

«УТВЕРЖДАЮ»



Проректор по научной и
лечебной работе
КГМА им. И.К.Ахунбаева,
к.м.н., доцент Маматов Н.Н.

ВЫПИСКА

из протокола № 1 от 2.11.2024 г. совместного заседания сотрудников кафедр Кыргызской Государственной медицинской академии им. И.К.Ахунбаева и Медицинского факультета КРСУ им. Б.Н. Ельцина по предварительному рассмотрению диссертационной работы аспиранта Джумабаевой Салтанат Мукановны 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 и 03.02.03 – микробиология

«2» ноября 2024 г.

Г.Бишкек

1. Председатель: Ниязалиева М.С. - к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии КГМА им. И.К.Ахунбаева (14.03.09. - Клиническая иммунология и аллергология)

2. Секретарь: Мырзакулова А.Ж. - к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии КГМА им. И.К.Ахунбаева (03.02.03 - микробиология)

Присутствовали:

1. 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. Содомбеков И.С. – член-корр. Российской Академии Естествознания, д.б.н., проф., зав. лаб. лекарственных и эфиромасличных растений института химии и фитотехнологий НАН КР (03.02.01 – ботаника, 03.02.08 – экология)

3. Ратникова И.А. – д.б.н., доцент, главный научный сотрудник лаборатории микробных препаратов ТОО Научно-производственного центра микробиологии и вирусологии» Республики Казахстан, г. Алматы (03.02.03 - микробиология).

4. Тюмонбаева Н.Б. - к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник НАН КР (14.03.09- клиническая иммунология и аллергология)

5. Умуралиева А.М. - к.м.н., и.о. доцента кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии КГМА им. И.К.Ахунбаева (14.03.09. - клиническая иммунология и аллергология)

6. Альджамбаева И.Ш. - к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии КГМА им. И.К.Ахунбаева (14.03.09 клиническая иммунология и аллергология)

7. Мустафина Ф.С. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии КРСУ (03.02.03. - микробиология)

8. Бестужева Г.Р. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии КРСУ (14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология)

9. Ахмедов М.Т. – к.м.н., ассистент кафедры дерматовенерологии КГМА им. И.К.Ахунбаева (14.01.09 -инфекционные болезни)

Всего: 11 человек.

ПОВЕСТКА ДНЯ:

1. Предварительное рассмотрение диссертационной работы аспиранта КГМА Джумабаевой С.М. 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 и 03.02.03 – микробиология.

2. Рассмотрение дополнительной программы для сдачи кандидатского экзамена по специальности, составленной в соответствии с темой диссертационной работы соискателя Джумабаевой С.М. на тему «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола».

3. Тема кандидатской диссертации и научный руководитель и шифр специальности утверждены на основании решения Ученого совета КГМА им. И.К. Ахунбаева. Выписка из протокола от 2017 г., протокол №

И переутверждены с включением шифра 03.02.03 микробиология. Выписка из протокола заседания Ученого совета по науке от 01.11.2024 г. Протокол №1.

Председатель Ниязалиева М.С. ознакомила присутствующих с повесткой дня, представила назначенных рецензентов и научного руководителя работы.

Научный руководитель: Адамбеков Доктурбек Адамбекович, академик НАН КР д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии, иммунологии и вирусологии (03.02.03- микробиология, 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология).

Назначенные рецензенты присутствуют:

1. Ратникова И.А. – д.б.н., доцент, главный научный сотрудник лаборатории микробных препаратов ТОО Научно-производственного центра микробиологии и вирусологии» Республики Казахстан, г. Алматы (03.02.03 - микробиология).

2. Мустафина Ф.С. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии КРСУ (03.02.03. микробиология)

3. Умуралиева А.М. – к.м.н., и.о. доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии КГМА им. И.К.Ахунбаева (14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология)

4. **Слушали:** Доклад соискателя Джумабаевой С.М. «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола». Доклад сопровождался демонстрацией слайдов.

Уважаемый председатель и уважаемые коллеги!

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. Трихомониаз продолжает оставаться актуальной и важной проблемой для врачей многих специальностей – дерматовенерологов, акушеров-гинекологов, урологов, что обуславливается как большой распространенностью, так и значительным количеством тяжелых осложнений. У мужчин трихомониаз может привести к импотенции и бесплодию. У женщин наличие трихомониаза отрицательно сказывается на беременности, процессе родов, повышается риск получения послеабортных инфекций и инфекций после кесарева сечения, а также возможно развитие рака шейки матки.

