

ВІДГУК

на дисертаційну роботу Собкової Ж.В. «Гігієнічна оцінка небезпеки циркуляції кандидозної інфекції у хворих та у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару», представленої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.02.01. – «Гігієна та професійна патологія» (091 – біологія)

Актуальність теми дисертаційної роботи. В останні роки кількість інвазивних грибкових інфекцій, що виникають у відділеннях інтенсивної терапії (ВРІТ), помітно зросла, як і рівень захворюваності мікозами в цілому. Їх частка в загальній структурі інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, залежно від спеціалізації відділення, може досягати 30%. Найпоширенішими збудниками мікозів у ВРІТ є *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* і *Rhizopus spp.* Дріжджові і плісняві гриби входять до числа десяти найчастіших патогенів, що виявляються в клініках, а у відділеннях ВРІТ посідають четверте-п'яте місце в етіологічній структурі гнійно-запальних уражень, складаючи 17,1%.

Найчастішою клінічною формою системних грибкових інфекцій є інвазивний кандидоз, який обумовлений проникненням грибів роду *Candida* в тканини макроорганізму і розвитком системного кандидозу із ураженням вісцеральних органів. Інвазивний кандидоз (ІК) посідає третє-четверте місце серед причин сепсису у відділеннях реанімації і інтенсивної терапії, тобто є поширеною нозокоміальною інфекцією у пацієнтів ВРІТ, що характеризується високою летальністю. Загальна летальність коливається від 27 до 99%.

Повсякденна практика у ВРІТ передбачає численні інвазивні втручання, пов'язані з порушенням цілісності шкірних і слизових покривів. Внутрішньолікарняне інфікування пацієнтів ВРІТ грибами може бути як ендогенним (мікробіота самого хворого), так і екзогенним (зараження від інших пацієнтів, персоналу, через медичне обладнання, предмети догляду, повітря). Для реалізації механізмів екзогенного інфікування особливу значимість має рівень та інтенсивність контамінації лікарняного середовища. При підвищеному рівні мікотичного забруднення приміщень, в яких перебувають пацієнти з імунною недостатністю, ризик виникнення захворювань, в тому числі ІК, багаторазово зростає. При цьому слід враховувати, що існують епідемічні біотики грибів роду *Candida*, які можуть

викликати епідемічні спалахи грибкових інфекцій. Між тим, забрудненість дріжджоподібними грибами повітря і змивів з об'єктів зовнішнього середовища в медичних установах залишається мало вивченою.

Враховуючи труднощі ранньої діагностики генералізованого кандидозу, неспецифічний характер клінічних проявів, важливо визначення груп хворих з високим ризиком виникнення системного кандидозу, що дозволяє не лише забезпечити вищий і цілеспрямований рівень клініко-лабораторного моніторингу, але й забезпечувати раціональне призначення етіотропних засобів. У більшості ситуацій проведення видової ідентифікації разом з локальними даними з чутливості збудників до антимікотичних препаратів є достатнім для вибору початкової протигрибкової терапії. Цілеспрямоване визначення чутливості може бути необхідне для оптимізації терапії при недостатній клінічній відповіді. Слід зазначити, що в Україні практично відсутні локальні дані щодо видового складу збудників та рівнів їх стійкості до протигрибкових препаратів, що й обумовлює необхідність моніторингу збудників кандидозу і рівня резистентності виділених клінічних штамів дріжджоподібних грибів.

Водночас, налагодження та здійснення подібного моніторингу потребує удосконалення лабораторної діагностики кандидозної інфекції. Зокрема, це стосується поліпшення виділення грибів роду *Candida* з біологічного матеріалу, оскільки багато видів клінічно значимих грибів потребують вітамінних добавок, а використання для первинного посіву традиційного середовища Сабуро, що містить глюкозу і пептон, часто приводить до помилково-негативних результатів.

