримані оцінки базового ризику достовірно відрізнялись від 0, так як нижні значення довірчого інтервалу перевищували 0, що доводить покращання шансів до одужання з часом незважаючи на вид призначеного препарату. Значення параметру генерації БР $a_0=1,12$ свідчить про досить стрімкий ріст шансів на

одужання на наступних часових інтервалах.

Оцінки вірогідності залишатись хворим на певний момент часу від початку хвороби, показали, що пацієнти експериментальної когорти мають значно кращі шанси до одужання. Питома вага хворих драматично падає вже після 5-го дня хвороби, у той час як пацієнти контролю мають реальні шанси до одужання лише після 8-го дня хвороби.

Отриманий достовірний АТЕ ПЕП з довірчими межами 95% постеріорного інтервалу [1,4421; 2,7220] з медіанним значенням АТЕ 2,05. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить 7,75 разів і свідчить про значно кращі шанси скорішого видужання за призначення ЦФ порівняно з НФ.

Єдиним фактором, який крім ПЕП зміщував суттєво базовий ризик, виявився важкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Градації «важкий» (параметр b.Severe) і «помірний» (середньої важкості, параметр b.Moderate) контрастувались із легким перебігом. Як видно з отриманих оцінок, важкий перебіг типово (за медіанним значенням ефекту) знижував шанси до одужання в 12 разів порівняно з легким перебігом за усіх інших рівних умов. Тоді як перебіг середньої важкості типово знижував шанси до одужання в 3 рази порівняно з легким перебігом за усіх інших рівних умов.

Таким чином, в групі хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які отримували лікування ЦФ, спостерігалось достовірно більш швидке зникнення основних симптомів захворювання. Так, тривалість загальної слабкості у них була в 1,66 рази меншою, а порушення апетиту - в 1,92 рази, скарг на головний біль фіксувалося в 1,47 рази менше, біль в животі зникав в 1,43 рази швидше. Ще швидше у хворих при лікуванні ЦФ зникала гарячка (в 1,58 рази). Найменша різниця спостерігалась в тривалості діареї, що лише в 1,29 рази була коротшою в групі хворих, які в лікуванні отримували ЦФ.

Найбільш відчутні зміни у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу відбувалися стосовно вмісту МСМ в сироватці крові, що був в 1,98 разів вищий, ніж у здорових осіб. Вміст фагоцитуючих нейтрофілів в групі хворих в 1,17 рази перевищував аналогічний показник серед здорових. В той же час у хворих на сальмонельоз було виявлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів в 1,30 рази в порівнянні зі здоровими особами.

У хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості захворювання встановив достовірне підвищення вмісту МСМ в сироватці крові (при середньо важкому перебігу в 1,44 рази, а при важкому у 1,92 рази).

Вміст фагоцитуючих нейтрофілів в сироватці крові у хворих з важким перебігом був в 1,17 рази вищим, в порівнянні з легким.

Навпаки, встановлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів, при середньо важкому перебігу в 1,19 разів, а при тяжкій формі в 1,38 рази.

Під впливом лікування на 3-5 добу лікування спостерігалось зниження рівня МСМ в сироватці крові пацієнтів в 1,38 разів, зростання вмісту комплекменту в 1,17 разів. В реконвалесценцію рівень МСМ в цей період хвороби був в 1,32 рази нижчим порівняно з 3-5 днем лікування та в 1,82 рази- з періодом госпіталізації. Вміст фагоцитуючих нейтрофілів також в 1,11 разів знижувався в період реконвалесценції в порівнянні з періодом госпіталізації. Спостерігалось зростання загального числа Т-лімфоцитів в період реконвалесценції в 1,2 рази в порівнянні з періодом госпіталізації. В порівнянні з 3-5 добою лікування вміст комплекменту в стадію одужання знижувався в 1,11 рази.

Перед початком лікування (на момент госпіталізації) рівні основних показників, що вивчалися, в групах пацієнтів, які отримували лікування ЦФ та НФ достовірно не відрізнялися. Однак, вже на 3-5 добу від початку лікування спостерігалися більш суттєві зміни в групі хворих, які отримували ЦФ. Так, рівень МСМ в сироватці крові хворих на гастроінтестинальну

форму сальмонельозу, які отримували терапію з застосуванням ЦФ, знижувався в 1,48 разів порівнянні з періодом госпіталізації, та був в 1,13 разів нижчим, ніж аналогічний показник при застосуванні в терапії НФ. В стадію реконвалесценції зниження було вже в 1,78 рази.

Вміст комплементу в розпал хвороби (3-5 доба) у хворих, які отримували ЦФ, підвищувався в 1,27 разів в порівнянні з періодом госпіталізації та був 1,13 рази вищим ніж у пацієнтів, які приймали НФ. Вміст фагоцитуючих нейтрофілів починав знижуватись на 3-5 добу лікування та мав показник в 1,15 разів менший в період реконвалесценції в групі хворих, які отримували в лікуванні ЦФ, в порівнянні з періодом госпіталізації. Навпаки, реєструвалось збільшення кількості Т-лімфоцитів під впливом терапії з застосуванням ЦФ в стадію реконвалесценції в 1,27 разів в порівнянні з періодом госпіталізації. Застосування в лікуванні НФ також призводило до підвищення кількості Т-лімфоцитів, однак повільніше та достовірна різниця спостерігалась лише в період реконвалесценції, коли кількість Т-лімфоцитів зростала в 1,14 рази.

Отриманий достовірний АТЕ ПЕП з довірчими межами 95% постеріорного інтервалу [1,4421; 2,7220] з медіанним значенням АТЕ 2,05. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить 7,75 разів і свідчить про значно кращі шанси скорішого видужання за призначення ЦФ порівняно з НФ.

Результати досліджень, представлені в розділі, узагальнено і викладено в наступних друкованих працях:

1. Палій Д.В. Дослідження антисептиків в умовах формування резистентності у мікроорганізмів / Д.В. Палій, О.К. Стукан // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2014, № 22. – С. 54-57.
2. D. Palii Antimicrobial properties of antiseptics, containing menthol, quinoline / O. Nazarchuk, I. Kovalenko, N. Zaderey, D. Palii// Journal of

Health Sciences.2014, Vol. 4, № 16. – P. 53-62.

3. Палій Д.В. Оцінка антибактеріальних та протигрибкових властивостей сучасних антисептиків / Д.В. Палій, О.А. Назарчук, В. В. Бобир, О. О. Гончар // Мікробіологія і біотехнологія, 2015, № 4 (32). – С. 67-74.
4. Палій Д.В. Дослідження показників імунітету у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу / Д.В. Палій // Матеріали IV міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених 17-18 травня 2013. – Вінниця. – 2013. – С.82
5. Палій Д.В. Деякі клініко-лабораторні аспекти діагностики сальмонельозу / Д.В. Палій // Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Довкілля і здоров'я» 23 квітня 2015 р. –Тернопіль, 2015.
– С.131-132.
6. Д. В. Палій. Клінічні, імунологічні особливості сучасного перебігу сальмонельозу / Д. В Палій // Українські медичні вісті. Науково-практичний часопис. Матеріали XV конгресу СФУЛТ. 16-18.10.2014 р. Чернівці – Київ – Чікаго. – 2014.– С. 242-243.

РОЗДІЛ 5

ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ TLR2, TLR4 ТА РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ TLR2, TLR4 В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВАЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ САЛЬМОНЕЛЬОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Клінічний перебіг сальмонельозної інфекції в значній мірі визначають вираженість патологічних змін, що викликають сальмонели в місці своєї локалізації, ефективність колонізаційної резистентності тонкого кишечника пацієнтів. Провідною ланкою в розпізнаванні організмом хворого сальмонел залишаються рецептори вродженої імунної системи – Toll-like receptors (TLR), що складають основу мембранних комплексів і експресуються на всіх клітинних елементах, приймають участь у формуванні резистентності, в тому числі колонізаційній резистентності слизових. Наступним кроком нашої роботи було визначення поліморфізму TLR-2 та TLR-4 у 102 хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості перебігу захворювання та рівня експресії даних генів у лейкоцитах пацієнтів.

5.1 Поліморфізм генів TLR2, TLR4 у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу

Згідно отриманих нами даних найчастіше як серед здорових осіб, так і серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, зустрічалися носії – гомозиготи за Arg/Arg генотипом TLR2 (табл. 5.1, рис. 5.1).

При цьому серед групи хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу їх було в 1,21 рази менше, ніж серед здорових. Носійство гетерозиготного генотипа Arg/Gln достовірно не відрізнялось, було практично однаковим в обох групах та виявлялось в 3,20 рази рідше порівняно з Arg/Arg генотипом серед здорових. та в 2,26 рази серед пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу.

Таблиця 5.1

Розподіл частот генотипів та алелей поліморфізму Arg 753Gln TLR2 серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу та здорових осіб

Генотип та алелі	Здорові особи (n=90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу (n=102)
Arg/Arg	67 (74,5)	63 (61,8) *
Arg/Gln	21 (23,3)	28 (27,4)
Gln/Gln	2 (2,2)	11 (10,8) *
Arg	155 (86,1)	154 (75,5) *
Gln	25 (13,9)	50 (24,5) *

Примітка. * – $p < 0,05$ при порівнянні здорових осіб з хворими на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

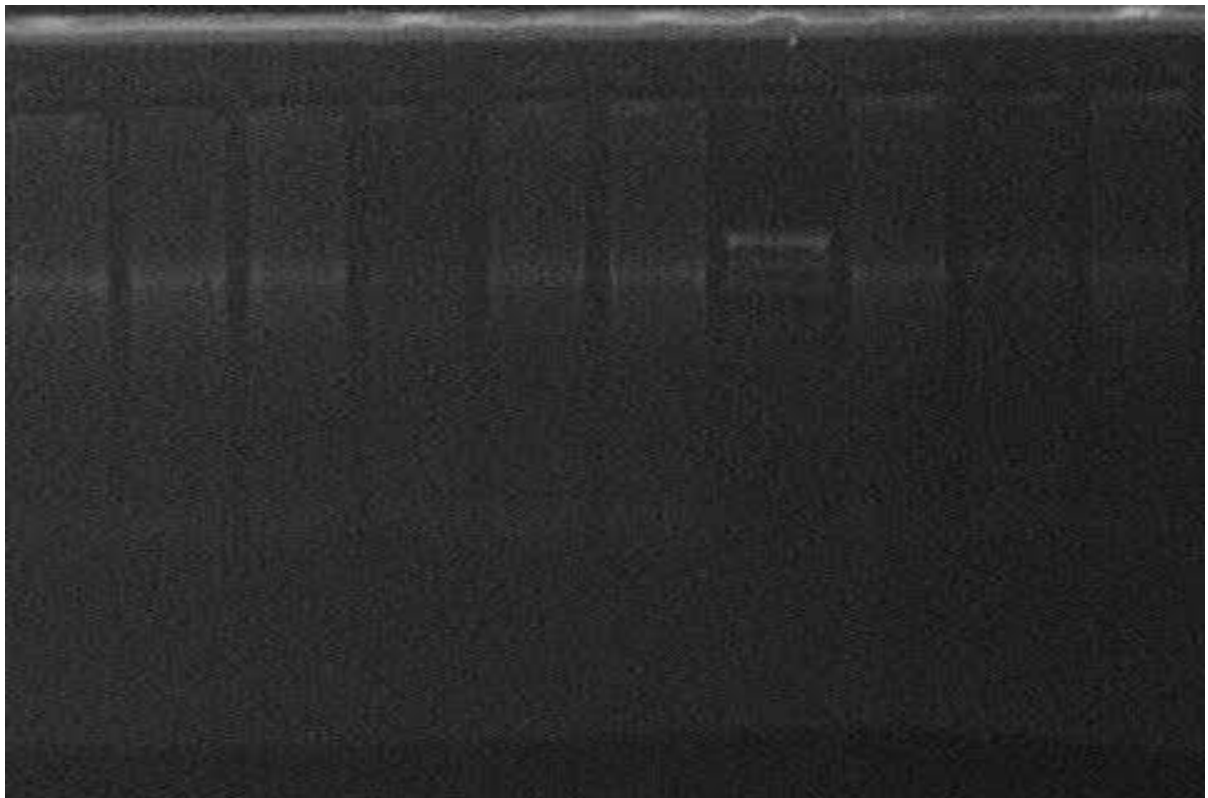


Рис. 5.1. Визначення поліморфізму генів TLR2 та TLR4 у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Примітка. Лунки 1-3, 5, 6 - генотип AA 7- маркер молекулярної ваги ДНК 8 - генотип AG.

Менше всього серед осіб обох груп було виявлено носіїв Gln/Gln. Однак, серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу їх було в 4,91 рази більше, ніж серед здорових. Алель Arg переважала в обох групах, однак в 1,14 рази частіше зустрічалась серед здорових людей. Навпаки, носії алелі Gln в 1,76 рази частіше були виявлені серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Таблиця 5.2

Розподіл частот генотипів та алелей поліморфізму Asp299Gly TLR4 серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу та здорових осіб

Генотип та алелі	Здорові особи (n=90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу (n=102)
Asp/Asp	74 (82,2)	72 (70,6) *
Asp/Gly	13 (14,4)	17 (16,7)
Gly/Gly	3 (3,3)	13 (12,7) *
Asp	161 (89,4)	161 (78,9)*
Gly	19 (10,6)	43 (21,1)*

Примітка. * – $p < 0,05$ при порівнянні здорових осіб з хворими на гастроінтестинальну форму сальмонельозу

Стосовно поліморфізму Asp299Gly TLR4, нами було виявлено переважання Asp/Asp генотипу в обох групах (табл.5. 2). Однак, серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу носіїв даного генотипу було в 1,16 рази менше, ніж серед здорових осіб. Нами не було виявлено достовірної різниці в кількості носіїв гетерозиготного генотипу Asp/Gly між групами здорових та хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Носіїв гомозиготного генотипу Gly/Gly була найменша кількість в обох групах, однак їх було в 3,85 разів більше серед хворих на гастроінтестинальну форму

сальмонельозу. Алель Asp була найпоширенішою в обох групах, однак, її носіїв було в 1,13 рази більше серед здорових людей. Носіїв алелі Gly гена TLR4 в 1,99 рази більше нами було виявлено серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Аналіз поліморфізму гена TLR2 при різних ступенях важкості хвороби встановив, що носіїв Arg/Arg генотипу гена TLR2 серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу було достовірно менше в порівнянні зі здоровими людьми лише при середній та середній + важкій ступенях важкості захворювання (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Розподіл частот генотипів та алелей поліморфізму Arg 753Gln TLR2 серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від ступеню важкості

Геноти п та алелі	Здорові особи (n=90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу			
		легкий (n= 35)	середній (n= 57)	важкий (n= 10)	середній + важкий (n=67)
Asp/Asp	67 (74,5)	23 (65,7)	35 (61,4) *	5 (50,0)	40 (59,7) *
Asp/Gly	21 (23,3)	9 (25,7)	16 (28,0)	3 (30,0)	19 (28,4)
Gly/Gly	2 (2,2)	3 (8,6)	6 (10,5) *	2 (20,0)	8 (11,9)*
Asp	155 (86,1)	55 (78,6)	86 (75,4) *	13 (65,0) *	99 (73,9) *
Gly	25 (13,9)	15 (21,4)	28 (24,6) *	7 (35,0) *	35 (26,1) *

Примітка. * – $p < 0,05$ – по відношенню до здорових осіб.

Так, серед групи хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу середнього ступеню тяжкості їх було в 1,21 рази менше. Ще більша різниця спостерігалася серед хворих з середнім + важким ступенем, де носіїв даного

генотипу було в 1,25 рази менше, ніж серед здорових. Навпаки, носії Gln/Gln генотипу в 4,77 рази частіше зустрічалися у хворих з середньою тяжкістю перебігу захворювання, в порівнянні зі здоровими особами. Дещо більшою була різниця серед хворих з середнім + важким перебігом, де носіїв Gln/Gln генотипу було в 5,41 рази більше.

Таблиця 5.4

Частота генотипів та алелей поліморфізму Asp299Gly TLR4 серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від ступеню важкості

Геноти п та алелі	Здорові особи (n=90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу			
		легкий (n= 35)	середній (n= 57)	важкий (n= 10)	середній + важкий (n=67)
Asp/Asp	74 (82,2)	29 (82,9)	40 (70,2)	3 (30,0)	43 (64,2) * **
Asp/Gly	13 (14,4)	4 (11,4)	11 (19,3)	2 (20,0)	13 (19,4)
Gly/Gly	3 (3,3)	2 (5,7)	6 (10,5)	5 (20,0)	11 (11,9) * **
Asp	161 (89,4)	62 (88,6)	91 (79,8) *	8 (40,0) *	99 (73,9)* **
Gly	19 (10,6)	8 (11,4)	23 (20,1) *	12 (60,0) *	35 (26,1)* **

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – по відношенню до здорових осіб;
2. ** – $p < 0,05$ – по відношенню до хворих з легким ступенем тяжкості..

Носіїв алелі Arg було в 1,14 , 1,32 та 1,17 рази менше серед хворих з середньоважким, важким та середнім + важким перебігом сальмонельозу в порівнянні зі здоровими, відповідно. Навпаки, носії алеля Gln частіше виявлялися серед групи хворих з перебігом середньої тяжкості та тяжким

перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Таких було, відповідно, в 1,77 та 2,52 рази більше ніж серед здорових осіб. У хворих з середнім + важким перебігом носіїв алеля Gln було виявлено в 1,88 рази більше в порівнянні зі здоровими.

Спостерігалось зменшення кількості носіїв Asp/Asp генотипу гена TLR4 в залежності від тяжкості захворювання. Так, в групі хворих з середнім + тяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу носії даного генотипу зустрічалися в 1,28 рази рідше в порівнянні з групою здорових та в 1,29 рази з пацієнтами з легким перебігом. (табл. 5.4). Достовірної різниці в частоті носійства гетерозиготного генотипу Asp/Gly в залежності від тяжкості хвороби не було виявлено.

Відмінності в кількості носіїв гомозиготного генотипу Gly/Gly гена TLR4 також спостерігалися в групі хворих з середнім + тяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу, де їх було в 3,61 рази більше в порівнянні зі здоровими та в 2,09 рази в порівнянні з групою хворих з легким перебігом.

Було встановлено зменшення носіїв алелі Asp серед хворих гастроінтестинальною формою сальмонельозу відповідно тяжкості захворювання. Так, при середній тяжкості даних носіїв було в 1,12 рази менше в порівнянні зі здоровими особами, а при тяжкому перебігу в 2,23 рази. В групі хворих з середній + важкий перебігом ця різниця була в 1,21 рази. Навпаки, спостерігалось зростання кількості носіїв алелі Gly. При середньотяжкому перебігу хвороби їх було в 1,90 разів більше в порівнянні з групою здорових, при тяжкому перебігу різниця збільшувалась вже в 5,66 разів.

Серед хворих з середнім + важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу носіїв алелі Gly було в 2,46 раз більше ніж серед здорових.

5.2 Експресія генів у лімфоцитах крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу

Проведений аналіз встановив, що у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу спостерігалися достовірно вищі рівні експресії генів TLR-2 та TLR-4 у лімфоцитах крові порівняно зі здоровими (табл. 5.5, рис. 5.2).

