

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора, заслуженого лікаря України Мороз Лариси Василівни на дисертацію Говорової Дар'ї Володимирівни за темою «Інвазивні мікози, викликані дріжджеподібними грибами роду *Candida spp.* і *Cryptococcus spp.*: особливості клініки, діагностики і лікування», що подана до спеціалізованої вченої ради Д 26.614.01 при ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського» НАМН України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю: 14.01.13 – інфекційні хвороби.

1. Актуальність теми.

За даними ВООЗ кожен п'ятий житель нашої планети страждає на мікоз, а також частота таких захворювань серед дорослих становить від 7 до 20%. З кожним днем число таких хворих, незважаючи на очевидні успіхи і досягнення медицини, збільшується. Останні оцінки показують, що найбільш поширеними і небезпечними для життя інвазивними мікозами є: *Candida spp.* і *Cryptococcus spp.* Відомі загальноприйняті фактори ризику розвитку інвазивних мікозів, але для кожного профілю пацієнтів вони мають свої особливості. Для пацієнтів інфекційного профілю, де грибкові інфекції у більшості випадків представлені як мікст-інфекція, опортуністична інфекція, фактори ризику до кінця не вивчені і не описані. Клінічні прояви мікозів досить різноманітні і залежать від стану хворого, фонові патології. Аналіз частоти реєстрації синдромів та клінічних форм, ефективність терапії у пацієнтів з кандидозом, криптококозом та поєднанням цих мікозів в умовах відділення інтенсивної терапії також раніше не проводились. До найбільш несприятливих і тяжких станів у пацієнтів з порушеннями в системі імунітету належать мікози (*Candida* і *Cryptococcus spp.*) центральної нервової системи, які часто тривало протікають у вигляді "безсимптомного" в клінічному і лабораторному плані менінгоенцефаліту, супроводжуються

ускладненнями, серед яких провідне значення належить гіпертензивно-гідроцефальному синдрому. Загально відомо, що максимальна ефективність в лікуванні мікозних менінгоцефалітів досягається при призначенні терапії в перші 24-48 годин після проникнення грибів в ЦНС. В таких складних станах важливо орієнтуватися не лише на загально відомі методи діагностики, але і на застосування високоспецифічних і сучасних методів діагностики: виявлення криптококового антигену реакцією латекс-аглотинації з використанням CALAS і метод ПЛР. Криптококовий антиген можливо виявляти ще на перших етапах інвазії, в зв'язку з цим цей метод належить до ранніх методів діагностики. Система CALAS в Україні з метою діагностики криптококозу раніше не застосовувалася, хоча ця методика широко використовується в провідних клініках Європи, Азії і США. Автор в роботі проводить оцінку діагностичної інформативності системи CALAS для різних категорій хворих, в тому числі і для ВІЛ-інфікованих, проводить порівняльний аналіз з іншими методами діагностики криптококозу. Мікозні менінгоенцефаліти не лише важко діагностуються, але і складно лікуються. Ефективність лікування залежить не тільки від тривалого застосування антифунгальних препаратів, але і від коректного застосуванні патогенетичної терапії. В роботі автор рекомендує хворим з церебральними мікозами проводити лікворокорегуючі маніпуляції з метою корекції гіпертензивно-гідроцефального синдрому.

Незважаючи на уявну достатню вивченість питання інвазивних мікозів, єдиних підходів у веденні і обстеженні пацієнтів з інвазивними мікозами, особливо з ураженням нервової системи, в умовах відділення інтенсивної терапії немає, у зв'язку з цим дослідження, що проведено в цьому напрямку має науково-практичне значення та дисертація Говорової Д.В., що має за мету підвищити ефективність діагностики та лікування пацієнтів з інвазивними мікозами, що викликані дріжджеподібними грибами роду *Candida spp.*, *Cryptococcus spp.* на основі вивчення факторів ризику розвитку,

особливостей клініки та інформативності різних діагностичних методів є актуальною.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана в рамках наукової теми відділу інтенсивної терапії та детоксикації «Удосконалення інтенсивної терапії хворих з бактеріальними та вірусними мікст-нейроінфекціями» (термін виконання 2014-2016 рр., № державної реєстрації 0114U000385. Отримано диплом президії НАМН України за кращу науково-дослідну роботу, яка була виконана у 2016 році).

