

ВІДГУК

офіційного опонента завідувача кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету ім.М.І.Пирогова МОЗ України, доктора медичних наук, професора Ковальчука Валентина Петровича на дисертаційну роботу Джораєвої Світлани Кар'ягдівни «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

Дисертаційне дослідження Джораєвої Світлани Кар'ягдівни «Мікробіологічне обґрунтування удосконалення діагностики та прогнозування перебігу алергодерматозів» присвячена вирішенню важливої наукової проблеми підвищення точності прогнозування та ефективності діагностики ускладнень алергодерматозів, спричинених стафілококовою інфекцією, для розробки персоналізованого підходу щодо діагностики та лікування пацієнтів з алергодерматозами. Ця проблема залишається актуальною на перетині двох спеціальностей – мікробіології та дерматовенерології.

Досить високий рівень захворюваності на алергічні дерматози, постійно рецидивуючий перебіг, збільшення кількості тригерних факторів, відсутність лабораторних критеріїв визначення тяжкості їх перебігу, недостатня ефективність традиційної терапії та резистентність алергодерматозів до неї вказує на важливість цієї проблеми. Сучасну патогенетичну модель атопічної екземи можливо уявити як ланцюг, окремими ланками якого є генетично детерміновані дефекти бар'єрної функції шкіри, порушення вродженого імунітету, особливості адаптивної імунної відповіді, у тому числі IgE-опосередковані реакції. Крім того, у патогенезі означених захворювань важливу роль відіграють інфекційні агенти, а саме шкірні стафілококи, які колонізуючи генетично схильну до

захворювання шкіру, завдяки наявності суперантигенів та набору факторів патогенності чинять як системну, так і локальну алергізуючу дію на організм людини, а отже можуть призводити до дебюту та прогресування алергодерматозів. Тому, велике значення для розуміння патогенезу алергодерматозів мають дослідження, спрямовані на вивчення тонких механізмів взаємодії між шкірною мікрофлорою і організмом людини. Ефективність застосування різних лабораторних методів для діагностики інфекційно-запальних ускладнень стафілококового генезу у хворих на алергодерматози залишається мало вивченою, а об'єктивних прогностичних критеріїв розвитку тяжких форм цих дерматозів не розроблено, що і вимушує визнати обрану для дисертаційної роботи тему актуальною.

Зв'язок теми дисертації з науковими темами, планами, програмами

Дисертаційна робота Джораєвої С.К. виконана у рамках виконання науково-дослідних робіт ДУ „Інститут дерматології та венерології НАМН України”: П-31.11 “Вивчити фактори ризику побічної дії ліків у хворих на поширені дерматози з ускладненим алергологічним анамнезом з розробкою профілактичних і терапевтичних заходів” (№ держреєстрації 0111U003686); П-32.11 „Розробити комплексні методи профілактики ускладнень довготривалої імуносупресивної терапії кортикостероїдами та цитостатиками у хворих на тяжкі дерматози” (№ держреєстрації 0111U003685); П-43.17 „Визначити роль мутацій гену філагрину в порушенні епідермального бар'єру у хворих на хронічні дерматози та розробити методи корекції виявлених розладів” (№ держреєстрації 0117U000983) та П-48.20 „Визначити комплекс фенотипічних та молекулярно-генетичних характеристик штамів стафілококів, вилучених від хворих на хронічні дерматози, та розробити підходи до терапії цих захворювань” (№ держреєстрації 0119U102335).

Ступінь обґрунтованості основних наукових положень, висновків і рекомендацій, їх достовірність і новизна

Для досягнення поставленої мети, а саме удосконалення діагностики та точності прогнозування розвитку ускладнень алергодерматозів, спричинених

стафілоковою інфекцією, були визначені завдання, які включали вивчення клініко-анамнестичних особливостей перебігу алергодерматозів, визначення складу мікробіоценозів шкіри, верхніх дихальних шляхів і кишечника хворих на алергодерматози. До складу завдань також входило вивчення фенотипових проявів та генетичних маркерів домінуючих видів стафілококів, а також окремих імунологічних показників пацієнтів з розробкою доступних лабораторних критеріїв розвитку тяжких форм цих захворювань та інше.

