

ВЫПИСКА

из протокола № 5 от 09.12.2024 г. заседания Ученого совета Кыргызской Государственной медицинской академии им.И.К.Ахунбаева по предварительной защите диссертационной работы аспиранта Джумабаевой Салтанат Муқановны на тему «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.09 - клиническая иммунология и аллергология. 03.02.03 – микробиология

«09» декабря 2024 г.

г.Бишкек

1. Председатель: Адамбеков Д.А. - академик НАН КР, д.м.н., проф., зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии КГМА им. И. К. Ахунбаева (14.03.09 клиническая иммунология, аллергология)

2. Секретарь: Альджамбаева И.Ш. – к.м.н., доцент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии КГМА им. И.К.Ахунбаева (14.03.09 клиническая иммунология, аллергология)

Всего: 9 человек (из списочного состава 15 человек).

ПОВЕСТКА ДНЯ:

1. **Председатель** Адамбеков Доктурбек Адамбекович, д.м.н., профессор, академик НАН КР, заведующий кафедрой микробиологии, иммунологии и вирусологии (14.03.09 - клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03- микробиология): Предварительная защита диссертационной работы аспиранта КГМА Джумабаевой С.М. из Казахстана на тему «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03 – микробиология.

2. **Секретарь:** Альджамбаева И.Ш. – к.м.н., доцент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии КГМА им. И.К.Ахунбаева.

Немного о Диссертационном Совете. Настоящий ДС был создан 01 ноября 2023 г. Д 03.23.685 для защиты диссертаций по специальностям 14.03.09-клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03- микробиология 14.03.09-клиническая иммунология и аллергология по медицинским и биологическим наукам. Медицинские науки для защиты докторских диссертаций, биологические науки для защиты кандидатских диссертаций. Немного о соискателе: Джумабаева Салтанат Муқановна окончила в 2005 г. Казахский Национальный Педагогический Университет им. Абая, по специальности биология. До 2008 г. работала в Талгарском Туберкулезном диспансере -

бактериологом. С 2008 -2016 гг преподавала на кафедре микробиологии Казахского Национального медицинского университета им.С.Д.Асфендиярова. С 2016 г по настоящее время работает в лаборатории микробиологии АО «Научный центр противомикробных препаратов». Чистый микробиолог. Диссертационная работа выполнена по шифрам 14.03.09- клиническая иммунология и аллергология, и 03.02.03 – микробиология.

Члены ДС:

1. Доолоткелдиева Тинатин Доолоткелдиевна – д.б.н., профессор (03.02.03 – микробиология)
2. Абдикаримов Сабыржан Токтосунович – д.м.н., (03.02.03 микробиология по совокупности работ)
3. Тюмонбаева Насира Бектурсуновна – к.б.н., доцент ведущий научный сотрудник НАН КР (14.03.09- клиническая иммунология и аллергология)
4. Тойгомбаева Вера Садыбакасовна. – д.м.н., профессор (03.02.03. – микробиология по совокупности работ)
5. Омургазиева Чолпон Монолдоровна - к.б.н., доцент (03.02.03 микробиология)
6. Тотубаева Нурзат Эрмековна – к.б.н., доцент (03.02.03 микробиология)
7. Кобзарь Вера Николаевна – д.б.н., профессор (14.03.09- клиническая иммунология и аллергология)

Слово предоставляется соискателю Джумабаевой С.М. «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола» сопровождался демонстрацией слайдов.

Здравствуйтесь, уважаемый председатель и уважаемые члены диссертационного совета!

Актуальность: Ежегодно в мире, по данным ВОЗ, регистрируют более 333 млн. новых случаев инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), из них на долю мочеполового трихомониаза приходится 180 млн. случаев ежегодно, что свидетельствует о его наибольшей распространенности среди других ИППП во всем мире в последнее десятилетие.

На сегодняшний день УГТ – широко распространенное инфекционное заболевание мочеполовой сферы. По данным ВОЗ, трихомониазом поражено около 10 % населения. В отдельных социальных группах заболеваемость достигает 40 %. Лица, страдающие скрытыми и латентными формами инфекций, играют главную роль в ее распространении. В связи с этим лечению мочеполового трихомониаза подлежат партнеры выявленного больного даже в том случае, когда клинические проявления заболевания отсутствуют.

Мочеполовой трихомониаз имеет большое медицинское и социально-экономическое значение в связи с высокой инфицированностью людей,

клиническим полиморфизмом, нередко хроническим течением с рецидивами, поражением различных органов и систем. Трихомонозом страдают люди ведущие активную половую жизнь в возрастной категории от 20 до 59 лет, в редких случаях – дети.

Цель исследования. Изучить эффективность защитных факторов макроорганизма при трихомонадной инфекции у женщин из группы риска и особенности лекарственной устойчивости *T.vaginalis* к препаратам из группы 5-нитроимидазола, для совершенствования диагностики и лечения.

Для решения цели нами определены задачи исследования

Задачи исследования:

1. Изучить ассоциативные взаимоотношения *T.vaginalis* с условно-патогенными микроорганизмами.
2. Изучить защитные факторы макроорганизма при инфекциях, вызванных *T.vaginalis*.
3. Мониторинг распространенности резистентных штаммов *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола и изучение совместного действия препаратов 5-НИ и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) на резистентные штаммы *T.vaginalis* методом *Checkerboard* «шахматной доски».

Для решения цели и задач исследования нами было обследовано 150 женщин основной группы и 139 женщин контрольной группы.

Установлена связь структуры микробиоценоза у РС с трихомонадной инфекцией с особенностями клинического течения заболевания. Выявленные нарушения между облигатными микроорганизмами в вагинальном биотопе у РС с трихомонадной инфекцией могут способствовать рецидивированию патологического процесса и ухудшению качества жизни. При хроническом течении чаще встречаются смешанная инвазия, микробные ассоциации из 3-х и более возбудителей ИППП.

Доказаны статистически значимые различия в показателях гуморального иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофилов между инфицированными женщинами и контрольной группой. Более выраженные изменения содержания IgG, IgA и фагоцитарной активности нейтрофилов наблюдались при остром течении трихомонадной инфекции. Для хронического течения заболевания более характерными были изменения показателей γ -, β -, $\alpha 1$ -глобулинов и альбуминов.

Метронидазолустойчивые штаммы *T.vaginalis* встречаются чаще у РС с хроническим течением заболевания, чем с подострым и чаще обнаруживаются у РС смешанными инвазиями. Данные по определению степени чувствительности *T.vaginalis* к метронидазолу будут способствовать оптимизации мер по предотвращению распространения резистентных штаммов *T.vaginalis*.

При совместном тестировании устойчивых к метронидазолу и КС штаммов *T.vaginalis* методом «шахматной доски» наблюдается снижение МИК у 80,0 % штаммов *T.vaginalis* в четыре раза.