Крім того, потребує подальшого вивчення патогенність штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*, яка не може бути оцінена лише по одному з критеріїв, наприклад, за рівнем чутливості до антимікотиків. Визначення адгезивних властивостей може виявитися досить надійним і зручним інструментом для оцінки патогенного потенціалу штамів і прогнозування розвитку грибкової інфекції.

Дисертаційна робота Ж.В. Собкової виконана в Державній установі «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України» в межах науково-дослідної роботи: «Обґрунтування принципів і критеріїв гігієнічної оцінки засобів нормалізації внутрішнього середовища житла» 2015-2017 рр. № держреєстрації 0115U000649.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформованих у дисертації. Значний обсяг виконаних у дисертаційній роботі Ж.В. Собкової досліджень та отримані результати обумовлюють достатню обґрунтованість наукових положень, сформульованих у дисертації.

Наукові дослідження були сплановані та проведені у відповідності до мети роботи та завдань. Методи, застосовані для вирішення завдань роботи, відрізняються різноманітністю та новизною. Дослідження біологічного матеріалу та інтерпретацію отриманих результатів проводили згідно з загальноприйнятими методами. Чутливість до антимікотиків визначали з використанням комерційного набору АТВ Fungus 3 (виробництва BioMerieux, Франція). Адгезивні властивості виділених штамів мікроорганізмів вивчали на еритроцитах людини резус-позитивної 0(I) групи крові за методикою Бриліса (Бриліс В.І.,1986). Вивчення здатності до формування біоплівки проводили згідно з методикою Романової (Романова Ю.М.,2006).

Математична та статистична обробка включала такі методи: розрахунок первинних статистичних показників і оцінка виду розподілу; виявлення відмінностей між групами за статистичними ознаками (за допомогою критеріїв Стьюдента і Фішера); встановлення взаємозв'язку між змінними за допомогою непараметричного кореляційного аналізу. Для опису динаміки використовували регресійні моделі із підрахунком коефіцієнтів рівнянь та коефіцієнтів детермінації за Антомоновим. Для первинної підготовки таблиць та проміжних розрахунків використовували пакет Excel. Основну частину математичної обробки проводили з використанням стандартних статистичних пакетів MedCalc та STATISTICA 10.0 portable.

Наукові положення та висновки, викладені в дисертації Ж.В.Собкової сформульовані на підставі аналізу достовірних результаті власних досліджень, логічно обґрунтовані та відображають зміст роботи.

Наукова новизна одержаних результатів. У ході виконання дисертаційної роботи. дано всебічну гігієнічну оцінку ризику розвитку внутрішньолікарняної інфекції кандидозної етіології в умовах багатопрофільного стаціонару.

Встановлено видовий склад грибів роду *Candida*, які циркулюють у стаціонарі. Проведена оцінка патогенного потенціалу виділених штамів грибів роду *Candida* шляхом визначенням їх біологічних властивостей,

зокрема: рівня чутливості до антибіотиків, здатності до адгезії та здатності формувати біоплівку – для прогнозування розвитку грибкової інфекції.

Визначено найбільш небезпечні об'єкти ризику інфікування та заходи профілактики кандидозної інфекції. Показано, що у внутрішньолікарняному середовищі реанімаційних відділень об'єктами ризику інфікування є руки медперсоналу, апарати штучної вентиляції легень, внутрішньовенні та сечові катетери, повітря, поверхні, біологічний матеріал від хворих. Розроблено алгоритм профілактичних заходів у відділеннях інтенсивної терапії та реанімації.

Практичне значення роботи полягає у вдосконаленні системи моніторингу циркуляції збудників кандидозної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару. За результатами досліджень складено інформаційний лист № 103-2017 «Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару». Інформаційний лист впроваджено у навчальний процес при підготовці і викладанні курсу лекцій та проведенні практичних занять на кафедрі гігієни та екології № 3 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, на кафедрі мікробіології і епідеміології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, на кафедрі військово-профілактичної медицини Української військово-медичної академії. Авторські пропозиції та інформаційний лист впроваджено у практику роботи та використовуються в лікувальному процесі ВРІТ Національного воєнного медичного клінічного центру «ГВКГ» – МО України (м. Київ).

