

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

экспертной комиссии диссертационного совета Д 03.17.542 по защите диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук при Кыргызской государственной медицинской академии имени И.К. Ахунбаева и Кыргызского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации Министерства здравоохранения Кыргызской Республики по диссертации Адамбековой Асель Доктурбековны на тему: «Эффективность применения современных молекулярно-генетических методов для диагностики туберкулеза и резистентных форм в условиях высокой распространенности лекарственно-устойчивого туберкулеза в Кыргызской Республике», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 03.02.03 – микробиология, 14.01.16 - фтизиатрия

Комиссия в составе: Председатель - д.м.н., профессор Чубаков Т.Ч. члены комиссии: д.м.н. профессор Рамазанова Б.А., д.м.н. Абдикаримов С.Т., рассмотрев представленную соискателем Адамбековой Асель Доктурбековной диссертации на тему: «Эффективность применения современных молекулярно-генетических методов для диагностики туберкулеза и резистентных форм в условиях высокой распространенности лекарственно-устойчивого туберкулеза в Кыргызской Республике», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 03.02.03 – микробиология, 14.01.16 – фтизиатрия пришла к следующему заключению:

1. Соответствие работы специальности, по которой дано право диссертационному совету проводить защиту.

Представленная Адамбековой Асель Доктурбековной диссертация на тему: «Эффективность применения современных молекулярно-генетических

методов для диагностики туберкулеза и резистентных форм в условиях высокой распространенности лекарственно-устойчивого туберкулеза в Кыргызской Республике», соответствуют профилю диссертационного совета. В работе излагается снижение распространенности лекарственно устойчивых форм туберкулеза в Кыргызстане, путем усовершенствования эпидемиологического надзора и внедрения молекулярно-генетических методов лабораторной диагностики, что в полной мере отвечает паспорту специальностей: 03.02.03 – микробиология, 14.01.16 – фтизиатрия.

Целью диссертации является снижение распространенности лекарственно устойчивых форм туберкулеза в Кыргызстане, путем усовершенствования эпидемиологического надзора и внедрения молекулярно-генетических методов лабораторной диагностики туберкулеза. Поставленная цель достигнута решением в диссертации следующих задач:

1. Оценить эпидемиологическую ситуацию по туберкулезу в условиях реализации различных противотуберкулезных программ и систем эпидемиологического надзора (ЭН).
2. Определить бремя болезни туберкулеза в КР в условиях развития лекарственно-устойчивых и запущенных форм.
3. Провести сравнительный анализ эффективности традиционных методов диагностики и современных молекулярно-генетических исследований туберкулеза.
4. Изучить чувствительность и специфичность современных лабораторных методов определения лекарственной чувствительности МТ в сравнении с классическими методами диагностики.
5. Определить характер мутаций в генах, ведущих к развитию резистентности МБТ к рифампицину, изониазиду на территории Кыргызской Республики.
6. Усовершенствовать систему ЭН за лекарственно устойчивыми формами туберкулеза.

2. Актуальность темы диссертации

Несмотря на определенные успехи, достигнутые во фтизиатрической практике, туберкулез остается угрозой для человечества. В 2016 году в мире было зарегистрировано 10,4 млн. случаев заболеваний туберкулезом и около 1,7 млн случаев со смертельным исходом. По данным ВОЗ, около трети населения планеты – два миллиарда человек – инфицированы *Mycobacterium tuberculosis*. Согласно докладу Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) в 2016 году во всем мире насчитывалось уже 10,4 миллионов новых случаев заболеваний туберкулезом. Из общего числа заболевших 5,9 млн. были мужчины с удельным весом (56%) и 3,5 миллиона - женщины (34%). Число заболевших детей до 14 лет составило 1,0 млн. с удельным весом - 10%. Среди всех новых случаев заболевания туберкулезом, имеющих ВИЧ инфекцию было 1,2 млн. (11%). Случаев смерти от туберкулеза по данным ВОЗ в 2016 году было зафиксировано 1,7 млн, из которых 0,4 млн. больных были ВИЧ инфицированы. [WHO report 2009, 2011, 2013].

В 2016 году в КР зарегистрировано 5548 впервые выявленных больных туберкулезом – 91,3 на 100 тыс. населения, против 5684 в 2015 году (95,4). Однако несмотря на тенденцию снижения уровня заболеваемости ситуация осложняется распространением лекарственно-устойчивого туберкулеза и туберкулеза, сочетанного с ВИЧ-инфекцией [WHO report 2016].

В ходе эпидемиологического надзора за распространенностью лекарственно - устойчивых форм туберкулеза в Кыргызской Республике, проведенного в 2010-2011 годах Республиканской референс-лабораторией (РРЛ) Национального Центра Фтизиатрии (НЦФ) при поддержке CDC, Атланта, США, проекта ХОУП в Кыргызской Республике и Супра-Национальной референс лаборатории, г. Мюнхен (Германия), было выявлено, что бремя ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) чрезвычайно высоко в стране. Так, распространённость МЛУ ТБ

среди новых случаев составила 26.4% и среди ранее леченных – 51,6% [WHO report 2014].

Актуальность планируемых исследований определена тем фактом, что согласно отчетам Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), КР относится к одной из 27 стран мира с высоким бременем туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ ТБ). Так по данным Национальной Туберкулезной Программы (НТП) за 2014 год, количество выявленных МЛУ ТБ больных составило 1370, в 2013 - 1160 случаев. В то время как, за 2011 - 835, 2012 - 904, т.е. в стране сложилась ситуация неуклонного роста ТБ с множественной лекарственной устойчивостью.

В сложившейся ситуации особое значение приобретает внедрение и повсеместное использование быстрых методов диагностики туберкулеза, основанных на амплификации нуклеиновых кислот, позволяющих в течение нескольких часов диагностировать как наличие самого комплекса *M. Tuberculosis*, так и генных мутаций, приводящих к развитию устойчивости к противотуберкулезным препаратам.

