

## ВІДГУК

офіційного опонента завідувача кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією Сумського державного університету МОН України, доктора медичних наук, професора Чемича Миколи Дмитровича на дисертацію **Палія Дмитра Володимировича «Гастроінтестинальна форма сальмонельозу: удосконалення діагностики, фактори ризику, лікування»**, подану до спеціалізованої вченої ради Д 05.600.04 при Вінницькому національному медичному університеті імені М. І. Пирогова МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.13 – інфекційні хвороби

### **1 Актуальність теми**

Поширення сальмонельозу в останні роки у світі та в Україні, напружена епідеміологічна ситуація, значні соціальні та економічні збитки, спричинені захворюванням диктують необхідність подальшого вивчення та удосконалення діагностики, епідеміології, клініки та лікування і профілактики сальмонельозу. Гастроінтестинальна форма недуги складає одну з найбільш важливих проблем сучасної інфектології, епідеміології. У науковій літературі недостатньо висвітлені питання удосконалення діагностики, факторів ризику, лікування сальмонельозу.

Одним з провідних симптомів сальмонельозу є інтоксикаційний, основною складовою якого є ендогенна інтоксикація, тривалість та вираженість якої визначає тяжкість перебігу захворювання та його наслідки. Потребує подальшого комплексного вивчення оцінка цього синдрому, що дозволить висвітлити особливості патогенезу захворювання, сприяти більш точній оцінці ступеню тяжкості хвороби та корекції призначення протимікробних препаратів.

Розвиток імунної відповіді організму на проникнення генетично чужерідних мікроорганізмів обумовлений взаємодією вродженого та набутого імунітету. Значна кількість досліджень підтверджує важливу роль поліморфізму генів тол-подібних рецепторів (TLRs) як основних рецепторів вродженого імунітету у патогенезі різних, у тому числі і інфекційних захворювань людини. Є вказівки на наявність кореляційних зв'язків підвищеної експресії генів TLR2 та TLR4, з

тяжкістю клінічного перебігу. На сьогодні відсутні дані про дослідження поліморфізму означених генів TLR та їх експресії у хворих на сальмонельоз.

Дисертація Палія Д. В. присвячена визначенню адгезивних властивостей сальмонел, розвитку їх резистентності до протимікробних препаратів та можливість прогнозування тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу для підвищення ефективності терапії, тому актуальність її не викликає сумніву.

## **2 Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота виконана відповідно з планом науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України за темою «Особливості перебігу вірусних та бактеріальних інфекцій у залежності від генетичних, морфологічних та метаболічних факторів» (номер державної реєстрації 0104U003552).

## **3 Наукова новизна отриманих результатів, ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації**

У хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу вперше проведено визначення поліморфізму генів TLR2 та TLR4 та співставлення тяжкості захворювання з наявністю поліморфізму даних генів. Це дозволило встановити зростання в залежності від тяжкості недуги рівню експресії генів TLR2 та TLR4 в лімфоцитах крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Вперше змодельовано тяжкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу та встановлений вплив на перебіг захворювання, тривалість інкубаційного періоду хвороби, поліморфізм генів TLR-2 та TLR-4, підвищення експресії генів у лімфоцитах крові та рівня МСМ, вмісту ФН у сироватці крові.

Виявлені особливості змін показників інтоксикації та імунологічних показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, у яких спостерігається збільшення рівня молекул середньої маси (МСМ), вмісту

фагоцитуючих нейтрофілів (ФН) та зниження кількості Т-лімфоцитів, що зберігається у залежності від тяжкості хвороби.

Встановлено достовірно швидше зникнення основних симптомів захворювання та нормалізацію окремих показників інтоксикації та імунологічних показників у групі хворих, які отримували ципрофлоксацин (ЦФ).

Доведено суттєвий вплив мінімальних бактеріостатичних (МБсК) та бактеріоцидних (МБцК) концентрацій ЦФ на зниження адгезивних властивостей штамів *S. enteritidis* та *S. typhimurium*.

Сформульовані Д.В. Палієм основні наукові положення та висновки базуються на використанні сучасних інформативних методів досліджень, апробованих епідеміологічних, загально клінічних, бактеріологічних, біохімічних, імунологічних, молекулярно-генетичних, серологічних, статистичних методик дослідження. Перераховане вище дозволяє оцінити наукові положення, висновки та отримані результати досліджень Д. В. Палія, як достовірні, обґрунтовані.

Висновки роботи аргументовані, логічно впливають із матеріалу дисертації, відповідають поставленим завданням.