3. Наукова новизна одержаних результатів. Визначена частота (60,58%) реєстрації і етіологічний спектр інвазивних мікозів у пацієнтів відділення інтенсивної терапії інфекційного профілю. Встановлено, що серед інвазивних мікозів домінував кандидоз (44,70%), рідше виявляється криптококоз (8,82%) і поєднання криптококозу з кандидозом (7,06%). Серед пацієнтів з інвазивним кандидозом у більшості (81,82%) випадках спостерігається ураження декількох анатомічних областей, виділено *Candida albicans* (87,50 %).

Доведено, що до основних факторів ризику розвитку інвазивних мікозів серед пацієнтів відділення інтенсивної терапії інфекційного профілю належить тяжка фонова патологія, тривалі і повторні курси терапії (більше 50 днів), із застосуванням антибактеріальних препаратів та глюкокортикостероїдів (більше 17,6 днів), хронічні вірусні і бактеріальні інфекції.

Представлено детальний аналіз і опис клінічних проявів інвазивного мікозу залежно від фонові патології, основного етіологічного фактору, аналіз основних показників клітинного і гуморального імунітету у даній категорії пацієнтів. Виявлені кореляційні зв'язки між окремими імунологічними показниками і фоною патологією, етіологічними факторами і характером терапії, що проводиться.

Детально представлена частота реєстрації, груп ризику з розвитку мікозів центральної нервової системи. Описані особливості ініціальних симптомів і частота зареєстрованих синдромів у пацієнтів з криптококовим, кандидозним менінгоенцефалітом.

Проведено детальний аналіз інформативності методів діагностики і показників ліквору пацієнтів з мікозами ЦНС. Вперше в Україні з метою виявлення криптококового антигену у біологічних середовищах використана система на основі реакції латекс-аглютинації (CALAS®). Доведена її ефективність як основного методу ранньої і швидкої діагностики криптококового менінгоенцефаліту, особливо у хворих з ВІЛ-інфекцією. Показано, що в 71,43 % випадках у ВІЛ-інфікованих пацієнтів криптококовий антиген в лікворі реакцією латекс-аглютинації виявлявся при негативній мікроскопії на криптокок.

Доведено, що призначення антифунгальної терапії пацієнтам з високим ризиком розвитку інвазивного мікозу в 1,9 рази знижує ризик подальшого розвитку і дисемінації в умовах відділення інтенсивної терапії.

Показано, що в терапію пацієнтів з мікозами ЦНС необхідно включати програмовані лікворокорегуючі маніпуляції з метою корекції рефрактерного гіпертензійно-гідроцефального синдрому і попередження ранньої летальності, особливо у випадках криптококово-туберкульозного ураження ЦНС.

Практичне значення одержаних результатів. Доведена доцільність комплексного мікологічного обстеження пацієнтів при госпіталізації у відділення інтенсивної терапії і надалі на 14-й, 21-й день перебування в стаціонарі, по закінченню або зміні курсів антибактеріальної терапії. Описані групи ризику і чинники, які сприяють розвитку інвазивних мікозів.

Надано детальний опис показників ліквору у пацієнтів з криптококовим і кандидозним менінгоенцефалітом. Показана діагностична цінність методу визначення криптококового антигену в лікворі і крові у пацієнтів з криптококовим менінгоенцефалітом, особливо у ВІЛ-інфікованих

хворих. Показана необхідність і представлені схеми проведення лікворокорегуючих маніпуляцій у пацієнтів з мікозами ЦНС.

Ступень обґрунтованості та достовірності положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Основний зміст роботи в повній мірі висвітлений в опублікованих працях. За матеріалами дисертації опубліковано 18 наукових робіт, у тому числі 6 статей у наукових фахових виданнях (1 одноосібна), які включені в перелік наукових фахових видань України, з них 1 у виданні, яке включено до міжнародних наукометричних баз. Матеріали дисертації представлені на конференціях і з'їздах – 12 тез доповідей. Всі данні, викладені в зазначених публікаціях, за змістом і за формою відповідають дисертаційному рукопису.

За результатами одержаних досліджень було впроваджено нові методики діагностики інвазивних мікозів

Автореферат повністю відповідає структурі і змісту дисертації.

Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради.

Дисертація за актуальністю обраної теми, змістом та обсягом матеріалу, науковою новизною, практичним значенням цілком відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д 26.614.01, спеціальності 14.01.13 – інфекційні хвороби.

Аналіз структури та змісту дисертації.