Структура заболеваемости ИППП в основной и контрольных группах: из 150 обследованных женщин группы риска у 96 (64%) женщин была диагностирована трихомонадная инфекция, частота хламидийной инфекции составила 55,3 % (у 83 РС), кандидозная инфекция - у 55 (36,7 %) РС. В данном исследовании почти у половины представительниц секс-бизнеса установлена микоплазменная инфекция: приблизительно в одинаковых процентных соотношениях выделены *M.hominis* (24,6 %) и *Ur.urealyticum* (22,3 %). Также отмечен относительно высокий удельный вес герпесвирусной инфекции (ВПГ II типа) – у 32 РС, что составило 21,3 % обследованных. Частота выявления гонококковой и цитомегаловирусной инфекций - 4,7 % и 1,4 % соответственно. Результаты обследования на сифилис показали, что у 11 (7,3 %) РС наличие сифилиса в прошлом (по выявлению антител, принадлежащих к иммуноглобулинам классов IgG и данным анамнеза) и 5 (3,4 %) РС сифилис (наличие антител класса IgM).

Частота выявления возбудителей ИППП в моно-инфекции и ассоциации у РС (n=150). У подавляющего (88,0 %) числа РС с ИППП наблюдается микст-инфекция (у 132 из 150). Лишь у 18 (12,0 %) РС – моно-инфицирование. В контрольной группе почти в равных (в 53,6 % – моно-, в 46,4 % - микст) соотношениях наблюдается моно- и микст-инфицирование.

Количество ассоциаций возбудителей ИППП у РС с трихомонадной инфекцией у более половины (51,1 %) РС с трихомонадной инфекцией отмечалось сочетание 3-х и более возбудителей ИППП.

Наиболее частыми ассоциантами трихомонадной инфекции являлись кандидозная, хламидийная, микоплазменная и герпесвирусная инфекции.

Результаты бактериологического исследования отделяемого влагалища у РС с трихомонадной инфекцией и женщин контрольной группы спектр условно-патогенной микрофлоры РС с трихомонадной инфекцией достаточно отличается от контрольной группы. У женщин с трихомонадной инфекцией в отделяемом из влагалища наблюдается снижение содержания лактофлоры, повышенное содержание условно-патогенной микрофлоры.

Состояние адаптивного иммунитета у РС с трихомонадной инфекцией в основной группе отмечаются нормальные средние значения показателей клеточного иммунитета, что проявляется отсутствием изменений количества лимфоцитов CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ как при острой, так и при хронической формах трихомонадной инфекции, а также отсутствием статистически значимой разницы этих показателей по сравнению с контрольной группой (p>0,05). Некоторое снижение количества лимфоцитов при изучении соотношения ИРИ (CD3⁺+CD4⁺/CD3⁺+CD8⁺) не показало статистически значимой разницы в средних значениях этого показателя по сравнению с контрольной группой (p<0,05).

Доказаны статистически значимые различия в показателях гуморального иммунитета между инфицированными женщинами и контрольной группой для таких показателей: α1-глобулины, α2-глобулины, β-глобулины, γ-глобулины, IgA, IgG, IgE, фагоцитарной активности нейтрофилов, альбумины, общий белок (p<0,05).

Результат изучения чувствительности *T.vaginalis* к препаратам группы 5-нитроимидазола (метронидазол) показал, что несмотря на высокую концентрацию метронидазола в первом разведении (2000 мкг/мл) только в 29 (72,5 %) пробах испытуемые штаммы *T.vaginalis* проявили чувствительность к данной концентрации метронидазола – отмечено отсутствие роста. На концентрации 1000 мкг/мл в 11(27,5 %) пробах наблюдается отсутствие роста и в 5(12,5 %) пробах обнаруживались неподвижные клетки с сохраненной морфологией. В 4 пробах (10 %) отмечены подвижные клетки грушевидной формы; в 1(2,5 %) пробах – подвижные штаммы шаровидной формы; в 1(2,5 %) – единичные, подвижные клетки с неизменной морфологией. К концентрации 500 и 250 мкг/мл -100 % устойчивость.

При определении МИК координационного соединения (альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) в отношении штаммов *T.vaginalis* выяснили, что 25 % (10) штаммов трихомонад чувствительны к аддукту в максимальной концентрации 32 мкг/мл. 30 % (12) штаммов трихомонад проявляют чувствительность к КС в концентрации 16 мкг/мл. 12,5 % штаммов (5) проявляют чувствительность к КС в концентрации 8 мкг/мл. 17,5% (7) штаммов трихомонад проявили чувствительность в концентрации 4 мкг/мл. 15 % (6) испытуемых штаммов трихомонад проявили чувствительность в концентрации 2 мкг/мл.

T.vaginalis по отношению к Координационному Соединению (КС) демонстрируют высокую устойчивость.

При совместном тестировании устойчивых к метронидазолу и КС штаммов *T.vaginalis* методом «шахматной доски» наблюдается снижение МИК у 80,0% штаммов *T.vaginalis* в четыре.

Эффект потенцирования антибактериальной активности КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метронидазола, не способного в обычных условиях проникать через наружную мембрану *T.vaginalis* к внутриклеточным мишеням, заслуживает более детального изучения в отношении возбудителей инфекций, передающихся половым путем с множественной резистентностью.

По результатам ВЭЖХ на внутриклеточное количественное содержание метронидазола в образцах очищенного бактериального лизата показал наличие метронидазола в низких разведениях (0,06 мкг/мл) у штаммов *T.vaginalis*.

Данный эксперимент свидетельствует, что устойчивость этих трихомонад к метронидазолу связана не с плохой проницаемостью клеточной оболочки трофозоида и с не выбросом препарата из клетки, а со снижением образования комплексов с ДНК, с нарушением образования свободных радикалов и снижением концентрации цитотоксических продуктов метаболизма, т.е. устойчивость к механизму действия препарата имеет генную природу происхождения. Ведь нитроимидазолы относятся к ДНК-тропным соединениям с избирательной активностью в отношении микроорганизмов, имеющих ферментные системы (пирруват –ферродоксин оксиредуктаза) – нитроредуктазы, способные восстанавливать нитрогруппу. Препараты 5-

НИМЗ проявляют свое действие только после трансформации в клетках бактерий или простейших. Нитроредуктазы катализируют процесс взаимодействия в микробной клетке белков группы ферродоксинов с нитросоединениями. После проникновения метронидазола в микробную клетку под действием нитроредуктаз в клетке образуются активные метаболиты 5-НИМЗ, которые оказывают антимикробное и антипротозойное действие. Мишенью этих метаболитов являются ДНК и РНК клетки и клеточные белки. Активные восстановленные формы препаратов нарушают репликацию ДНК и синтез белка в микробной клетке. Этот процесс одновременно сопровождается образованием свободных радикалов, которые также оказывают повреждающее действие на ДНК. Эти процессы приводят к гибели клетки. Результаты ВЭЖХ показали нарушение образования активных метаболитов 5-НИМЗ, чем и объясняется устойчивость у штаммов *T.vaginalis*, выделенных нами клинических штаммов трихомонад.

Выводы:

1. Выявлены качественные изменения вагинального биотопа у РС с трихомонадной инфекцией, свидетельствующие о глубоких нарушениях взаимоотношений между разными видами микроорганизмов, что может способствовать рецидивированию патологического процесса.

2. В основной группе исследования отмечаются отсутствие изменений количества лимфоцитов, т.к, поверхностные белки трихомонад не вызывают резкого системного иммунного ответа. Доказаны статистически значимые различия в показателях гуморального иммунитета между инфицированными женщинами и контрольной группой таких показателей: α 1-глобулины, α 2-глобулины, β -глобулины, γ -глобулины, IgA, IgG, IgE, фагоцитарной активности нейтрофилов, альбумины, общий белок. Установлены изменения всех гуморальных факторов и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в процентном отношении в крови пациенток с трихомонадной инфекцией.

