

**ТОШКЕНТ ТИ ББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.27.06.2017.Tib.30.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ
КЕНГАШ АСОСИДАГИ БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

**ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ ВА ЮҚУМЛИ
КАСАЛЛИКЛАР ИЛМИЙ-ТЕКШИРИШ ИНСТИТУТИ**

АБДУХАЛИЛОВА ГУЛНОРА КУДРАТУЛЛАЕВНА

**БАКТЕРИАЛ ИЧАК ИНФЕКЦИЯЛАРИ ҚЎЗГАТУВЧИЛАРИНИНГ
ФЕНОТИПИК ВА ГЕНОТИПИК ТАВСИФИ ҲАМДА УЛАРНИНГ
ДОРИЛАРГА ЧИДАМЛИЛИГИ РИВОЖЛАНИШИДА АҲАМИЯТИ**

03.00.04 – Микробиология ва вирусология

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ДОКТОРЛИК (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент - 2018

УДК: 616.34: 616.98: 576.851.49: 575.113: 576.8.097.22

Докторлик (Doctor of Science) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата докторской (Doctor of Science) диссертации

Content of the Doctoral (DSc) abstract of dissertation

Абдухалилова Гулнора Кудратуллаевна

Бактериал ичак инфекциялари кўзгатувчиларининг фенотипик ва генотипик тавсифи ҳамда уларнинг дориларга чидамлилиги ривожланишида аҳамияти3

Абдухалилова Гулнора Кудратуллаевна

Фенотипические и генотипические характеристики возбудителей бактериальных кишечных инфекций и их роль в формировании лекарственной устойчивости.....25

Abdukhalilova Gulnora Kudratullaевна.

Phenotypic and genotypic characteristics of pathogens of bacterial intestinal infections and their role in the formation of drug resistance.....47

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works.....51

**ТОШКЕНТ ТИ ББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.27.06.2017.Tib.30.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ
КЕНГАШ АСОСИДАГИ БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

**ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ ВА ЮҚУМЛИ
КАСАЛЛИКЛАР ИЛМИЙ-ТЕКШИРИШ ИНСТИТУТИ**

АБДУХАЛИЛОВА ГУЛНОРА КУДРАТУЛЛАЕВНА

**БАКТЕРИАЛ ИЧАК ИНФЕКЦИЯЛАРИ ҚЎЗГАТУВЧИЛАРИНИНГ
ФЕНОТИПИК ВА ГЕНОТИПИК ТАВСИФИ ҲАМДА УЛАРНИНГ
ДОРИЛАРГА ЧИДАМЛИЛИГИ РИВОЖЛАНИШИДА АҲАМИЯТИ**

03.00.04 – Микробиология ва вирусология

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ДОКТОРЛИК (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент - 2018

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2017.1.DSc/Tib17 рақам билан рўйхатга олинган.

Докторлик диссертацияси Эпидемиология, микробиология ва юқумли касалликлар илмий – текшириш институтида бажарилган

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифасида (www.tma.uz) «ZiyoNet» ахборот-таълим порталида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи:	Ахмедова Мубарахон Джалиловна Тиббиёт фанлари доктори, профессор
Расмий оппонентлар:	Нуралиев Неккадам Абдулаевич Тиббиёт фанлари доктори, профессор Нурузова Зухра Абдикадировна Тиббиёт фанлари доктори, профессор Қодирова Дилбар Абдуллаевна Биология фанлари доктори, профессор
Етакчи ташкилот:	Федерал давлат бюджет ташкилоти «Федерал тиббий-биологик агентлигининг болалар илмий-клиник юқумли касалликлари маркази» (Россия Федерацияси)

Диссертация ҳимояси Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги DSc.27.06.2017.Tib.30.01 рақамли Илмий кенгаш асосидаги бир марталик Илмий кенгашнинг 2018 йил «___» _____ соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100109 Тошкент ш, Фаробий кўчаси, 2-уй. Тошкент тиббиёт академияси 1-ўқув биносининг мажлислар зали. Тел./факс: +99871-150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru)

Диссертация билан Тошкент тиббиёт академиясининг Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (_____ -рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100109, Тошкент ш, Фаробий кўчаси, 2. Тошкент тиббиёт академиясининг 2-ўқув бино «Б» корпуси, 1-қават, 7-хона. Тел./факс (99871) 150-78-14).

Диссертация автореферати 2018 йил «___» _____ куни тарқатилди.
(2018 йил «___» _____ даги _____ -рақамли реестр баённомаси).

Л.Н. Туйчиев
Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш раиси, тиббиёт фанлари доктори, профессор

Н.У. Таджиева
Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш илмий котиби, тиббиёт фанлари доктори, доцент

Б.М. Таджиев
Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш қошидаги бир марталик илмий семинар раиси, тиббиёт фанлари доктори, доцент

КИРИШ (докторлик диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Ўткир ичак инфекциялари (ЎИИ) билан касалланиш даражаси юқори бўлиб, «...учраш даражаси бўйича респиратор патологиялардан кейинги ўринда туриши, касалликнинг нохуш оқибатларининг юқорилиги»¹ билан долзарб муаммо бўлиб ҳисобланади. ЖССТ нинг маълумотига кўра «...ЎИИ Европа минтақасида 23 млн. дан ортиқ кишилар кўзғатувчилар билан зарарланган озиқ-овқат маҳсулотларини истеъмол қилиб касалланадилар, бу эса йилига тахминан 5000 та ўлим ҳолатларига олиб келади»². Аммо, кўпгина антибактериал препаратларга чидамли кўзғатувчилар чақирган ўткир диарея касалликларининг ташхисоти ва уларни даволаш бугунги кунда муҳим муаммо ҳисобланади ва кўзғатувчиларининг антибактериал чидамлилиқ шаклланиши билан боғлиқ бўлган ҳар хил генларида мутацияни аниқланиши мураккаб бўлиб, бу эса касалликнинг нохуш асоратларини келиб чиқишига олиб келади.

Жаҳонда ўткир диарея касалликлари кўзғатувчиларининг фенотипик ва генотипик хусусиятлари, микробларга қарши препаратларга чидамлилиқ бўйича миллий ҳаракат режаларини ишлаб чиқиш ва антибиотиклардан оқилона фойдаланиш мақсадида қатор илмий-тадқиқотлар амалга оширилмоқда. Бу борада, ўткир диарея касалликларининг этиологиясини баҳолаш ҳамда кўзғатувчилар спектрида ўзига хос фарқларни аниқлаш; беморлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* нинг микробга қарши препаратларга нисбатан сезгирлигини, резистентлик фенотиплари ва генотипларини баҳолаш; *S. Typhimurium* нинг плазмида профилини ва *S. Typhimurium* нинг плазмидалар сақловчи штаммларининг чидамлилиқ генининг профилини аниқлаш дозарб муаммолардан бири ҳисобланади.

Мамлакатимизда ҳозирги кунда аҳолини ижтимоий ҳимоя қилиш ва соғлиқни сақлаш тизимини такомиллаштириш, жумладан ўткир диарея касалликлари кўзғатувчиларини аниқлаш ҳамда микробга қарши препаратларга микроорганизмларни сезгирлигини аниқлаш замонавий тиббиётнинг муҳим масалаларидан ҳисобланади. 2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йуналишлари бўйича Ҳаракатлар стратегиясига мувофиқ аҳолига тиббий хизмат кўрсатиш даражасини янги босқичга кўтаришда «...ихтисослаштирилган тиббий хизмат кўрсатиш қулайлиги ҳамда сифатини ошириш, тез ва шошилиш тиббий ёрдам тизимини ислоҳ қилиш»³ вазифалар белгиланди. Бунда, замонавий технологияларни қўллашни

¹ Малеев В.В. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2013 году. Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2014;1-191;

² WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. Foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007–2015. Geneva: World Health Organization; 2015, 25 (http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/en/, accessed 27 June 2016)

³ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги ПФ-4947-сон Фармони.

кенгайтириш орқали мамлакат аҳолисига юқори малакали, сифатли тиббий ёрдам кўрсатиш муҳим аҳамиятга эга бўлиб, аҳолининг турли қатламларининг ҳаёт сифатини ошириш имконини беради.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» ги ПФ-4947 сон Фармони, 2017 йил 20 июндаги «Ўзбекистон Республикаси аҳолисига 2017-2021 йилларда ихтисослаштирилган тиббий ёрдам кўрсатишни янада ривожлантиришни чора тадбирлари тўғрисида» ги ПҚ-3071 сон Қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналиши доирасида бажарилган.

Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи⁴. Ўткир диарея касалликларини ташхисоти, даволаш тадбирларини ҳал этишга ҳамда ЎИИ кўзғатувчиларини микробларга қарши препаратларга чидамлилиги шаклланишининг мониторинги масалаларига йўналтирилган қатор илмий изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари, жумладан World Health Organization (Дания), Center for Diseases Control and Prevention (АҚШ), Infection Control and Laboratory Diagnostic (Япония), Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (Канада), Child and Adolescent Department University Hospital of Geneva (Швейцария), Смоленск Давлат тиббиёт академиясининг микробга қарши химиотерапия илмий - текшириш институти (Россия), Пастер номидаги Эпидемиология, микробиология илмий текшириш институти (Россия) ва Эпидемиология, микробиология ва юқумли касалликлар илмий-текшириш институти (Ўзбекистон)да олиб борилмоқда.

Жаҳонда ЎИИ кўзғатувчиларининг микробларга қарши препаратларга чидамлилиги муаммосининг амалий ечимини ҳал этишга йўналтирилган қатор, жумладан қуйидаги илмий натижалар олинган: озиқ-овқат маҳсулотлари орқали юқадиган ЎИИ кўзғатувчиларини антибиотикларга чидамлилиги муаммоси баҳоланган (World Health Organization, Дания); қишлоқ хўжалиги ҳайвонларига антибиотиклардан фойдаланишни қисқартириш ҳамда улардан оқилона фойдаланиш исботланган (Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance, Канада); бактериянинг антибиотикларга чидамлилиги ушбу стратегиянинг муҳим масаласи ҳисобланган (Infection Control and Laboratory Diagnostic, Япония); қишлоқ хўжалиги ҳайвонларига фторхинолон қаторидаги дори воситаларидан энрофлорксацинни қўлланилиши, *Salmonella* туркумидаги

⁴Диссертация бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи: www.int.who.org; www.cdc.gov; www.cdc.gov/drugresistance; <http://www.med.tohoku.ac.jp>; www.canada.ca/en/public-health/services/surveillance; <https://www.hug-ge.ch/en/search-en/antimicrobial>; www.antibiotic.ru/iac.php; www.pasteurorg.ru; www.minzdrav.uz/agencies/details и др. источников.

бактерияларда одамларни даволашда фойдаланиладиган ципрофлоксацинга нисбатан чидамлилик ривожланишига олиб келиши, кейинчалик, бундай чидамли бактериялар одамларда касалликлар чақириши исботланган (Child and Adolescent Department University Hospital of Geneva Швецария); Пастер номидаги Эпидемиология, микробиология ИТИ, Россия); фторхинолонлар, цефалоспоринлар каби микробларга қарши препаратларга нисбатан микроорганизмлар штамmlарининг резистентлиги исботланган (Смоленск Давлат тиббиёт академиясининг микробга қарши химиотерапия илмий - текшириш институти, Россия); ўткир ичак инфекциялари кўзғатувчиларининг фенотипик ва генотипик тавсифи яратилган (Center for Diseases Control and Prevention, АҚШ); Пастер номидаги Эпидемиология, микробиология илмий текшириш институти, Россия); Эпидемиология, микробиология ва юқумли касалликлар илмий-текшириш институти (Ўзбекистон).

Ҳозирги вақтда ўткир ичак инфекцияларини этиологик структурасини ўрганиш бўйича бир қатор, жумладан куйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: ўткир ичак касалликлар билан оғриган беморлардан ажратилган, резистентлик фенотиплари ва генотиплари аниқланган *S. Typhimurium* штамmlарининг микробга қарши препаратларга сезгирлигини текшириш; *S. Typhimurium* нинг плазмида профилини баҳолаш; *S. Typhimurium* плазмидаларида β – лактам антибиотикларига чидамлилик генлари мавжудлигини аниқлаш; *S. Typhimurium* нинг плазмида сақловчи штамmlарида чидамлилик генлари профилини аниқлаш; ўткир юқумли ичак касалликлари этиологиясини аниқлаш учун микробиологик текширишни такомиллаштириш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Мустақил давлатлар ҳамдўстлигида сўнгги йилларда ЎИИ нинг ташхисоти муаммосига бағишланган қатор илмий тадқиқотлар олиб борилди (Айвазян С. Р., Грановский И. Э., 2009; Денисюк Н. Б., Каган Ю. Д., 2013; Асилова М. У., Мусабоев Э. И., Убайдуллаева Г. Б., 2011). Тадқиқотчиларнинг таъкидлашича, касалликнинг этиологик структурасини идентификация қилишнинг лаборатория усулларини такомиллаштириш, микробларга қарши препаратларга нисбатан сезгирлигини ўз вақтида аниқлаш ва мониторингини олиб боришни қамраб олувчи мажмуавий ёндашув талаб этилади (Козырева В.К., Эйдельштейн М.В., 2012; Шадманова Н.А., Исхакова Х.И., 2015). Европа мамлакатлари, АҚШ ва Канадада одамлар, ҳайвонлар ва озиқ-овқат маҳсулотларидан ажратилган, озиқ-овқат маҳсулотлари орқали юқадиган сальмонелла штамmlари ва бошқа кўзғатувчиларнинг биринчи навбатда тиббиётда муҳим аҳамиятга эга бўлган – хинолонларга ҳамда кўпгина микробларга қарши препаратларга чидамлилиги бўйича мониторинг амалга оширилади (Rodriguez I., Barownick W., 2009; Egorova, S., 2007). Дунёнинг кўпгина давлатларида бета-лактамаз, жумладан кенг спектрдаги бета-лактамазнинг (КСБЛ) тарқалганлиги фаол кузатилмоқда.

Мамлакатларда, ҳудудларда ва алоҳида даволаш муассасаларида КСБЛнинг тарқалганлиги тўғрисида чоп этилган мақолалар сони ортиб бормоқда. Мисол учун, Европада (Eckert C., Gautier V., 2004; Hope R, Potz NA, Warner M, 2007), Америкада (Toleman M.A., Simm A.M., 2002), Осиё минтақаси мамлакатларида (Hirakata Y, Matsuda J, 2005; Koo S.H., Kwon K.C., 2010). Ҳозирги вақтга қадар 800 дан ортиқ турли КСБЛ тавсифланган (Gniadkowski M., 2008). Улардан энг асосийлари кенг таъсирга эга бўлган бета-лактамазнинг TEM, SHV, кенг спектрдаги бета-лактамазнинг CTX-M, OXA типдаги бета-лактамазлар, металл бета-лактамазларнинг VIM, IMP, NDM ва б.к. генлари ҳисобланади.

Юқорида айтиб ўтилган фикрлар, ЎИИ кўзғатувчиларининг хусусиятларини ўрганишни ва микробларга қарши препаратларга сезгирлигининг мониторингини ўтказишни, ЎИИ билан касалланишни камайтиришга йўналтирилган даволаш ва профилактик тадбирларни мақбуллаштириш вазифаларини ҳал этиш учун таххисот усулларини такомиллаштириш зарурлигини кўрсатади.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Эпидемиология, микробиология ва юқумли касалликлар илмий-текшириш институтининг «Бактериал ичак инфекцияларини чўзилган ва сурункали шаклда кечишининг сабаблари ва патогенези механизмларини аниқлаш» (2012-2016 йй) ҳамда ЖСТТ ва ЎЗР ССВ «Озиқ-овқат маҳсулотларининг хавфсизлиги ҳамда ажратиб олинган микроорганизмларни микробга қарши дори воситаларига нисбатан чидамлилиги» (2012-2013 йй) мавзуси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади бактериал ичак инфекциялари кўзғатувчиларининг фенотипик ва генотипик тавсифи ҳамда уларнинг дориларга чидамлилиги ривожланишида аҳамиятини баҳолашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

Ўзбекистоннинг алоҳида ҳудудларида ўткир диарея касалликларининг этиологик структурасини ўрганиш ҳамда кўзғатувчилар спектрида махсус фарқларни аниқлаш;

Ўзбекистоннинг алоҳида ҳудудларида ўткир ичак касалликлари билан касалланган беморлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* штамmlарининг микробга қарши препаратларга нисбатан сезгирлигини резистентлик фенотипини аниқлаш;

фенотипик ва генотипик усуллар ёрдамида *S. Typhimurium*нинг β – лактамаза ишлаб чиқаришини кенгайтирилган спектрини аниқлаш;

S. Typhimurium штамmlарининг плазмида профилини баҳолаш;

*S. Typhimurium*нинг плазмидаларида β – лактам антибиотикларига нисбатан резистентлик гени мавжудлигини аниқлаш;

*S. Typhimurium*нинг плазмида тутувчи штамmlарида резистентлик генлари профилини тавсифлаш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида Ўзбекистон Республикасининг учта ҳудудларида (Тошкент ш, Хоразм вилояти, Қашқадарё вилояти) ЎИИ билан касалланган 2 ойликдан 72 ёшгача бўлган беморлар (n=200), *S. Typhimurium* штаммлари (n=105) олинган.