Основний зміст дисертації викладено на 208 ст. машинописного тексту. Структура роботи зумовлена логікою дослідження і складається із вступу з обґрунтуванням актуальності теми, огляду літератури, методів дослідження, 6 розділів власних досліджень, обговорення результатів, висновків і практичних рекомендацій. Дисертація ілюстрована 31 таблицею, 34 рисунками. Бібліографічний список використаної літератури містить 166 найменувань.

У вступі автор висвітлює стан проблеми, формулює мету, завдання дослідження, обґрунтовує необхідність його проведення, наводить новизну, практичну значимість, впровадження роботи в практику.

Огляд літератури відображає основні напрямки досліджень з проблеми, що вивчається. В ньому висвітленні сучасні погляди на інвазивні мікози, методи їх лабораторної діагностики, особливості ураження ЦНС. В кінці огляду автор приходять до висновків, що існуючі алгоритми діагностики та лікування хворих недосконалі та потребують детальнішого вивчення.

У другому розділі «Матеріали та методи досліджень» викладені напрямки досліджень, обсяги обстежень, та загальна характеристика обстежених осіб. Для виконання завдань дослідження, дисертант обстежив і пролікував 170 пацієнтів, серед яких виявлено 103 з грибковою інфекцією. 76 (44,70%) хворих з кандидозом, у 15 (8,82%) - криптококоз, у 12 (7,06%) криптококоз у поєднанні з кандидозом. Всі хворі за наявності та типом мікозів були розподілені на 4 групи, які порівнювались між собою.

В діагностиці криптококозу використовувалась світова методика, що базується на визначенні криптококового антигену. Детально описана система для виявлення криптококового антигену реакцією латекс-аглютинації (CALAS®) і алгоритм проведення дослідження ліквору і сироватки крові.

Методи статистичної обробки відповідають сучасним вимогам.

Третій розділ "Аналіз частоти та етіології інвазивних мікозів *Candida* і *Cryptococcus* spp у пацієнтів відділення інтенсивної терапії інфекційного профілю". В цьому розділі представлена етіологічна структура інвазивного мікозу, частота виявлення в залежності від факторів ризику розвитку: віку, статі, тяжкої соматичної патології, онкопатології, поліорганної недостатності. По групах представлені результати аналізу впливу попередньої терапії на розвиток кандидозу, криптококозу у хворих відділення інтенсивної терапії інфекційного профілю, проведений аналіз клінічної ефективності превентивної антифунгальної терапії. Доведено, що хворим з інвазивними мікозами антибактеріальні препарати призначались в 2,5– в 3,0 рази частіше у порівнянні з пацієнтами без мікозів. Середня тривалість антибактеріальної терапії при цьому становила $M_e=17,6$ днів, а кількість таких курсів коливалась від 1 до 5. За результатами проведеного

аналізу встановлено достовірний вплив на розвиток ІМ супутньої соматичної, онкологічної патології, тяжкості перебігу хвороби, поліорганної недостатності. Представлені кореляційні зв'язки з цими факторами.

Розділ 4 “Клініко-імунологічні особливості інвазивних мікозів”. В цьому розділі представлений порівняльний аналіз по групам клінічних особливостей інвазивних мікозів в залежності від фонові патології та етіологічного фактору. На тлі основного захворювання клінічні прояви інвазивного мікозу носили, як правило, стертий, другорядний характер, що разом з недостатньою настороженістю лікарів суміжних спеціальностей сприяло пізній діагностиці. Симптомом, який найчастіше спостерігався у хворих з кандидозом та криптококозом була тривала лихоманка. Інші симптоми відрізнялись за частотою в залежності від групи. Доведено, що у хворих з кандидозом частіше спостерігались прояви ураження шкіри, ШКТ, сечостатевої системи. У хворих з криптококозом — ураження ЦНС (15,88%), в 1,18% з генералізованим ураженням органів і систем. У пацієнтів з інвазивним кандидозом в 78,26% випадках спостерігалася мультифокальна колонізація кандид, із залученням до патологічного процесу декількох анатомічних областей (у 81,82% пацієнтів - двох і більше). Клінічними формами інвазивного кандидозу, що найчастіше зустрічаються, були: орофарингеальний кандидоз (15,91%), орофарингеальний кандидоз+кандидоз сечостатевої системи (29,55%), орофарингеальний кандидоз+кандидоз шкіри (10,23%). Прояви і поєднання клінічних форм інвазивних мікозів залежать від фонові патології, основного етіологічного агенту, але в усіх випадках до особливо тяжких форм належать грибово-бактерійні пневмонії (14,77%), кандидозний менінгоенцефаліт (6,82%). В цьому розділі представлений аналіз імунологічних показників у пацієнтів з інвазивним мікозом. Доведено, що більш значні зрушення імунологічних показників спостерігались на тлі криптококозу. Нейтропенія, як найбільш відомий предиктор розвитку ІМ була виявлена лише у 6,47 % хворих. В роботі також були представлені кореляційні зв'язки між характером попередньої терапії, особливо

призначенням антибактеріальної терапії, хіміо- і променевої терапії, етіологічними агентами, і імунологічними показниками.