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.

Наибольшую проблему, связанную с трихомониазом представляют резистентные штаммы *T.vaginalis* к основному препарату, которым лечат данную патологию.

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.

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-тетрайодида калия) на резистентные штаммы *T.vaginalis* методом *Checkerboard* «шахматной доски».

На основании выполненных исследований нами выдвигаются следующие основные положения диссертации:

-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 уровней IgG, IgA и фагоцитарной активности нейтрофилов наблюдались при остром течении трихомонадной инфекции.

-Для хронического течения заболевания более характерными были показатели γ -, β -, α 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 мониторинга по предотвращению распространения резистентных штаммов *T.vaginalis*.

-При совместном тестировании устойчивых к метронидазолу и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) штаммов *T.vaginalis* методом «шахматной доски» наблюдается снижение МИК у 47,5% штаммов *T.vaginalis* в четыре раза (с 2000 мкг/мл до 500 мкг/мл); у 42,5% штаммов снижение в восемь раз (с 1000 мкг/мл до 250 мкг/мл).

Среди РС преобладали лица^а в возрасте от 20 до^а 24 лет – 65 представителей, возрастная группа^а от 25 до 29 лет - 30 РС^а, группа в возрасте от^а 30 до 35 лет - 28 лицами и^а самая возрастная группа от^а 35 до 40 представлена – 27 РС.

Структура заболеваемости ИППП в основной и контрольных группах: у более половины (у 64,0 %) РС отмечена частота выявления трихомонадной инфекции – у 96 из 150, частота хламидийной инфекции составила 55,3 % (у 83 РС), кандидозная инфекция зарегистрирована 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 I и II типы) – 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 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 без клинических проявлений (наличие антител принадлежащих к иммуноглобулинам 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 клеточного и гуморального звеньев 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: $\alpha 1$ -глобулины, $\alpha 2$ -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-тетраоксида 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 демонстрируют высокую устойчивость.

При совместном тестировании устойчивых к метронидазолу и КС штаммов *T.vaginalis* методом «шахматной доски» наблюдается снижение МИК у 47,5% штаммов *T.vaginalis* в четыре раза (с 2000 до 500 мкг/мл); у 42,5% штаммов снижение в четыре раза (с 1000 до 250 мкг/мл). У 2,5% штаммов трихомонад наблюдается снижение чувствительности по отношению к метронидазолу так же почти в четыре раза (с 125 до 32 мкг/мл).

Эффект потенцирования антибактериальной активности КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраоксида 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.

Внутриклеточное количественное содержание метронидазола в образцах очищенного бактериального лизата. Результат ВЭЖХ показал внутриклеточное наличие метронидазола в низких разведениях (0,06 мкг/мл) у 56 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 бактерицидное и протистоцидное 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 56 штаммов *T.vaginalis* из 96 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 неблагоприятные 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, выявили у 56 штаммов в самых низких разведениях метронидазола наличие препарата, что может свидетельствовать о генетической мутации: нарушение фермента пируват-ферродоксин оксидоредуктазы.

4. При изучении чувствительности к метронидазолу штаммов *T.vaginalis*, выявлено высокая устойчивость ко всем концентрациям

метронидазола – к концентрациям 2000 и 1000 мкг/мл – 76,6 и 93,3 % испытываемых штаммов, соответственно.

5. При совместном тестировании устойчивых к метронидазолу и КС штаммов *T.vaginalis* методом «шахматной доски» наблюдается снижение МИК у 47,5 % штаммов *T.vaginalis* в четыре раза (с 2000 до 500 мкг/мл); у 42,5 % штаммов снижение в четыре раза (с 1000 до 250 мкг/мл). У 2,5 % штаммов трихомонад наблюдается снижение чувствительности по отношению к метронидазолу так же почти в четыре раза (с 125 до 32 мкг/мл).

ПО ДОКЛАДУ БЫЛИ ЗАДАНЫ ВОПРОСЫ:

Ахмедов Н.Т. - к.м.н.

Вопрос: В рамках каких НТП была выполнена работа?

