

ВІДГУК

офіційного опонента завідувача кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України, доктора медичних наук, професора Ковальчука Валентина Петровича на дисертаційну роботу Торяник Інни Іванівни, поданої на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія

Актуальність обраної теми дослідження

Емерджентним зооантропонозним природно-вогнищевим інфекційним захворюванням до сьогодні приділяється недостатньо уваги в зв'язку з наявністю чисельних нагальних медичних проблем. Подібна неувага несе загрозу перетворення у найближчому майбутньому емерджентної спорадичної патології у епідеміологічну проблему великих масштабів. Бабезіоз (B60.0 бабезіоз, бабезійна інвазія – БІ, МКХ-10) визнано одними із найпоширеніших у світі гемопаразитозів, з яким пов'язують значні соціально-економічні збитки не лише на теренах країн третього світу, але й промислово розвинутих країн Євразії та Американського континенту.

Між тим, біологічні властивості збудників *Babesia* spp. в частині особливостей їхньої видової морфології, онтогенетичного циклу розвитку, чутливості до дії антипротозойних засобів залишаються мало дослідженими. Незважаючи на присутність бабезіозу у МКХ, залишаються нерозробленими уніфіковані критерії клініко-лабораторної діагностики хвороби та протоколи лікування хворих. Система статистичного обліку та епідеміологічного розслідування випадків бабезіозу у людей відсутня не лише в Україні, але й у Європі в цілому. При цьому, інфікованість поголів'я собак в Україні, за оцінками окремих авторів, сягає 6 %, а 7 % поширених по усій території країни кліщів є носіями збудників бабезіозу.

На зазначеному тлі відбувається вибухоподібне зростання кількості достовірно діагностованих випадків бабезіозу людини (у дитячій популяції, зокрема), підвищується загальна чисельність цих паразитарних інвазій в

зонах існування іксодових кліщів, великих популяцій диких та свійських тварин, описуються випадки гемотрансфузійної передачі збудників та неонатального бабезіозу у наслідок їх «вертикальної» передачі. У окремих адміністративно-територіальних регіонах США, де налагоджена система реєстрації бабезіозу у людей, щорічний рівень захворюваності оцінюється у 100 випадків на 100 000 населення.

Враховуючи викладене вище, актуальність дисертаційного дослідження Торяник І.І., присвяченого вирішенню важливої науково-медичної проблеми розробки уніфікованого алгоритму комплексної діагностики бабезіозу, не викликає сумнівів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота Торяник І.І. є фрагментом прикладної НДР ДУ «ІМІ НАМН» ЛНМІЗ «Розробка методів лабораторної діагностики бабезіозу» (№ держреєстрації 0114U000242), мала державне фінансування.

Наукова новизна одержаних результатів.

Вперше в Україні Торяник І.І. виконано масштабне всебічне дослідження епідеміології, етіології, патогенезу, клініко-лабораторної діагностики емерджентного зооантропонозного природно-осередкового протозойного інфекційного захворювання з трансмісивним шляхом передачі – бабезіозу.

Дисертантом вперше окреслені концепти щодо співвідносної тропності збудників БІ (*Babesia* spp.: *B. microti* і *B. divergens*) родинній систематиці тварин-годувальників (мишоподібних гризунів родини *Muridae* родів *Myodes*, *Microtus*, *Apodemus*, *Sylvaemus*), біологічних переносників (кліщів надродини *Ixodoidea* родини *Ixodidae*).

На теренах держави Україна визначена роль (ресурсами культуральних та молекулярно-генетичних (ПЛР) методів) роль кліщів надродини *Ixodoidea* родини *Ixodidae* (видів *Ixodes ricinus*, *Ixodes persulcatus* та *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor pictus*) як резервуарів для збудників (*Babesia* spp.: видів *B. microti*, *B. divergens*, *B. venatorum*, *B. canis*), з огляду на інокуляцію

останніх в організм згаданих кровосисних членистоногих та міграцію ним (кишка, її епітелій, гемолімфа, слинні залози).

Вперше застосовано одночасну мікроскопічну діагностику на рівні всіх трьох ланок (збудник *Babesia* spp.) – переносник (кліщі надродина *Ixodoidea* родини *Ixodidae*) – резервуар (сприйнятливі до БІ особи/особини)) ензоотичної / епідемічної системи координат.

Набула подальшого розвитку етіопатогенетична діагностика БІ із застосуванням культурального методу, екстраполяції природного прототипу *in vitro* (враховуючи здатність найпростіших *Babesia* spp. до безстатевого розмноження).

