

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Панченко Людмили Олександрівни на дисертаційну роботу Соломко Юлії Олександрівни «Лабораторна діагностика та молекулярно-епідеміологічні особливості бокавірусної інфекції в Україні», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.06 - вірусологія

### Актуальність вибраної теми дисертації.

Хвороби органів дихання залишаються однією із найбільш актуальних проблем сучасної інфекційної патології в світі, в тому числі і в структурі захворюваності населення України. Це зумовлено, в першу чергу, їх значною поширеністю, досить високими показниками інвалідизації та смертності, значними економічними втратами внаслідок цих захворювань.

В Україні в останні роки, згідно даних офіційної статистики, найвища захворюваність хворобами органів дихання залишається у м. Київ та деяких областях (Львівській, Вінницькій, Дніпропетровській і Харківській).

Важливо підкреслити, що в останні роки світова медична спільнота зіткнулась не тільки з відомими респіраторними патогенами, але із новими збудниками вірусної природи, які набирають все більшу силу на тлі екологічного неблагополуччя і техногенних катаклізмів глобального рівня. Зовсім недавно перелік тільки вірусних збудників, що уражають органи дихання у дорослих та дітей, значно розширився і поповнився бокавірусами людини, коронавірусами SARS, NL63, HKU1, метапневмовірусами генотипів А і В та іншими представниками царства «Virae». Вражає і те, що новий парвовірус людини, а саме бокавірус, який був вперше виявлений у 2005 році у дітей з клінічними проявами гострої респіраторної інфекції, вже в 2010-2015 роках, став одним із провідних збудників у структурі гострих респіраторних вірусних інфекцій дитячого населення Європи. Нещодавно було повідомлено, що захворюваність людини, викликана бокавірусами, коливається в широких межах з різними клінічними проявами, і вони часто виявляються разом з іншими патогенами. Цей феномен на часі призвів до дискусії з приводу ролі бокавірусу людини у формуванні вірусно-вірусних та бактеріально-вірусних асоціацій з розвитком важких мікст-захворювань.

Існування такого феномену безумовно створює значні труднощі для їх клініко-лабораторної діагностики, потребує розробки нових методичних підходів та алгоритмів щодо виявлення кількох збудників та встановлення їх ролі в розвитку респіраторних захворювань. Необхідно підкреслити, що до цього часу в Україні недостатньо уваги приділяється розробці проблеми мікст-інфекцій. Цей факт було підтверджено на Конгресі по поєднаним хворобам (Чернівці, 2009 р.). В доповідях науковців було наведено вкрай низький відсоток (0,4 %) розробок по цій проблемі в різних галузях медицини, в т.ч. в респіраторній патології.

Проблема бокавірусної інфекції зовсім нова для України. Відсутні будь-які дані щодо циркуляції бокавірусів людини, не вивчена їх роль в етіологічній структурі захворювань органів дихання як у дітей, так у дорослих, не розроблена лабораторна діагностика цієї інфекції. Саме тому, актуальність обраної дисертанткою теми не викликає сумніву, а досягнення поставленої мети – дослідити роль бокавірусів людини в етіологічній структурі гострих респіраторних вірусних інфекцій у госпіталізованих дітей України та удосконалити лабораторну діагностику бокавірусної інфекції на основі використання сучасних молекулярно-генетичних методів, дозволяє вирішити надзвичайно важливу науково-практичну задачу сучасної медичної вірусології.

**Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.**

Дисертація є фрагментом планової ініціативно-пошукової науково-дослідної роботи кафедри вірусології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика «Оптимізація стратегій діагностики, профілактики та лікування актуальних вірусних інфекцій на основі клініко-лабораторних та фармакоеконічних досліджень» № держреєстрації 0115U002161.

**Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.**

Вперше в Україні встановлено роль HBoV1 в етіологічній структурі ГРВІ, при інфекційному загостренні бронхіальної астми (БА) та бронхообструктивного синдрому (БОС) у дітей і отримані нові дані щодо молекулярно-генетичних особливостей бокавірусу людини.

Науково обґрунтовано доцільність проведення лабораторної діагностики бокавірусної інфекції з використанням методу ПЛР у моноплексному та мультиплексному форматах.

Вперше розроблено та запропоновано алгоритм етіологічної діагностики, який включав у себе комплекс сучасних молекулярно-генетичних технологій на платформі ПЛР у мульти-плексному форматі та експрес-діагностику швидкими ІХА-тестами. Алгоритм дає можливість не тільки підвищити ефективність лабораторної діагностики та ідентифікувати бокавірус людини, але й виявляти одночасно інші респіраторні збудники.