В 2010 году ВОЗ одобрила новый, быстрый, автоматизированный тест амплификации нуклеиновых кислот (ТАНК), Xpert®MTB/RIF, (Cepheid, Sunnyvale, США), который может одновременно выявлять туберкулез и устойчивость к рифампицину [Аналитическая справка НЦФ, 2014]. ВОЗ рекомендует использование XpertMTB/RIF в качестве начального диагностического теста для лиц, с подозрением на МЛУ-ТБ или ВИЧ-ассоциированного туберкулеза [World Health Organization, 2011].

В связи с актуальностью рассмотренных проблем для современной фтизиатрии, диссертационное исследование посвящено изучению применения быстрых методов диагностики ТБ и устойчивых к основным противотуберкулезным препаратам и их характеристика по сравнению с традиционными методами диагностики.

На основании выше изложенного, можно заключить, что избранная докторантом тема актуальна и клинически востребована.

3. Научные результаты. В работе представлены следующие новые научно обоснованные результаты, совокупность которых имеет немаловажное значение для развития медицинской науки:

Результат 1. Уровень заболеваемости, смертности и распространенности по туберкулезу в республике в результате реализации противотуберкулезных программ в 1994-2015 г. снизились на 49,4%, 52,5% и 44,2% соответственно по сравнению с годами высокой заболеваемости (2000-2001гг). Однако по критериям ВОЗ эпидемиологическая ситуация в стране остается неблагополучной, т.к. уровень заболеваемости превышает пограничные показатели в два раза.

Результат 2. Развитие лекарственно-устойчивых и запущенных форм туберкулеза в республике повысило бремя болезни.

Результат 3. Современные молекулярно-генетических методы диагностики имеют высокую чувствительность и специфичность по сравнению с традиционными методами выявления туберкулеза, и их применение сокращает время исследований.

Результат 4. Изучение характера мутаций в генах, ведущих к развитию резистентности МБТ к рифампицину, изониазиду, поможет определить останутся ли мутации устойчивости в бактериальной популяции в отсутствие антимикробной терапии на территории Кыргызской Республики.

Результат 5. Усовершенствование системы ЭН за туберкулезом с учетом лекарственно устойчивых форм позволит обеспечить раннее выявление лекарственно-устойчивых форм туберкулеза, проведение адекватного и раннего лечения и своевременный учет случаев позволит проводить противотуберкулезные мероприятия, направленные на предупреждение дальнейшего распространения этих форм.

4. Степень обоснованности и достоверности каждого результата (научного положения), выводов и заключения докторанта, сформулированных в диссертации.

Результат 1. С целью изучения эпидемиологической ситуации по ТБ ЛТ в КР в частности распространенности и выявляемости легочных форм ТБ, использовали официальные статистические и отчетные данные Национального центра фтизиатрии при МЗ КР. Полученные данные достоверны, т.к. статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере с использованием пакета программ «Statistica 5.0». В ходе работы проводили анализ структуры, динамического ряда, определение тренда и создание уравнения регрессии (модели прогнозирования) с помощью регрессионного анализа.

Результат 2. Для изучения особенностей ТПЛУ автором проведено изучение возрастно-половой характеристики, их бактериологического исследования достаточно большего числа больных. Полученные результаты достоверны, т.к. они базируются на использовании современных методов исследований, глубококом их научном анализе.

Результат 3. Используемые современные молекулярно-генетические методы диагностики результативны и достоверны, т.к. они базируются на использовании современных результативных методов исследования.

Результат 4. Эффективность изучения характера мутаций в генах, ведущих к развитию резистентности МБТ к рифампицину и изониазиду, помогла определить мутации лекарственной устойчивости в бактериальной популяции.

Результат 5. При изучении системы ЭН за туберкулезом позволила обеспечить раннее выявление лекарственно-устойчивых форм туберкулеза.

5. Степень новизны каждого научного результата (положения), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации.

Результат 1. Полученный результат автором является почти новым, поскольку ранее были предприняты попытки анализа уровня заболеваемости, смертности и распространенности по туберкулезу в республике в результате реализации противотуберкулезных программ в 1994-2015 г. снизились на 49,4%, 52,5% и 44,2% соответственно.

Результат 2. Полученный результат новый, поскольку другими исследователями не изучалось развитие лекарственно-устойчивых и запущенных форм туберкулеза в республике, которое повысило бремя болезни.

Результат 3. Результат исследования новый, так как молекулярно-генетические методы диагностики имеют высокую чувствительность и специфичность по сравнению с традиционными методами выявления туберкулеза, что сокращает время исследований.

Результат 4. Результат является новым, поскольку впервые изучен характер мутаций в генах, ведущих к развитию резистентности МБТ к рифампицину, изониазиду.

Результат 5. Результат исследования новый, так как ЭН за туберкулезом с учетом лекарственно устойчивых форм позволила обеспечить раннее выявление лекарственно-устойчивых форм туберкулеза.

6. Оценка внутреннего единства и направленности полученных результатов на решение соответствующей актуальной проблемы, теоретической и прикладной задачи.

Полученные результаты взаимосвязаны, практические рекомендации построены на выверенных научных положениях.

Диссертация содержит ряд новых научных результатов и положений по данной проблеме, имеющих внутренне единство, что свидетельствует о личном вкладе автора в медицинскую науку. Предложенные новые способы снижения распространенности лекарственно устойчивых форм туберкулеза в Кыргызстане, путем усовершенствования эпидемиологического надзора и

внедрения молекулярно генетических методов лабораторной диагностики достаточно аргументированы и критически оценены по сравнению с известными решениями.