Ответ: Спасибо большое за вопрос Исследование проведено в рамках проекта Глобального Фонда по борьбе с ВИЧ/СПИД/ИППП, туберкулезом и малярией, проектами, финансируемыми USAID «Профилактика ИППП и ВИЧ среди уязвимых групп РС и МСМ» с 01.01.2016 по 01.12.2017 гг. и в рамках проектов Министерства образования и науки РК «Экспрессия генов в клетках органов, ответственных за сперматогенез при урогенитальной трихомонадной инфекции»

Тюмонбаева Н.Б. - к.б.н., доцент

Вопрос: Как определяли наличие условно-патогенной микрофлоры?

Ответ: Спасибо большое за вопрос. Материал, взятый из цервикального канала высевали на дифференциально-диагностические и селективные среды: на ЖСА, Эндо, Байерд-Паркера, на кровяной агар, МПА, так же на кровяной бульон, сахарный бульон с дальнейшим пересевом на плотные среды. Выросшие колонии далее идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам

Мырзакулова А.Ж. - к.м.н., доцент

Вопрос: Причины формирования резистентности у трихомонад?

Ответ: Спасибо большое за вопрос. В литературе описываются разные причины: нарушение работы фермента пирруват – ферродоксин оксиредуктазы, эффлюксом, изменением проницаемости ЦПМ. В нашей работе скорее всего было нарушение фермента.

Мустафина Ф.С. – к.м.н., доцент

Вопрос: Есть ли другие противоцистные препараты, кроме метронидазола?

Ответ: Спасибо большое за вопрос. Очень много: Орнидазол -500 мг, Тиберал -500 мг, Трихопол -500 мг, Дазолик- 500 мг, Гайро- 500 мг, Клион-Д100, Метрогил: есть гель, есть внутривенный раствор, метрид, Трихосепт, Флагил, Розекс, Наксоджин, Осарбон. Производители Индия, Франция, Россия, США, Молдова, Польша, Венгрия, Казахстан. Действующее вещество –метранидазол.

Содомбеков И.С. – д.б.н.

Вопрос: Какой препарат Вы применяли для исследования степени резистентности трихомонад?

Ответ: Спасибо большое за вопрос. Мы для исследований покупали субстанцию метронидазола из Сигма-Олдрич, Германия.

Ахмедов Н.Т. – к.м.н., ассистент

Вопрос: Подробнее расскажите про метод «шахматной доски»?

Ответ: Спасибо большое за вопрос. «Метод шахматной доски» в микробиологии применяют для определения чувствительности к двум препаратам сразу, чтобы определить при расчете фракционную ингибирующую концентрации ($ФИК_{инд}$). Синергизм - менее или равно 0,5 ФИК; аддитивность – при индексе ФИК, равном 1. Индифферентность – при отсутствии изменения МИК, либо при тестировании антибиотиков по отдельности, либо в комбинации (ФИК более 1, но менее 4) и антагонизм – при ФИК более 4.

Содомбеков И.С. – д.б.н.

Вопрос: Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии что из себя представляет?

Ответ: Спасибо большое за вопрос. Хроматографию можно описать как процесс массопереноса с участием адсорбции. ВЭЖХ использует насосы для пропускания жидкости под давлением и смеси образцов через колонку, заполненную адсорбентом, что приводит к разделению компонентов образца. Активный компонент колонки, адсорбент, обычно представляет собой гранулированный материал, состоящий из твердых частиц (например, кремнезема, полимеров и т.д.) размером 2-50 мкм. Компоненты смеси проб отделяются друг от друга благодаря разной степени их взаимодействия с частицами адсорбента. Жидкость под давлением обычно представляет собой смесь растворителей (например, воды, ацетонитрила и/или метанола) и называется "подвижной фазой". Ее состав и температура играют важную

роль в процессе разделения, влияя на взаимодействия, происходящие между компонентами образца и адсорбентом.

Ахмедов М.Т. – к.м.н.

Вопрос: Координационное соединение – это что за соединение?

Ответ: Спасибо большое за вопрос Альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодид калия (координационное соединение- КС) с направленным противоинфекционным действием обладает следующими свойствами:

- доклинические исследования нового лекарственного средства в соответствии с международными стандартами GLP *in vitro* и *in vivo* показали малую токсичность КС- альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодид калия;

- установлено, что КС обладает синергетическим эффектом при совместном тестировании с антибиотиками различных групп в отношении патогенных микроорганизмов;

- в эксперименте по оценке мутагенной активности КС, установлено отсутствие мутагенной и промутагенной активности исследуемого соединения.