Тадқиқотнинг предмети беморларнинг нажаси, *S. Typhimurium* ДНКси олинган.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқот вазифаларини ҳал этиш ва мақсадга эришиш учун ишда бактериологик, серологик, молекуляр-генетик ва статистик таҳлил усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

ҳудудий эпидемиологик жиҳатларга боғлиқ ҳолда ўткир диареяли беморлар этиологик структураси *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, патоген *E. coli*, *Campylobacter spp.*, вируслар ва шартли-патоген микроорганизмлар эканлиги исботланган;

алоҳида ҳудудлардаги беморлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* штаммларининг антибактериал препаратларга резистентлиги исботланган;

S. Typhimurium штаммларининг резистентлик бўйича аниқланган фенотипик ва генотипик жиҳатлари кўзғатувчиларда мутация бўлиш эҳтимолини башоратлаш ва чидамлилигини мониторингини ўтказиш асосланган;

β – лактам синфига оид антибактериал препаратларга нисбатан резистентлик генини аниқлашнинг электрофоретик детекцияли полимераза занжир реакцияси такомиллаштирилган;

антибактериал препаратларга нисбатан микроорганизмларнинг резистентлиги ҳақида маълумот берувчи плазмидаларни ажратиш *S. Typhimurium* мисолида ишлаб чиқилган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

Ўзбекистоннинг алоҳида ҳудудларида бактериологик ва полимераза занжир реакцияси усуллари ёрдамида ўткир диарея касалликларининг этиологик структурасидаги фарқлар ва хусусиятлар аниқланган;

S. Typhimurium келтириб чиқарган сальмонеллезда амалиётда кенг қўлланивчи фторхинолон қаторидаги антибактериал препаратларга нисбатан минимал ингибирловчи концентрациясини аниқлаш асосланган;

ўткир ичак инфекциясининг лаборатория ташхисотида бактериологик, серологик ва молекуляр-генетик усуллар мажмуаси таклиф этилган;

эмпирик даволашда *S. Typhimurium* штаммларининг антибактериал препаратларга нисбатан сезувчанлиги аниқланган;

антибактериал препаратларни ўз вақтида тавсия этиш мақсадида β – лактам антибиотикларга нисбатан резистентлик генотипларини аниқлаш тавсия этилган;

S. Typhimurium нинг клонларини аниқлаш ҳамда мониторинг мақсадида антибактериал препаратларга нисбатан резистентлиги ҳақида маълумотни беришда иштирок этувчи плазмидаларни аниқлаш усули тавсия этилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги ишда қўлланилган назарий ёндашув ва усуллар, олиб борилган текширувларнинг услубий жиҳатдан тўғрилиги, текширилган кўзгатувчилар, беморлар сонининг етарли эканлиги, тадқиқотларда қўлланилган замонавий ўзаро бир-бирини тўлдирувчи микробиологик, молекуляр-генетик ва статистик усуллар, олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқлангани билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки, ўткир диарея касалликлари кўзгатувчилари – етакчи микроорганизмларини Ўзбекистон Республикаси ҳудудларига боғлиқ равишда ажратиб олиш ҳамда ЎИИ кенг тарқалган бактериал полирезистент кўзгатувчиларидан бири бўлган *S. Typhimurium* ўрнини аниқлаш билан белгиланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти, *S. Typhimurium* клонининг аниқлаш ҳамда мониторинг мақсадида микробга қарши препаратларга нисбатан микроорганизмлар резистентлиги маълумотини беришда иштирок этувчи плазмидаларни аниқлаш усулини ишлаб чиқиш бўлиб, бу эса ўз ўрнида бактерия хужайрасида дори воситасига нисбатан турғунликнинг янги резистент фенотипини, жумладан антибактериал дори воситаларининг III ва IV авлодларига нисбатан кўплаб дори воситасига нисбатан турғунлик фенотипи шаклланишига олиб келувчи, бактерия изолятида жойлашган мобил генетик элементларда (плазмидаларда) ESBLs ва карбопинемаз каби турли хил резистентлик генлари мавжудлигини аниқлаш имконини беради.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Бактериал ичак инфекциялари кўзгатувчиларининг фенотипик ва генотипик тавсифи ҳамда уларнинг дориларга чидамлилиги ривожланишида аҳамияти бўйича олинган илмий натижалар асосида:

«*S. Typhimurium* плазмидаларини ажратиб олиш усули» га Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтиро патент олинган (№ IAP 05610, 31.05.2018 й). Натижада клиник амалиётга тадбиқ этилиши *S. Typhimurium* клонини аниқлаш ва ўчоқни эпидемиологик текширишлар ўтказиш сифатини ошириш имконини берган;

«III-IV гуруҳ бактериялари ва вируслари билан ишлаш, уларни ҳисобга олиш, сақлаш, ташиш ва бошқа ташкилотга бериш бўйича йўриқнома» номли ишлаб чиқилган услубий қўлланма соғлиқни сақлаш амалиётига, жумладан бактериологик лабораторияларнинг амалий иш фаолиятига тадбиқ этилган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2017 йил 7 январдаги 012-3/0195-сон маълумотномаси). Натижада ушбу қўлланма энтеропатогенлар билан ишлаш жараёнини такомиллаштиришга хизмат қилган;

«III-IV гуруҳ микроорганизмларини коллекцион штаммларини сақлашнинг услубий асоси» номли ишлаб чиқилган ва тасдиқланган услубий қўлланма соғлиқни сақлаш амалиётига, жумладан Ўзбекистон Республикасидаги барча бактериологик лабораторияларнинг амалий иш фаолиятига тадбиқ этилган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2010 йил 22

сентябрдаги 8м/153-сон маълумотномаси). Натижада лабораторияда энтеропатогенлар билан ишлаш жараёнини такомиллаштиришга имкон берган;

«Ўткир диарея касалликларида бактериологик ва ПЗР усулларининг қиёсий техник-иктисодий хусусиятлари» номли услубий тавсиянома ишлаб чиқилди ҳамда соғлиқни сақлаш амалиётига тадбиқ этилди (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2017 йил 17 мартдаги 8н-р/59-сон маълумотномаси). Ушбу услубий тавсиянома ЎИИ кўзгатувчиларини эрта аниқлаш усулини тўғри танлашга хизмат қилади.

«Фенотипик ва ПЗР усуллари ёрдамида антибиотикларга резистент штаммларни аниқлашнинг қиёсий жиҳатлари» номли услубий тавсиянома ишлаб чиқилди ва соғлиқни сақлаш амалиётига тадбиқ этилди (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2017 йил 17 мартдаги 8н-р/60-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома ПЗР усули ёрдамида кенг спектрдаги бета-лактамаз (КСБЛ) детекциясини аниқлаш, ЎИИ билан касалланган беморларни илк куниданоқ касалхонага ётқизилишини ҳамда асосланган антибактериал препаратларни танлаш имконини беради.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 6 та халқаро ва 6 та республика илмий-амалий анжуманларда муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 47 та илмий ишлар чоп этилган бўлиб, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 14 та мақола, жумладан 13 таси республика ҳамда 1 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, саккизта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 191 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ ТАРКИБИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «Ўткир диарея инфекциялари ташхисотининг замонавий жиҳатлари, *S. Typhimurium* штаммларининг антибиотикга сезгирлиги, фено- ва генотипик хусусиятлари» деб номланган биринчи бобида иш мавзусига оид адабиётларнинг таҳлили берилган. Адабиётлар шарҳида ЎИИ этиологик структураси ҳамда уларнинг ташхисоти тўғрисида

замонавий тушунчалар, сальмонеллез инфекциясининг долзарблиги, микробга қарши препаратларга нисбатан сезгирлигини аниқлаш синамасини ўтказиш ҳамда изоҳлашга ёндошувлар, резистентлик гени ҳамда уларни плазмиданинг мобил элементлари орқали берилиши тўғрисидаги маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «Ўткир диареяли беморларнинг этиологик омилени аниқлаш ҳамда *Salmonella typhimurium* штаммининг антибактериал препаратларга нисбатан сезгирлигини замонавий текширув усуллари ёрдамида ўрганиш» деб номланган иккинчи бобида тадқиқотнинг предмети, объекти ҳамда қўлланилган тадқиқот усулларига таъриф берилган.

Ушбу тадқиқот иши 2006-2015 йиллар мобайнида ЎзР ССВ ЭМЮКИТИнинг «Ноёб объект: Одам инфекцияси микроорганизмларининг Миллий Коллекцияси» ва ПЗР лабораторияларида бажарилди. Ўткир ичак инфекцияларининг этиологик структурасини классик бактериологик усул (n=1659) ҳамда ПЗР (n=626) усуллари ёрдамида аниқлаш мақсадида материал (нажас) Республиканинг учта ҳудудларининг юқумли касалликлар шифохонасидан: Тошкент шаҳри ва Тошкент вилояти (марказий ҳудуд), Қашқадарё вилояти (жанубий ҳудуд) ва Хоразм вилоятидан (шимолий ҳудуд) келтирилди. Кузатувдаги беморларнинг ёши 1 ойликдан 72 ёшгача бўлди.

Микробга қарши препаратларга нисбатан резистентлик генини детекцияси (n=105) *S. Typhimurium* антибактериал препаратларга нисбатан сезгирлигини фенотипик ва генотипик сезгир синамада (n=105) юқорида санаб ўтилган учта ҳудудлардан олинган культуралардан фойдаланилди.

Проспектив тадқиқотда бактериологик, серологик, молекуляр-генетик ва статистик текширув усулларидан фойдаланилди.

Бактериологик экма учун намуналар (нажас): музлатилган ҳолда стерил шиша флаконларда транспорт воситасида ташишга мўлжалланган 1:3 даги фосфат-буферли аралашмада олиб келинди. Намуналар лабораторияга етказилганидан сўнг лаборатория текширувлари ССВнинг 2015 йил 1 майдаги 177-сонли «Бактериологик, вирусологик ва ўта хафли юқумли касалликлар лабораторияларида ўтказиладиган лаборатория текширув усулларини такомиллаштириш тўғрисида»ги буйруғи асосида бажарилди. Намуналарни экишда кучсиз селектив бўлган Эндо (Merck, Germany) муҳити, селектив висмут – сульфит агар муҳити («Микроген», Россия) ҳамда SS-агар (Миллий НПЦ, Россия). Бойитувчи муҳит сифатида SDS-бульонидан (Миллий НПЦ, Россия) фойдаланилди. Колониялар энтеропатогенга шубҳа бўлган ҳолатларда уларни идентификациялаш мақсадида Клиглер муҳитига қайта экилди (Миллий НПЦ, Россия). Эндо муҳитидаги патоген эшерихияларга шубҳа бўлган ҳолатларда ҳам идентификациялаш ҳамда серологик реакцияларни ўтказиш мақсадида Клиглер муҳитига қайта экилди.

Қўзғатувчиларнинг авлоди ва оиласини аниқлаш мақсадида бактерияларни аниқловчи Берджи 1997 йил (9 нашр) жадвали ҳамда

бактерияларни аниқловчи Берджи жадвалига мувофиқ бўлган компьютер дастуридан фойдаланилди.

Реал вақт тартибидаги ПЗР текшириш усули ёрдамида *Shigella* spp., энтероинвазив *E.coli* (EIEC), *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Adenovirus* F, *Rotavirus* A, *Norovirus* 2 генотипи, *Astrovirus* «АмплиСенс®ОКИскрин-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия) ва турли хил диароген эшерихиялар: *EPEC*, *ETEC*, *EIEC*, *EHEC*, *EAgEC* аниқлаш ҳамда турли хил кўзғатувчилар гуруҳлари ДНК қиёслаш мақсадида «АмплиСенс®Эшерихиозы-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия), реагентлар тўпламидан фойдаланилди. ДНК/РНК экстракцияси ҳамда тескари транскрипция реакциясини ўтказиш мақсадида Роспотребнадзора «РИБО-преп» (Россия) реагентлари тўпламидан фойдаланилди. Нажас намуналаридан РНК/ДНК экстракциялашда реагент тўпламига киритилган фақатгина РНК-элюенти қўлланилди. Тахлиллар Германияда ишлаб чиқарилган БЗР RotorGeneQ – SNR0911/54 анализаторида бажарилди.

Salmonella spp. штамmlарининг морфологик, тинкториал ва биокимёвий хусусиятлари ЖССТ баённомасига мувофиқ равишда ўрганилди.

S. Typhimurium штамmlарининг биокимёвий фаоллиги углеводлар, спирт ва аминокислоталар: глюкоза, лактоза, маннит, дульцит, мочевино, арабиноза, ксилоза, цитрат, ацетат, малонат, фенилаланин, лизин тутган ярим суюқ муҳитга экиш орқали аниқланди. Ўрганилаётган культуранинг антиген структураси Кауфман-Уайт (Кауфман Ф., 1959) схемаси бўйича сальмонеллэзнинг специфик ABCDE поливалентлари ҳамда O1, O4, O5, O12, H1 зардоб монорецепторлари билан буюм ойначасида агглютинация реакция ўтказиш орқали аниқланди. *S. Typhimurium* куйидаги антиген формулаларига эга бўлди: O1, O4, O5, O12, H1. Тадқиқот ишида С.-Петербургнинг вакцина ва зардоб ИТИнинг зардоблари қўлланилди.

Микробларга қарши препаратларга нисбатан сезувчанлик - диск – диффузион усул ҳамда минимал ингибирловчи концентрацияни (МИК) аниқловчи усуллардан Халқаро стандарт (CLSI M02-A11 ва M07-A10) тавсияларига мувофиқ равишда серияли суюлтириш усуллари ёрдамида аниқланди. Олинган натижалар CLSI M100-S22 тавсияларига мувофиқ равишда интерпретацияланди. Тадқиқот ишида Мюллер-Хинтон ағари, HIMEDIA (Ҳиндистон) ишлаб чиқарилган антибиотикли дисклардан ҳамда микробга қарши препаратларининг кимёвий жиҳатдан тоза субстанцияларидан (HIMEDIA, Ҳиндистон) фойдаланилди. Тадқиқот давомида ўтказилган текширув усуллари сифатини ички назорати сифатида *E.coli* ATCC 25922 ва *K.pneumoniae* ATCC 700603 назорат штамmlари қўлланилди.

Штамmlарни β-лактамаз микробга қарши препаратларга нисбатан резистентлик механизми молекуляр-генетик усул ёрдамида ўрганилди: электрофоретик детекцияли ПЗР ҳамда реал вақт тартибидаги ПЗР. SHV, TEM, CTX-M (генетик гуруҳлари CTX-M1, CTX-M9, CTX-M8/25, CTX-M2) генетик оилаларини кенг ва ёйилган спектридаги β-лактамаз ҳамда турли хил

карбапенемаз – ОХА-48, КРС ва металл- β-лактамаз NDM, VIM, IMP ишлаб чиқарилишини кодловчи ген детекцияси «Евроген» ишлаб чиқарилган реагентлар тўпламидан фойдаланган ҳолда ўтказилди (Москва, Россия).

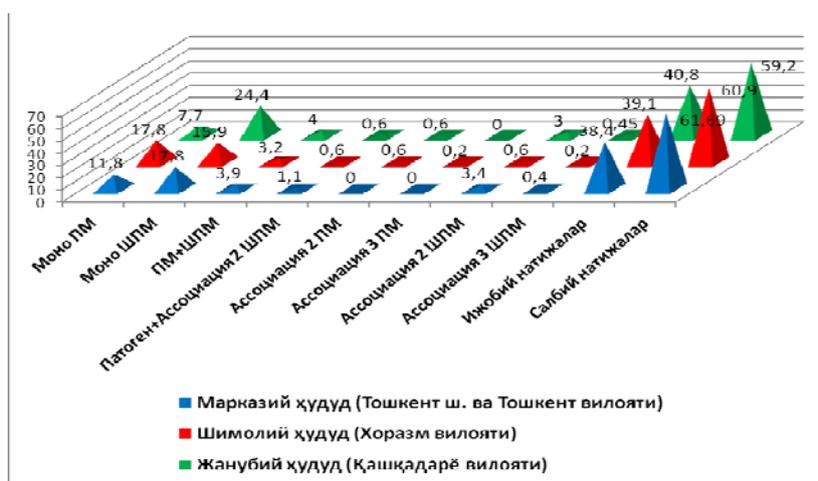
Тадқиқот мобайнида олинган натижаларга Microsoft Office Excel-2012 дастур тўплами ёрдамида Pentium-IV персонал компютерида статистик ишлов берилди.

S. Typhimurium плазмида профилини ажратиб олиш мақсадида бизлар таклиф этган «*Salmonella typhimurium* плазмидасини ажратиб олиш усули» дан фойдаланилди. Ушбу усул бактериал хужайраларни ўстириш, 4°C ҳароратда 10-15 дақиқа давомида 4000 айл/дақиқа центрифугирлаш орқали чўкмага тушириш, чўкмани ажратиб олиш, I (50 mM глюкоза; 100mM Tris-HCl, pH 8,0; 10mM ЭДТА) эритмасида чўкмага тушган хужайраларни ресуспендирлаш, кетма-кет II (0,2 N NaOH; 1% SDS) эритмани кўшиб бориш, сўнгра чайқатиш, 5 дақиқа давомида музда тутиб туриш, совутилган аммоний ацетатни кўшиш, яна 5 дақиқа давомида музда тутиб туриш, 4°C ҳароратда 10 дақиқа давомида 5000 айл/дақ центрифугирлаш, супернатантни ажратиш, супернатантни экстрагирлаш, центрифугирлаш орқали чўкмага тушган плазмида ажратиб олишга асосланган. Бошқа усуллардан фарқи ресуспендирлашдан олин чўкмага тушган хужайралар ТЭ-буферда (50 mM Tris-HCl, pH 8,0; 5 mM ЭДТА, pH 8,0) ювилади ҳамда центрифугирлаш орқали ажратиб олинади; супернатант сув билан тўйинтирилган хлороформ билан экстрагирланади, сўнгра хона ҳароратида 10 дақиқа давомида пробирка аста-секин айлантирилади; 8°C ҳароратда 5 дақиқа давомида 10000 айл/дақ центрифугирланиб, сувли қават ажратилади; сувли қават 1/10 айл.с совутилган 3M натрий ацетат pH 5,2 ва 1 мл 96% этанол билан экстрагирланади, сўнгра 15 дақиқа давомида -20°C ҳароратда пробирка аста-секин айлантирилади; 2 босқичда плазмида центрифугирлаш орқали чўкмага туширилади: 4°C ҳароратда 1 соат мобайнида 5000 айл/дақиқа центрифугирланади, сўнгра яна 8°C ҳароратда 20 дақиқа давомида 12000 айл/дақ центрифугирлаш давом эттирилди. Сўнгра ажратиб олинган плазмидаларда кенг ва ёйилган спектрдаги SHV, TEM, CTX-M генетик оилаларининг β-лактамаз ишлаб чиқарилишини кодловчи генлар мавжудлиги ўрганилди.

Диссертациянинг «**Микробиологик усул ёрдамида ўткир диареяли касалликларнинг этиологик структурасини аниқлаш**» деб номланган учинчи бобида учта ҳудудларда бактериологик усул ёрдамида касалликнинг этиологик структурасини аниқлаш бўйича ўтказилган тадқиқот натижалари келтирилган. 656 та (39,5%) ижобий намуналаридан 802 та микроорганизмлар ажратиб олинган, улардан 291 (36,3%) таси патоген микроорганизмлар (ПМ) ҳамда 511 (63,7%) таси эса шартли-патоген микроорганизмлар (ШПМ) бўлиб, салбий натижалар фақат 60,5% ҳолатларда кузатилган. Ижобий намуналар орасида 200 (12,1%) ва 329 (19,8%) ҳолатларда ПМ ва ШПМ моноинфекцияси ташкил қилди. Уларнинг орасида Марказий ҳудуд (МХ) ва жанубий ҳудуд (ЖХ) ШПМ моноинфекцияси

устунлиги кузатилиб, мувофиқ равишда 17,8% ва 24,4% ни ташкил қилди. ШХ эса ПМ моноинфекцияси устун бўлди - 17,8%. 2 та микроорганизмлар ассоциацияси куйидаги кўринишларда аниқланди: ПМ + ШПМ ҳамда учта регионларда – 3,7% ташкил қилди, бундай ассоциациянинг юқори фоизда ажратиб олиниси ЖХ (4,0%) хос бўлиб, 2 та ПМ ассоциацияси ШХ ва ЖХ ларда 0,6% ҳолатлардан кузатилди, аммо 2 та ШПМ ассоциацияси МХ энг кўп бўлди.

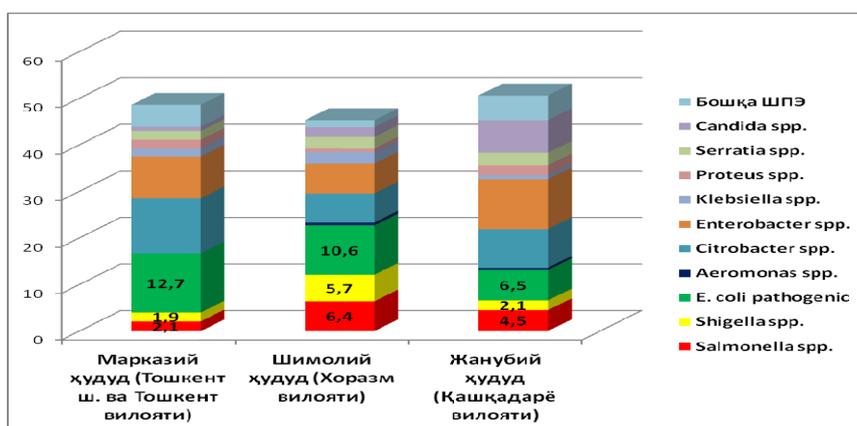
Кам ҳолатларда 3 та микроорганизмлардан иборат ассоциация кузатилиб, уларнинг учраш даражаси 0,2% дан 1,1% ҳолатларгача бўлди (1-расм)



1-расм. Марказий, шимолий ва жанубий минтақаларда ўткир диарея касалликлари билан оғриган беморлардан ажратиб олинган ҳар хил микроорганизмларнинг ассоциацияси (n=1659, %)

Учта регион бўйича ажратиб олинган ПМ (2-расм) орасида патоген *E.coli* устунлик қилди. Бунда, МХ – 12,7% ҳамда ШХ – 10,6% ҳолатлар кузатилиб – бу ЖХ – 6,5% нисбатан 2 баробарга юқори бўлди. *Salmonella spp.* ШХ – 6,4%, ЖХ – 4,5% ва МХ – 2,1% нисбатан мувофиқ равишда 1,5 ва 3 маротаба кўпроқ верификацияланди. *Shigella spp.* ШХ – 5,7%, МХ – 1,9% ва ЖХ – 2,1% нисбатан 3 маротаба кўпроқ ўсиб чиқди. Иккита ҳудудда *Aeromonas spp.* идентификацияланди: ШХ – 0,6%, ЖХ- 0,5% ҳолатларда.