7. Практическая значимость полученных результатов

Разработанный комплекс конкретных предложений и рекомендаций для практического здравоохранения по использованию молекулярно-генетических тестов GenoType MTBDR plus и XpertMTB/RIFc целью раннего выявления туберкулеза, будет способствовать дальнейшему улучшению выявления в эпидемиологическом плане опасного контингента больных туберкулезом легких. Раннее выявление ЛУ форм туберкулеза предотвратит заражение резистентным возбудителем, обеспечит доступ к своевременной терапии ПТП второй линии, что сократит длительность существования источников инфекции, и снизит уровень заболеваемости населения.

- Экономическая значимость полученных результатов.

Совершенствование комплекса противотуберкулезных мероприятий в контексте раннего выявления МЛУ ТБ, поможет сократить финансовые затраты, связанные с лечением осложнений и окажет благоприятное воздействие на эпидемиологическую обстановку по туберкулезу в КР в целом.

Основные положения диссертации на соискание ученой степени кандидата и доктора медицинских наук

Адамбековой Асель Доктурбековны

К.М.Н.	Д.М.Н.
Тема диссертации	
Повышение эффективности лечения туберкулеза у старых мышей с помощью иммунокоррекции рекомбинантным интерлейкином-2 и α -2 α -интерфероном	Эффективность применения современных молекулярно-генетических методов диагностики M.TUBERCULOSIS и резистентных форм в условиях

	<p>высокой распространенности лекарственно-устойчивого туберкулеза в Кыргызской Республике</p>
<p>Актуальность темы исследования</p>	
<p>Старение организма сопровождается существенными изменениями в системах гомеостаза. Хотя эти изменения изучены в различной степени, в целом общепризнано, что в зависимости от условий и образа жизни, генетических и других особенностей организма к определенному возрасту развиваются существенные сдвиги, и в первую очередь, в нейроэндокринной и иммунной системах, которые приводят к различным патологическим процессам. При этом в первую очередь нарушения развиваются в системе Т-клеточного иммунитета.</p> <p>У людей пожилого и старческого возраста были выявлены различные, часто существенные нарушения иммунологической реактивности.</p> <p>В пожилом и старческом возрасте отмечено повышение предрасположенности к ряду заболеваний, в частности инфекционной природы, в патогенезе которых играют роль нарушения иммунитета, в том числе к туберкулезу. Показано, что туберкулез у данного контингента больных протекает особенно тяжело.</p> <p>В связи с этим логическим является включение и комплексное лечение больных туберкулезом с нарушениями иммунитета (в частности, лиц пожилого и старческого возраста) иммунокорректирующих препаратов.</p>	<p>Несмотря на определенные успехи, достигнутые во фтизиатрической практике, туберкулез остается угрозой для человечества. В 2016 году в мире было зарегистрировано 10,4 млн. случаев заболеваний туберкулезом и около 1,7 млн. случаев со смертельным исходом. По данным ВОЗ, около трети населения планеты – два миллиарда человек – инфицированы <i>Mycobacterium tuberculosis</i> и подвержены риску заражения. Согласно докладу Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) 2016 году во всем мире насчитывалось уже 10,4 миллионов новых случаев заболеваний туберкулезом</p> <p>Актуальность планируемых исследований определена тем фактом, что согласно отчетам Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), КР относится к одной из 27 стран в мире с высоким бременем туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ ТБ). Так по данным Национальной Туберкулезной Программы (НТП) за 2014 год количество выявленных МЛУ ТБ больных составило 1370, в 2013 - 1160 случаев. В то время как, за</p>

Однако, арсенал иммуннокорректирующих средств постоянно расширяется и требуется обоснование их использования в клинике. Для этого необходимо проведение предварительных испытаний новых корректирующих средств в экспериментальных условиях на соответствующих моделях.

Показано, что оптимальной моделью для таких целей является сингенные мыши. У мышей создана модель хронического течения туберкулеза, и это позволяет проводить продолжительные исследования таких проблем, как истинная природа иммунологической памяти, уточнить эффективность и совершенствовать стратегию противотуберкулезной вакцинации, а также изучать влияние многих других факторов, включая старение. Разработаны, в частности, модели экспериментального туберкулеза на сингенных мышах.

2011 - 835, 2012 - 904, т.е. в стране сложилась ситуация с неуклонным ростом ТБ с множественной лекарственной устойчивостью.

В сложившейся ситуации особое значение приобретает внедрение и повсеместное использование быстрых методов диагностики туберкулеза, основанных на амплификации нуклеиновых кислот, позволяющие в течение нескольких часов диагностировать как наличие самого комплекса *M. Tuberculosis*, так и генных мутаций, приводящих к развитию устойчивости к противотуберкулезным препаратам.

Применение вышеуказанных методов диагностики сократило бы пребывание, зачастую заразного ТБ больного в обществе и началу его лечения.

В 2010 году ВОЗ одобрила новый, быстрый, автоматизированный тест амплификации нуклеиновых кислот (ТАНК), Xpert®MTB/RIF, (Cepheid, Sunnyvale, США), который может одновременно выявлять туберкулез и устойчивость к рифампицину [Аналитическая справка НЦФ, 2014]. ВОЗ рекомендует использование XpertMTB/RIF в качестве начального диагностического теста для лиц, с подозрением на МЛУ-ТБ или ВИЧ-ассоциированного туберкулеза [World Health Organization, 2011].