Таблиця 5.5

Рівні експресії генів TLR-2 та TLR-4 у лімфоцитах крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу ($M \pm \sigma$)

	Здорові особи (n=90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельоз (n=102)
TLR-2	0,061 $\pm$ 0,028	0,254 $\pm$ 0,063*
TLR-4	0,04 $\pm$ 0,026	0,229 $\pm$ 0,045*

Примітка. * – $p < 0,05$ – між здоровими особами та хворими на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

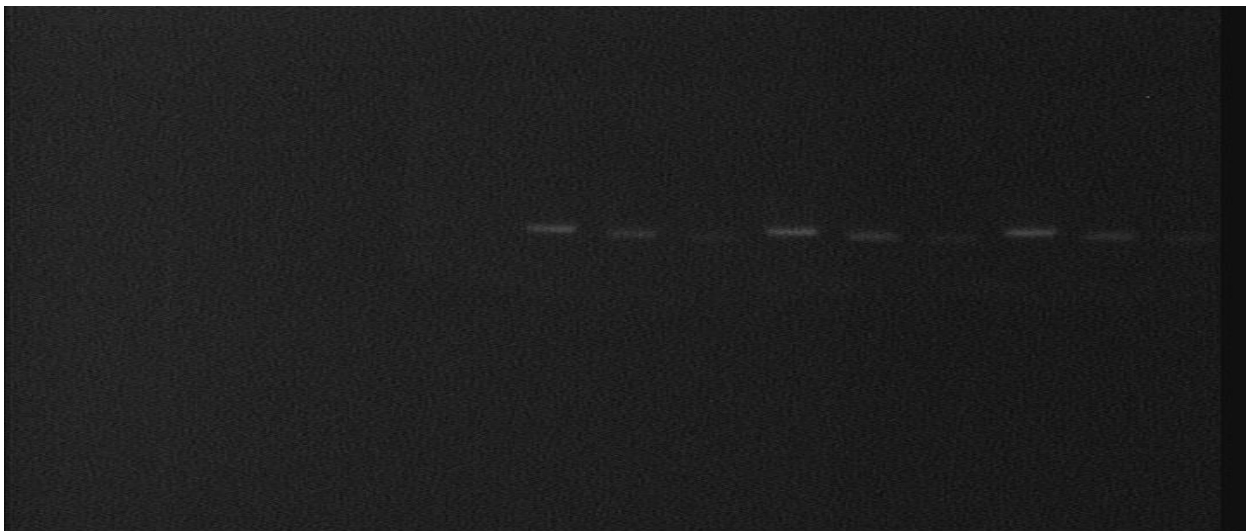


Рис. 5.2. Визначення експресії генів TLR2 та TLR4 по відношенню до β - актину у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу

Примітка. 1-3 – хворий А; 4-6 – хворий Б; 7-9 – хворий В. 1, 4, 7 –

експресія гену β – актину; 2, 5, 8 - експресія гену TLR4; 3, 6, 9 - експресія гену TLR2.

Так, рівень експресії гена TLR-2 у лімфоцитах крові пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу був в 4,16 рази вищим ніж у здорових осіб. Ще більшою була різниця в рівні експресії гена TLR-4, що був вищий вже у 5,72 рази.

Встановлена залежність рівня експресії генів, що вивчалися, від перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу (табл. 5.6). Так, вже у хворих з легким перебігом хвороби рівень експресії гена TLR-2 був в 1,34 вищим в порівнянні зі здоровими. При середній важкості цей показник був вже у 4,21 рази, а при важкій – у 6,93 рази вищим. Рівень експресії зростав відповідно важкості захворювання та у хворих з важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу був в 5,16 та 1,64 рази вищим в порівнянні з рівнем у хворих з легким та середньо важким перебігом, відповідно.

Подібна картина спостерігалася і стосовно рівня експресії гена TLR-4, що зростав у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельоз в залежності від ступеня важкості захворювання та був в 2,05 рази при легкому, в 4,92 рази при середньому та в 10,17 рази при важкому вищим в порівнянні зі здоровими. Найбільший рівень експресії гена TLR-4 фіксувався у хворих з важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу, що був в 4,93 вищим, ніж при легкому перебігу та в 2,06 рази ніж при середній важкості.

Таким чином, найчастіше як серед здорових осіб, так і серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, зустрічалися носії – гомозиготи за Arg/Arg генотипом TLR2, 74,5% та 61,8%, відповідно.

Таблиця 5.6

Рівні експресії генів TLR-2 та TLR-4 у лімфоцитах крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості перебігу захворювання ($M \pm \sigma$)

	Здорові особи (n=90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу		
		легка (n=35)	середня (n=57)	важка (n=10)
TLR-2	0,061±0,028	0,082±0,039*	0,257±0,073**	0,423±0,076***
TLR-4	0,04±0,026	0,082±0,028*	0,197±0,087**	0,407±0,019***

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – між здоровими особами та хворими з легким ступенем важкості;
2. ** – $p < 0,05$ – між здоровими особами та хворими з середнім ступенем важкості;
3. *** – $p < 0,05$ – між здоровими особами та хворими з важким ступенем важкості.

Алель Arg в 1,14 рази частіше зустрічалась серед здорових людей, а носії алелі Gln в 1,76 разів частіше були виявлені серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Носії Asp/Asp генотипу TLR4 переважали в обох групах, їх було 82,2% серед здорових та 70,6% серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу. Алель Asp, в 1,13рази частіше спостерігалась серед здорових людей, а носіїв алелі Gly гена TLR4 в 1,99 рази більше нами було виявлено серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Встановлено, що носіїв Asp/Asp генотипу гена TLR2 серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу було достовірно менше в 1,21 рази при середній + важкий різниця була вже в 1,25 рази в порівнянні зі здоровими. Навпаки, носіїв Gln/Gln генотипу було в 4,77 та 5,41 рази більше

у групах пацієнтів з середньоважким та середній + важкий перебігом захворювання, відповідно, в порівнянні зі здоровими особами. Носіїв алелі Asp було в 1,14, 1,32 та 1,17 рази менше серед хворих з середньоважким, важким та середній + важкий перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу в порівнянні зі здоровими, відповідно. Навпаки, носії алеля Gln в 1,77, 2,52 та 1,88 рази частіше виявлялися лише серед групи хворих у яких перебіг хвороби був середньої тяжкості, тяжкий та середній + тяжкий, відповідно.

В групі хворих з середній + тяжкий перебіг захворювання і носіїв Asp/Asp генотипу гена TLR4 було в 1,28 рази менше в порівнянні з групою здорових та в 1,29 рази з пацієнтами з легким перебігом. Носіїв гомозиготного генотипу Gly/Gly гена TLR4 в групі хворих з середнім + важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу було в 3,61 рази більше в порівнянні зі здоровими та в 2,09 рази в порівнянні з групою хворих з легким перебігом. Спостерігалось зростання кількості носіїв алелі Gly при середньотяжкому перебігу хвороби в 1,90 разів більше в порівнянні з групою здорових, при тяжкому перебігу різниця збільшувалась вже в 5,66 разів. Серед хворих з середнім + важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу носіїв алелі Gly було в 2,46 раз більше ніж серед здорових.

Рівень експресії гена TLR-2 у лімфоцитах крові пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозом був в 4,16 рази вищим ніж у здорових осіб. Ще більшою була різниця в рівні експресії гена TLR-4, що був вищий вже у 5,72 рази.

Вже у хворих з легким перебігом хвороби рівень експресії гена TLR-2 був в 1,34 вищим в порівнянні зі здоровими. При середній важкості цей показник був вже у 4,21 рази, а при важкій – у 6,93 рази вищим. Рівень експресії у хворих з важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу був в 5,16 та 1,64 рази вищим в порівнянні з рівнем у хворих з

легким та середньо важким перебігом, відповідно.

Рівень експресії гена TLR-4 був вищим в 2,05 рази при легкому, в 4,92 рази при середньому та в 10,17 рази при важкому ступені хвороби в порівнянні зі здоровими. Найбільший рівень експресії гена TLR-4 фіксувався у хворих з важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу, що був в 4,93 вищим, ніж при легкому перебігу та в 2,06 рази ніж при середній важкості.

Результати досліджень, представлені в розділі, узагальнено і викладено в наступних друкованих працях:

1. Палій Д.В. Клінічна актуальність Toll-подібних рецепторів TLR2, TLR4 та їх роль в антиінфекційному імунітеті / Д.В. Палій // Аналіз Мечниківського інституту. Харків, 2015. – № 3. – С. 84 – 85.
2. Палій Д.В. Клінічна актуальність Toll-подібних рецепторів TLR2, TLR4 та їх роль в антиінфекційному імунітеті / Л.В. Мороз, Д.В. Палій // Інфекційні хвороби: Поступи і проблеми в діагностиці, терапії та профілактиці. Матеріали IX з'їзду інфекціоністів України 7-9 жовтня 2015 р. Тернопіль. «Укрмедкнига» 2015. – С. 105-107.

РОЗДІЛ 6

ФАКТОРИ РОЗВИТКУ ТА ВАЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ ГАСТРОІНТЕСТИНАЛЬНОЇ ФОРМИ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ

В наступній частині роботи нами був проведений пошук факторів, що найбільше впливають на розвиток захворювання та важкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Так як, важкість перебігу сальмонельозу може обумовлюватися широким спектром факторів, ми згрупували останні в групи характеристик збудника, пацієнта, та зовнішні. Характеристики збудника представлені тривалістю інкубаційного періоду та джерелом зараження. Зовнішні характеристики були представлені часом від виникнення симптомів до госпіталізації та сезонністю захворюваності. Найбільшою була група індивідуальних характеристик пацієнта, до якої ми також віднесли фактори перебігу захворювання. Група включала вік та стать пацієнта, тривалість хвороби, експресію (TLR2E, TLR4E) та поліморфізм (TLR2P, TLR4P) рецепторів TLR-2, TLR-4, MCM (MSM), вміст комплементу (Cmpl), циркулюючих імунних комплексів (CIC), фагоцитуючих нейтрофілів (Tlymph), загальне число Т-лімфоцитів (Tlymph) (табл. 6.1).

Перетворення оригінальних даних

Для адаптації шкал виміру змінних інтоксикації ми перевели оригінальні виміри до їх відхилень від норми. Дані мінімальні та максимальні оригінальні значення змінних з границями норми представлені в таблиці 6.2.

Таким чином, усі спостережені значення змінних MSM, CIC, та FN ми центрували на верхню границю норми, лише FN на нижню, так як всі спостережені значення FN були вищі саме з нижню границю. Центрування перетворює оригінальні змінні у перевищення границь норм, так як саме відхід від норми обумовлює вірогідність важчого перебігу. Tlymph процентровано на нижню границю із зворотнім знаком.

Таблиця 6.1

Parameter Estimates

Parameter Estimates				
Фактор	B	m	t	Pr > t
Константа	12,19	1,98	6,17	<,0001
Стать чоловік/жінка	-0,14	10,01	-0,01	0,989
Серотип S.e/ S.t	4,83	8,03	0,60	0,548
Сезон Весна/Зима	-4,13	10,01	-0,41	0,680
Сезон Літо/Зима	12,98	8,04	1,61	0,107
Вік	-1,22	171,23	-0,01	0,994
Інкубаційний період	-46,93	3,84	-12,21	<,0001
Тривалість хвороби	112,80	0,30	375,35	<,0001
TLR-2 експресія	67,54	0,88	77,16	<,0001
TLR-4 експресія	67,52	0,23	298,76	<,0001
Джерело 1/8	-4,10	8,04	-0,51	0,610
Час до госпіталізації	2,51	4,58	0,55	0,583
TLR-2 поліморфізм	40,68	14,08	2,89	0,004
TLR-4 поліморфізм	39,37	14,09	2,79	0,005
MCM	64,48	3,31	19,50	<,0001
Вміст комплементу	12,98	10,30	1,26	0,208
Вміст циркулюючих імунних комплексів	60,30	2,65	22,75	<,0001
Вміст фагоцитуючих нейтрофілів	65,68	1,50	43,67	<,0001
Загальне число Т-лімфоцитів	-5,89	17,33	-0,34	0,734
Lambda1	0,30	0,28	1,07	0,301
Lambda2	-6,57	5,16	-1,27	0,202
_Limit2	234,75	8,03	29,24	<,0001

Таблиця 6.2

Мінімальні та максимальні оригінальні значення змінних з границями норми

Змінна	Оригінальні значення		Границі норми		Одиниці виміри
	Мінімум	Максимум	Мінімум	Максимум	
MSM	0.2710000	0.6020000	0,220	0,223	ум.од.
Compl	0.9000000	1.2000000	1,01	1,05	ум.од.
CIC	1.0380000	1.0960000	0,04	1,04	ум.од.
FN	69.6800000	88.2300000	66,8	74,7	абс.ч.
Tlymph	33.8700000	50.2000000	51	54	%

Наступне перетворення стосувалось корельованості ознак між собою, наявність якої унеможлиблює виокремлення специфічних коварицій з загального співнаправленого впливу групи корельованих змінних. Що така потенційна загроза існує видно з матриці парних коефіцієнтів кореляції, відтвореної в таблиці 6.3.

Якщо не виконати відповідних перетворень, TLR2E «забирає» на себе вплив TLR4E, роблячи останній недостовірним внаслідок сильної кореляції змінних $r=0.94450$ з $p<0.0001$. Аналогічно TLR2E та CIC внаслідок тісного зв'язку «обкрадають» MSM, залишаючи ефект MSM недостовірним. Такі висновки з попереднього аналізу процедурою QLIM SAS з нетрансформованими даними, результати якого внаслідок важкості їх логічної інтерпретації ми не наводимо.

Натомість ми використали стандартизацію змінних, що показували відхилення від границь норми, отримані на попередньому кроці. Тобто змінні центрувались на середні значення і нормувались на середньоквадратичні відхилення (див. степ DATA наведеного нижче програмного скрипту). Середні та середньоквадратичні відхилення отримані за процедурою MEANS аналітичної системи SAS (опущено в скрипті). Така трансформація в значній мірі позбавляла корельованості змінних і робить трактування результатів

змістовнішим.

Таблиця 6.3
Матриці парних коефіцієнтів кореляції обраних ознак, N = 102

Вірогідність $> |r|$ за нульової гіпотези $H_0: r=0$

	TLR2E	TLR4E	TLR2P	TLR4P	MSM	Compl	CIC
TLR2E	1.00000	0.94450	0.36675	0.37991	0.94288	0.26891	0.88612
TLR-2 експресія		<.0001	0.0001	<.0001	<.0001	0.0063	<.0001
TLR4E	0.94450	1.00000	0.43776	0.47746	0.92476	0.23066	0.88913
TLR-4 експресія	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	0.0197	<.0001
TLR2P	0.36675	0.43776	1.00000	0.63240	0.37128	0.03500	0.38934
TLR-2 поліморфізм	0.0001	<.0001		<.0001	0.0001	0.7269	<.0001
TLR4P	0.37991	0.47746	0.63240	1.00000	0.40592	-0.03579	0.32958
TLR-4 поліморфізм	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	0.7210	0.0007
MSM	0.94288	0.92476	0.37128	0.40592	1.00000	0.25040	0.85954
Молекули середньої маси	<.0001	<.0001	0.0001	<.0001		0.0111	<.0001
Compl	0.26891	0.23066	0.03500	-0.03579	0.25040	1.00000	0.26015
вміст комплементу	0.0063	0.0197	0.7269	0.7210	0.0111		0.0083
CIC	0.88612	0.88913	0.38934	0.32958	0.85954	0.26015	1.00000
вміст циркулюючих імунних комплексів	<.0001	<.0001	<.0001	0.0007	<.0001	0.0083	

```
DATA tmp;
set sasa.Salmonella ;
where missing(Gender)=0;
rename Age__y_ =Age Incubation_period__Hours_ =
Incub Illness_duration__d_ = Duration;
rename Source_of_infection = Source;
rename Time_from_symptoms_till_hospital=THosp
TLR_2_polymorphism=TLR2P TLR_4_polymorphism=TLR4P;
if Gravity='Severe' then Severity=3;
else if Gravity='Moderate' then Severity=2;
else Severity=1;
*/Перший крок перетворення/*
MSM=MSM-0.223;
```

```

FN=FN-66.8;
CIC=CIC-1.038;
Tlymph=51.0-T_lymph;
*/Другий крок перетворення/*
TLR2Et=(TLR_2_expression-0.2131275)/ 0.108358;
TLR4Et=(TLR_4_expression- 0.1781569)/ 0.0942044;
MSMt=(MSM- 0.1801471)/0.0882861;
Complt=(Compl- 1.0712745)/0.0640184;
CICt=(CIC- 0.0188627)/0.0127745;
FNt=(FN-77)/4.341;
Tlympt=(Tlymph-42.6732353)/4.39;

run;

```

Третім кроком була Бокс-Кокс (Box-Cox) трансформація змінних інкубаційного періоду (Incub) та тривалості хвороби (Duration). Справа у тому, що ці змінні обумовили високу гетероскедастичність (heteroscedasticity) залишків моделі (не показано), що також може спотворювати трактування результатів. Формула Бокс-Кокс трансформації змінної x наступна:

$$x^{\lambda} = \begin{cases} \frac{x^{\lambda} - 1}{\lambda} & \text{якщо } \lambda \neq 0 \\ \ln(x) & \text{якщо } \lambda = 0 \end{cases}$$

Фактично оцінюється нелінійний зв'язок предиктору x із залежною змінною шляхом трансформації x з усуненням гетероскедастичності. Ступінь нелінійності оцінюється додатковим параметром λ .

Модельовання важкості перебігу гастроінтестинальної форми.

Скрипт модельовання важкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу за трансформованими даними наведений в табл. 6.4.. До

роботи додається файл оригінальних даних «*sasa.Salmonella*».

Таблиця 6.4

Discrete Response Profile of Severity

Discrete Response Profile of Severity			
Index	Value	Frequency	Percent
1	1	35	34.31
2	2	57	55.88
3	3	10	9.80

Важливим є використання в процедурі аналізу саме трансформованих даних, тобто спочатку слід запустити попередній скрипт степену DATA. Використання нетрансформованих даних в процедурі QLIM дасть дещо інші результати, які інтерпретувати важко внаслідок: а) відсутності зручних точок відліку, б) високої кореляції змінних і як наслідок довільного розподілу спільної частини групових коваріацій алгоритмом, в) наявності високої гетероскедастичності залишків на змінних тривалості хвороби та інкубаційного періоду.

```
PROC SORT data=tmp;
```

```
by severity;
```

```
PROC QLIM data=tmp;
```

```
class Gender Serotype Season Source;
```

```
model Severity = Gender Serotype Season Age Incub Duration TLR2Et
```

```
TLR4Et Source THosp TLR2P TLR4P MSMt Complt CICt FNt Tlympht
```

```
/boxcox(lambda, Incub, Duration) discrete;
```

```
run;
```

Результати показують гарну предикторну інформативність моделі. Так, подвоєна різниця логарифмів правдоподібностей моделі з нульовою (Likelihood Ratio) становить 188, що за кількості параметрів 29 апроксимується хі-квадрат розподілом з 29 ступенями свободи. Вірогідність такого і більшого центильного значення становить 0,00000001, що вказує на високу предикторну інформативність моделі. Перш ніж перейти до розгляду інформативності окремих факторів, звертаємо увагу на чітке розмежування ступенів важкості перебігу. Так, легкий від середньої важкості ступені розрізняє поріг 0 (стандартно не наведений в таблиці), тоді як середню ступінь від важкої високо достовірно відрізняє поріг $\text{_Limit2}=234$ ($p<0,0001$), який далеко відстоїть від попереднього 0.

Предикторна інформативність окремих факторів виражена через коефіцієнти регресії і наведена в таблиці 3 (β коефіцієнти). В таблиці також наведені похибки коефіцієнтів (m), значення критерія Стюдента та відповідні оцінки достовірності на основі теста Стюдента $Pr > |t|$.

З наведених результатів аналізу випливає, що інкубаційний період і тривалість хвороби визначають важкість перебігу з високою достовірністю ($p<0,0001$ для обох змінних). Ці фактори в лінійний предиктор входять із ступенями 0,3 та -6,57. Тобто із зменшенням інкубаційного періоду вірогідність важкого перебігу сальмонельозу зростає ($\beta = -46,93$). Аналогічно із зменшенням тривалості хвороби вірогідність важкого перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу зростає ($\beta = 112,80$ та негативна ступінь змінної -6,57). Останню закономірність можна пояснити швидкою динамікою хвороби з можливістю різкого поважчання уже на початку.

