

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М.І. ПИРОГОВА**

ПАЛІЙ ДМИТРО ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 616.98:616.34-002.1-07-08

**ГАСТРОІНТЕСТИНАЛЬНА ФОРМА САЛЬМОНЕЛЬОЗУ:
УДОСКОНАЛЕННЯ ДІАГНОСТИКИ,
ФАКТОРИ РИЗИКУ, ЛІКУВАННЯ**

14.01.13 – інфекційні хвороби

**Автореферат дисертації
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

Вінниця – 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор, Заслужений лікар України
Лариса Василівна Мороз,
Вінницький національний медичний університет
ім. М.І. Пирогова МОЗ України,
завідувач кафедри інфекційних хвороб з курсом
епідеміології.

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Чемич Микола Дмитрович,** Сумський державний університет МОН України, завідувач кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією;
- доктор медичних наук, професор **Копча Василь Степанович,** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я Горбачевського МОЗ України» професор кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією, шкірними та венеричними хворобами.

Захист дисертації відбудеться «22 лютого» 2017 року о 13 годині на засіданні спеціалізованої Вченої ради Д 05.600.04 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова 56).

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий «20» січня 2017 року.

Вчений секретар
спеціалізованої Вченої ради
д. мед. наук, професор

Токарчук Н.І.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Сальмонельоз залишається однією з найпоширеніших гострих кишкових інфекцій в світі, за даними ВООЗ щорічно реєструється близько 100 млн випадків даного захворювання (Чемич О.М., 2015; Корбут О.В., 2015). В Україні також в останні роки спостерігається тенденція до зростання як поодиноких випадків сальмонельозу, так і його спалахів (Андрейчин М.А., 2016; Ревенко Г.О., 2015).

Відомо, що визначення інвазивних властивостей збудників сальмонельозу в більшості стосується так званих музейних штамів, а не безпосередньо отриманих від хворих збудників (Ковальчук В.П., 2015; Etienne G., 2013). Згідно патогенезу сальмонельозу адгезія збудників відбувається саме в тонкій кишці, та на процес прикріплення сальмонел впливають фактори патогенності збудника та фактори резистентності кишки (Сміян О.І., 2015; Christopher M., 2013).

Для лікування гастроінтестинальної форми сальмонельозу широко застосовуються протимікробні препарати, та їх ефективність напряму пов'язана з чутливістю до них збудників захворювання (Голяр О.І., 2015; Simon L. 2013). В останній час спостерігається зростання циркуляції полірезистентних штамів сальмонел (Harrois D., 2013; Loharikar A, 2013). Припускають, що це перш за все пов'язано з нераціональним застосуванням антибактеріальних препаратів (Soren L., 2013; Назарчук О.А, 2016). Разом з тим, в Україні в загальній клінічній практиці більшість штамів сальмонел, що виділені від хворих, або взагалі не тестуються на чутливість до протимікробних препаратів, або результати отримуються вже після початку етіологічної терапії, що значно знижує її ефективність.

Одним з провідних симптомів гастроінтестинальної форми сальмонельозу є інтоксикаційний, основною складовою якого є ендогенна інтоксикація (ЕІ), тривалість та вираженість котрої визначають тяжкість перебігу захворювання та його наслідки (Guillir L., 2013; Mellou K., 2013). Потребує подальшого вивчення комплексна оцінка синдрому ендогенної інтоксикації при гастроінтестинальній формі сальмонельозу, що може уточнити важливі питання патогенезу захворювання, сприяти більш точній оцінці ступеню тяжкості хвороби та корекції призначення протимікробних препаратів.

Розвиток імунної відповіді організму на появу генетично чужерідних мікроорганізмів обумовлений взаємодією вродженого та набутого імунітету. В останні роки значна кількість досліджень підтверджує важливу роль поліморфізму генів тол-подібних рецепторів (TLRs), як основних рецепторів вродженого імунітету, в патогенезі різних, в тому числі і інфекційних, захворювань людини (Мороз Л.В., 2015; Дубинська Г.М., 2016). Отримані різними авторами дані вказують на наявність кореляційних зв'язків підвищеної експресії генів TLR2 та TLR4, з тяжкістю клінічного перебігу (Абатуров А.Е., 2012, Kawai T., 2009). В доступній літературі, нажаль, не було знайдено даних про дослідження поліморфізму означених генів TLR та їх експресії у хворих на гострі кишкові інфекції, зокрема на сальмонельоз.

Саме з цієї причини визначення адгезивних властивостей сальмонел, розвитку їх резистентності до протимікробних препаратів та можливість

прогнозування тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу для підвищення ефективності терапії є доцільним та потребує подальшого уточнення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно з науковим планом НДР Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України за темою: «Особливості перебігу вірусних та бактеріальних інфекцій в залежності від генетичних, морфологічних та метаболічних факторів.» (номер державної реєстрації 0104 U 003552)

Мета дослідження – удосконалити підходи до діагностики та встановити фактори ризику розвитку гастроінтестинальної форми сальмонельозу, шляхом визначення окремих імунологічних та генетичних показників.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати етіологічну структуру та чутливість сальмонел до антибактеріальних препаратів і особливості формування резистентності до них.

2. Визначити клінічні особливості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу та динаміку окремих імунологічних показників та показників інтоксикації.

3. Встановити поширеність поліморфізму генів TLR-2, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

4. Визначити рівень експресії генів TLR-2, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

5. Визначити клінічні, біохімічні та молекулярно-генетичні фактори ризику розвитку гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

Об'єкт дослідження - гастроінтестинальна форма сальмонельозу .

Предмет дослідження - клініко-імунологічні, біохімічні, мікробіологічні та молекулярно-генетичні показники

Методи дослідження: епідеміологічні, загальноклінічні, бактеріологічні, біохімічні, імунологічні, серологічні, молекулярно-генетичні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів.

Доведено суттєвий вплив мінімальних бактеріостатичних (МБсК) та бактеріоцидних (МБцК)концентрацій ципрофлоксацину (ЦФ) на адгезивні властивості штамів *S. enteritidis* та *S. typhimurium*. При його застосуванні адгезія збудників знижувалась в 1,13-1,82 рази більше, ніж при аналогічних дозуваннях ніфуроксазиду (НФ). Було також виявлено зростання резистентності штамів сальмонел, що були виділені у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу до призначених антибактеріальних препаратів.

На основі комплексного лабораторного обстеження виявлені особливості змін окремих показників інтоксикації та імунологічних показників у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Встановлено, що у даних хворих спостерігається збільшення рівня молекул середньої маси (МСМ), вмісту фагоцитуючих нейтрофілів (ФН) та зниження кількості Т-лімфоцитів, що зберігається в залежності від тяжкості хвороби.

Встановлено достовірно більш швидке зникнення основних симптомів захворювання та нормалізацію окремих показників інтоксикації та імунологічних показників в групі хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які

отримували лікування ЦФ із застосуванням для оцінки ефективності різних схем лікування семипараметричного визначення базової функції ризику.

Вперше проведено визначення поліморфізму генів TLR2 та TLR4 у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу та співставлення тяжкості захворювання з наявністю поліморфізму даних генів.

Вперше встановлено високі рівні експресії генів TLR2 та TLR4 в лімфоцитах крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу та їх зростання в залежності від тяжкості захворювання.

Вперше за допомогою процедури QLIM статистичної аналітичної системи SAS проведено моделювання тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу та встановлений вплив на перебіг захворювання, тривалість інкубаційного періоду хвороби, поліморфізм генів TLR-2 та TLR-4, підвищення експресії генів в лімфоцитах крові та рівня МСМ, вмісту ФН в сироватці крові.