Вперше методом ПЛР здійснена молекулярно-генетична верифікація видової належності культур патогенетично значущих штамів *Babesia* spp. (видів *B. microti*, *B. divergens*, *B. venatorum*, *B. canis*) для українських еко-/біотопів.

Розширено сучасні погляди на антигенні властивості *Babesia* spp. Удосконалені шляхом застосування діагностиків (повні комбіновано-клітинні антигени бабезій) серологічні методи дослідження параметрів імунітету у імунокомпетентних / імунокомпрометованих особин / осіб за умов бабезійної інвазії / підозри на користь щодо неї. Останні відіграють роль важливих критеріїв прогнозу ризику захворюваності на бабезіоз, тяжкості його клінічного перебігу.

Вперше у світі досліджений ультрамікроскопічний профіль еритроцитів периферичної крові за умов бабезіозу та маркерних / коморбідних / супутніх йому станів. Набула подальшого розвитку діагностика специфічних та неспецифічних інокуляційних маркерів (включень) в еритроцити, розширені сучасні уявлення щодо реакцій лейкоцитарної популяції периферійної крові, клітин гемостазу за умов експериментально версії (прототипу) БІ та її клінічного варіанту.

Отримали подальшого розвитку уніфіковані підходи до створення біологічної моделі бабезіозу в експерименті на лабораторних тваринах

(золотистих сирійських хом'яках (*Mesocricetus auratus*), монгольських піщанках (*Meriones unguiculatus*), нелінійних білих лабораторних мишах (*Officinarum mures falsorum eliciatur veritas album*)), способи дослідження клініко-патогенетичних етапів сценарію останнього.

Практичне значення дисертаційного дослідження.

Шляхом визначення біологічних властивостей *Babesia* spp. (культуральних, молекулярно-генетичних, антигенних), їх впливу на тропні органи, цитологічних та серологічних показників у хворих і розробки на основі одержаних результатів уніфікованого алгоритму клініко-лабораторної діагностики бабезіозу підвищено її ефективність.

Опрацьована дисертантом *in vivo* культуральна методика об'єктивно претендує на статус безсумнівного критерію етіологічної діагностики бабезіозу (акт про впровадження від 12.07.2016 р.).

Практичне значення мають розроблені способи уточнення видової належності *Babesia* spp., генетичного моніторингу циркуляції останніх за допомогою молекулярно-генетичних методів, ПЛР діагностики, зокрема (Патент України на корисну модель: «Спосіб детекції патогенних для людини бабезій за допомогою мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції», акти впровадження від 19.01.2016; 04.11.2019 р., Охороноспроможна технологія «Технологія виявлення патогенних для людини бабезій за допомогою мультиплексної полімеразно-ланцюгової реакції» за №18-7 від 29.12.2016 р.).

Практичний зиск опрацьованих у роботі методів дослідження клітинної та гуморальної ланок імунітету, полягає у визначенні опосередкованих параметрів імуносупресії, що є важливими критеріями прогнозу ризику захворюваності на бабезіоз, тяжкості клінічного перебігу останнього (акт впровадження від 19.09.2016 р.).

Розроблені методи мікроскопічної детекції збудників у всіх ланках ензоотичного ланцюга підвищують об'єктивність оцінки епідеміологічної ситуації по бабезіозу (Наукова пропозиція установи ДУ «ІМІ НАМН», яка рекомендована до впровадження в практику охорони здоров'я

«Мікроскопічний спосіб виявлення збудників бабезійної інфекції». - Інформаційний бюлетень. Додаток до «Журналу Національної академії медичних наук України», Київ – 2015, Вип. 39. – С. 59; акти впровадження 18.05.2015 р.; 21.11.2016 р.).

Основні результати розробок знайшли застосування у науково-практичній діяльності академічних науково-дослідних установ НАМНУ, навчально-методичній роботі освітніх, лікувально-профілактичних закладів охорони здоров'я України. Отримані автором результати наукових досліджень використовуються в навчальних програмах, учбово-дослідній роботі медичних закладів післядипломної освіти МОЗУ, МОНУ, державних установах Міністерства аграрної політики та продовольства України, зокрема : кафедр загальної та клінічної патології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, ХНУ МОНУ (акт впровадження від 25.01.2015 р.), медичної паразитології та тропічних хвороб ХМАПО МОЗУ (акт впровадження від 14.04.2015 р.), лабораторій імунореабілітології ДУ «ІМІ НАМН» (акт впровадження від 07.02.2019 р.), нових та маловивчених інфекційних захворювань ДУ «ІМІ НАМН» (акт впровадження від 19.09.2019 р.), Комунального некомерційного підприємства «Міський перинатальний центр» Харківської міської ради (акт впровадження від 27.09.2019 р.).