Підвищена експресія генів TLR-2 та TLR-4 рівноцінно ($\beta = 67,5$) достовірно обумовлює важчий перебіг ($p<0,0001$).

TLR-2 та TLR-4 типи поліморфізму теж достовірно і в однаковій мірі ($\beta \approx 40$) обумовлюють важчий перебіг ($p=0,004$). Підвищені рівні MCM достовірно ($p<0,0001$) обумовлюють важчий перебіг ($\beta=64,48$)

сальмонельозу. Підвищений вміст фагоцитуючих нейтрофілів достовірно ($p < 0,0001$) обумовлює важчий перебіг ($\beta = 65,68$) сальмонельозу.

Таким чином, проведене моделювання важкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу за трансформованими даними за процедурою QLIM, показало, що достовірно визначають важкість перебігу хвороби інкубаційний період та її тривалість. Із зменшенням інкубаційного періоду та зменшенням тривалості хвороби вірогідність важкого перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу зростає, ($\beta = -46,93$) та ($\beta = 112,80$ та негативна ступінь змінної $-6,57$), відповідно. Було встановлено, що носійство генотипів генів TLR-2 та TLR-4 достовірно ($p = 0,004$) і в однаковій мірі ($\beta \approx 40$) обумовлювало важчий перебіг гастроінтестинальної форми сальмонельозу у цих хворих. Підвищена експресія генів TLR-2 та TLR-4 рівноцінно ($\beta = 67,5$) достовірно обумовлювала важчий перебіг ($p < 0,0001$). Важкий перебіг гастроінтестинальної форми сальмонельозу також достовірно ($p < 0,0001$) був обумовлений підвищеними рівнями МСМ в сироватці крові хворих ($\beta = 64,48$) та підвищеним вмістом фагоцитуючих нейтрофілів ($\beta = 65,68$)

Результати досліджень, представлені в розділі, узагальнено і викладено в наступних друкованих працях:

1. Палій Д.В. До питання покращення лікування сальмонельозної інфекції / Д.В. Палій // Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань у світлі доказової медицини. Матеріали VII Всеукраїнської науково-практичної конф., з міжнарод. участю з клінічної фармакології. 25-26.11.2013р. – Вінниця, 2013. – С. 200-201
2. Палій Д.В. Клінічні, імунологічні особливості сучасного перебігу сальмонельозу / Н. В. Задерей, О. О. Гончар, В. М. Буркот, Д.В.Палій // Українські медичні вісті. Науково-практичний часопис.

Матеріали XV конгресу СФУЛТ. 16-18.10.2014 р. Чернівці – Київ –
Чікаго. – 2014. – С. 242-243.

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Сальмонельоз на сьогоднішній час залишається однією з найпоширеніших кишкових інфекцій в світі, що обумовлено інтенсивним розвитком тваринництва, характером та масштабами реалізації харчових продуктів і навіть посиленням міграційних процесів, особливо в Європі [120, 190]. В розвинутих країнах, наприклад в США, щорічно реєструється майже 76 млн випадків сальмонельозу, що призводить до 32,5 тисяч госпіталізацій та 5 тисяч смертей, в РФ показники захворюваності на сальмонельоз залишаються на рівні 30-35 випадків на 100 тис. населення [60, 300] Подібна картина спостерігається і в Україні, де в останні роки відбувається зростання захворюваності на сальмонельоз, особливо його гастроінтестинальну форму, у всіх вікових групах [8, 9, 11].

Успішна боротьба з сальмонельозами можлива тільки на основі всебічних мікробіологічних досліджень, стеженні за етіологічною структурою збудників сальмонельозів, визначенні їх видового складу та епідеміологічної значущості окремих їх сероварів у поширенні даного інфекційного захворювання. Важливим кроком в проведенні аналізу етіологічної структури сальмонельозів є визначення видового складу збудників гастроінтестинальної форми сальмонельозу від хворих, які були госпіталізовані в інфекційні відділення.

Адгезія і колонізація сальмонел складають важливу ланку патогенезу сальмонельозу [60, 300], а зростання полірезистентності збудників до протимікробних препаратів утруднює терапію захворювання, збільшує можливість формування бактеріоносійства або розвитку генералізованих форм сальмонельозу [15, 28, 55].

Наша робота присвячена удосконаленню підходів до діагностики та визначенню факторів ризику розвитку гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

Згідно отриманих нами даних провідним етіологічним чинником збудником у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу була *S. enteritidis*, що була виділена у 71 хворого (69,61%). У 30,39 % пацієнтів (31 особа) була виділена *S. typhimurium*. Отримані результати співпадають з даними багатьох інших авторів, які вказують на домінування *S. enteritidis* до 80% серед збудників, що викликають сальмонельоз [2, 20, 96]. Серед збудників було використано 2 штами *S. enteritidis* (3267 та 3277), та 2 штами *S. typhimurium* (3227 та 3270) для подальшого детального дослідження їх властивостей.

Біохімічні властивості збудників сальмонельозу, що були отримані з випорожнень хворих, характеризувалися здатністю гідролізувати субстрати з утворення кислоти і газу, а саме аргінін, орнітин, малонат натрію, В-галактозидазу, саліцин, сорбіт, мелібіозу, целобіозу, трегалозу, манітол, глюкуронідазу, сахарозу, інозітол, рафінозу, В-ксилоксидазу.

Призначення протимікробної терапії хворим на гастроінтестинальну форму сальмонельозу до останнього часу було дискутабельним [60, 300]. Однак, виходячи з того, що сальмонели можуть викликати як секреторний та і інвазивний тип діареї, обумовлений активністю адгезії збудника, застосування протимікробних препаратів показало в багатьох дослідженнях високу ефективність [7, 65, 92]. Відомо, що ефективність етіологічної терапії залежить від чутливості збудників до застосованих препаратів.

Проведені дослідження виявили, що, отримані від хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу штами збудників в переважній більшості зберігали чутливість до антибактеріальних препаратів, що застосовувалися в лікуванні захворювання. Так, виділені штами були в 89,22% чутливими до НФ та у 95,09% - до ЦФ. Лише два штами сальмонел (1,97%) були стійкі до ЦФ, в той час, як до НФ таких було 5 (4,90%).

Нами було встановлено, що МБсК, МБцК НФ та ЦФ змінювали адгезивну здатність клінічних штамів *Salmonella enteritidis* (2 штами) та

Salmonella typhimurium (2 штами). Так, серед МБсК лікувальних препаратів найбільше знижувало адгезію досліджуваних штамів сальмонел МБсК ЦФ (0,25 мкг/мл)- в 1,88 рази у штама *S. enteritidis* 3267, в 1,94 рази у штама *S. enteritidis* 3277, а також в 1,75 та навіть в 2,05 рази у штамів *S. typhimurium* 3227 та 3270, відповідно.

В дещо меншій мірі знижувала адгезивні властивості збудників МБсК НФ (50 мкг/мл). Дана доза в 1,58 рази пригнічувала адгезію *S. enteritidis* 3267, що, однак, було в 1,19 рази менше, ніж МБсК ЦФ. Адгезія штаму *S. enteritidis* 3277 зменшувалась в 1,71 рази, що також, достовірно, в 1,13 рази відрізнялося від даних стосовно впливу МБсК ЦФ. Штам *S. typhimurium* 3227 пригнічував свою адгезію при застосуванні МБсК НФ в 1,64 рази, що достовірно не відрізнялося від результатів при впливі МБсК ЦФ. Зниження адгезивних властивостей *S. typhimurium* 3270 під дією МБсК НФ відбувалося в 1,86 разів, та було в 1,3 рази меншим, ніж при застосуванні МБсК ЦФ.

Подібна картина спостерігалася і стосовно МБцК лікарських засобів, що були призначені в лікуванні хворих на сальмонельоз. Дані дозування викликали наростаюче зниження адгезивної здатності у клінічних штамів сальмонел, що було достовірно більшим при застосуванні МБцК ЦФ. Так, МБцК ЦФ пригнічувала адгезію *S. enteritidis* 3267 в 3,64 рази, це було в 1,64 рази більше, ніж МБцК НФ. Адгезивна активність штаму *S. enteritidis* 3277 знижувалась вже в 4,37 рази, що було в 1,82 більше, ніж при застосуванні МБцК НФ. Стосовно штаму *S. typhimurium* 3227 було зафіксовано зниження адгезії під впливом МБцК ЦФ в 2,29 рази, що достовірно не відрізнялося від дії МБцК НФ. Було також виявлено зниження адгезивних властивостей *S. typhimurium* 3270 в 3,01 рази під впливом МБцК ЦФ. Дане зниження було в 1,24 рази більшим, ніж при МБцК НФ.

В останні роки спостерігається зростання полірезистентності збудників сальмонельозу до протимікробних препаратів. В дослідженнях вказують на наявність 1,9-21,3% резистентних штамів сальмонел [34, 48, 66]. Проведений

аналіз формування резистентності виділених з випорожнень хворих штамів сальмонел встановив, що збудники *S. enteritidis* 3267, 3277 та *S. typhimurium* 3227, 3270 в присутності ЦФ в дослідках *in vitro* перед початком пасування була чутлива до дози 0,24 мкг/мл. Після проведених 30 пасажів резистентність бактерій зросла в 8 разів та складала 1,92 мкг/мл.

Встановлено, що резистентність до НФ у клінічних штамів сальмонел формувалась швидше, однак не рівномірно (табл. 3.4). Так, стосовно штамів *S. enteritidis* 3277 та *S. typhimurium* 3227, 3270 резистентність підвищилась у 16 разів після 30 пасажів, досягнувши дозування 800 мкг/мл (контроль 50 мкг/мл). В той же час штам *S. enteritidis* 3267 був резистентний після 30 пасажів вже до дози 1600 мкг/мл, тобто його стійкість до НФ зросла в 32 рази

Таким чином, проведене дослідження встановило, що провідним етіологічним чинником захворювання була *S. enteritidis* (штами 3267 та 3277), що виділялася у 71 хворого (69,6%). У 30,4 % пацієнтів (31 особа) була виділена *S. typhimurium* (штами 3227 та 3270).

Найбільше знижувало адгезію досліджуваних штамів сальмонел МБсК ЦФ (0,25 мкг/мл) - в 1,75- 2,05 рази в залежності від штамів *S. enteritidis* та *S. typhimurium*., що було в 1,13-1,19 рази більше, ніж МБсК НФ. Лише відносно штаму *S. typhimurium* 3227 не було виявлено достовірної різниці в пригніченні адгезії при застосуванні МБсК ЦФ та НФ.

Подібну картину спостерігали стосовно МБцК лікарських засобів, що були призначені в лікуванні хворих на сальмонельоз. Дані дозування викликали наростаюче, в 3,01-4,37 разів, зниження адгезивної здатності у клінічних штамів сальмонел, що було в 1,24-1,82 більшим при застосуванні МБцК ЦФ. Стосовно штаму *S. typhimurium* 3227 було зафіксовано зниження адгезії під впливом МБцК ЦФ в 2,29 рази, що достовірно не відрізнялося від дії МБцК НФ.

При аналізі формування резистентності встановлено, що резистентність всіх штамів сальмонел в присутності ЦФ в дослідках *in vitro* після 30 пасажів

стійкість бактерій зросла в 8 разів. Дещо іншу картину спостерігали стосовно резистентності до НФ. Стійкість штаму *S. enteritidis* 3267 до НФ після 30 пасажів зросла в 32 рази, в той час, як резистентність інших штамів сальмонел до цього антибактеріального препарату зросла за такої же кількості пасажів лише в 16 разів.

Таким чином, результати проведених досліджень дозволяють стверджувати, що антибактерійні лікарські препарати НФ, ЦФ пригнічують адгезивну здатність клінічних штамів сальмонел і завдяки цій біологічній дії прискорюють процес одужання хворих.

Перебіг сальмонельозу, як будь якої бактеріальної інфекції, супроводжується ознаками інтоксикації, в котрій провідну роль відіграє ендогенна інтоксикація, що може призводити до змін імунологічних показників, а ефективність фагоцитуючих нейтрофілів (ФН) посилюється в умовах збільшення числа бактерій та ендотоксинів сальмонел [263, 301].

Згідно отриманих нами даних, найбільш відчутні зміни у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу відбувалися стосовно вмісту МСМ в сироватці крові, що був в 1,98 разів вищий, ніж у здорових осіб.

Вміст ФН в групі хворих в 1,17 рази перевищував аналогічний показник серед здорових. В той же час у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу було виявлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів в 1,30 рази в порівнянні зі здоровими особами. Нами не було встановлено достовірної різниці у вмісті комплементу та ЦІК між групою здорових осіб та хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Аналіз залежності вмісту основних показників інтоксикації у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу від важкості захворювання встановив достовірне підвищення вмісту МСМ в сироватці крові. Так, даний показник у хворих з середньою важкістю хвороби був в 1,44 рази вищим, в порівнянні з вмістом в сироватці крові у хворих з легкою формою. А у хворих з важким перебігом ця різниця була вищою вже у 1,92 рази.

Достовірна різниця в даному показнику була також між групами пацієнтів з середнім та важким перебігом (в 1,34 рази). Різниці вмісту комплементу та ЦІК не було виявлено у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості хвороби.

Вміст ФН в сироватці крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу також зростав відповідно важкості захворювання. Так, у хворих з важким перебігом даний показник був в 1,17 рази вищим, в порівнянні з хворими з легким перебігом. Стосовно інших ступенів важкості достовірної різниці виявлено не було.

Навпаки, нами було встановлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості перебігу хвороби. Так, при середньо важкому перебігу їх кількість знижувалася в 1,19 разів в порівнянні з легким перебігом, а при тяжкій формі ця різниця була вже в 1,38 рази .

Згідно отриманих нами даних в групі хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які отримували лікування ЦФ, спостерігалось достовірно більш швидке зникнення основних симптомів захворювання. Так, тривалість загальної слабкості у них була в 1,66 рази меншою, а порушення апетиту - меншим в 1,92 рази . В цій групі хворих також було зафіксовані в 1,47 рази менш тривалі скарги на нудоту та блювоту. Щодо здуття живота, то тут різниця становила 1,33 рази. Біль в животі зникав в 1,43 рази швидше у пацієнтів, які отримували ЦФ в порівнянні з хворими на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, яким в лікуванні застосовували НФ . Ще швидше у хворих при лікуванні ЦФ зникала гарячка, це відбувалося в 1,58 рази швидше ніж у хворих, які отримували НФ. Найменша різниця спостерігалась в тривалості діареї, що лише в 1,29 рази була коротшою в групі хворих, які в лікуванні отримували ЦФ.

Вивчення впливу лікування на динаміку основних біохімічних показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу

встановило, що на 3-5 добу лікування спостерігалось зниження рівня МСМ в сироватці крові пацієнтів в 1,38 разів в порівнянні з моментом госпіталізації.

Навпаки, було зареєстровано зростання вмісту комплементу в 1,17 разів. Достовірних даних стосовно змін загального числа Т-лімфоцитів, рівнів ЦІК та ФН не було отримано.

В реконвалесценцію відбувалася поступова нормалізація рівнів показників, що вивчалися. Так, рівень МСМ в цей період хвороби був в 1,32 рази нижчим порівняно з 3-5 днем лікування та в 1,82 рази – з періодом госпіталізації, та практично не відрізнявся від показника в групі здорових осіб. Вміст ФН також в 1,11 разів знижувався в період реконвалесценції в порівнянні з періодом госпіталізації. Спостерігалось зростання загального числа Т-лімфоцитів в період реконвалесценції в 1,20 рази в порівнянні з періодом госпіталізації. Рівень ЦІК в період реконвалесценції не відрізнявся від початкового на момент госпіталізації. В порівнянні з 3-5 добою лікування вміст комплементу в стадію одужання знижувався в 1,11 рази.

Перед початком лікування (на момент госпіталізації) рівні основних показників, що вивчалися, в групах пацієнтів, які отримували лікування ЦФ та НФ достовірно не відрізнялися. Однак, вже на 3-5 добу від початку лікування спостерігалися більш суттєві зміни в групі хворих, які отримували ЦФ. Так, рівень МСМ в сироватці крові хворих на сальмонельоз, які отримували терапію з застосуванням ЦФ, знижувався в 1,48 разів порівнянні з періодом госпіталізації, та був в 1,13 разів нижчим, ніж аналогічний показник при застосуванні в терапії НФ. Рівень МСМ в останній групі на даний момент спостереження знижувався в 1,29 рази. В стадію реконвалесценції зниження було вже в 1,78 рази, однак рівень МСМ в сироватці крові достовірно не відрізнявся у хворих різних груп.

Вміст комплементу в розпал хвороби (3-5 доба) зазнавав більш значного зростання також у групі пацієнтів, які отримували ЦФ. У даних хворих його вміст підвищувався в 1,27 разів в порівнянні з періодом

госпіталізації. В групі хворих на сальмонельоз, які отримували НФ, цей показник підвищувався лише в 1,1 рази. Вміст комплементу на 3-5 день хвороби був в 1,13 рази вищим у пацієнтів, які приймали ЦФ. Нами не було виявлено достовірних змін вмісту ЦІК в сироватці крові хворих на сальмонельоз протягом перебігу хвороби при застосуванні різних схем лікування.

Вміст ФН починав знижуватись на 3-5 добу лікування та мав показник в 1,15 разів менший в період реконвалесценції в групі хворих, які отримували в лікуванні ЦФ, в порівнянні з періодом госпіталізації. В групі пацієнтів, у яких застосовувалась терапія НФ, спостерігалась лише тенденція до зниження даного показника.

Навпаки, реєструвалось збільшення кількості Т-лімфоцитів під впливом терапії з застосуванням ЦФ в стадію реконвалесценції в 1,27 разів в порівнянні з періодом госпіталізації та наближався до рівня у здорових осіб. Застосування в лікуванні хворих на сальмонельоз НФ також призводило до підвищення кількості Т-лімфоцитів, однак повільніше та достовірна різниця спостерігалась лише в період реконвалесценції, коли кількість Т-лімфоцитів зростала в 1,14 рази.

Час до видужання (ЧДВ) є чутливим показником ефективності лікування. Проте тестування ефективності за експериментальним фреймом є складною проблемою, зокрема через ефект порушення рандомізації при виборі препарату, а також внаслідок існування великої множини факторів, рівні яких не контролюються в дослідженні чи навіть невідомі. Основним моментом є вирішення проблеми статистичної ідентифікації порівняльного ефекту препаратів, та статистичне обґрунтування моделі та оцінщика на основі обраного підходу ідентифікації порівняльного ефекту препаратів.

За допомогою застосування в модельній структурі МСМС алгоритма (Гіббс семплер) було встановлено, що модель має гарні інформативні властивості, тобто гарно відтворювала дані, так як значення подвоєного

логарифму функції правдоподібності ($-2\log L$) склало 302, що фактично того ж порядку, що й кількість інформаційних вузлів даних, утвореними нецензурованими інтервалами, а саме 298.

Найважливішими параметрами були бета (w в (4.4)), яка оцінює АТЕ (ПЕП), а також бета2 (θ в (4.4)), який виправляв і оцінював зміщення оцінки АТЕ (ПЕП) внаслідок гетерогенності контрольної та експериментальної когорт. Із центилів апостеріорних розподілів оцінок параметрів впливав достовірний АТЕ, так як 0 знаходиться поза межами 95% інтервалу $[1,4421; 2,7220]$ з медіанним значенням АТЕ 2,0478. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить $\exp(2,0478)=7,75$ і свідчило про значно кращі шанси скорішого видужання за призначення ЦФ порівняно з НФ. Про діапазон згенерованих на ланцюгах МСМС значеннях ефекту свідчило графічне зображення розвитку ланцюга оцінок АТЕ ПЕП. Зображення свідчило про гарну конвергенцію та змішування згенерованих оцінок, так як мало вигляд «волохатої гусені». Здобуті оцінки було вагомим свідченням достовірно скорішого видужання при призначенні ЦФ порівняно з НФ.