На основі скринінгових досліджень перещеплюваних культур клітин в умовах *in vitro* розроблено метод культивування та виділення НВоV1, який дає можливість поглибленого вивчення біологічних властивостей цього вірусу для моніторингу за циркуляцією збудника, вивчення протівірусної дії хіміопрепаратів і дезінфектантів.

#### **Теоретичне значення результатів дослідження.**

У дисертаційній роботі наведено теоретичне обґрунтування етіологічної ролі бокавірусу людини першого типу у виникненні гострих респіраторних вірусних інфекцій та інфекційного загострення бронхіальної астми та обструктивного бронхіту. Доведено ефективність використання полімеразної ланцюгової реакції у мультиплексному форматі для лабораторної діагностики бокавірусної інфекції.

Науково обґрунтовано доцільність застосування та висока ефективність алгоритму етіологічної діагностики бокавірусної інфекції, який побудований на комплексному використанні сучасних молекулярно-генетичних методів ідентифікації вірусних і бактеріальних збудників та швидких тестів у дітей різних вікових груп при гострих респіраторних вірусних інфекціях і при інфекційному загостренні бронхіальної астми та обструктивного бронхіту.

#### **Практичне значення одержаних результатів.**

Дисертантка удосконалила лабораторну діагностику бокавірусної інфекції у дітей шляхом оптимізації преаналітичного (відбір та транспортування біологічного матеріалу), аналітичного (впровадження ПЛР у мультиплексному форматі) та пост-аналітичного етапів дослідження на бокавіруси та інші респіраторні віруси.

Надані методичні рекомендації з раціонального використання засобів лабораторної діагностики респіраторних вірусних інфекцій.

Розроблено алгоритм етіологічної діагностики бокавірусної інфекції, що дає можливість встановити причину захворювання в 90,3 % випадків.

Результати дослідження впроваджено в практику вірусологічних лабораторій ДУ «Київський міський лабораторний центр МОЗ України» і Національної дитячої спеціалізованої лікарні «ОХМАТДИТ», клініко-діагностичну лабораторію «Київського міського центру профілактики та боротьби зі СНІДом».

По матеріалам дисертації підготовано та впроваджено інформаційні листи про нововведення в систему охорони здоров'я: № 72-2016 «Алгоритм лабораторної діагностики вірусних і бактеріальних інфекцій у дітей з бронхообструктивним синдромом» і № 73-2016 «Детекція та ідентифікація вірусу грипу та інших респіраторних збудників методом полімеразної ланцюгової реакції в мультиплексному форматі у реальному часі».

Розроблені та впроваджені в практику охорони здоров'я методичні рекомендації «Фармакоекономічні підходи до раціонального використання засобів лабораторної діагностики респіраторних вірусних інфекцій» (Київ 2016).

Матеріали дисертації використовуються в навчальному процесі кафедр вірусології та педіатрії № 1 НМАПО імені П. Л. Шупика. Крім цього, матеріали дослідження увійшли до навчально-методичного посібника для лікарів, лікарів-інтернів і лікарів-слухачів закладів (факультетів післядипломної освіти) «Полімеразна ланцюгова реакція в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб» (Київ 2012) та у «Збірних тестових завдань з вірусології» (Київ 2015).

**Ступінь обґрунтованості та достовірність положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Дисертаційна робота базується на достатній кількості експериментальних та клінічних спостережень. В роботі було використано 750 мазків та змивів з носу, 1728 моношарів перещеплювальних культур клітин ліній СНЕВ, ПТП, MDCK, L41, Hela, Нер-2, 400 швидких ІХА-тестів, 224 фарбованих препарати для світлової мікроскопії, 88 зразків ДНК бокавірусів для генотипування тощо. Методи

досліджень, що використані в роботі, вражають своєю сучасністю та інформативністю. Це методи виділення геномної РНК/ДНК, різні варіанти полімеразної ланцюгової реакції в моно- та мультиплексному форматі для одночасного визначення 6,12 або 16 вірусних збудників з детекцією продукту ампліфікації у реальному часі, секвенування геному за Сенгером, швидкі тести на основі імунохроматографічного аналізу. Поряд з цим, в роботі застосовані класичні вірусологічні методи культивування перещеплюваних клітинних культур, виділення, адаптації та накопичення вірусу в культурах клітин, визначення інфекційного титру вірусу, фарбування препаратів та морфологічні дослідження, здійснені методами світлової та люмінесцентної мікроскопії. В цілому, вірусологічні дослідження, що застосовані у роботі, виконані за сучасними технологіями, методики були адекватними щодо поставлених задач і відображали сучасний методичний рівень досліджень.