Апробація результатів. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися в матеріалах пленуму “Приоритеты профилактического здравоохранения в устойчивом развитии общества: Состояние и пути решения проблем” (Москва, 2013 р.), на науково-практичній конференції “Фармакотерапія інфекційних захворювань” (Київ, 2014 р), міжнародній науково-практичній конференції “Актуальні проблеми внутрішньолікарняних інфекцій: резистентність мікроорганізмів до антимікробних препаратів, дезінфекція та стерилізація” (Київ, 2014 р.), науково-практичній конференції з медичної мікології (XVII Кашкинські читання, Санкт-Петербург, 2014 р.), II науково-практичному семінарі «Прикладні аспекти в мікробіологічній лабораторній практиці»(Київ, 2016).

Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради. Дисертація Ж.В.Собкової є самостійною завершеною працею, в якій на

основі теоретичних та експериментальних досліджень дано всебічну гігієнічну оцінку ризику розвитку внутрішньолікарняної інфекції кандидозної етіології в умовах багатопрофільного стаціонару.

Дисертаційна робота Ж.В.Собкової «Гігієнічна оцінка небезпеки циркуляції кандидозної інфекції у хворих та у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару» відповідає спеціальності 14.02.01 – «гігієна та професійна патологія» та профілю спеціалізованої Вченої Ради Д 26.604.01 при ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України».

Структура та обсяг дисертації. Дисертація побудована традиційно і має такі розділи: Вона складається зі вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, 4 розділи власних експериментальних досліджень, аналіз та обговорення отриманих результатів, висновки, список використаних джерел. Дисертаційна робота викладена на 169 сторінках друкованого тексту, проілюстровано 21 таблицею та 36 рисунками. Бібліографія містить 183 посилання (з яких 102 іноземними мовами).

Коротка характеристика змісту окремих розділів дисертації. У **вступі** Ж.В.Собкова обговорює актуальність і доцільність проведених досліджень, їх мету і задачі, характеризує наукову новизну даної роботи, теоретичне і практичне значення, впровадження, апробацію отриманих результатів. Це дозволяє автору сформулювати задачі дослідження, виконання яких сприяло досягненню мети роботи – гігієнічна оцінка небезпеки циркуляції кандидозної інфекції у хворих та у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару.

Перший розділ – аналітичний огляд літератури, висвітлює огляд наукової вітчизняної та зарубіжної літератури відносно питання розповсюдження кандидозної інфекції в умовах стаціонару та визначені сучасні заходи її профілактики. Наведені основні підходи до визначення групи ризику розвитку кандидемії у пацієнтів ВРІТ та проведення протимікотичної терапії. З'ясовано сучасний стан проблеми лабораторної діагностики кандидозної інфекції. Визначені та описані особливості морфології та фізіології грибів роду *Candida* та фактори їх патогенності. Представлений огляд літератури свідчить про те, що Ж.В.Собкова ґрунтовно вивчила стан проблеми, що розглядається у роботі, повно проаналізувала доступні документи, дані вітчизняних і зарубіжних досліджень, виявивши при цьому глибоке розуміння проблеми.

В **другому розділі** обґрунтована організація, програмно-цільова структура та методи досліджень. Дослідження проводились поетапно в такій послідовності: збір зразків біологічного матеріалу від хворих та з об'єктів внутрішньолікарняного середовища, висів на стандартне та/або модифіковане середовище Сабуро, облік отриманих результатів, визначення видового складу отриманих штамів грибів роду *Candida* та їхніх біологічних властивостей: рівнів чутливості до антимікотичних препаратів, здатності до адгезії та формування біоплівок. В процесі виконання роботи було вивчено 41910 зразків біологічного матеріалу від хворих, 180 змивів з об'єктів внутрішньолікарняного середовища та проби повітря зібрані за 2008-2015 рр. у відділеннях багатoproфільного стаціонару Національного військового медичного клінічного центру «ГВКГ» та виделені 2088 штамів дріжджових грибів роду *Candida*.

