

ВІДГУК

завідувача кафедри мікробіології, вірусології та епідеміології з/к інфекційних хвороб медичного факультету Ужгородського національного університету МОН України, доктора медичних наук, професора Коваль Галини Миколаївни на дисертаційну роботу Джораєвої Світлани Карьягдівни «Мікробіологічне обґрунтування удосконалення діагностики та прогнозування перебігу алергодерматозів», поданої до спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія.

Актуальність теми

За даними клінічних спостережень, алергічні дерматози в останні роки характеризуються поширеним ураженням шкіри, тенденцією до хронізації патологічного процесу, частими тривалими рецидивами з формуванням резистентності до традиційних методів їх лікування, що є причиною тривалої непрацездатності пацієнтів, зниження якості їх життя та соціальної активності, через що алергодерматози на даний час є однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем, що обґрунтовує актуальність наукових досліджень з вивчення їх патогенетичних чинників та удосконалення методів їх діагностики та комплексного лікування. Крім того, характерною рисою алергічних дерматозів є поширені ураження шкіри, висока активність шкірного процесу і приєднання вторинної інфекції. Особливу роль у цьому відіграють суперантигени *Staphylococcus aureus*, його екзотоксини здатні викликати загострення і підтримувати запальний процес в шкірі. При атопічному дерматиті, ускладненому мікробним процесом шкіри, виявлені більш глибокі зміни протибактеріального захисту за рахунок пригнічення антитілоутворення і фагоцитарної активності. Ці порушення призводять до імуносупресії, загострення і рецидивування захворювання. Зважаючи на важливість імунологічних порушень в етіопатогенезі алергодерматозів, вивчення показників імунного статусу, у тому числі фагоцитарної ланки та проти

стафілококових IgE у пацієнтів з АД та ІЕ є необхідним аспектом для оцінки тяжкості його перебігу, прогнозу рецидивування і розвитку ускладнень. Також великий інтерес мають дослідження, спрямовані на вивчення генетичної гетерогенності популяції *S.aureus*, що можуть бути ізольовані з уражених осередків шкіри хворих на алергодерматози. Означені дослідження з застосуванням комплексу бактеріологічних досліджень з визначенням фактичних рівнів антибіотикорезистентності, встановленням фенотипових та молекулярно – генетичних особливостей *S.aureus*, урахуванням імунологічних показників пацієнтів сприятимуть розробці ефективної системи моніторингу та прогнозування схильності до захворювання, створенню розширених критеріїв діагностики, і, як наслідок, може виявитися концептуальною основою для нових напрямків терапії алергодерматозів, що асоційовані з абнормальною колонізацією шкіри стафілококами.

Актуальність даних досліджень обумовили мету дисертаційної роботи: удосконалення діагностики та точності прогнозування розвитку ускладнень алергодерматозів, спричинених стафілококовою інфекцією, на основі оцінки клініко-анамнестичних особливостей їх перебігу, бактеріологічних та імунологічних показників пацієнтів, фенотипових і генетичних характеристик штамів збудника, які асоціюються із різним ступенем тяжкості хвороби.

Дисертаційна робота Джораєвої С.К. виконана у рамках виконання науково-дослідних робіт ДУ „Інститут дерматології та венерології НАМН України”: “Вивчити фактори ризику побічної дії ліків у хворих на поширені дерматози з ускладненим алергологічним анамнезом з розробкою профілактичних і терапевтичних заходів” (№ держреєстрації 0111U003686); „Розробити комплексні методи профілактики ускладнень довготривалої імуносупресивної терапії кортикостероїдами та цитостатиками у хворих на тяжкі дерматози” (№ держреєстрації 0111U003685); „Визначити роль мутацій гену філагрину в порушенні епідермального бар’єру у хворих на хронічні дерматози та розробити методи корекції виявлених розладів” (№ держреєстрації 0117U000983) та „Визначити комплекс фенотипічних та

молекулярно-генетичних характеристик штамів стафілококів, вилучених від хворих на хронічні дерматози, та розробити підходи до терапії цих захворювань” (№ держреєстрації 0119U102335, тобто цілком відповідає пріоритетному напрямку науки і техніки та сучасним положенням щодо вивчення патогенетичної ролі *S. aureus* у перебігу алергодерматозів.