В процесі виконання досліджень проведено всебічне клініко-лабораторне обстеження 252 хворих на алергодерматози, виділено і досліджено 1356 клінічних штамів бактерій.

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

Вперше за результатами порівняльного аналізу клініко-анамнестичних і лабораторних даних щодо особливостей перебігу АД та ІЕ, ускладнених стафілоковою інфекцією, крім схожих закономірностей розвитку їх тяжких форм встановлено ряд істотних відмінностей.

Доповнено наукові дані щодо кореляції ступеню тяжкості перебігу алергодерматозів 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 видів стафілококів. Крім того доведено, що ступінь тяжкості алергодерматозу прямо корелює з рівнем мікробного обсіменіння як осередків ураження, так і ділянок інтактною шкіри.

Поглиблено рівень знань про біологічні властивості стафілококів, що вегетують у різних біотопах хворих на алергодерматози, визначено ті

властивості, які сприяють тривалій персистенції стафілококів в *locus morbi* та хронізації спричинюваного ними інфекційного процесу.

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*. Нові експериментальні дані засвідчили загально високий генетичний поліморфізм (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 штамами з ділянок інтактною та ураженою 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 достовірно вищу чутливість виявлення у пацієнтів пригнічення клітинної ланки неспецифічного імунітету та сенсibiliзації до антигенів стафілококів, у порівнянні з застосуванням 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 ($\geq 6,5 \text{ lg КУО/см}^2$ при АД і $\geq 6,0 \text{ lg КУО/см}^2$ при ІЕ, $p \leq 0,05$) та специфічних сироваткових IgE до ПКAg аутоStaph ($\geq 15 \text{ УО/мл}$ 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)».

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

Основні наукові положення, висновки й отримані результати повною мірою освітлені в 46 наукових працях (2 – у моноавторстві), у тому числі 26 статтях, 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 патентах України на корисну модель, 1 авторському праві на твір, 1 галузевому нововведенню, 16 тезах 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.

Автореферат дисертаційної роботи оформлено згідно вимог ДАК України, відповідає її змісту та повно висвітлює результати та основні наукові положення дисертаційної роботи.

Структура дисертації та загальна характеристика роботи.

Дисертаційна робота написана за загальноприйнятим для таких робіт планом, 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 рекомендації, список використаних першоджерел (35 сторінок) з 327 посиланнями. Робота містить 27 таблиць і 46 рисунків та 4-ри додатки.

Вступ містить обґрунтування актуальності теми дисертаційного дослідження. У вступі лаконічно і чітко визначено мету дослідження, досягнення якої дозволяє вирішити важливу наукову проблему. Завдання дослідження сформульовані правильно, їх виконання, дозволяє досягти мети.

Вичерпно викладено наукову новизну і практичну значимість роботи, особистий внесок автора у виконання досліджень.

У розділі «Огляд літератури» наведено сучасні уявлення щодо місця алергодерматозів у сучасній клінічній медицині, показані основні сучасні уявлення щодо патогенетичних чинників розвитку алергодерматозів, висвітлені питання щодо складу та функції мікрофлори шкіри, верхніх дихальних шляхів і кишечника та клінічна значущість їх порушень у розвитку алергодерматозів.

У розділі «Матеріали та методи досліджень» автор надає відомості про контингент обстежених та методи, які були використанні при виконанні роботи. Методи адекватні та досить інформативні. Особливу увагу автор приділяє методиці визначення протистафілококових IgE у авторській модифікації та молекулярно-генетичним методам RAPD-PCR- типування ауто штамів *S. aureus*, вилучених з *locus morbi* хворих на алергодерматози.

Третій розділ дисертаційної роботи присвячений висвітленню результатів власних досліджень особливостей перебігу atopічного дерматиту та істинної екземи, складу мікробіоти окремих біотопів у хворих на ці дерматози. Автором проведено порівняння клініко-анамнестичних ознак перебігу atopічного дерматиту (АД) та істинної екземи (ІЕ) із встановленням їх подібних та відмінних характеристик. Значний інтерес являють результати вивчення якісних та кількісних характеристик 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, обґрунтовано використання в якості поєднаних або самостійних прогностичних критеріїв високої ймовірності розвитку у пацієнтів важкого ступеню тяжкості алергодерматозів рівнів мікробного обсіменіння осередків ураженої шкіри

