

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Фурсова Михаила Васильевича  
на тему: «Молекулярно-генетическая характеристика гипервирулентных штаммов  
*Mycobacterium tuberculosis*», представленной на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальностям:  
1.5.11. Микробиология, 1.5.4. Биохимия

### Актуальность темы исследования

Одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения является нарастающее распространение туберкулеза среди населения во всем мире. Показатели смертности от этого заболевания напрямую зависят от уровня медицинского обслуживания. Однако во всех странах отмечается широкое распространение антибиотикорезистентных штаммов возбудителя этого заболевания - *Mycobacterium tuberculosis*. Так, по данным экспертов ВОЗ, доля резистентных штаммов в 2020 г. составила более 70%.

Популяция возбудителей туберкулеза довольно неоднородна на всей территории Российской Федерации. Обеспокоенность вызывает тот факт, что в последние годы среди всех изолятов превалирует генотип Beijing, который отличается более высокой вирулентностью, антибиотикорезистентностью и трансмиссивностью (Нарвская, О.В., Мокроусов И.В.). Подобного рода изменения биологических свойств у штаммов *M. tuberculosis* можно исследовать лишь при использовании современных методов молекулярного анализа.

Учитывая, что возбудитель туберкулеза характеризуется активным воздействием на все уровни иммунной системы макроорганизма, возникает опасность тяжелого течения инфекции у пациентов, особенно у лиц с коморбидными состояниями, в том числе в сочетании с ВИЧ-инфекцией.

В связи с описанным выше необходим дальнейший поиск возможностей для преодоления данных проблем, а диссертационное исследование Фурсова Михаила Васильевича весьма актуально и своевременно. Его **целью** стало исследование молекулярно-генетической, фенотипической и биологической характеристики гипервирулентных штаммов *M. tuberculosis*. В соответствии с поставленной целью были сформулированы четыре **задачи** исследования, которые были успешно решены в ходе выполнения диссертационной работы, что нашло отражение в соответствующих выводах.

**Достоверность** полученных результатов, выводов и положений не вызывает сомнений и подтверждается достаточным количеством исследуемого материала, использованием современных методов исследования. Все полученные автором результаты статистически обработаны с помощью современных компьютерных программ, выбор метода обработки соответствовал объему и формату проведенных

исследований. Положения и выводы основаны на достоверных статистических данных.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов**

- В результате проведенной диссертационной работы автором были изучены гипервирулентные штаммы *M. tuberculosis*, определены их генотип и фенотип. В геномах штаммов выявлены мутации, ассоциированные с резистентностью к противотуберкулезным препаратам, а вирулентность в отношении мышей оказалась выше, чем у референс-штамма H37Rv.
- Описаны изменения транскрипции 26-ти генов цитокинов в тканях легких мышей, зараженных клиническими штаммами *M. tuberculosis* 120/26 и 267/47, принадлежащими к генетическимкладам CAO и B0/W148, по сравнению с интактными мышами.
- Выявлен «ранний» ответ экспрессии некоторых генов мнРНК, позволяющих бактериям выживать в фагосомах макрофагов организма-хозяина.
- Показана профилактическая эффективность БЦЖ-бустерной рекомбинантной субъединичной вакцины «ЛТБвак» на моделях острой туберкулезной инфекции у мышей и морских свинок альбиносов, а также терапевтическая эффективность препарата «ЛТБвак» на модели хронического туберкулеза у мышей.

### **Значимость для науки и практики полученных результатов**

- Полученные данные вносят вклад в понимание молекулярно-генетических механизмов гипервирулентности и широкой лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам у штаммов *M. tuberculosis*, преобладающих на территории Российской Федерации.
- Результаты исследования позволяют понять механизм взаимодействия возбудителя туберкулеза со структурами клеточного и гуморального звеньев иммунной системы макроорганизма на примере мышинной модели.
- Проведенные исследования открывают возможность эффективного использования БЦЖ-бустерных рекомбинантных вакцин для совершенствования схем профилактики и терапии туберкулеза.
- В Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск» депонированы 3 штамма *M. tuberculosis* B-9343, B-9344 и B-9351.
- Геномы штаммов *M. tuberculosis* Ростов, 267/47 и 120/26 размещены в базе данных GenBank [JAAMPG000000000.1, NZ\_CP071128.1 и NZ\_CP071127.1].
- Разработан набор праймеров для детекции и определения уровней представленности транскриптов 26-ти генов цитокинов мышей.
- Создан набор специфичных праймеров для детекции и определения уровней представленности транскриптов 10-ти малых некодирующих РНК *M. tuberculosis*. Этот набор может быть использован для оценки иммунного ответа лабораторных мышей не только на возбудителя туберкулеза, но и на другие патогены, а также для определения степени модуляции иммунной системы при