	<p>В связи с актуальностью рассмотренных проблем для современной фтизиатрии, диссертационное исследование посвящено изучению применения быстрых методов диагностики ТБ и устойчивых к основным противотуберкулезным препаратам и их характеристика по сравнению с традиционными методами диагностики.</p>
Цель работы	
<p>Повышение эффективности комплексной терапии туберкулеза у пожилых на основе изучения иммунитета «старых» мышей и оценки эффективности применения препаратов цитокинов – ИЛ-2 и α-2α- ИНФ.</p>	<p>Снижение распространенности лекарственно устойчивых форм туберкулеза в Кыргызстане, путем усовершенствования эпидемиологического надзора и внедрения молекулярно генетических методов лабораторной диагностики.</p>
Задачи исследования	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Изучить кооперативное взаимодействие клеток костного мозга и тимуса от разновозрастных мышей в процессе формирования гуморального и клеточного иммунитета на микобактерии туберкулеза. 2. Исследовать особенности туберкулезного воспаления у мышей разного возраста, используя морфологические методы, электронную микроскопию и бактериологическое исследование. 3. Оценить особенности иммунологической реактивности и специфического 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Оценить эпидемиологическую ситуацию по туберкулезу в условиях реализации различных противотуберкулезных программ и систем эпидемиологического надзора (ЭН). 2. Определить бремя болезни туберкулеза в КР в условиях развития лекарственно-устойчивых и запущенных форм. 3. Провести сравнительный анализ эффективности традиционных методов диагностики и современных молекулярно-генетических исследований туберкулеза.

<p>противотуберкулезного иммунитета при экспериментальном туберкулезе у старых мышей.</p> <p>4. Изучить влияние на течение туберкулеза и иммунологический статус «старых» мышей препаратов цитокинов – ИЛ-2 и α-2α- ИНФ.</p>	<p>4. Изучить чувствительность и специфичность современных лабораторных методов определения лекарственной чувствительности МТ в сравнении с классическими методами диагностики.</p> <p>5. Определить характер мутаций в генах, ведущих к развитию резистентности МБТ к рифампицину, изониазиду на территории Кыргызской Республики.</p> <p>6. Усовершенствовать систему ЭН за лекарственно устойчивыми формами туберкулеза.</p>
--	---

Научная новизна полученных результатов

<p>1. Показано, что в процессе старения иммунной системы выявлена тенденция к снижению функции Т лимфоцитов на формирование гиперчувствительности замедленного типа на фоне возрастания супрессорной функции этих клеток. Отмечено снижение антителообразующих клеток, формируемых при сочетании клеток тимуса и костного мозга, взятых от старых животных.</p> <p>2. Показано, что применение цитокиновых препаратов разного механизма действия, но направленных на стимуляцию I типа иммунного ответа (рекомбинантный ИЛ-2 и α-2α- ИНФ) в комплексном лечении туберкулеза при старении, способствуют нормализации иммунологической реактивности и повышению эффективности лечения.</p>	<p>1. Впервые проведена оценка эффективности реализации различных противотуберкулезных программ, системы ЭН и их влияние на эпидемический процесс при туберкулезе за период 1994-2016гг</p> <p>2. Впервые определено бремя лекарственно-устойчивых и запущенных форм туберкулеза в КР. в условиях внедрения ДОТЦ.</p> <p>3. Впервые проведена сравнительная оценка эффективности традиционных методов диагностики и современных молекулярно-генетических исследований с определением чувствительности, специфичности и положительной прогностической ценности.</p> <p>4. Впервые изучен характер мутаций в генах, ведущих к</p>
--	---

<p>3. Доказана частичная обратимость связанных со старением изменений в иммунной системе, которыми в значительной степени опосредованно отягощенное течение туберкулеза. Результаты исследования позволили разработать принципы рациональной иммунотерапии, дополняющей химиотерапию данного заболевания.</p>	<p>развитию резистентности МБТ к рифампицину и изониазиду на территории КР.</p> <p>5. Разработана система ЭН за лекарственно устойчивыми формами туберкулеза для оптимизации контрольных и профилактических мероприятий (первичная, вторичная и третичная профилактика).</p> <p>6. Впервые в современных условиях КР, изучены применение молекулярно-генетических методов диагностики туберкулеза, таких как GenoType MTBDR plus и Xpert MTB/RIF.</p> <p>7. Разработан алгоритм диагностики ТБ и генных мутаций, ведущих к развитию устойчивости к противотуберкулезным препаратам, который позволит повысить уровень выявления больных среди указанных заболеваний на первичном уровне здравоохранения.</p>
---	--

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

<p>1. Показано, что у мышей больных туберкулезом пожилого возраста имеет место угнетение функции Т лимфоцитов, макрофагов и естественных киллеров, продукции ИЛ- I и ИЛ-2. На этом фоне у таких животных развиваются нарушения специфического противотуберкулезного иммунитета, которые заключаются в снижении РБГ на РРД, антигензависимой цитотоксичности, синтеза противотуберкулезных антител. Эти иммунологические нарушения</p>	<p>1. Уровень заболеваемости, смертности и распространенности по туберкулезу в республике в результате реализации противотуберкулезных программ в 1994-2015 г. снизились на 49,4%, 52,5% и 44,2% соответственно по сравнению с годами высокой заболеваемостью (2000-2001гг). Однако по критериям ВОЗ эпидемиологическая ситуация в стране остается неблагоприятной т.к. уровень заболеваемости</p>
---	--

ассоциируются с отягощенным течением заболевания.

2. Продемонстрированы изменения в различных звеньях иммунологической и неспецифической реактивности у старых мышей, зараженных туберкулезом, по сравнению с молодыми: снижена РБТ на Кон-А, активность естественного и антителозависимого киллинга. Эти изменения прогрессируют в процессе развития инфекции (в большей степени у старых, чем у молодых животных). На этом фоне у старых мышей нарушена способность к развитию как клеточного (РБТ на РРД, ЦТЭ на антигенсодержащие мишени), так и гуморального противотуберкулезного иммунитета (антитела в ИФА и РПГА), и как следствие сопротивляемость к туберкулезной инфекции. У старых мышей снижены выявляемые патоморфологическими методами признаки активации макрофагов и иммунокомпетентных клеток.
3. Сочетанное лечение старых мышей стрептомицином и α -2 α -ИНФ способствует стимуляции Т-клеточного иммунитета (РБТЛ на Кон А), и специфического противотуберкулезного иммунитета (РБТЛ на РРД цитотоксический эффект на антигенсодержащий клетки – мишени, уровень антител в ИФА).
4. Применение рИЛ-2 повышает эффективность лечения экспериментального туберкулеза, за счет стимуляции Т клеточного иммунитета, неспецифической реактивности и специфического противотуберкулезного иммунитета.