Практичне значення роботи. Рекомендовано застосування в практичній діяльності визначення адгезивних властивостей сальмонел, що викликають гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

В якості сучасних та інформативних показників, що впливають на тяжкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу, визначено зростання рівня МСМ, ФН та зниження кількості Т-лімфоцитів .

Запропоновані нові генетичні маркери прогнозування тяжкості перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

Впровадження результатів дослідження в практику. Результати досліджень впроваджено в навчальні програми кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології; мікробіології, вірусології, імунології; дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України; кафедри мікробіології та інфекційних хвороб Ужгородського національного університету; кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького; кафедри інфекційних хвороб Тернопільського державного університету ім. І.Я. Горбачевського), в роботу інфекційних відділень МКЛ №1 м. Вінниці, інфекційного відділення Вінницької ЦРЛ, кишкового відділення Хмельницької міської інфекційної лікарні, Івано-Франківської обласної клінічної інфекційної лікарні.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням та виконана на кафедрі інфекційних хвороб з курсом епідеміології імені М.І. Пирогова МОЗ України. Дисертантом особисто проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз та узагальнення даних наукової літератури, сформульовані мета та завдання дослідження, розроблена індивідуальна карта реєстрації хворих. Під час роботи над дисертацією автор проводив самостійне клінічне обстеження хворих, оволодів методиками проведення мікробіологічних, біохімічних, імунологічних та молекулярно-генетичних досліджень. Дисертантом особисто систематизовані отримані дані, узагальнені результати дослідження, написано всі розділи роботи, сформульовано висновки та практичні рекомендації, підготовлені до друку наукові праці та виступи, впроваджені результати наукових розробок в роботу медичних закладів. Статистична обробка отриманих результатів дослідження проводилась дисертантом на кафедрі соціальної медицини та охорони

здоров'я ВНМУ ім. М.І Пирогова під керівництвом професора Очередько О.М.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднювалися та обговорювалися на міжнародних науково-практичних конференціях: Сьомому Російському конгресі «Педиатрическая анестезиология и интенсивная терапия (Третьи Михельсоновские чтения 28 сентября – 1 октября 2013 г., Москва, 2013); The 29th Annual Meeting of the European of Pediatric Infectious Diseases. June 7-11. – Hague, Netherlands, 2011); XIV, XV конгресах світової федерації українських лікарських товариств (4-6 жовтня 2012, Донецьк-Київ-Чикаго, 2012, 16-18 жовтня 2014, Чернівці-Київ-Чикаго, 2014), The 4-th Congress of the European Academy of Pediatric Societies, 5-9 October 2012 (Стамбул, Туреччина, 2012), XIII з'їзді товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (Ялта, 2013), На міжнародних науково-практичних конференціях «Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів (Вінниця, 2012, 2014, 2016); науково-практичних конференціях за участю міжнародних спеціалістів «Стратегія і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями» (Харків, 2012); Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями (Харків, 2014); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Довкілля і здоров'я» (Тернопіль, 2014, 2015), VII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології (Вінниця, 2013); Другій науковій конференції молодих вчених з міжнародною участю (Вінниця, 2013, 2015), щорічній одинадцятій науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни та туберкульозу» (Львів 2014) IX з'їзді інфекціоністів України 7-9 жовтня 2015 (Тернопіль, 2015).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 18 наукових праць: 5 у фахових журналах, рекомендованих МОН України, з них 2 – у виданнях України, 3 у зарубіжних фахових виданнях, 13 в збірниках матеріалів науково-практичних конференцій, конгресів, з них 10 – одноосібно.

Обсяг і структура дисертації Дисертація викладена на 161 стр. комп'ютерного тексту; містить вступ, огляд літератури, загальну характеристику обстежених осіб, та методів дослідження 5 розділів власних досліджень, аналіз та узагальнення одержаних результатів, висновки, практичні рекомендації, список використаної літератури, який нараховує 313 джерел на 36 сторінках (132 кирилицею і 181 латиною). Робота ілюстрована 30 таблицями (на 36 сторінках) та 18 рисунками (на 18 сторінках).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Методи та матеріали дослідження. Нами було обстежено 102 хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які знаходились на стаціонарному лікуванні в інфекційному відділенні міської клінічної лікарні м. Вінниці, Хмельницькій міській інфекційній лікарні протягом 2013-2015 рр. та склали основну групу. Серед обстежених пацієнтів було 58 (56,87 %) чоловіків та 44 (43,13 %) жінок. У контрольну групу увійшло 90 практично здорових людей. За віковою та статевою приналежністю порівнювані групи були ідентичними. Перед початком

дослідження всі особи підписували інформаційну згоду.

Діагноз гастроінтестинальної форми сальмонельозу був виставлений згідно класифікації МКЛ-10 та був підтверджений клінічно та бактеріологічно, виділенням чистої культури збудника на середовищі Плоскирева, трицукровому агарі Олженицького. Біохімічні властивості сальмонел встановлювали на середовищі Гісса.

Вплив антимікробних препаратів на адгезивні властивості мікроорганізмів вивчали на моделі клітин макроорганізму, використовуючи еритроцити людини O/I RH (+) групи крові експрес методом за методикою В.І. Бріліса (1986р.).

Вивчення протимікробної активності лікарських препаратів (ципрофлоксацин, ніфуроксазид) проводили за допомогою методу серійних розведень відповідно до «Методичних вказівок МВ 9.9.5-143-2007 «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»

Рівень МСМ та ЦК визначали в сироватці крові, з використанням спектрофотометричного методу (М.П. Аносов і співавт, 1998 р.). Визначення активності системи комплементу проводили за допомогою гемолітичного методу (С.І. Климнюк та співавт. 2004 р.). Визначення стану систем фагоцитозу у хворих виконували шляхом відтворення моделі фагоцитозу за методом К.А.Кост та М.І.Стенко (1995 р.). Кількість Т-лімфоцитів підраховували за допомогою визначення Е-розеткоутворюючих клітин (С.І. Климнюк та співавт., 2004р.). Дослідження проводилися в лабораторії кафедри мікробіології ВНМУ ім. М.І.Пирогова (зав . лабораторією проф. Ковальчук В.П)

Поліморфізм генів Arg753Gln TLR-2 та Asp299Gly TLR-4 визначали за допомогою ПЛР з використанням специфічних олігонуклеотидних праймерів, на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технология», Москва). Для ідентифікації алелей гену TLR4 застосовували рестрикційний аналіз ампліконів за допомогою ендонуклеази рестрикції Bsp19, поліморфну ділянку гену TLR2 ідентифікували за допомогою рестрикційного аналізу з використанням ендонуклеази рестрикції Pst I (СибЭнзим, Росія).

Визначення експресії генів TLR 2, 4 проводили методом ПЛР в реальному часі з використанням детектувального ампліфікатора ДТ-322 («ДНК-Технология», Росія)

Молекулярно-генетичні дослідження проводились на базі НДІ Генетичних та імунних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

- Пацієнтам з гастроінтестинальною формою сальмонельозу призначили протимікробну терапію: ципрофлоксацин (Виробник Ranbaxy Laboratories Limited, Індія). Реєстраційне посвідчення № UA 2897/02/01. Наказ МОЗ України 05.05.11 № 75 або ніфуроксазид (Виробник спільне українсько-іспанське підприємство «Сперко Україна»). Реєстраційне посвідчення № UA8638/01/01. Наказ МОЗ України 14.06.13, № 261.