Завершеність дисертаційного дослідження

Для досягнення поставленої мети, а саме удосконалення діагностики та точності прогнозування розвитку ускладнень алергодерматозів, спричинених стафілококовою інфекцією, були визначені завдання, основні з яких включали визначення клініко-анамнестичних особливостей перебігу алергодерматозів, означення складу мікробіоценозів шкіри, верхніх дихальних шляхів і кишечника хворих на алергодерматози, а також вивчення фенотипових характеристик та генетичних маркерів домінуючих видів стафілококів та окремих імунологічних показників пацієнтів з розробкою прогностичних лабораторних критеріїв розвитку тяжких форм цих захворювань.

Аналіз результатів дисертаційної роботи Джораєвої С.К. показав, що всі завдання, поставлені здобувачем, були виконані на достатньому обсязі експериментів з використанням сучасних і адекватних методів дослідження – мікробіологічних, молекулярно-генетичних, імунологічних, математико-статистичних.

Вперше за результатами аналізу клініко-анамнестичних і лабораторних даних щодо особливостей перебігу АД та ІЕ, ускладнених стафілококовою інфекцією, крім схожих закономірностей розвитку їх тяжких форм (чисельність і різноманітність етіопатогенетичних чинників, тривалість захворювання, часті рецидиви хвороби з неповною ремісією і значним ступенем вираженості клінічних симптомів, великі площі уражень шкірних покривів із високими рівнями стафілококової колонізації як в осередках ураження, так і на інтактній шкірі), встановлено ряд істотних відмінностей у розвитку цих алергодерматозів (час дебютування захворювань, показники спадкової обтяженості, кількість загострень захворювання упродовж року).

Вперше виявлено, що збільшення ступеню тяжкості перебігу алергодерматозів (від легкого до важкого) асоціює із поглибленням дисбіотичних змін у складі мікробіоценозів верхніх дихальних шляхів, кишечника і шкіри хворих, із поступовим зростанням частоти виділення з відповідного біоматеріалу *S. aureus* та відносним зменшенням кількості вилучень інших домінантних видів стафілококів. Крім того доведено, що ступінь тяжкості алергодерматозу прямо корелює з рівнем мікробного обмінення як осередків ураження, так і ділянок інтактної шкіри, з найбільш високими показниками щільності мікробної колонізації *locus morbi* у хворих із важкими формами АД - $(7,0 \pm 0,2)$ lg КУО/см² та ІЕ – $(6,0 \pm 0,1)$ lg КУО/см².

Значно поглиблено рівень знань про біологічні властивості стафілококів, що вегетують у різних біотопах хворих на алергодерматози та практично здорових осіб, що дозволило визначити і ті властивості, які сприяють тривалій персистенції стафілококів в *locus morbi* та хронізації спричинюваного ними інфекційного процесу. Штами стафілококів з ділянок ураженої шкіри хворих на алергодерматози найчастіше володіють ферментами агресії (коагулазною, лецитиназною, гемолітичною, ліполітичною і протеолітичною активністю), характеризуються найвищим ($p \leq 0,05$) адгезивно-колонізаційним потенціалом (із рівнями СПА $(3,5 \pm 0,2)$ бактерій/еритроцит, ІАМ $(4,2 \pm 0,3)$ бактерій/еритроцит, АІА $(3,0 \pm 0,2)$ мкг/мл, АІА від 2,0 до 2,3 ОД) та значною поширеністю резистентності до пеніциліну (85,2 %), тетрациклінів (47,9 %), аміноглікозидів (43,7 %), фторхінолонів (31,7 %), лінкозамідів (27,5 %), але у переважній більшості зберігають високу чутливість до препаратів фузидієвої кислоти (92,3 %) та оксазолідинонів (93,7 %), що дозволяє рекомендувати їх застосування на стартовому етапі невідкладної терапії хворих на алергодерматози з важкими інфекційно-запальними ускладненнями до визначення фактичної чутливості збудника до АБП різних хімічних груп.

За результатами генетичного типування (RAPD-PCR) штамів *S. aureus*, вилучених із різних біотопів від хворих на алергодерматози та від здорових осіб, вперше доведено аутопоходження стафілококів, що колонізують *locus*

morbi. Отримані дані вказують на загально високий генетичний поліморфізм (ідентифіковано 16 генотипів трьох відмінних кластерів) штамів *S. aureus* у хворих на алергодерматози та високий рівень спорідненості ізолятів із різних біотопів одного і того ж пацієнта, який (за показником відносної подібності RAPD-спектрів) для штамів із слизових носових ходів та із *locus morbi* сягав $(79,5 \pm 1,6) \%$, а між штамми з ділянок інтактної та ураженої шкіри зростав від $(75,1 \pm 4,4)$ до $(98,8 \pm 0,8) \%$, паралельно збільшенню тяжкості перебігу алергодерматозу від легких до тяжких форм відповідно.