#### **4 Важливість отриманих результатів для науки та народного господарства, рекомендації щодо їх використання**

Вивчено особливості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Встановлено чутливість клінічних штамів сальмонел до лікарських антибактерійних препаратів ципрофлоксацину, ніфуроксазиду та їх вплив на формування резистентності клінічних штамів сальмонел. Доведено терапевтичну ефективність комплексного застосування дезінтоксикаційних, регідратаційних, імунокоригуючих, хіміотерапевтичних препаратів у пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу.

Отримані Д. В. Палієм результати досліджень є науковим обґрунтуванням їх практичного застосування. Автором рекомендовано застосування у практичній діяльності визначення адгезивних властивостей сальмонел, що спричиняють гастроінтестинальну форму сальмонельозу. У якості сучасних та інформативних

показників, що впливають на тяжкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу визначено зростання рівня МСМ, ФН та зниження кількості Т-лімфоцитів.

Важливо, що дисертант запропонував нові генетичні маркери прогнозування тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

## **5 Теоретичне значення результатів дослідження**

Сформульовані Д. В. Палієм положення та висновки базуються на застосуванні сучасних інформативних методів дослідження та методології ідентифікації чистих культур сальмонел, апробованих методів визначення біологічних властивостей сальмонел, резистентності до антибактеріальних препаратів, адгезивності бактерій, а також імунологічних показників у пацієнтів (молекули середньої маси, вміст комплементу, циркулюючі імунні комплекси), клітинного імунітету (вміст фагоцитуючих нейтрофілів, загальне число Т-лімфоцитів пацієнтів) у залежності від тяжкості захворювання.

Результати дисертаційного дослідження дозволяють удосконалити існуючі уявлення щодо діагностики, факторів ризику, лікування хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, а також визначити суттєві фактори, які сприяють одужанню хворих. Наукові положення, отримані у проведених досліджень, слід оцінити як достовірні.

## **6 Повнота викладу наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях**

Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації в повній мірі висвітлено у 18 наукових роботах, з них 5 статей у фахових журналах, рекомендованих МОН України (3 – в Україні, 2 – у зарубіжних фахових виданнях), 13 у збірниках матеріалів науковопрактичних конференцій, конгресів з них 10 - одноосібно. Основні наукові положення дисертації доповідались та обговорювались на науково-практичних конференціях, що проводились у

наукових установах НАМН України, вищих медичних навчальних закладах України та за кордоном.

### **7 Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків**

Дисертантом обстежено 102 хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Контрольна група склала 90 практично здорових людей. За віковою та статевою приналежністю порівнювані групи були ідентичними. Діагноз підтверджений клінічно та бактеріологічно. Вивчено протимікробну активність лікарських препаратів (ципрофлоксацин, ніфуроксазид) та їх вплив на адгезивні властивості мікроорганізмів. Визначено рівень МСМ та ЦІК у сироватці крові, активність системи комплементу, стан систем фагоцитозу, поліморфізм генів Arg753Gln TLR-2 та Asp299Gly TLR-4, експресію генів TLR 2, 4. Клініко-лабораторне обстеження хворих здійснено на етапі госпіталізації, 3-5-й день знаходження в стаціонарі та перед виписуванням.

Статистичну обробку результатів дослідження проведено за допомогою пакету програм SPSS, 12 та «STATISTICA 5,5», непараметричного методу Манна–Уїтні, здійснено семипараметричні визначення базової функції ризику з використанням кускових і експоненційних праярсів для специфікації базового ризику  $\lambda_j$  для кожного часового інтервалу  $j$ . Моделювання тяжкості перебігу сальмонельозу за трансформованими даними здійснено за процедурою QLIM статистичної аналітичної системи SAS.

Таким чином, отримані результати досліджень Д. В. Палія базуються на достатній репрезентативній кількості досліджень, клінічних спостережень. Обсяг наукового матеріалу, комплекс використаних сучасних клінічних, бактеріологічних, біохімічних, імунологічних, математико-статистичних досліджень, об'єм отриманих даних є достатнім для обґрунтування аргументованих висновків.

## **8 Оцінка змісту дисертації**

Дисертація Д. В. Палія написана за загальноприйнятим для таких робіт планом, складається зі вступу, огляду літератури, загальної характеристики обстежених осіб та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, який нараховує 313 джерел (126 кирилицею). Достатньо ілюстрована рисунками і таблицями.

У **вступі** детально обґрунтовано актуальність обраної теми та доцільність проведення комплексного дослідження, сформульовано мету і завдання, відображена наукова новизна і практичне значення роботи, висвітлено апробацію результатів дисертації і особистий внесок здобувача.

У **розділі 1 «ВИЗНАЧЕННЯ КЛІНІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПЕРЕБІГУ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ ТА ДИНАМІКИ ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ІНТОКСИКАЦІЇ»** висвітлено нові дані про патогенез сальмонельозу, сучасну діагностику, нові алгоритми лікування хворих та профілактики недуги. Вказано на неповністю вирішені аспекти лікування і діагностики. Наведені літературні дані відповідають тематиці дослідження.