превышает пограничные показатели в два раза.

2. Развитие лекарственно-устойчивых и запущенных форм туберкулеза в республике повысило бремя болезни.
3. Современные молекулярно-генетические методы диагностики имеют высокую чувствительность и специфичность по сравнению с традиционными методами выявления туберкулеза и сокращает время исследований.
4. Изучение характера мутаций в генах, ведущих к развитию резистентности МБТ к рифампицину, иизониазиду, поможет определить останутся ли мутации устойчивости в бактериальной популяции в отсутствии антимикробной терапии на территории Кыргызской Республики.
5. Усовершенствование системы ЭН за туберкулезом с учетом лекарственно устойчивых форм позволит обеспечить раннее выявление лекарственно-устойчивых форм туберкулеза, проведение адекватного и раннего лечения и своевременный учет случаев позволит проводить противотуберкулезные мероприятия, направленные на предупреждение дальнейшего распространения этих форм.

<p>Эти результаты дают основание для назначения иммунопрепаратов (рИЛ-2 и ИНФ) в комплексном лечении туберкулеза, что способствует более эффективной борьбе макроорганизма с инфектом.</p>	
<p>Материалы и методы исследования</p>	
<p>Было проведено комплексное экспериментальное исследование на 553 мышах линии СВА в возрасте 2-4 месяца «молодые», 8-10 месяцев «средние», 22-24 месяца «старые».</p>	<p>В Республиканской референс лаборатории НЦФ исследовано 2547 образцов в автоматизированной системе ВАСТЕСМГИТ 960.</p>
<p>Выводы</p>	
<p>1. В процессе старения иммунной системы наблюдается тенденция к снижению стимулирующей Т лимфоцитов на формирование гиперчувствительности замедленного типа на фоне возрастания супрессорной функции этих клеток. Число антителообразующих клеток, формируемых при сочетании клеток тимуса и костного мозга, взятых от старых животных, в 3 раза меньше такового при сочетании этих клеток, взятых от молодых животных.</p> <p>2. У старых мышей, зараженных микобактериями туберкулеза, имеет место более значительное, чем у молодых нарушение Т-клеточного иммунитета и неспецифической реактивности. На фоне этих иммунологических нарушений у больных мышей снижается способность к формированию специфического иммунного ответа на антигены микобактерий. При туберкулезе у «старых» мышей сокращается срок их выживания, усиливается степень поражения органов (легких, печени и селезенки) и их обсеменение микобактериями.</p>	<p>1. Благодаря внедрению противотуберкулезных программ уровень заболеваемости снизился в 2 раза (170 и 91,3‰, 2001 и 2016г , соответственно) и установилась стабильная тенденция уровня заболеваемости. Однако, эпидемиологическая ситуация в республике остается неблагоприятной, т.к. добиться снижения заболеваемости <50 на 100 000 населения не удалось.</p> <p>2. Высокие показатели заболеваемости населения (91,3±0,005), в том числе детей (31,9±0,035) и подростков (85,4±0,063), смертности (5,6±0,011), доли запущенных (1,38±0,1%) и лекарственно устойчивых форм (17,8±1,2%) туберкулеза, определяет высокое бремя туберкулеза в КР.</p> <p>3. При использовании системы ВАСТЕСМГИТ 960 достигается увеличение частоты выделения культур микобактерий на 20% и более в сравнении с обычными плотными средами (в частности</p>

<p>3. Туберкулезное воспаление у старых мышей проявлялось обширной очаговой пневмонией, уменьшением числа фолликулов в селезенке и лимфатических узлах, а также резким повышением проницаемости сосудистой стенки во всех органах.</p> <p>4. Продемонстрированы возможности коррекции возрастных нарушений иммунологической и неспецифической реактивности у старых мышей, зараженных микобактериями туберкулеза. Сочетанное лечение старых мышей стрептомицином и рофероном А способствовало к стимуляции Т-клеточного иммунитета (РБТЛ на РPD цитотоксический эффект на антигенсодержащие клетки-мишени, уровень антител в ИФА). При этом течение туберкулезной инфекции пролонгировалось в большей степени и снижалась степень поражения легких туберкулезом и их обсеменение.</p> <p>5. Включение рИЛ-2 в комплексное лечение «старых» мышей, зараженных туберкулезом, способствует более благоприятному течению заболевания- уменьшает степень поражения легких, селезенки и печени и их обсеменение микобактериями. Такое лечение также способствует стимуляции иммунологической реактивности – повышает функциональную активность лимфоцитов (РБТЛ на Кон А, ЦТЭ на РPD), стабилизирует уровень противотуберкулезных антител</p>	<p>Л-Й). Время исследования на системе ВАСТЕСМГИТ 960 существенно сокращается с 3-4 недель на первичную изоляцию МБТ на плотных средах до 6,8 суток в среднем, на жидких средах. Окончательный результат ТЛЧ МБТ на автоматизированной системе клиницисты получают на 21 сутки, а при использовании традиционных методов, более чем через 2 месяца.</p> <p>4. Устойчивость к рифампицину, возникшая в результате мутации S531L в гене <i>groB</i>, была самой распространенной (n=1169, 69.7%)/ Устойчивость к изониазиду, возникшая в результате мутации S315T в гене <i>katG</i> была обнаружена в 1457 (86.8%) случаев.</p> <p>5. Высокая чувствительность и высокая специфичность для XpertMTB/RIF при обнаружении устойчивости к рифампицину означает, что данный метод может быть использован в качестве начального диагностического теста для определения устойчивости к рифампицину, а в условиях низкой распространенности монорезистентности к рифампицину может служить маркером МЛУ ТБ.</p> <p>6. Посевы на среду Миддлбука 7Н9 в автоматизированной системе ВАСТЕСМГИТ 960 наиболее эффективны в выделении как МБТ, так и НТМ.</p> <p>7. Изменение свойств возбудителя туберкулеза на современном</p>
---	--