Клініко- лабораторне обстеження хворих здійснювали на етапі госпіталізації, 3-5 день знаходження в стаціонарі та перед випискою з стаціонару.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою пакету програм SPSS, 12 та «STATISTICA 5,5», непараметричного методу Манна -

Уітні Для оцінки ефективності різних схем лікування застосовували семипараметричні визначення базової функції ризику з використанням кускових і експоненційних праярсів (Brezger et al., 2008, 23; Ibrahim et al., 2001) для специфікації базового ризику λ_i для кожного часового інтервалу j . Моделювання тяжкості перебігу сальмонельозу за трансформованими даними здійснено за процедурою QLIM статистичної аналітичної системи SAS.

Результати дослідження та обговорення. Провідним етіологічним чинником збудником у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу була *S. enteritidis*, що була виділена у 71 хворого (69,61%). У 30,39 % пацієнтів (31 особа) була виділена *S. typhimurium*. Серед збудників було використано 2 штами *S. enteritidis* (3267 та 3277), та 2 штами *S. typhimurium* (3227 та 3270) для подальшого детального дослідження їх властивостей. (рис. 1).

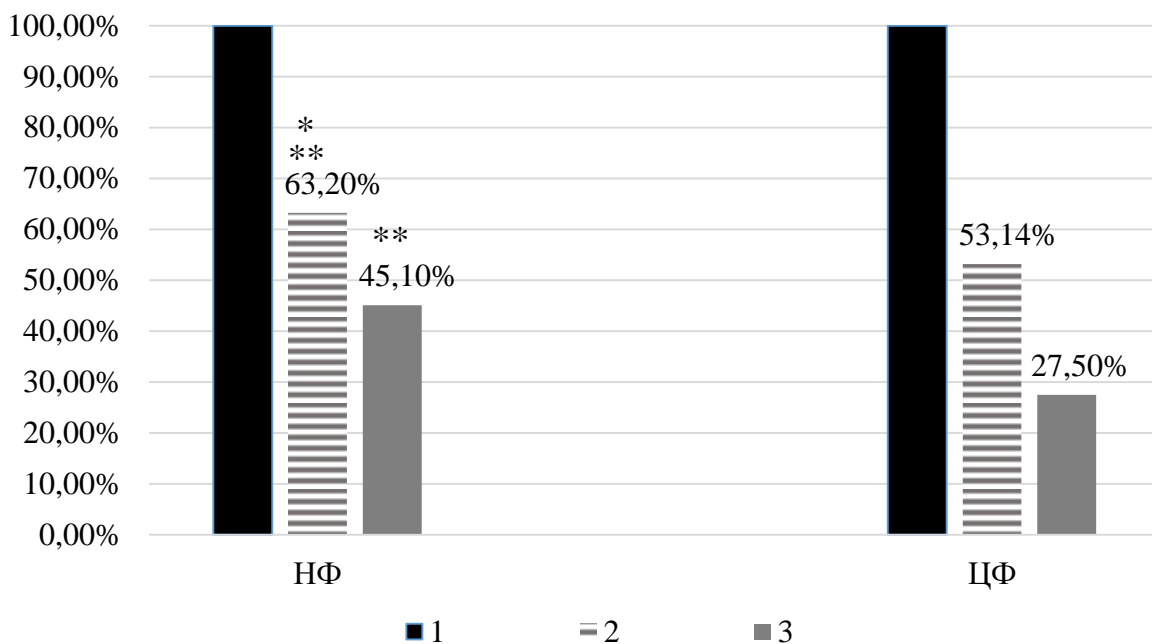


Рис. 1. Показники впливу НФ, ЦФ на адгезію *Salmonella enteritidis* 3267 (1 – контроль; 2 – МБсК; 3 – МБцК).

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ при порівнянні між ЦФ та НФ;
2. ** – $p < 0,05$ при порівнянні МБсК, МБцК та контролю.

Отримані від хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу штами збудників в переважній більшості зберігали чутливість до антибактеріальних препаратів, що застосовувалися в лікуванні захворювання. Так, виділені штами були в 89,22% чутливими до НФ та у 95,09% - до ЦФ. Лише два штами сальмонел (1,97%) були стійкі до ЦФ, в той час, як до НФ таких було 5 (4,90%).

Встановлено, що МБсК, МБцК НФ та ЦФ змінювали адгезивну здатність клінічних штамів *Salmonella enteritidis* (2 штами) та *Salmonella typhimurium* (2 штами). Так, серед МБсК лікувальних препаратів найбільше знижувало адгезію досліджуваних штамів сальмонел МБсК ЦФ (0,25 мкг/мл) в 1,88 рази у штама *S.*

enteritidis 3267, в 1,94 рази у штама *S. enteritidis* 3277, а також в 1,75 та навіть в 2,05 рази у штамів *S. typhimurium* 3227 та 3270, відповідно .

В дещо меншій мірі знижувала адгезивні властивості збудників МБсК НФ (50 мкг/мл). Дана доза в 1,58 рази пригнічувала адгезію *S. enteritidis* 3267, що, однак, було в 1,19 рази менше, ніж МБсК ЦФ. Адгезія штаму *S. enteritidis* 3277 зменшувалась в 1,71 рази, що також, достовірно, в 1,13 рази відрізнялося від даних стосовно впливу МБсК ЦФ. Штам *S. typhimurium* 3227 пригнічував свою адгезію при застосуванні МБсК НФ в 1,64 рази, що достовірно не відрізнялося від результатів при впливі МБсК ЦФ. Зниження адгезивних властивостей *S. typhimurium* 3270 під дією МБсК НФ відбувалося в 1,86 разів, та було в 1,3 рази меншим, ніж при застосуванні МБсК ЦФ.

Подібна картина спостерігалася і стосовно МБцК лікарських засобів, що були призначені в лікуванні хворих на сальмонельоз. Дані дозування викликали наростаюче зниження адгезивної здатності у клінічних штамів сальмонел, що було достовірно більшим при застосуванні МБцК ЦФ. Так, МБцК ЦФ пригнічувала адгезію *S. enteritidis* 3267 в 3,64 рази, це було в 1,64 рази більше, ніж МБцК НФ . Адгезивна активність штаму *S. enteritidis* 3277 знижувалась вже в 4,37 рази, що було в 1,82 більше, ніж при застосуванні МБцК НФ. Стосовно штаму *S. typhimurium* 3227 було зафіксовано зниження адгезії під впливом МБцК ЦФ в 2,29 рази, що достовірно не відрізнялося від дії МБцК НФ. Було також виявлено зниження адгезивних властивостей *S. typhimurium* 3270 в 3,01 рази під впливом МБцК ЦФ. Дане зниження було в 1,24 рази більшим, ніж при МБцК НФ.

Збудники *S. enteritidis* 3267, 3277 та *S. typhimurium* 3227, 3270 в присутності ЦФ в дослідках *in vitro* перед початком пасування були чутливі до дози 0,24 мкг/мл. Після проведених 30 пасажів резистентність бактерій зросла в 8 разів та складала 1,92 мкг/мл.