3. При определении внутриклеточного содержания метронидазола на ВЭЖХ, у штаммов в самых низких разведениях метронидазола наличие препарата определялось, но при этом они сохраняли жизнеспособность, что может свидетельствовать о ферментных нарушениях: нарушение фермента пируват-ферродоксин оксиредуктазы.

4. При изучении чувствительности к метронидазолу штаммов *T.vaginalis*, выявлена высокая устойчивость ко всем концентрациям метронидазола – к концентрациям 2000 и 1000 мкг/мл – 76,6 и 93,3 % испытуемых штаммов, соответственно.

5. При совместном тестировании устойчивых к метронидазолу и КС штаммов *T.vaginalis* методом «шахматной доски» наблюдается снижение МИК у 80,0 % штаммов *T.vaginalis* в четыре.

ПО ДОКЛАДУ ЗАДАНЫ ВОПРОСЫ:

Доолоткелдиева Т.Д.-д.б.н., профессор: Спасибо за интересный доклад! У меня возникли несколько вопросов. Может я недопонимаю.

Вопрос: Вы обнаружили смешанную бактериальную инфекцию. При назначении главного препарата- метронидазол, он эффективен только против паразитарной инфекции или и на бактериальную сопутствующую инфекцию тоже?

Ответ: Спасибо, Тинатин Доолоткелдиевна, за интересный вопрос! Мне тоже было интересно действует ли метронидазол на другие сопутствующие инфекции. Я поставила антибиотикочувствительность на другие возбудители. Я выяснила, что метронидазол эффективен против анаэробной и факультативно-анаэробной флоры. Сейчас стоит вопрос такой, что метронидазол стали назначать против всех анаэробных и факультативно-анаэробных возбудителей инфекций. Это может привести к селекции метронидазолустойчивых штаммов.

2 вопрос: Почему вы подключаете иммуномодулятор? Иммуномодулятор КС-альбумин? Он действует против смешанной флоры? Кандидозную например? Если хотели подавить смешанную флору, почему вы не взяли лактобактерии, пробиотики. Они создают кислую среду в вагинальной полости. Лактобациллюс - это был бы безобидный экологически чистый подход. Я думала, что в составе КС имеется лактобактерии.

Ответ: Спасибо за вопрос! Я хотела уточнить, что КС- это поверхностно активное вещество. Он не иммуномодулятор. Он сам обладает антимикробной активностью. Но он поверхностно-активное вещество. Он препарат поверхностного действия.

3 вопрос: В отношении лизата. Присутствие препарата внутри клетки. Вы утверждаете, что это генная мутация. Это вызывает немножко сомнение в ваших выводах. Чтобы говорить о генной мутации, надо обнаружить, выделить ген, отвечающий за мутацию. Вы говорите, что фермент ферродоксин, который выделяет микроорганизм, это защитное свойство. Может произошли ферментные нарушения. Они могут выполнять не свои функции. Вы говорите, что это генная мутация. Пока не выделили ген мутации, это громко сказано. Как вы думаете?

Ответ: Вы правы! Очень интересный, хороший взгляд. Дело в том, что когда мы инкубируем возбудители вместе с препаратом какое - то время, отмываем, замораживаем, лизируем и внутри обнаруживали неизмененный препарат- это говорит о том, что метронидазол, его нитрогруппа не связалась с ферментом пируват - ферродоксином, не превратилась в нитрорадикал, который связывается с ДНК, РНК и др. белками клетки, не приводит к лизису.

Тинатин Доолоткелдиева: Это ваше предположение, конечно. Это надо очень тонко говорить. Громковато сказано. Пока ген, отвечающий за мутацию не выделен, не можете говорить о генной мутации.

Джумабаева С. М. Спасибо большое за ваше замечание. Я учту Ваше мнение.

Тинатин Доолоткелдиева: У меня были еще и другие вопросы. Я потом еще задам. Это интересная работа с новейшими выводами.

Председатель: Еще, пожалуйста, вопросы. Абдикаримов Сабыржан Токтосунович слушаем Вас.

Абдикаримов Сабыржан Токтосунович:

Вопрос: Салтанат Мукановна спасибо за доклад! Вы с ходу начинаете сокращенно говорить о РС и МИК. Поясните что такое РС и МИК?

Ответ: РС- это работницы секса. МИК – это минимальная ингибирующая концентрация препарата. РС была расшифровка в начале. А МИК я не расшифровала. Прошу прощения.

Абдикаримов Сабыржан Токтосунович: Прошу вас в следующий раз учесть. Второй вопрос. Скажите, пожалуйста, вы проводили исследования гуморальных факторов иммунитета. Где проводилось, в вашей лаборатории? Имеет ли право на достоверность, компетентность и независимость представленных результатов. Аккредитована ли лаборатория международным стандартам, по 17025?

Ответ: Спасибо за вопрос! Я работаю в Алматы в Научном центре противoinфекционных препаратов. Наш центр аккредитован по 17025, по GMP, GLP. Имеет отдельные лаборатории иммунологии, вирусологии и микробиологии. В нашем центре имеются все новейшее оборудование, сотрудники квалифицированные специалисты. Спасибо за вопрос!

Председатель: Еще вопросы, пожалуйста!

Тинатин Доолоткелдиева: Относительно фагоцитарного индекса я забыла спросить. А почему вы только нейтрофилы учитываете? Или это активный фагоцит? При учете фагоцитарного индекса вы брали только нейтрофил. Другие фагоциты отдыхают, да?

Ответ: Нет, не отдыхают. По литературным данным, мне было интересно посмотреть на нейтрофилы. Я очень много пересмотрела литературы, поэтому остановилась на нейтрофилах. И да, они самые активные из фагоцитов.

Председатель: Еще вопросы? Пожалуйста!

Тюмонбаева Насира.Бектурсуновна.

Вопрос: У меня не вопрос, а предложение. Не проще ли назвать РС – группой риска.

Ответ: Дело в том, что Работницами секса их называют в дерматовенерологической службе. Я не могу их переименовывать.

Председатель: Еще вопросы пожалуйста! Все?

Секретарь: Мы предоставляем слово Кобзарь Вере Николаевне. Она эксперт. По шифру иммунология. И она зачитает свое заключение по теме диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ эксперта диссертационного совета Д 03.23.685., д.б.н., профессора Кобзарь В.Н.:

1. Соответствие работы специальности, по которой дано право диссертационному совету принимать диссертации к защите.

Кандидатская диссертация Джумабаевой С.М. на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ» соответствует профилю диссертационного совета.

В настоящей работе были изучены следующие актуальные вопросы:

- 1) лекарственная резистентность трихомонад к терапии метронидазолом;
- 2) с чем связана резистентность, пути ее преодоления с применением КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия).

Представленные результаты по содержанию отвечают требованию паспорта специальности 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология биологические науки, 03.02.03 -микробиология (п. 2, 3, 4, 5)

2. Цель диссертационного исследования

Изучить эффективность защитных факторов макроорганизма при трихомонадной инфекции у женщин из группы риска и особенности лекарственной устойчивости *T.vaginalis* к препаратам из группы 5-нитроимидазола, для совершенствования диагностики и лечения.