Вперше обґрунтовано доцільність і адаптовано технічні процедури використання аутоштамів *S. aureus* із *locus morbi* для визначення у хворих на алергодерматози показників фагоцитозу і рівня протистафілококових сироваткових Ig E, що забезпечує вищу чутливість виявлення у пацієнтів пригнічення клітинної ланки неспецифічного імунітету та сенсibiliзації до антигенів стафілококів ніж застосування еталонної культури *S. aureus* ATCC 25923.

Вперше розроблено і запропоновано для практичного використання в якості поєднаних або самостійних прогностичних критеріїв високої ймовірності розвитку у пацієнтів тяжкого ступеню алергодерматозів рівнів мікробного обсіменіння осередків ураженої шкіри ($\geq 6,5 \lg \text{ КУО/см}^2$ при АД і $\geq 6,0 \lg \text{ КУО/см}^2$ при ІЕ, $p \leq 0,05$) та специфічних сироваткових IgE до ПКAg ауто*Staph* ($\geq 15 \text{ УО/мл}$ при АД і $\geq 8,5 \text{ УО/мл}$ при ІЕ, $p \leq 0,01$ і $p \leq 0,02$ відповідно).

Наукова новизна підтверджена 2 патентами на корисну модель «Спосіб прогнозування перебігу алергодерматозів, обтяжених стафілококовою інфекцією» та «Спосіб лікування хворих на алергодерматози з порушенням мікробіоценозу кишечника» та галузевим нововведенням «Спосіб лікування хворих на алергодерматози (АД) з порушенням мікробіоценозу кишечника (ПМК)».

Дисертаційна робота написана за загальноприйнятим для таких робіт планом, Дисертаційна робота викладена на 313 сторінках друкованого тексту, містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, чотири

розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки та практичні рекомендації, список використаних першоджерел (35 сторінок) з 327 посиланнями (з них 174 – кирилицею та 153 – латиницею). Робота містить 27 таблиць і 46 рисунків.

У вступі автор розкриває актуальність наукової проблеми, що вивчалась, обґрунтовує доцільність досліджень. У розділі наведено зв'язок роботи з науково-дослідними роботами ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України». Вичерпно та чітко охарактеризовано наукову новизну і практичне значення роботи.

Розділ 1. Огляд літератури. У розділі наведено дані щодо місця алергодерматозів у сучасній клінічній медицині, наведено патогенетичні чинники розвитку алергодерматозів, висвітлені питання щодо характеристики мікрофлори шкіри, верхніх дихальних шляхів і кишечника та клінічна значущість їх порушень у розвитку алергодерматозів, означені особливості стану імунної системи хворих на алергодерматози, обтяжені вторинною стафілококовою інфекцією, надано генетичні характеристики стафілококів, вилучених зі шкіри хворих на алергодерматози.

Розділ 2. Матеріали та методи досліджень. У цьому розділі автор надає відомості про групи обстежених, які увійшли у дослідження, та методам, які були використанні при виконанні задач роботи. Методи адекватні та досить інформативні. Особу увагу дисертант приділяє визначенню протистафілококових IgE у авторській модифікації методики та молекулярно-генетичним методам RAPD-PCR- типування аутоштамів *S. aureus*, вилучених з *locus morbi* і інтактною шкіри та слизової носових ходів хворих на алергодерматози.

Розділ 3. Клініко-анамнестичні особливості перебігу atopічного дерматиту та істинної екземи, склад мікробіоти окремих біотопів у хворих на ці дерматози. Здобувачем проведено порівняння клініко-анамнестичних ознак перебігу atopічного дерматиту (АД) та істинної екземи (ІЕ) із встановленням їх подібних та відмінних характеристик. Автор сумлінно вивчив

якісний та кількісний склад мікробіоценозів шкіри, верхніх дихальних шляхів та кишечника хворих на алергодерматози. За результатами мікробіологічних досліджень доведено наявність прямого (позитивного) кореляційного зв'язку між ступенем тяжкості перебігу дерматозу та рівнем мікробного обсіменіння як осередків ураження, так і ділянок інтактної шкіри хворих. При дослідженні біоматеріалу, отриманого з верхніх дихальних шляхів хворих на АД, встановлено, що при збільшенні тяжкості перебігу захворювання поглиблювалися дисбіотичні зміни у складі мікробіоценозу верхніх дихальних шляхів. Автором показано, що по мірі збільшення ступеня тяжкості алергодерматозів, поглиблювались дисбіотичні зміни у мікробіоценозі кишечника.