ШПМ кўп ҳолатларда ЖХ даги беморлардан ажратилди ҳамда 37,0% ташкил қилди, МХ – 32,0%, ШХ – 21,9% бўлди. ШПМ орасида энг кўп ҳолатларда *Citrobacter spp.* ўсиб чиқиб, МХ 11,8% ташкил қилди ҳамда бошқа ҳудудларга нисбатан 1,5 маротаба юқори бўлди. *Enterobacter spp.* ШХ 10,7% ҳолатларда кузатилди ҳамда бошқа ҳудудларга нисбатан 1,5 кўпроқ ўсиб чиқди. *Klebsiella spp.* кўп ҳолатларда ШХ (2,5%) кузатилиб, бошқа ҳудудларга нисбатан 1,5 маротаба юқори бўлди. *Proteus spp.* ЖХ 14 (2,1%) та ҳамда МХ 9 (1,9%) нафар ҳолатларда кузатилиб, ШХ 4 (0,75%) тага нисбатан 2 маротаба кўпроқ кузатилди. *Serratia spp.* ўсиб чиқиши ЖХ 18 (2,7%), ШХ 13 (2,5%) ва МХ 9 (1,9%) тани ташкил қилди.



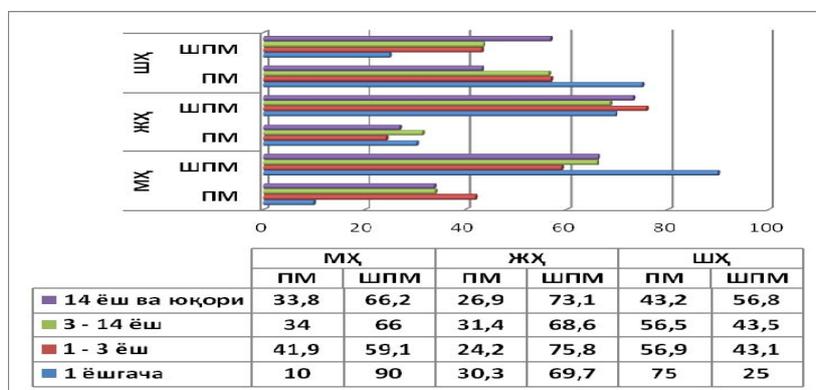
2-расм. Марказий, шимолий ва жанубий минтақаларда ўткир диарея билан оғриган беморлардан микроорганизмларни ажратилиши (n=802, %).

ШПМ ўртасида юқори даражага эга бўлган кўрсаткичлардан бири, *Candida spp.* бўлиб, бу кўзгатувчини биз, ЎДК нинг этиологик омили сифатида қабул қилдик. Ушбу кўзгатувчи ЖХ 7,0% ҳолатларда кузатилиб, ШХ (2,1%) нисбатан 7,7 мартаба – МХ (0,9%) нисбатан 3,3 мартаба юқори бўлди.

Бошқа ШПМ ўсиб чиқиш фоизи ЖХ 35 (5,3%), МХ 22 (4,7%) ҳамда ШХ 8 (1,5%) нафар ҳолатларни ташкил қилди.

Тадқиқотнинг кейинги босқичида ЎДК кўзгатувчилари бўлган - патоген ва шартли патоген микроорганизмларни аниқлаш даражасини беморлар ёши ва худудига боғлиқ равишда тадқиқот натижаларини таҳлил этиш бўлди (3-расм).

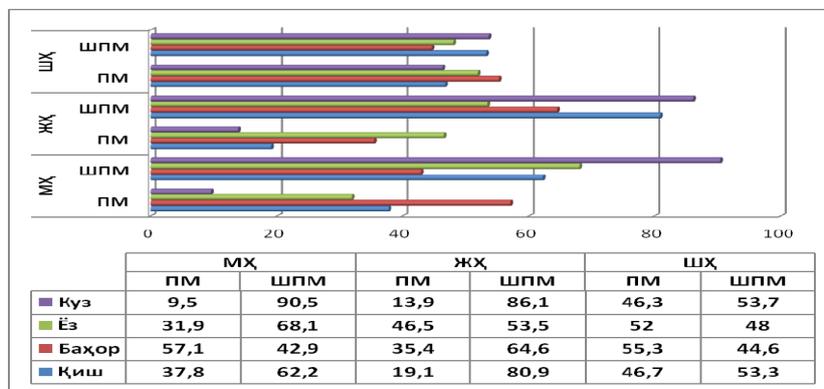
Таҳлил натижаларига кўра, уччала худуддаги барча ёш гуруҳидаги беморларда ПМ орасида патоген *E. Coli* етакчи бўлди, аммо МХ даги 3 ёшдан 14 ёшгача бўлган беморлар гуруҳида *Salmonella spp.* ва *Shigella spp.* мувофиқ равишда (80,0%) ва (44,4%) ҳолатларни ташкил қилди. ЖХ ва ШХ кўп ҳолатларда *Salmonella spp.* ва *Shigella spp.* 1 ёшдан 3 ёшгача бўлган болалар гуруҳида аниқланди ҳамда мувофиқ равишда 56,7%, 35,7% ва 44,1%, 50,0% ҳолатларни ташкил қилди. ШПМ ўртасида кўп ҳолатларда *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* ва *Proteus spp.*, барча худудларда ПМ даги ёш гуруҳларида аниқланди.



3-расм. Марказий, шимолий ва жанубий минтақаларда ўткир диарея билан касалланган беморларнинг ёшига боғлиқ равишда микроорганизмларни ажратиб олиниши (n=802, %).

ЎД билан касалланган беморлар фекалиясидан аниқланган энтеропатогенларнинг учраш даражаси ва аниқланиш спектрини учта ҳудудларда йил фаслларига боғлиқлиги 4-расмда кўрсатилган.

ПМ ажратилишининг энг юқори фоизи йилнинг ёз ойларига тўғри келди, МХ 37,2%, ШХ – 53,7%, ЖХ – 44,4% ташкил қилиб, патоген *E. coli* ўсиб чиқишини юқорилиги ҳисобига бўлди. Ажратиб олинган умумий микроорганизмлар орасида *Salmonella spp.* ва *Shigella spp.* йилнинг қиш ойларида МХ юқори даражани ташкил қилди. ШХ *Salmonella spp.* Ажратиболинишининг юқори кўрсаткичлари баҳор фаслига тўғри келган бўлса, ЖХ ларда эса куз ойларига тўғри келди. Аммо, *Shigella spp.* ШХ ва ЖХ энг юқори даражада ажратиб олиниш даври йилнинг ёз ойларига тўғри келди. Йилнинг куз ойларида ШПМ энг юқори даражада ЖХ – 60,0% ажратиб олиниши аниқланган, МХ ва ШХ ушбу кўрсаткич ёз ойларига тўғри келди – мувофиқ равишда 41,6% ва 52,6% ташкил қилди.



4-расм. Текширилган минтақаларда йилнинг фаслларига боғлиқ ҳолда ўткир диарея билан касалланган беморлар нажасида энтеропатогенларнинг учраш даражаси ва спектри (n=802, %).

Олинган натижаларга асосланиб хулоса қилиш мумкинки, ПМ билан бир қаторда ШПМ юқори даражада ажратиб олиниши йилнинг барча фаслларига хос бўлиб, уларнинг даражаси тадқиқот ҳудудларида турлича бўлади. Ушбу ҳолат микроорганизмларни ташқи муҳитда йил давомида айланиб юриши билан боғлиқ бўлиб, йил фаслига боғлиқ бўлмаган ҳолда аҳолининг турли хил ёш гуруҳлари орасида ЎДК юқори даражада учрашига сабаб бўлади.

Диссертациянинг «ПЗР усули ёрдами ЎДК нинг этиологик структурасини тасдиқлаш» деб номланган тўртинчи бобида ПЗР усули ёрдамида ЎДК нинг этиологик структурасини аниқлаш натижалари баён этилган.

Республиканинг учта ҳудудларидан келтирилган ЎДК билан касалланган беморлар нажасларининг 626 намунасида 456 таси ижобий бўлиб, 72,8% ташкил қилди, улардан 36,3% моноинфекция ҳолатлари аниқланган, 2та патогенлар ассоциацияси – 23,9%, 3 та патогенлар

ассоциацияси – 9,6%, 4 та патогенлар – 2,3%, 5 патогенлар аралашмаси – 0,7% фекалия намуналарида ажратиб олинди. ЎДК ташхиси бўлган беморлар нажас намуналаридан ажратиб олинган турли хил патогенлар ассоциациянинг умумий салмоғи 36,6% бўлди. ПЗР усулида олинган натижалар орасида 27,2% ҳолатларда салбий натижа олинди, яъни 626 та текширилган намуналарнинг 170 тасида (1/4 қисмида) ЎДК этиологияси ноаниқлигича қолди. Моноинфекция ва 2та патогенлардан иборат ассоциацияларнинг энг юқори даражаси ЖХ кузатилиб, мувофиқ равишда 47,3% ва 28,5% ташкил қилди, намуналарнинг салбий натижасининг юқори фоизи МХ хос бўлди. ШХ эса 3 та, 4та ва 5та патогенлар ассоциацияси генлари юқори фоизларда аниқланди ҳамда умумий олганда 16,3% ҳолатларни ташкил қилди.

ЎДК кўзгатувчилари бўлган патоген микроорганизмлар ген турларини ҳамда республиканинг учта ҳудудларида беморларнинг турли хил ёш гуруҳларида моноинфекция ҳолатларида учраш даражасини аниқлашга бағишланган тадқиқот натижалари таҳлилида, моноинфекциянинг 12 хили ажратиб олинган, штаммларнинг энг кўпи 1 ёшдан 14 ёшгача ва ундан катта бўлган болалар гуруҳларида кузатилган. МХ даги беморлардан ажратилган штаммларнинг 10 хили, ШХ ва ЖХ мувофиқ равишда 9 ва 7 хиллари ажратиб олинган. Аҳолининг бошқа ёш гуруҳларида эса моноинфекциянинг 3 тадан 7 тагача хиллари кузатилган.

Ҳудудлар ўртасида беморларнинг ёшига боғлиқ равишда текширувнинг ПЗР усулида бактериал ва вирус табиатли патогенларни детекциялаш даражасида фарқлар аниқланган: ЖХ (16,6%), даги 1 ёшгача бўлган болалар гуруҳида *Adenovirus*, ШХ (6,5%) *Astrovirus* устунлиги хос бўлди. ЖХ (27,3%) 1 – 3 ёшдаги беморлар гуруҳида эса *Shigella spp.*, МХ эса *Salmonella spp.* ва *EIEC* (33,3% ва 33,4% ҳолатларда); ЖХ даги 3 – 14 ёшгача бўлган болалар гуруҳида *EPEC* (100,0%) ва *Norovirus 2* (20,0%), МХ *Rotavirus* (27,3%); 14 ёшдан катта МХ (9,7%) беморларидан кўп ҳолатларда *Campylobacter spp.*, ЖХ (50,0%) *EAgEC* ажратиб олинган.

Тадқиқотнинг кейинги босқич натижалари таҳлилида, бактериал ва вирус табиатли патогенлар детекцияси даражасини мавсумийлик ва ҳудудлар ўртасидаги фарқи аниқланди: ШХдаги беморларда киш ойларида патоген *E. coli* гени, *EAgEC* ва *EIEC* генлари устунлиги аниқланди (60,0%, 40,0%), МХ *EPEC* ва *Campylobacter spp.* (26,7% ва 20,0%); баҳор ойларида эса МХ *ЕНЕС* (8,5%) гени ЖХ ва ШХ *Norovirus 2* генлар детекцияси юқори бўлди, мувофиқ равишда 35,3% ва 35,0% ҳолатларда; йилнинг ёз ойларида *ЕТЕСТ* гени ЖХ (14,3%), *Adenovirus* ЖХ (25,7%) ва *Astrovirus* фақат ШХ (5,0%) детекцияси юқори бўлди; кузда МХ кўп ҳолатларда (25,0% дан) *Shigella spp.* ва *Salmonella spp.* ҳамда *Rotavirus* (50,0%) ажратиб олинган.

2 та патогенлардан иборат ассоциация 35 хил вариантларни ташкил қилди, қулай бўлиши учун бизлар уларни гуруҳларга ажратдик: бактерия+эшерихиоз, вирус+эшерихиоз ва эшерихиоз+эшерихиоз, бактерия+вирус, вирус+вирус.

2 та патогендан иборат ассоциацияни учта ҳудудларда беморларнинг ёшига боғлиқ равишда таҳлилида қуйидагилар аниқланди: бактерия+эшерихиозлар гуруҳи кўп ҳолатларда 14 ёш ва ундан катталар ёш гуруҳида МХ (42,0%) ва ШХ (40,0%) кўп кузатилди. Бактерия+вируслар эса ЖХ 3 ёшдан 14 ёшгача болаларда юқори бўлди - 50,0%. 2 та вирусларни бирга келиши кўп ҳолатларда ШХ 1 ёшгача бўлган беморлар орасида кўпроқ рўйхатга олинди - 23,9% ҳолат. Вируслар+эшерихияларни бирга келиши эса, барча ёшдаги беморларга хос бўлиб, МХ ва ЖХ юқори бўлди. 2 хил турдаги эшерихияларни бирга келиши ШХ аҳолининг барча ёш гуруҳларида аниқланган.

2 та патогенлардан иборат ассоциацияларни фасл ва ҳудудга боғлиқ равишда таҳлили шуни кўрсатдики, бактерия+эшерихияларни бирга келиши кўп ҳолатларда ШХ қиш ойларида кузатилди (75,0%). Бактерия+вируслар аралашмасини бирга келиши ЖХ баҳор ва ёз ойларида юқори бўлди – мувофиқ равишда 31,3% ва 33,3% ҳолатлар. 2 та вируслардан иборат ассоциация кўп ҳолатларда ШХ, йилнинг куз ойларида рўйхатга олинди ҳамда 35,8% ҳолатларни ташкил қилди. Вируслар+эшерихиялар ва эшерихия+эшерихия ҳолатлари бир хил миқдорда тадқиқотнинг барча ҳудудларида йил давомида кузатилди. БЗР усулида патогенлар таҳлилида 3та, 4та, 5та ассоциациялари, кам миқдорларда аниқланди.

Шундай қилиб, ПЗР усули вирусларни аниқлаш имконини беради (илгари аниқланмаган), бактериал қўзғатувчилар мавжудлигини сифатли ва тез (5 соат) аниқлайди. Аммо, бактериологик усул патоген ва шартли патоген флораларни қайси туркум ва турга мансублигини, қўзғатувчининг биологик хусусиятларини ўрганиш, антибиотикларга сезгирлигини аниқлашни батафсил тавсифлаш имконини беради, бироқ ташхисот жараёни ўртача 5-6 кун давом этади. ПЗР ва бактериологик текшириш усулларида биргаликда фойдаланиш мукамал ҳисобланади: ПЗР усули эмпирик даволашни эрта буюриш учун энтеропатогенларни этиологик омилини аниқлаш имконини беради. Бактериологик усул бактериянинг соф культурасини ажратиш, унинг хусусиятларини, микробларга қарши препаратларга сезгирлигини ўрганиш ҳамда шартли патоген энтеробактериялар гуруҳидан қўзғатувчиларни аниқлаш, кейинчалик даволаш тактикасига ўзгартириш киритиш имконини беради.

Диссертациянинг «**Ўткир ичак инфекциялари билан касалланган беморлардан ажратиб олинган *Salmonella typhimurium* штамmlарини фенотипик ва генотипик тавсифлари**» деб номланган бешинчи бобида *S. Typhimurium* штамmlарининг антибактериал препаратларга (АБП) нисбатан сезгирлигини, фенотипик ва генотипик тавсифлари ўрганиш натижалари ёритилган.

Учта ҳудудлардан ажратиб олинган барча ўрганилган штамmlар, 1 ва ундан ортиқ АБПни синфига турғун бўлди. Текширувдаги *Salmonella* популяциясини ўрганилган барча АБПга нисбатан турғунлиги кузатилди. Учта регионлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* штамmlарини ҳаддан

зиёд даражада резистентликка эга эканлиги билан характерланди - МИК₅₀ ва МИК₉₀ ампициллин нисбатан 512 мкг/мл, цефотаксим ва цефтазидимга нисбатан – мувофиқ равишда 64 мкг/мл ва 128 мкг/мл бўлди. Турли хил β-лактама антибиотикларга нисбатан резистентлик (клавулан кислотаси билан ҳимояланган ҳамда клавулан кислотаси билан ҳимояланмаган) МҲ 84,6% дан (кенг спектрдаги цефалоспоринлар) 89,7% (ампициллинга нисбатан) гача бўлди, ЖҲ 85%, ШҲ 100% ҳолатларда кенг спектрдаги цефалоспоринларга нисбатан резистент бўлган. Аммо, учта ҳудудлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* штаммлари карбапенемга (имипенем, меропенем) нисбатан ўз фаоллигини сақлаб қолди.

ЎИИ билан касалланган беморлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* штаммлари МҲ налидиксин кислотасига нисбатан 92,3% ҳолатларда турғун бўлди, ЖҲ – 85% штаммлар, ШҲ – 100% штаммлар, бунда МИК₅₀ ва МИК₉₀ 512 мкг/мл ташкил қилди. Фторхинолонларга (ципрофлоксацин) нисбатан резистент штаммлар МҲ 74,3% (нисбатан турғун – 69,2%, турғун - 5,1%), ташкил қилди, 25,7% эса сезувчанликни сақлаб қолди. ЖҲ – 12% (нисбатан турғун) ва ШҲ – 53,1% (нисбатан турғун) бўлди. Ушбу дори воситасига нисбатан сезувчанликни аниқлашда МИК усулидан фойдаланилди. Бизнинг тадқиқотимиз натижаси, ципрофлоксациннинг МИК₅₀ ва МИК₉₀ 1 мкг/мл ташкил қилди, бу эса МҲ сальмонеллез инфекцияли беморларни даволашда фторхинолонларни қўллаш клиник самарасизликнинг юқори эҳтимоллигини кўрсатди.

S. Typhimurium штаммларининг хлорамфениколга нисбатан резистентлигини ўрганиш натижаларига кўра, ЎИИ билан касалланган беморлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* штамм МҲ – 84,6% ҳолатларда хлорамфениколга нисбатан резистент, ЖҲ – 85,0%, ШҲ 100,0% ташкил қилади, бунда МИК₅₀ ва МИК₉₀ 512 мкг/мл. Шу билан бир қаторда тетрациклин қаторидаги антибиотикларга нисбатан ҳам юқори турғунлик аниқланган, МҲ – 97,4%, ЖҲ – 94,0% ҳамда ШҲ 100% турғунлик аниқланган, МИК₅₀ ва МИК₉₀ - 128 мкг/мл.

ЎИИ ташхиси билан оғриган беморлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* таҳлил ўтказилганида гентамицинга нисбатан МИК₅₀ ва МИК₉₀ мувофиқ равишда 64 ва 128 мкг/мл ташкил қилди. Бунда, МҲ 76,9% штаммлар гентамицинга нисбатан резистент бўлган, ЖҲ – 82,0%, ШҲ – 81,3% ҳолатларда резистентлик кузатилган.