**Ступінь обґрунтованості основних наукових положень та висновків,
повнота викладення матеріалу, загальна характеристика дисертаційної
роботи.**

Аналіз матеріалів дисертації свідчить на користь цілковитого виконання авторкою всіх поставлених задач. Останнє стало можливим за рахунок застосування широкого спектру сучасних методів. Серед них : мікроскопічні, ультрамікроскопічні, культуральні, серологічні, молекулярно-генетичні, експериментальні, цитологічні, математико – статистичні. З використанням перерахованих методів опрацьовано 519 проб біологічного матеріалу

Не зупиняючись на деталях структурного аналізу змісту дисертаційної роботи, слід зауважити, що висвітлення її основних положень є глибоким і всебічним. Ґрунтовно представлена інформація в розділі за оглядом літератури, укладеним на основі аналізу 446 джерел наукової літератури. Викликає повагу дидактика другого розділу, що орієнтована на аргументацію методів, засобів, підходів, вибору матеріалу. У третьому розділі концептуально викладений матеріал, що стосується застосування культуральних методів дослідження з метою підвищення ефективності етіопатогенетичної діагностики бабезіозу та об'єктивізації феномену здатності найпростіших *Babesia* spp. до безстатевого розмноження. Четвертий розділ присвячений висвітленню ролі сучасних засобів молекулярно-генетичної діагностики у здійсненні верифікації видової належності культур патогенетично значущих штамів *Babesia* spp. для українських біотопів.

У п'ятому розділі показано застосування діагностикумів (повних комбіновано-клітинних антигенів бабезій) у вивченні параметрів імунітету за умов бабезійної інвазії, роль та значення серологічних критеріїв у прогнозі та визначенні ризиків захворюваності на бабезіоз, ступеня тяжкості його клінічного перебігу. Достатньо об'ємно представлені 6-й та 7-й розділи дослідження, де фахово надається інформація за результатами вивчення інокуляційних властивостей *Babesia* spp. (цитологічні та ультрамікроскопічні дослідження), щодо останніх авторка є об'єктивним монополістом у нашій країні.

Восьмий розділ роботи детально репрезентує дані стосовно мікроскопічної інтерпретації впливу факторів патогенності бабезій на внутрішні органи сприйнятливих особин. Авторкою повною мірою висвітлені морфологічні зміни, що об'єктивно є неспецифічними маркерами БІ.

Підсумовує результати експериментальних досліджень дисертаційної роботи опис розробленого автором уніфікованого алгоритму комплексної

діагностики бабезіозу з використанням мікроскопічного, культурального, серологічного, молекулярно-генетичного, серологічного та біологічного методів, визначенням місця та інформативності кожного з методів на етапах діагностики.

Окремої схвальної оцінки заслуговує розділ дисертаційної роботи «Аналіз та обговорення отриманих результатів», у якому академічно покроково описано етіопатогенетичний сценарій розвитку бабезійного інфекційного процесу з підтвердженням окремих грунтакцій результатами власних досліджень. Обрана автором схема викладення матеріалу у цьому розділі може служити зразком методології опису етіопатогенезу любого захворювання інфекційної природи.

У цілому наукові положення і висновки дисертаційної роботи Торяник І.І. ґрунтуються на даних експериментів, статистичної обробки та аналітичного узагальнення їх результатів, повно і логічно відображають зміст досліджень та їхню завершеність. Немає жодного сумніву, що Торяник І.І. шляхом використання комплексу методологічних підходів однієї із медичних наук вдалось розв'язати складну галузеву проблему.

Дисертаційна робота ілюстрована 80 рисунками та 38 таблицями. Автореферат дисертації займає 41 сторінку комп'ютерного тексту, містить всі необхідні розділи, ілюстрований комплексними мікрофотографіями, схемами, таблицями, діаграмами. Зауважень до оформлення дисертаційної роботи та автореферату немає

Наявність ознак академічного плагіату та використання результатів раніше захищеної здобувачем кандидатської дисертації.

