

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.046.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 10 сентября 2020 г. № 2.

О присуждении Кулько Александру Борисовичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Бронхолегочные микозы у больных туберкулезом: состав и свойства возбудителей, лабораторная диагностика» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 26.12.2019, протокол № 6 диссертационным советом Д 208.046.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714 / нк «О советах по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 г., приказ № 1577 / нк от 16.12.2016 част. изм.

Соискатель Кулько Александр Борисович, 1968 года рождения. В 1996 году окончил Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова по специальности «Почвоведение и агрохимия» специализации «Биология почв». С 1996 по 1999 год проходил обучение в аспирантуре в Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова и защитил кандидатскую диссертацию в диссертационном совете К.053.05.86 при Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова по специальности 03.00.07 – микробиология (диплом кандидата наук КТ № 025049) в 2000 году.

В период подготовки диссертации соискатель Кулько Александр Борисович и по настоящее время работает в государственном бюджетном учреждении здравоохранения города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы» в отделе проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии в должности ведущего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в государственном бюджетном учреждении здравоохранения города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы».

Научные консультанты: Митрохин Сергей Дмитриевич – доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 67 им. Л.А. Ворохобова Департамента здравоохранения города Москвы», отдел клинической фармакологии с центром клинических исследований, заведующий отделом; Сафонова Светлана Григорьевна – доктор биологических наук (03.00.07 – микробиология), Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы

с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», отдел проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, заведующий отделом.

Официальные оппоненты: Сергеев Алексей Юрьевич – доктор медицинских наук (14.01.10 – кожные и венерические болезни), профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра клинической иммунологии и аллергологии, профессор кафедры; Мавзютов Айрат Радикович – доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии, заведующий кафедрой; Арзуманян Вера Георгиевна – доктор биологических наук (03.00.07 – микробиология), профессор, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», лаборатория физиологии грибов и бактерий, заведующий лабораторией – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Тверь) в своем положительном заключении, подписанным д.м.н., профессором Червинцом Вячеславом Михайловичем, заведующим кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии, указала, что диссертация является законченным научным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований, решена актуальная научная проблема по выявлению состава и важнейших свойств возбудителей оппортунистических бронхолегочных и диссеминированных микозов у больных туберкулезом и по разработке диагностического комплекса необходимых лабораторных методик для исследования проблематики вторичных пневмомикозов во фтизиатрической клинике, имеющей большое научно-практическое значение для микробиологии.

Соискатель имеет 73 работы, опубликованные по теме диссертации, из них 20 статей опубликованы в рецензируемых изданиях, 11 – в других изданиях, 11 тезисов в рецензируемых изданиях, 23 – в других изданиях, 2 работы в сборниках научных трудов, 2 раздела в коллективных монографиях, 1 – авторская монография, аннотированная в рецензируемом издании, 3 – методические рекомендации. Общий объем научных публикаций по теме диссертации составляет 525 страниц и авторским вкладом – 415 страниц. Наиболее значимые работы:

1). Кулько, А.Б. Методические подходы к проведению микологических исследований во фтизиатрической практике / А.Б. Кулько, И.Р. Дорожкова, Е.Л. Исаева, Д.Е. Кузьмин // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 6. – С. 56-59; 2). Кулько, А.Б. Атлас условно-патогенных грибов рода *Aspergillus* – возбудителей бронхолегочных инфекций / А.Б. Кулько – М.: МНПЦБТ: Изд-во Типография «Новости», 2012. – 160 с.; 3). Кулько, А.Б. Активность *in vitro* анидулафунгина в отношении дрожжевых грибов – возбудителей системных и диссеминированных микозов / А.Б. Кулько // Онкогематология. – 2015. – Т. 10, № 3. – С. 51-55;

4). Кулько, А.Б. Изучение чувствительности к противогрибковым препаратам грибов рода *Aspergillus* – возбудителей бронхолегочных инфекций у больных туберкулезом / А.Б. Кулько // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95, № 7. – С. 54-60; 5). Кулько, А.Б. Характеристика лекарственной чувствительности клинических штаммов 14 видов грибов рода *Candida*, выделенных от больных туберкулезом при диагностике бронхолегочных и диссеминированных микозов / А.Б. Кулько, С.Г. Сафонова // Туберкулез и социально значимые заболевания. – 2018. – № 4. – С. 28-34; 6). Кулько, А.Б. Характеристика лекарственной чувствительности клинических штаммов грибов – возбудителей криптококкоза и редких дрожжевых инфекций, выделенных во фтизиатрической клинике / А.Б. Кулько, С.Г. Сафонова // Туберкулез и социально значимые заболевания. – 2019. – № 1. – С. 32-36.