Ко-тримоксазолга нисбатан резистентлик 87,5% дан 64,1% оралиғида бўлиб, МҲ ажратиб олинган штаммларда резистентлик – 64,1%, ЖҲ – 85,0%, ШҲ – 87,5% ташкил қилди, МИК₅₀= ва МИК₉₀=512 мкг/мл бўлди.

Шундай қилиб, 2012-2013 йиллар мобайнида Ўзбекистон Республикасининг учта ҳудудларидаги ЎИИ билан касалланган беморлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* штаммлари популяцияси АБП, жумладан тиббиётда аҳамиятли бўлган – β-лактама (89,5%) ва фторхинолонларга (92,3%) нисбатан турғун штаммларнинг ҳаддан зиёд кўп улуши билан характерланади.

Таҳлилдан ўтказилган сальмонелла штамлари орасида АБП нисбатан кўп сонли резистентликка эга фенотиплар устунлик қилди: 89,0% штамлар 8 ва ундан ортиқ АБП га нисбатан турғун бўлди, бунда ушбу штамлар кенгайтирилган спектрдаги бета-лактамаз (КСБЛ) ишлаб чиқарилиши билан боғлиқ бўлган β-лактамаз билан бир қаторда бошқа гуруҳдаги дори воситаларига нисбатан турғунлик билан характерланди. *S. Typhimurium* штамлари орасида 11 турдаги резистентлик фенотиплари кузатилди. МХ ажратиб олинган *S. Typhimurium* штамларида 10 хил турдаги резистентлик фенотиплари, ЖХ фақат 3 резистентлик фенотипи ҳамда ШХ 4 резистентлик фенотиплари аниқланган. Кўп ҳолатларда ампициллин, амоксициллин/клавулон кислотаси, цефотаксим, цефтазидим, цефепим, тетрациклин, хлорамфеникол, гентамицин, ко-тримоксазол, налидиксон кислотаси (А/АС/СТХ/СА/СРМ/Т/С/ГМ/СО/НА) нисбатан резистентлик фенотипи кузатилди ҳамда бундай штамлар 54,2% ташкил қилдилар.

МИК усули ёрдамида *S. Typhimurium* штамларининг КСБЛ продукцияси аниқланганда, КСБЛ энг юқори миқдори ШХ 90,6% штамларда кузатилди, МХ уларнинг миқдори 71,7%, ЖХ – 64,7% бўлди.

Шундай қилиб, 2012-2013 йиллар мобайнида Ўзбекистон Республикасининг учта ҳудудларидаги ЎИИ билан касаланган беморлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* штамлар популяцияси МКДВ, жумладан тиббиётда аҳамиятли бўлган– β-лактамаз (85,6%) ва фторхинолонларга (93,3%) нисбатан турғун штамларнинг ҳаддан зиёд кўп улуши билан характерланади.

S. Typhimurium штамлари турли синфдаги АБПга нисбатан кўп сонли резистентлик билан характерланади. Штамларнинг тахминан ярми (54,2%) бир хилдаги резистентлик фенотипига эга А/АС/СТХ/СА/СРМ/Т/С/ГМ/СО/НА, бу эса кўзғатувчининг клонал тарқалганлигидан далолат беради. Ажратиб олинган штамлар КСБЛ продуцирлаши ҳудудга боғлиқ равишда 64,7% дан 90,6% гачани ташкил қилди.

Salmonella typhimurium штамларини β-лактамаз микробга қарши препаратларга нисбатан резистентлик генларининг циркуляциясини ўрганиш натижалари баён этилган.

Барча текширилган *S. Typhimurium* штамларида кенгайтирилган спектрдаги таъсирга эга β-лактамаз генларининг генетик оилалари СТХ-М – 93,3% (МХ – 92,3%, ЖХ – 88,2%, ШХ – 100,0%), ТЕМ – 60,0% (МХ – 97,4%, ЖХ – 5,9%, ШХ – 71,9%), SHV – 24,8% (МХ – 0%, ЖХ – 29,5%, ШХ – 50,0%) аниқланган. OXA-48, KPC, VIM, NDM, IMP оиладаги генлар *S. Typhimurium* штамларида аниқланмади.

S. Typhimurium штамларининг резистентлик генотипини аниқлашда маълум бўлдики, 47,6% штамлар турли хил бирикмадаги 4 та резистентлик генини тутуди, улар орасида энг кўп учрайдиган генотип – 74,4% *bla*_{СТХ-М1}, -СТХ-М2, -СТХ-М25, -ТЕМ (МХ – 69,2%, ШХ – 31,3%), ШХ кўп ҳолатларда генотип *bla*_{СТХ-М1}, -СТХ-М2 – 32,3% учраган. Шу билан бир қаторда, республикада

S. Typhimurium штаммининг 3 та ген тутувчи генотипи— 21,9%, 2 та ген — 16,2% ва 1 та ген — 5,7% ҳолатларда айланиб юрибди. *S. Typhimurium* штаммининг 5 та ген тутувчи генотипи энг хавфли ҳисобланади *bla*_{CTX-M1}, *CTX-M2*, *CTX-M25*, *TEM*, *SHV*, ҳамда 6,7% ҳолатларда рўйхатга олинади.

Диссертациянинг «*Salmonella typhimurium* штаммларида плазмида мавжудлигини текшириш» деб номланган олтинчи бобида *S. Typhimurium* штаммларида плазмида мавжудлигини текшириш натижалари келтирилган.

Ушбу тадқиқот ишини бажариш мақсадида, биз томондан плазмидани ажратиб олишнинг 3 хил усули апробациядан ўтказилди: Кадо ва Лю усули, йирик ва майда плазмидалар таҳлили учун совуқ шароитдаги *insitu* ва электрофорез усуллар. Кадо ва Лю усулларида сальмонелланинг ўрганилаётган штаммининг 270,0 ва 67,5 м.ж.н. (минг жуфт нуклеотид) катталигидаги йирик плазмидалари аниқланган. *Insitu* усулида эса 67,5 м.ж.н. катталигидаги майда плазмидалар ажратиб олинади. Аммо, бу усулда электрофореграммада кузатиладиган ДНК хромосомаси сақланиб қолади. Совуқ шароитлардаги электрофорез усулида катталиги 270,0 ва 67,5 м.ж.н. катталигидаги иккитадан йирик плазмидаларни ҳамда 9,4; 4,3 ва 2,3 м.ж.н. катталиқдаги, адабиётлар шарҳига кўра, R- плазмидаларга мувофиқ келувчи учта майда плазмидаларни кўриш мумкин бўлади. Ушбу усуллар мураккаб ва қийин бўлиб, шунинг учун биз томондан *S. Typhimurium* штаммларидан плазмидаларни ажратиб олиш усули ишлаб чиқилган (патент № IAP 05610). Ушбу усул ёрдамида юқори чиқишли плазмидалар ажратиб олиниб, уларнинг фрагментларини агарозали гелда УФ-трансиллюминатордан ўтувчи нурда оддий кўз билан аниқ кузатиш мумкин бўлади.

Учта ҳудудларда *S. Typhimurium* штаммларида плазмидалар мавжудлигини таҳлил этилганда, 105 штаммлардан 25 штаммларда (23,8%) плазмидалар аниқланди. Ушбу аниқланган умумий 25 та плазмида тутувчи штаммлардан, 25 (52,0%) та штаммларда биттадан плазмида аниқланган, иккитадан плазмида 10 (40,0%), учтадан плазмида 1 (4,0%) ҳамда еттита плазмида 1 (4,0%) та штаммда аниқланган.

Молекуляр оғирлиги бўйича доминант плазмида таҳлил этилганида, 25 та плазмида тутувчи штаммлар орасида молекуляр оғирлиги 9,4 м.ж.н. бўлган 8 штамм (32,0%); 6,6 м.ж.н бўлган 8 штамм (32,0%); 4,3 м.ж.н. бўлган 8 штамм (32,0%) ҳамда молекуляр оғирлиги 3,2 м.ж.н. бўлган 8 штаммлар (32,0%) кузатилди.

Электрофоретик ҳаракатланиши бўйича молекуляр оғирлиги таҳлил этилганида умумий 44 та плазмида (100%) молекуляр оғирлиги бўйича тақсимланган: 9,4 м.ж.н. 8 штамм (18,8%); 6,6 м.ж.н 8 штамм (18,8%); 4,3 м.ж.н. 8 штамм (18,8%); 3,2 м.ж.н. 8 штамм (18,8%); 49,0 м.ж.н. 2 штамм (4,54%); 18,5 м.ж.н. 1 штамм (2,27,0%); 13,8 м.ж.н.ю 1 штамм (2,27%); 3,2 м.ж.н. 3 штамм (6,81%); 2,3 м.ж.н. 2 штамм (4,54,0%); 8,0 м.ж.н. 1 штамм (2,27%) ҳамда молекуляр оғирлиги 6,0 м.ж.н. 1 штамм (2,27%).

Шундай қилиб, *S. Typhimurium* штаммларини плазмидалар мавжудлигига текширишда аниқланди 23,8% ҳолатларда плазмидалар

аниқланган (МХ – 30,7%, ШХ – 15,6%, ЖХ – 23,5%): битта плазмида– 52,0% (МХ – 41,6%, ШХ – 80,0%, ЖХ – 50,0%), иккита плазмида– 40,0% (МХ – 41,6%, ШХ – 20,0%, ЖХ – 50,0%), учта плазмидалар - 14,0% (МХ – 8,3%) ва еттита плазмида 14,0% (МХ – 8,3%) штаммлардан аниқланган. Қуйидаги молекуляр оғирликка эга плазмидалар доминантлик қилади: МХ - 9,4 м.ж.н. (50,0%) ва 6,6 м.ж.н. (58,3%); ШХ - 4,3 м.ж.н. (40,0%); ЖХ- 3,8 м.ж.н. (75,0%).

Диссертациянинг «ПЗР усули ёрдамида *Salmonella typhimurium* плазмидаларида β -лактамазнинг СТХ-М, TEM ва SHV генлари мавжудлигини таҳлили» деб номланган еттинчи боби *S. Typhimurium* нинг йигирма бешта плазмида тутувчи штаммларида интакт плазмидалар препаратида β -лактамазнинг СТХ-М, TEM ва SHV резистентлик генларини аниқлашга бағишланган.

25-та плазмида тутувчи штаммлардан катталиги 9,4 м.ж.н. бўлган 8 та штаммда (32,0%) СТХ-М гени детекцияси 100,0% ҳолатларда аниқланди. Ушбу натижаларга асосланиб, айтиш мумкинки, СТХ-М гени катталиги 9,4 м.ж.н бўлган плазмидалар таркибида бўлади.

6 та плазмида тутувчи штаммларда TEM гени экспрессиясини уларнинг плазмида профили катталиклари билан қиёсий таҳлилида, катталиги 4,3 м.ж.н. бўлган биттадан плазмида тутган иккита штамм аниқланди. Қолган 4 та плазмида тутган штаммлар ҳам катталиги 4,3 м.ж.н. бўлган плазмида тутди, плазмидалар таркиби юқори ёки паст молекуляр оғирликка эга бўлди. Қолган 15-та плазмида тутувчи штаммлар таркибида катталиги 4,3 м.ж.н. бўлган плазмидалар аниқланмади. Олинган натижаларга асосланиб айтиш мумкинки, TEM гени фақатгина 4,3 м.ж.н. катталикдаги плазмидаларда бўлади. Аммо, катталиги 4,3 м.ж.н. бўлган ушбу плазмидалар TEM гени экспрессияси аниқланмаган бошқа 4 та плазмида тутувчи штаммларда ҳам бўлиб, ушбу штаммларнинг хромосомасида экспрессирланиши мумкин.

Шундай қилиб, генлар экспрессиясини плазмида профили молекуляр оғирлиги билан қиёсий таҳлилида СТХ-М ва TEM генлар мувофиқ равишда молекуляр оғирлиги 9,4 ва 4,3 м.ж.н плазмидалар томонидан экспрессирланади. SHV генига келсак, ушбу ген учта ҳудудларда ҳам ўрганилган йигирма бешта плазмида тутувчи штаммларнинг плазмидасида аниқланган.

S. Typhimurium нинг сезгирлик спектри таҳлили асосида, ПЗР текширув усулини резистентлик генотипини аниқлаш мақсадида бактериологик текширув усулига қўшимча равишда қўллаш тавсия этилади. КСБЛ детекциясида ПЗР усулини қўллашнинг ижтимоий-иқтисодий самарадорлиги β -лактамаз антибактериал препаратларни истисно қилиш (буюрмаслик) ҳамда резерв антибиотикларни буюриш (фторхинолон) билан белгиланади.

ХУЛОСА

«Бактериал ичак инфекциялари кўзгатувчиларининг фенотипик ва генотипик тавсифи ҳамда уларнинг дориларга чидамлилиги ривожланишида аҳамияти»

мавзусидаги докторлик диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги хулосалар тақдим этилди:

1. Бактериологик усул ёрдамида ўткир диарея касалликларининг этиологик омиллари 39,5% ҳолатларда (*Salmonella spp.* – 9,2%, *Shigella spp.* – 6,6%, патоген *E. coli* – 19,7%, ШПМ – 63,8%) аниқланди, бунда моноинфекция – 31,9%, ассоциациялар – 7,9% ни ташкил этди.

2. ПЗР усулидан фойдаланилганда (2 та тўплам) ўткир диарея касалликларининг этиологик омиллари 72,8% ҳолатларда аниқланди (*Salmonella spp.* – 9,3%, *Shigella spp.* – 7,5%, патоген *E. coli* – 52,6%, *Campylobacter spp.* – 2,8%, вируслар – 27,8%), бунда, моноинфекция – 36,3%, ассоциация – 36,5% ни ташкил қилди.

3. Ўзбекистон Республикасида ЎИИ билан оғриган беморлардан ажратиб олинган *S. Typhimurium* нинг популяцияси микробга қарши препаратларга, жумладан тиббиётда ўта муҳим аҳамиятга эга бўлган – β-лактама (89,5%) ва фторхинолонларга (92,3%) нисбатан чидамли штаммларнинг улушини жуда юқорилиги, 54,2% ҳолатларда А/АС/СТХ/СА/СРМ/Т/С/ГМ/СО/НА чидамлилик фенотипининг устунлиги, кўзғатувчининг клонал тарқалганлигидан ва текширилган худудларга боғлиқ ҳолда уларнинг чидамлилик фенотипининг турлича эканлигидан далолат бериши мумкин: МХ-10 фенотиплар (88,2%), ЖХ-3 фенотип (85,0%), ШХ-4 фенотип (75,0%).

4. *S. Typhimurium* барча текширилган штаммларида БЛРС генлари аниқланган: СТХ-Мнинг генетик оиласи – 93,3% (МХ – 92,3%, ЖХ – 88,2%, ШХ – 100,0%), ТЕМ – 60,0% (МХ – 97,4%, ЖХ – 5,9%, ШХ – 71,9%), SHV – 24,8% (МХ – 0%, ЖХ – 29,5%, ШХ – 50,0%). ОХА-48, КРС, VIM, NDM, IMP оиласи генлари аниқланмади.

5. *S. Typhimurium* штаммларида 21 хил резистентлик генотиплари аниқланди: кўп ҳолатларда *bla*_{СТХ-М1}, -СТХ-М2, -СТХ-М25, -ТЕМ генотип – 74,4% кузатилди (МХ – 69,2%, ШХ – 31,3%), ЖХ эса кўп ҳолатларда *bla*_{СТХ-М1}, -СТХ-М2 генотип – 32,3% учради.

6. 23,8% ҳолатларда *S. Typhimurium* штаммлари плазмидаларни сақлаши аниқланди: (МХ – 30,7%, ШХ – 15,6%, ЖХ – 23,5%), битта плазида – 52,0% (МХ – 41,6%, ШХ – 80,0%, ЖХ – 50,0%), иккита плазмидалар – 40,0% (МХ – 41,6%, ШХ – 20,0%, ЖХ – 50,0%), учта плазмидалар – 14,0% (МХ – 8,3%) ва штаммда етти плазмидалар 14,0% ҳолатларда аниқланди (МХ – 8,3%). Молекуляр оғирлиги қуйидагича бўлган плазмидалар доминантлик қилди: МХ - 9,4 м.ж.н. (50,0%) ва 6,6 м.ж.н. (58,3%); ШХ - 4,3 м.ж.н. (40,0%); ЖХ - 3,8 м.ж.н. (75,0%).

7. 32,0% ҳолатларда плазмидаларда СТХ-М гени аниқланди (МХ – 50,0%, ШХ – 20,0%, ЖХ – 12,5%), ТЕМ гени эса 24,0% ҳолатларда (МХ – 25,0%, ШХ – 40,0%, ЖХ – 12,5%), текширилаётган плазмидаларда SHV ген экспрессияси, плазида сақловчи штаммларда аниқланмади. СТХ-М ва ТЕМ генлар молекуляр оғирлиги 9,4 ва 4,3 м.ж.н.. бўлган плазмидаларда экспрессланиши аниқланди.

**РАЗОВЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017.Tib.30.01 ПО
ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ
ТАШКЕНТСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ**

**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ,
МИКРОБИОЛОГИИ И ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

АБДУХАЛИЛОВА ГУЛНОРА КУДРАТУЛЛАЕВНА

**ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ И
ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ**

03.00.04–Микробиология и вирусология

**АВТОРЕФЕРАТ ДОКТОРСКОЙ (DSc) ДИССЕРТАЦИИ
ПО МЕДИЦИНСКИМ НАУКАМ**

ТАШКЕНТ - 2018

Тема докторской диссертации (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за № B2017.1.DSc/Tib17

Докторская диссертация выполнена в Научно-исследовательском институте эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице по адресу www.tma.uz и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» по адресу (www.ziyo.net).

Научный консультант: **Ахмедова Мубарахон Джалиловна**
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: **Нуралиев Неккадам Абдуллаевич**
Доктор медицинских наук, профессор

Нурузова Зухра Абдикадировна
доктор медицинских наук, профессор

Кадырова Дильбар Абдуллаевна
доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация: **Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней федерального медико-биологического агентства» (Российская Федерация)**

Защита состоится «___» _____ 2018 г. в ___ часов на заседании разового Научного совета DSc.27.06.2017.Tib.30.01 при Ташкентской медицинской академии (Адрес: 100109, г. Ташкент, ул. Фараби, дом 2. Зал заседания 1-го учебного корпуса Ташкентской медицинской академии Тел/факс: (+998 71) 1507825, e-mail: tta2005@mail.ru).

С диссертацией (DSc) можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентской медицинской академии (зарегистрировано №___). Адрес: 100109, г. Ташкент, ул. Фараби, дом 2. Ташкентская медицинская академия, 2 учебной корпус «Б» крыло, 1 этаж, 7 кабинет. Тел/факс: (+99871) 150-78-14.

Автореферат диссертации разослан «___» _____ 2018 г.
(протокол рассылки № ___ от «___» _____ 2018 г.)

Л.Н. Туйчиев
Председатель разового научного совета
по присуждению ученых степеней,
д.м.н, профессор.

Н.У. Таджиева

Ученый секретарь разового научного совета
по присуждению ученых степеней, д.м.н, доцент.

Б.М. Таджиев
Председатель разового научного семинара
при разовом научном совете по присуждению
ученых степеней, д.м.н, доцент.

ВВЕДЕНИЕ (аннотация докторской диссертации)

Актуальность и востребованность темы диссертации.