Поставленная цель достигнута решением в диссертации следующих задач:

- изучить ассоциативные взаимоотношения *T.vaginalis* с условно-патогенными микроорганизмами.
- изучить защитные факторы макроорганизма при инфекциях, вызванных *T.vaginalis*.
- провести мониторинг распространенности резистентных штаммов *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола и изучить эффект совместного действия препаратов 5-НИ и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) на резистентные штаммы *T.vaginalis* методом *Checkerboard* шахматной доски.

Объект исследования: антибиотикорезистентность как процесс, затрагивающий все больший спектр микроорганизмов, создающий в результате проблемы с состоянием системы иммунитета, проблемы с возможностью успешного лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

Предмет исследования: антибиотикорезистентность *T.vaginalis*, методы выявления резистентности к противопротозойным препаратам, анализ причин, пути преодоления резистентности.

По объему работы и методологическим аспектам представленная диссертационная работа соответствует специальности: 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология биологические науки.

Состояние адаптивного иммунитета оценивали по содержанию Т-лимфоцитов и их субпопуляций на автоматическом проточном цитометре FACS Calibur фирмы «Becton Dickinson» (США), набора моноклональных антител фирмы «Becton Dickinson». Выборку проводили при подсчете 10000 клеток.

Для исследования брали из венозную кровь в количестве 3-5 мл в пробирку с раствором гепарина в смеси со средой Хенкса, обрабатывали моноклональными антителами определенной специфичности и инкубировали в течение 15 мин, отмывали трехкратно PBS (фосфатно-солевым буфером), центрифугировали при 2100 оборотах в мин, в течение 5 мин. Для стабилизации клеточных мембран использовали фирменный фиксирующий раствор Cell Fix фирмы «Becton Dickinson».

Для оценки адаптивного иммунитета проводили определение содержания сывороточных иммуноглобулинов классов А,М,Г методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини (производство фирмы «Реофарм» г. Москва).

Сыворотку крови пациентов разводили в зависимости от требуемой концентрации для каждого класса используемых иммуноглобулинов, через сутки определяли диаметр диффузии в агаре и рассчитывали концентрацию по специальной шкале. Результаты оценивали с помощью соответствующего программного обеспечения.

Определение чувствительности. Чувствительность трихомонад к метронидазолу *in vitro* оценивали методом серийных разведений, с определением минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Использовали субстанцию метронидазола фирмы Sigma-Aldrich (Германия).

Для определения совместного действия КС (альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метронидазола применяли метод *Checkenboard* («шахматной доски»). Для этого в 96-луночном планшете сверху вниз готовится разведение препарата А. По горизонтали готовится разведение препарата В. Добавляется суспензия культуры и инкубируется при 37⁰С, в течение 3-5 дней. Затем производится высеивание на свежие питательные среды.

Все вышеперечисленное соответствует требованиям к исследованию по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03 – микробиология,

Актуальность темы диссертации. Трихомониаз является самым распространенным заболеванием мочеполового тракта, занимая первое место среди заболеваний, передаваемых половым путем (ИППП). В мире ежегодно регистрируется около 200 млн. случаев трихомониаза.

Установлено, что возраст женщин, больных трихомониазом и смешанной инфекцией в московской популяции, колебался в пределах 18-39 лет, мужчин – 15-39 лет. Эти данные согласуются с общемировой тенденцией – болезнь чаще регистрируется у населения, ведущего активную половую жизнь.

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам и антипротозойным препаратам представляется одной из наиболее серьезных проблем здравоохранения в мировом сообществе, поскольку рост количества лекарственно-устойчивых штаммов служит основной причиной снижения эффективности этиотропной терапии инфекций и инвазий.

В настоящее время считается, что *Trichomonas vaginalis* существуют только как вегетативная форма (трофозоид), утративший стадию цистообразования. Благодаря достижениям электронной микроскопии доказано существование трихомонад в различных формах. Наряду с весьма подвижными жгутиковыми формами имеются малоподвижные крупные амeboидные формы, перемещающиеся благодаря псевдоподиям.

Амастиготные формы трихомонад можно рассматривать как дегенеративные формы самосохранения или биопазузы, которые при

соответствующих условиях могут опять регенерировать в типичные подвижные формы.

В трихомонадах нет настоящих митохондрий, а есть их аналоги – гидрогеносомы, выполняющие многие аналогичные метаболические функции. Развитие устойчивости *T. vaginalis* к препаратам группы метронидазола – многоступенчатый процесс, основанный на постепенном снижении (вплоть до утраты) активности гидрогеносомальных ферментов и/или нарушением метаболических флаavin-зависимых путей.

Трихомонады хорошо адаптированы к существованию в организме человека: могут менять форму, маскироваться под клетки плазмы крови (тромбоциты, лимфоциты) - что затрудняет диагностику трихомониаза.

Микроорганизмы (гонококки, уреаплазмы, хламидии, грибы рода кандиды, вирусы герпеса, цитомегаловирус), попадая внутрь трихомонад, становятся неуязвимыми для действия лекарств и иммунной системы человека. Подвижные трихомонады могут распространять другие микробы по мочеполовой системе, что также способствует возникновению дополнительных очагов воспаления. Хронизация трихомонадной инфекции ставит вопрос относительно степени эффективности иммунной защиты. Роль адаптивного иммунитета при трихомониазе недостаточно изучена.

С учетом вышеуказанного, необходимо заключить, что научное исследование, предпринятое диссертантом, представляется весьма актуальным и социально значимым.

3. Научные результаты.

В работе представлены новые научно-обоснованные теоретические результаты, которые имеют немаловажное значение для развития диагностики и информационную и методологическую основу для решения вопросов разработки новых лекарственных препаратов.

3.1. Научно-обоснованные результаты являются новыми и получившими дальнейшее развитие.

Результат 1, получивший дальнейшее развитие. Существенные нарушения показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета выявлены у РС с трихомонадной инфекцией, характеризующиеся наличием супрессии в Т-клеточном звене иммунной системы и дисбалансе гуморального иммунитета. Причем изменения более выражены у РС при хронизации трихомонадной инфекции.

Результат 2. Новый метод определения синергизма КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) и метронидазола методом Checkerboard «шахматной доски» и значением фракциональной ингибирующей концентрации 0,5 и ниже, показал перспективность применения комбинации этих препаратов, т.е. появляется методологическая основа для получения новых препаратов, которые позволят преодолевать лекарственную устойчивость данных микробов.

Результат 3. Впервые предложенный способ применения метода ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографии) - метода аналитической химии для определения внутриклеточного содержания метронидазола, что позволил установить, что устойчивость выделенных штаммов трихомонад связана не с модификационной изменчивостью, а с нарушением внутриклеточных ферментных систем, локализованных в гидрогеносомах.

3.2. Степень обоснованности и достоверности результатов, выводов и заключения, сформулированных в диссертации соискателя.

Результаты исследований базируются на достаточном материале (обследовано 289 женщин, включая основную и контрольную группу), по достоверности не вызывают сомнений. Диссертантом использовались современные методы исследования с высокой диагностической эффективностью. Верифицированные результаты получены при сравнительном анализе показателей в разных группах обследуемых. Материал исследования с качественными и количественными показателями статистически обработан с использованием методов вариационной статистики.

3.3. Теоретическое значение работы

Полученные данные можно использовать для совершенствования лабораторной диагностики по выявлению микст урогенитальных инфекций, а также для определения прогноза и тактики лечения.