Основною для тестування гіпотезою було твердження про наявність відмінності в ефективності призначень препаратів ЦФ та НФ. Відповідно основним ефектом тестування був узагальнений, або в статистичних термінах АТЕ порівняльний ефект препаратів, який показує типовий приріст ефективності одного препарату порівняно з іншим (ЦФ порівняно з НФ).

Ефекти оцінені на основі 20 тис. ітерацій семплера Гіббса. Модель має гарні інформативні властивості, тобто гарно відтворює дані, так як значення подвоєного логарифму функції правдоподібності ($-2\log L$) склало 302, що фактично того ж порядку, що й кількість інформаційних вузлів даних, утвореними нецензурованими інтервалами, а саме 298.

Оцінки базового ризику засвідчили, що шанси одужання зростали і за найменш ефективного з розглянутих видів лікування. Усі отримані оцінки

базового ризику достовірно відрізнялись від 0, так як нижні значення довірчого інтервалу перевищували 0, що доводить покращання шансів до одужання з часом незважаючи на вид призначеного препарату. Значення параметру генерації БР $a_0=1,12$ свідчить про досить стрімкий ріст шансів на одужання на наступних часових інтервалах.

Оцінки вірогідності залишатись хворим на певний момент часу від початку хвороби, показали, що пацієнти експериментальної когорти мають значно кращі шанси до одужання. Питома вага хворих драматично падає вже після 5-го дня хвороби, у той час як пацієнти контролю мають реальні шанси до одужання лише після 8-го дня хвороби.

Отриманий достовірний АТЕ ПЕП з довірчими межами 95% постеріорного інтервалу [1,4421; 2,7220] з медіанним значенням АТЕ 2,05. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить 7,75 разів і свідчить про значно кращі шанси скорішого видужання за призначення ЦФ порівняно з НФ.

Єдиним фактором, який крім ПЕП зміщував суттєво базовий ризик, виявився важкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Градації «важкий» (параметр b.Severe) і «помірний» (середньої важкості, параметр b.Moderate) контрастувались із легким перебігом. Як видно з отриманих оцінок, важкий перебіг типово (за медіанним значенням ефекту) знижував шанси до одужання в 12 разів порівняно з легким перебігом за усіх інших рівних умов. Тоді як перебіг середньої важкості типово знижував шанси до одужання в 3 рази порівняно з легким перебігом за усіх інших рівних умов.

Таким чином, в групі хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які отримували лікування ЦФ, спостерігалось достовірно більш швидке зникнення основних симптомів захворювання. Так, тривалість загальної слабкості у них була в 1,66 рази меншою, а порушення апетиту - в 1,92 рази, скарг на головний біль фіксувалося в 1,47 рази менше, біль в

животі зникав в 1,43 рази швидше. Ще швидше у хворих при лікуванні ЦФ зникала гарячка (в 1,58 рази). Найменша різниця спостерігалась в тривалості діареї, що лише в 1,29 рази була коротшою в групі хворих, які в лікуванні отримували ЦФ.

Найбільш відчутні зміни у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу відбувалися стосовно вмісту МСМ в сироватці крові, що був в 1,98 разів вищий, ніж у здорових осіб. Вміст ФН в групі хворих в 1,17 рази перевищував аналогічний показник серед здорових. В той же час у хворих на сальмонельоз було виявлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів в 1,30 рази в порівнянні зі здоровими особами.

У хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від важкості захворювання встановив достовірне підвищення вмісту МСМ в сироватці крові (при середньо важкому перебігу в 1,44 рази, а при важкому у 1,92 рази). Вміст ФН в сироватці крові у хворих з важким перебігом був в 1,17 рази вищим, в порівнянні з легким.

Навпаки, встановлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів, при середньо важкому перебігу в 1,19 разів, а при тяжкій формі в 1,38 рази.

Під впливом лікування на 3-5 добу лікування спостерігалось зниження рівня МСМ в сироватці крові пацієнтів в 1,38 разів, зростання вмісту комплементу в 1,17 разів. В реконвалесценцію рівень МСМ в цей період хвороби був в 1,32 рази нижчим порівняно з 3-5 днем лікування та в 1,82 рази- з періодом госпіталізації. Вміст ФН також в 1,11 разів знижувався в період реконвалесценції в порівнянні з періодом госпіталізації. Спостерігалось зростання загального числа Т-лімфоцитів в період реконвалесценції в 1,2 рази в порівнянні з періодом госпіталізації. В порівнянні з 3-5 добою лікування вміст комплементу в стадію одужання знижувався в 1,11 рази.

Перед початком лікування (на момент госпіталізації) рівні основних показників, що вивчалися, в групах пацієнтів, які отримували лікування ЦФ

та НФ достовірно не відрізнялися. Однак, вже на 3-5 добу від початку лікування спостерігалися більш суттєві зміни в групі хворих, які отримували ЦФ. Так, рівень МСМ в сироватці крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які отримували терапію з застосуванням ЦФ, знижувався в 1,48 разів порівнянні з періодом госпіталізації, та був в 1,13 разів нижчим, ніж аналогічний показник при застосуванні в терапії НФ. В стадію реконвалесценції зниження було вже в 1,78 рази.

Вміст комплементу в розпал хвороби (3-5 доба) у хворих, які отримували ЦФ, підвищувався в 1,27 разів в порівнянні з періодом госпіталізації та був 1,13 рази вищим ніж у пацієнтів, які приймали НФ. Вміст ФН починав знижуватись на 3-5 добу лікування та мав показник в 1,15 разів менший в період реконвалесценції в групі хворих, які отримували в лікуванні ЦФ, в порівнянні з періодом госпіталізації. Навпаки, реєструвалось збільшення кількості Т-лімфоцитів під впливом терапії з застосуванням ЦФ в стадію реконвалесценції в 1,27 разів в порівнянні з періодом госпіталізації. Застосування в лікуванні НФ також призводило до підвищення кількості Т-лімфоцитів, однак повільніше та достовірна різниця спостерігалась лише в період реконвалесценції, коли кількість Т-лімфоцитів зростала в 1,14 рази.

Отриманий достовірний АТЕ ПЕП з довірчими межами 95% постеріорного інтервалу [1,4421; 2,7220] з медіанним значенням АТЕ 2,05. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить 7,75 разів і свідчить про значно кращі шанси скорішого видужання за призначення ЦФ порівняно з НФ.

Клінічний перебіг сальмонельозної інфекції в значній мірі визначають вираженість патологічних змін, що викликають сальмонели в місці своєї локалізації, ефективність колонізаційної резистентності тонкого кишечника пацієнтів [78, 192, 193]. Провідною ланкою в розпізнаванні організмом хворого патогенів залишаються рецептори вродженої імунної системи – Toll-like receptors (TLR), що складають основу мембранних комплексів і

експресуються на всіх клітинних елементах, приймають участь у формуванні резистентності, в тому числі колонізаційній резистентності слизових [179, 198]. В останні роки отримано багато свідчень про вплив поліморфізму TLR патогенез, ефективність лікування різних інфекційних та неінфекційних захворювань [180, 185, 222].

Згідно отриманих нами даних найчастіше як серед здорових осіб, так і серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, зустрічалися носії – гомозиготи за Arg/Arg генотипом TLR2 (табл. 5.1). При цьому серед групи хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу їх було в 1,21 рази менше, ніж серед здорових. Носійство гетерозиготного генотипа Arg/Gln достовірно не відрізнялось, було практично однаковим в обох групах та виявлялось в 3,20 рази рідше порівняно з Arg/Arg генотипом серед здорових. та в 2,26 рази серед пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу. Менше всього серед осіб обох груп було виявлено носіїв Gln/Gln. Однак, серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу їх було в 4,91 рази більше, ніж серед здорових. Алель Arg переважала в обох групах, однак в 1,14 рази частіше зустрічалась серед здорових людей. Навпаки, носії алелі Gln в 1,76 рази частіше були виявлені серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Стосовно поліморфізму Asp299Gly TLR4, нами було виявлено переважання Asp/Asp генотипу в обох групах (табл.5. 2). Однак, серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу носіїв даного генотипу було в 1,16 рази менше, ніж серед здорових осіб. Нами не було виявлено достовірної різниці в кількості носіїв гетерозиготного генотипу Asp/Gly між групами здорових та хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Носіїв гомозиготного генотипу Gly/Gly була найменша кількість в обох групах, однак їх було в 3,85 разів більше серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Алель Asp була найпоширенішою в обох групах, однак, її носіїв було в 1,13 рази більше серед здорових людей. Носіїв алелі Gly гена

TLR4 в 1,99 рази більше нами було виявлено серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Аналіз поліморфізму гена TLR2 при різних ступенях важкості хвороби встановив, що носіїв Arg/Arg генотипу гена TLR2 серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу було достовірно менше в порівнянні зі здоровими людьми лише при середній та середній + важкій ступенях важкості захворювання

Так, серед групи хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу середнього ступеню тяжкості їх було в 1,21 рази менше. Ще більша різниця спостерігалася серед хворих з середнім + важким ступенем, де носіїв даного генотипу було в 1,25 рази менше, ніж серед здорових. Навпаки, носії Gln/Gln генотипу в 4,77 рази частіше зустрічалися у хворих з середньою тяжкістю перебігу захворювання, в порівнянні зі здоровими особами. Дещо більшою була різниця серед хворих з середнім + важким перебігом, де носіїв Gln/Gln генотипу було в 5,41 рази більше.

Носіїв алелі Arg було в 1,14 , 1,32 та 1,17 рази менше серед хворих з середньоважким, важким та середнім + важким перебігом сальмонельозу в порівнянні зі здоровими, відповідно. Навпаки, носії алеля Gln частіше виявлялися серед групи хворих з перебігом середньої тяжкості та тяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Таких було, відповідно, в 1,77 та 2,52 рази більше ніж серед здорових осіб. У хворих з середнім + важким перебігом носіїв алеля Gln було виявлено в 1,88 рази більше в порівнянні зі здоровими.

Спостерігалось зменшення кількості носіїв Asp/Asp генотипу гена TLR4 в залежності від тяжкості захворювання. Так, в групі хворих з середнім + тяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу носії даного генотипу зустрічалися в 1,28 рази рідше в порівнянні з групою здорових та в 1,29 рази з пацієнтами з легким перебігом. (табл. 5.4). Достовірної різниці в частоті носійства гетерозиготного генотипу Asp/Gly в залежності від

тяжкості хвороби не було виявлено.

Відмінності в кількості носіїв гомозиготного генотипу Gly/Gly гена TLR4 також спостерігалися в групі хворих з середнім + тяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу, де їх було в 3,61 рази більше в порівнянні зі здоровими та в 2,09 рази в порівнянні з групою хворих з легким перебігом.

Було встановлено зменшення носіїв алелі Asp серед хворих гастроінтестинальною формою сальмонельозу відповідно тяжкості захворювання. Так, при середній тяжкості даних носіїв було в 1,12 рази менше в порівнянні зі здоровими особами, а при тяжкому перебігу в 2,23 рази. В групі хворих з середній + важкий перебігом ця різниця була в 1,21 рази. Навпаки, спостерігалось зростання кількості носіїв алелі Gly. При середньотяжкому перебігу хвороби їх було в 1,90 разів більше в порівнянні з групою здорових, при тяжкому перебігу різниця збільшувалась вже в 5,66 разів.

Серед хворих з середнім + важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу носіїв алелі Gly було в 2,46 раз більше ніж серед здорових.

Встановлена залежність рівня експресії генів, що вивчалися, від перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Так, вже у хворих з легким перебігом хвороби рівень експресії гена TLR-2 був в 1,34 вищим в порівнянні зі здоровими. При середній важкості цей показник був вже у 4,21 рази, а при важкій – у 6,93 рази вищим. Рівень експресії зростав відповідно важкості захворювання та у хворих з важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу був в 5,16 та 1,64 рази вищим в порівнянні з рівнем у хворих з легким та середньо важким перебігом, відповідно.

Подібна картина спостерігалася і стосовно рівня експресії гена TLR-4, що зростав у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельоз в залежності від ступеня важкості захворювання та був в 2,05 рази при

легкому, в 4,92 рази при середньому та в 10,17 рази при важкому вищим в порівнянні зі здоровими. Найбільший рівень експресії гена TLR-4 фіксувався у хворих з важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу, що був в 4,93 вищим, ніж при легкому перебігу та в 2,06 рази ніж при середній важкості.

Таким чином, найчастіше як серед здорових осіб, так і серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, зустрічалися носії – гомозиготи за Arg/Arg генотипом TLR2, 74,5% та 61,8%, відповідно.

Алель Arg в 1,14 рази частіше зустрічалась серед здорових людей, а носії алелі Gln в 1,76 разів частіше були виявлені серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Носії Asp/Asp генотипу TLR4 переважали в обох групах, їх було 82,2% серед здорових та 70,6% серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу. Алель Asp, в 1,13рази частіше спостерігалась серед здорових людей, а носіїв алелі Gly гена TLR4 в 1,99 рази більше нами було виявлено серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Встановлено, що носіїв Asp/Asp генотипу гена TLR2 серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу було достовірно менше в 1,21 рази при середній + важкий різниця була вже в 1,25 рази в порівнянні зі здоровими. Навпаки, носіїв Gln/Gln генотипу було в 4,77 та 5,41 рази більше у групах пацієнтів з середньоважким та середній + важкий перебігом захворювання, відповідно, в порівнянні зі здоровими особами. Носіїв алелі Asp було в 1,14, 1,32 та 1,17 рази менше серед хворих з середньоважким, важким та середній + важкий перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу в порівнянні зі здоровими, відповідно. Навпаки, носії алеля Gln в 1,77 ,2,52 та 1,88 рази частіше виявлялися лише серед групи хворих у яких перебіг хвороби був середньої тяжкості, тяжкий та середній + тяжкий, відповідно.

В групі хворих з середній + тяжкий перебіг захворювання і носіїв

Asp/Asp генотипу гена TLR4 було в 1,28 рази менше в порівнянні з групою здорових та в 1,29 рази з пацієнтами з легким перебігом. Носіїв гомозиготного генотипу Gly/Gly гена TLR4 в групі хворих з середнім + важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу було в 3,61 рази більше в порівнянні зі здоровими та в 2,09 рази в порівнянні з групою хворих з легким перебігом. Спостерігалось зростання кількості носіїв алелі Gly при середньотяжкому перебігу хвороби в 1,90 разів більше в порівнянні з групою здорових, при тяжкому перебігу різниця збільшувалась вже в 5,66 разів. Серед хворих з середнім + важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу носіїв алелі Gly було в 2,46 раз більше ніж серед здорових.

Рівень експресії гена TLR-2 у лімфоцитах крові пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозом був в 4,16 рази вищим ніж у здорових осіб. Ще більшою була різниця в рівні експресії гена TLR-4, що був вищий вже у 5,72 рази.

Вже у хворих з легким перебігом хвороби рівень експресії гена TLR-2 був в 1,34 вищим в порівнянні зі здоровими. При середній важкості цей показник був вже у 4,21 рази, а при важкій – у 6,93 рази вищим. Рівень експресії у хворих з важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу був в 5,16 та 1,64 рази вищим в порівнянні з рівнем у хворих з легким та середньо важким перебігом, відповідно.

Рівень експресії гена TLR-4 був вищим в 2,05 рази при легкому, в 4,92 рази при середньому та в 10,17 рази при важкому ступені хвороби в порівнянні зі здоровими. Найбільший рівень експресії гена TLR-4 фіксувався у хворих з важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу, що був в 4,93 вищим, ніж при легкому перебігу та в 2,06 рази ніж при середній важкості.

З результатів проведеного аналізу випливає, що інкубаційний період і тривалість хвороби визначають важкість перебігу з високою достовірністю

($p < 0,0001$ для обох змінних). Ці фактори в лінійний предиктор входять із ступенями 0,3 та -6,57. Тобто із зменшенням інкубаційного періоду вірогідність важкого перебігу сальмонельозу зростає ($\beta = -46,93$). Аналогічно із зменшенням тривалості хвороби вірогідність важкого перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу зростає ($\beta = 112,80$ та негативна ступінь змінної -6,57). Останню закономірність можна пояснити швидкою динамікою хвороби з можливістю різкого поважчання уже на початку. Підвищена експресія генів TLR-2 та TLR-4 рівноцінно ($\beta = 67,5$) достовірно обумовлювала важкий перебіг ($p < 0,0001$). TLR-2 та TLR-4 типи поліморфізму теж достовірно і в однаковій мірі ($\beta \approx 40$) обумовлювали важкий перебіг ($p = 0,004$). Підвищені рівні МСМ достовірно ($p < 0,0001$) обумовлювали важкий перебіг ($\beta = 64,48$) сальмонельозу. Підвищений вміст ФН достовірно ($p < 0,0001$) обумовлює важкий перебіг ($\beta = 65,68$) сальмонельозу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає в удосконаленні діагностики, надання медичної допомоги хворим на сальмонельоз на основі визначення факторів ризику, клінічних особливостей перебігу та оцінки ефективності персоніфікованої фармакотерапії залежно від наявності поліморфізму та ступеню експресії генів TLR-2 та TLR-4

1. Сальмонельоз залишається однією з актуальних проблем сучасної інфектології. Щорічно в світі реєструється 93 млн випадків захворювання з летальністю 155 тисяч. В Україні спостерігається в останні роки ріст захворюваності на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, як поодиноких випадків (до 3049 лише за половину 2016 р.) так і групових спалахів (4 спалахи за половину 2016 р.). Незважаючи на досягнення медицини в боротьбі з гострими кишковими інфекціями, удосконалення діагностики, пошук чітких факторів ризику розвитку гастроінтестинальної форми сальмонельозу залишається однією з недостатньо вивчених загальномедичних проблем, пов'язаних з суперечливістю уявлень про патогенез, відсутністю однозначних лабораторних критеріїв, недостатньою ефективністю сучасної стратегії лікування. Основні питання діагностики й терапії гастроінтестинальної форми сальмонельозу залишаються до кінця нез'ясованими та потребують подальшої розробки.

2. Провідним етіологічним чинником захворювання є *S. enteritidis* (71 штам), що виділяється у 69,6% хворих. Найбільше знижує адгезію сальмонел мінімальна бактеріостатична концентрація ципрофлоксацину (0,25 мкг/мл), відповідно, в 1,75-2,05 рази в

залежності від штамів *S. enteritidis* та *S. typhimurium*, що було в 1,13-1,19 рази більше, ніж ніфуроксазиду (50 мкг/мл). Подібна ситуація спостерігається і стосовно мінімальної бактерицидної концентрації лікарських засобів, які викликають наростаюче (в 3,01-4,37 рази) зниження адгезивної здатності у клінічних штамів сальмонел, що було в 1,24-1,82 рази більшим при застосуванні ципрофлоксацину. Резистентність сальмонел в присутності ніфуроксазиду дослідах *in vitro* зростала в 16-32 раз в залежності від штама збудника, в той же час стійкість всіх штамів сальмонел до ципрофлоксацину зросла лише в 8 разів.

3. В групі хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу, які отримують лікування ципрофлоксацином, спостерігають достовірно більш швидке зникнення основних симптомів захворювання, а саме, загальної слабкості, порушення апетиту, головного та абдомінального болю, частоти діареї в межах від 1,43 до 1,92 рази. Зареєстровані зміни окремих показників стану імунної системи (збільшення вмісту фагоцитуючих нейтрофілів, молекул середньої маси в сироватці крові в 1,17 - 1,98 разів та зниження загальної кількості Т-лімфоцитів в 1,30 рази), як у порівнянні зі здоровими особами, так і в залежності від важкості перебігу захворювання. Отриманий достовірний порівняльний ефект препаратів (Average treatment effect) з довірчими межами 95% постеріорного інтервалу [1,4421; 2,7220] з медіанним значенням 2,05. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить 7,75 разів і свідчить про значно кращі шанси видужання за призначення ципрофлоксацину порівняно з ніфуроксазидом.