(ИФА) и усиливает активность естественных киллеров (ЕК).	этапе, привело к формированию МЛУ/ШЛУ и запущенных форм, которые сохраняют эпидемиологическое неблагополучие, и требует усовершенствования существующей системы эпидемиологического надзора, для своевременного выявления указанных форм и проведения противотуберкулезных мероприятий.
--	---

8. Подтверждение опубликованных основных положений, результатов и выводов диссертации.

Опубликовано 35 научных статей, в периодических изданиях, журналах, сборниках научных трудов и материалах научных конференций, выпущены 2 методические рекомендации.

1. Адамбекова, А.Д. Нетуберкулезные микобактерии и их классификация [Текст]/А. Д. Адамбекова// Известия Вузов.- 2010. - №7.- С. 39-42.
2. Адамбекова, А.Д. Эпидемиология микобактериозов [Текст]/А. Д. Адамбекова// Известия Вузов.- 2010. - №7.- С. 30-33.
3. Адамбекова, А.Д. Внедрение системы Внешней оценки Качества (ВОК) микроскопических исследований в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова, Г.И. Калмамбетова // Наука и новые технологии. - 2011. - №9.- С.45-49.
4. Адамбекова, А.Д. Выделение, идентификация микобактерий, диагностика микобактериозов[Текст]/А.Д.Адамбекова//ИзвестияВузов.-2012.-№3-С.71-74.
5. Адамбекова, А.Д. Патогенность туберкулезных микобактерий, пути заражения[Текст]/А. Д. Адамбекова// Известия Вузов.- 2012. - №3.- С. 82-85.
6. Адамбекова, А.Д. Заболеваемость внелегочными формами туберкулеза в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова, Н.К. Мойдунова // Здоровоохранение Кыргызстана.- 2012. - №3-4 .- С.8-9.

7. Адамбекова, А.Д. Тест GenoTypeMTB DRplus в лабораторной диагностике туберкулеза и его доступность в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова, Д. А. Адамбеков //Известия Вузов.- 2012. - №7.- С.58-60.
8. Адамбекова, А.Д. XpertMTB /RIF-быстрый, автоматизированный тест амплификации нуклеиновых кислот и его применение в фтизиатрической практике [Текст]/А. Д. Адамбекова, Д. А. Адамбеков //Известия Вузов.- 2012. - №7.- С. 45-48.
9. Адамбекова, А.Д. Совершенствование микробиологических методов диагностики туберкулеза [Текст]/А. Д. Адамбекова, Д. А. Адамбеков, А.Ш. Алишеров //Медицина Кыргызстана.- 2013. -№3.- С. 14-16.
10. Адамбекова, А.Д. Абдоминальный туберкулез и применение теста XpertMTB/RIF [Текст]/А. Д. Адамбекова, Н.К. Мойдунова // Вестник КРСУ.- 2013.- Том 13, №11.- С.25-28.
11. Адамбекова, А.Д. Внелегочной туберкулез – эпидемиологическая ситуация в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова// Гигиена, эпидемиология и иммунобиология.-2013.-№2.- С.49-52.
12. Адамбекова, А.Д. Применение теста XpertMTB /RIF-в лабораторной диагностике туберкулеза в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова// Вестник Асфендиярова .- 2013. - №2.- С.281-283.
13. Адамбекова, А.Д. Эффективность ускоренного метода выявления и определение лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза [Текст]/А. Д. Адамбекова// Вестник Асфендиярова .- 2013. - №2.- С.277-280.
- 14.Адамбекова, А.Д. Анализ XpertMTB/RIF для выявления Mycobacterium tuberculosis и определение резистентности к рифампицину и его сравнение с классическими методами выявления [Текст]/А. Д. Адамбекова, А.Ш. Алишеров.// Респираторная медицина .- 2013.-№1.- С.55-59.
15. Адамбекова, А.Д. Характеристика мутаций гена groV, вызывающего развитие резистентности к рифампицину на территории КР [Текст]/А. Д. Адамбекова// Вестник КРСУ.-2013.- Том 13, №11.- С.22-25.

16. Адамбекова, А.Д. Эффективность ускоренного метода выявления и определения лекарственной чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к основным противотуберкулезным препаратам [Текст]/А. Д. Адамбекова, А.Ш. Алишеров, З.К. Гончарова, А.М. Мусаева.// *Здравоохранение Кыргызстана* .- 2013.-№1.- С.13-18.
17. Адамбекова, А.Д. Применение молекулярно-генетического исследования для идентификации комплекса *Mycobacterium tuberculosis* и определение его устойчивости [Текст]/А. Д. Адамбекова// *Медицина Кыргызстана* .- 2013.-№3.- С. 12-14.
18. Адамбекова, А.Д. Анализ XpertMTB /RIF в диагностике внелегочных форм туберкулеза в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова, Д.А. Адамбеков, Г.И. Калмамбетова.// *Вестник КГМА* .-2013.- №2.- С.31-33.
19. Адамбекова, А.Д. Результаты внедрения XpertMTB /RIF для быстрой диагностики туберкулеза и определение резистентности к рифампицину, как маркера туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова// *Гигиена, эпидемиология и иммунобиология*.- 2013.-№2.- С.53-56.
20. Адамбекова, А.Д. Мутации генов *inhA* и *katG*, вызывающих развитие резистентности к изониазиду и их характеристика [Текст]/А. Д. Адамбекова, А.Ш. Алишеров.// *Респираторная медицина* .- 2013.-№1.- С.50-55.
21. Адамбекова, А.Д. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова, А.С. Кадыров.// В кн: *Эффективность гигиенического контроля за состоянием окружающей среды и здоровьем населения в Кыргызстане*.// Сб. статей. Бишкек, 2013.– С.11-16.
22. Адамбекова, А.Д. Анализ XpertMTB /RIF на основе автоматизированной полимеразно-цепной реакции в лабораторной диагностике туберкулеза [Текст]/А. Д. Адамбекова, А.Ш. Алишеров, Г.И. Калмамбетова.// *Вестник КГМА* .-2013.- №3.- С.5-8.