Встановлено, що резистентність до НФ у клінічних штамів сальмонел формувалась швидше, однак не рівномірно. Так, стосовно штамів *S. enteritidis* 3277 та *S. typhimurium* 3227, 3270 резистентність підвищилась у 16 разів після 30 пасажів, досягнувши дозування 800 мкг/мл (контроль 50 мкг/мл). В той же час штам *S. enteritidis* 3267 був резистентний після 30 пасажів вже до дози 1600 мкг/мл, тобто його стійкість до НФ зросла в 32 рази

Згідно отриманих нами даних, найбільш відчутні зміни у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу відбувалися стосовно вмісту МСМ в сироватці крові, що був в 1,98 разів вищий, ніж у здорових осіб.

Вміст ФН в групі хворих в 1,17 рази перевищував аналогічний показник серед здорових. В той же час у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу було виявлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів в 1,30 рази в порівнянні зі здоровими особами. Нами не було встановлено достовірної різниці у вмісті комплементу та ЦіК між групою здорових осіб та хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Встановлено достовірне підвищення вмісту МСМ в сироватці крові в залежності від тяжкості захворювання. Так, даний показник у хворих з середньою тяжкістю хвороби був в 1,44 рази вищим, в порівнянні з вмістом в сироватці крові у хворих з легкою формою. А у хворих з тяжким перебігом ця різниця була вищою

вже у 1,92 рази. Достовірна різниця в даному показнику була також між групами пацієнтів з середнім та тяжким перебігом (в 1,34 рази). Вміст ФН в сироватці крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу також зростав відповідно тяжкості захворювання. Так, у хворих з тяжким перебігом даний показник був в 1,17 рази вищим, в порівнянні з хворими з легким перебігом.

Навпаки, встановлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від тяжкості перебігу хвороби. Так, при середньо тяжкому перебігу їх кількість знижувалася в 1,19 разів в порівнянні з легким перебігом, а при тяжкій формі ця різниця була вже в 1,38 рази.

В групі хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які отримували лікування ЦФ, спостерігалось достовірно більш швидке зникнення основних симптомів захворювання. Так, тривалість загальної слабкості у них була в 1,66 рази меншою, а порушення апетиту - меншим в 1,92 рази. В цій групі хворих також було зафіксовані в 1,47 рази менш тривалі скарги на нудоту та блювоту. Щодо здуття живота, то тут різниця становила 1,33 рази. Біль в животі зникав в 1,43 рази швидше у пацієнтів, які отримували ЦФ в порівнянні з хворими на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, яким в лікуванні застосовували НФ. Ще швидше у хворих при лікуванні ЦФ зникала гарячка, це відбувалося в 1,58 рази швидше ніж у хворих, які отримували НФ. Найменша різниця спостерігалась в тривалості діареї, що лише в 1,29 рази була коротшою в групі хворих, які в лікуванні отримували ЦФ.

Встановлено, що на 3-5 добу лікування спостерігалось зниження рівня МСМ в сироватці крові пацієнтів в 1,38 разів в порівнянні з моментом госпіталізації.

Навпаки, було зареєстровано зростання вмісту комплементу в 1,17 разів.

В реконвалесценцію відбувалася поступова нормалізація рівнів показників, що вивчалися. Так, рівень МСМ в цей період хвороби був в 1,32 рази нижчим порівняно з 3-5 днем лікування та в 1,82 рази – з періодом госпіталізації, та практично не відрізнявся від показника в групі здорових осіб. Вміст ФН також в 1,11 разів знижувався в період реконвалесценції в порівнянні з періодом госпіталізації. Спостерігалось зростання загального числа Т-лімфоцитів в період реконвалесценції в 1,20 рази в порівнянні з періодом госпіталізації. Рівень ЦК в період реконвалесценції не відрізнявся від початкового на момент госпіталізації. В порівнянні з 3-5 добою лікування вміст комплементу в стадію одужання знижувався в 1,11 рази.

Перед початком лікування (на момент госпіталізації) рівні основних показників, що вивчалися, в групах пацієнтів, які отримували лікування ЦФ та НФ достовірно не відрізнялися. Однак, вже на 3-5 добу від початку лікування спостерігалися більш суттєві зміни в групі хворих, які отримували ЦФ. Так, рівень МСМ в сироватці крові хворих на сальмонельоз, які отримували терапію з застосуванням ЦФ, знижувався в 1,48 разів порівнянні з періодом госпіталізації, та був в 1,13 разів нижчим, ніж аналогічний показник при застосуванні в терапії НФ. Рівень МСМ в останній групі на даний момент спостереження знижувався в 1,29 рази. В стадію реконвалесценції зниження було вже в 1,78 рази, однак рівень МСМ в сироватці крові достовірно не відрізнявся у хворих різних груп.

Вміст комплементу в розпал хвороби (3-5 доба) зазнавав більш значного

зростання також у групі пацієнтів, які отримували ЦФ. У даних хворих його вміст підвищувався в 1,27 разів в порівнянні з періодом госпіталізації. В групі хворих на сальмонельоз, які отримували НФ, цей показник підвищувався лише в 1,1 рази. Вміст комплементу на 3-5 день хвороби був в 1,13 рази вищим у пацієнтів, які приймали ЦФ.

Вміст ФН починав знижуватись на 3-5 добу лікування та мав показник в 1,15 разів менший в період реконвалесценції в групі хворих, які отримували в лікуванні ЦФ, в порівнянні з періодом госпіталізації. В групі пацієнтів, у яких застосовувалась терапія НФ, спостерігалась лише тенденція до зниження даного показника.

Реєструвалось збільшення кількості Т-лімфоцитів під впливом терапії з застосуванням ЦФ в стадію реконвалесценції в 1,27 разів в порівнянні з періодом госпіталізації та наближався до рівня у здорових осіб. Застосування в лікуванні хворих на сальмонельоз НФ також призводило до підвищення кількості Т-лімфоцитів, однак повільніше та достовірна різниця спостерігалась лише в період реконвалесценції, коли кількість Т-лімфоцитів зростала в 1,14 рази.

Отриманий достовірний АТЕ ПЕП з довірчими межами 95% постеріорного інтервалу [1,4421; 2,7220] з медіанним значенням АТЕ 2,05. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить 7,75 разів і свідчить про значно кращі шанси скорішого видужання за призначення ЦФ порівняно з НФ.

Єдиним фактором, який крім ПЕП зміщував суттєво базовий ризик, виявився тяжкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Градації «тяжкий» (параметр b.Severe) і «помірний» (середньої тяжкості, параметр b.Moderate) контрастувались із легким перебігом. Як видно з отриманих оцінок, тяжкий перебіг типово (за медіанним значенням ефекту) знижував шанси до одужання в 12 разів порівняно з легким перебігом за усіх інших рівних умов. Тоді як перебіг середньої тяжкості типово знижував шанси до одужання в 3 рази порівняно з легким перебігом за усіх інших рівних умов.

Найчастіше як серед здорових осіб, так і серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, зустрічалися носії – гомозиготи за Arg/Arg генотипом TLR2. При цьому серед групи хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу їх було в 1,21 рази менше, ніж серед здорових. Носійство гетерозиготного генотипа Arg/Gln достовірно не відрізнялось, було практично однаковим в обох групах та виявлялось в 3,20 рази рідше порівняно з Arg/Arg генотипом серед здорових. та в 2,26 рази серед пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу. Менше всього серед осіб обох груп було виявлено носіїв Gln/Gln. Однак, серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу їх було в 4,91 рази більше, ніж серед здорових. Алель Arg переважала в обох групах, однак в 1,14 рази частіше зустрічалась серед здорових людей. Навпаки, носії алелі Gln в 1,76 рази частіше були виявлені серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу.