Разработанное инновационное лекарственное средство – КС является оригинальным отечественным препаратом. После завершения всех этапов, данное лекарственное средство можно будет эффективно использоваться для лечения социально-значимых заболеваний.

Ахмедов М.Т. – к.м.н.

Вопрос: Механизм действия КС?

Ответ: Спасибо большое за вопрос В составе препарата содержится йодид калия, поэтому это поверхностно активное вещество, действующее на клеточную стенку бактерий или ЦПМ.

Председатель: Если вопросов больше нет, приступим к дальнейшей нашей работе. Прошу выступить научного руководителя.

Выступление научного руководителя:

Адамбеков Д.А. - академик НАН КР, доктор медицинских наук, профессор

Считаю, что работа Джумабаевой С.М. на тему «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола» можно представить к рассмотрению в

диссертационный совет КГМА, так как она выполнена на актуальную тему, на достаточно современном уровне, содержит новизну и имеет практическое значение, что соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология.

Джумабаева Салтанат Мукановна – специалист, несомненно, очень грамотный с большим опытом работы в области медицинской микробиологии.

(Отзыв научного руководителя прилагается)

Председатель: Прошу выступить рецензентов.

Выступление первого рецензента:

1. Ратникова И.А.- д.б.н., доцент, главный научный сотрудник лаборатории микробных препаратов ТОО Научно-производственного центра микробиологии и вирусологии»

Научная работа, выполненная соискателем Джумабаевой С.М. имеет очевидную актуальность. 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.

В указанном аспекте рецензируемая работа Джумабаевой С.М. посвящена вопросам выявления возбудителя урогенитального трихомониаза, определению резистентности трихомонад к препаратам 5-нитроимидазола, путей преодоления устойчивости.

Исследование относится к одной из глобальных областей современности – проблеме распространения резистентности микроорганизмов к антибиотикам. Тема актуальна, главное – востребована, т.к. посвящена проблеме лечения инфекций, вызванных резистентными штаммами микроорганизмов.

В одной научной работе собраны все аспекты проблемы: медико-социальные проблемы- возрастные особенности, «стаж» работы РКС; иммунологические ответы организма на острую и хроническую формы трихомонадной инфекции; клинико-микробиологические- поиск новых препаратов, новые методы лечения инфекций, вызванных резистентными штаммами, поиск механизма возникновения резистентности у выделенных

штаммов трихомонад. Для решения этих задач были применены методы химико-аналитические методы в виде ВЭЖХ. Также применение новых методов определения чувствительности к антибиотикам совместного действия двух препаратов методом *Chekerboard*, в результате которого можно выявить потенциаторы для «старых» антибиотиков.

Соискателем собран достаточный материал, методически все выполнено на современном уровне, иммунологические и микробиологические исследования выполнены корректно.

В тоже время в диссертационной работе имеются некоторые недостатки в оформлении: стилистические и грамматические ошибки.

Но в целом диссертационная работа Джумабаевой С.М. на тему «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола» является законченным, квалификационным научным трудом, содержащим решение важной проблемы резистентности микроорганизмов к антибиотикам. Она полностью соответствует требованиям НАК ПКР, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть представлена для публичной защиты в диссертационном совете на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03- микробиология.

Выступление второго рецензента:

Председатель: Слово предоставляется второму рецензенту **Мустафиной Ф.С. – к.м.н., доценту кафедры микробиологии, вирусологии КРСУ (03.02.03.- микробиология)**

Работа имеет несомненную актуальность - длительное, затяжное течение воспалительного процесса в мочеполовом тракте при УГТ служит причиной существенных, часто труднообратимых трофических изменений в слизистой оболочке. Последнее отрицательно отражается на репродуктивной функции больных, что свидетельствует не только о медицинской, но и социальной значимости проблемы.

Проблемы в иммунном статусе у больных различными ИППП в виде иммунодефицита (иммунодисбаланса) априори считаются доказанными, т.к. они были подтверждены во многих мультицентровых исследованиях, проводимых в последние годы в России и за рубежом. Так, например, всеми специалистами признается, что у больных УГТ имеется дисбаланс всех звеньев иммунитета, заключающийся в снижении скорости иммунных реакций и преобладании иммунопатологического ответа над нормальными защитными реакциями.