Розділ 4. Колонізація шкіри хворих на алергодерматози стафілококами та їх фенотипові та генетичні властивості. У розділі наведено дані щодо вивчення ферментативної та протеолітичної активності ізолятів доміантних видів *Staphylococcus*, вилучених з осередків ураження шкіри хворих на алергодерматози. Проведено дослідження адгезивно-колонізаційного потенціалу штамів стафілококів різного походження та захисних факторів стафілококів: антилізоцимної та антиінтерференової активності. Проведено визначення чутливості штамів *S. aureus* від хворих на алергодерматози до антибактерійних препаратів різних хімічних груп (АБП). Встановлено найбільш високі показники чутливості до препаратів фузидієвої кислоти (90,8 і 92,3 % відповідно) та оксазолідинонів (92,1 і 93,7 % відповідно), що дозволяє рекомендувати останні для застосування в якості АБП на стартовому етапі невідкладної терапії важких форм інфекційно-запальних ускладнень до отримання результату мікробіологічного дослідження з визначенням фактичної антибіотикочутливості патогенів, вилучених із *locus morbi* хворих на алергодерматози.

Розділ 5. Генотипи штамів стафілококів, вилучених із *locus morbi* та з інших біотопів хворих на алергодерматози. За результатами дослідження методом RAPD-PCR генетичної спорідненості штамів *S. aureus*, вилучених із

різних біотопів (слизової носових ходів, уражених та інтактних ділянок шкіри) від хворих на АД, ІЕ та практично здорових осіб, встановлено загально високий генетичний поліморфізм стафілококів та не виявлено єдиного генотипу, чи обмеженої групи домінантних генотипів, які б асоціювались із виникненням інфекційних ускладнень стафілококового генезу та із розвитком важких форм захворювань. При цьому, між штамми *S. aureus*, виділеними із різних біотопів від одних і тих же хворих, встановлено високий рівень генетичної спорідненості, який (за показником відносної подібності RAPD-спектрів) для штамів із слизових носових ходів та із *locus morbi* сягав 79,5%, а між штамми з ділянок інтактною та ураженою шкіри зростав від 75,1 % до майже 99 % паралельно збільшенню тяжкості перебігу у пацієнтів алергодерматозу від легких до важких форм відповідно ($p \leq 0,05$), що обґрунтовує аутопоходження штамів стафілококів, що колонізують *locus morbi*, та визначає доцільність використання аутоштамів *S. aureus* при визначенні показників клітинного та гуморального імунітету у хворих на алергодерматози.

Розділ 6. Фагоцитоз та продукція специфічних імуноглобулінів класу Е у хворих на алергодерматози, обтяжені стафілококовою інфекцією. Ціллю досліджень, викладених в матеріалах цього розділу було вивчення фагоцитозу та специфічних IgE з використанням аутоштамів *S. aureus*, вилучених із *locus morbi* хворих на алергодерматози. Оцінка показників фагоцитозу у хворих на алергодерматози показала кореляцію між тяжкістю перебігу хвороби та рівнем пригнічення клітинної ланки неспецифічного імунітету. При вивченні ступеню сенсibiliзації до антигенів стафілококів у хворих із різними нозоформами алергодерматозів і тяжкістю їх перебігу за оцінкою рівнів специфічних IgE у сироватці крові пацієнтів та контрольної групи здорових осіб, встановлено, що проведення ІФА із застосування ПКАг ауто*Staph* забезпечує вищу чутливість досліджень для виявлення пошукових IgE ніж із ПКАг еталон*Staph*, а зростання рівнів специфічних сироваткових IgE у пацієнтів прямо корелює із збільшенням ступеню тяжкості перебігу у них алергодерматозів ($r_{\phi} > +0,85$). За даними ІФА із ПКАг ауто*Staph* найвищі

($p \leq 0,05$) ступені сенсibilізації до антигенів стафілококів, відносно контрольної вибірки здорових осіб, виявлено у групах хворих із помірним та важким АД та ІЕ.