Математичний і статистичний аналіз отриманих результатів досліджень здійснювали за допомогою ліцензійного програмного пакету Statistica for Windows 6.1. Оцінку достовірності отриманих результатів здійснювали за t-критерієм Ст'юдента. Для параметричних показників здійснювали розрахунок середнього арифметичного ( $M$ ), помилки середньої ( $m$ ). Результати оцінювали на рівні достовірності не більше  $p < 0,05$  (Лапач С. Н. та співав., 2000; Атомонов М.Ю., 2006).

Аналіз кількості і якості використаної літератури свідчить про те, що дисертант у достатній мірі вивчила проблему.

Наукові положення, висновки у кількості 6, практичні рекомендації, наведені в дисертації, логічно випливають з її змісту, базуються на достатній кількості спостережень, адекватному методологічному забезпеченні та статистичній обробці матеріалу, що дозволяє вважати достатнім ступінь їх обґрунтованості. Матеріали дисертації в повній мірі ілюстровані 12 таблицями та 37 малюнками, що додають наочності наведеній інформації.

Таким чином, методичний рівень дисертаційної роботи досить високий завдяки використанню сучасних інформативних методів дослідження, достатньому обсягу клінічного та експериментального матеріалу та всебічному аналізу

отриманих результатів із використанням методів статистики, що й підкреслює вірогідність представлених даних, які становлять основу наукових положень, висновків і рекомендацій.

### **Структура та обсяг дисертації.**

Дисертаційна робота оформлена згідно існуючим вимогам, що пред'являються до кандидатських дисертацій, побудована за класичним стилем. Текст дисертації викладено українською мовою на 140 сторінках основного тексту, складається зі змісту, списку умовних скорочень, вступу, 6 розділів (огляд літератури, матеріали та методи досліджень, 4 розділи власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень), висновків, практичних рекомендацій. Показчик літератури містить 210 джерел, з яких 177 джерел опубліковано латиницею. Кожен розділ завершується узагальненням отриманих результатів, що значно покращує сприймання інформації.

У вступі чітко висвітлена актуальність проблеми, мета, наукова новизна і практичне значення роботи, особистий внесок автора у проведене дослідження.

У першому розділі поданий аналітичний огляд літератури, висвітлені основні питання щодо сучасних уявлень про бокавіруси людини, їх місця в класифікації, загальна характеристика та біологічні властивості. Наведені дані про клінічні особливості перебігу бокавірусної інфекції у дітей та дорослих, проаналізовано методи лабораторної діагностики бокавірусної інфекції людини, які застосовуються в різних країнах світу. Окреслені невирішені питання щодо ролі бокавірусів людини в етіологічній структурі захворювань органів дихання, ефективності тих чи інших підходів та технологій діагностики, молекулярно-генетичних особливостей циркулюючих в світі штамів.

Проведене дисертантом дослідження літературних джерел на глибину 13 років від моменту відкриття збудника, демонструють обізнаність задач, що вивчаються.

У другому розділі наведена характеристика матеріалу і методів дослідження, опис обстежених хворих, їх розподіл на клінічні групи на різних етапах дослідження.

Наступні три розділи присвячені саме вивченню окресленої проблеми.

Завершує роботу розділ, який містить викладення результатів власних досліджень в порівнянні із даними літератури. Далі наведено висновки та практичні рекомендації, які в повній мірі відповідають поставленій меті та задачам дисертаційної роботи, і є логічним завершенням проведених досліджень.

### **Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих роботах та авторефераті**

Матеріали дисертації були висвітлені у 20 наукових працях, з них 11 статей у фахових журналах і збірниках наукових праць (1 – одноосібна, 10 – у співавторстві), 4 тез у збірниках матеріалів наукових конференцій та з'їздів, 2 навчально-методичних посібника, 1 методичні рекомендації та 2 інформаційні листи. Всі положення дисертації, які винесено на захист, знайшли своє відображення в опублікованих матеріалах і обговорювалися на медичних конференціях і конгресах.

Автореферат дисертації повністю віддзеркалює основні положення роботи і відповідає сучасним вимогам.

### **Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення**

Принципових зауважень до тексту та результатів дисертаційної роботи, а також автореферату немає. Мають місце деякі повтори тих положень, які вже аналізувалися в "огляді літератури". Ряд розділів дещо перевантажені таблицями та рисунками. Зустрічаються стилістично невдалі вислови та громіздкі речення, але вказані зауваження непринципові і не знижують загальної цінності роботи.