Основным средством терапии УГТ является метронидазол – представитель группы 5-нитроимидазолов.

Однако, длительное применение метронидазола в качестве противопротозойного препарата при лечении УГТ привело к формированию устойчивых форм *Trichomonas vaginalis*. До сих пор неясны механизмы развития резистентности простейшего к метронидазолу. Соискатель попыталась найти ответ на этот сложный вопрос, применив методы аналитической химии. Также она пыталась решить глобальную проблему сегодняшней медицины и фармацевтической промышленности – это антибиотикорезистентность возбудителей инфекций, предложив комбинированную терапию антибиотик + потенциатор. Для этого, конечно, требуется освоение новых методик по определению чувствительности методом Checkerboard.

Была проделана большая работа по обследованию иммунного статуса бальных трихомонад в острой и хронической формах.

Были оформлены акты внедрения представленных методов в работу бактериологических лабораторий, а именно, методов выявления устойчивых штаммов трихомонад, метод «шахматной доски» для определения синергизма двух и более препаратов, применение аналитической химии для определения внутриклеточного содержания препаратов. Личный вклад соискателя очевиден. Весь спектр бактериологических исследований был выполнен ею лично. Материал грамотно проанализирован. Представлены графики, табличный материал. Выводы, сделанные по полученным результатам работы обоснованы.

Считаю, что диссертационная работа С.М. Джумабаевой на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола» является законченным, квалификационным научным трудом, содержащим решение важной проблемы резистентности возбудителей инфекций. Она полностью соответствует требованиям НАК ПКР, предъявляемым к кандидатским диссертациям и может быть представлена для публичной защиты в диссертационном совете на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.09- клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 - микробиология.

Выступление третьего рецензента:

Председатель: Слово предоставляется третьему рецензенту Умуралиевой А.М. – к.м.н., и.о. доцента кафедры микробиологии,

вирусологии и иммунологии КГМА им. И.К.Ахунбаева (14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология)

Автором представлена актуальность темы, где обозначена проблема, высокой заболеваемости урогенитальным трихомониазом - одной из распространенных инфекций, передаваемых половым путем (ИППП). Актуальность данной патологии определяется увеличением случаев заболевания, так по оценкам Всемирной организации здравоохранения, ежегодно около 250 миллионов человек инфицируются *Trichomonas vaginalis*. Второй причиной повышенного внимания к проблеме является проблема, связанная с лечением. Все специалисты, так или иначе сталкивающиеся с лечением трихомониаза, отмечают низкую чувствительность микробов к препарату метронидазол, что в конечном итоге приводит к формированию хронического течения заболевания и увеличению эпизодов проведения повторной терапии. Несмотря на некоторое количество гипотез по поводу роста лекарственной устойчивости микроба к метронидазолу, нет окончательного объяснения этому феномену. Именно такие аспекты, как оптимизация диагностики и лечения обосновывают необходимость данного исследования.

Тема выполнялась в рамках проекта Глобального Фонда по борьбе с ВИЧ/СПИД/ИППП, туберкулезом и малярией в Республике Казахстан (2016-2017 гг).

Автором был проделан большой объем работы, причем весь спектр микробиологических исследований был им выполнен самостоятельно. Результаты полученные в процессе выполнения работы убедительны.

Научная новизна представленной работы заключается в том, что было предложено убедительное объяснение причин наличия лекарственной резистентности у трихомонад к препаратам 5-НИ, были выявлены основные причины запоздалой диагностики инфекции, которые имеют место именно у женщин с трихомониазом. Установлены четкие клинические и лабораторные критерии, подтверждающие трихомониаз у женщин на ранних стадиях инфекции. В работе впервые дается характеристика состояния антибиотикорезистентности у пациентов с острой и хронической формами инфекции, морфологической изменчивости трихомонад, связанной с их жизнедеятельностью и влияние сочетанных поражений на течение трихомонадной инфекции. Благодаря методу *Checkerboard* «шахматной доски» было обнаружено снижение МИК к метронидазолу в 4 раза при совместном действии на трихомонады метронидазолом и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия).