Существенные изменения показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета у РС с трихомонадной инфекцией касаются всех изученных показателей и более выражены у лиц с хроническим течением инфекционного процесса.

Совместное использование КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метронидазола, позволит не только преодолеть резистентность *T.vaginalis*, что создает методологическую основу для совершенствования лечения.

3.4. Соответствие квалификационному признаку

Диссертация посвящена решению актуальной и социально значимой проблемы в области инфекционной патологии, а именно: совершенствованию диагностики и тактики лечения, особенно в сфере лекарственной устойчивости с использованием стандартизированных иммунологических методик.

4. Практическая значимость полученных результатов

Полученные результаты соответствуют основным стратегиям в медицине: совершенствованию диагностики и лечения.

Установленные изменения в иммунном статусе у РС с трихомонадной инфекцией позволяют практическому здравоохранению рекомендовать более углубленное лабораторное обследование с изучением иммунной реактивности лиц, страдающих УГТ с целью коррекции выявленных нарушений.

Полученные результаты по совместному определению синергизма метронидазола и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-

глюкозо-тетрайодида калия) методом Checkerboard «шахматной доски» показал перспективность применения комбинации этих препаратов.

По результатам исследования оформлены акты внедрения.

5. Соответствие автореферата содержанию диссертации

Автореферат и диссертация по содержанию и структуре полностью идентичны и оформлены в соответствии с Инструкцией по оформлению диссертации и автореферата (в редакции Постановления Президиума ВАК Кыргызской Республики от 27 декабря 2018 года № 191), по теме работы опубликовано 9 статей в журналах, рекомендованных НАК ПКР.

6. Замечания и вопросы:

В диссертационной работе имеются стилистические неточности и грамматические ошибки, что нуждается в коррекции.

При внимательном изучении диссертационной работы возникли следующие вопросы:

1. Каковы цитоморфологические признаки *T. vaginalis* амастиготной (округлой) формы, позволяющие проводить диагностику при отсутствии типичных грушевидных форм?
2. Усилить соответствие специальности введением в задачи исследования пункта по иммунологии, в выводах такой пункт есть.
3. Где конкретно, были внедрены практические рекомендации?

7. Предложения

Продолжить исследования по изучению лекарственной устойчивости трихомонад к препаратам 5-НИ, изменению местного иммунитета при трихомониазе, что даст возможность перспективы получения эффекта при коррекции местных иммунных нарушений.

8. Рекомендации. Назначить в качестве ведущей организации Казахский научный центр дерматологии и инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения РК.

В качестве официальных оппонентов назначить: Ратникову И.А., д.б.н., шифр 03.02.03 микробиология; Тюмонбаеву Насиру Бектурсуновну- к.б.н, доцент, шифр 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология.

9. Заключение. Диссертационная работа Джумабаевой Салтанат Мукановны на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ» является индивидуальным научно квалифицированным трудом и соответствует паспорту специальности 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03. – микробиология,

10. Эксперт диссертационного совета, рассмотрев представленные документы, рекомендует диссертационному совету Д 03.23.685 при КГМА им. И.К.Ахунбаева принять к защите диссертацию Джумабаевой Салтанат Мукановны на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология

Председатель: Так, соискатель, пожалуйста, ответьте на вопросы эксперта
Вопрос: Как Вы определяли амастиготные формы *T.vaginalis*?

Ответ: Лично я проверяла методом микроскопии. А также с применением анилиновых красителей. И поле зрения: я просматривала до 50 полей зрения. Там происходит преломления света вокруг клетки. Клетка же неровная, овальная. И вокруг клетки образуется тонкая белая линия. Таким образом можно найти в мазках из клинического материала *T.vaginalis*. в амастиготной форме.

Второй вопрос, простите пожалуйста, я забыла. Повторите.

Кобзарь В.Н.: Вторым вопросом касается пункта по иммунологии. В задачах нет пункта по иммунологии, а в выводах такой пункт есть.

Ответ: В задачах у меня вторая задача как раз по иммунологии.

Кобзарь В.Н.: Где конкретно вы внедрили методы определения антибиотикорезистентности трихомонад?

Ответ: Метод «шахматной доски» был внедрен в лаборатории микробиологии АО НЦПП г.Алматы и Республиканском центре дерматовенерологии, бактериологической лаборатории г.Бишкек. третий акт по ВЭЖХ внедрение было в Городском кожно-венерологическом диспансере г.Алматы.

Председатель: Достаточно. Теперь второй эксперт, пожалуйста.

Секретарь: Вторым экспертом не член ДС. Надо отметить, что трихомонадная инфекция и другие ИППП, сфера деятельности дерматовенерологов. Поэтому мы пригласили клинициста, Койбагарову Асель Алмазбековну - д.м.н., доцента, заведующую кафедрой дерматовенерологии, которая бы с точки зрения клинициста рассмотрела данное исследование. Мы больше изучаем морфологические, физиологические свойства самого микроба. Она у нас второй эксперт, продолжит.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ эксперта диссертационного совета Д 03.23.685., д.м.н., доцента Койбагаровой Асель Алмазбековны:

1. Соответствие работы специальности, по которой дано право диссертационному совету принимать диссертации к защите.

Кандидатская диссертация Джумабаевой С.М. на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ» соответствует профилю диссертационного совета.

В настоящей работе были изучены следующие актуальные вопросы:

1) лекарственная резистентность трихомонад к терапии метронидазолом;
2) механизм резистентности, пути ее преодоления с применением КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия).

Представленные результаты по содержанию отвечают требованию паспорта специальности 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология биологические науки, 03.02.03 -микробиология (п. 2, 3, 4, 5)

2. Цель диссертационного исследования

Изучить эффективность защитных факторов макроорганизма при трихомонадной инфекции у женщин из группы риска и особенности лекарственной устойчивости *T.vaginalis* к препаратам из группы 5-нитроимидазола, для совершенствования диагностики и лечения.

Поставленная цель достигнута решением в диссертации следующих задач:

- изучить ассоциативные взаимоотношения *T.vaginalis* с условно-патогенными микроорганизмами.

- изучить защитные факторы макроорганизма при инфекциях, вызванных *T.vaginalis*.

- провести мониторинг распространенности резистентных штаммов *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола и изучить эффект совместного действия препаратов 5-НИ и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) на резистентные штаммы *T.vaginalis* методом *Checkerboard* шахматной доски.

Объект исследования: антибиотикорезистентность как процесс, затрагивающий все больший спектр микроорганизмов, создающий в результате проблемы с состоянием системы иммунитета, проблемы с возможностью успешного лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

Предмет исследования: антибиотикорезистентность *T.vaginalis*, методы выявления резистентности к противопротозойным препаратам, анализ причин, пути преодоления резистентности.

По объему работы и методологическим аспектам представленная диссертационная работа соответствует специальностям: 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03. микробиология, биологические науки.

Оценку иммунного статуса проводили по состоянию адаптивного иммунитета стандартными методами.

Состояние адаптивного иммунитета оценивали по определению содержания лимфоцитов и их субпопуляций: на автоматическом проточном цитометре FACS Calibur фирмы «Becton Dickinson» (США), набора моноклональных антител фирмы «Becton Dickinson». Определение содержания сывороточных иммуноглобулинов всех классов определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини с использованием иммунодиффузионных планшетов (производство фирмы «Реофарм» г. Москва).