В плані дискусії пропоную дисертанту відповісти на наступні питання:

1. У зв'язку з вивченням порівняно нещодавно ізольованого від хворих ГРВІ бокавіруса, віднесеного до емерджентного патогену, бажано було б почути основні риси, які дали підставу віднести його до емерджентних збудників.
2. Чи були виявлені у ваших дослідженнях серед хворих ГРВІ випадки з бокавірусним субклінічним перебігом, або з носійством бокавірусів у практично здорових дітей контрольної групи. Якщо такі випадки були, то яка була їх частота?
3. В останній час в медичній літературі широко дискутується проблема мікст-інфекцій, обумовлених асоціацією збудників. У зв'язку з цим, деякі науковці та клініцисти призивають до перегляду відомої триади Генле-Коха.

З урахуванням значної частоти виявлених Вами мікст-інфекцій у хворих дітей важливо було б знати Вашу думку по цьому питанню і ролі в етіопатогенезі захворювання асоціацій збудників.

### **ЗАКЛЮЧЕННЯ**

Дисертація Соломко Юлії Олександрівни на тему «Лабораторна діагностика та молекулярно-епідеміологічні особливості бокавірусної інфекції в Україні» є закінченою науковою працею, яка виконана під керівництвом завідувача кафедри вірусології НМАПО імені П. Л. Шупика доктора медичних наук, професора І. В. Дзюблик є завершеною науково-дослідною роботою, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати і вирішена конкретна науково-практична задача медичної вірусології – встановлення ролі бокавірусів людини в етіологічній структурі гострих респіраторних вірусних інфекцій у госпіталізованих дітей України та удосконалення лабораторної діагностики бокавірусної інфекції. Результати проведених досліджень і зміст дисертації відповідають спеціальності 03.00.06 – вірусологія.

За актуальністю теми, об'ємом і методичним рівнем досліджень, науковою новизною отриманих результатів, практичній значимості, дисертаційна робота



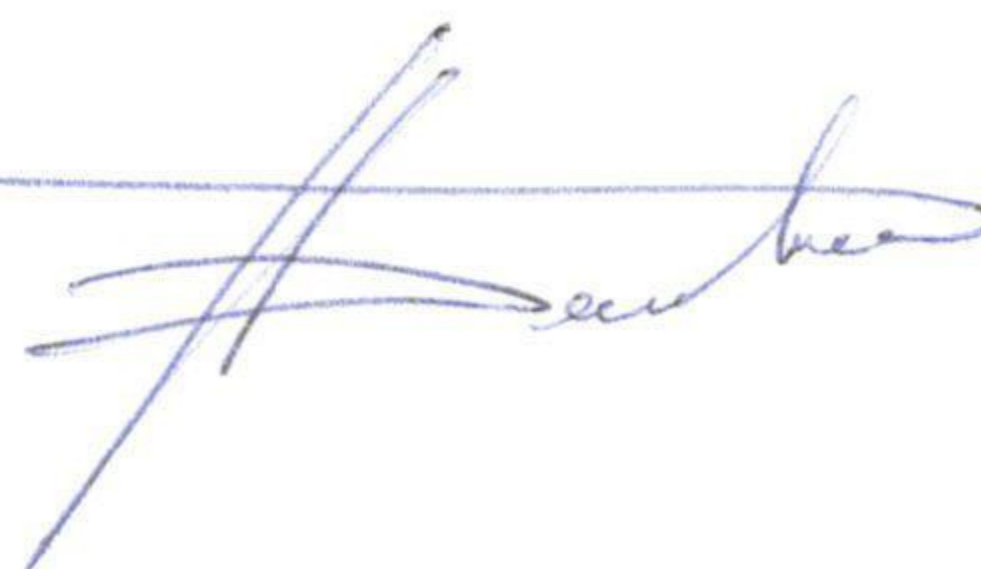
Соломко Ю.О. на тему «Лабораторна діагностика та молекулярно-епідеміологічні особливості бокавірусної інфекції в Україні» цілком відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р., а її автор, заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.06 – вірусологія.

**Офіційний опонент:**

головний науковий співробітник  
лабораторії антимікробних засобів  
ДУ «Інститут мікробіології та імунології  
імені І. І. Мечникова» НАМН України,  
доктор медичних наук, професор



**Л. О. Панченко**



**Н.А.Белякова**