испытании новых профилактических и терапевтических препаратов.

- Зарегистрирована в Госреестре База данных «Гены вирулентности *Mycobacterium tuberculosis*». Свидетельство № 2022621575 от 04.07.2022.
- Доказана профилактическая и терапевтическая эффективность препарата «Полиантигенная вакцина для профилактики и вспомогательного лечения туберкулеза ЛТБвак», разработанного НИЦ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи.

### **Рекомендации по использованию полученных результатов и выводов диссертационной работы**

Приведенные в диссертации Фурсова Михаила Васильевича результаты, выводы и практические рекомендации могут быть использованы в работе научно-исследовательских, образовательных учреждений и практического здравоохранения.

- Так, представленные в базе данных геномы штаммов *M. tuberculosis* могут быть использованы для сравнительного анализа геномов возбудителя туберкулеза разных генетических линий.
- Набор праймеров для детекции и количественного определения транскриптов генов цитокинов мышей с помощью ПЦР в реальном времени рекомендуется использовать для изучения ответа иммунной системы мышей на уровне изменения экспрессии генов цитокинов в ответ на разные типы воздействий, включая бактерии, вирусы, токсины и др.
- Результаты изменения экспрессии генов мРНК в клетках *M. tuberculosis* в стрессовых условиях могут быть использованы в дальнейших экспериментах по изучению роли мРНК в разных физиологических процессах возбудителя туберкулеза.
- Результаты тестирования препарата «Полиантигенная вакцина для профилактики и вспомогательного лечения туберкулеза ЛТБвак» могут быть использованы на дальнейших этапах клинических испытаний препарата.

Принципиальных замечаний по содержанию, оформлению и стилю изложения нет.

### **Степень освещенности основных результатов диссертационной работы**

По теме диссертационного исследования опубликовано 16 печатных работ, из которых 5 статей - в изданиях, рекомендованных ВАК, 2 статьи в прочих изданиях, 8 тезисов докладов в сборниках трудов конференций, зарегистрирована 1 База данных.

### **Соответствие автореферата и основных результатов диссертационного исследования**

Автореферат соответствует содержанию диссертации, выполнен согласно требованиям ВАК, предъявляемым к его структуре и содержанию, отражает основные результаты и положения, приводимые в диссертационной работе.

### Заключение

Таким образом, диссертационная работа Фурсова Михаила Васильевича на тему: «Молекулярно-генетическая характеристика гипервирулентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология, 1.5.4. Биохимия, является законченной научно-квалификационной работой, которая содержит решение актуальной задачи – изучения молекулярно-генетической характеристики гипервирулентных штаммов *M. tuberculosis*, что имеет важное научно-практическое значение для микробиологии, биохимии, здравоохранения.

Диссертация Фурсова Михаила Васильевича соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор Фурсов Михаил Васильевич достоин присуждения степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология, 1.5.4. Биохимия.

Отзыв составил:

Заведующая лабораторией медицинской бактериологии  
«Санкт-Петербургского научно-исследовательского института  
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты  
прав потребителей и благополучия человека,

доктор медицинских наук



Людмила Александровна Краева

Подпись д.м.н. Л. А. Краевой заверяю:

Ученый секретарь

«Санкт-Петербургского научно-исследовательского института  
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты  
прав потребителей и благополучия человека

кандидат медицинских наук



Галина Федоровна Трифонова

19 августа 2022 г.

Адрес: 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира 14  
Телефон: 8 (812) 498 09 39, E-mail: [lykraeva@yandex.ru](mailto:lykraeva@yandex.ru)