Определение чувствительности. Чувствительность трихомонад к метронидазолу *in vitro* оценивали методом серийных разведений, с определением минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Использовали субстанцию метронидазола фирмы Sigma-Aldrich (Германия).

Для определения совместного действия КС (альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) и метронидазола применяли метод *Checkenboard* («шахматной доски»). Для этого в 96-луночном планшете сверху вниз готовится разведение препарата А. По горизонтали готовится разведение препарата, добавляется суспензия культуры и инкубируется при

37⁰С, в течение 3-5 дней. Затем производится высеv на свежие питательные среды.

Все вышеперечисленное соответствует требованиям к исследованию по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03 – микробиология,

Актуальность темы диссертации. Трихомониаз является самым распространенным заболеванием мочеполового тракта, занимая первое место среди заболеваний, передаваемых половым путем (ИППП). В мире ежегодно регистрируется около 200 млн. случаев трихомониаза. Заболевание чаще регистрируется у населения, ведущего активную половую жизнь.

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам и антипротозойным препаратам представляет большую проблему.

Трихомонады хорошо развиваются в организме человека: могут менять форму, маскироваться под клетки крови, эпителиальные клетки уретры, влагалища - что затрудняет микроскопическую диагностику трихомониаза. Трихомонады могут поглощать другие микробы (гонококки, уреаплазмы, хламидии, грибы рода кандиды, вирусы герпеса, цитомегаловирус), что создает еще больше проблем уже микст инфекций.

Трихомонадная инфекция может переходить в хронический процесс и это может быть результатом лекарственной устойчивости и дефектом местного иммунитета.

Роль адаптивного иммунитета при трихомониазе недостаточно изучена.

С учетом вышеуказанного, необходимо заключить, что научное исследование, предпринятое диссертантом, представляется весьма актуальным и социально значимым.

3. Научные результаты.

В работе представлены новые результаты, по совершенствованию диагностики и лечения трихомониаза.

3.1. Научно-обоснованные результаты являются новыми и получившими дальнейшее развитие.

Результат 1, получивший дальнейшее развитие. Существенные нарушения показателей адаптивного иммунитета выявлены у РС с трихомонадной инфекцией, имела место супрессия в Т-клеточном звене иммунной системы и дисбалансе гуморального иммунитета. Причем изменения более выражены у РС при хронизации трихомонадной инфекции.

Результат 2. Новый метод определения синергизма КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метронидазола методом Checkerboard «шахматной доски» и значением фракционной ингибирующей концентрации 0,5 и ниже, показал перспективность применения комбинации этих препаратов, т.е. появляется методологическая основа для получения новых препаратов, которые позволят преодолеть лекарственную устойчивость данных микробов.

Результат 3. Впервые предложенный способ применения метода ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографии) - метода аналитической

химии для определения внутриклеточного содержания метронидазола, что позволил установить, что устойчивость выделенных штаммов трихомонад связана не с модификационной изменчивостью, а с нарушением внутриклеточных ферментных систем, локализованных в гидрогеносомах.

3.2. Степень обоснованности и достоверности результатов, выводов и заключения, сформулированных в диссертации соискателя.

Результаты исследований базируются на достаточном материале (обследовано 289 женщин, включая основную и контрольную группу), по достоверности не вызывают сомнений. Диссертантом использовались современные методы исследования с высокой диагностической эффективностью. Верифицированные результаты получены при сравнительном анализе показателей в разных группах обследуемых. Материал исследования с качественными и количественными показателями статистически обработан с использованием методов вариационной статистики.

3.3. Теоретическое значение работы

Полученные данные можно использовать для совершенствования лабораторной диагностики по выявлению микст урогенитальных инфекций, а также для определения прогноза и тактики лечения.

Существенные изменения показателей адаптивного иммунитета у РС с трихомонадной инфекцией касаются всех изученных показателей и более выражены у лиц с хроническим течением инфекционного процесса.

Совместное использование КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) и метронидазола, позволит не только преодолеть резистентность *T.vaginalis*, что создает методологическую основу для совершенствования лечения.

3.4. Соответствие квалификационному признаку

Диссертация посвящена решению актуальной и социально значимой проблемы в области инфекционной патологии, а именно: совершенствованию диагностики и тактики лечения, особенно в сфере лекарственной устойчивости с использованием стандартизированных иммунологических методик.

4. Практическая значимость полученных результатов

Полученные результаты соответствуют основным стратегиям в медицине: совершенствованию диагностики и лечения.

Установленные изменения в иммунном статусе у РС с трихомонадной инфекцией позволят практическому здравоохранению рекомендовать более углубленное лабораторное обследование с изучением иммунной реактивности лиц, страдающих УГТ с целью коррекции выявленных нарушений.

Полученные результаты по совместному определению синергизма метронидазола и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) методом Checkerboard «шахматной доски» показал перспективность применения комбинации этих препаратов.

По результатам исследования оформлены акты внедрения.

5. Соответствие автореферата содержанию диссертации

Автореферат и диссертация по содержанию и структуре полностью идентичны и оформлены в соответствии с Инструкцией по оформлению диссертации и автореферата, по теме работы опубликовано 7 статей в журналах, рекомендованных НАК ПКР.

6. Замечания и вопросы:

В диссертационной работе имеются стилистические неточности и грамматические ошибки, что нуждается в коррекции.

При внимательном изучении диссертационной работы возникли следующие вопросы:

1. Каковы цитоморфологические признаки *T. vaginalis* амастиготной (округлой) формы, позволяющие проводить диагностику при отсутствии типичных грушевидных форм?
2. Усилить соответствие специальности введением в задачи исследования пункта по иммунологии, в выводах такой пункт есть.
3. Где конкретно, были внедрены практические рекомендации?

7. Предложения

Продолжить исследования по изучению лекарственной устойчивости трихомонад к препаратам 5-НИ, изменению местного иммунитета при трихомониазе, что даст возможность перспективы получения эффекта при коррекции местных иммунных нарушений.

8. Рекомендации. Назначить в качестве ведущей организации Казахский научный центр дерматологии и инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения РК, г.Алматы.

В качестве официальных оппонентов назначить: Ратникову И.А., д.б.н., шифр 03.02.03 микробиология; Тюмонбаеву Насиру Бектурсуновну- к.б.н, доцент, шифр 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология биологические науки.

9. Заключение. Диссертационная работа Джумабаевой Салтанат Мукановны на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ» является индивидуальным научно квалифицированным трудом и соответствует паспорту специальности 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03. микробиология.

10. Эксперт диссертационного совета, рассмотрев представленные документы, рекомендует диссертационному совету Д 03.23.685 при КГМА им. И.К.Ахунбаева принять к защите диссертацию Джумабаевой Салтанат Мукановны на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03 – микробиология;

Председатель: Так соискатель, пожалуйста, ответьте на вопросы эксперта

Вопрос: Где вы брали РС, женщин коммерческого секса? Там есть микст-инфекция? Каким образом выставлялся диагноз сифилис? Где вы брали

пациентов с микст инфекциями? Самое главное, каким образом выставлялась диагноз сифилиса?

Ответ: Спасибо большое за вопросы. Вернемся к вопросу почему я не применили ПЦР?