Результати рецензування матеріалів дисертаційної роботи «Біологічні властивості *Babesia* spp. та підвищення ефективності діагностики бабезіозу» не виявляють ознак наявності академічного плагіату і дублювання результатів, представлених у кандидатській дисертації Торяник І.І. на тему: «Морфофункціональні зміни селезінки під впливом рентгенівського та лазерного опромінювань» (анатомо-експериментальне дослідження 14.03.01

– нормальна анатомія). (ХДМУ. – Харків, 1995).

Всі представлені у дисертації результати досліджень, на основі яких сформульовано основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації докторської дисертації Торяник І.І. є пріоритетними. Новизна досліджень підтверджена 1 патентом України на корисну модель та двома науковими пропозиціями для охорони здоров'я.

У цілому дисертаційна робота Торяник І.І. справляє позитивне враження, однак варто висловити окремі побажання, зауваження та запитання.

Зауваження, пропозиції та запитання до змісту дисертаційної роботи.

1. У дисертації є поодинокі пунктуаційні неточності, подекуди механічні помилки.

2. В умовах дефіциту в країні сертифікованих тест систем для будь-якої лабораторної діагностики бабезіозу важливим досягненням дисертанта вважаю розробку нею технології одержання повного комбіновано-клітинного антигену бабезій. Між тим у дисертаційній роботі саме цей фрагмент досліджень майже не представлений.

3. Мікросвітлини та електронограми не містять вказівних стрілок щодо елементів, описаних в назвах під малюнками, що в окремих випадках девальвує переконливість ілюстрацій.

4. Окремі мікросвітлини гістології внутрішніх органів тварин контрольної групи не супроводжуються відповідними необхідними для співставлення мікросвітлинами уражених бабезіями органів тварин і патологічні зміни лише описані у тексті.

5. Авторка має значний обсяг патентноспроможного матеріалу і повинна провести його патентний захист.

У порядку наукової дискусії бажано отримати відповіді на наступні запитання:

1. У матеріалах дисертаційної роботи стверджується, що застосування декількох різних способів забарвлення (за Романовським-Гімзою, Дифф-Квік, Райтом та інших) одного і того ж біологічного матеріалу в процесі мікроскопічної етіодіагностики бабезіозу оптимізує її якісну складову. В чому саме полягає оптимізація використання замість універсального методу декількох?

2. В роботі міститься твердження про те, що застосування РЕМ у дослідженні крові сприяє отриманню додаткових аргументів щодо наявності екстраеритроцитарних форм бабезій. Що це за аргументи, якщо не пряма візуалізація клітин збудників?

3. У Ваших дослідженнях у понад 15 % пацієнтів з діагностованою хворобою округу Лайм позитивні серологічні реакції з повним комбіновано-клітинним антигеном бабезій. Як це розцінювати: як перенесений у анамнезі бабезіоз, наявність мікст-інфекції чи прояви перехресного імунітету у відношенні до двох різних збудників?

4. Ураження яких органів і систем, окрім органів РЕС, описані при бабезійній інфекції у людей?

Відповідність напряму досліджень і змісту дисертації паспорту спеціальності та профілю спеціалізованої вченої ради.

Напрямок і зміст дисертаційної роботи на тему: «Біологічні властивості *Babesia* spp. та підвищення ефективності діагностики бабезіозу» повністю відповідає паспорту спеціальності 03.00.07 – мікробіологія та профілю спеціалізованої вченої ради.

ВИСНОВОК.

Дисертаційна робота Торяник І.І. «Онтогенетичний цикл збудників та патофізіологічні аспекти перебігу бабезіозу» є кваліфікаційною науковою працею, у якій представлено теоретичне обґрунтування та нове розв'язання актуальної наукової проблеми мікробіології, а саме, - удосконалення ефективності діагностики бабезіозу на основі нових даних

щодо біологічних властивостей збудника *Babesia* spp., нових аспектів використання мікроскопічного, культурального, серологічного, молекулярно-генетичного методів.

Дисертаційна робота Торяник І. І. «Біологічні властивості *Babesia* spp. та підвищення ефективності діагностики бабезіозу» є такою, що у цілому відповідає вимогам щодо докторських дисертацій, які визначено в пп. 10, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. №567 із змінами та у Наказі МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій», від 12.01.2017 р. №40, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія.

Офіційний опонент :

завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології

Вінницького національного медичного університету

імені М. І. Пирогова МОЗ України,

доктор медичних наук, професор

Валентин КОВАЛЬЧУК