Розділ 3 дисертаційної роботи описує результати власних досліджень, які дали можливість оцінити небезпеку циркуляції кандидозної інфекції у хворих відділень багатoproфільного стаціонару: частоту індикації, видовий склад та мікробіологічні асоціації дріжджоподібних грибів роду *Candida* у різному біологічному матеріалі від пацієнтів багатoproфільного стаціонару. впродовж 8 років (2008 – 2015 рр.). При аналізі отриманих даних встановлено, що дріжджоподібні гриби роду *Candida* упродовж періоду спостереження виділялися в 6,4% випадках дослідження різного клінічного матеріалу (мазки з ротоглотки, носа, вуха, жовч, сеча, виділення з ран, уrogenітальні виділення, біоптати та ін.) і являли собою серйозну клініко-мікробіологічну проблему. Оскільки дріжджоподібні гриби роду *Candida* найбільш часто виділялися при дослідженні зіву, мигдаликів, саме цей матеріал становить найбільшу небезпеку ендogenousного поширення кандидозної інфекції у ВРІТ. Отримані дані засвідчили: виділення грибів роду *Candida* є діагностично значущим; основним контингентом ризику розвитку кандидозної інфекції є пацієнти ВРІТ, і встановлено, що зсув у структурі ВЛІ відбувається за рахунок *C. non-albicans*. Отже, своєчасне виявлення хворих – джерела кандидозної інфекції, – це перше вагоме попередження поширення такої хвороби.

Розділ 4 присвячен проведенню гігієнічній оцінці небезпеки циркуляції кандидозної інфекції у внутрішньому середовищі багатoproфільного стаціонару. У процесі дослідження контамінації дріжджоподібними грибами роду *Candida* лікарняного середовища ВРІТ встановлено, що рівень забруднення перебував на позначці $10,7 \pm 2,5\%$ для змивів з об'єктів навколишнього середовища та $16,7 \pm 4,7\%$ для повітря.

Частка грибів роду *Candida* у змивах, отриманих з об'єктів внутрішньолікарняного середовища у відділенні реанімації, склала $10,7 \pm 2,5\%$. Висока питома частка припадала на епідемічно значущі об'єкти: руки медичного персоналу – $13,3 \pm 6,2\%$ та апарат штучної вентиляції легень – $5,0 \pm 4,6\%$. Повсякденна практика у ВРІТ передбачає численні інвазивні втручання, пов'язані з порушенням цілісності шкірних і слизових покривів. До найбільш поширеним втручань відносять установку внутрішньосудинних і уретральних катетерів. Тому упродовж 2013-2015 рр. вивчено мікроорганізми, виділені з уретральних ($n=56$) та судинних (периферичних і центральних) катетерів ($n=180$). Всі судинні та сечові катетери були вилучені на 7–10 добу після встановлення. Встановлено, що у відділеннях багатопрофільного стаціонару на катетерах із центральних та периферичних вен гриби роду *Candida* були виділені в 12,3% випадків, з уретральних катетерів в 11,5%.

Отримані результати свідчать, що об'єкти лікарняного середовища ВРІТ: руки медичного персоналу, апарати ШВЛ, катетери, медичне обладнання – стають вагомими факторами ризику інфікування пацієнтів ВРІТ дріжджоподібними грибами роду *Candida*. Отже, моніторинг етіології і частоти грибкової інфекції сьогодні не менш актуальний, ніж традиційний моніторинг бактеріальних інфекцій, особливо у ВРІТ, та повинен включатися в плановий графік обстеження внутрішньолікарняного середовища на наявність збудників ВЛІ.

У розділі 5 Проведена оцінка патогенного потенціалу виділених штамів грибів роду *Candida* шляхом визначенням їх біологічних властивостей: рівня чутливості до антімікотиків, здатності до адгезії та здатності формувати біоплівку – для прогнозування розвитку грибкової інфекції.