У розділі 5 «Клінічні особливості ураження нервової системи дріжджеподібними грибами роду *Candida* spp. і *Cryptococcus* spp.» представлено клінічні особливості менінгоенцефалітів криптококової і кандидозної етіології, а саме порівняльний аналіз клінічних симптомів в групах хворих з криптококовим менінгоенцефалітом з ВІЛ-позитивним (15 хворих) та негативним статусом (12 пацієнтів), та кандидозним менінгоенцефалітом (6 випадків). Аналіз даних анамнезу дозволив виявити, що у хворих з криптококовим менінгоенцефалітом без ВІЛ-інфекції на ініціальні прояви впливає преморбідний фон та характер попередніх медичних втручань. Представлені особливості та 3 варіанти розвитку криптококового менінгоенцефаліту у цих хворих. У хворих з ВІЛ-інфекцією криптококоз розвивався як опортуністична інфекція. На момент обстеження ВІЛ-інфекція, відповідала IV клінічній стадії. В усіх 15 випадках криптококовий менінгоенцефаліт поєднувався із туберкульозом органів дихання, в 53,33 % випадків — ЦНС (туберкульозним менінгоенцефалітом). Кандидозний менінгоенцефаліт в більшості випадків (83,33 %) розвивався на фоні онкопатології.

Представлено було, що при мікозних менінгоенцефалітах провідними синдромами були порушення свідомості, загально мозковий синдром, ГГС, базальні та ствольні симптоми, ознаки синдрому поліорганної недостатності, але в частоті і поєднанні цих синдромів є особливості в залежності від етіології.

В розділі 6 “Особливості діагностики ураження нервової системи дріжджеподібними грибами *Candida* spp. і *Cryptococcus* spp” проведено детальний порівняльний аналіз загальноклінічних, мікроскопічних, культуральних досліджень менінгоенцефалітів кандидозної і криптококової етіології в залежності від ВІЛ-статусу, етіології мікозу. Представлені результати інструментальних та патологоанатомічних досліджень мікозів

центральної нервової системи. Встановлено, що загальноклінічне дослідження ліквору у пацієнтів з криптококовим і кандидозним менінгоенцефалітом не являються визначальними, оскільки показники ліквору не відображають в повній мірі характер патологічного процесу, і залежать від фонові патології; мікроскопія ліквору та культуральний метод не достатньо інформативні, оскільки підтверджують діагноз лише в 66,67 % випадках у пацієнтів з ВІЛ-негативним статусом і 33,33 % – у ВІЛ-інфікованих пацієнтів. Вичерпно доведена висока діагностична значимість реакції латекс-аглютинації (CALAS[®]), як методу ранньої і швидкої діагностики криптококозу особливо у хворих з ВІЛ-інфекцією та моніторингу ефективності антифунгальної терапії. У пацієнтів з кандидозним менінгоенцефалітом найбільш інформативним та чутливим методом діагностики слід вважати ПЛР.

У розділі 7 “Особливості терапії пацієнтів з інвазивним кандидозом, криптококовим та кандидозним ураженням нервової системи” акцентована увага на особливості терапії пацієнтів цих станів. Доведена ефективність призначення в стартовій терапії хворим із груп ризику терапевтичних доз антифунгальних препаратів. Так, в дисертаційній роботі ця терапія була призначена 112 (65,88 %) хворим. За даними повторного обстеження (на 14-ий день лікування) з 88 (51,76 %) пацієнтів з ІК, *Candida spp.* була виділена у 45 (26,47 %) хворих. Призначення адекватної антифунгальної терапії дозволило в 1,9 рази знизити ризик розвитку, а в деяких випадках не допустити подальшу дисемінацію кандид, особливо у пацієнтів з тяжкою фонові патологією, при проведенні реанімаційних та оперативних заходів.