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

Все результаты изложены в публикациях автора в полной мере в изданиях, рекомендованных НАК ПКР.

Практическая значимость прослеживается и это связано с перспективой создания новых фармацевтических препаратов, которые могут представлять сочетание исследованных субстанций.

Диссертация представляет научную работу, написанную грамотно. Тема работы соответствует содержанию в полной мере.

После тщательной проверки и исправления некоторых ошибок и неточностей, данную работу можно рекомендовать для представления в диссертационный совет.

ВЫСТУПИЛИ в обсуждении:

Содомбеков И.С., д.б.н.

Комбинированная терапия выглядит многообещающим в преодолении резистентности и может быть реализована через использование методов тестирования бактерицидности в различных комбинациях. Метод «шахматной доски», а также их модификации интересны, и являются достаточно надежными тестами *in vitro*, которые отражают эффекты комбинаций антибиотиков. Поскольку в настоящее время назначение комбинированной антибиотикотерапии проводится эмпирически и в случае ее клинической неэффективности необходима микробиологическая верификация диагноза с последующим рациональным выбором этиотропного лечения, описанные методы исследования синергии могут быть адаптированы для микробиологических лабораторий с целью перехода от исследовательского тестирования комбинаций антибиотиков к рациональному, клинически значимому. Это позволит повысить компетентность специалистов и проводить микробиологическое тестирование изолятов, выделенных от конкретного пациента.

В связи с этим необходимость современной медицины в новых противоинфекционных препаратах новых классов, к которым резистентность у микроорганизмов еще не выработана, стоит крайне остро. Альтернативным путем преодоления антибиотикоустойчивости является создание

потенциатора АБП (антибактериальных препаратов), способного усилить действие антибактериальных агентов, тем самым преодолевая снижение эффективности терапии при классическом назначении антибиотиков. Такие работы уже проводятся в АО «НЦПП», новые лекарственные средства при этом проходят соответствующие стадии доклинических исследований, согласно международным и национальным стандартам.

Практическая значимость результатов работы состоит в повышении эффективности лечения антибиотикоустойчивых социально-значимых инфекционных заболеваний путем создания оригинальных высокоэффективных и конкурентоспособных отечественных лекарственных препаратов.

Считаю очень интересным данное исследование, особенно для клиницистов, венерологов, урологов, гинекологов.

Мырзакулова А.Ж. - к.м.н., доцент

В настоящее время во всем мире наблюдается повышение внимания к урогенитальному трихомониазу, что обусловлено высокой частотой бессимптомных форм инфекции и позволяет отнести трихомониаз к неконтролируемым инфекциям, относительно частыми осложнениями болезни, трудностью лабораторной диагностики скрытых хронических форм. Очевидно, что проблема резистентности к противопротозойным препаратам и проблема резистентности, в целом, приобретает глобальный характер, учитывая все возрастающую резистентность штаммов *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ ряда. Решением данной проблемы является: мониторинг резистентности циркулирующих клинических штаммов, назначение противопротозойных препаратов с учетом чувствительности.

Тюмонбаева Н.Б. - к.б.н., доцент

T.vaginalis секретирует растворимые антигены, которые нейтрализуют антитела и цитотоксические Т-лимфоциты. Кроме того, вагинальная трихомонада может сорбировать белки плазмы хозяина на своей поверхности, что препятствует иммунной системе макроорганизма идентифицировать ее как чужеродный организм.

В организме больных урогенитальным трихомониазом развивается гиперреакция замедленного типа с антигенной мимикрией и персистенцией возбудителя, что может индуцировать аутоиммунные процессы.

Сложность патогенеза урогенитального трихомониаза обусловлена состоянием клеточного и гуморального иммунитета, взаимоотношением

различных условно-патогенных микроорганизмов, которые формируют индивидуальный микробиоценоз половых путей.

Выявлено, что способность урогенитальных трихомонад к захвату и резервированию различных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов приводит к снижению антигенных защитных механизмов в организме хозяина, уменьшению фагоцитарной реакции и снижению иммунного ответа на инфекционные факторы. Именно резервирующая роль трихомонад приоритетна в формировании патогенных микробиоценозов урогенитального тракта, что способствует персистенции различных микроорганизмов в организме человека.

Все это показано в работе Джумабаевой С.М.

