

«Утверждаю»

Главный внештатный специалист фтизиатр,
Исполняющий обязанности директора
ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ»

М.В. Сеницын

«18» 02 2019 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы».

Диссертация «Бронхолегочные микозы у больных туберкулезом: состав и свойства возбудителей, лабораторная диагностика» выполнена в отделе проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии.

В период подготовки диссертации соискатель Кулько Александр Борисович работал 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.

В 1996 году окончил Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова по специальности «Почвоведение и агрохимия» специализации «Биология почв».

В 1996-1999 гг. проходил обучение в аспирантуре Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. В 2000 году защитил кандидатскую диссертацию на тему «Комплексы микроскопических грибов городских почв» по специальности микробиология в Диссертационном

совете К.053.05.86 при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова.

Научные консультанты:

– Митрохин Сергей Дмитриевич, доктор медицинских наук, 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;

– Сафонова Светлана Григорьевна, доктор биологических наук, 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.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертация Кулько А.Б. является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема по выявлению состава и свойств возбудителей оппортунистических бронхолегочных микозов у больных туберкулезом органов дыхания, совершенствованию лабораторной диагностики вторичных пневмомикозов за счет разработки новых методологических подходов и критериев интерпретации лабораторных исследований, что имеет важное значение для внедрения во фтизиатрическую практику.

Диссертационная работа Кулько А.Б. выполнена в соответствии с тематикой и планом научно-исследовательской работы ГБУЗ «Московский городской научно-практического центр борьбы с туберкулезом ДЗМ» в рамках комплексных тем научно-исследовательских работ: «Совершенствование выявления, диагностики и лечения туберкулеза и микобактериозов, а также сопутствующих грибковых поражений у больных ВИЧ-инфекцией» (тема включена в научную программу Департамента

здравоохранения города Москвы на 2014-2016 гг., номер государственной регистрации 01201457860); «Повышение эффективности диагностики, лечения и профилактики туберкулеза», подтема «Персонализированный подход к формированию терапии сопровождения и лечения сопутствующей патологии у больных туберкулезом» (включена в программу Департамента здравоохранения города Москвы «Научное обеспечение медицинской помощи» на 2017-2019 гг., регистрационный номер АААА-А18-118022190079-8). Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ (протокол №10) 10 декабря 2013 года.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации, заключалось в выборе темы диссертации, формулировке целей и задач, проведении микробиологических и иммунологических исследований, разработке алгоритмов, схем и интерпретации результатов лабораторной диагностики пневмомикозов, анализе полученных данных, написании основных публикаций, диссертации и автореферата. Автором выполнен весь объем исследований по видовой идентификации мицелиальных грибов и определению чувствительности штаммов грибов к антимикотикам с использованием тест-системы «Sensititre»; вместе с коллективом сотрудников разработаны методические рекомендации по проведению лабораторной диагностики бронхолегочных микозов у больных туберкулезом. Микробиологические исследования выполнялись совместно с д.м.н. Дорожкой И.Р., к.м.н. Исаевой Е.Л., Тарасенко Т.Л., Чеклецовой Н.В. (ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ»). Статистическая обработка результатов исследования проводилась совместно с сотрудником ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ» Чижовой А.О. Исследования ряда фенотипических и генотипических свойств выделенных штаммов грибов проводились совместно с д.б.н. Марфениной О.Е., к.б.н. Ивановой А.Е., к.б.н. Максимовой И.А., к.б.н. Фомичевой Г.М. (кафедра биологии почв МГУ им. М.В. Ломоносова); к.б.н. Василенко О.В. (Гематологический научный центр РАМН); д.б.н. Садыковой В.С., к.б.н. Кувариной А.Е. (ФГБНУ «Научно-

исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»).

Использование адекватных методов и методологических подходов для решения поставленных задач, объем проведенных исследований, достаточный для корректной статистической обработки данных, позволяют считать результаты исследований достоверными и не вызывающими сомнений. Сделанные автором выводы и рекомендации аргументированы и вытекают из результатов проведенных исследований.

Научная новизна исследования обусловлена тем, что впервые на основании выполненных соискателем многолетних обширных исследований выявлен видовой состав оппортунистических грибов, вызывающих поражения бронхолегочной системы у больных туберкулезом; состав грибов, развивающихся в полостных образованиях в легких, плевральных полостях, колонизирующих нижние отделы дыхательных путей. Проведенное скрининговое исследование выделенных клинических штаммов грибов рода *Aspergillus* позволило впервые достоверно охарактеризовать уровни чувствительности к современным антимикотикам у обнаруженных у больных туберкулезом 12 основных и редких видов возбудителей аспергиллеза. Получены новые данные об уровнях активности современных лекарственных препаратов в отношении клинических штаммов различных видов дрожжевых болезнетворных грибов, вызывающих глубокие микозы человека с поражением легких (22 вида из 7 родов). Установлены виды возбудителей аспергиллеза, кандидоза, криптококкоза, редких дрожжевых микозов с вариативной и сниженной чувствительностью *in vitro* к отдельным широко применяющимся в терапии глубоких микозов лекарственным препаратам и группам лекарственных средств. Доказана необходимость стандартизации этапов комплексной лабораторной диагностики оппортунистических пневмомикозов (аспергиллеза, кандидоза, криптококкоза, зигомикоза, гиалогифомикоза, феогифомикоза, редких дрожжевых инфекций), проводимой при обследовании или лечении больных туберкулезом.