4. Найчастіше як серед здорових осіб, так і серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу, зустрічаються носії – гомозиготи за Arg/Arg генотипом TLR2, 74,5% та 61,8%, відповідно.

Носії алелі Gln в 1,76 рази частіше виявляються серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу. Носії Asp/Asp генотипу TLR4 також переважають в обох групах (80,0% серед здорових та 70,6% серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу). Носіїв алелі Gly гена TLR4 виявляють в 1,58 рази більше серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу. Встановлено, що носіїв Gln/Gln генотипу гена TLR2 реєструють – в 5,2; 4 та 9,1 рази більше у групах пацієнтів з легким, середньоважким та важким перебігом захворювання в порівнянні зі здоровими особами, відповідно. Носії алеля Gln виявляють в 2,5 рази частіше лише серед хворих з важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу. В той же час, носіїв гетерозиготного генотипу Asp/Gly гена TLR4 було в 2,1 рази більше при важкому перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу порівняно зі здоровими. Алель Gly в 1,6 разів частіше зустрічається серед хворих з середньо важким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

5. Рівень експресії гена TLR-2 в лімфоцитах крові пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу був в 4,16 рази вищим ніж у здорових осіб, в більшій мірі спостерігалась експресія гена TLR-4, що була вищою в 5,72 рази. Спостерігалось поступове зростання експресії генів TLR-2 та TLR-4 в залежності від важкості захворювання, а саме, – від 1,34 до 10,17 рази.

6. Проведене моделювання важкості перебігу гастроінтестинальною формою сальмонельозу за трансформованими даними за процедурою QLIM, встановило, що достовірно визначають важкість перебігу інкубаційний період та тривалість хвороби. Із зменшенням інкубаційного періоду та зменшенням тривалості хвороби вірогідність важкого перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу зростає, ($\beta = - 46,93$) та ($\beta = 112,80$ та негативна

ступінь змінної $-6,57$), відповідно . Було встановлено, що поліморфізм генів TLR-2 та TLR-4 достовірно ($p=0,004$) і в однаковій мірі ($\beta \approx 40$) обумовлювало важчий перебіг гастроінтестинальної форми сальмонельозу у цих хворих. Підвищена експресія генів TLR-2 та TLR-4 рівноцінно ($\beta = 67,5$) достовірно обумовлювала важчий перебіг ($p<0,0001$). Тяжкий перебіг гастроінтестинальної форми сальмонельозу також достовірно ($p<0,0001$) був обумовлений підвищеними рівнями МСМ в сироватці крові хворих ($\beta=64,48$) та підвищеним вмістом фагоцитуючих нейтрофілів ($\beta=65,68$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. В практичній діяльності лікаря загальної практики – сімейної медицини та інфекціоніста слід враховувати, що найбільш суттєво знижує адгезію досліджуваних штамів сальмонел МБцК ципрофлоксацину (0,25 мкг/мл) , у порівнянні з МБцК ніфуроксазиду (доза 50 мкг/мл) , .

2. Клініко-діагностична характеристика сучасного перебігу сальмонельозу має враховувати необхідність обстеження на поліморфізм генів TLR-2 та TLR-4

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андрейчин М.А. Бактериальные диареи / М.А. Андрейчин, О.И. Ивахов. – Киев : Здоровья. – 1998. – 412 с.
2. Кабаева А.Ж. Клинические и эпидемиологические особенности сальмонеллеза enteritidis в возрастном аспекте / А.Ж. Кабаева // Актуальные вопросы кишечных инфекций. – Ташкент. – 1990. – С. 26-27.
3. Покровский В.И. Инфекционные болезни и эпидемиология / В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико, Б.К. Данилкин. – «Гэотар Медицина». – М., 2008. – С. 528-538.
4. Оценка эпидемических вспышек сальмонеллеза, связанных с продукцией птицефабрик / В.И. Сергеевнин, Л.В. Ковалевская, Л.А. Михалева [и др.] // Журнал микробиологии. – 1991. – № 11. – С. 27-30.
5. Возіанова Ж.І. Інфекційні і паразитарні хвороби / Ж.І. Возіанова. – К. : Здоров'я. – 2001. – Т. 3, Т.1. – С. 360-380.
6. Милютина Л.Н. Клинические аспекты лекарственной резистентности сальмонелл / Л.Н. Милютина, С.Ш. Рожнова, И.С. Цешковский // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 1998. – № 1. – С. 33-37.
7. Рожнова С.Ш. Сальмонеллезы: проблемы и решения / С.Ш. Рожнова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 1999. – № 2. – С. 39-41.
8. Ахметова Л.И. Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов шигел и сальмонелл, выделенных в Екатеринбурге / Л.И. Ахметова, С.М. Розанова // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. – 2000. – Т. 2. – № 3. – С.58-62.
9. Солодовников Ю.П. Сальмонеллезы в Москве: эпидемиологическая характеристика и задачи профилактики / Ю.П. Солодовников, И.Н.

Лыткина, И.Н. Филатов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2001. – №5. – С. 113-115.

10. Сорокина А.А. О поражении слизистой оболочки полости рта у больных сальмонеллезом / А.А. Сорокина, Б.П. Богомолов // Инфекционные болезни. – 2007. – Т. 5. – № 3. – С. 80-83.

11. Трунилина Р.А. Клинико-эпидемиологические особенности нозокомиального сальмонеллеза у больных с хирургической патологией / Р.А. Трунилина, Е.В. Шахлин, В.Г. Акимкин // Сб. научно-практических работ. Магнитогорск. – 2007. – С.94-107.

12. Малий В.П. Антиінфекційна хіміотерапія сальмонельозу/ В.П. Малий, Д.В. Палій, А.Ю. Волянський // Інфекційні хвороби. – 2010. – 4 (62). – С. 38-41.

13. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студентів вищ. мед. навч. закладів / За редакцією В.П. Широбокова / Видання друге. – Вінниця : Нова Книга, 2011. – С. 362-367.

14. Rodrigue D.C. International increase in Salmonella enteritidis: a new pandemic / D.C. Rodrigue, R.V. Tauxe, B. Rowe // Epidemiol. Infect. – 1990. – 105. – P. 21-27.

15. Molbak K. Increasing quinolone resistance in Salmonella enterica serotype Enteritidis / K. Molbak, P. Gerner-Smidt, H.C. Wegener // Emerg. Infect. Dis. – 2002; 8. – P. 514-515.

16. Руководство по инфекционному контролю в стационаре [пер. с англ.] / Под ред. Р. Венцеля, Т. Бревера. – Смоленск : МАКМАХ. – 2003.

17. Outbreak of human Salmonella typhimurium infections linked to contact with baby poultry from a single agricultural feed store chain and mail-order hatchery 2009 / [Loharikar A.](#), [Vawter S.](#) [et al.] // Infectious pediatric disease journal. – 2013. – Vol. 32, 1. – P. 8-12.

18. Усенко Д.В. Эффективность нифуроксазида в терапии острых кишечных инфекций / Д.В. Усенко // Вопросы современной педиатрии. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 104-406.
19. Clin. Microbiol. Infect. Dis / F. Barguelli, C. Burucoa, A. Amor, J.Eur. – 1995, 14. – P. 703-706.
20. Thomas R.D. Grade A eggs a source of Salmonella enteritidis infections / R.D. Thomas // J. Amer. Med. Ass. – 1989. – Vol. 261, № 14. – P. 2004-2008.
21. Жорняк О.І. Вплив антисептичних препаратів на адгезивні властивості мікроорганізмів / О.І. Жорняк, О.К. Стукан // Буковинський медичний вісник. – 2010. – Т. 14. – № 4. – С. 122-124.
22. Жорняк О.І. Вплив септефрилу та септолете на адгезивні властивості стафілококів / О.І. Жорняк // Довкілля і здоров'я : матеріали всеукр. наук.-практ. конф., 23-24 квіт. 2010 р. – Тернопіль, 2010. – С. 36-37.
23. Жорняк О.І. Дослідження впливу таблетованих антисептичних препаратів на адгезивну активність мікроорганізмів / О.І. Жорняк // Актуальні питання клінічної лабораторної діагностики : матеріали наук.-практ. конф., 25 лист. 2010 р. – Харків, 2010. – С. 23-24.
24. Жорняк О.І. Вплив Септефрилу на адгезивні властивості стафілококів / О.І. Жорняк, В.В. Сухляк // Довкілля і здоров'я : матеріали наук.-практ. конф., 22 квіт. 2011 р. – Тернопіль, 2011. – С. 28-29.
25. Назарчук О.А. Вивчення резистентності штамів золотистого стафілококу до протимікробних засобів / О.А. Назарчук, Д.В. Палій, Г.Г. Назарчук // Аналіз Мечніковського інституту. – 2012. – № 4. – С. 133-139.
26. Палій Д.В. Вивчення впливу несприятливих чинників на протимікробну активність декаметоксину із фіксуючою композицією

на основі карбоксиметилкрохмалу / Д.В. Палій, О.А. Назарчук, О.К. Стукан // Актуальні питання клінічної лабораторної діагностики : наук.-практ. конф., 25 лист. 2010 р. : тези доп. – Харків, 2010. – С. 52-53.

27. Назарчук О.А. Розробка антимікробних матеріалів медичного призначення / О.А. Назарчук, Д.В. Палій, Г.Г. Назарчук // XIV конгрес світової федерації українських лікарських товариств, 4-6 жовт. 2012 р. : тези доп. – Донецьк – Київ – Чикаго, 2012. – С. 371.

28. The resistance of *S. aureus* to antibacterials in children / О.А. Nazarchuk, G.G. Nazarchuk, D.V. Paliy, D.V. Dmytriev // Archives of Disease in childhood: the 4-th congress of the European academy of pediatric societies, 5-9 oct. 2012. – № 97. – P. 252-253.

29. Ковальчук В.П. Протимікробні властивості нових антисептичних засобів / В.П. Ковальчук // Під ред. проф. В.М. Мороза : Матеріали з наукової роботи співробітників ВДМУ ім. М.І. Пирогова. – Вінниця. – 1984. – С. 179-181.

30. Антимікробний лікарський препарат декасан: стратегія і тактика застосування для профілактики та лікування гнійно-запальних захворювань / В.Г. Палій, В.М. Мороз, М.Д. Желіба [та ін.] // Вісник ВНМУ. – 2004. – Т. 8, № 2. – С. 449-451.

31. Пасєчніков С.П. Декасан в лікуванні інфікованих ран після урологічних операцій / С.П. Пасєчніков, О.Д. Нікітін // Мистецтво лікування. – 2009. – № 22. – С. 208-212.

32. Палій Д.В. Ефективність протимікробних препаратів у хворих сальмонельозом / Д.В. Палій // Довкілля і здоров'я : Матеріали всеукраїнської наук.- практ. конф., 23-24 квіт. 2010 р. – Тернопіль, 2010. – ТДМУ : «Укрмедкнига». – С. 89-90.

33. Ефективність антисептичного препарату декасану / Г.К. Палій, В.П. Ковальчук, Д.В. Палій [та ін.] // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2010. – № 15. – С. 8-11.
34. Вплив антисептичних препаратів на формування резистентності у бактерій / Л.К. Сорокоумова, П.Р. Петрашенко, Т.М. Моїсеєнко [та ін.] // Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : XV з'їзд Українського наук.-мед. тов. мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного, 23-25 лис. 2011 р. : тези доп. – Харків, 2011. – С. 79.
35. Nazarchuk O.A. The new attempt to investigate antiseptic-fixative composition resistant to conditions of different microbial load / O.A. Nazarchuk, G.K. Paliy, D.V. Paliy, I.N. Vovk // 29th Annual Meeting of the European Society for pediatric infections : The Hague The Netherlands, June 7-11, 2011. – Espid 2011. – Meeting website. : www.bens.com/espoil2011.
36. Paliy G.K. Study of protein load influence and different pH status of nutrient medium of antimicrobial activities of decametoxine and fixative / G.K. Paliy, O.A. Nazarchuk // 29th Annual Meeting of the European Society for pediatric infections : The Hague The Netherlands, June 7-11, 2011. – Espid 2011. – Meeting website. : www.bens.com/espoil2011.
37. Антибіотикочутливість клінічних штамів E. Coli як збудників гнійно-запальних захворювань / О.А. Назарчук, Г.Г. Назарчук, Д.В. Палій [та ін.] // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2012. – № 18. – С. 12-15.
38. Жорняк О.І. Експериментальне дослідження впливу антисептичних препаратів у терапевтичних дозах / О.І. Жорняк, Д.В. Палій // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2012. – № 18. – С. 33-35.

39. Барило О.С. Застосування декаметоксину та комбінації сорбентів для лікування гнійних ран / О.С. Барило // Таврійський медико-біологічний вестник. – 2005. – № 4. – С. 29-32.
40. Дослідження протимікробної активності нових протимікробних препаратів / Г.К. Палій, В.М. Мороз, В.М. Бойко [та ін.] // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2006. – № 6. – С. 88-91.
41. Вивчення властивостей, еквівалентності антимікробного препарату декаметоксину / Г.К. Палій, Д.В. Палій, О.О. Гончар [та ін.] // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського., 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 310.
42. Действие ботулина на биопленки *Klebsiella pneumonia* / О.В. Бухарин, Л.Н. Чуркина, Н.Б. Перунова [и др.] // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 226.
43. Ковальчук В.П. Чутливість грамнегативних неферментуючих бактерій до антибіотиків та антисептиків / В.П. Ковальчук, В.М. Кондратюк, Ю.Ю. Трофіменко // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського., 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 260.
44. Ковальчук В.П. Шляхи посилення протимікробної активності лізоциму / В.П. Ковальчук, Н.С. Фоміна, С.В. Бобрук // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського., 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 261.
45. Осадчук Н.І. Мікробіологічне обґрунтування застосування декасану у комплексному лікуванні пацієнтів з патологією ЛОР-органів / Н.І. Осадчук, Д.В. Палій, О.О. Гончар // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського., 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 307.

46. Бузинна Ю.Б. Вплив четвертинних амонієвих сполук на процес елімінації плазмід антибіотикорезистентності *E. coli* / Ю.Б. Бузинна, Б.І. Гушилик, А.В. Парусов // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського., 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 255.
47. Дослідження протимікробної дії комбінації цефепіму з амікацином та ципрофлоксацином на поліантибіотикорезистентні музейні штами *P. aeruginosa* / В.Ф. Дяченко, Ю.А. Ягнюк, Н.І. Городницька [та ін.] // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського., 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 250.
48. Вовк І.М. Мікробіологічне обґрунтування комбінованого застосування ефірних олій та декаметоксину для лікування запальних процесів слизової оболонки / І.М. Вовк, З.М. Прокопчук // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського., 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 235.
49. Криворутченко Ю.Л. Современные микробициды для профилактики половой передачи ВИЧ-инфекции / Ю.Л. Криворутченко, И.Б. Андроновская // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського., 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 271.
50. Чутливість мікроорганізмів до препаратів на основі конденсату наночастинок срібла та похідного 3-оксипіридину / Г.А. Лобань, О.В. Ганго, О.М. Ватнига [та ін.] // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського., 01-06 жовт. 2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 351.
51. Фомина И.П. Современное значение орального цефалоспорины III поколения цефиксима в терапии бактериальных инфекций / И.П.

- Фомина, Л.Б. Смирнова // Инфекции и антимикробная терапия . – 2002. – Т. 4, № 3. – С. 83-89.
52. Ющук Н.Д. Инфекционные диареи / Н.Д. Ющук, Л.Е. Бродов // Российский медицинский журнал . – 2001. – № 9 (1617). – С. 679-683.
53. Butt A.A. Infections related to the ingestion of seafood : Part 1 : viral and bacterial infections / A.A. Butt, K.E. Aldridge, C.V. Sanders // Lancet Infect. Dis. – 2004. – № 4. – P. 201-212.
54. Multiply-resistant salmonella and shigella isolated / R.I. Smego, A.K. Zaidi, Z. Mohammed [et al.] // Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. (Suppl.). – 1988. – № 3. – P. 65-67.
55. Threlfall E.J. Epidemic Salmonella typhimurium DT 104-a truly international epidemic clone / E.J. Threlfall // Antimicrob. Chemoter. – 2000. – Vol. 46, № 10. – P. 7-10.
56. Simon Le Hello. Highly drugresistant Salmonella enterica serovar typhimurium isolated / Simon Le Hello, Dorothee Harrois // The Lancet Infectious Diseases. – 2013. – Vol. 13. – Is. 8. – P. 672-679.
57. Акимкин В.Г. Локализация и ликвидация эпидемического очага нозокомиального сальмонеллеза в крупном стационаре для взрослых / В.Г. Акимкин // Инфекционные болезни и антимикробные средства : Материалы 5-й науч.-практ. конф. – М., 2007. – С. 9-10.
58. Акимкин В.Г. Клинико-эпидемиологические особенности нозокомиального сальмонеллеза у больных с хирургической инфекцией / В.Г. Акимкин, Р.А. Трунилина, Е.В. Шахлин. – Магнитогорск : – ООО «АС», 2008. – 172 с.
59. Антибиотикорезистентность сальмонелл, выделенных в Санкт-Петербурге и Ленинградской области в 1992-2000 гг. / Н.С. Козлова, Д.П. Гладин, А.А. Липатова [и др.] // Тезисы 4 Международной конференции МАКМАХ., 20-21 июл. 2001 г. – Москва, 2001. – С. 20.

60. Воронкіна І.А. Аналіз антибіотикорезистентності патогенних та умовнопатогенних мікроорганізмів, виділених від дітей, хворих на гостру кишкову інфекцію / І.А. Воронкіна, С.А. Деркач, О.В. Коцар // *Annals Mechnicov Institute*. – 2008. – № 1. – С. 30-37.
61. Современная фармакотерапия острых кишечных инфекций / Ю.В. Лобзин, Е.Р. Корвякова, Н.В. Литусов [и др.] // Тезисы докл. VII международ. специализированной выставки «Аптека 2000». – М. : ОАО «Фармиппекс», ГЕОС, 2000. – С. 40-41.
62. Пустынникова А.М. Е-тест – современная технология количественной оценки резистентности микроорганизмов / А.М. Пустынникова // *Инфекционные болезни и антимикробные средства : Материалы VI научно-практ. конф.* – М., 2008. – С. 52-53.
63. Asseva G. Surveillance of human salmonellosis in Bulgaria 1999-2004: trends shifts and resistance to antimicrobial agents / G. Asseva, P. Petrov, T. Kantargjiev // *Euro. Survell.* – 2006. – № 11(5). – P. 624-627.
64. Мирисмаилов М.М. Клиническое течение и способы лечения сальмонеллезной инфекции / М.М. Мирисмаилов, Р.А. Рашидова, А.Т. Валиев // *Журнал микробиол., эпидемиол. и иммуно-биол.* – 2002. – № 6. – М. : «С-инфо». – С. 69-72.
65. Черепахина И.Я. Мониторинг антибиотикорезистентности энтеробактерий, проводимой в рамках программы противодействия биотерроризму / И.Я. Черепахина, В.В. Балахнова, О.С. Бурлакова // *Успехи современного естествознания*. – 2007. – № 2. – С. 19-23.
66. Малий В.П. Обґрунтування застосування декасану® при сальмонельозній інфекції / В.П. Малий, Д.В. Палій, А.Ю. Волянський // *Всеукраїнський науково-практичний медичний журнал Інфекційні хвороби*. – 2010. – № 3 (61). – С. 66-69.
67. Палій Д.В. Вивчення чутливості до антимікробних препаратів збудників харчових токсикоінфекцій / Д.В. Палій, А.Ю. Волянський //

Актуальні питання клінічної, лабораторної діагностики : матеріали наук.-практ. конф., 25 лист. 2010 р. – Харків, 2010. – С. 51-52.