Заключительное слово председателя:

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

Работа С.М. Джумабаевой выполнена на актуальную тему, на достаточном клиническом материале. Содержит новизну и имеет практическую значимость и после внесения исправлений может быть представлена в диссертационный совет при КГМА им.И.К. Ахунбаева как соответствующая требованиям НАК ПКР, предъявляемым к кандидатским диссертациям, по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология.

Есть пожелания, замечания? Если нет, то приступим к голосованию.

Голосование: «за» - 14; «против» - нет; «воздержавшихся» - нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заслушав доклад и ответы соискателя на заданные вопросы, выступления рецензентов и участников дискуссии, постановили: диссертационная работа С.М. Джумабаевой на тему «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология, представляет собой законченный труд, результаты которого имеют большое научно-практическое значение.

По актуальности, работа С.М. Джумабаевой соответствует требованиям НАК ПКР, предъявляемым к кандидатским диссертациям и может быть рекомендована к рассмотрению в диссертационном совете.

Председатель Ниязалиева М.С. - к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии КГМА им. И.К.Ахунбаева.

По второму вопросу председатель ознакомила с информационным письмом НАК при Президенте Кыргызской Республики за № 01-9/422 от 26.09.2022 года. Слово предоставлено к.м.н., доценту Альджамбаевой И.Ш. для изложения содержания дополнительных программ для сдачи кандидатского экзамена по специальностям: 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология, составленных в соответствии с темой диссертационной работы соискателя.

По докладу были заданы вопросы:

Ахмедов Н.Т. -к.м.н.

Вопрос: Включены ли вопросы по теме диссертации?

Ответ: Большое спасибо за вопрос. Да, полностью соответствует теме диссертации.

ВЫСТУПИЛИ в обсуждении: Содомбеков И.С. – д.м.н., проф.

Представленная дополнительная программа для сдачи кандидатского экзамена по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология, составленная в соответствии с темой диссертационной работы Джумабаевой Салтанат Мукановны «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола», в полной мере соответствует критериям, предъявляемым к учебным программам. В ней в полном объеме освещены вопросы клинической иммунологии, микробиологии в соответствии с темой работы.

Рекомендую утвердить дополнительную программу по двум специальностям.

Мырзакулова А.Ж. - к.м.н., доцент

Программа составлена достаточно квалифицированно, в ней изложены вопросы по основным разделам диссертации. *Рекомендую утвердить дополнительную программу. По двум специальностям. Спасибо.*

Заключительное слово председателя:

Ниязалиевой М.С. - к.м.н., доцент кафедры

Наше сегодняшнее заседание проведено с рассмотрением и обсуждением дополнительной программы для сдачи кандидатского экзамена по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология, составленной в соответствии в темой диссертационной работы Джумабаевой Салтанат Мукановны «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола». Выслушали докладчика и сотрудников кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии КГМА им.И.К. Ахунбаева и сотрудников КРСУ.

Предлагаю голосовать за то, чтобы утвердить дополнительную программу для сдачи кандидатского экзамена по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология, составленную в соответствии в темой диссертационной работы Джумабаевой Салтанат Мукановны «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола».

Голосование: «за» - 11; «против» - нет; «воздержавшихся» - нет.

Принято единогласно. Спасибо.

ПОСТАНОВИЛИ:

1. Диссертационная работа Джумабаевой Салтанат Мукановны «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола» является законченным, самостоятельным научным исследованием, выполненным на актуальную тему, на современном методическом уровне, имеющим новизну и практическую значимость, что соответствует требованиям положения «О порядке присуждения ученых степеней» НАК при Президенте Кыргызской Республики, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

2. Принять положительное заключение по диссертационной работе Джумабаевой Салтанат Мукановны «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология и рекомендовать диссертационную работу к дальнейшему рассмотрению в диссертационном совете Д **03.23.685** при КГМА им. И.К. Ахунбаева.

3. Утвердить дополнительную программу для сдачи кандидатского экзамена по специальности, «14.03.09- клиническая иммунология и аллергология» и «03.02.03. - микробиология», составленную в соответствии с темой диссертационной работы С.М. Джумабаевой Мукановны «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 и 03.02.03 – микробиология.

Председатель:

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



Ниязалиева М.С.

Секретарь:

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

Мырзакулова А.Ж.