Практическая значимость исследования состоит в разработке схемы и алгоритмов лабораторной диагностики вторичных пневмомикозов у больных туберкулезом, адаптированных для рутинного использования и получения необходимых сведений при проведении диагностики и контроля лечения. Для практического применения также были разработаны: критерии интерпретации результатов лабораторного обследования пациентов на пневмомикоз с выделением групп признаков (диагностически значимые результаты, признаки «вероятного» бронхолегочного микоза, критерии колонизации); рекомендации по целесообразности проведения тестирования у видов возбудителей аспергиллеза, кандидоза, криптококкоза и редких дрожжевых инфекций чувствительности к широко применяемым лекарственным препаратам; схема быстрого разделения штаммов возбудителей пневмомикозов на группы для упрощения идентификации и дифференцировки групп возбудителей с разными уровнями чувствительности к антимикотикам; модифицированная методика приготовления споровой суспензии грибов рода *Aspergillus*, повышающая безопасность проведения тестирования чувствительности к антимикотикам мицелиальных грибов и достоверность получаемых результатов. В практических целях могут быть использованы: опубликованный иллюстрированный «Атлас условно-патогенных грибов рода *Aspergillus* – возбудителей бронхолегочных инфекций» (для видовой идентификации возбудителей аспергиллеза и как справочное пособие по болезнетворным грибам рода *Aspergillus*); результаты исследования активности антимикотиков в отношении болезнетворных дрожжевых и плесневых видов грибов (при выборе препаратов для лечения пневмомикозов).

Ценность научных работ соискателя состоит в получении новых результатов, имеющих значение для выявления ранее мало изученных или не исследованных свойств широкого круга возбудителей оппортунистических микозов: установлены и охарактеризованы уровни чувствительности основных и редких возбудителей аспергиллеза, кандидоза, криптококкоза,

редких возбудителей дрожжевых микозов к современным противогрибковым препаратам (34 вида болезнетворных грибов); получены новые сведения о способности к росту *in vitro* при 35°C и 37°C клинических штаммов 67 видов грибов-оппортунистов из отделов *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Zygomycota*; полученные при молекулярных исследованиях клинических штаммов *Aspergillus sydowii* нуклеотидные последовательности участков рДНК (ITS1, ITS2, D1/D2 28S, 5.8S) дополнили базы генетических данных GenBank/EMBL/DDJB. Проведенные серии испытаний по оценке активности разрабатываемых в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе» природных противогрибковых антибиотиков в отношении клинических штаммов грибов родов *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Curvularia*, *Saccharomyces* из коллекции ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ» имеют важное практическое значение для поиска и тестирования новых лекарственных препаратов, обладающих противогрибковой активностью.

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям и выводам диссертационная работа соответствует паспорту специальности научных работников 03.02.03 – микробиология (биологические науки) и области исследования: пункты 2 – «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», 3 – «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов» и 6 – «Сапрофитизм, паразитизм, симбиоз микроорганизмов».

Разработанные в диссертации подходы к организации лабораторной диагностики пневмомикозов во фтизиатрической практике, включающие схему проведения комплексных диагностических исследований, алгоритмы микробиологической диагностики плесневых и дрожжевых пневмомикозов, критерии интерпретации получаемых лабораторных данных у пациентов противотуберкулезных лечебно-профилактических учреждений апробированы, внедрены и используются в работе Централизованной бактериологической лаборатории, терапевтических и хирургических

отделений и Городского клинико-диагностического центра ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ». Материалы диссертации используются в педагогическом процессе: в программе дополнительного профессионального образования повышения квалификации для врачей на базе Негосударственного образовательного частного учреждения дополнительного профессионального образования «Высшая медицинская школа» (Москва) (<https://youtu.be/V8T9USG3Bn4>); в лекционных курсах по почвенной микологии, читаемых на факультете Почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова.

Основное содержание диссертации отражено в 74 опубликованных работах, в том числе 21 статье в рецензируемых научных изданиях. Опубликованные работы отвечают тематике диссертационного исследования и полностью раскрывают его содержание.

Наиболее значительные научные работы по теме диссертации:

1. Кулько, А.Б. Лабораторная диагностика грибковых инфекций легких у больных туберкулезом / А.Б. Кулько, С.Д. Митрохин // Проблемы медицинской микологии. – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 25-29.
2. Кулько, А.Б. Лабораторная диагностика бронхолегочного аспергиллеза у больных туберкулезом с полостными образованиями в легких / А.Б. Кулько, П.А. Древаль, А.А. Воробьев, В.Н. Трусов // Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т. 10, № 4. – С. 25-28.
3. 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.
4. Кулько, А. Б. Атлас условно-патогенных грибов рода *Aspergillus* – возбудителей бронхолегочных инфекций / А.Б. Кулько – М.: Изд-во Типография «Новости», 2012. – 160 с.: ил. – 1000 экз.
5. Кулько, А.Б. Спектр возбудителей глубоких микозов человека / А.Б. Кулько // Онкогематология. – 2012. – № 3. – С. 55-61.

6. 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.
7. Кулько, А.Б. Критерии интерпретации результатов лабораторных исследований при диагностике оппортунистических бронхолегочных микозов различной этиологии / А.Б. Кулько, Н.И. Федорова, А.О. Жерносенко // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2017. – Т. 12, № 2. – С. 117-120.
8. 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.
9. 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.
10. 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.

Диссертация «Бронхолегочные микозы у больных туберкулезом: состав и свойства возбудителей, лабораторная диагностика» Кулько Александра Борисовича рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Заключение принято на заседании Ученого совета Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента

здравоохранения города Москвы» с участием сотрудников научных, клинических и лабораторных подразделений Центра.

Присутствовало на заседании 32 человека. Результаты голосования: «за» – 32 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 10 от «20» декабря 2018 г.

Председатель Ученого совета,
научный руководитель
ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ»
д.м.н.

В.И. Литвинов

Ученый секретарь Ученого совета
ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ»
д.м.н.



Д.А. Иванова