23. Адамбекова, А.Д. Распространенность туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова, А.С. Кадыров, К.Т. Исманов // Медицина Кыргызстана .- 2014.-№6.-С.25-28.
24. Адамбекова, А.Д. Тест XpertMTB /RIF для диагностики туберкулеза и устойчивости к рифампицину – результаты внедрения в КР [Текст]/А. Д. Адамбекова, Д.А. Адамбеков, В.И. Литвинов.// Туберкулез и болезни легких.- 2014.-№1.-С.34-36.
25. Адамбекова, А.Д. Ультразвуковая диагностика плевритов туберкулезной этиологии [Текст]/А. Д. Адамбекова, Н.К. Мойдунова.// Известия Вузов.- 2013. - №3.- С. 76-78.
26. Адамбекова, А.Д. Роль ультразвукового исследования в диагностике туберкулезного перикардита [Текст]/А. Д. Адамбекова, Н.К. Мойдунова.// Вестник Известия Вузов.- 2013. - №3.- С. 93- 95.
27. Адамбекова, А.Д. Сравнительная характеристика теста GenoTypeMTBDRplus и традиционных методов диагностики M. tuberculosis КР [Текст]/А. Д. Адамбекова, А.С. Кадыров, Д.А. Адамбеков, В.И. Литвинов.// Гигиена, эпидемиология и иммунобиология.-2015.-№2.- С.50-56.
28. Адамбекова, А.Д. Quality assessment of AFB microscopy in tuberculosis laboratories in Kyrgyzstan [Текст]/А. Adambekova, A.Kadyrov, G.Kalmambetova.// 45th Union World Conference on Lung Health .-2014.-p.31.
29. Адамбекова, А.Д. Сравнительная характеристика традиционных и современных молекулярно-генетических методов диагностики туберкулеза в КР (монография) [Текст]/А. Д. Адамбекова// Бишкек.-2015.-С.235
30. Адамбекова, А.Д. Результаты национального исследования по определению распространенности лекарственной устойчивости возбудителей туберкулеза [Текст]/А. Д. Адамбекова, Д.А. Адамбеков, А.С. Кадыров.// // 90 лет в авангарде микробиологической науки Беларуси Сб.статей. – Минск, 2015. – С.20-25.
31. Адамбекова, А.Д. Внедрение теста XPERT MTB/RIF в Кыргызской Республике, результаты, уроки, дальнейшее развитие [Текст]/А. Д.

Адамбекова, Д.А. Адамбеков, А.С. Кадыров// 90 лет в авангарде микробиологической науки Беларуси Сб.статей. – Минск,2015. – С.15-20.

32. Адамбекова, А.Д. Эпидемиологические аспекты туберкулеза в Кыргызской Республике (2011-2015 гг) [Текст]/А. Д. Адамбекова,Д.А. Адамбеков, В.С. Тойгомбаева, А.С. Кадыров// Вестник Асфендиярова .- 2016. - №4.- С.455-459.

33. Адамбекова, А.Д. Бремя туберкулеза в Кыргызской Республике [Текст]/А. Д. Адамбекова,Д.А. Адамбеков ,В.С. Тойгомбаева ,А.С. Кадыров // Вестник Асфендиярова .- 2017. - №1.- С.286-289.

34. Адамбекова, А.Д. Частота встречаемости мутаций и их сочетаний в генах,ответственных за множественную лекарственную устойчивость M.TUBERCULOSIS в Кыргызской Республике при исследовании GENOTYPE MTBDR PLUS [Текст]/А. Д. Адамбекова,Д.А Адамбеков, А.С.Кадыров.// Здоровоохранение. Минск. 2017. - №2.- С.14-17.

35. Адамбекова, А.Д. Оценка эффективности алгоритма диагностики туберкулеза с использованием теста XPERT MTB/RIF в Кыргызской Республики [Текст]/А. Д. Адамбекова,Д.А. Адамбеков, А.С. Кадыров.// Здоровоохранение. Минск. 2017. - №3.- С.53-56.

36. Адамбеков Д.А., Адамбекова А.Д., Кадыров А.С. Имплементация теста XPERT MTB/ RIF в Кыргызской Республике, результаты, уроки, дальнейшее развитие [Текст]/ Д.А. Адамбеков, А. Д. Адамбекова, А.С. Кадыров// Theoretical & Applied Science. 2018. № 6 (62). С. 52-55.

37. Адамбеков Д.А., Адамбекова А.Д., Кадыров А.С. Результаты национального исследования по определению распространённости лекарственной устойчивости в Кыргызстане [Текст]/ Д.А. Адамбеков, А. Д. Адамбекова, А.С. Кадыров// Theoretical & Applied Science. 2018. № 6 (62). С. 56-60.

9. Соответствие автореферата содержанию диссертации.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, поставленной в ней цели и задачам исследования. Автореферат имеет идентичное резюме на кыргызском и английском языках.