Высокая заболеваемость острыми кишечными инфекциями (ОКИ) «...уступающая по своей частоте лишь респираторной патологии, частые неблагоприятные исходы болезни»¹ определяют актуальность данной проблемы. По оценкам ВОЗ, «...ежегодно более 23 миллионов человек в Европейском регионе заболевают в результате употребления зараженной пищи, что приводит примерно к 5000 смертей в год»². Однако, во многих случаях диагностика и лечение острых диарейных заболеваний, вызванных возбудителями с множественной резистентностью к антимикробным препаратам, вызывают определенные трудности. Из-за того, что выявление мутации в различных генах у возбудителей острых диарейных заболеваний, связанных с формированием лекарственной устойчивости бывает сложным, это ведет к частоте неблагоприятных исходов болезни.

В мире проводится целый ряд исследований с целью изучения фенотипических и генотипических свойств возбудителей острых диарейных заболеваний, разработки стратегических национальных планов действий по устойчивости к противомикробным препаратам и рациональному использованию антибиотиков. В этой связи, изучение этиологической структуры острых диарейных заболеваний и выявление специфических различий в спектре возбудителей; изучение чувствительности к антимикробным препаратам *S. Typhimurium*, выделенных от больных острыми кишечными заболеваниями с установлением фенотипов и генотипов резистентности; изучение плазмидного профиля у *S. Typhimurium* и определение профиля генов резистентности у плазмидосодержащих штаммов *S. Typhimurium*, считается одной из актуальных проблем.

На сегодняшний день, в стране наиболее важными вопросами современной медицины являются совершенствование системы здравоохранения, в том числе, выявление возбудителей острых диарейных инфекций при диагностике и определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Согласно стратегии действий³, по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан в 2017-2021 гг., для перехода на новый уровень оказания медицинских услуг населению, определены задачи «... повышения качества и доступности специализированных медицинских услуг, реформирование системы скорой и неотложной медицинской помощи». При этом, очень важно оказание высококвалифицированной, качественной медицинской

¹ Малеев В.В. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2013 году. Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2014; 1-191;

² WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. Foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007–2015. Geneva: World Health Organization; 2015, 25 (http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/en/, accessed 27 June 2016)

³ Узбекистон Республикаси Призидентининг 2017 йил 7 февралдаги “Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси” ПФ-4947-сонли Фармони

помощи населению страны, за счет расширения применения современных технологий, что позволит повысить качество жизни в различных слоях населения.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению в рамках исполнения задач, постановленных Президентом Республики Узбекистан от 28 ноября 2011 года № ПП – 1652 «О мерах по дальнейшему углублению реформирования системы здравоохранения», а также приказа от 7 февраля 2017 года № УП – 4947 «Стратегия действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан в 2017-2021 годы», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования основным приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий Республики Узбекистан V. «Медицина и фармакология».

Обзор зарубежных исследований по теме диссертации⁴. Научные исследования, направленные на решение основных вопросов диагностики, лечения острых диарейных заболеваний, а также мониторингу формирования резистентности к антимикробным препаратам у возбудителей ОКИ, осуществляются в ведущих научных центрах и международных организациях мира, в том числе: World Health Organization (Дания), Center for Disease Control and Prevention (США), Infection Control and Laboratory Diagnostic (Япония), Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (Канада), Child and Adolescent Department University Hospital of Geneva (Швейцария), НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской Государственной медицинской академии (Россия), НИИ эпидемиологии, микробиологии им. Пастера (Россия) и в Научно-исследовательском институте эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний (Узбекистан).

Получен ряд научно-практических результатов научных исследований ученых, направленных на практическое решение проблемы устойчивости к лекарственным препаратам возбудителей ОКИ, во всем мире: изучены проблемы устойчивости к антибиотикам возбудителей ОКИ, передаваемые через пищевые продукты (World Health Organization (Дания)); доказана необходимость сокращения и рационального применения антибиотиков у сельскохозяйственных животных (Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (Канада)); считается, что одним из ключевых вопросов данной стратегии является резистентность к антибиотикам бактерий (Infection Control and Laboratory Diagnostic (Япония)); доказано, что применение у сельскохозяйственных животных

⁴Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации проведен на основании www.int.who.org; www.cdc.gov; www.cdc.gov/drugresistance; <http://www.med.tohoku.ac.jp>; www.canada.ca/en/public-health/services/surveillance; <https://www.hug-ge.ch/en/search-en/antimicrobial>; www.antibiotic.ru/iac.php; www.pasteurorg.ru; www.minzdrav.uz/agencies/details и др. источников.

фторхинолонового препарата энрофлоксацина привело к развитию у бактерий родов *Salmonella* устойчивости к ципрофлоксацину, который используется для лечения людей, в дальнейшем такие устойчивые бактерии вызывают заболевания у людей (Child and Adolescent Department University Hospital of Geneva (Швейцария), НИИ эпидемиологии, микробиологии им. Пастера (Россия)); доказана устойчивость штаммов микроорганизмов к таким антимикробным препаратам как фторхинолоны и цефалоспорины (НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской Государственной медицинской академии (Россия)); изучены фенотипические и генотипические характеристики возбудителей острых кишечных инфекций (Center for Diseases Control and Prevention (США), НИИ эпидемиологии, микробиологии им. Пастера (Россия), Научно-исследовательском институте эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний (Узбекистан)).

В настоящее время проводится целый ряд научных исследований по изучению этиологической структуры острых кишечных инфекций; изучению чувствительности к антимикробным препаратам *S. Typhimurium*, выделенных от больных острыми кишечными заболеваниями с установлением фенотипов и генотипов резистентности; изучению плазмидного профиля у *S. Typhimurium*; определение наличия генов резистентности к β – лактамным антибиотикам в плазмидах *S. Typhimurium*; определению профиля генов резистентности у плазмидосодержащих штаммов *S. Typhimurium*; усовершенствование микробиологических методов диагностики этиологии острых кишечных инфекций.

Степень изученности проблемы. По проблеме диагностики ОКИ в последние годы в странах независимого содружества проведен целый ряд научных исследований (Айвазян С.Р., Грановский И.Э., 2009; Денисюк Н.Б., Каган Ю.Д., 2013; Асилова М.У., Мусабаев Э.И., Убайдуллаева Г.Б., 2011). Как отмечают исследователи, необходим комплексный подход в усовершенствовании лабораторных методов идентификации этиологической структуры заболеваний, своевременное установление и проведения мониторинга чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (Козырева В.К., Эйдельштейн М.В., 2012; Шадманова Н.А., Исхакова Х.И., 2015).

Большое внимание в европейских странах, США и Канаде осуществляется мониторинг резистентности штаммов сальмонелл и других возбудителей, способных передаваться пищевым путем, выделенных от людей, животных и из пищевых продуктов, в первую очередь к АМП, имеющим наибольшее значение для медицины — хинолонам, а также мониторинг множественной резистентности к АМП (Rodriguez I., Barownick W., 2009; Egorova, S., 2007).

Изучением распространения бета-лактамаз, в том числе БЛРС, активно занимаются во многих странах мира. Постоянно растет число публикаций, в которых приводятся данные по распространенности БЛРС в отдельных лечебных учреждениях, регионах и странах. На примере, в

Европе (Eckert C., Gautier V., 2004; Hope R, Potz NA, Warner M, 2007), в Америке (Toleman M.A., Simm A.M., 2002), странах Азиатского региона (Hirakata Y, Matsuda J, 2005; Koo S.H., Kwon K.C., 2010). К настоящему времени описано более 800 различных БЛРС (Gniadkowski M., 2008). Основными из них являются гены бета-лактамаз широкого действия – TEM, SHV, бета-лактамаз расширенного спектра действия CTX-M, бета-лактамазы OXA типа, металло-бета-лактамазы - VIM, IMP, NDM и т.д.

Все выше указанное, объективно обосновывает необходимость изучения особенностей возбудителей ОКИ и проведения мониторинга чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, дальнейшего совершенствования методов диагностики для решения задач по оптимизации лечебных и профилактических мероприятий, направленных на снижение заболеваемости ОКИ.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация. Работа выполнена в рамках проекта ВОЗ и МЗ РУз «Безопасности пищевых продуктов и устойчивости выделенных микроорганизмов к антимикробным препаратам» 2011-2013гг. и гранта: «Выявление причин и механизмов патогенеза затяжных и хронических форм течения бактериальных кишечных инфекций» 2012 – 2016гг.

Целью исследования является изучить фенотипические и генотипические характеристики возбудителей бактериальных кишечных инфекций и их роль в формировании лекарственной устойчивости.

Задачи исследования:

изучить этиологическую структуру возбудителей острых диарейных заболеваний в отдельных регионах Узбекистана и выявить их специфические различия;

установить фенотипы резистентности *S. Typhimurium* выделенных от больных острыми кишечными заболеваниями в отдельных регионах Узбекистана с определением чувствительности к антимикробным препаратам;

определить выработку β – лактамаз расширенного спектра у *S. Typhimurium* с помощью фенотипических и генотипических методов;

определить плазмидный профиль у *S. Typhimurium*;

определить наличие генов резистентности к β – лактамным антибиотикам в плазидах *S. Typhimurium*;

охарактеризовать профиль генов резистентности у плазмидосодержащих штаммов *S. Typhimurium*.

Объектом исследования явились больные ОКИ в возрасте от 2 мес. до 72 лет из трех регионов Республики Узбекистан (г. Ташкент, Хорезмская область, Кашкадарьинская область) по (n=200), штаммы *S. Typhimurium* (n=105).

Предметом исследования явились фекалии больных острыми кишечными инфекциями, ДНК *S. Typhimurium*.

Методы исследования. Проспективное исследование проводилось с использованием бактериологических, серологических, молекулярно-генетических и статистических методов исследования.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

доказано, что этиологическая структура больных с острой диареей в зависимости от региональных эпидемиологических аспектов, варьируется *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, патогенная *E.coli*, *Campylobacter spp.*, вирусы и условно-патогенные микроорганизмы;

доказана, резистентность к антимикробным препаратам штаммов *S. Typhimurium*, выделенных от больных ОКИ из отдельных регионов;

обосновано прогнозирование вероятных мутаций и мониторинг резистентности возбудителей ОКИ на основе фенотипических и генотипических аспектов резистентности *S. Typhimurium*;

усовершенствован метод полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией для выявления генов резистентности к β – лактамным антибиотикам;

разработан способ выделения плазмид, участвующих в передаче информации резистентности микроорганизмов к АМП на примере *S. Typhimurium*.

Практические результаты исследования:

выявлены различия и особенности этиологической структуры острых диарей, расшифрованных с помощью бактериологического и ПЦР методов в отдельных регионах Республики Узбекистан;

обосновано определение МИК антимикробных препаратов фторхинолонового ряда, широко используемых в практике врачей при сальмонеллезе, обусловленном *S. Typhimurium*;

предложен комплекс бактериологических, серологических и молекулярно-генетических методов при лабораторной диагностике острых кишечных инфекций;

определена антибиотикочувствительность штаммов *S. Typhimurium* к антибактериальным препаратам для выбора эмпирической терапии;

предложен метод определения генотипов резистентности к β – лактамным антибиотикам для своевременного назначения АМП β – лактамного класса;

рекомендован способ выявления плазмид, которые участвуют в передаче информации резистентности микроорганизмов к АМП для мониторинга и определения клональности самого возбудителя *S. Typhimurium*.

Достоверность результатов исследования. Достоверность результатов исследования определяется применением теоретических подходов и методов, использованием достаточного числа возбудителей, больных, а также примененными в исследованиях современными взаимодополняющими молекулярно-генетическими, бактериологическими, серологическими, эпидемиологическими и статистическими методами исследования, полученные результаты были подтверждены полномочными структурами.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования заключается в выявлении ведущих микроорганизмов – возбудителей ОДЗ в зависимости от региона Республики Узбекистан и роли *S. Typhimurium*, являющейся одним из распространённых бактериальных полирезистентных возбудителей ОКИ.

Практическое значение результатов исследования заключается в том, что разработан способ выделения плазмид, участвующих в передаче информации о резистентности микроорганизмов к АМП, для мониторинга и определения клональности самого возбудителя *S. Typhimurium*. Это позволит определять наличие различных генов резистентности ESBLs и карбопинемаз на мобильных генетических элементах (таких как плазмиды) в изолятах бактерий, которые приводят к формированию в бактериальной клетке нового резистентного фенотипа лекарственной устойчивости, в частности фенотипа множественной лекарственной устойчивости антибактериальным препаратам III и IV поколения.

Внедрение результатов исследования. На основе полученных научных результатов по фенотипическим и генотипическим характеристикам возбудителей бактериальных кишечных инфекций и их роль в формировании лекарственной устойчивости:

получен патент на изобретение в Агенстве по Интеллектуальной собственности Республики Узбекистан «Способ выявления плазмид *S. Typhimurium*» (IAP 05610, 31.05.2018). Внедрение данного патента в клиническую практику позволит повысить качество определения клональности *S. Typhimurium* и проведения эпидемиологического расследования в очаге;

разработаны и внедрены в практику здравоохранения информационное письмо «III-IV гурух бактериялари ва вируслари билан ишлаш, уларни хисобга олиш, саклаш, ташиш ва бошка ташкилотга бериш бўйича йурикнома» (инструкция министерства Здравоохранения РУз № 012-3/0195 от 07 января 2011 г.) Данное информационное письмо внедрено в практическую деятельность бактериологических лабораторий Республики Узбекистан, для правильной работы с микроорганизмами;

разработаны и внедрены в практику здравоохранения методические рекомендации «Методические основы сохранения коллекционных штаммов микроорганизмов III-IV группы» (заключение Министерства здравоохранения № 8м/153 от 22 сентября 2010г.). Данные методические рекомендации служат, правилами работы в бактериологических лабораториях с энтеропатогенами;

разработаны и внедрены в практику здравоохранения методические рекомендации «Сравнительная технико-экономическая характеристика бактериологического и ПЦР методов в диагностике острых диарейных заболеваний» (заключение Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №8н-р/59 от 17 марта 2018 г.). Данные методические рекомендации служат ранней диагностике возбудителей ОКИ и правильному

выбору метода диагностики при данном заболевании;

разработаны и внедрены в практику здравоохранения методические рекомендации «Сравнительные аспекты выявления антибиотикорезистентных штаммов фенотипическим и ПЦР методом» (заключение Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №8н-р/60 от 17марта 2017 г.). Данная методика позволит определять бета лактамазы широкого спектра (БЛШС) методом ПЦР и с первого дня госпитализации больных с ОДЗ обосновано выбирать антибактериальный препарат при бактериальных диареях.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования были обсуждены на 6 международных и 6 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По результатам диссертационной работы опубликовано 47 научные работы. Из них 18 научных статей, в том числе 14 в республиканских и 1 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций и 3 в других зарубежных издательствах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, семи глав, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы. Объем текстового материала составляет 191 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуется объект и предмет исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Современные аспекты вопросов диагностики острых диарейных инфекции, фено- и генотипические свойства антибиотикочувствительности штаммов S. Typhimurium»** представлен обзор литературных данных. В обзоре проведен анализ современных представлений об этиологической структуре ОКИ и их диагностике, об актуальности сальмонеллезной инфекции, подходов к постановке теста чувствительности к антимикробным препаратам и их интерпретация, о генах резистентности и их передача через мобильные элементы плазмиды. Результаты проведенного анализа обосновали актуальность, цель и задачи исследования.

Во второй главе диссертации **«Этиологическая расшифровка больных острыми диарейным инфекциями и определение чувствительности к**

антимикробным препаратам *Salmonella typhimurium* с использованием классических и современных методов исследований» описаны материалы и методы исследований. Настоящая работа выполнена на протяжении 2006-2015 гг. в лаборатории «Национальная коллекция микроорганизмов инфекций человека» и ПЦР лаборатории НИИЭМИЗ МЗ РУз. Для определения этиологической структуры возбудителей острых диарейных инфекций (ОДИ) на основе классического бактериологического метода (n=1659) и ПЦР (n=626) материал (фекалий) поступал из областных инфекционных больниц трех регионов республики, г. Ташкент и Ташкентская область (центральный регион), Кашкадарьинская область (южный регион) и Хорезмская область (северный регион). Возраст обследуемых составил от 1 мес. до 72 лет.

Для проведения фенотипических и генотипических методов исследования теста чувствительности к антимикробным препаратам (n=105) *S. Typhimurium*, с выявлением детекции генов резистентности к антимикробным препаратам (n=105), проводилось с использованием культур полученных из трех выше перечисленных регионов.

Перспективное исследование проводилось с использованием бактериологических, серологических, молекулярно-генетических и статистических методов.

Бактериологический посев проб (фекалий): пробы доставлялись в замороженном виде в стерильных стеклянных флаконах в транспортной фосфатно-буферной смеси в соотношении 1:3. При поступлении проб в лабораторию исследования проводились согласно приказа МЗ № 177 от 01.05.2015г. «Бактериологик, вирусологик ва ута хафли юкумли касалликлар лабораторияларида утказиладиган лаборатория текширув усулларини такомиллаштириш тугрисида». При посеве использовали слабоселективную среду Эндо (Merck, Germany), селективные среды висмут – сульфит агар («Микроген», Россия) и SS-агар (Национальный НПЦ генно – инженерных препаратов, Россия). В качестве среды обогащения использовали SDS-бульон (Национальный НПЦ генно – инженерных препаратов, Россия). Подозрительные на энтеропатогены колонии отсевали на среду Клигlera (Национальный НПЦ генно – инженерных препаратов, Россия) для дальнейшей идентификации. Колонии на среде Эндо, подозрительные на патогенные эшерихии, положительно реагирующей с эшерихиозной ОКА сывороткой, отсевали также на среду Клигlera для дальнейшей идентификации и постановки серологических реакций.

Для определения семейства, рода, вида возбудителей использовали таблицы Определителя бактерий Берджи, 1997 год (9 издание) и компьютерную программу для идентификации в соответствии с Определителем бактерий Берджи (1997).

Для проведения ПЦР в реальном времени применялись наборы реагентов «АмплиСенс®ОКИскрин-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия) для выявления и дифференциации ДНК микроорганизмов рода *Shigella* spp.,

энтероинвазивных *E.coli* (EIEC), *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Adenovirus* F, *Rotavirus* A, *Norovirus* 2 генотип, *Astrovirus* и «АмплиСенс®Эшерихиозы-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия) для выявления и дифференциации ДНК различных групп диарогенных эшерихий: *EPEC*, *EPEC*, *EIEC*, *EHEC*, *EAgEC*. Для экстракции ДНК/РНК и проведения реакции обратной транскрипции использовали наборы реагентов, рекомендованные ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора «РИБО-преп» (Россия). При экстракции РНК/ДНК из исследуемых образцов фекалий использовали только РНК-элюент, входящий в состав набора реагентов. Анализы проводили с использованием ПЦР анализатора RotorGeneQ – SNR0911/54, производства Германия.

Изучение морфологических, тинкториальных и биохимических свойств штаммов *Salmonella* spp. проводили согласно протоколам ВОЗ. Биохимическую активность определяли путем посева культур *S. Typhimurium* в полужидкие среды, содержащие различные углеводы, спирты и аминокислоты: глюкозу, лактозу, маннит, дульцит, мочевины, арабинозу, ксилозу, цитрат, ацетат, малонат, фенилаланин, лизин. Антигенная структура изучаемых культур устанавливалась в реакции агглютинации на стекле со специфическими сальмонеллезными ABCDE поливалентными и монорецепторными сыворотками O1, O4, O5, O12, Hi по схеме Кауфмана-Уайта. (Кауфман Ф., 1959). *S. Typhimurium* имели антигенную формулу: O1, O4, O5, O12, Hi В работе использованы сыворотки изготовленные предприятием по производству бактериальных препаратов С.-Петербургского НИИ вакцин и сывороток.