Виявлено переважання Asp/Asp генотипу гена TLR4 в обох групах. Однак, серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу носіїв даного генотипу було в 1,16 рази менше, ніж серед здорових осіб. Нами не було виявлено достовірної різниці в кількості носіїв гетерозиготного генотипу Asp/Gly між групами здорових та хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Носіїв

гомозиготного генотипу Gly/Gly була найменша кількість в обох групах, однак їх було в 3,85 разів більше серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу. Алель Asp була найпоширенішою в обох групах, однак, її носіїв було в 1,13 рази більше серед здорових людей. Носіїв алелі Gly гена TLR4 в 1,99 рази більше нами було виявлено серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу..

Серед групи хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу середнього ступеню тяжкості носіїв Arg/Arg генотипу гена TLR2 їх було в 1,21 рази менше, ніж серед здорових. Ще більша різниця спостерігалася серед хворих з середній + тяжкий ступенем, де носіїв даного генотипу було в 1,25 рази менше, ніж серед здорових. Навпаки, носії Gln/Gln генотипув 4,77 разів частіше зустрічалися у хворих з середньою тяжкістю перебігу захворювання в порівнянні зі здоровими особами. Деяко більшою була різниця серед хворих з середній + тяжкий перебігом, де носіїв Gln/Gln генотипу було в 5,41 рази більше.

Носіїв алелі Arg було в 1,14, 1,32 та 1,17 рази менше серед хворих з середньою тяжкістю, тяжким та середній + тяжкий перебігом сальмонельозу в порівнянні зі здоровими, відповідно. Навпаки, носії алеля Gln частіше виявлялися серед групи хворих з середнім та тяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Таких було відповідно, в 1,77 та 2,52 рази більше ніж серед здорових осіб. У хворих з середній + тяжкий перебігом носіїв алелі Gln було виявлено в 1,88 рази більше в порівнянні зі здоровими.

Таблиця 1

Частота генотипів та алелей поліморфізму Asp299Gly TLR4 серед хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від ступеню тяжкості

Генотип та алелі	Здорові особи (n=90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу			
		легкий (n= 35)	середній (n= 57)	тяжкий (n= 10)	середній + тяжкий (n=67)
Asp/Asp	74 (82,2)	29 (82,9)	40 (70,2)	3 (30,0)	43 (64,2) * **
Asp/Gly	13 (14,4)	4 (11,4)	11 (19,3)	2 (20,0)	13 (19,4)
Gly/Gly	3 (3,3)	2 (5,7)	6 (10,5)	5 (20,0)	11 (11,9) * **
Asp	161 (89,4)	62 (88,6)	91 (79,8) *	8 (40,0) *	99 (73,9)* **
Gly	19 (10,6)	8 (11,4)	23 (20,1) *	12 (60,0) *	35 (26,1)* **

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – по відношенню до здорових осіб;
2. ** – $p < 0,05$ – по відношенню до хворих з легким ступенем тяжкості.

Носії Asp/Asp генотипу гена TLR4 серед хворих з перебігом середній + тяжкий зустрічалися в 1,28 разів рідше в порівнянні з групою здорових- та в 1,29 рази з пацієнтами з легким перебігом (табл.1). Достовірної різниці в частоті носійства гетерозиготного генотипу Asp/Gly в залежності від тяжкості хвороби не було виявлено. Кількість носіїв Gly/Gly генотипу в групі хворих з середній + тяжкий перебіг гастроінтестинальної форми сальмонельозу була в 3,61 рази

більшою в порівнянні зі здоровими та в 2,09 рази з групою хворих- з легким перебігом.

При середній тяжкості захворювання носіїв алелі Asp було в 1,12 разів менше порівняно зі здоровими особами, а при тяжкому перебігу ця різниця становила 2,23 рази. Навпаки, спостерігалось зростання носіїв алелі Gly при середньо тяжкому перебігу в 1,90 разів в порівнянні з групою здорових осіб, а при тяжкому перебігу вже в 5,66 разів.

У хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу спостерігалися достовірно вищі рівні експресії генів TLR-2 та TLR-4 у лімфоцитах крові порівняно зі здоровими. Так, рівень експресії гена TLR-2 у лімфоцитах крові пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу був в 4,16 рази вищим ніж у здорових осіб. Ще більшою була різниця в рівні експресії гена TLR-4, що був вищий вже у 5,72 рази.

Встановлена залежність рівня експресії генів TLR-2 та TLR-4, від перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Так, вже у хворих з легким перебігом хвороби рівень експресії гена TLR-2 був в 1,34 вищим в порівнянні зі здоровими. При середній тяжкості цей показник був вже у 4,21 рази, а при тяжкій – у 6,93 рази вищим. Рівень експресії зростав відповідно тяжкості захворювання та у хворих з тяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу був в 5,16 та 1,64 рази вищим в порівнянні з рівнем у хворих з легким та середньотяжким перебігом, відповідно.

Таблиця 2

Рівні експресії генів TLR-2 та TLR-4 у лімфоцитах крові хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від тяжкості перебігу захворювання($M \pm \sigma$)

	Здорові особи (n=90)	Хворі на гастроінтестинальну форму сальмонельозу		
		легкий (n=35)	середній (n=57)	тяжкий (n=10)
TLR-2	0,061±0,028	0,082±0,039*	0,257±0,073**	0,423±0,076***
TLR-4	0,04±0,026	0,082±0,028*	0,197±0,087**	0,407±0,019***

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – між здоровими особами та хворими з легким ступенем тяжкості;
2. ** – $p < 0,05$ – між здоровими особами та хворими з середнім ступенем тяжкості;
3. *** – $p < 0,05$ – між здоровими особами та хворими з тяжким ступенем.

Подібна картина спостерігалася і стосовно рівня експресії гена TLR-4, що зростав у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу в залежності від ступеня тяжкості захворювання та був в 2,05 рази при легкому, в 4,92 рази при середньому та в 10,17 рази при тяжкому вищим в порівнянні зі здоровими. Найбільший рівень експресії гена TLR-4 фіксувався у хворих з тяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу, що був в 4,93 вищим, ніж при легкому

перебігу та в 2,06 рази ніж при середній тяжкості (табл. 2).

Застосування процедури QLIM встановило, що інкубаційний період і тривалість хвороби визначають тяжкість перебігу з високою достовірністю ($p < 0,0001$ для обох змінних). Ці фактори в лінійний предиктор входять із ступенями 0,3 та -6,57. Тобто із зменшенням інкубаційного періоду вірогідність тяжкого перебігу сальмонельозу зростає ($\beta = -46,93$). Аналогічно із зменшенням тривалості хвороби вірогідність тяжкого перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу зростає ($\beta = 112,80$ та негативна ступінь змінної -6,57). Останню закономірність можна пояснити швидкою динамікою хвороби з можливістю різкого поважчання уже на початку. Підвищена експресія генів TLR-2 та TLR-4 рівноцінно ($\beta = 67,5$) достовірно обумовлювала важчий перебіг ($p < 0,0001$). Поліморфізм генів TLR-2 та TLR-4 теж достовірно і в однаковій мірі ($\beta \approx 40$) обумовлювали важчий перебіг ($p = 0,004$). Підвищені рівні MSM достовірно ($p < 0,0001$) обумовлювали важчий перебіг ($\beta = 64,48$) гастроінтестинальної форми сальмонельозу. Підвищений вміст ФН достовірно ($p < 0,0001$) обумовлює важчий перебіг ($\beta = 65,68$) гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

ВИСНОВКИ

1. Сальмонельоз залишається однією з актуальних проблем сучасної інфектології. Щорічно в світі реєструється 93 млн випадків захворювання з летальністю 155 тисяч. В Україні спостерігається в останні роки ріст захворюваності на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, як поодиноких випадків (до 3049 лише за половину 2016 р.) так і групових спалахів (4 спалахи за половину 2016 р.). Незважаючи на досягнення медицини в боротьбі з гострими кишковими інфекціями, удосконалення діагностики, пошук чітких факторів ризику розвитку гастроінтестинальної форми сальмонельозу залишається однією з недостатньо вивчених загальномедичних проблем, пов'язаних з суперечливістю уявлень про патогенез, відсутністю однозначних лабораторних критеріїв, недостатньою ефективністю сучасної стратегії лікування. Основні питання діагностики й терапії гастроінтестинальної форми сальмонельозу залишаються до кінця нез'ясованими та потребують подальшої розробки.