Розділ 7. Узагальнення та аналіз результатів. Автор досить чітко узагальнює результати проведених досліджень, які присвячені удосконаленню діагностики та точності прогнозування розвитку ускладнень алергодерматозів, спричинених стафілококовою інфекцією, на основі оцінки клініко-анамнестичних особливостей їх перебігу, бактеріологічних та імунологічних показників пацієнтів, фенотипових і генетичних характеристик штамів збудника, які асоціюються із різним ступенем тяжкості хвороби. Автор показує, що практичне використання отриманих результатів досліджень дозволяє підвищити ефективність діагностики та точність прогнозування розвитку у хворих на алергодерматози важких інфекційних ускладнень стафілококового генезу. Автор досить чітко узагальнює результати проведених досліджень, підводячи підсумок представлених у роботі результатів дослідження, обґрунтовує найважливіші факти і положення та робить відповідні змістовні висновки.

Зауваження, пропозиції та запитання до змісту дисертаційної роботи

Під час рецензування матеріалів дисертаційної роботи автору були зроблені певні зауваження щодо оформлення фактичного матеріалу (таблиці, рисунки та інше), які представлені вище по розділах, які було усунуто у процесі роботи над дисертаційним дослідженням. Ці зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Запитання до дискусії:

1. На Вашу думку, чому саме золотисті стафілококи найбільше колонізують вражені ділянки шкіри? Чи виявляли Ви ще якісь мікроорганізми, які були лише на ранах, оскільки золотистий стафілокок живе і на здоровій шкірі.
2. Як саме стафілококи впливають на запальний процес на шкірі? Можливо він там активніше росте, бо знайшов більш сприятливі умови? (більше цукрів і альбумінів у рані)

3. Пацієнтів лікують топічними гормонами. Якщо досліджуваних теж лікували, то яким чином локальне нанесення імуносупресанту впливає на посилену колонізацію стафілококів.

Відповідність напрямку досліджень і змісту дисертації галузі науки, формулі спеціальності та профілю спеціалізованої вченої ради

За напрямком досліджень і змістом дисертаційна робота Джораєвої Світлани Карьягдівни «Мікробіологічне обґрунтування удосконалення діагностики та прогнозування перебігу алергодерматозів», відповідає галузі науки – охорона здоров'я, паспорту (формулі) спеціальності медицина, 03.00.07 – мікробіологія та профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України».

Повнота висвітлення результатів дисертаційного дослідження в опублікованих працях (наукових фахових виданнях) та авторефераті.

За матеріалами дисертації опубліковано 46 наукових праць (2 – у моноавторстві), у тому числі 26 статей, з них 17 у наукових фахових виданнях України, що входять до міжнародних наукометричних баз даних, 8 – в іноземних фахових наукових журналах (3 статті у Scopus); 2 патенти України на корисну модель, 1 авторське право на твір, 1 галузеве нововведення, 16 тез в матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів, симпозіумів. Основні наукові положення і висновки дисертаційної роботи неодноразово доповідалися й обговорювалися на багатьох науково-практичних конференціях, з'їздах, конгресах, семінарах, в тому числі й з міжнародною участю.

Вказане вище, дозволяє визначити, що опубліковані праці в повній мірі розкривають основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації дисертаційної роботи.

Висновок.

Докторська дисертаційна робота Джораєвої Світлани Карьягдівни «Мікробіологічне обґрунтування удосконалення діагностики та прогнозування перебігу алергодерматозів» є закінченим науковим дослідженням, у якому вирішена важлива наукова проблема – підвищення точності прогнозування та

ефективності діагностики ускладнень алергодерматозів, спричинених стафілококовою інфекцією, на підставі вивчення імунологічних і бактеріологічних показників пацієнтів та комплексу фенотипових і молекулярно-генетичних характеристик штамів збудника для розробки персоналізованого підходу щодо діагностики та лікування пацієнтів з алергодерматозами.

Дисертаційна робота Джораєвої Світлани Карьягдівни за обсягом проведених досліджень, інформативністю використаних методів, актуальністю та методичним рівнем, науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю цілком відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567 із змінами та наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія.

Зав. кафедри мікробіології, вірусології,
епідеміології з курсом інфекційних хвороб
медичного ф-ту УжНУ

Коваль

д.м.н., професор Г. М. Коваль

Підпис завідувача кафедри завіряю
Вчений секретар УжНУ

Мельник

О. О. Мельник