Определение чувствительности к антимикробным препаратам - диско – диффузионным методом и методом серийных разведений с определением минимальной ингибирующей концентрации (МИК) проводились согласно рекомендациям CLSI M02-A11 и M07-A10. Полученные результаты интерпретировали согласно рекомендациям CLSI M100-S22. В работе использовали агар Мюллера-Хинтон и диски с антибиотиками производства HIMEDIA (Индия), а также субстанции химически чистых антимикробных препаратов (HIMEDIA, Индия). Для внутреннего контроля качества проводимых исследований использовали контрольные штаммы *E.coli* ATCC 25922 и *K.pneumoniae* ATCC 700603.

Механизмы резистентности штаммов к β -лактамам АМП изучали молекулярно-генетическими методами: ПЦР с электрофоретической детекцией. Проводили детекцию генов, кодирующих продукцию β -лактамаз широкого и расширенного спектра генетических семейств SHV, TEM, CTX-M (генетических групп CTX-M1, CTX-M9, CTX-M8/25, CTX-M2), а также различных карбапенемаз – OXA-48, KPC и металло- β -лактамаз NDM, VIM, IMP. Для постановки использовали наборы реагентов производства Евроген (Россия).

Изучение плазмидного профиля *S. Typhimurium* проводили предложенным нами «*Способ выделения плазмид Salmonella typhimurium*»

патент № IAP 05610 (Зарегистрирован в государственном реестре изобретений Республики Узбекистан, г. Ташкент 31.05.2018). Способ выделения плазмид *Salmonella typhimurium*, включающий культивирование бактериальных клеток, осаждение их центрифугированием при 4000 об/мин в течение 10-15 мин при 4°C, отделение осадка, ресуспендирование осажденных клеток в растворе I (50 мМ глюкоза; 100мМ Tris-HCl, pH 8,0; 10мМ ЭДТА), последовательное добавление раствора II (0,2 N NaOH; 1% SDS), встряхивание, выдерживание на льду в течение 5 мин, добавление холодного ацетата аммония, выдерживание на льду в течение 5 мин, центрифугирование при 5000 об/мин в течение 10 мин при 4°C с последующим отделением супернатанта, экстрагирование супернатанта, осаждение плазмидной ДНК центрифугированием, отличающийся тем, что перед ресуспендированием осажденные клетки промывают в ТЭ-буфере (50 мМ Tris-HCl, pH 8,0; 5 мМ ЭДТА, pH 8,0) и отделяют центрифугированием; экстрагируют супернатант водонасыщенным хлороформом с последующим плавным переворачиванием пробирки в течение 10 мин при комнатной температуре; отделяют водную фазу центрифугированием при 10000 об/мин в течение 5 мин при 8°C; экстрагируют водную фазу 1/10 об.ч. холодного 3М ацетата натрия pH 5,2 и 1 мл 96% этанола с последующим плавным переворачиванием пробирки в течение 15 мин при -20°C; осаждают плазмидную ДНК центрифугированием в 2 этапа: при 5000 об/мин в течение 1ч при 4°C и затем продолжают центрифугирование при 12000 об/мин в течение 20мин при 8°C. Далее в выделенных плазмидах изучалось наличие генов кодирующих продукцию β-лактамаз широкого и расширенного спектра генетических семейств SHV, TEM, CTX-M.

Полученные при исследовании данные подвергли статистической обработке на персональном компьютере Pentium-IV с помощью программного пакета Microsoft Office Excel-2012, включая использование встроенных функций статистической обработки.

В третьей главе диссертации **«Этиологическая структура острых диарейных заболеваний расшифрованная с помощью микробиологического метода»** результаты исследования изучения этиологической структуры с помощью бактериологического метода диагностики из трех регионов показал, что из 656 (39,5%) положительных проб, верифицировано 802 микроорганизма, 291 (36,3%) патогенных микроорганизмов (ПМ) и 511 (63,7%) условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), отрицательный результат установлен в 60,5% случаях. Из положительных проб, частоту встречаемости в регионах показали моноинфекции ПМ и УПМ - 200 (12,1%) и 329 (19,8%) случаев. Из них по ЦР и ЮР наиболее часто высевались моноинфекция УПМ 17,8% и 24,4% случаев соответственно, а в СР от больных ОДЗ наибольший процент высеваемости наблюдался в виде моноинфекции ПМ - 17,8%. Ассоциации из 2-х микроорганизмов обнаружены в виде: ПМ + УПМ из трех регионов составили – 3,7%, наибольший процент высеваемости данной ассоциации

выявлен в ЮР (4,0%), ассоциации из 2х ПМ выявлены в СР и ЮР по 0,6% случаев, однако ассоциации из 2х УПМ наиболее часто встречались в ЦР.

В незначительных количествах встречались ассоциации из 3х микроорганизмов и частота их выявления составила от 0,2% до 1,1% случаев (рис. 1)

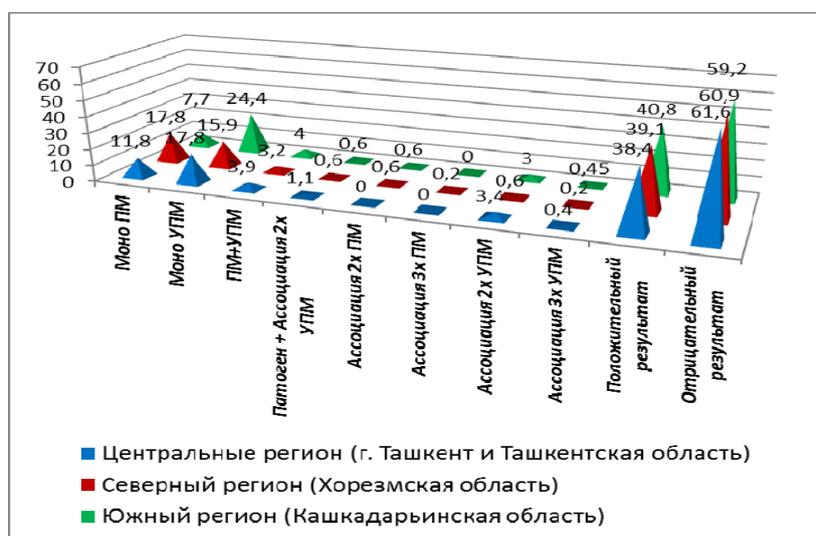


Рис. 1. Ассоциации различных микроорганизмов выделенных от больных острыми диарейными заболеваниями в целом по трем регионам республики (n=1659, %)

Из числа верифицированных ПМ (рис. 2) в трех регионах преобладали патогенные *E.coli*. Так, в ЦР – 12,7% и в СР – 10,6% случаев – это в 2 раза чаще, чем в ЮР – 6,5%. *Salmonella spp.* в 1,5 раза и в 3 раза чаще верифицировали в СР – 6,4%, чем в ЮР – 4,5% и ЦР – 2,1%. *Shigella spp.* в 3 раза чаще высевались в СР – 5,7%, чем ЦР – 1,9% и ЮР – 2,1%. В двух регионах идентифицирован *Aeromonas spp.*: в СР – 0,6%, в ЮР 0,5% случаев.

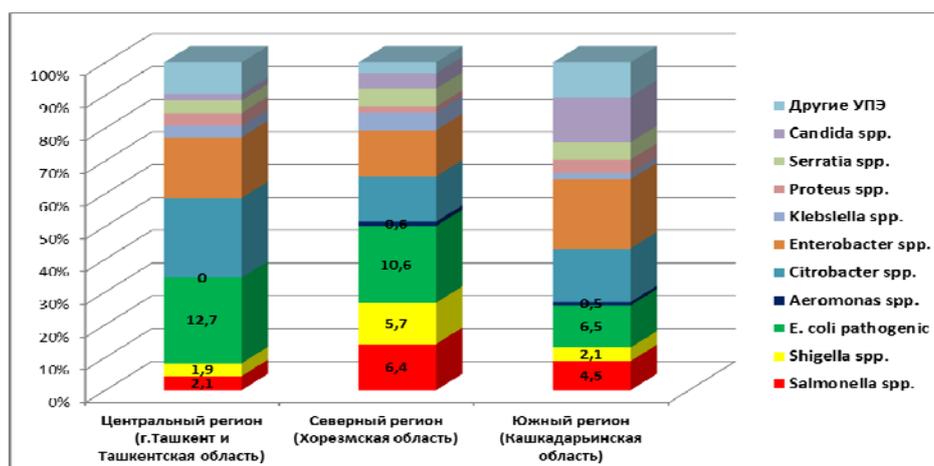


Рис. 2. Общая высеваемость микроорганизмов от больных ОДЗ в 3х регионах Республики (n=802, %).

УПМ чаще высевались от больных ОДЗ в ЮР и составили 37,0%, в ЦР – 32,0%, а в СР – 21,9%, соответственно. Наиболее часто высеваемыми УПМ

являлись *Citrobacter spp.* – в ЦР 11,8%, что в 1,5 раза чаще, чем в других регионах. *Enterobacter spp.* в ЮР выделили в 10,7% случаев, что в 1,5 раз больше, чем в других регионах. *Klebsiella spp.* наиболее часто высевалась в СР (2,5%), что в 1,5 раза чаще, чем в других регионах. *Proteus spp.* высевался в ЮР 14 (2,1%) и в ЦР 9 (1,9%), это в 2 раза чаще, чем в СР 4 (0,75%). *Serratia spp.* высеваемость составило в ЮР 18 (2,7%), в СР 13 (2,5%) и в ЦР 9 (1,9%).

Одним из высоких показателей высеваемости среди УПМ, которого мы определили как этиологическим агентом ОДЗ, явилась *Candida spp.*, которая высевалась в ЮР в 7,0% случаев, что в 3,3 раза превышает данный показатель в СР (2,1%) и в 7,7 раз – в ЦР (0,9%).

Процент высеваемости других УПЭ составило в ЮР 35 (5,3%), в ЦР 22 (4,7%) и в СР 8 (1,5%).

Далее был проведен анализ результатов исследования по выявлению вида патогенных и условно-патогенных микроорганизмов – возбудителей ОДЗ, среди различных возрастных групп больных в зависимости от региона (рис.3).

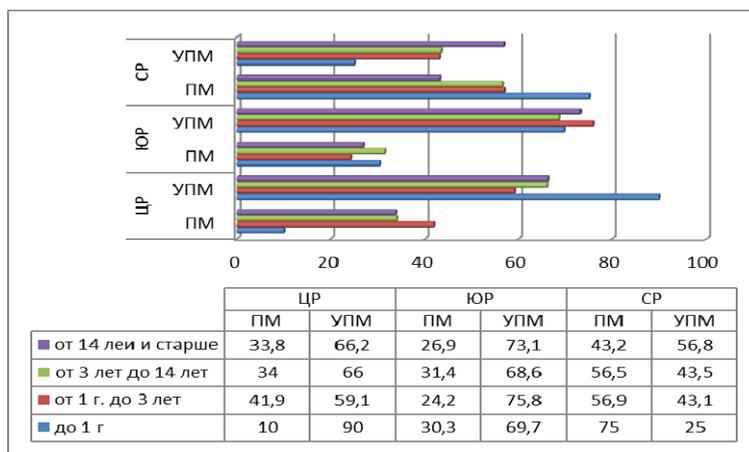


Рис. 3. Общая высеваемость микроорганизмов от больных ОДЗ в трех регионах республики в зависимости от возраста обследованных (n=802, %).

Во всех возрастных группах, в трех регионах, преобладающим ПМ являлись патогенные *E. coli* ($P < 0,001$), однако в ЦР в возрастной группе от 3х до 14 лет преобладали *Salmonella spp.* и *Shigella spp.* (80,0%) и (44,4%) случаев соответственно, а в ЮР и в СР чаще высевались *Salmonella spp.* и *Shigella spp.* в возрастной группе с 1 года до 3х лет 56,7%, 35,7% и 44,1%, 50,0% случаев соответственно ($P < 0,01$, $P < 0,001$). Часто высеваемыми УПМ являлись *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* и *Proteus spp.*, во всех регионах, в тех же возрастных группах как и ПМ.

Наибольший процент высеваемости ПМ наблюдался в летний период года ($P < 0,05$, $P < 0,001$), в ЦР выделено в 37,2%, в СР – 53,7%, в ЮР – 44,4%. за счет увеличения высеваемости патогенных *E. coli*. Отмечено, высокая высеваемость *Salmonella spp.* и *Shigella spp.*, от общего числа высеваемости

микроорганизмов, наблюдаемая в зимний период года в ЦР. В СР наибольшая высеваемость *Salmonella spp.* приходится на весенний период, а в ЮР на осенний период. Однако, высеваемость *Shigella spp.* в СР и в ЮР приходится на летний период. В осенний период года установлено наибольшая высеваемость УПМ в ЮР – 37,8%, а в ЦР и в СР в летний период – 41,6% и 52,6%.

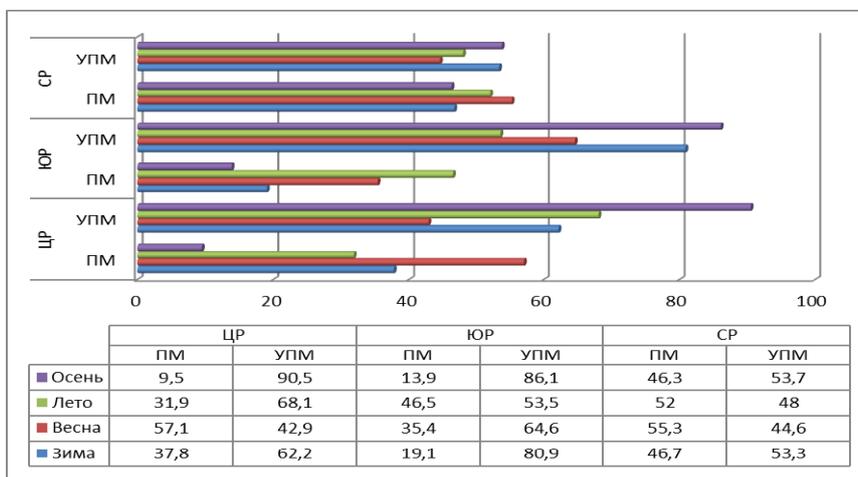


Рис. 4. Частота встречаемости и спектр энтеропатогенов, в фекалиях больных с ОДЗ, в зависимости от сезона года в трех регионах (n=802, %).

Полученные результаты дают основание заключить, что в Республике Узбекистан независимо от сезонов года отмечается значительная высеваемость как ПМ, так и УПМ, варьирующих в зависимости от региона исследования и обуславливающих круглогодичную циркуляцию этих микроорганизмов в окружающей среде и высокую частоту ОДЗ среди населения различных возрастных групп независимо от сезона года.

В четвертой главе диссертации «**Этиологическая структура ОДЗ расшифрованная (идентифицированная) с помощью метода ПЦР**» описаны результаты этиологической структуры ОДЗ исследованные методом ПЦР. Из 626 проб фекалий от больных с ОДЗ поступивших из трех регионов Республики, были положительными 456 пробы, что составило 72,8%, из них моноинфекции установлены в 36,3% случаев, ассоциации из 2-х патогенов – в 23,9%, из 3-х патогенов – в 9,6%, из 4-х патогенов – в 2,3%, из 5-и патогенов – в 0,7% образцах фекалий. Всего ассоциаций различных патогенов, выделенных из фекалий больных с диагнозом ОДЗ, было 36,6%. Доля отрицательных результатов по данным ПЦР исследований составила 27,2%, т.е. у 170 больных из 626 обследованных (1/4 часть) с диагнозом ОДЗ этиология осталась неустановленной. Наибольший процент детекции в виде моноинфекций и ассоциаций из 2х патогенов было выявлено в ЮР 47,3% и 28,5% случаев соответственно, а наибольший процент отрицательных результатов проб выявлено по ЦР. В СР был установлен высокий процент

обнаружения генов ассоциаций 3х, 4х, 5ти патогенов, что в сумме составило 16,3% случаев.

При анализе результатов исследования по выявлению вида генов патогенных микроорганизмов - возбудителей ОДЗ и частота их встречаемости среди различных возрастных групп больных при моноинфекции из трех регионов республики, выявлено, из 12 разновидностей моноинфекций, наибольшее количество штаммов обнаружено в возрастной группе детей до 1 года и от 14 лет и старше. Так в ЦР выделено 10 разновидностей, в СР и ЮР 9 и 7 разновидностей, соответственно. В остальных возрастных группах встречались от 3 до 7 разновидностей моноинфекции.

Установлены различия между регионами в частоте детекции бактериальных и вирусных патогенов методом ПЦР в зависимости от возраста: в группе детей до 1 года преобладали *Adenovirus* в ЮР (16,6%), *Astrovirus* в СР (6,5%); в группе 1 – 3 года преобладали *Shigella spp.* в ЮР (27,3%), *Salmonella spp.* и *EIEC* в ЦР (33,3% и 33,4% случаев); в группе 3 – 14 лет преобладали в ЮР *EPEC* (100,0%) и *Norovirus 2* (20,0%), *Rotavirus* в ЦР (27,3%); в группе от 14 лет и старше чаще выявлялись *Campylobacter spp.* в ЦР (9,7%), *EAgEC* в ЮР (50,0%).

Далее нами было установлено сезонное различие между регионами в частоте детекции бактериальных и вирусных патогенов: зимой преобладали гены патогенных *E. coli* ген *EAgEC* и *EIEC* в СР (60,0%, 40,0%), в ЦР *EPEC* и *Campylobacter spp.* (26,7% и 20,0%); весной наибольшая детекция гена *EHEC* выявлено в ЦР (8,5%) и ген *Norovirus 2* в ЮР и СР 35,3% и 35,0% случаев, соответственно; летом чаще обнаружен ген *ETEC* в ЮР (14,3%), *Adenovirus* в ЮР (25,7%) и *Astrovirus* только в СР (5,0%); осенью чаще обнаружено *Shigella spp.* и *Salmonella spp.* в ЦР (по 25,0%) и *Rotavirus* (50,0%) случаев соответственно.

Ассоциации из 2х патогенов составили более 35 вариантов, для удобства анализа мы их разделили на группы, это бактерии+эшерихиозы, вирусы+эшерихиозы и эшерихиозы+эшерихиозы, бактерии+вирусы, вирусы+вирусы. Анализ данных ассоциации из 2х патогенов в зависимости от возраста пациентов в трех регионах были получены следующие результаты, так вариант бактерии+эшерихиозы наиболее часто обнаруживались в возрастной группе от 14 лет и старше в ЦР (42,0%) и в СР (40,0%). Часто встречались бактерии+вирусы в ЮР в возрастной группе от 3 до 14 лет – 50,0%. Сочетание 2х вирусов чаще выявлялось в СР в возрастной группе детей до 1 года – 23,9% случаев. Сочетания вирусы+эшерихии было отмечено в ЦР и ЮР во всех возрастных группах пациентов. Сочетание же 2х разновидностей эшерихий выявлено в СР также во всех возрастных группах пациентов.

Анализ ассоциации из 2х патогенов в зависимости от сезона и региона исследования показал, что сочетания бактерии+эшерихии чаще выявлялись в СР в зимний период года (75,0%). Сочетания бактерии+вирусы чаще

встречались в ЮР в весенний и летний периоды – 31,3% и 33,3% случаев. Ассоциации из 2х вирусов чаще встречались в СР в осенний период года в 35,8% случаев. Сочетания вирусы+эшерихии и эшерихии+эшерихии выявлялись приблизительно в одинаковых количествах во всех регионах на протяжении всего года. При анализе патогенов ПЦР методом были выявлены ассоциации из 3х, 4х и 5ти патогенов, но в незначительных количествах.

В заключение можно констатировать, что ПЦР метод позволяет установить вирусные патогены, которые ранее не определялись, и более качественное, быстрее (5 часов) и точнее определять наличие бактериальных возбудителей. Однако бактериологический метод позволяет более детально охарактеризовать родовую и видовую принадлежность патогенной и условно-патогенной флоры, изучить биологические свойства возбудителя, определить чувствительность к антибиотикам, но процесс диагностики занимает в среднем 5-6 дней.