2. Провідним етіологічним чинником захворювання є *S. enteritidis* (71 штамп), що виділяється у 69,6% хворих. Найбільше знижує адгезію сальмонел мінімальна бактериостатична концентрація ципрофлоксацину (0,25 мкг/мл), відповідно, в 1,75-2,05 рази в залежності від штамів *S. enteritidis* та *S. typhimurium*, що було в 1,13-1,19 рази більше, ніж ніфуроксазиду (50 мкг/мл). Подібна ситуація спостерігається і стосовно мінімальної бактерицидної концентрації лікарських засобів, які викликають наростаюче (в 3,01-4,37 рази) зниження адгезивної здатності у клінічних штамів сальмонел, що було в 1,24-1,82 рази більшим при застосуванні ципрофлоксацину. Резистентність сальмонел в присутності ніфуроксазиду в досліджах *in vitro* зростала в 16-32 раз в залежності від штаму збудника, в той же час стійкість всіх штамів сальмонел до ципрофлоксацину зросла лише в 8 разів.

3. В групі хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу, які отримують лікування ципрофлоксацином, спостерігають достовірно більш швидке

зникнення основних симптомів захворювання, а саме, загальної слабкості, порушення апетиту, головного та абдомінального болю, частоти діареї в межах від 1,43 до 1,92 рази. Зареєстровані зміни окремих показників стану імунної системи (збільшення вмісту фагоцитуючих нейтрофілів, молекул середньої маси в сироватці крові в 1,17 - 1,98 разів та зниження загальної кількості Т-лімфоцитів в 1,30 рази), як у порівнянні зі здоровими особами, так і в залежності від тяжкості перебігу захворювання. Отриманий достовірний порівняльний ефект препаратів (Average treatment effect) з довірчими межами 95% постеріорного інтервалу [1,4421; 2,7220] з медіанним значенням 2,05. Підвищення значень базового ризику (базового шансу одужання) становить 7,75 разів і свідчить про значно кращі шанси видужання за призначення ципрофлоксацину порівняно з ніфуроксазидом.

4. Найчастіше як серед здорових осіб, так і серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу, зустрічаються носії – гомозиготи за Arg/Arg генотипом TLR2, 74,5% та 61,8%, відповідно. Носії алелі Gln в 1,76 рази частіше виявляються серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу. Носії Asp/Asp генотипу TLR4 також переважають в обох групах (82,2% серед здорових та 70,6% серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу). Носіїв алелі Gly гена TLR4 виявляють в 1,99 рази більше серед хворих з гастроінтестинальною формою сальмонельозу. Встановлено, що носіїв Gln/Gln генотипу гена TLR2 реєструють – в 4,77 та 5,41 рази частіше у групах пацієнтів з середнім та середній + тяжкий перебігом захворювання в порівнянні зі здоровими особами, відповідно. Носії алеля Gln виявляють в 1,77 та 2,52 рази частіше серед хворих з середнім та тяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу. В той же час, носіїв гомозиготного генотипу Gly/Gly гена TLR4 було в 3,61 рази більше при середній + тяжкий перебіг гастроінтестинальної форми сальмонельозу порівняно зі здоровими. Алель Gly в 1,90 разів частіше зустрічається серед хворих з середньотяжким перебігом гастроінтестинальної форми сальмонельозу та в 5,66 разів з тяжким.

5. Рівень експресії гена TLR-2 в лімфоцитах крові пацієнтів з гастроінтестинальною формою сальмонельозу був в 4,16 рази вищим ніж у здорових осіб, в більшій мірі спостерігалась експресія гена TLR-4, що була вищою в 5,72 рази. Спостерігалось поступове зростання експресії генів TLR-2 та TLR-4 в залежності від тяжкості захворювання, а саме, – від 1,34 до 10,17 рази.

6. Проведене моделювання тяжкості перебігу гастроінтестинальною формою сальмонельозу за трансформованими даними за процедурою QLIM, встановило, що достовірно визначають тяжкість перебігу інкубаційний період та тривалість хвороби. Із зменшенням інкубаційного періоду та зменшенням тривалості хвороби вірогідність тяжкого перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу зростає, ($\beta = -46,93$) та ($\beta = 112,80$ та негативна ступінь змінної $-6,57$), відповідно. Було встановлено, що поліморфізм генів TLR-2 та TLR-4 достовірно ($p=0,004$) і в однаковій мірі ($\beta \approx 40$) обумовлювало важчий перебіг гастроінтестинальної форми сальмонельозу у цих хворих. Підвищена експресія генів TLR-2 та TLR-4 рівноцінно ($\beta = 67,5$) достовірно обумовлювала важчий перебіг ($p<0,0001$). Тяжкий перебіг гастроінтестинальної форми сальмонельозу також достовірно ($p<0,0001$) був обумовлений підвищеними рівнями MSM в сироватці крові хворих ($\beta=64,48$) та

підвищеним вмістом фагоцитуючих нейтрофілів достовірно ($p < 0,0001$) обумовлюють важчий перебіг ($\beta = 65,68$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. В практичній діяльності лікаря загальної практики – сімейної медицини та інфекціоніста слід враховувати, що найбільш суттєво зниження адгезивних властивостей сальмонел відбувається під впливом МБцК ципрофлоксацину (0,25 мкг/мл), у порівнянні з МБцК ніфуруксазиду (доза 50 мкг/мл).

2. Клініко-діагностична характеристика сучасного перебігу сальмонельозу має враховувати необхідність обстеження на поліморфізм генів TLR-2 та TLR-4.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Антимикробные свойства антисептической композиции пролонгированного действия / Д. В. Палий, А.А. Назарчук, О.О. Гончар, В.В. Сухляк // Журнал Антибиотики и химиотерапия (Москва). – 2013. - № 58 (3-4). - С. 14-18. *(Дисертантом особисто проведено аналітичний огляд літератури, збір матеріалу, аналіз, узагальнення та статистичну обробку даних, підготовку до друку)*

2. Палій Д. Дослідження антисептиків в умовах формування резистентності у мікроорганізмів / Д. Палій, К. Стукан // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2014. - № 22. - С. 54-57. *(Дисертантом особисто проведено аналітичний огляд літератури, збір матеріалу, аналіз, узагальнення та статистичну обробку даних, підготовку до друку)*

3. Antimicrobial properties of antiseptics, containing menthol, quinoline / O. Nazarchuk, D. Paliy, I. Kovalenko, N. Zaderey // Journal of Health Sciences. – 2014. - Vol. 4, № 16. – P. 53-62. *(Дисертантом особисто проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, аналіз та узагальнення даних, статистичну обробку результатів, технічне оформлення та підготовка до друку)*