**Розділ 2 «ОСНОВНИЙ НАПРЯМОК, МЕТОДОЛОГІЯ, МЕТОДИ ТА ОБСЯГ ДОСЛІДЖЕННЯ»** містить два підрозділи: клінічна характеристика хворих; методи та матеріали дослідження, що відповідають основному напрямку роботи. У розділі наведено загальну характеристику 102 обстежених хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які склали основну групу, та контрольної групи – 90 практично здорових осіб. За віковою та статевою приналежністю порівнювані групи були ідентичними. У дисертації використані сучасні методики, які адекватні поставленим завданням.

**Розділ 3 «АНАЛІЗ ЕТІОЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ТА ЧУТЛИВОСТІ САЛЬМОНЕЛ ДО АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ І ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ»** складається з двох підрозділів. У підрозділі «Аналіз етіологічної структури у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу» наведено результати

бактеріологічного дослідження випорожнень та блювоти 102 хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Провідним збудником була *S. enteritidis* (69,61%), у решти пацієнтів була виділена *S. typhimurium*. Підрозділ «Адгезивна здатність сальмонел та особливості формування їх резистентності до антибактеріальних препаратів» містить відомості про адгезивну здатність сальмонел та формування їх резистентності до ципрофлоксацину та ніфуроксазиду, зафіксовано зниження адгезії сальмонел під впливом ципрофлоксацину (у 2,29 раза). Аналіз формування резистентності сальмонел показав зниження адгезії під впливом МБЦК.

Доведено, що антибактеріальні лікарські препарати ніфуроксазид, ципрофлоксацин пригнічують адгезивну здатність клінічних штамів сальмонел і завдяки цій біологічній дії прискорюють процес одужання хворих

Матеріали даного розділу висвітлені у 10 публікаціях.

**У розділі 4 «ДИНАМІКА ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ГАСТРОІНТЕСТИНАЛЬНУ ФОРМУ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВАЖКОСТІ ЗАХВОРЮВАННЯ ТА ЛІКУВАННЯ»**, що містить 3 підрозділи, викладено у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу динаміку клінічних симптомів, показників інтоксикації, імунологічних у залежності від тяжкості недуги та їх зміни під впливом лікувальних засобів. Здійснена оцінка ефективності лікування сальмонельозу за швидкістю видужання. У хворих на сальмонельоз, які отримували ципрофлоксацин, спостерігали швидше зникнення основних симптомів захворювання, виявлені зміни імунної системи (збільшення вмісту фагоцитуючих нейтрофілів, молекул середньої маси у сироватці крові, зниження загальної кількості Т-лімфоцитів) як у порівнянні зі здоровими особами, так і у залежності від тяжкості перебігу захворювання. Отриманий достовірний порівняльний ефект препаратів з медіанним значенням 2,05. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить 7,75 раза і свідчить про значно кращі шанси видужання за призначення ципрофлоксацину порівняно з ніфуроксазидом.

Матеріали даного розділу висвітлені у 6 публікаціях.

**Розділ 5 «ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ TLR-2 ТА TLR-4 ТА РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ TLR-2 ТА TLR-4 В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВАЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ САЛЬМОНЕЛЬОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ»** складається з двох підрозділів: поліморфізм генів TLR2, TLR4 у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу; експресія генів у лімфоцитах крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Тут висвітлені дані з поліморфізму TLR-2 та TLR-4 у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу у залежності від тяжкості перебігу захворювання та рівня експресії даних генів у лейкоцитах пацієнтів.

Встановлено переважання носіїв гомозиготи за Arg/Arg генотипом TLR2 серед здорових та хворих на сальмонельоз. Asp/Asp генотипу TLR4 також переважає в обох групах. Носіїв алелі Gln у 1,76 раза та алелі Gly гена TLR4 у 1,99 раза частіше виявляються серед хворих. Доведено, що носії Gln/Gln генотипу гена TLR2 реєструються у 4,77 та 5,41 раза частіше у групах пацієнтів з середнім та середнім + тяжким перебігом захворювання у порівнянні зі здоровими особами відповідно. Носії алеля Gln виявляються у 1,77 та 2,52 раза частіше серед хворих з середнім та тяжким перебігом недуги. У той же час, носіїв гомозиготного генотипу Gly/Gly гена TLR4 було у 3,61 раза більше при середньому + тяжкому перебігу сальмонельозу порівняно зі здоровими. Алель Gly в 1,90 раза частіше зустрічається серед хворих з середньотяжким перебігом сальмонельозу та у 5,66 раза з тяжким.

Матеріали даного розділу висвітлені у 2 публікаціях.