Идеальным, можно считать совмещение ПЦР и бактериологического методов: ПЦР метод позволяет установить этиологический фактор энтеропатогенов в ранние сроки для назначения эмпирической терапии. Бактериологический метод позволяет получить саму бактерию в чистой культуре и изучить её свойства и чувствительность к антимикробным препаратам, а также выявить возбудители из группы условно-патогенных энтеробактерий, в дальнейшем скорректировать лечебную тактику.

В пятой главе диссертации **«Фенотипическая и генотипическая характеристика штаммов *Salmonella typhimurium* выделенных от больных острыми кишечными инфекциями»** описаны результаты теста чувствительности *S. Typhimurium* (n=105) к противомикробным препаратам.

Все изученные штаммы, выделенные из трех регионов, были устойчивы к 1 и более классам АМП. В исследованных популяциях *Salmonella*, отмечена устойчивость практически ко всем изученным АМП. Так, штаммы *S. Typhimurium* выделенные из трех регионов характеризовались чрезвычайно высоким уровнем устойчивости - МИК₅₀ и МИК₉₀ к ампициллину и цефотаксиму составили 512 мкг/мл, к цефтазидиму – 64 мкг/мл и 128 мкг/мл, соответственно. Резистентные к различным β-лактамным антибиотикам (как незащищенным, так и защищенным клавулановой кислотой) выделенные в ЦР составили от 84,6% (к цефалоспорином расширенного спектра) до 89,7% (к ампициллину), в ЮР по 85%, а в СР наблюдалась 100% устойчивость штаммов к цефалоспорином расширенного спектра. Однако, штаммы *S. Typhimurium* выделенные во всех регионах сохранили свою активность в отношении только к карбапенемам (имипенем, меропенем).

Штаммы *S. Typhimurium* выделенные от больных ОКИ в ЦР были устойчивы к налидиксовой кислоте в 92,3%, из ЮР – 85% штаммов, из СР – 100% штаммов, при этом МИК₅₀ и МИК₉₀ составили 512 мкг/мл. Резистентные к фторхинолонам (ципрофлоксацину) штаммы из ЦР составили 74,3% (умеренно-устойчивых – 69,2%, устойчивых- 5,1%), чувствительность сохранили 25,7%, из ЮР – 12% (умеренно-устойчивых) и из СР – 53,1%

(умеренно-устойчивых). При определении чувствительности к этому препарату использовали метод определения МИК. Наше исследование выявило, что МИК₅₀ и МИК₉₀ ципрофлоксацина составило 1 мкг/мл, что указывает на высокую вероятность клинической неэффективности использования фторхинолонов для лечения сальмонеллезной инфекции у пациентов ЦР.

Исследование по отношению резистентности *S. Typhimurium* к хлорамфениколу показало, что среди изученных штаммов *S. Typhimurium* выделенных от больных ОКИ ЦР – 84,6% резистентных к хлорамфениколу, из ЮР – 85,0%, а из СР 100,0%, причем МИК₅₀ и МИК₉₀ составили 512 мкг/мл. Также с высокой частотой отмечена устойчивость к антибиотикам тетрациклинового ряда из ЦР – 97,4%, из ЮР – 94,0% и из СР 100%, МИК₅₀ и МИК₉₀ – 128 мкг/мл.

При тестировании *S. Typhimurium* выделенных от больных ОКИ значения МИК₅₀ и МИК₉₀ гентамицина составили 64 и 128 мкг/мл соответственно. Так, отмечено что 76,9% штаммов были резистентны к гентамицину в ЦР, в ЮР – в 82,0%, а в СР – в 81,3% случаев.

К ко-тримоксазолу резистентность варьировала от 87,5% до 64,1%. Так штаммы, выделенные в ЦР были резистентны – в 64,1% случаев, в ЮР – в 85,0%, а в СР – в 87,5%, МИК₅₀= и МИК₉₀=512 мкг/мл.

Таким образом, популяция штаммов *S. Typhimurium*, выделенных от больных ОКИ в трех регионах республики в 2012-2013 гг., характеризуется чрезвычайно высокой долей штаммов, устойчивых к АМП, в том числе к критически важным для медицины – β-лактамам (89,5%) и фторхинолонам (92,3%).

Среди тестированных штаммов сальмонелл преобладали фенотипы с множественной резистентностью к АМП: 89,0% штаммов характеризовались устойчивостью к 8 и более АМП, причем эти штаммы сочетали устойчивость к β-лактамам, обусловленную продукцией бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), с устойчивостью к препаратам других групп. У штаммов *S. Typhimurium* встречались 11 разновидностей фенотипов резистентности. Так, у штаммов *S. Typhimurium* выделенных из ЦР выявлено 10 разновидностей фенотипов резистентности, в ЮР выявлено только 3 фенотипа резистентности, а в СР выявлено 4 фенотипа резистентности. Наиболее часто встречался фенотип резистентности к ампициллину, амоксициллину/клавулановой кислоте, цефотаксиму, цефтазидиму, цефепиму, тетрациклину, хлорамфениколу, гентамицину, ко-тримоксазолу, налидиксовой кислоте (А/АС/СТХ/СА/СРМ/Т/С/ГМ/СО/НА), такие штаммы составили 54,2%.

При определении продукции БЛРС у штаммов *S. Typhimurium*, методом МКД, выявило наибольшее количество БЛРС продуцирующих штаммов в СР 90,6%, в ЦР их количество составило 71,7%, а в ЮР – 64,7%.

Таким образом, популяция штаммов *S. Typhimurium*, выделенных от больных ОКИ в Республике Узбекистан в 2012-2013 гг., характеризуется

чрезвычайно высокой долей штаммов, устойчивых к АМП, в том числе критически важным для медицины – β-лактамам (85,6%) и фторхинолонам (93,3%). Штаммы *S. Typhimurium* характеризуются множественной резистентностью к различным классам АМП. Около половины штаммов (54,2%) имеют одинаковый фенотип резистентности А/АС/СТХ/СА/СРМ/Т/С/ГМ/СО/НА, что может свидетельствовать о клональном распространении возбудителя. Количество БЛРС продуцирующих штаммов выявленных в республике варьирует от 64,7% до 90,6% в зависимости от региона выделения.

Далее, исследовали особенности циркуляции различных генов резистентности к β-лактамам антимикробным препаратам у *Salmonella typhimurium*.

По нашим данным, у всех исследованных штаммов *S. Typhimurium* выявлены гены β-лактамаз расширенного спектра действия генетического семейства СТХ-М – 93,3% (в ЦР – 92,3%, в ЮР – 88,2%, в СР – 100,0%), ТЕМ – 60,0% (в ЦР – 97,4%, в ЮР – 5,9%, в СР – 71,9%), SHV – 24,8% (в ЦР – 0%, в ЮР – 29,5%, в СР – 50,0%). Гены семейства ОХА-48, КРС, VIM, NDM, IMP в штаммах *S. Typhimurium* не обнаружены.

Определение генотипов резистентности штаммов *S. Typhimurium*, установлено, что 47,6% штаммов имеют по 4 гена резистентности различных сочетаний, из них наиболее часто встречается генотип – 74,4% *bla*_{СТХ-М1}, -СТХ-М2, -СТХ-М25, -ТЕМ (в ЦР – 69,2%, в СР – 31,3%), а в СР чаще встречался генотип *bla*_{СТХ-М1}, -СТХ-М2 – 32,3%. Также, в республике циркулируют штаммы *S. Typhimurium* с генотипами имеющими 3 гена – 21,9%, 2 гена – 16,2% и 1 ген – 5,7%. Наибольшую угрозу представляют штаммы *S. Typhimurium* с генотипами имеющими 5 генов резистентности *bla*_{СТХ-М1}, -СТХ-М2, -СТХ-М25, -ТЕМ, -SHV, которые составляют 6,7%.

В шестой главе диссертации «**Исследование наличия плазмид в штаммах *Salmonella typhimurium***» отражены результаты исследования наличие плазмид в штаммах *S. Typhimurium*. Для проведения данного исследования нами апробированы три метода выделения плазмид: метод Кадо и Лю, метод *insitu* и электрофореза в холодных условиях для анализа мелких и крупных плазмид. В методе Кадо и Лю исследуемых штаммах сальмонелл нами обнаружены крупные плазмиды с размерами в пределах 270,0 и 67,5 т.п.н. (тысяч пар нуклеотидов). В методе *insitu* выделяется плазида размером 67,5 т.п.н. Однако при этом методе сохраняется хромосомная ДНК наблюдаемая на электрофореграмме. Методом электрофореза в холодных условиях обнаружены по две крупные плазмиды размером 270,0 и 67,5 т.п.н. и по три мелких плазмиды с размером 9,4; 4,3 и 2,3 т.п.н., которые по литературным источникам соответствуют R-плазмидам. Данные методы являются трудоемкими и громоздкими, поэтому нами разработан метод выделения плазмид из штаммов *S. Typhimurium* (патент № IAP 05610). Данным методом выделяются плазмиды с высоким выходом, фрагменты которых визуально и ясно наблюдаются в агарозном

геле в проходящих лучах УФ-трансиллюминатора.

При анализе на наличие плазмид в штаммах *S. Typhimurium* трех регионов, 105 штаммов, плазмиды обнаружены в 25 штаммах (23,8%). Из общего числа двадцати пяти плазмидсодержащих штаммов, по одной плазмиде обнаружено в 25 (52,0%) штаммах, по две плазмиды в 10 (40,0%), по три плазмиды в 1 (4,0%) и семь плазмид в 1 (4,0%) штамме.

В отношении доминирующих плазмидной ДНК по молекулярной массе, среди 25 плазмидсодержащих штаммов доминируют плазмиды с молекулярной массой: 9,4 т.п.н. в 8 штаммах (32,0%); 6,6 т.п.н. в 8 штаммах (32,0%); 4,3 т.п.н. в 8 штаммах (32,0%) и с молекулярной массой 3,2 т.п.н. в 8 штаммах (32,0%).

В отношении, молекулярной массы по электрофоретической подвижности, из общего числа 44-х плазмид выявлены их различия по молекулярной массе: 9,4 т.п.н. в 8 штаммах (18,8%); 6,6 т.п.н. в 8 штаммах (18,8%); 4,3 т.п.н. в 8 штаммах (18,8%); 3,2 т.п.н. в 8 штаммах (18,8%); 49,0 т.п.н. в 2 штаммах (4,54%); 18,5 т.п.н. в 1 штамме (2,27,0%); 13,8 т.п.н. в 1 штамме (2,27%); 3,2 т.п.н. в 3 штаммах (6,81%); 2,3 т.п.н. в 2 штаммах (4,54,0%); в 8,0 т.п.н. 1 штамме (2,27%) и с молекулярной массой 6,0 т.п.н. в 1 штамме (2,27%).

Таким образом, в исследованных штаммах *S. Typhimurium* плазмиды обнаружены в 23,8% (в ЦР – 30,7%, в СР – 15,6%, в ЮР – 23,5%): одна плаزمида – в 52,0% (в ЦР – 41,6%, в СР – 80,0%, в ЮР – 50,0%), две плазмиды – в 40,0% (в ЦР – 41,6%, в СР – 20,0%, в ЮР – 50,0%), три плазмиды – в 14,0% (в ЦР – 8,3%) и семь плазмид в 14,0% (в ЦР – 8,3%) штамме. Доминируют плазмиды с молекулярной массой: В ЦР - 9,4 т.п.н. (50,0%) и 6,6 т.п.н. (58,3%); в СР - 4,3 т.п.н. (40,0%); в ЮР- 3,8 т.п.н. (75,0%).

Седьмой глава диссертации «**Анализ на наличие генов β-лактамаз СТХ-М, TEM и SHV в плазмидах *Salmonella typhimurium* методом ПЦР**» посвящена анализу на наличие генов резистентности СТХ-М, TEM и SHV β-лактамаз в препаратах интактных плазмид выделенных из двадцати пяти плазмидсодержащих штаммов *S. Typhimurium*.

Из 25-ти плазмидсодержащих штаммов, плазмиды размером 9,4 т.п.н. обнаружены у 8-ми штаммов (32,0%) соответственно и у всех этих штаммов обнаружена детекция гена СТХ-М в 100,0%. На основании этих результатов можно отметить, что ген СТХ-М находится в составе плазмиды размером 9,4 т.п.н.

В отношении анализа экспрессии гена TEM в плазмидах 6 плазмидсодержащих штаммов в сравнении с размерами их плазмидного профиля, выявили два штамма содержащие по одной плазмиде размером 4,3 т.п.н.. Плазмиды размером 4,3 т.п.н. также присутствует и в остальных 4-х плазмидсодержащих штаммах содержание плазмиды с высокой или низкой молекулярной массы. В остальных 15-ти плазмидсодержащих штаммах плазмиды размером 4,3 т.п.н. не обнаружена. На основании этих результатов можно отметить, что ген TEM находится в составе плазмиды размером 4,3

т.п.н.. Однако, эта плаزمида размером 4,3 т.п.н. находится в других 4-х плазмидсодержащих штаммах, в которых не обнаружена экспрессия гена TEM, которая возможна экспрессируется на хромосоме этих штаммов.

Таким образом, на основании вышеизложенного можно заключить, что экспрессия генов в сравнении с молекулярной массой плазмидного профиля, гены СТХ-М и TEM экспрессируются плазмидами с молекулярной массой 9,4 и 4,3 т.п.н., соответственно. В отношении гена SHV, экспрессия этого гена не обнаружена в исследуемых плазмидах двадцатипяти плазмидсодержащих штаммах во всех трех регионов.

На основании анализа спектра чувствительности *S. Typhimurium* предлагается внедрения ПЦР метода для определения генотипов резистентности, как дополнительный метод к бактериологическому исследованию, так как социально-экономическая эффективность ПЦР метода при детекции БЛРС заключается в раннем исключении (не назначении) β -лактамов антибактериальных препаратов и назначении антибиотиков резерва (фторхинолонов).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенных исследований по докторской диссертации на тему: «Фенотипические и генотипические характеристики возбудителей бактериальных кишечных инфекций и их роль в формировании лекарственной устойчивости» представлены следующие выводы:

1. Этиологические агенты ОДЗ при использовании бактериологического метода установлены в 39,5% (*Salmonella spp.* – 9,2%, *Shigella spp.* – 6,6%, патогенные *E. coli* – 19,7%, УПМ – 63,8%), при этом моноинфекции составили 31,9%, ассоциации – 7,9%.

2. Этиологические агенты ОДЗ при использовании ПЦР метода (две тест системы) установлены в 72,8% (*Salmonella spp.* – 9,3%, *Shigella spp.* – 7,5%, патогенные *E. coli* – 52,6%, *Campylobacter spp.* – 2,8%, вирусы – 27,8%), при этом моноинфекции – 36,3%, ассоциации – 36,5%.

3. Популяция *S. Typhimurium*, выделенных от больных ОКИ в Республике Узбекистан, характеризуется чрезвычайно высокой долей штаммов, устойчивых к АМП, в том числе к критически важным для медицины – β -лактамам (89,5%) и фторхинолонам (92,3%), с преобладанием фенотипа резистентности А/АС/СТХ/СА/СРМ/Т/С/ГМ/СО/НА в 54,2% случаев, что может свидетельствовать о клональном распространении возбудителя и различным выявлением фенотипов резистентности их в зависимости от региона исследования: в ЦР – 10 фенотипов (88,2%), в ЮР – 3 фенотипа (85,0%), в СР – 4 фенотипа (75,0%).

4. У всех исследованных штаммов *S. Typhimurium* выявлены гены БЛРС: генетического семейства СТХ-М – 93,3% (в ЦР – 92,3%, в ЮР – 88,2%, в СР – 100,0%), TEM – 60,0% (в ЦР – 97,4%, в ЮР – 5,9%, в СР –

71,9%), SHV – 24,8% (в ЦР – 0%, в ЮР – 29,5%, в СР – 50,0%). Гены семейства OXA-48, KPC, VIM, NDM, IMP не обнаружены.

5. Выявлена 21 разновидность генотипов резистентности штаммов *S. Typhimurium*: наиболее часто встречался генотип *bla*_{СТХ-М1}, -СТХ-М2, -СТХ-М25, -ТЕМ – 74,4% (в ЦР – 69,2%, в СР – 31,3%), а в СР чаще встречался генотип *bla*_{СТХ-М1}, -СТХ-М2 – 32,3%.

6. Установлено, что 23,8% штаммов *S. Typhimurium* были плазмидосодержащими (в ЦР – 30,7%, в СР – 15,6%, в ЮР – 23,5%): одна плаزمид – в 52,0% (в ЦР – 41,6%, в СР – 80,0%, в ЮР – 50,0%), две плазмиды – в 40,0% (в ЦР – 41,6%, в СР – 20,0%, в ЮР – 50,0%), три плазмиды – в 14,0% (в ЦР – 8,3%) и семь плазмид в 14,0% (в ЦР – 8,3%) штамме. Доминируют плазмиды с молекулярной массой: в ЦР – 9,4 т.п.н. (50,0%) и 6,6 т.п.н. (58,3%); в СР – 4,3 т.п.н. (40,0%); в ЮР – 3,8 т.п.н. (75,0%).

7. Ген СТХ-М выявлен в плазмидах в 32,0% случаев (в ЦР – 50,0%, в СР – 20,0%, в ЮР – 12,5%), ген ТЕМ в 24,0% (в ЦР – 25,0%, в СР – 40,0%, в ЮР – 12,5%), экспрессия гена SHV в исследуемых плазмидах плазмидосодержащих штаммов не обнаружено. Установлены, что гены СТХ-М и ТЕМ экспрессируются плазмидами с молекулярной массой 9,4 и 4,3 т.п.н.

**ONE-TIME SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING THE SCIENTIFIC
DEGREES DSc.27.06.2017.Tib.30.01 AT THE
TASHKENTMEDICAL ACADEMY**

**RESEAR CHINSTITUTE OF EPIDEMIOLOGY, MICROBIOLOGY AND
INFECTIOUS DISEASES**

ABDUKHALILOVA GULNORA KUDRATULLAEVNA

**PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERISTICS OF
PATHOGENS OF BACTERIAL INTESTINAL INFECTIONS AND THEIR
ROLE IN THE FORMATION OF DRUG RESISTANCE**

03.00.04 – Microbiology and virology

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR OF SCIENCES (DSc)
ON MEDICAL SCIENCES**

TASHKENT - 2018

The subject of doctoral dissertation (DSc) was registered at the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under number B2017.DSc/Tib68

The dissertation has been prepared at the Research Institute of Epidemiology, Microbiology and Infectious Diseases.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian and English (abstract)) languages on the website of Scientific Council (ww.tma.uz) and Informational and educational portal of «ZiyoNet» www.ziynet.uz.

Scientific consultants: **Akhmedova Mubarakhon Djalilovna**
Doctor of Medical Sciences, Professor

Official opponents: **Nuraliev Nikkadam Abdullaevich**
Doctor of Medical Sciences, Professor

Nuruzova Zuhra Abdikadirovna
Doctor of Medical Sciences, Professor

Kadirova Dilbar Abdullaevna
Doctor of Biological Sciences, Professor

Lead organization: **Federal State Budget Agency «Children's Research – clinical Centre of Infectious Diseases of the federal medical-biological agency» (Russian Federation)**

The defence will take place on «____» _____ 2018 at _____ at the meeting of Scientific Council No. DSc.27.06.2017.Tib.30.01 at the Tashkent Medical Academy (Address: 100109, Tashkent city, Farobi str., 2. Phone/fax: (+99871) 150-78-25, email: tta2005@mail.ru)

The dissertation can be reviewed at the Information Resource Center of the Tashkent Medical Academy (is registered under No. _____). (Address: 100109, Tashkent city, Farobi str., 2. Phone/fax: (+99871) 150-78-25)

Abstract of dissertation sent out on «____» _____ 2018 y.
(mailing report No.: _____ on «____» _____ 2018 y.)