68. Палій Д.В. Дослідження лікувальної, профілактичної дії антибактеріальних засобів на моделі сальмонельозу / Д.В. Палій // Матеріали II наук. конф. молодих вчених з міжнар. участю, 17-18 трав. 2011 р. – Вінниця, 2011. – С. 123.

69. Палій Д.В. Вплив декасану, антибіотиків на формування лікарської резистентності у сальмонел / Д.В. Палій // Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : XV з'їзд Українського наук.-мед. тов. мікробіологів, епідеміологів ім. Д.К. Заболотного, 23-25 лис. 2011 р. : тези доп. – Харків, 2011. – С. 81.

70. Палій Д.В. Дослідження показників імунітету у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу / Д.В. Палій // Матеріали IV міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених, 17-18 трав. 2013 р. – Вінниця, 2013. – С. 82-83.

71. Кордон Ю.В. Вплив лікарських антисептичних препаратів на адгезивну здатність мікроорганізмів / Ю.В. Кордон, Д.В. Палій, Н.М. Шевчук // Східно-європейський журнал громадського здоров'я. – 2012. – № 2-3 (18-19). – С. 164-167.

72. Палий Д.В. Исследование противомикробных свойств декасана / Д.В. Палий // Вестник Российского государственного медицинского университета. – М., 2010. – № 2. – С. 528. – (Спец. выпуск).

73. Козько В.М. Мікробіоценотичні аспекти гострих кишкових інфекцій / В.М. Козько, А.В. Бондаренко // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 2. – С. 5-12.

74. Палій Д.В. Вивчення чутливості сальмонел до антибіотиків, антисептиків / Д.В. Палій, А.Ю. Волянський, О.К. Стукан // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2010. – № 15. – С. 78-81.

75. Назарчук А.А. Обоснование эффективности антимикробной композиции на основе декаметоксина / А.А. Назарчук, Д.В. Палий, В.В. Сухляк // Педиатрическая анестезиология и интенсивная терапия : Шестой Российский конгресс «Вторые Михельсоновские чтения», 12-15 сент. 2011 г. – Москва, 2011. – С. 69-70.
76. Molbak K. Human health consequences of antimicrobial drug-resistant *Salmonella* and other foodborne pathogens / K. Molbak // *Clinical infectious diseases*. – 2005. – Vol. 41. – P. 1613-1620.
77. Murray R. A. Invasion genes are not required for *Salmonella enterica* serovar Typhimurium to breach the intestinal epithelium : evidence that *Salmonella* pathogenicity island 1 has alternative functions during infection / R. A. Murray, C. A. Lee // *Infection and immunity*. – 2000. – Vol. 68. – P. 5050-5055.
78. Незгода І. І. Мікробіологія генералізованої сальмонельозної інфекції в експерименті / І. І. Незгода // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 1998. – № 1-2. – С. 184–185.
79. Незгода І. І. Обґрунтування сучасної антибіотикотерапії важких форм сальмонельозу у дітей раннього віку на підставі клініко-експериментальних досліджень / І. І. Незгода // Матеріали наук.-практ. конф. і пленуму асоціації інфекціоністів України. – Львів, 2000. – С. 102–103.
80. Незгода І. І. Оцінка перебігу та результатів лікування дітей раннього віку з генералізованими формами сальмонельозу за даними клініко-морфологічних досліджень / І. І. Незгода, В. А. Кириленко, В. В. Біктіміров // *Укр. мед. часопис*. – 2001. – №1 (21). – С. 107–110.
81. Незгода І. І. Сальмонельозний менінгіт у дітей (клініко-морфологічна характеристика, сучасні підходи до лікування) / І. І. Незгода // Актуальні питання інфекційних хвороб в педіатрії : матеріали наук.-практ. конф. – 2001. – С. 97–98.

82. Незгода І. І. Сучасні аспекти лікування сальмонельозної інфекції у дітей / І. І. Незгода // Інфекційні хвороби. – 1999. – №4. – С. 45–47.
83. Незгода І. І. Сучасні підходи до вибору антибактеріальної терапії при сальмонельозній інфекції у дітей / І. І. Незгода // Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2001. – Вип. 10. – Кн. 3. – С. 1151–1157.
84. Незгода І. І. Хіміотерапевтична ефективність ципробаю при експериментальному сальмонельозі / І. І. Незгода, В. В. Біктіміров, В. А. Кириленко // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 1997. – № 1-2. – С. 14–15.
85. Покришко О. В. Бактеріоносійство сальмонел у м. Тернопіль протягом 2009-2010 рр. / О. В. Покришко, О. В. Дмитришак, О. В. Вахтарчук // Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : XV з'їзд Українського НМТ мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного, 23-25 лист. 2011 р. : тези доп. – Харків, 2011. – С. 92.
86. An occurrence of salmonella infection in cranes at the Izume Plains / Y. Maeda, Y. [Tohya](#), Y. [Nakagami](#) [et al.] // Japan Journal of veterinary medical science. – 2001. – Vol. 63 (8). – P. 943–944.
87. Bender J. B. Use of molecular subtyping in surveillance for Salmonella enterica serotype Typhimurium / J. B. Bender, C. W. Hedberg, D. J. Boxrud // The New England Journal of Medicine. – 2001. – Vol. 344. – P. 189–195.
88. [Bertrand S.](#) Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2)-producing Salmonella enterica serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003) / S. [Bertrand](#), F. X. [Weill](#) // Journal of clinical microbiology. – 2006. – Vol. 44. – P. 2897–2903.

89. Birosova L. Development of triclosan and antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serovar typhimurium / L. Birosova, M. Mikulasova // *Journal of Medical Microbiology*. – 2009. – Vol. 58. – P. 436–441.
90. Broide E. Salmonellosis: an epidemiologic study / E. Broide, M. Shapiro // *The Israel Medical Association journal*. – 2005. – Vol. 7. – P. 91–94.
91. Chiu C. H. *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis: epidemiology, pathogenesis, clinical disease, and treatment / C. H. Chiu, L. H. Su // *Clinical microbiology reviews*. – 2004. – Vol. 17. – P. 311–322.
92. Extraintestinal focal infections in adults with nontyphoid *Salmonella* bacteraemia: predisposing factors and clinical outcome / P. L. Chen, C. M. Chang, C. J. Wu [et al.] // *Journal of Internal Medicine*. – 2007. – Vol. 261. – P. 91–100.
93. Galanakis E. Invasive non-typhoidal salmonellosis in immunocompetent infants and children / E. Galanakis, M. Bitsori // *International journal of infectious diseases*. – 2007. – Vol. 11. – P. 36–39.
94. Farm animal contact as risk factor for transmission of bovine-associated *Salmonella* subtypes / J. Kevin, D. Lorin [et al.] // *Emerging Infectious Diseases CME*. – 2012; 18 (12) : – P. 1929-1936.
95. Csaba Varga. Incidence, distribution, seasonality and demographic risk factors of *Salmonella enteritidis* human infections in Ontario, Canada 2007-2009 / Csaba Varga, David Pearl // *BMC Infectious Diseases*. – 2013. – № 13. – P. 212-215.
96. Adam J. Langer. Nonpasteurized dairy products, disease outbreaks and state laws – United States, 1993-2006 / Adam J. Langer, Tracy Ayers, Julian Grass // *Emerging Infectious Diseases CME*. – 2012, Vol. 18. – № 3. – P. 385-391.

97. Salmonellosis outbreak traced to playground sand, Australia, 2007-2009 / Michael Staff, Jennie Musto, Geoff Hogg [et al.] // *Emerging Infectious Diseases*. – 2012. – Vol. 18. – № 7. – P. 120-125.
98. Helms M. International Salmonella typhimurium DT 104 infections, 1992-2001 / M. Helms, S. Ethelberg // *Emerging infectious diseases*. – 2005. – Vol. 11. – P. 859-867.
99. Kariuki S. Decreasing prevalence of antimicrobial resistance in non-typhoidal Salmonella isolated from children with bacteremia in a rural district hospital, Kenya / S. Kariuki, G. Revathi // *International journal of antimicrobial agents*. – 2006. – Vol. 28. – P. 166-171.
100. Bernard S. Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2) producing Salmonella enterica serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003) / S. Bertrand, F. X. Weill // *Journal of clinical microbiology*. – 2006. – Vol. 44. – P. 2897-2903.
101. Kariuki S. Invasive multidrugresistant nontyphoidal Salmonella infections in Africa: zoonotic or anthroponotic transmission? / S. Kariuki, G. Revathi // *Journal of medical microbiology*. – 2006. – Vol. 55. – P. 585-591.
102. Galanakis E. Invasive non-typhoidal salmonellosis in immunocompetent infants and children / E. Galanakis, M. Bitsori // *International journal of infectious diseases*. – 2007. – Vol. 11. – P. 36–39.
103. Solnik-Isaac H. Quinolone resistance of Salmonella enterica serovar Virchow isolates from humans and poultry in Israel: evidence for clonal expansion / H. Solnik-Isaac, M. Weinberger // *Journal of clinical microbiology*. – 2007. – Vol. 45. – P. 2575–2579.
104. Herrera-León S. Spread of a multiresistant CTX-M-9-producing Salmonella enterica serotype Virchow phage type 19 in Spain / S. Herrera-León, R. González-Sanz // *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. – 2010. – Vol. 29. – P. 901–905.

105. [Menezes](#) G. A. Molecular characterization of antimicrobial resistance in non-typhoidal salmonellae associated with systemic manifestations from India / G. A. [Menezes](#), M. A. [Khan](#) // Journal of medical microbiology. – 2010. – Vol. 59. – P. 1477–1483.
106. Interferon-gamma limits the availability of iron for intramacrophage *Salmonella* Typhimurium / M. Nairz, G. Fritsche, P. Brunner [et al.] // Eur. J. Immunol. – 2008. – Vol. 38. – P. 1923-1936.
107. Sun Y.H. Injection of flagellin into the host cell cytosol by *Salmonella* enterica serovar Typhimurium / Y.H. Sun, H.G. Rolan, R.M. Tsois // J. Biol. Chem. – 2007. – Vol. 282. – P. 33897-33901.
108. Незгода І.І. Хіміотерапевтична ефективність ципробаю при експериментальному сальмонельозі / І. І. Незгода, В. В. Біктіміров, В. А. Кириленко // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 1997. – № 1-2. – С. 14–15.
109. Палій Д. В. Вплив декасану, антибіотиків на формування лікарської резистентності у сальмонел / Д. В. Палій // Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : XV з'їзд Українського НМТ мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного, 23-25 лист. 2011 р. : тези доп. – Харків, 2011. – С. 81.
110. Мікробіологічна характеристика біотопу проксимального відділу травного тракту у хворих на ешерихіози / І. М. Балута, С.Г. Маланчук, Н. Л. Солоніна [та ін.] // Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : XV з'їзд Українського НМТ мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного, 23-25 лист. 2011 р. : тези доп. – Харків, 2011. – С. 121.
111. Назарчук О.А. Антибіотикочутливість клінічних штамів *E. coli* як збудників гнійно-запальних захворювань / О.А. Назарчук, Д.В. Палій,

В.В. Сухляк // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2012. – № 18. – С. 12-15.

112. Дослідження чутливості до антибіотиків, антисептиків штамів ешерихій, виділених від хворих з гнійно-запальними захворюваннями / О.А. Назарчук, Д.В. Палій, В.В. Сухляк [та ін.] // Біль, знеболення і інтенсивна терапія. – 2012. – № 1. – С. 341-343.

113. Копча В.С. Удосконалення лікування хворих на гострі кишкові інфекції / В.С. Копча, С.А. Деркач, О.М. Ситник // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2013. – № 2-3. – С. 25-29.

114. Палій Д.В. До питання покращення лікування сальмонельозної інфекції / Д.В. Палій // Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань у світлі доказової медицини : Матеріали VII Всеукраїнської наук.-практ конф. з міжнар. участю з клінічної фармакології, 25-26 листопада 2013 р. – Вінниця, 2013. – С. 200-201.

115. Антимикробные свойства антисептической композиции пролонгированного действия / А.А. Назарчук, Д.В. Палій, О.О. Гончар [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – М., 2013. – Т. 58. – № 3-4. – С. 14-18.

116. Michel P. Regional, seasonal, and antimicrobial resistance distributions of salmonella typhimurium in Canada: a multi-provincial study / P. Michel, L. J. Martin // Canadian journal of public health. – 2006. – Vol. 97. – P. 470–474.

117. Gordon M. A. Epidemics of invasive Salmonella enterica serovar enteritidis and S. enterica Sero var typhimurium infection associated with multidrug resistance among adults and children in Malawi / M. A. Gordon, S. M. Graham // Clinical infectious diseases. – 2008. – Vol. 46. – P. 963–969.

118. Birosova L. Development of triclosan and antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serovar typhimurium / L. Birosova, M. Mikulasova // *Journal of Medical Microbiology*. – 2009. – Vol. 58. – P. 436–441.
119. Hohmann E. L. Nontyphoidal salmonellosis / E. L. Hohmann // *Clinical Infectious Diseases*. – 2001. – Vol. 32. – P. 263–269.
120. Jones T. F. Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype / T. F. Jones, L. A. Ingram // *The Journal of infectious diseases* – 2008. – Vol. 198. – P. 109–114.
121. Helms M. International *Salmonella* Typhimurium DT104 infections, 1992-2001 / M. Helms, S. Ethelberg // *Emerging infectious diseases*. – 2005. – Vol. 11. – P. 859–867.
122. Non-typhoidal *Salmonella* bacteremia in adults / Y. F. Yen, Y. C. Lin, T. L. Chen [et al.] // *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. – 2007. – Vol. 40. – P. 227–233.
123. Bender J. B. Use of molecular subtyping in surveillance for *Salmonella enterica* serotype Typhimurium / J. B. Bender, C. W. Hedberg, D. J. Boxrud // *The New England Journal of Medicine*. – 2001. – Vol. 344. – P. 189–195.
124. [Bertrand S.](#) Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2)-producing *Salmonella enterica* serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003) / S. [Bertrand](#), F. X. [Weill](#) // *Journal of clinical microbiology*. – 2006. – Vol. 44. – P. 2897–2903.
125. Martin L. J. Increased burden of illness associated with antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium infections / L. J. Martin, M. Fyfe // *The Journal of infectious diseases*. – 2004. – Vol. 189. – P. 377–384.

126. Chiu C. H. *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis: epidemiology, pathogenesis, clinical disease, and treatment / C. H. Chiu, L. H. Su // *Clinical microbiology reviews*. – 2004. – Vol. 17. – P. 311–322.
127. Parry C. M. Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal salmonellae / C. M. Parry, E. J. Threlfall // *Current opinion in infectious diseases*. – 2008. – Vol. 21. – P. 531–538.
128. Sjölund-Karlsson M. Antimicrobial susceptibility to azithromycin among *Salmonella enterica* isolates from the United States / M. Sjölund-Karlsson, K. Joyce // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2011. – Vol. 55. – P. 3985–3989.
129. Etienne Giraud. Effects of natural mutations in the *ramRa* locus of invasiveness of epidemic fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica* serovar typhimurium isolates / Etienne Giraud., Sylvie Baucheron // *Journal of infectious diseases*. 2013. – Vol. 207. – P. 794-802.
130. Zhi Tao Yang. Current ciprofloxacin usage in children hospitalized in a referral hospital in Paris / Zhi Tao Yang, Jean Ralph Zahar // *BMC Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 13. – P. 245-250.
131. Simon Le Hello. Highly drug-resistant *Salmonella enterica* serovar Kentucky ST 198-X1 : a microbiological study / Simon Le Hello, Dorothee Harrois // *The Lancet Infectious diseases*. – 2013. – Vol. 13. – P. 672-679.
132. Harrois D. Prevalence clinical *Salmonella enterica* isolates in Dakar, Senegal, from 1999 to 2009 / D. Harrois, S. Breurec // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2013. – Vol. 18. – P. 469-475.
133. Назарчук О.А. Чутливість *S. aureus* до композиції на основі декаметоксину в умовах різного мікробного навантаження / О.А. Назарчук, Д.В. Палій, В.В. Сухляк // *Сучасні медичні технології*. – 2011. – № 3-4 (11-12). – С. 244-247.

134. Назарчук О.А. Чутливість клінічних штамів *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів / О.А. Назарчук, Д.В. Палій, В.В. Сухляк // Український мед. часопис. – К., 2012. – № 3 (89). – С. 107-109.
135. Nazarchuk O.A. The resistance of *S. aureus* to antibacterials in children / O.A. Nazarchuk, D.V. Paliy, G.G. Nazarchuk // Archives of Disease in Childhood. – 2012. – № 97. – P. 252-253.
136. Експериментальне дослідження стійкості мікроорганізмів до дезінфектантів на клітинному та популяційному рівні / В.Ф. Марієвський, В.П. Жалко-Титаренко, А.М. Кролевецька [та ін.] // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2010. – № 15. – С. 1-8.
137. Вивчення формування резистентності мікроорганізмів до таблетованих антисептичних препаратів / О.І. Жорняк, В.М. Мруг, І.Ю. Кучма [та ін.] // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2010. – № 15. – С. 57-60.
138. Назарчук О.А. Місцевий вплив антисептичного текстилю на тканини організму / О.А. Назарчук, Д.В. Палій, С.В. Вернигородський // Клінічна хірургія. – К., 2013. – № 7. – С. 61-64.
139. Формування резистентності *S. aureus* до декаметоксину, дезмістину, декасану, хлоргексидину / О.А. Назарчук, Д.В. Палій, О.О. Гончар [та ін.] // Матеріали IV міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених, 17-18 трав. 2013 р. – Вінниця, 2013. – С. 75.
140. Обґрунтування застосування декасану при сальмонельозній інфекції / В.П. Малий, Г.К. Палій, Д.В. Палій [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2010. – № 3 (61). – С.66-69.
141. Волянський А.Ю. Вивчення чутливості сальмонел до антибіотиків, антисептиків / А.Ю. Волянський, Д.В. Палій, О.К. Стукан // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2010. – № 15. – С. 78-80.
142. Chen Chih-J. Risk factors for *Salmonella gastroenteritidis* in children less than five years of age in Taiwan / Chen Chih-J., Wu Fang Tzy //

Pediatric Infectious Disease Journal. – 2012. – Vol. 31. – № 12. – P. 239-243.

143. Loharikar Anagha. Outbreak of human *Salmonella* typhimurium Infections linked to contact with baby poultry from a single agricultural feed store chain and mailorder hatchery, 2009 / Loharikar Anagha, Vawter Shannon. // Pediatric infectious disease journal. – 2013. – Vol. 32. – № 1. – P. 8-12.

144. Scallan Elaine. Estimates of illnesses, hospitalizations and deaths caused by major bacterial enteric pathogens in young children in the United States / Scallan Elaine, Mahon Barbara E. // Pediatric Infectious Disease Journal. – 2013. – Vol. 32. – № 3. – P. 217-221.

145. Christopher M. Parry. A retrospective study of secondary bacteremia in hospitalized adults with community acquired non-typhoidal *Salmonella* gastroenteritis / Christopher M. Parry, Sherine Thomas. // BMC Infectious Diseases. – 2013. – № 13. – P. 107-112.

146. Soren L. Becker. Persistent digestive disorders in the tropics: causative infectious pathogens and reference diagnostic test / Soren L. Becker, Yurg Vogt // BMC Infectious Diseases. – 2013. – № 13. – P. 37-40.

147. Vitali Sintchenko. Improving resolution of public health surveillance for human *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection: 3 years of prospective multiplelocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) / Vitali Sintchenko, Qinning Wang // BMC Infectious Diseases. – 2012. – № 12. – P. 78-80.