4. Оцінка антибактеріальних та протигрибкових властивостей сучасних антисептиків / О.А. Назарчук, Д. В. Палій, В. В. Бобир [та ін.] // Мікробіологія і біотехнологія. – 2015. - № 4 (32). – С. 67-74. *(Дисертантом здійснено збір матеріалу, аналіз даних, їх узагальнення та статистичну обробку, підготовку до друку)*

5. Вивчення дії антимікробних препаратів на адгезивні властивості бактерій / О. В. Яцула, Д.В. Палій, А. О. Дудар, І. В. Коваленко // Вісник проблем біології і медицини. - 2016. – Вип. 2, Т. 3 (130). – С. 174-177. *(Дисертантом здійснено збір матеріалу, аналіз даних, їх узагальнення та статистичну обробку, підготовку до друку)*

6. Палій Д. В. Клінічні, імунологічні особливості сучасного перебігу сальмонельозу / Д. В Палій // Українські медичні вісті. Науково-практичний часопис. Матеріали XV конгресу СФУЛТ, 16-18 жовтня 2014 р. – Чернівці-Київ-Чикаго, – 2014. – С. 242-243. *(Дисертантом особисто проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, аналіз та узагальнення даних,*

статистичну обробку результатів, технічне оформлення та підготовка до друку

7. Палій Д. В. Дослідження клініко-епідеміологічних особливостей перебігу сальмонельозу / Д. В. Палій // Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни та туберкульозу : збірник наук. праць щорічної 11-ої наук.-практ. конф. з міжнар. участю приуроченою до дня науки, травень 2014 р. – Львів, 2014. – Вип. 11. – С. 62 – 65.

8. Д. В. Палій. Клінічна актуальність Toll-подібних рецепторів TLR2, TLR4 та їх роль в антиінфекційному імунитеті / Д. В. Палій // Аналіз Мечниківського інституту (Харків). - 2015. – № 3. - С. 84 – 85.

9. Paliy D. Antimicrobial properties of new antiseptic composition / D. Paliy, O. Nazarchuk, G. Nazarchuk // 32nd Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases, May 6-10, 2014. – Dublin, Ireland, 2014. – P. A 527. – Режим доступу до журн. <http://espid.kenes.com/scientific-information/espid-abstracts>. *(Дисертантом здійснено збір матеріалу, аналіз даних, їх узагальнення та статистичну обробку, підготовку до друку)*

10. Палій Д. В. Дослідження лікувальної, профілактичної дії антибактеріальних засобів на моделі сальмонельозу / Д. В. Палій // Матеріали II наукової конференції. молодих вчених з міжнародною участю, 17-18 травня 2011 р. – Вінниця, 2011. – С. 123.

11. Палій Д. В. Вплив декасану, антибіотиків на формування лікарської резистентності у сальмонел / Д. В. Палій // Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : XV з'їзд Українського науково-медичного товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного, 23-25 листопада 2011 р. : тези доповідей. – Харків, 2011. – С. 81.

12. Палій Д. В. Дослідження показників імунітету у хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу / Д. В. Палій // Матеріали IV міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, 17-18 травня 2013 р. – Вінниця, 2013. – С.82.

13. Палій Д. В. До питання покращення лікування сальмонельозної інфекції / Д. В. Палій // Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань у світлі доказової медицини : Матеріали VII Всеукраїнської наук.-практ. конф., з міжнарод. участю з клінічної фармакології, 25-26 листопада 2013 р. – Вінниця, 2013. – С. 200-201.

14. Палій Д. В. Вивчення етіологічної структури збудників сальмонельозу / Д. В. Палій // Матеріали наук.-практ. конф., 25 квітня 2014 р. – Тернопіль, 2014. – С. 99-100.

15. Палій Д. В. Вивчення адгезії у сальмонел в присутності лікарських антибактеріальних препаратів / Д. В. Палій // Збірник матеріалів V міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених, 15 – 16 травня 2014 р. – Вінниця, 2014. – С. 56.

16. Палій Д. В. Деякі клініко-лабораторні аспекти діагностики сальмонельозу / Д. В. Палій // Довкілля і здоров'я : Збірник матеріалів наук.-практ. конф., 23 квітня 2015 р. - Тернопіль, 2015. - С.131-132.

17. Палій Д. В. Дослідження лікарської стійкості у сальмонел до протимікробних препаратів / Д. В. Палій, О. К. Стукан // Матеріали 6-ої наук.-

практ. конф. молодих вчених ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 15 травня 2015 р. - Вінниця, 2015. – С. 22-23. *(Дисертантом здійснено збір матеріалу, аналіз даних, їх узагальнення та статистичну обробку, підготовку до друку)*

18. Мороз Л. В. Клінічна актуальність Toll-подібних рецепторів TLR2, TLR4 та їх роль в антиінфекційному імунитеті / Л. В. Мороз, Д. В. Палій // Інфекційні хвороби: Поступи і проблеми в діагностиці, терапії та профілактиці : матеріали ІХ з'їзду інфекціоністів України, 7-9 жовтня 2015 р. – Тернопіль, 2015. – С. 105-107. *(Дисертантом здійснено збір матеріалу, аналіз даних, їх узагальнення та статистичну обробку, підготовку до друку)*

АНОТАЦІЯ

Палій Д.В. Гастроінтестинальна форма сальмонельозу: удосконалення діагностики, фактори ризику, лікування. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.13 – “Інфекційні хвороби”. – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця, 2017.

Дисертація присвячена вивченню гастроінтестинальної форми сальмонельозу: удосконаленню діагностики, факторам ризику та лікування. В групі хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу, які отримували лікування ЦФ, спостерігали достовірно більш швидке зникнення основних симптомів захворювання. Єдиним фактором, який крім ПЕП зміщував суттєво базовий ризик, виявилася важкість перебігу гастроінтестинальної форми сальмонельозу.

Виявлено переважання Asp/Asp генотипу гена TLR4 у пацієнтів. Алель Asp була найпоширенішою. Носіїв алелі Gly гена TLR4 в 1,59 рази більше виявлено серед хворих на сальмонельоз. Алель Gly частіше зустрічалась серед хворих з важким перебігом. У хворих на гастроінтестинальну форму сальмонельозу були достовірно вищі рівні експресії генів TLR-2 та TLR-4. Застосування процедури QLIM встановило, що інкубаційний період і тривалість хвороби визначають важкість перебігу ($p < 0,0001$ для обох змінних).

Ключові слова: сальмонельоз, гастроінтестинальна форма, удосконалення діагностики, фактори ризику, лікування, імунологічні, мікробіологічні та генетичні показники.

АННОТАЦИЯ

Палій Д.В. Гастроинтестинальная форма сальмонеллеза: усовершенствование диагностики, факторы риска, лечение. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.13 – "Инфекционные болезни". - Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова, Винница, 2017.

Диссертация посвящена изучению гастроинтестинальной формы сальмонеллеза: совершенствованию диагностики, факторам риска и лечения. Ведущим этиологическим фактором возбудителем у больных

гастроинтестинальной формы сальмонеллеза была *S. enteritidis*, которая была выделена у 71 больного (69,61%). У 30,39% пациентов (31 человек) выделена *S. typhimurium*.