Мне нужно было не просто поставить диагноз, мне нужно было выявленных больных разделить на подострую форму и хроническую форму трихомонадной инфекции. Поставить на чувствительность к метронидазолу, потом поставить чувствительность методом «шахматной» доски, чтобы определить синергизм препаратов. В научно-исследовательских работах допускается применение разных методов. Я сама не врач дерматовенеролог. Не медик. В данной исследовательской работе мне нужно было применить методы, отвечающие моим требованиям в решении конкретных задач. В нашем Казахстанском институте дерматовенерологии расформировали лабораторию микробиологии, полностью перешли на ПЦР-диагностику.

Следующий вопрос?

Койбагарова Асель Алмазбековна: где вы взяли группу РС? И почему их?

Ответ: Потому что, именно в группе РС чаще всего выявляется трихомонадная инфекция, чем у женщин из общей популяции. Я обратилась в кожвендиспансер г.Алматы с просьбой о материале от пациентов. Но мне отказали. Я тему утвердила, а материал для исследования взять негде. И тогда я обратилась к сотрудникам кафедры микробиологии КГМА. Они как раз работали в дружественной клинике по программе USAID. Мне помогли собирать материал среди РС. Я ездила между Алматы и Бишкеком, с транспортной средой, ночами сеяла. И таким образом я выходила из положения.

Председатель: Сегодня есть микст трихомонадная инфекция и ВИЧ?

Ответ: Есть, конечно. Но в мои задачи не входило обследование женщин с ВИЧ.

Койбагарова Асель Алмазбековна: СПИД центры занимаются ВИЧ.

Ответ: Следующий вопрос про метронидазол. Почему в эксперимент я взяла метронидазол? Метронидазол был синтезирован в 1959 г. С тех пор ничего другого нет, препарат остается препаратом номер 1 в лечении трихомониаза. Наш Центр, НЦПП пытается выпустить новые препараты, обладающие антимикробной активностью. Этот препарат КС- координационное соединение – он относится к нашему отечественному препарату. Он находится на стадии регистрации и сертификации. И наш директор разрешил его использовать в качестве потенциатора метронидазола. Метронидазол по своему механизму действия не имеет аналогов. Но на основе метронидазола создаются его аналоги. Поэтому я взяла субстанцию метронидазола. в Сигма Олдрич. И его применяла. А КС - это наш отечественный продукт. Он еще не выпущен на рынок. Он проходит стадию регистрации. Мы определили его чувствительность на 29 штаммах других микроорганизмов. По результатам у нас вышла статья в журнале «Фармация» № 3, 2024г. А вот результаты по *T.vaginalis* я чуть позже определила. И в результаты не вошли.

КС еще не зарегистрирован. После регистрации он может быть использован как потенциатор многих антибиотиков. В данном случае, КС выступил как потенциатор метронидазола.

Койбагарова Асель Алмазбековна: Спасибо большое!

Секретарь: Ну и последний на сегодня эксперт- Тотубаева Нурзат Эрмековна, к.б.н., доцент, Кыргызско – Турецкий университет «Манас».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ эксперта диссертационного совета Д 03.23.685, к.б.н., доцента Тотубаевой Н.Э.

1. Соответствие работы специальности, по которой дано право диссертационному совету принимать диссертации к защите.

Представленная Джумабаевой С.М. кандидатская диссертация на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ» соответствует профилю диссертационного совета.

В представленной работе были изучены лекарственная резистентность трихомонад к терапии метронидазолом. Было изучено с чем связана резистентность, пути преодоления резистентности с применением КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия).

Представленные результаты по содержанию отвечают требованиям паспорта специальности 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология. 03.02.03 микробиология (п.2, 3, 4, 5) биологические науки

2. Цель диссертационного исследования

Изучить эффективность защитных факторов макроорганизма при трихомонадной инфекции у женщин из группы риска и особенности лекарственной устойчивости *T.vaginalis* к препаратам из группы 5-нитроимидазола, для совершенствования диагностики и лечения.

Поставленная цель достигнута решением в диссертации следующих задач:

- изучить ассоциативные взаимоотношения *T.vaginalis* с условно-патогенными микроорганизмами.

- изучить защитные факторы макроорганизма при инфекциях, вызванных *T.vaginalis*.

- провести мониторинг распространенности резистентных штаммов *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола и изучить эффект совместного действия препаратов 5-НИ и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) на резистентные штаммы *T.vaginalis* методом *Checkerboard* шахматной доски.

Объект исследования: антибиотикорезистентность как процесс, затрагивающий все больший спектр микроорганизмов, создающий в результате проблемы с состоянием системы иммунитета, проблемы с возможностью успешного лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

Предмет исследования: антибиотикорезистентность *T.vaginalis*, методы выявления резистентности к противопротозойным препаратам, анализ причин, пути преодоления резистентности.

По объему работы и методологии диссертационная работа соответствует специальности:

14.03.09. – клиническая иммунология и аллергология; 03.02.03. микробиология биологические науки.

Проведено клинико-лабораторное обследование на ИППП (сифилис, гонококковая инфекция, хламидийная инфекция, уrogenитальный трихомониаз, вирус простого герпеса (ВПГ – 2 тип), уrogenитальный уреамикоплазмоз, цитомегаловирусная инфекция, уrogenитальный кандидоз) у 150 женщин, предоставляющих сексуальные услуги (основная группа) и 139 женщин, обратившихся на плановый осмотр к гинекологу (контрольная группа). Общий объем выборки составил 289 человек. У всех обследуемых проведено клинико-anamnestическое обследование. При сборе анамнеза обращали внимание на жалобы – чувство зуда, боли, выделения; давность заболевания; характер половой жизни; дата последнего полового контакта; собирались сведения о предполагаемом источнике заражения и других половых партнерах; отмечалось в прошлом наличие венерических заболеваний. При осмотре обращали внимание на характер выделений, наличие патологических изменений на слизистых (эрозий, очагов кровоизлияний).

Диагноз уrogenитального трихомониаза выставляли на основании результатов лабораторного исследования. Выявление трихомонад проводили методом исследования нативных и окрашенных препаратов водным раствором метиленового синего, посева отделяемого на питательные селективные среды для культуральной диагностики трихомониаза. Материалом для микроскопического и культурального исследования на *T.vaginalis* служили отделяемое слизистых оболочек уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища. Материалом для исследования на другие ИППП и иммунного статуса – венозная кровь.

Все вышеперечисленное соответствует требованиям к исследованию по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03 – микробиология,

Актуальность темы диссертации Ежегодно в мире, по данным ВОЗ, регистрируют более 333 млн. новых случаев инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), из них на долю мочепоолового трихомониаза приходится 180 млн. случаев ежегодно, что свидетельствует о его наибольшей распространённости среди других ИППП во всем мире в последнее десятилетие.

Трихомониаз актуальная проблема для врачей многих специальностей – дерматовенерологов, акушеров-гинекологов, урологов, что обуславливается как большой распространённостью, так и значительным количеством тяжелых осложнений. женщин

По данным эпидемиологических исследований, в Российской Федерации ежегодно на каждые 100 тысяч человек населения фиксируется от 261 до 343 случаев уrogenитального трихомониаза, 101 случай сифилиса, 82,3 случая гонореи и 95 случаев хламидиоза. В Республике Казахстан по данным

статистической отчетности в 2023 году на 100 тыс. населения зарегистрировано 16,3 – трихомоноза, 9,3 – сифилиса, 6,8 – гонореи и 13,4 случаев хламидиоза.