L.N. Tychiev

Chairman of the one-time Scientific council
awarding scientific degrees, Doctor of Sciences,
professor

N.U. Tadjieva

Secretary of the one time Scientific council
awarding scientific degrees, Doctor of Sciences

B. M. Tadjiev

Chairman of the one-time academic seminar
under the one-time Scientific council awarding
scientific degrees, Doctor of Sciences

INTRODUCTION (abstract of DSc thesis)

The purpose of the research: is to study the phenotypic and genotypic characteristics of pathogens of bacterial intestinal infections and their role in the formation of drug resistance.

The object of the research work: patients with Acute Intestinal Infection (AII) at the age of 2 months up to 72 years from three regions of the Republic of Uzbekistan (Tashkent, Khorezm region, Kashkadarya region) (n = 200), strains of *S. Typhimurium* (n = 105).

Scientific novelty of the study:

in the etiological structure of patients with acute diarrhea, depending on regional epidemiological aspects, the variety of *Salmonella* spp., *Shigella* spp., pathogenic *E. coli*, *Campylobacter* spp., viruses, and opportunistic microorganisms have been shown;

antimicrobial resistance of *S. Typhimurium* strains isolated from patients with AII from certain regions has been proven;

the prediction of probable mutations and the monitoring of resistance of the causative agents of acute intestinal infections based on the phenotypic and genotypic aspects of the resistance of *S. Typhimurium* have been justified;

the method of polymerase chain reaction with electrophoretic detection has been improved to identify genes for resistance to β -lactam antibiotics;

a method for the isolation of plasmids involved in the transmission of microbial resistance to microorganisms by the example of *S. Typhimurium* has been developed.

Implementation of the research results:

Based on the obtained scientific results on the phenotypic and genotypic characteristics of pathogens of bacterial intestinal infections and their role in the formation of drug resistance:

a patent for an invention in the Intellectual Property Agency of the Republic of Uzbekistan «A method for detecting plasmids *S. Typhimurium*» (IAP 05610, 05.31.2018) was obtained. The introduction of this patent into clinical practice will improve the quality of determining the clonality of *S. Typhimurium* and conduct an epidemiological investigation during the outbreak.

methodical recommendations were developed: «III-IV gurukh bakteriyalari va viruslari bilan ishlash, ularni hissobga olish, saklash, tashish va boshka tashiklotga berish buichich yuriknom» (instruction of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan No. 012-3 / 0195 dated January 07, 2011)

«Methodical basics of preserving collection strains of microorganisms of group III-IV» (Ministry of Health Report No. 8m / 153 of September 22, 2010). These guidelines have been implemented in practical health care, including the practice of bacteriological laboratories of the Republic of Uzbekistan;

methodological recommendations «Comparative Technical and Economic Characteristics of Bacteriological and PCR Methods in Diagnosing Acute Diarrheal Diseases» (conclusion of the Ministry of Health of the Republic of

Uzbekistan No. 8n-p / 59 dated March 17, 2018) were developed and introduced into the practice of health care. These guidelines serve as early diagnosis of AII pathogens and the correct choice of diagnostic method for this disease;

methodical recommendations «Comparative aspects of detection of antibiotic-resistant strains by phenotypic and PCR methods» were developed and introduced into practice (conclusion of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan No. 8n-p / 60 dated March 17, 2017). This technique will allow the determination of broad-spectrum beta-lactamase (BSBL) by PCR and it is application for reasonable choose of an antibacterial drug for the management of bacterial diarrhea from the first day of hospitalization of patients with ADD;

The structure and volume of the dissertation. The thesis consists of an introduction, seven chapters, resume, conclusions and practical recommendations, a list of references. The volume of text material is 191 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть, I part)

1. Абдухалилова Г. К., Нечмирева Т. С., Ибадова Г. А., Ахмедова М. Д. Чувствительность к антибиотикам сальмонелл и шигелл выделенных от больных с острыми диареями // Инфекция, иммунитет и фармакология. - Ташкент, 2006.- №2.- С.10-13. (14.00.00; №15).

2. Абдухалилова Г. К. Этиологическая структура острых диарей в Сурхандарьинской области // Инфекция, иммунитет и фармакология. – Ташкент, 2010. -№ 1-2. С.13-15. (14.00.00; №15).

3. Абдухалилова Г.К., Нечмирева Т.С., Ибадова Г.А., Ахмедова М.Д. Этиологическая структура острых диарей по Хорезмской области // Инфекция, иммунитет и фармакология. – Ташкент, 2010. -№ 1-2. - С.16-18. (14.00.00; №15).

4. Ибадова Г.А., Абдухалилова Г.К., Мадияров Р.С. Кампилобактериоз: микробиология, эпидемиология и лабораторная диагностика (краткий обзор // Инфекция, иммунитет и фармакология. – Ташкент, 2013. Спец.выпуск.- С. 58-63. (14.00.00; №15).

5. Абдухалилова Г. К., Умарова А. А., Бектимиров А. М-Т., Ахмедова М. Д., Ибадова Г. А., Ахмедов И. Ф., Эралиев У. Э. Этиологическая структура острых кишечных инфекций, определенная бактериологическим и молекулярно-генетическим методами // Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2013. - №3.- С. 73-76. (14.00.00; №8).

6. Абдухалилова Г. К., Ахмедова М. Д., Ибадова Г. А. Сравнительный анализ этиологической структуры острых диарей в различных регионах Узбекистана // Инфекция, иммунитет и фармакология. –Ташкент, 2014. -№3. - том 1.- С. 14-18. (14.00.00; №15).

7. Абдухалилова Г. К., Ахмедова М. Д., Бектимиров А. М-Т. Выявление энтеропатогенов методом ПМХ в фекалиях больных острыми кишечными инфекциями в г.Ташкенте. // Инфекция, иммунитет и фармакология. Ташкент, №4/2015. С. 11-15. (14.00.00; №15).

8. Абдухалилова Г. К., Ахмедова М. Д., Бектимиров А. М-Т., Ахмедов И. Ф. Энтеропатогены выделенные у больных с острыми кишечными инфекциями в Хорезмской области // Журнал теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2015. -№5.- С .113-118. (14.00.00; №3).

9. Абдухалилова Г. К., Бектимиров А. М-Т., Ахмедова М. Д. Роль полимеразной цепной реакции в диагностике энтеропатогенов у больных с острыми кишечными инфекциями // Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2015.- №5. -С. 32-35. (14.00.00; №8).

10. Абдухалилова Г. К., Ибрагимов А. А., Ахмедова Х. Ю., Гулямов Н. Г., Ахмедов И. Ф. Анализ на наличие плазмидной ДНК в местных штаммах бактерии *Salmonella Typhimurium* // Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2010. -№2. -С. 56-58. (14.00.00; №8).

11. Абдухалилова Г. К., Ибрагимов А. А., Ахмедов И. Ф., Назаров Э. У. Резистентность к антимикробным препаратам у *Salmonella Typhimurium*, выделенных от больных с острыми кишечными инфекциями, в Кашкадарьинской области // Журнал теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2016.- №2.- С.37-42. (14.00.00; №3).

12. Абдухалилова Г. К., Тухтамуродов Х. Д., Ибрагимов А. А., Ахмедов И. Ф., Гулямов Н. Г. Резистентность к антимикробным препаратам *Salmonella typhimurium* выделенных от больных острыми кишечными инфекциями в Хорезмской области // Инфекция, иммунитет, фармакология. – Ташкент, 2016. -№1.-С.30-38. (14.00.00; №15).

13. Abdukhalilova G., Tuhtamuradov H., Ibragimov A., Akhmedov I., Gulyamov N. Phenotypic and genotypic resistance to antimicrobial performance in stains of *Salmonella typhimurium* // European science review. - Austria, Vienna, 2016. -№9-10, - P. 49-51. (14.00.00; №19).

14. Абдухалилова Г. К., Ибрагимов А. А. Новый способ выделения плазмидной ДНК из штаммов *Salmonella typhimurium* // Инфекция, иммунитет, фармакология. – Ташкент, 2017. - Спец.выпуск- часть 2.- С.17-27. (14.00.00; №15).

15. Бектимиров А. М-Т., Абдухалилова Г. К., Ахмедов И. Ф. Чувствительность к антибиотикам штаммов *E.coli* из микрофлоры биоптатов организма - как индикатор развития антибиотикорезистентности в популяции // Инфекция, иммунитет, фармакология. - Ташкент, 2017. - Спец. выпуск. - Часть 2. - С.33-38. (14.00.00; №15).

II бўлим (II часть, II part)

16. Бектимиров А. М-Т., Нечмирева Т. С., Абдухалилова Г. К., Мадияров Р. С. Методические основы сохранения коллекционных штаммов микроорганизмов III-IV группы (Методические рекомендации). Ташкент, 2018. 24 с.

17. Абдухалилова Г.К., Бектимиров А.М.-Т., Ахмедова М.Д. Сравнительная технико-экономическая характеристика бактериологического и ПЦР методов в диагностике острых диарейных заболеваний (Методические рекомендации). -Ташкент, 2018. – С. 18

18. Абдухалилова Г. К., Бектимиров А. М.-Т., Ахмедова М.Д. Сравнительные аспекты выявления антибиотикорезистентных штаммов фенотипическим и ПЦР методом (Методические рекомендации). Ташкент, 2018. 18 с.

19. Мадаминов М. М., Маматкулов И. Х., Ахмедова М. Д., Бабаходжаев С. Н., Абдухалилова Г. К., Бектимиров А. М.-Т., Ибадуллаева Н., Пахомова В. А., Ильина А. П. III-IV гурух бактериялари ва вируслари билан ишлаш, уларни хисобга олиш, саклаш, ташиш ва бошқа ташкилотгаа бериш бўйича йўриқнома. Ташкент, 2011. 26 с.

20. Абдухалилова Г. К., Ибрагимов А. А., Гулямов Н. Г., Ахмедова Х. Ю. Способ выделения плазмид *Salmonella Typhimurium*. Патент IAP 05610 // Бюллетень. – Ташкент, 29.06.2018. №6.

21. Абдухалилова Г. К., Ахмедова М. Д., Бектимиров А. М.-Т., Ахмедов И. Ф. Энтеропатогены выделенные у больных с острыми кишечными инфекциями в Кашкадарьинской области. Новый день в медицине №3(11), 2015. – С. 15-19.

22. Абдухалилова Г.К., Кафтырева Л., Вагенар Я.А., Тангиарыков Б., Бектимиров А. М.-Т., Ахмедов И.Ф., Ходжаев З., Круз Х. Случаи сальмонеллеза и кампилобактерной инфекции у людей и бройлерных ку, и устойчивость бактерий *Salmonella* и *Campylobacter* к противомикробным препаратам в Узбекистане // Журнал европейского регионального ВОЗ «Панорама общественного здравоохранения» Том 2, выпуск 3, Евро ВОЗ 2016. – С. 348-367.

23. Madiyarov R. S., Bektimirov A. M., Ibadova G. A., Abdukhalilova G. K., Khodiev A.V., Ladaporn Bodhidatta, Orntipa Sethabutr, C/J.Mason. Antimicrobial resistance patterns and prevalence of class 1 and 2 integrons in *Shigella flexneri* and *Shigella sonnei* isolated in Uzbekistan. Gut Pathogens Journal 2:18/ London 2010/ P.1-6

24. Ибадова Г. А., Нечмирева Т. С., Абдухалилова Г. К., Саутова Г. А., Абдумуталова Э.С. Этиологическая структура острых диарей у детей в различных экологических зонах республики Узбекистан // Международная конференция «Окружающая среда и Здоровье Детей в Средней Азии» СЕНСА - Казахстан, 2005. – С. 93.

25. Абдухалилова Г. К., Ибадова Г. А., Нечмирева Т. С. Этиологическая структура кишечных инфекций по регионам Республики Узбекистан //

Научно-практический журнал «Вестник Врача».- Самарканд,2007. №2,- С. 17 – 18.

26. Абдухалилова Г.К., Ибадова Г.А., Мадияров Р.С., Ходиев А.В. Оценка антимикробной активности кишечного антисептика – Рифаксимина // Научно-практический журнал «Вестник Врача», №2, Самарканд, 2007. – С. 4.

27. Мадияров Р. С., Абдухалилова Г. К., Бектемиров А. М.-Т. Современное состояние антибиотикорезистентности *S. flexneri* и *S. sonnei* в Республике Узбекистан // Международный Евро-Азиатский конгресс по инфекционным болезням «Актуальные вопросы инфекционной патологии» Том-I. Витебск, 2008. – С.23.

28. Мухтарова С. М., Нечмирева Т. С., Абдухалилова Г. К. Анализ заболеваемости острыми кишечными инфекциями среди детей дошкольного возраста по Республике Узбекистан // 5 Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний» - Ташкент, 2009. – С.26.

29. Абдухалилова Г. К., Бектимиров А. М-Т., Мухаммедов И. Б. Ассоциации условно-патогенных микроорганизмов и их значение в этиологии пищевых токсикоинфекций // IX Республиканский съезд эпидемиологов, гигиенистов, санитарных врачей и инфекционистов Узбекистана // Ташкент, 2010. – С. 38-39.

30. Абдухалилова Г. К.. Фенотипы резистентности к антибактериальным препаратам сальмонелл и шигелл выделенных из различных регионов Республики Узбекистан // Научно-практическая конференция с международным участием «Инфекции в практике клинициста. Антибактериальная и противовирусная иммунотерапия и иммунопрофилактика в условиях поликлиники и стационаров» Харьков, 2010. – С. 29-31.

31. Абдухалилова Г. К., Ибрагимов А. А., Ахмедов И. Ф. Анализ полиморфизма R-плазмид бактерий *Salmonella* spp.с различной лекарственной устойчивостью // Научно-практическая конференция молодых ученых «Современные проблемы инфекционных и паразитарных заболеваний», - Ташкент, 2012. – С. 9.

32. Абдухалилова Г. К. Распространенность интегронов 1 и 2 классов и чувствительность к антибиотикам у *Shigella* spp., выделенных в Республике Узбекистан // Научно практический журнал «Инфекционные болезни» Том 10, приложение №1. Материалы IV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. Москва, 2012. – С. 3.

33. Абдухалилова Г. К., Ибрагимов А. А., Ахмедов И. Ф., Ахмедова М. Д. Выявление гена СТХ-М у БЛРС-продуцирующих штаммов *Salmonella*

typhimurium. Научно-практическая конференция «Новое в эпидемиологии, диагностике и лечении инфекционных заболеваний» Ташкент, 2013. – С.12.

34. Абдухалилова Г. К., Ибрагимов А. А., Ахмедов И. Ф.. Идентификация клинических штаммов бактерий *Salmonella typhimurium* бна состав системы плазмид обуславливающих множественную лекарственную устойчивость. Научно-практическая конференция «Инфекционные болезни детского возраста» Ташкент, 2013. – С. 11.

35. Мадияров Р. С., Ходиев А. В., Ибадова Г. А., Абдухалилова Г. К. Молекулярно-генетические факторы резистентности шигелл // Научно-практическая конференция «Инфекционные болезни детского возраста» ТаШИУВ. Ташкент, 2013. – С.73.

36. Ибрагимов А. А., Абдухалилова Г. К., Ахмедов И. Ф. Изучение плазмидных характеристик в местных штаммах *Salmonella Typhimurium* // Республиканская научно-практическая конференция «Профилактическая медицина: вчера, сегодня, завтра» Андижан, 2015. –С. 825-826.

37. Тохтамурадов Х. Д., Абдухалилова Г. К., Каримова М. Т., Хайдарова Н. Антибиотикочувствительность *Salmonella Typhimurium* выделенных от больных острыми кишечными инфекциями в зависимости от тяжести заболевания // Республиканская научно-практическая конференция «Профилактическая медицина: вчера, сегодня, завтра» Андижан -2015. – С. 299-300.

38. Абдухалилова Г. К., Бектимиров А. М-Т., Ахмедов И. Ф., Холматова К. Ш. Энтеропатогены, выделенные у больных с острыми кишечными инфекциями в Кашкадарьинской области в зависимости от возраста // II съезд инфекционистов Узбекистана «Приоритетные направление диагностики, лечения т профилактики инфекционных заболеваний». Ташкент, 2015. – С. 5-6.

39. Абдухалилова Г.К., Бектимиров А.М-Т., Ахмедов И.Ф., Ахмедова Х.Ю. Энтеропатогены, выделенные у больных с острыми кишечными инфекциями в Кашкадарьинской области в зависимости от сезонов года // II съезд инфекционистов Узбекистана «Приоритетные направление диагностики, лечения т профилактики инфекционных заболеваний», Ташкент, 2015. – С. 6-7.

40. Абдухалилова Г.К., Тухтамурадов Х.Д., Ахмедова М.Д. Гены резистентности, кодирующие продукцию бета-лактамаз у *Salmonella Typhimurium*. Журнал Инфектологии Приложение Том 8, №2/2016 Санкт-Петербург. - С. 5.

41. Бектимиров А. М-Т., Абдухалилова Г. К., Ахмедов И. Ф., Садыкова Н. М., Бектимирова А. А. Дисбактериоз кишечника у больных с синдромом диареи, стр. 36 // Материалы Республиканской научно-практической

конференции «Современная инфектология: новые подходы к лечению кишечных, вирусных и паразитарных болезней» Ургенч, 2016. - С.36.

42. Абдухалилова Г. К., Ахмедова Д. Р., Улимбекова З. П. Показатели чувствительности штаммов St.Pneumonia и S. Augus, Выделенных из крови больных 1-й инфекционной больницы г.Ташкента за 2015-2016 гг // Научно-практической конференции: «Инфекция и лекарственная резистентность», Ташкент 2017г. – С.12-13.

43. Ахмедов И. Ф., Абдухалилова Г. К., Бектимиров А-М.Т., Назаров Э. У., Расулмухамедова М.Н. Определение антибиотикорезистентности штаммов микроорганизмов выделенных из крови лихорадящих больных // Материалы научно-практической конференции: «Инфекция и лекарственная резистентность», Ташкент 2017 г. – С.48.

44. Ibadova G.A., Musabaev E., Juraev R., Khodiev A.V., Abduhalilova G.K., Madiyarov R.S., Merkuschkina T.A., Mason C., Bodhidatta L. Epidemiological and genetic aspects of rotavirus gastroenteritis in Uzbekistan //15th ICID Bangkok, Thailand. June 13-16, 2012 - P1

45. Tuychiev L., Abduhalilova G, Ibragimov A., Akhmedov I. Analysis of the plasmid profile in Salmonella Typhimurium strains isolate in the Republic of Uzbekistan // International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance. Vienna, Austria, February 2013 – P21.016

46. Tuychiev L., Bektemirov A.M., Abduhalilova G. Antibiotic Susceptibility of Salmonellosis Pathogens. ISDS Conference December 2013 – P167-168

47. Ibadova G.A., Madiyarov R.S., Khodiev A.V., Abduhalilova G.K., Merkuschkina T.A. Prevalence of 1 and 2 Class Integrons in Shigella Isolated in Uzbekistan // The 2-nd International Global Health Forum. Bangkok, Thailand 2014 – P52

Автореферат “Ўзбекистон тиббиёт журнали” таҳририятида таҳрирдан ўтказилди ҳамда ўзбек, рус ва инглиз тилларидаги матнларини мослиги текширилди. (9.11.2018)

Бичими: 84x60 ¹/₁₆. «Times New Roman» гарнитура рақамли босма усулида босилди.
Шартли босма табоғи: 3,75. Адади 100. Буюртма №25.

«Тошкент кимё-технология институти» босмахонасида чоп этилди.
100011, Тошкент, Навоий кўчаси, 32-уй.