Аналіз рівнів чутливості до антимікотиків показав, що резистентність усіх збудників ІК склала: 30% до флуконазолу, 18% до вориконазолу та 15% до амфотерицину, при цьому штами *C.albicans* виявляли майже однакову чутливість до флуконазолу, вориконазолу та амфотерицину – $84,2 \pm 5,9\%$, $92,1 \pm 4,4\%$ і $92,1 \pm 4,4\%$ відповідно ($t=1,08$, $p>0,05$).

Визначення адгезивної активності виділених культур *Candida* та їх штамів проводили з використанням формалізованих еритроцитів людини та за показником ІАМ, вважаючи, якщо ІАМ $<1,75$ – штам не адгезивний, $1,76-2,49$ – низько адгезивний, $2,51-4,0$ – середньо адгезивний, $>4,0$ – високо адгезивний. Результати вивчення адгезивної активності виділених штамів

Candida spp. свідчать, що домінували штами з більш вираженими патогенними (адгезивними) властивостями – на частку високоадгезивних штамів припадало 30,3%, середньоадгезивних – 33,3% усіх проаналізованих штамів. Ці результати свідчать про те, що ідентифіковані культури виявляли високу здатність прикріплюватися до клітин людини. Характерно, що виключно високоадгезивні та середньоадгезивні штами були виявлені в сечі та крові, тоді як у мазках із зіву та харкотинні виявляли і неадгезивні, і низькоадгезивні штами. Оскільки адгезія є ключовим механізмом колонізації мікроорганізмів, то саме кров та сечові шляхи за цим показником є воротами для тривалої персистенції, тоді як висока адгезія – одна з обов'язкових передумов для цього.

При аналізі середніх показників здатності до утворення біоплівки штамами, виділеними з різних біоматеріалів, можна зазначити, що найбільшою здатністю до утворення біоплівок володіли штами, виділені із сечі ($0,55 \pm 0,12$ одиниць оптичної густини (ОД ОГ)), а найменшою – штами, виділені із зіву ($0,32 \pm 0,03$ ОД ОГ). Штами, виділені з мокротиння та з крові, мали середні значення цього показника ($0,37 \pm 0,11$ та $0,43 \pm 0,07$ ОД ОГ). Отже, досліджені штами грибів, виділені з різного біологічного матеріалу, розрізняються за здатністю утворювати біоплівку. Найменшою здатністю утворювати біоплівку характеризувались штами, виділені із зіву, найбільшою – штами, виділені із сечі, але без достовірної різниці за цими показниками. Групи штамів з однотипного біологічного матеріалу за цим показником між собою не відрізнялись.

Розділ 6 присвячен удосконаленню шляхів індикації кандидозної інфекції. Встановлено закономірності виділення ізолятів клінічно значущих дріжджів при первинних посівах на середовище Сабуро і модифіковане середовище Сабуро, доповнене дріжджовим екстрактом (ДЕ). Оскільки, на середовищі Сабуро з ДЕ було отримано на $10,8 \pm 0,8\%$ ізолятів дріжджів більше, ніж на класичному середовищі Сабуро, використання модифікованого середовища для первинної індикації грибів роду *Candida* є більш доцільним і може бути загальнорекомендованим.

Розділ 7 дисертації містить аналіз й узагальнення результатів досліджень. Отже, внутрішньолікарняні інфекції, спричинені різного роду мікроорганізмами, стали «головним болем» сучасної медицини. При цьому роль грибів роду *Candida* у структурі ВЛІ у ВРІТ залишається маловивченим питанням, хоча моніторинг етіологічних факторів і частоти грибкової інфекції сьогодні не менш актуальним, ніж традиційний моніторинг