Установлено, что МБсК, МБцК НФ и ЦФ меняли адгезивную способность клинических штаммов *Salmonella enteritidis* (2 штамма) и *Salmonella typhimurium* (2 штамма). Так, среди МБсК лечебных препаратов больше снижало адгезию исследуемых штаммов сальмонелл МБсК ЦФ (0,25 мкг/мл) в 1,88 раза у штамма *S. enteritidis* 3267, в 1,94 раза у штамма *S. enteritidis* 3277. Возбудители *S. enteritidis* 3267, 3277 и *S. typhimurium* 3227, 3270 в присутствии ЦФ в опытах *in vitro* перед началом пасирования были чувствительны к дозе 0,24 мкг/мл. После проведенных 30 пассажей резистентность бактерий возросла в 8 раз и составляла 1,92 мкг/мл. Установлено, что резистентность к НФ у клинических штаммов сальмонелл формировалась быстрее, однако не равномерно. В группе больных гастроинтестинальной формой сальмонеллеза, получавших лечение ЦФ, наблюдали достоверно более быстрое исчезновение основных симптомов заболевания. Так, продолжительность общей слабости у них была в 1,66 раза меньше, а нарушения аппетита меньше в 1,92 раза. В этой группе больных также были зафиксированы в 1,47 раза менее длительные жалобы на тошноту и рвоту. В отношении вздутия живота, то здесь разница составила 1,33 раза. Боль в животе исчезала в 1,43 раза быстрее у пациентов, получавших ЦФ по сравнению с больными гастроинтестинальной формой сальмонеллеза, которым в лечении применяли НФ. Еще быстрее у больных при лечении ЦФ исчезала лихорадка, это происходило в 1,58 раза быстрее чем у больных, получавших НФ.

Полученный достоверный АТЕ ПЭП с доверительными пределами 95% постериорного интервала [1,4421; 2,7220] с медианным значением АТЕ 2,05. Повышение уровня базового риска (базового шанса выздоровления) составляет 7,75 раз и свидетельствует о значительно лучших шансах скорейшего выздоровления при назначении ЦФ по сравнению с НФ. Единственным фактором, который кроме ПЭП смещал существенно базовый риск, оказалась тяжесть течения гастроинтестинальной формы сальмонеллеза. Градации «тяжелый» (параметр *b.Severe*) и «умеренный» (средней тяжести, параметр *b.Moderate*) контрастировались с легким течением. Тяжелое течение типично (по медианным значениям эффекта) снижало шансы к выздоровлению в 12 раз по сравнению с легким течением при прочих равных условиях. Течение средней тяжести типично снижало шансы к выздоровлению в 3 раза по сравнению с легким ходом при прочих равных условиях.

Чаще всего как среди здоровых лиц, так и среди больных гастроинтестинальной формой сальмонеллеза, встречались носители – гомозиготы по Arg/Arg генотипу TLR2. Среди группы больных гастроинтестинальной формой сальмонеллеза их было в 1,21 раза меньше, чем среди здоровых. Выявлено преобладание Asp/Asp генотипа гена TLR4 в обеих группах. Однако, среди больных гастроинтестинальной формой сальмонеллеза носителей данного генотипа было в 1,13 раза больше, чем среди здоровых лиц. Аллель Asp была самой распространенной в обеих группах, однако, ее носителей было в 1,09 раза больше среди здоровых людей. Носителей аллели Gly гена TLR4 было в 1,59 раза больше

выявлено среди больных гастроинтестинальной формой сальмонеллеза. Аллель Gly чаще встречалась среди больных с тяжелым течением сальмонеллеза, ее носителей было в 2,34 раза больше среди данной группы больных, чем среди здоровых. У больных гастроинтестинальной формой сальмонеллеза наблюдали достоверно более высокие уровни экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в лимфоцитах крови по сравнению со здоровыми.

Применение процедуры QLIM установило, что инкубационный период и продолжительность болезни определяют тяжесть течения с высокой достоверностью ($p < 0,0001$ для обеих переменных). Эти факторы в линейный предиктор входят со степенями 0,3 и -6,57. С уменьшением инкубационного периода вероятность тяжелого течения сальмонеллеза возрастает ($\beta = -46,93$).

Ключевые слова: сальмонеллез, гастроинтестинальная форма, совершенствование диагностики, факторы риска, лечение, иммунологические, микробиологические и генетические показатели.

SUMMARY

Palii D.V Gastrointestinal form of salmonellosis: improving diagnosis, risk factors, treatment. - As manuscript.

Dissertation for obtaining the research degree of candidate of medical sciences, speciality 14.01.13 - "Infectious diseases". - Vinnitsya National Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsya, 2017.

Dissertation devoted to studying gastrointestinal form of salmonellosis, improvement of diagnosis, risk factors and treatment. In the group of patients with gastrointestinal form of salmonellosis treated with CF, significantly more rapid disappearance of major symptoms were observed. The only factor that in addition to PEP significantly shift basis risk was the gastrointestinal form of salmonellosis severity.

Found the prevalence of TLR4 gene Asp/Asp genotype in patients. Asp allele was the most common. Gly allele of the gene TLR4 carriers were in 1.59 times more often found among patients with salmonellosis. Gly allele was more common among severe patients. Patients with gastrointestinal form of salmonellosis has significantly higher levels of TLR-2 and TLR-4 gene expression. Application procedures QLIM found that the incubation period and duration of disease determine the severity ($p < 0.0001$ for both variables).

Key words: salmonellosis, gastrointestinal form, diagnosis improvement, risk factors, treatment, immunological, genetic and microbiological parameters.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

Arg/Arg	– гомозигота Toll – подібного рецептора 2
Arg/Gln	– гетерозигота Toll – подібного рецептора 2
Gln/Gln	– гомозигота Toll – подібного рецептора 2
Asp/Asp	– гомозигота Toll – подібного рецептора 4
Asp/Gly	– гетерозигота Toll – подібного рецептора 4
Gly/Gly	– гомозигота Toll – подібного рецептора 4
ВООЗ	– Всесвітня організація охорони здоров'я
ВНМУ	– Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
ДДМ	– диско-дифузійний метод
ДІ	– довірчий інтервал
ДКМ [®]	– декаметоксин [®]
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ДС [®]	– декасан [®]
ІМІ	– Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України
Кд	– кілодальтон
МБсК	– мінімальна бактеріостатична концентрація
МБцК	– мінімальна бактерицидна концентрація
МД	– мегадальтон
м.м.	– молекулярна маса
МСМ	– молекула середньої маси
МІК	– мінімальна інгібуюча концентрація
НГ	– неспотстерігаєма гетерогенність
НТС	– нетифоїдна сальмонела
НФ	– ніфуроксазид
ПВ	– показник відмінності
ПВІ	– позакишкове вогнище інфекції
ПЕП (АТЕ)	– порівняльний ефект препаратів
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
СПЕ	– середній парціальний ефект
TLR – Toll	– подібний рецептора
ЦК	– циркулюючий імунний комплекс (антиген+антитіло)
ЦПМ	– цитоплазматична мембрана
ЦФ	– ципрофлоксацин
ЧВД	– час до видужання
СТХ	– cefotaxime (цефотаксим)
Fi+	– фертильність
ФН	– фагоцитуючий нейтрофіл
LT	– термолабільний токсин
PFGE	– pulsed field gel electrophoresis (гель-електрофорез)
РАМР	– патоген-асоційовані молекулярні структури

PT	– phage type (тип фагу)
S.	– salmonella
ST	– термостабільний токсин
S.tn.	– <i>S. typhimurium</i>
SPI	– the salmonella pathogenicity island

Підписано до друку 18.01.2017 р. Замовл. №026.
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56.