На основании вышеизложенного, можно заключить, что научное исследование, предпринятое соискателем, представляется весьма актуальным и своевременным.

3. Научные результаты.

В работе представлены результаты по совершенствованию диагностики и лечения.

3.1. Научно-обоснованные результаты являются новыми и получившими дальнейшее развитие

Результат 1. Результат, получивший дальнейшее развитие, а именно изучение взаимосвязи уровня содержания и взаимодействия ассоциантов при урогенитальном трихомониазе.

Результат 2. Получивший дальнейшее развитие, а именно изучение зависимости частоты обнаружения метронидазолустойчивых штаммов *T.vaginalis* от особенностей клинического течения трихомонадной инфекции. Метронидазолустойчивые штаммы *T.vaginalis* встречаются чаще у РС с хроническим течением, чем у РС с подострым трихомониазом.

Результат 3. Новый метод определения синергизма КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраоксида калия) и метронидазола методом Checkerboard «шахматной доски» и значением фракциональной ингибирующей концентрации 0,5 и ниже, показал перспективность применения комбинации этих препаратов, т.е. появляется методологическая основа для получения новых препаратов, которые позволят преодолевать лекарственную устойчивость данных микробов.

Результат 4. Впервые предложен способ применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии - метода аналитической химии для определения внутриклеточного содержания метронидазола, что позволяет выявить, что устойчивость выделенных штаммов трихомонад связана не с модификационной изменчивостью, а с нарушением внутриклеточных ферментных систем.

3.2. Степень обоснованности и достоверности результатов, выводов и заключения, сформулированных в диссертации соискателя.

Результаты исследований по достоверности не вызывают сомнений, они основаны на достаточном материале (обследовано 289 женщин). Использовались современные методы исследования с высокой диагностической эффективностью. Получены статистически значимые результаты при сравнительном анализе показателей, полученных в разных группах обследуемых. Весь полученный материал с качественными и количественными показателями статистически обработан с использованием методов медицинской статистики.

3.3. Теоретическое значение работы

Полученные данные можно использовать для совершенствования лабораторной диагностики по выявлению микст урогенитальных инфекций.

Полученные результаты мониторинга чувствительности и резистентности *T. vaginalis* позволят обосновать необходимость постоянного контроля над распространением резистентных линий указанных штаммов в рамках общегосударственной программы мониторинга резистентности возбудителей инфекционных заболеваний.

Совместное использование КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метронидазола, позволит не только преодолеть резистентность *T.vaginalis*, что создает методологическую основу для совершенствования лечения.

3.4. Соответствие квалификационному признаку

Данное диссертационное исследование посвящено решению актуальной проблемы в области инфекционной патологии, а именно совершенствованию диагностики и лечения, особенно в сфере лекарственной устойчивости.

4. Практическая значимость полученных результатов

Полученные результаты охватывают основные стратегии в медицине: совершенствование диагностики и лечения.

Усовершенствование диагностики, связано с определением внутриклеточного содержания метронидазола в трихомонадах, что можно использовать при изучении подобного феномена в отношении других микроорганизмов.

Полученные результаты по совместному определению синергизма метронидазола и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) методом Cheserboarde «шахматной доски» показал перспективность применения комбинации этих препаратов.

По результатам исследования оформлены акты внедрения, один акт внедрения оформлен в РЦДВ г.Бишкек, будет применяться в работе бактериологической лаборатории РЦДВ.

5. Соответствие автореферата содержанию диссертации

Автореферат и диссертация по содержанию и структуре полностью идентичны и оформлены в соответствии с Инструкцией по оформлению диссертации и по теме работы опубликовано 7 статей в журналах, рекомендованных НАК ПКР.

6. Замечания и вопросы:

Диссертационная работа выполнена на хорошем уровне, демонстрируя глубокое понимание исследуемой темы и высокий уровень профессиональной подготовки автора. Работа охватывает все необходимые аспекты, соответствующие требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Замечания отсутствуют, поскольку, представленные данные, обоснование научной новизны и практической значимости полностью соответствуют предъявляемым критериям.

7. Предложения. Рекомендуется уделить внимание развитию исследований в данном направлении для расширения практического применения результатов.

8. Рекомендации. Назначить в качестве ведущей организации Казахский научный центр дерматологии и инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения РК.

В качестве официальных оппонентов: Ратникову И.А., д.б.н., шифр 03.02.03 микробиология; Тюмонбаеву Насиру Бектурсуновну- к.б.н, доцента, шифр 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология.

9. Заключение. Диссертационная работа Джумабаевой Салтанат Муқановны на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ» является индивидуальным научно квалифицированным трудом и соответствует паспорту специальности 14.03.09. – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03. - микробиология.

10. Эксперт диссертационного совета, рассмотрев представленные документы, рекомендует диссертационному совету Д 03.23.685 при КГМА им.И.К.Ахунбаева принять к защите диссертацию Джумабаевой Салтанат Муқановны на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03 – микробиология,

Председатель: Спасибо!

Соискатель: Спасибо большое членам ДС! За ваши замечания, вопросы! И за ваше человеческое отношение к диссертанту.

Секретарь: Да действительно, вот мы медики сидим в окружении биологов. И я им завидую. Нет всех тех, сложностей, которые нам приходится преодолевать. Спасибо всем! Диссертант учтет все замечания и будем двигаться дальше. Спасибо большое!

Тойгомбаева Вера Садыбакасовна: Предложение! Нас не очень много, каждому раздать резюме, чтобы мы могли прочитать, осмыслить. Потому, что послушаешь 15 мин, мне как эпидемиологу вникнуть в ваши тонкости, трудно. Поэтому на предзащиту можно резюме приготовить?

Секретарь: Спасибо. Мы учтем, обязательно.

Предлагается в качестве ведущего учреждения Казахский научный центр дерматологии и инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения РК, г.Алматы.

Официальных оппонентов: Ратникову И.А., д.б.н. шифр 03.02.03 микробиология; Тюмонбаеву Насиру Бектурсуновну- к.б.н, доцента, шифр 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология.

Секретарь: голосуем прямым голосованием. Кто «за» поднимите руки! Единогласно! Защиту запланировали на 26 декабря 2024 г. на 14.00 часов дня. Все принесите телефоны. Будет электронное голосование. Здесь будет оказана помощь. Онлайн будут из Екатеринбург, Алматы и Астаны. Вот такая перспектива у нас.

Председатель: Все?

Секретарь: все!

Председатель:

д.м.н., профессор, академик НАН КР,
заведующий кафедрой микробиологии,
вирусологии и иммунологии
КГМА им. И.К.Ахунбаева



Адамбеков Д.А.

Ученый секретарь:

к.м.н., доцент кафедры микробиологии,
вирусологии и иммунологии
КГМА им. И.К.Ахунбаева



Альджамбаева И.Ш.

Подпись Альджамбаева И.Ш. заверяю
зав. общим отделом
АХУНБАЕВ АТЫНДАГЫ КЫРГЫЗ МАМЛЕКЕТТИК МЕДИЦИНАЛЫК АКАДЕМИЯСЫ
КЫРГЫЗСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.К. АХУНБАЕВА