На диссертацию и автореферат поступило 6 положительных отзывов без замечаний от:

1) д.м.н., профессора Клясовой Г.А., заведующего лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (г. Москва); 2) д.м.н., профессора Калуцкого П.В., проректора по образовательной деятельности и общим вопросам, заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Курск); 3) д.м.н., доцента Алиевой А.И., декана медико-профилактического факультета ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Махачкала); 4) д.м.н., профессора Алиевой Е.В., профессора кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Ставрополь), 5) д.б.н., профессора Михайловой Е.А., заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Оренбург), 6) д.м.н., профессора Липницкого А.В., главного научного сотрудника лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (г. Волгоград). В отзывах отмечено, что в ходе исследования получены данные о составе возбудителей пневмомикозов и диссеминированных микозов у больных туберкулезом, установлены ключевые характеристики и свойства выявленных возбудителей глубоких микозов, включая уровни чувствительности к современным антимикотикам, разработаны алгоритмы комплексной лабораторной диагностики пневмомикозов у больных туберкулезом органов дыхания.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в вопросах изучения оппортунистических инфекций человека.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана научная концепция стандартизации этапов комплексной лабораторной диагностики оппортунистических пневмомикозов различной этиологии у больных туберкулезом, включающая вариативную схему лабораторного обследования пациентов, эффективные клинически значимые методики выявления возбудителя в биоматериале, стандартизованные методики исследования свойств возбудителя, унифицированные критерии интерпретации результатов. Предложен расширенный протокол микологического исследования респираторного и хирургического материалов на пневмомикоз,

который включает прямое микроскопическое исследование окрашенных с помощью рутинных методик и нативных мазков проб материалов, культивирование проб на специальных питательных средах при подобранных оптимальных режимах инкубации, идентификацию штаммов грибов до уровня вида по апробированным стандартным методикам, тестирование чувствительности к антимикотикам дрожжевых грибов и мицелиальных грибов рода *Aspergillus* по методу микроразведений с определением МПК. Доказано, что вызывать развитие пневмомикоза, а также колонизировать нижние отделы дыхательных путей у больных туберкулезом способен широкий круг условно-патогенных грибов, различающихся по таксономической принадлежности, морфологическим свойствам и уровням исходной чувствительности к антимикотикам. Введены критерии интерпретации и дифференциации значимых результатов лабораторных исследований пневмомикоза у больных туберкулезом.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказано разделение 67 видов грибов-оппортунистов из отделов *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Zygomycota* на три группы по способности к росту в лабораторных условиях при 37°C (термотолерантные виды – 37, виды с вариативным ростом клинических штаммов – 23, виды с отсутствием роста штаммов – 7 видов), что расширяет представления о термотолерантности как факторе вирулентности видов и групп возбудителей оппортунистических глубоких микозов. Применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс методов проведения прямого микроскопического исследования диагностического материала на пневмомикоз, позволивший выявлять характер элементов грибов в мазках респираторного и хирургического биоматериалов и проводить обоснованную корреляцию данных микроскопии с результатами посевов при инфекциях, вызванных возбудителями аспергиллеза, кандидоза, дрожжеподобными грибами с артроспорами, темноокрашенными грибами из группы «черных дрожжей». Изложены достоверные данные о важнейших свойствах и признаках клинических штаммов 67 условно-патогенных видов грибов, наличии у ряда видов плеоморфизма, что позволяет сформировать представления о границах вариативности диагностических признаков клинических штаммов основных и редких возбудителей пневмомикозов и сходстве с описаниями типовых штаммов, приведенных в атласах-определителях. Раскрыты уровни чувствительности к антимикотикам у основных и редких возбудителей аспергиллеза, кандидоза, криптококкоза и редких возбудителей дрожжевых микозов, что позволило оценить спектр активности современных системных лекарственных препаратов и групп антимикотиков и сопоставить уровни чувствительности возбудителей пневмомикозов с их таксономической принадлежностью. Изучены возможности сравнительного молекулярно-морфологического исследования при оценке свойств видов возбудителей аспергиллеза с целью получения полной информации о степени вариабельности признаков на генотипическом и фенотипическом уровнях. Модифицирован подход к дифференциации выделяемых из посевов на пневмомикоз штаммов грибов при проведении их идентификации, с составлением оригинальной схемы быстрого разделения возбудителей пневмомикозов на группы с разными уровнями исходной чувствительности к антимикотикам.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработанные алгоритмы лабораторной диагностики пневмомикозов внедрены в работу ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр

борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы» (акт внедрения от 24.10.2019 г.). Разработаны методические рекомендации регионального уровня: «Лечение итраконазолом в суспензии патологической колонизации грибами дыхательных путей у больных туберкулезом легких» (№8 от 10.04.2007 г.), «Лабораторная диагностика бронхолегочных микозов у больных туберкулезом» (№9 от 07.05.2007 г.), «Лабораторная диагностика легочных микозов во фтизиатрической клинике» (№24 от 17.04.2019 г.). Определены перспективы практического использования данных об активности антимикотиков в отношении болезнетворных дрожжевых и мицелиальных грибов для выбора лекарственных препаратов при проведении этиотропной антифунгальной терапии бронхолегочных микозов. Создана коллекция клинических штаммов дрожжевых и мицелиальных грибов, которую можно использовать для дальнейшего изучения свойств возбудителей пневмомикозов, механизмов резистентности к применяемым антимикотикам, поиска новых антифунгальных препаратов. Представлены предложения по дальнейшему совершенствованию методологии лабораторной диагностики пневмомикозов, направленные на сокращение времени диагностики инвазивных и диссеминированных форм оппортунистических микозов за счет внедрения в рутинную практику перспективных диагностических иммунологических и молекулярно-биологических методов и методик.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что объем выборки изученных штаммов микроскопических грибов и образцов клинического материала является достаточным, методы статистической обработки подобраны адекватно, исследования проведены на высоком научно-методическом уровне. В ходе выполнения диссертационной работы идентифицированы до вида 4730 штаммов грибов от 7683 больных туберкулезом, включая 61 больного с сопутствующей ВИЧ-инфекцией; изучена чувствительность к 10 антимикотикам у 631 штамма грибов. Теория исследования согласуется с опубликованными сведениями, посвященными изучению роли грибов-оппортунистов в развитии бронхолегочной патологии. Идея базируется на анализе и обобщении передового опыта по стандартизации лабораторной диагностики пневмомикозов и диссеминированных микозов с поражением легких у разных контингентов больных. Используются сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по таксономии, морфологии, плеоморфизму, вариабельности признаков, резистентности к антимикотикам возбудителей пневмомикозов. Установлено, что результаты исследования чувствительности дрожжевых и мицелиальных грибов к антимикотикам с определением значений МПК согласуются с данными научной литературы и дополняют их. Используются общепринятые стандартизованные методы исследования и современные методы статистической обработки количественных и качественных показателей с использованием программы Epi-info 7.1.4.0.

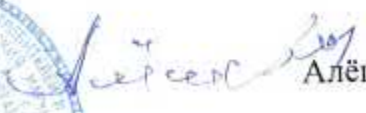
Личный вклад автора состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования. Автором сформулированы цель, задачи, разработаны алгоритмы, схемы и интерпретация результатов лабораторной диагностики пневмомикозов, лично проведены микробиологические и иммунологические исследования, видовая идентификация и определение чувствительности к антимикотикам штаммов грибов, анализ полученных данных. Исследования проб биоматериалов проведены совместно с сотрудниками ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ» д.м.н. Дорожкой И.Р., к.м.н. Исаевой Е.Л.,

Тарасенко Т.Л., Чеклецовой Н.В; статистическая обработка данных – совместно с сотрудником ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ» Чижовой А.О; культивирование ряда микромицетов с изучением их свойств – совместно с сотрудниками кафедры биологии почв МГУ им. М.В. Ломоносова д.б.н. Марфениной О.Е., к.б.н. Ивановой А.Е., к.б.н. Максимовой И.А., к.б.н. Фомичевой Г.М.; молекулярно-генетические исследования и филогенетический анализ – под руководством сотрудника ГНЦ РАМН к.б.н. Василенко О.В.; исследования чувствительности грибов-оппортунистов к разрабатываемым в ФГБНУ НИИНА антибиотикам – совместно с сотрудниками ФГБНУ НИИНА д.б.н. Садыковой В.С., к.б.н. Кувариной А.Е.

На заседании 10 сентября 2020 года диссертационный совет принял решение присудить Кулько Александру Борисовичу ученую степень доктора биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 16 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 19, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор


Алешкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор


Борисова Ольга Юрьевна

10.09.2020 г.