**Розділ 6 «ФАКТОРИ РОЗВИТКУ ТА ВАЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ ГАСТРОІНТЕСТИНАЛЬНОЇ ФОРМИ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ»** присвячений пошуку факторів, що найбільше впливають на розвиток захворювання та тяжкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Так, моделювання за трансформованими даними за процедурою QLIM дозволяє визначати тяжкість перебігу хвороби. Із скороченням інкубаційного періоду та зменшенням тривалості хвороби зростала тяжкість перебігу сальмонельозу. Підвищена



експресія генів TLR-2 та TLR-4 достовірно обумовлює тяжчий перебіг захворювання ( $p < 0,0001$ ).

Матеріали даного розділу висвітлені у 2 публікаціях.

**У розділі «АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ»** автором проведено детальне обговорення результатів дослідження. Він написаний за традиційним принципом, містить узагальнення власних досліджень дисертанта, що співставленні з сучасними даними інших науковців. Обговорення отриманих результатів обґрунтоване власним баченням виявлених змін.

**Висновків** – 6, вони ґрунтуються на результатах проведених досліджень, чітко сформульовані автором, логічні, відповідають меті і завданням. У висновках обґрунтовано: актуальність і необхідність проведеного дослідження; етіологію, вплив на адгезію і резистентність сальмонел ципрофлоксацину і ніфуроксазиду; вплив ципрофлоксацину на тривалість основних симптомів захворювання і шанси видужання, зміни окремих показників стану імунної системи; поширеність поліморфізму генів TLR-2, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу сальмонельозу; рівень експресії генів TLR-2, TLR-4 у залежності від тяжкості перебігу; моделювання тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу за трансформованими даними за процедурою QLIM.

**Практичних рекомендацій** - 2, обґрунтовані, впливають з матеріалів роботи, сформульовані чітко та можуть бути використані лікарями у клінічній практиці.

**Список використаних джерел** містить достатню кількість сучасних публікацій, широко використані роботи іноземних авторів.

**Автореферат дисертації** відповідає викладеному матеріалу в дисертації.

### **Зауваження**

У дисертації, на мою думку, у першому розділі необхідно було б виділити підрозділи за певними спрямуваннями огляду літератури, другий розділ перевантажений загальновідомими даними (формули для обрахування статистики), відсутні резюме, є орфографічні і стилістичні помилки, деякі

термінологічні неточності, які не мають суттєвого впливу на значущість виконаного дослідження. Принципових зауважень та заперечень щодо поданого і викладеного у дисертації матеріалу немає.

**Для дискусії пропонуються наступні запитання:**

- 1 Чому Вами було обрано для дослідження ципрофлоксацин і ніфуроксазид?
- 2 Ваша думка про перспективу ведення хворих на сальмонельоз без антибактеріальних препаратів.
- 3 Чому для дослідження обрано поліморфізми генів TLR-2 та TLR-4?
- 4 У шостому висновку є висловлювання «із зменшенням інкубаційного періоду та зменшенням тривалості хвороби вірогідність тяжкого перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу зростає», як Ви це пояснюєте?

## **ВИСНОВОК**

Дисертація **Палія Дмитра Володимировича «Гастроінтестинальна форма сальмонельозу: удосконалення діагностики, фактори ризику, лікування»**, подана до спеціалізованої вченої ради Д 05.600.04 при Вінницькому національному медичному університеті імені М. І. Пирогова МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.13 – інфекційні хвороби, науковим керівником якої є доктор медичних наук, професор **Лариса Василівна Мороз**, виконана у Вінницькому національному медичному університеті імені М. І. Пирогова МОЗ України, містить нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачем досліджень, які розв'язують конкретне наукове завдання, що має істотне значення для медицини з удосконалення діагностики та вивчення факторів ризику розвитку гастроінтестинальної форми сальмонельозу шляхом визначення окремих імунологічних та молекулярно-генетичних показників.

Враховуючи актуальність обраної теми, обсяг проведених власних досліджень, обґрунтованість та наукову новизну висновків і практичних рекомендацій, аналіз дисертації, автореферату, опублікованих наукових праць,

дисертація відповідає вимогам пунктів 9, 11, 12 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 року та № 1159 від 30.12.2015 року та № 567 від 27.07.2016) щодо кандидатських дисертацій, а її автор Палій Дмитро Володимирович заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.13 – інфекційні хвороби.

Офіційний опонент

завідувач кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією  
Сумського державного університету МОІІ України,  
доктор медичних наук, професор



М. Д. Чемич

Підпис Чемича м.д. код 05408289  
засвідчує  
Почальник ВК ЧД Киринь в.м.

Відгук надійшов у спеціалізовану вчену раду Д 05.600.04

« \_\_\_\_\_ » лютого 2017 р.