148. Nicholas H. Gaffga. Outbreak of Salmonellosis linked to live poultry from a mail-order hatchery / Nicholas H. Gaffga, Casey Barton Behravesh. // Engl. J. Med. – 2012. – Vol. 366. – P. 2065-2073.

149. Smita Gopinath. Shedding light on *Salmonella* carriers / Smita Gopinath, Sarah Carden. // Trend in Microbiology. – 2012. – Vol. 20. – № 7. – P. 320-327.

150. Andualem B. Combined antibacterial activity of stingless bee honey and garlic extracts against standard and clinical pathogenic bacteria / B. Andualem, A. Gesse // Asian pacific journal of tropical biomedicine. – 2013. – № 3 (9). – P. 725-731.
151. Ferreyra J.A. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens / J.A. Ferreyra, S.K. Higginbottom // Nature. – 2013. – № 10. – P. 125-128.
152. Schmid A. Epidemiology of infections with enteric Salmonellae in Switzerland with particular consideration of travelling activities / A. Schmid, A. Baumgartner // Swiss Medical Weekly. – 2013. – № 143. – P. 138-142.
153. Guillir L. Use of quantitative microbial risk assessment when investigating foodborne illness outbreak / L. Guillir, C. Danan // International journal of microbiology. – 2013. – Vol. 166. – P. 471-478.
154. Mellou K. Evaluation of underreporting of salmonellosis and shigellosis hospitalized cases in Greece, 2011 / K. Mellou, T. Sideroglou // BMC Public Health. – 2013. – № 13. – P. 875-877.
155. Дослідження формування резистентності до антимікробних препаратів / Ю.В. Кордон, О.К. Стукан, Л.К. Сорокоумова [та ін.] // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2012. – № 18. – С. 44-47.
156. Визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів : метод. вказівки 9.9.5 – 143 – 2007/ [Л.С. Некрасова, В.М. Свита, Г.Г. Глушкевич та ін.]. – Вид. офіційне. – Київ, 2007. – 73с.
157. Некоторые аспекты влияния антибиотиков на адгезивные свойства микроорганизмов и доступная модель его изучения / В.И. Брилис, Т.А. Брилене, Л.А. Левков [и др.] // Антибиотики и медицинская биотехнология. – М., 1986. – Т. 31, № 5. – С. 353-357.
158. Бойко В.М. Вплив антимікробних препаратів на адгезивні властивості стафілококів / В.М. Бойко, В.Г. Палій // Вісник морфології. – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 252-254.

159. Вивчення впливу умов білкового навантаження та зміни рН середовища на антимікробну активність декаметоксину та його композицій / Г.К. Палій, Назарчук О.А., Д.В. Палій [та ін.] // Буковинський медичний вісник. – 2010. – Т. 14, № 4 (56). – С. 125-128.
160. NIFUROXAZIDE 04/2008:1999. // European pharmacopoeia 6.1. – P. 3510-3511.
161. Назарчук О.А. Вивчення резистентності штамів золотистого стафілококу до протимікробних засобів / О.А. Назарчук, Д.В. Палій, Г.Г. Назарчук // Аналіз Мечниковського інституту. – 2012. – № 4. – С. 133-139.
162. Декаметоксин[®]. Державний реєстр лікарських засобів МОЗ України. Реєстраційне посвідчення № UA/12180/01/01 від 01.06.2012. Наказ № 418.
163. Декасан[®]. Державний реєстр лікарських засобів МОЗ України. Реєстраційне посвідчення № UA /5364/01/01 від 03.01.2012. Наказ № 2.
164. Противірусна дія біс-четвертинних солей амонію у відношенні збудників масових захворювань людей та птиці з групи міксовірусів / В.П. Лозіцький, Т.Л. Гридін, В.Г. Палій [та ін.] // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2004. – Т. 8, № 2 – С. 437-440.
165. Игнатьева В.И. Эффективность антисептика декасан в комплексном лечении больных с обострением хронического полипозно-гнойного гайморо-этмоидита / В.И. Игнатьева, Г.Л. Гуменюк, Г.Б. Капитан // Украинский химиотерапевтический журнал. – 2010. – № 1-2 (23). – С. 54-57.
166. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии / Г.Н. Першин. – 2-е изд. – М. : Медицина, 1971. – 539 с. : ил.
167. Пат. 2107299 Российская Федерация, МКUG01N33 /539/. Способ определения циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке

крови / Аносов М.П., Аносова Т.П., Глушков А.Н. – № 94043266/14 ; заявл. 07.12.1994 ; опубл. 20.03.1998.

168. Корпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии : руководство по клинической лабораторной диагностике / А.И. Корпищенко. – 3-е изд. – М. : ГЭОТАР Медиа, 1999. – Т. 2. – С. 754-758.

169. Практична мікробіологія / [Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Ширококов В.П.] – Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

170. Qi R. Secretion of the human Toll-like receptor 3 ectodomain is affected by single nucleotide polymorphisms and regulated by Unc93b1 / R. Qi, S. Hoose, J. Schreiter // J. Biol. Chem. – 2010. – Vol. 285. – № 47. – P. 36635-36644.

171. Gazgo A. Increased Toll-like receptors 4 expression in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis / A. Gazgo, M. Tominac, V. Krsulovic-Hresic // J. Clin. Exp. Immunol. – 2004. – № 132. – P. 267-272.

172. Shibuya E. Association of Toll-like receptor 4 gene polymorphism with normal tension glaucoma / E. Shibuya, A. Meguro, M. Ota // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2008. – № 49. – P. 4453-4457.

173. Shen X. The Toll-like receptor 4 D299G and T399I polymorphisms are associated with Crohn's disease and ulcerative colitis: a Meta-Analysis / X. Shen, R. Shi, H. Zhang // Digestion. – 2010. – № 81. – P. 69-77.

174. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе инфекционных заболеваний человека / Л.В. Ковальчук, О.А. Свитич, Л.В. Ганковская [и др.] // Курский науч.-практ. вестник «Человек и его здоровье». – 2012. – № 2. – С. 147-153.

175. Ковальчук Л.В. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, Р.Я. Мешкова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 234 с.

176. Макаров О.В. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет / О.В. Макаров, Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 196 с.
177. Ярилин А.А. Иммунология / А.А. Ярилин. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 562 с.
178. Akira S. Toll-like receptors in innate immunity / S. Akira, K. Takeda // *Immunology*. – 2005. – № 17. – P. 1-14.
179. Bochud P.Y. Toll-like receptor 2 (TLR2) polymorphisms are associated with reversal reaction in leprosy / P.Y. Bochud, T.R. Hawn, M.R. Siddiqui // *J. Infect. Dis.* – 2008. – № 197. – P. 253-261.
180. Chang J.H. Changes in Toll-like receptor (TLR)-2 and TLR-4 expression and function but not polymorphisms are associated with acute anterior uveitis / J.H. Chang, T. Hampartrumian, B. Everett // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2007. – № 48. – P. 1711-1717.
181. Chen Y.C. Toll-like receptor 2 gene polymorphism pulmonary tuberculosis and natural killer cell counts / Y.C. Chen, C.C. Hsiao, C.Y. Chen // *BMC Med. Genet.* – 2010. – № 11. – P. 17.
182. Toll-like receptor 9 gene mutations and polymorphisms in Japanese ulcerative colitis patients / K. Fuse, K. Katakura, N. Sakamoto [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – № 46. – P. 5815-5821.
183. Cook P. Salmonella-induced SipB-independent cell death requires Toll-like receptor 4 signalling via the adapter proteins Tram and Trif / P. Cook, S Totemeyer, C. Stevenson // *Immunol.* – 2007. – Vol. 122, № 2. – P. 222-229.
184. Hawn T.R. Toll-like receptor polymorphisms and susceptibility to urinary tract infections in adult women / T.R. Hawn, D. Scholes, S. Lis. // *PLoS One*. – 2009. – № 6. – P. 5990-5994.
185. Kiechl S. TLR 4 polymorphism and atherogenesis / S. Kiechl, M. Reindl, C.J. Wiedermann // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – № 347. – P. 185-192.

186. Krediet T.J. Toll-like receptors 2 polymorphism is associated with preterm birth / T.J. Krediet, S.P. Wiertsema, M.J. Vossers // *Pediatr.* – 2007. – № 62. – P. 474-476.
187. Kutukculer N. Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in children with recurrent febrile infections / N. Kutukculer, B.S. Yeniay, G. Aksu // *Biochem. Genet.* – 2007. – № 45. – P. 507-514.
188. **Ricci E.** <http://www.translational-medicine.com/content/8/1/49/> - [ins3](#)
Toll-like receptor 9 polymorphisms influence mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1 / **E. Ricci, S. Malacrida** <http://www.translational-medicine.com/content/8/1/49/> - [ins2](#), **M.** <http://www.translational-medicine.com/content/8/1/49/> - [ins3](#) **Zanchetta** // *J. Transl. Med.* – 2010. – № 8. – P. 49-53.
189. Ryu Y.J. Toll-like receptor 2 polymorphisms and nontuberculous mycobacterial lung diseases / Y.J. Ryu, E.J. Kim, W.J. Koh // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2006. – № 13. – P. 818-819.
190. de Jong H. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries / H. de Jong, M.O. Ekdahl // *BMC Public Health.* – 2006. – Vol. 6. – P. 4-12.
191. Bearson S.M. Identification of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium genes important for survival in the swine gastric environment / S.M. Bearson, B.L. Bearson, M.A. Rasmussen // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2006. – Vol. 72. – P. 2829-2836.
192. Role of fimbriae as antigens and intestinal colonization factors of *Salmonella* serovars / A.D. Humphries, S.M. Townsend, R.A. Kingsley [et al.] // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2001. – Vol. 201. – P. 121-125.
193. Darwin K.H. Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa / K.H. Darwin, V.L. Miller // *Clin. Microbiol. Rev.* – 1999. – Vol. 12. – P. 405-428.

194. Adhesin-dependent binding and uptake of *Salmonella* enteric serovar Typhimurium by dendritic cells / A. Guo, M.A. Lasaro, J.C. Sirard [et al.] // *Microbiology*. – 2007. – Vol. 153. – P. 1059-1069.
195. Derepression of *Salmonella* pathogenicity island 1 genes within macrophages leads to rapid apoptosis via caspase-1 and caspase-3-dependent pathways / A. Takaya, A. Suzuki, Y. Kikuchi [et al.] // *Cell Microbiol.* – 2005. – Vol. 7. – P. 79-90.
196. Coordinated regulation of expression of *Salmonella* pathogenicity island 1 and flagellar type III secretion systems by ATP-dependent ClpXP protease / H. Kage, A. Takaya, M. Ohya [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2008. – Vol. 190. – P. 2470-2478.
197. BapA, a large secreted protein required for biofilm formation and host colonization of *Salmonella* enteric serovar Enteritidis / C. Latasa, A. Roux, A. Toledo-Arana [et al.] // *Mol. Microbiol.* – 2005. – Vol. 58. – P. 1322-1339.
198. *Salmonella* pathogenicity island 4 encodes a giant non-fimbrial adhesion and the cognate type 1 secretion system / R.G. Gerlach, D. Jackel, B. Stecher [et al.] // *Cell Microbiol.* – 2007. – Vol. 9. – P. 1834-1850.
199. SiiE is secreted by the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium pathogenicity island 4-encoded secretion system and contributes to intestinal colonization in cattle / E. Morgan, A.J. Bowen, S.C. Carnell [et al.] // *Infect. Immunol.* – 2007. – Vol. 75. – P. 1524-1533.
200. Coordinate regulation of *Salmonella* pathogenicity island 1 (SPI1) and SPI4 in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium / K.L. Main-Hester, K.M. Colpitts, G.A. Thomas [et al.] // *Infect. Immunol.* – 2008. – Vol. 76. – P. 1024-1035.
201. *Salmonella* takes control: effector-driven manipulation of the host / E.J. McGhie, L.C. Brawn, P.J. Hume [et al.] // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2009. – Vol. 12. – P. 117-124.

202. Hayward R.D. Direct modulation of the host cell cytoskeleton by *Salmonella* actin-binding proteins / R.D. Hayward, V. Koronakis // *Trends Cell Biol.* – 2002. – Vol. 12. – P. 15-20.
203. Layton A.N. *Salmonella*-induced enteritis: molecular pathogenesis and therapeutic implications / A.N. Layton, E.E. Galyov // *Expert Re. Mol. Med.* – 2007. – Vol. 9. – P. 1-17.
204. SopB promotes phosphatidylinositol 3-phosphate formation on *Salmonella* vacuoles by recruiting Rab5 and Vps34 / G.V. Mallo, M. Espina, A.C. Smith [et al.] // *J. Cell Biol.* – 2008. – Vol. 182. – P. 741-752.
205. Diversification of a *Salmonella* virulence protein function by ubiquitin-dependent differential localization / J.C. Patel, K. Hueffer, T.T. Lam [et al.] // *Mol. Cell.* – 2009. – Vol. 137. – P. 283-294.
206. McGhie E.J. Control of actin turnover by a *Salmonella* invasion protein / E.J. McGhie, R.D. Hayward, V. Koronakis // *Mol. Cell.* – 2004. – Vol. 13. – P. 497-510.
207. Patel G.C. Manipulation of the host actin cytoskeleton by *Salmonella* – all in the name of entry / G.C. Patel, G.E. Galan // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2005. – Vol. 8. – P. 10-15.
208. Patel G.C. Differential activation and function of Rho GTPases during *Salmonella*-host cell interactions / G.C. Patel, G.E. Galan // *J. Cell Biol.* – 2006. – Vol. 175. – P. 453-463.
209. SopD acts cooperatively with SopB during *Salmonella enterica* serovar Typhimurium invasion / M.A. Bakowski, J.T. Cirulis, N.F. Brown [et al.] // *Cell Microbiol.* – 2007. – Vol. 9. – P. 2839-2855.
210. *Salmonella* AvrA coordinates suppression of host immune and apoptotic defenses via JNK pathway blockade / R.M. Jones, H. Wu, C. Wentworth [et al.] // *Cell Host Microb.* – 2008. – Vol. 3. – P. 233-244.
211. SipA, SopA, SopB, SopD, and SopE2 contribute to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium invasion of epithelial cells / M. Raffatellu,

- R.P. Wilson, D. Chessa [et al.] // *Infect. Immun.* – 2005. – Vol. 73. – P. 146-154.
212. Humphreys D. The Salmonella effector SptP dephosphorylates host AAA+ ATPase VCP to promote development of its intracellular replicative niche/ D. Humphreys, P.J. Hume, V. Koronakis // *Cell Host Microbe.* – 2009. – Vol. 5. – P. 225-233.
213. Brawn L.C. Salmonella SPI-1 effector SipA persist after entry and cooperates with SPI-2 effector to regulate phagosome maturation and intracellular replication / L.C. Brawn, R.D. Hayward, V. Koronakis // *Cell Host Microbe.* – 2007. – Vol. 1. – P. 63-75.
214. Steel-Mortimer O. The Salmonella-containing vacuole: moving with the time / O. Steel- Mortimer // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2008. – Vol. 11. – P. 38-45.
215. Biogenesis of Salmonella typhimurium-containing vacuoles in epithelial cells involves interactions with the early endocytic pathway / O. Steele-Mortimer, S. Meresse, J.P. Gorvell [et al.] // *Cell Microbiol.* – 1999. – Vol. 1. – P. 33-49.
216. The secreted Salmonella dublin SopB localizes to PtdIns(3)P-containing endosomes and perturbs normal endosome to lysosome trafficking / J.D. Dukes, H. Lee, R. Hagen [et al.] // *Biochem. J.* – 2006. – Vol. 395. – P. 239-247.
217. Sorting nexin-1 defines an early phase of Salmonella-containing vacuole-remodeling during Salmonella infection / M.V. Bujny, P.A. Ewels, S. Humphrey [et al.] // *J. Cell Sci.* – 2008. – Vol. 121. – P. 2027-2036.
218. Crystal structure of SopA, a Salmonella effector protein mimicking a eukaryotic ubiquitin ligase / J. Diao, Y. Zhang, J.M. Huibregtse [et al.] // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 65-70.

219. Stec C is a Salmonella kinase required for SPI-2 dependent F-actin remodeling / J. Poh, C. Odendall, A. Spanos [et al.] // Cell Microbiol. – 2008. – Vol. 10. – P. 20-30.
220. Salmonella effectors translocated across the vacuolar membrane interact with the actin cytoskeleton / F.A. Miao, M. Brittnacher, A. Harada [et al.] // Mol. Microbiol. – 2003. – Vol. 48. – P. 401-415.
221. The role of SsrA-SsrB and OmpR-EnvZ in the regulation of genes encoding the Salmonella typhimurium SPI-2 type III secretion system / J. Garmendia, C.R. Beuzon, J. Ruiz-Albert [et al.] // Microbiol. – 2003. – Vol. 149. – P. 2385-2396.
222. Salcedo S.P. SseG, a virulence protein that targets Salmonella to the Golgi network / S.P. Salcedo, D.W. Holden // EMBO J. – 2003. – Vol. 22. – P. 5003-5014.
223. Beuzone C.R. Growth and killing of a Salmonella enterica serovar Typhimurium sifA mutant strain in the cytosol of different cell lines / C.R. Beuzone, S.P. Salcedo, D.W. Holden // Microbiol. – 2002. – Vol. 148. – P. 2705-2715.
224. The Salmonella effector protein PipB2 is a linker for kinesin-1/ T. Henry, C. Couillault, P. Rockenfeller [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – Vol. 103. – P. 13497-13502.
225. Knodler L.A. The Salmonella effector PipB2 affects late endosome/lysosome distribution to mediate Sif extension / L.A. Knodler, O. Steel-Mortimer // Mol. Biol. Cell. – 2005. – Vol. 16. – P. 4108-4123.
226. The Salmonella virulence protein SifA is a G protein antagonist/ L.K. Jackson, P. Nawabi, C. Hentea [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – Vol. 105. – P. 14141- 14146.
227. Structure and function of Salmonella SifA indicate that its interactions with SKIP, SseJ, and RhoA family GTPases induce endosomal tabulation /

- M.B. Ohlson, Z. Huang, N.M. Alto [et al.] // *Cell Host Microbe*. – 2008. – Vol. 4. – P. 434-446.
228. Nawabi P. Esterification of cholesterol by a type III secretion effector during intracellular *Salmonella* infection / P. Nawabi, D.M. Catron, K. Haldar // *Mol. Microbiol.* – 2008. – Vol. 68. – P. 173-185.
229. The *Salmonella* SPI-2 effector SseJ exhibits eukaryotic activator-dependent phospholipase A and glycerophospholipid cholesterol acyltransferase activity / N.S. Lossi, N. Rolhion, A.I. Magee [et al.] // *Microbiology*. – 2008. – Vol. 154. – P. 2680-2688.
230. A family of *Salmonella* virulence factors functions as a distinct class of autoregulated E3 ubiquitin ligases / C.M. Quezada, S.W. Hicks, J.E. Galan [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2009. – Vol. 106. – P. 4864-4869.
231. Le Negrate G. *Salmonella* secreted factor L deubiquitinase *Salmonella* Typhimurium inhibits NF- κ B, suppresses I B ubiquitination and modulates innate immune responses / G. Le Negrate, B. Faustin, K. Welsh // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 180. – P. 5045-5056.
232. Microtubule motors control membrane dynamics of *Salmonella*-containing vacuoles / J. Guignot, E. Caron, C. Beuzon [et al.] // *J. Cell Sci.* – 2004. – Vol. 117. – P. 1033-1045.
233. *Salmonella*-containing vacuoles display centrifugal movement associated with cell-to-cell transfer in epithelial cells / J. Szeto, A. Namolovan, S.E. Osborne [et al.] // *Infect. Immun.* – 2009. – Vol. 77. – P. 996-1007.
234. The translocated *Salmonella* effector proteins SseF and SseG interact and are required to establish an intracellular replication niche / J. Deiwick, S.P. Salcedo, E. Boucrot [et al.] // *Infect. Immunol.* – 2006. – Vol. 74. – P. 6965-6972.