Терапія грибкових уражень нервової системи (КрМЕ і КМЕ) є складною і тривалою. Її ефективність визначається не лише призначенням хімічних антифунгальних препаратів, але і грамотним проведенням патогенетичної терапії, особливо відносно корекції гіпертензивно-гідроцефального синдрому. В рамках дисертаційної роботи хворим з

мікозним ураженням нервової системи наряду з тривалим призначенням системних антифунгальних препаратів (флуконазолу, Амфотеріцину В) застосовували програмовану корекцію тиску ліквору частими люмбальними пункціями або постановкою люмбального дренажу. Програмована корекція лікворного тиску і контроль загальноклінічного і мікологічного складу ліквору проводився протягом 14–21 дня. Надалі дослідження ліквору проводилось рідше (раз в 7 – 10 днів). На тлі цієї комплексної терапії у 33,33% пацієнтів з криптококовим менінгоенцефалітом та у 66,67% з кандидозним менінгоенцефалітом в середньому на 5–7 добу спостерігалась стабілізація соматоневрологічного статусу, що чітко було пов'язано з поступовим регресом гіпертензійно-гідроцефального синдрому, інтоксикаційного синдрому. У хворих з криптококовим менінгоенцефалітом зменшення рівня цитозу (на 20,0%), білку, мікроскопічно кількості грибів, що брунькуються, спостерігалось в середньому на 5 добу, з подальшим повільним зниженням впродовж декількох тижнів і місяців. У більшості випадків кандидозного менінгоенцефаліту мікологічну санацію ліквору вдалося досягти раніше, вже на 3-му тижні безперервної антифунгальної терапії. При цьому загальноклінічні показники ліквору нормалізувалися у цих пацієнтів в середньому на 2-му тижні. Позитивна лікворологічна динаміка не корелювала з клінічною. В 83% випадків у пацієнтів зберігалась вогнищева неврологічна симптоматика, частина з якої була обумовлена основним захворюванням. Найбільш високі показники летальності, особливо протягом перших 3-х місяців терапії реєструвались при криптококовому менінгоенцефаліті у ВІЛ-інфікованих пацієнтів (66,67%), рідше серед осіб з ВІЛ-негативним статусом (58,33%). При кандидозному менінгоенцефаліті летальність становила 66,67% і була обумовлена в більшій мірі прогресуванням основного захворювання.

В розділі “Аналіз та обговорення результатів” представлений узагальнений аналіз отриманих результатів роботи з відомими раніше фактами.

“Висновки” відповідають поставленим завданням, обґрунтовані, змістовні, сформульовані чітко і відображають суть роботи.

“Практичні рекомендації” ґрунтуються на здобутках роботи, мають конкретне практичне значення для лікарів та впроваджені в наукову та практичну діяльність багатьох наукових організацій та установ охорони здоров'я.

Основні матеріали дисертації доповідались і обговорювались 7 на науково-практичних конференціях.

Роботу прикрашають фотографії клінічних проявів інвазивних мікозів та клінічні приклади.

В процесі рецензування виникли деякі зауваження та запитання.

Зауваження:

1. На наш погляд огляд літератури дещо обтяжений та його можливо скоротити.

2. Чіткіше вказати критерії включення та виключення пацієнтів в дослідження.

3. Дані, що не мають достовірної різниці, не слід відображати в вигляді таблиць та рисунків в розділах власних досліджень.

4. Привести примітки під таблицями до вимог ДАК.

5. Скорочення визначень клінічних проявів в таблицях розділів 3,4,5 важке для сприйняття

Вказані зауваження не принципові та не зменшують загального позитивного враження від роботи.

В якості дискусії виникли запитання:

1. Скільки взагалі померло хворих та з якими діагнозами?
2. Чи необхідно призначати антифунгальні препарати паралельно з антибактеріальними і в якій дозі?

Висновок:

Дисертаційна робота Говорової Дар'ї Володимирівни «Інвазивні мікози, викликані дріжджеподібними грибами роду *Candida* spp. і *Cryptococcus* spp.: особливості клініки, діагностики і лікування», подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, є закінченим науковим дослідженням, що вирішує науково-практичну задачу по удосконаленню діагностики та лікування інвазивних мікозів.

За актуальністю теми, методичним рівнем, практичною значущістю, ступенем обґрунтованості наукових положень й висновків дисертація відповідає вимогам пунктів 9, 10, 12 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України №567 від 24 липня 2013р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015р. та №1159 від 30.12.2015р.) щодо кандидатських дисертацій, а її автор Говорова Дар'я Володимирівна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.13 – інфекційні хвороби.

Офіційний опонент, завідувач кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України, Заслужений лікар України, доктор медичних наук, професор

Л. В. Мороз