По результатам диссертационной работы Адамбековой А.Д. у экспертной комиссии имеются ряд замечаний и рекомендации по работе:

1. Имеются стилистические и орфографические ошибки, а также в техническом оформлении таблиц и рисунков;
2. Имеются повторения данных таблиц и рисунков, согласно инструкций по оформлению диссертаций, ВАК КР рекомендуется приводить данные одного из них;
3. Выводы перефразировать (оформить более сокращенно) и некоторые из них объединить;

10. Обоснованность предложения о назначении ведущей организации, официальных оппонентов

Комиссия диссертационного совета предлагает по докторской диссертации Адамбековой А.Д. назначить в качестве ведущей организации Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», в которой работают доктора и кандидаты медицинских наук по специальностям: 03.02.03 – микробиология, 14.01.16 - фтизиатрия, которые могут дать квалифицированную оценку диссертации.

В качестве официальных оппонентов комиссия предлагает: Белову Елену Сергеевну – д.м.н., профессора, заведующую кафедрой инфектологии Казахстанско – Российского медицинского университета г. Алматы Республики Казахстан (специальность по автореферату 14.01.16 - фтизиатрия), который является высококвалифицированным специалистом в области фтизиатрии, имеет большой стаж фтизиатрического опыта и научные труды, по данной специальности:

1. Белова, Е.С. Сравнительная эффективность бактериологических методов выявления микобактерий туберкулеза в современных условиях

[Текст] / Е.С. Белова, В.Л. Бисмилда, Е.Л. Степкина // Актуальные вопросы фтизиатрии: сб. науч. тр. к VI съезду фтизиатров Республики Казахстан с межд. участием. – Алматы, 2010. – С. 246-249.

2. Белова, Е.С. «Информированность населения о туберкулезе, частота выявления запущенных форм и использование принудительного лечения в Алматинской области» [Текст] / Е.С. Белова, Ш.К. Жумабаева, Д.Д. Копбосынова // Фтизиопульмонология. - 2013. – №2 (23). – С. 13-15.

3. Белова Е.С. «Новая модель программы по адвокации, коммуникации и социальной мобилизации по туберкулезу в Республике Казахстан». Т.Ш. Абилдаев, Г.С. Бекембаева, Л.П. Егенова. Метод. рекомендации. - Алматы. - 2014. – С. 60.

Вторым официальным оппонентом предлагается Туйгунов Марсель Маратович– д.м.н., профессор (специальность по автореферату: 03.02.03 микробиология), который является высококвалифицированным специалистом в области микробиологии, имеет большой опыт и научные труды, по данной специальности:

1. Сравнительная оценка влияния термолабильного энтеротоксина монокультур *enterobacter spp.*, *citrobacter spp.*, *serratia spp.*, *e.coli*, *proteus spp.* и их сокультивируемых вариаций на внутриклеточный кислородзависимый метаболизм перитонеальных макрофагов мышей.

Габидуллин Ю.З., Лазарева А.Ю., Градусова М.Ю., Гибазов Н.Н., Суфияров Р.С., Туйгунов М.М. Медицинский вестник Башкортостана. 2017. т. 12. № 1 (67). с. 58-62.

2. Associative and initiative connections of the pathogenic and opportunistic microflora in the development of inflammatory diseases of the oral mucosa in young people.

Usmanova I.N., Gerasimova L.P., Tuigunov M.M., Galimova I.A., Khusnarizanova R.F., Usmanov I.R. Journal of pharmaceutical sciences and research. 2018. т. 10. № 2. с. 243-254.

3. Морфо-функциональная характеристика адгезивной активности энтеробактерий.

Туйгунов М.М., Гашимова Д.Т., Ахтареева А.А., Габидуллин Ю.З., Булгаков А.К., Давлетшина Г.К., Идиатуллина Г.А. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2015. № 5. с. 3-6.

Третьим официальным оппонентом предлагается Рамазанова Бахыт Амануллоевна - д.м.н., профессор (специальность по автореферату: 03.02.03 микробиология), которая является высококвалифицированным специалистом в области микробиологии, имеет большой опыт и научные труды, по данной специальности:

1. Видовая структура и молекулярно-генетическая характеристика антибиотикорезистентных штаммов грамотрицательных микроорганизмов, выделенных от пациентов урологического отделения

Шалекенов Б.У., Бисекенова А.Л., Рамазанова Б.А., Адамбеков Д.А., Шалекенов С.Б. Урология. 2018. № 1. с. 77-83.

2. Мультицентровое исследование распространённости фарингеального носительства *streptococcus pneumoniae* на отдельных территориях республики казахстан и после начала противопневмококковой вакцинации
Рамазанова Б.А., Ералшева Л.Т., Мустафина К.К., Колоскова Е.А. Антибиотики и химиотерапия. 2017. т. 62. № 5-6. с. 35-42.

3. Мониторинг распространения нозокомиальных штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий в многопрофильных стационарах г. Алматы.

Адамбеков Д.А., Бисекенова А.Л., Рамазанова Б.А., Нурмолдин Ш.М. Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. 2017. № 4. с. 10-15.

Комиссия, рассмотрев представленные документы, рекомендует диссертационному совету Д 03.17.542 по защите диссертации на соискание ученой степени доктора наук при КГМА им. И.К. Ахунбаева и КГМИП и ПК МЗ КР принять докторскую диссертацию Адамбековой А, Д. на тему: «Эффективность применения современных молекулярно-генетических

методов диагностики туберкулеза и резистентных форм в условиях высокой распространенности лекарственно-устойчивого туберкулеза в Кыргызской Республике»,

по специальностям 03.02.03 – микробиология, 14.01.16 – фтизиатрия на официальную защиту.

Председатель комиссии:

д.м.н., профессор

Т. Ч. Чубаков

Члены комиссии:

д.м.н., профессор

Б. А. Рамазанова

д.м.н.

С.Т. Абдикаримов

Подписи членов комиссии заверяю

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 03.17.542

к.м.н., доцент

И.Ш. Альджамбаева