235. Kuhle V. Intracellular Salmonella enteric redirect exocytic processes in a SPI-2-dependent manner / V. Kuhle, G.L. Abrahams, M. Hensel // *Traffic*. – 2006. – Vol. 7. – P. 716-730.
236. The translocated Salmonella effector proteins SseF and SseG interact and are required to establish an intracellular replication niche / J. Deiwick, S.P. Salcedo, E. Boucrot [et al.] // *Infect. Immun.* – 2006. – Vol. 74. – P. 6965-6972.
237. The Salmonella effector protein PipB2 is a linker for kinasin-1 / T. Henry, C. Couillault, P. Rockenfeller [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2006. – Vol. 103. – P. 13497-13502.
238. Brawn L.C. Salmonella SPI1 effector SipA persist after entry and cooperates with a SPI2 effector to regulate phagosome maturation and intracellular replication / L.C. Brawn, R.D. Hayward, V. Koronakis // *Cell Host Microbe*. – 2007. – Vol. 1. – P. 63-75.
239. Role for myosin II in regulating positioning of Salmonella-containing vacuoles and intracellular replication / J.A. Wasylnka, M.A. Bakowski, J. Szeto [et al.] // *Infect. Immun.* – 2008. – Vol. 76. – P. 2722-2735.
240. Dynamic behavior of Salmonella-induced membrane tubules in epithelial cells / D. Drecktrah, S. Levine-Wilkinson, T. Dam [et al.] // *Traffic*. – 2008. – Vol. 9. – P. 2117-2129.
241. Crystal structure of SopA, a Salmonella effector protein mimicking a eukaryotic ubiquitin ligase / J. Diao, Y. Zhang, J.M. Huibregtse [et al.] // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 65-70.
242. Boyle E.C. Salmonella enterica serovar Typhimurium effectors SopE/SopE2, SopB and SipA disrupt tight junction structure and function / E.C. Boyle, N.F. Brown, B.B. Finlay // *Cell Microbiol.* – 2006. – Vol. 8. – P. 1946-1957.

243. Salmonella type III effector AvrA stabilizes cell tight junctions to inhibit inflammation in intestinal epithelial cells / A.P. Liao, E.O. Petrof, S. Kuppireddi [et al.] // PLoS ONE. – 2008. – Vol. 3. – P. 2369.
244. Identification of Salmonella SPI-2 secretion system components required for SpvB-mediated cytotoxicity in macrophages and virulence in mice / S.H. Browne, P. Hasegawa, S. Okamoto [et al.] // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2008. – Vol. 52. – P. 194-201.
245. Соціальна медицина та організація охорони здоров'я; за ред. Ю. В. Вороненка, В. Ф. Москаленка. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 680 с.
246. Salmonella effector AvrA regulation of colonic epithelial cell inflammation by deubiquitination / Z. Ye, E.O. Petrof, D. Boone [et al.] // Am. J. Pathol. – 2007. – Vol. 171. – P. 882-892.
247. Absence of all components of the flagella export and synthesis machinery differentially alters virulence of Salmonella enterica serovar Typhimurium in models of typhoid fever, survival in macrophages, tissue culture invasiveness, and calf enterocolitis / C.K. Schmitt, J.S. Ikeda, S.C. Darnell [et al.] // Infect. Immun. – 2001. – Vol. 69. – P. 5619-5625.
248. Flagella facilitate escape of Salmonella from oncotic macrophages / G. Sano, Y. Takada, S. Goto [et al.] // J. Bacteriol. – 2007. – Vol. 189. – P. 8224-8232.
249. Slc11a1 limits intracellular growth of Salmonella enterica serovar Typhimurium by promoting macrophage immune effector functions and impairing bacterial iron acquisition / M. Nairz, G. Fritsche, M.L. Crouch [et al.] // Cell Microbiol. – 2009. – Vol. 11. – P. 1365- 1381.
250. Muller S.I. Salmochelin, the long-overlooked catecholate siderophore of Salmonella / S.I. Muller, M. Valdebenito, K. Hantke // Biometals. – 2009. – Vol. 22. – P. 691-695.

251. Lipocalin-2 resistance confers an advantage to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium for growth and survival in the inflamed intestine / M. Raffatellu, M.D. George, Y. Akiyama [et al.] // *Cell Host Microbe*. – 2009. – Vol. 5. – P. 476-486.
252. Taylor C.M. Differential expression from two iron-responsive promoters in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium reveals the presence of iron in macrophage-phagosomes / C.M. Taylor, D. Osman, J.S. Cavet // *Microb. Pathol.* – 2009. – Vol. 46. – P. 114-118.
253. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium divalent cation transport systems MntH and SitABCD are essential for virulence in an Nramp1G169 murine typhoid model / M.L. Zaharik, V.L. Cullen, A.M. Fung [et al.] // *Infect. Immun.* – 2004. – Vol. 72. – P. 5522- 5525.
254. The CorA Mg²⁺ channel is required for the virulence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium / K.M. Papp-Wallace, M. Nartea, D.G. Kehres [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2008. – Vol. 190. – P. 6517-6523.
255. Alix E. Peptide-assisted degradation of the *Salmonella* MgtC virulence factor / E. Alix, A.B. Blanc-Potard // *EMBO J.* – 2008. – Vol. 27. – P. 546-557.
256. High-affinity Zn²⁺ uptake system ZnuABC is required for bacterial zinc homeostasis in intracellular environments and contributes to the virulence of *Salmonella enteric* / S. Ammendola, P. Pasquali, C. Pistoia [et al.] // *Infect. Immun.* – 2007. – Vol. 75. – P. 5867-5876.
257. The potassium transporter Trk and external potassium modulate *Salmonella enteric* protein secretion and virulence / J. Su, H. Gong, J. Lai [et al.] // *Infect. Immun.* – 2009. – Vol. 77. – P. 667-675.
258. Host transmission of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is controlled by virulence factors and indigenous intestinal microbiota / T.D. Lawley, D.M. Bouley, Y.E. Hoy [et al.] // *Infect. Immun.* – 2008. – Vol. 76. – P. 403-416.

259. Sporadic enteric reactive arthritis and undifferentiated spondyloarthropathy: evidence for involvement of *Salmonella typhimurium* / R. Sinha, A. Aggarwal, K. Prasad [et al.] // *J. Rheumatol.* – 2003. – Vol. 30, № 1. – P. 105–113.
260. Invasion of *Salmonella* into human intestinal epithelial cells is modulated by HLA-B27 / M. Saarinen, P. Ekman, M. Ikeda [et al.] // *Rheumatology (Oxford)* – 2002. – Vol. 41, № 6. – P. 651–657.
261. Host immune response to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in mice derived from wild strains / G. Sebastiani, V. Blais, V. Sancho [et al.] // *Infect. Immun.* – 2002. – Vol. 70, № 4. – P. 1997–2009.
262. Mittrücker H. Characterization of the murine T-lymphocyte response to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection / H. Mittrücker, A. Köhler, S. Kaufmann // *Infect. Immun.* – 2002. – Vol. 70, № 1. – P. 199–203.
263. Evidence for the requirement for CD40-CD154 interactions in resistance to infections with attenuated *Salmonella* / M. Fernandez-Cabezudo, A. Ullah, R. Flavell [et al.] // *Endotoxin Res.* – 2005. – Vol. 11, № 6. – P. 395–399.
264. Impact of *Salmonella typhimurium* DT104 virulence factors *invC* and *sseD* on the onset, clinical course, colonization patterns and immune response of porcine salmonellosis / S. Brumme, T. Arnold, H. Sigmarsson [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2007. – Vol. 124, № 3–4. – P. 274–285.
265. Cho W. Expression of inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1, IL-6 and IL-8) in colon of pigs naturally infected with *Salmonella typhimurium* and *S. choleraesuis* / W. Cho, C. Chae // *J. Vet. Med. Physiol. Pathol. Clin. Med.* – 2003. – Vol. 50, № 10. – P. 484–487.
266. Mucosal lymphatic-derived $\gamma\delta$ T cells respond early to experimental *Salmonella enterocolitis* by increasing expression of IL-2R α / J. Hedges, D.

- Buckner, K. Rask [et al.] // Cell. Immunol. – 2007. – Vol. 246, № 1. – P. 8–16.
267. Differential response of bovine monocyte-derived macrophages and dendritic cells to infection with *Salmonella typhimurium* in a low-dose model in vitro / M. Norimatsu, J. Harris, V. Chance [et al.] // Immunology – 2003. – Vol. 108, № 1. – P. 55–61.
268. Systemic and local cytokine response of young piglets to oral infection with *Salmonella enterica* serotype Typhimurium / I. Trebichavský, I. Splíchal, A. Splíchalová [et al.] // Folia Microbiol.(Praha) – 2003. – Vol. 48, № 3. – P. 403–407.
269. Harada A. A *Salmonella* type III secretion effector interacts with the mammalian serine/threonine protein kinase PKN1 / A. Harada, S. Miller // Cell. Microbiol. – 2006. – Vol. 8, № 5. – P. 837–846.
270. Lawley T. Host transmission of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is controlled by virulence factors and indigenous intestinal microbiota / T. Lawley, D. Bouley, Y. Hoy // Infect. Immun. – 2008. – Vol. 76, № 1. – P. 403–416.
271. Membrane vesicles are immunogenic facsimiles of *Salmonella typhimurium* that potently activate dendritic cells, prime B and T cell responses, and stimulate protective immunity in vivo / R. Alaniz, B. Deatherage, J. Lara [et al.] // J. Immunol. – 2007. – Vol. 179, № 11. – P. 7692–7701.
272. Cytosolic flagellin requires Ipaf for activation of caspase-1 and IL-1 β in *Salmonella*-infected macrophages / L. Franchi, A. Amer, M. Body-Malapel [et al.] // Nat. Immunol. – 2006. – Vol. 7, № 6. – P. 576–582.
273. Migration of *Salmonella typhimurium* harboring bone marrow-derived dendritic cells towards the chemokines CCL19 and CCL21 / C. Cheminay, M. Schoen, M. Hensel [et al.] // Microb. Pathog. – 2002. – Vol. 32, № 5. – P. 207–218.

274. Sundquist M. Immunity to Salmonella from a dendritic point of view / M. Sundquist, A. Rydström, M. Wick // Cell. Microbiol. – 2004. – Vol. 6, № 1. – P. 1–11.
275. Wick M. Monocyte and dendritic cell recruitment and activation during oral Salmonella infection / M. Wick // Immunol. Lett. – 2007. – Vol. 112, № 2. – P. 68–74.
276. Salmonella typhimurium infection triggers dendritic cells and macrophages to adopt distinct migration patterns in vivo // C. Zhao, M. Wood, E. Galyov [et al.] // Eur. J. Immunol. – 2006. – Vol. 36, № 11. – P. 2939–2950.
277. Salmonella induces a switched antibody response without germinal centers that impedes the extracellular spread of infection / A. Cunningham, F. Gaspal, K. Serre [et al.] // J. Immunol. – 2007. – Vol. 178, № 10. – P. 6200–6207.
278. Effect of in situ expression of human IL-6 on antibody responses against Salmonella typhimurium antigens / Y. Li, K. Reichenstein, R. Ullrich [et al.] // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2003. – Vol. 37, № 2–3. – P. 135–145.
279. Fink S. Anthrax lethal toxin and Salmonella elicit the common cell death pathway of caspase-1-dependent pyroptosis via distinct mechanisms / S. Fink, T. Bergsbaken, B. Cookson // Proc. Natl. Acad. Sci USA – 2008. – Vol. 105, № 11. – P. 4312–4317.
280. Eckmann L. Cytokines in host defense against Salmonella / L. Eckmann, M. Kagnoff // Microbes Infect. – 2001. – Vol. 3, № 14–15. – P. 1191–1200.
281. Kirby A. The innate immune response differs in primary and secondary Salmonella infection / A. Kirby, U. Yrlid, M. Wick // J. Immunol. – 2002. – Vol. 169, № 8. – P. 4450–4459.

282. Sundquist M. TNF- α -dependent and -independent maturation of dendritic cells and recruited CD11c(int)CD11b⁺ cells during oral Salmonella infection / M. Sundquist, M. Wick // J. Immunol. – 2005. – Vol. 175, № 5. – P. 3287–3298.
283. Tam M. MyD88 and IFN- α/β differentially control maturation of bystander but not Salmonella-associated dendritic cells or CD11c(int)CD11b⁺ cells during infection / M. Tam, M. Sundquist, M. Wick // Cell. Microbiol. – 2008. – Vol. 10, № 7. – P. 1517–1529.
284. Sashinami H. The cytokine balance in the maintenance of a persistent infection with Salmonella enterica serovar Typhimurium in mice / H. Sashinami, T. Yamamoto, A. Nakane // Cytokine – 2006. – Vol. 33, № 4. – P. 212–218.
285. Diepen van A. Treatment with anti-TNF- α does not induce reactivation of latent Salmonella enterica serovar Typhimurium infection in C3H/HeN mice / A. van Diepen, C. Martina, R. Flierman // Scand. J. Immunol. – 2007. – Vol. 65, № 5. – P. 407–411.
286. Caspase-1-mediated activation of IL-1 β and IL-18 contributes to innate immune defenses against Salmonella enterica serovar Typhimurium infection / B. Raupach, S. Peuschel, D. Monack [et al.] // Infect. Immun. – 2006. – Vol. 74, № 8. – P. 4922–4926.
287. Interleukin-23 orchestrates mucosal responses to Salmonella enterica serotype Typhimurium in the intestine / I. Godinez, M. Rafatellu, H. Chu [et al.] // Infect. Immun. – 2009. – Vol. 77, № 1. – P. 387–398.
288. Gamma-IFN-independent effects of IL-12 on immunity to Salmonella enterica serovar Typhimurium / J. Price, K. Simpendorfer, R. Mantena [et al.] // Infect. Immun. – 2007. – Vol. 75, № 12. – P. 5753–5762.
289. Innate immune activation of CD4 T cells in salmonella-infected mice is dependent on IL-18 / A. Srinivasan, R. Salazar-González, M. Jarcho [et al.] // J. Immunol. – 2007. – Vol. 178, № 10. – P. 6342–6349.

290. A role for natural killer cells in intestinal inflammation caused by infection with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium / L. Harrington, C. Srikanth, R. Antony [et al.] // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2007. – Vol. 51, № 2. – P. 372–380.
291. The role of CD1d-restricted NK T lymphocytes in the immune response to oral infection with *Salmonella typhimurium* / E. Berntman, J. Rolf, C. Johansson [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2005. – Vol. 35, № 7. – P. 2100–2109.
292. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) plays a pivotal role in immunity against *Salmonella typhimurium* / H. Koebernick, L. Grode, J. David [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 2002. – Vol. 99, № 21. – P. 13681–13686.
293. Control of *Salmonella* dissemination in vivo by macrophage inflammatory protein (MIP)-3 α /CCL20 / O. Fahy, S. Townley, N. Coates [et al.] // *Lab. Invest.* – 2004. – Vol. 84, № 11. – P. 1501–1511.
294. Fahy O. CXC16 regulates cell-mediated immunity to *Salmonella enterica* serovar Enteritidis via promotion of gamma interferon production / O. Fahy, S. Townley, S. McColl // *Infect. Immun.* – 2006. – Vol. 74, № 12. – P. 6885–6894.
295. The chemokine CCL2 is required for control of murine gastric *Salmonella enterica* infection / R. Depaolo, R. Lathan, B. Rollins [et al.] // *Infect. Immun.* – 2005. – Vol. 73, № 10. – P. 6514–6522.
296. Chronic enteric salmonella infection in mice leads to severe and persistent intestinal fibrosis // G. Grassl, Y. Valdez, K. Bergstrom [et al.] // *Gastroenterology*. – 2008. – Vol. 134, № 3. – P. 768–780.
297. Stoycheva M. Cytokines in *Salmonella* infection / M. Stoycheva, M. Murdjeva // *Folia Med. (Plovdiv)*. – 2004. – Vol. 46, № 4. – P. 5–10.
298. Динамика содержания цитокинов и газового состава крови больных сальмонеллезом и острым шигеллезом / Н.Н. Мартынова,

- М.Н. Аленов, С.Г. Пак [и др.] // Тер. Архив. – 2006. – Т. 78, № 11. – С. 24–27.
299. Stoycheva M. Serum levels of IFN- γ , IL-12, TNF- α , and IL-10, and bacterial clearance in patients with gastroenteric Salmonella infection / M. Stoycheva, M. Murdjeva // Scand. J. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 37, № 1. – P. 11–14.
300. Продукция цитокинов при сальмонеллезной инфекции у детей / Г.Ф. Железникова, О.А. Волохова, М.К. Бехтерева [и др.] // Росс. аллергол. Журнал. – 2009. – № 3; вып. 1. – С. 462.
301. Th1 and Th2-inducing cytokines in Salmonella infection / Y. Mizuno, H. Takada, A. Nomura [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2003. – Vol. 131, № 1. – P. 111–117.
302. Host defense against Salmonella and rotaviral gastroenteritis: a serial study of transcriptional factors and cytokines / A. Lin, C. Lin, C. Chen [et al.] // J. Microbiol. Immunol. Infect. – 2008. – Vol. 41, № 3. – P. 265–271.
303. Divergent role for TNF- α in IFN- γ -induced killing of Toxoplasma gondii and Salmonella typhimurium contributes to selective susceptibility of patients with partial IFN- γ receptor deficiency / R. Janssen, A. Van Wengen, E. Verhard [et al.] // J. Immunol. – 2002. – Vol. 169, № 7. – P. 3900–3907.
304. Vosse van de E. Human host genetic factors in mycobacterial and Salmonella infection: lessons from single gene disorders in IL-12/IL-23-dependent signaling that affect innate and adaptive immunity / E. van de Vosse, T. Ottenhoff // Microbes Infect. – 2006. – Vol. 8, № 4. – P. 1167–1173.
305. Sztein M. Cell-mediated immunity and antibody responses elicited by attenuated Salmonella enterica serovar Typhi strains used as live oral vaccines in humans / M. Sztein // Clin. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 45, Suppl. 1. – P. 15–19.

306. Induction of cellular immune response and anti-Salmonella enterica serovar typhi bactericidal antibodies in healthy volunteers by immunization with a vaccine candidate against typhoid fever / R. Salazar-González, C. Maldonado-Bernal, N. Ramírez-Cruz [et al.] // Immunol. Lett. – 2004. – Vol. 93, № 2–3. – P. 115–122.
307. Wooldridge J.M. Control Function Methods in Econometrics / J.M. Wooldridge. - Michigan State University Department of economics, East Lansing, 2012. - P. 45.
308. Rosenbaum P. R. The central role of the propensity score in observational studies for causal effects / P. R. Rosenbaum, D. B. Rubin // Biometrika, 1983. – P. 70, 41–55.
309. Brezger A. Monotonic regression based on Bayesian P-splines: An application to estimating price response functions from store-level scanner data / A. Brezger, W. Steiner // J. of Business and Econom. Stat. – 2008. – Vol. 26. – P. 90–104.
310. Ibrahim J. Bayesian survival analysis / Ibrahim J., Chen M-H., Sinha D. - New York : Springer-Verlag, 2001.
311. Aitkin M. The fitting of exponential, Weibull and extreme value distributions to complex censored survival data using GLIM /M. Aitkin, D. Clayton // Applied Statistic. – 1980. – Vol. 29. – P. 156–163.
312. Orbe J. Alternative approaches to study lifetime data under different scenarios: From the PH to the modified semiparametric AFT model / J. Orbe, N´unez-Ant´on V // Computational Statistics & Data Analysis. – 2006. – Vol. 50. – P. 1565–1582.