бактеріальних інфекцій, особливо у ВРІТ. В дисертаційній роботі були ідентифіковані основні джерела грибів роду *Candida* й розроблені протиепідемічні та профілактичні заходи щодо попередження їх розповсюдження, а саме: поряд із проведенням відповідної антимікозної терапії, є обробка ротової порожнини 2% розчином хлоргексидину, максимально швидке видалення катетерів, ретельне очищення шкіри рук медперсоналу, систематична обробка поверхонь тумбочок, апарату ШВЛ, ліжок, кранів дезінфекційними засобами та провітрювання лікарняних палат. Згідно з цим, автором була розроблена схема профілактичних та лікувальних заходів щодо розповсюдження системних кандидозів у пацієнтів ВРІТ. Таким чином, результати роботи мають теоретичне значення, адже в межах лікувального закладу завдяки моніторингу кандидозної інфекції стали доступними адекватні розрахунки емпіричної фунгітерапії, стали відомими штамові особливості біоплівкоутворення та адгезії, чутливості до антимікотиків. Практична цінність роботи полягає в удосконаленні лабораторної діагностики, зокрема модифікації середовища для виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida*, розробці профілактичних заходів протидії ВЛІ, викликаних грибами роду *Candida*.

Усі розділи дисертаційної роботи написані на достатньо високому науковому рівні. У кінці кожного розділу наведено узагальнені висновки та перелік наукових публікацій. Висновки викладені чітко, витікають із проведених автором досліджень, є відповідями на поставлені в роботі задачі і свідчать про досягнення поставленої мети.

Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових та фахових виданнях. Поставленні в дисертаційній роботі задачі вирішені у повному обсязі, наукові положення, висновки і рекомендації обґрунтовані і впливають із змісту дисертації та повністю відображені в 23 наукових роботах, з них 4 – у зарубіжних виданнях або наукових періодичних фахових виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз, 2 – у наукових періодичних фахових виданнях України, 17 – в інших наукових виданнях.

При рецензуванні матеріалів дисертаційної роботи виникли наступні зауваження і запитання: в обговоренні є повтор того, що є в огляді літератури. Є помилки набору і невдалі стилістичні звороти, що в цілому не впливають на сприймання змісту роботи. Зазначені зауваження не мають принципового значення і не впливають на наукову та практичну цінність дисертаційної роботи та її позитивну оцінку.

Під час рецензування роботи виникли наступні запитання :

- 1.Які еталонні штами грибів використовували у дослідженні?
- 2.Згідно яких нормативних документів здійснювалась оцінка рівнів антибіотикорезистентності штамів?
- 3.Чи вивчали Ви біоплівкоутворення у *C.non-albicans* ?
- 4.Поясніть доцільність включення в схему профілактичних та лікувальних заходів щодо розповсюдження системних кандидозів у пацієнтів ВРІТ обробку ротової порожнини 2% розчином хлоргексидину.

ВИСНОВОК

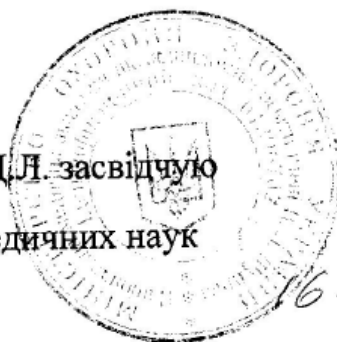
Дисертаційна робота Собкової Жанни Володимирівни «Гігієнічна оцінка небезпеки циркуляції кандидозної інфекції у хворих та у внутрішньому середовищі багатoproфільного стаціонару», подана на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук, є самостійною, закінченою науково-дослідною роботою в якій вирішене актуальне наукове завдання щодо моніторингу розповсюдження кандидозної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару та шляхи її попередження. За актуальністю, науковою новизною та її практичним значенням робота Собкової Ж.В. повністю відповідає пп.9 та 11 «Положення про присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України 24.07.2013 р.(зі змінами), які висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.02.01 – гігієна та професійна патологія.

Професор кафедри мікробіології,
епідеміології та інфекційного контролю
Національної медичної академії післядип-
ломної освіти імені П.Л.Шупика,
доктор медичних наук



Кирик Д.Л.

Підпис професора Кирика Д.Л. засвідчую
Учений секретар, доктор медичних наук



Горачук В.В.

Кирик Д.Л.
16.03.18