Розділ 4 дисертаційної роботи присвячено результатам дослідження біологічних властивостей стафілококів, виділених від хворих на алергодерматози. У розділі наведено дані щодо ферментативних властивостей, антилізоцимної та антиінтерференової активності ізолятів домінантних видів *Staphylococcus*, вилучених з осередків ураження шкіри хворих на алергодерматози. Проведено дослідження адгезивно-колонізаційного потенціалу штамів стафілококів різного походження. Новизною характеризується встановлений автором сильний зворотний кореляційний зв'язок між показниками адгезивної активності і чутливістю до антибіотиків штамів стафілококів, що мають етіологічне значення у розвитку алергодерматозів.

У п'ятому розділі викладені результати генетичних досліджень 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 від хворих на алергодерматози, одержані пріоритетні дані щодо високого генетичного поліморфізму виділених культур і відсутності єдиного генотипу стафілококів, асоційованого із виникненням алергодерматозів. Встановлено зростання монотипності ізолятів по мірі зростання ступеню важкості захворювання. Саме завдяки генетичному аналізу доведено аутопоходження штамів стафілококів, що колонізують *locus morbi*, та обґрунтовано доцільність використання аутоштамів *S. aureus* при визначенні показників клітинного та гуморального імунітету у хворих на алергодерматози.

Метою досліджень, викладених в матеріалах шостого розділу було вивчення фагоцитозу та специфічних IgE методом кількісного ІФА 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. Значний науковий інтерес являє встановлений автором на підставі результатів

використання у дослідженні аутоштамів стафілококів і еталонних штамів парадокс специфічності імунних механізмів, які традиційно вважаються механізмами неспецифічного захисту.

Встановлений рівень специфічних IgE у сироватці периферичної венозної крові пацієнтів продемонстрував високий рівень сенсibilізації до стафілококових антигенів та пряму кореляцію показників із ступенем важкості перебігу. При цьому переконливо доведено доцільність використання у подібних дослідженнях аутоштамів стафілококів і недостатню інформативність методів з використанням еталонних штамів. Впровадження в лабораторну практику використання повних корпускулярних антигенів аутоштамів стафілококів забезпечить персоналізований підхід у діагностиці і прогнозуванні перебігу алергодерматозів.

Робота завершується аналізом та узагальненням одержаних результатів, висновками та практичними рекомендаціями, які повністю відображають результати проведених досліджень і є логічним завершенням роботи.

В процесі ознайомлення з роботою виникли наступні зауваження:

1. В тексті роботи міститься досить помітна кількість русизмів та зустрічаються окремі термінологічні та фразеологічні неточності, які не впливають на в цілому позитивну оцінку змісту дисертаційної роботи.

2. Дослідження клінічної ефективності використання у лікуванні алергодерматозів препаратів фузидієвої кислоти і мупіроцину не зазначені у завданнях дослідження і не відображені у висновках дисертаційної роботи. Тому викладені у підрозділі 4.4 результати, на мій погляд, до теми дисертаційної роботи мають лише дотичне відношення.

3. Дубляжу табличних цифрових даних у діаграмах у підрозділі 6.2 слід було уникнути.

4. Висновки дисертаційної роботи бажано бачити викладеними більш лаконічно.

Підсумовуючи викладене вище слід зазначити, що зроблені зауваження стосуються форми викладення матеріалу і ніяк не заперечують новизни і науково-практичної значимості роботи. В порядку наукової дискусії бажано одержати відповіді на наступне запитання:

1. Чи можна ґрунтуючись на результатах дисертаційного дослідження стверджувати, що провідним етіологічним чинником атопічного дерматиту та істинної екземи є *S. aureus*.

Автореферат дисертаційної роботи оформлено згідно вимог ДАК України, відповідає її змісту та повно висвітлює результати та основні наукові положення дисертаційної роботи.

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».

Висновок.

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.

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», що висуваються до докторських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія.

Завідувача кафедри мікробіології,
вірусології та імунології Вінницького
національного медичного університету
ім.М.І.Пирогова МОЗ України,
доктор мед. наук, професор



В. П.Ковальчук



Підпис Ковальчук 1317
завіряю
Сімен відділу кадрів
Вінницького національного
медичного університету
ім. М. І. Пирогова
М. Карпова
* * * 20