

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 09.09.2022 г. № 22
о присуждении Фурсову Михаилу Васильевичу, гражданину РФ, ученой
степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярно-генетическая характеристика
гипервирулентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*» по специальностям
1.5.11. Микробиология и 1.5.4. Биохимия принята к защите 01.07.2022 г.,
протокол № 17, диссертационным советом 64.1.002.01 на базе Федерального
бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации,
142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А»,
д. 24, приказ о создании № 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Фурсов Михаил Васильевич, 1988 г. рождения, в 2012 г.
окончил Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова по
специальности «Почвоведение». С 2012 по 2016 гг. М.В. Фурсов обучался в
очной аспирантуре Института биохимии имени А.Н. Баха Федерального
государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» по
направлению 1.5.4. Биохимия; работает научным сотрудником в отделе
подготовки и усовершенствования специалистов Федерального бюджетного
учреждения науки «Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Диссертация выполнена в отделе подготовки и усовершенствования специалистов Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор биологических наук Потапов Василий Дмитриевич, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, отдел подготовки и усовершенствования специалистов, главный научный сотрудник;

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор Дятлов Иван Алексеевич, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, директор.

Официальные оппоненты:

Черноусова Лариса Николаевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, лаборатория молекулярно-генетических методов исследования отдела микробиологии, заведующая лабораторией, г. Москва;

Владимирский Михаил Александрович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория иммунопатологии и иммунодиагностики туберкулезной инфекции, заведующий лабораторией, г. Москва,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация, Государственное бюджетное учреждение

здравоохранения города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», в своем положительном заключении, подписанном Литвиновым Виталием Ильичом, академиком РАН, доктором медицинских наук, профессором, научным руководителем учреждения, и Носовой Еленой Юрьевной, доктором медицинских наук, ведущим научным сотрудником отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, указала, что диссертационная работа Фурсова М.В. является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи, связанной с молекулярно-генетической характеристикой гипервирулентных штаммов *M. tuberculosis*. Представленные на защиту положения диссертации можно квалифицировать как научное достижение современной микробиологической науки. По актуальности, научной новизне, методическому уровню, практической значимости диссертация соответствует требованиям п. 9, 10, 11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ 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 кандидатским диссертациям, а ее автор Фурсов Михаил Васильевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.4. Биохимия.

Соискатель имеет **33** опубликованных работы, в том числе по теме диссертации опубликовано **16** работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **5** работ и **1** База данных. Общий объем работ – 6,9 п. л.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Azhikina, T.L. Role of small noncoding RNAs in bacterial metabolism / T.L. Azhikina, D.V. Ignatov, E.G. Salina, **M.V. Fursov**, A.S. Kaprelyants // Biochemistry (Mosc). – 2015. – Vol. 80, No. 13. – P. 1633-1646. **WoS IF = 1,537**.

2. Ignatov, D.V. Dormant non-culturable *Mycobacterium tuberculosis* retains stable low-abundant mRNA / D.V. Ignatov, T.L. Azhikina, E.G. Salina, **M.V. Fursov**, T.A. Skvortsov, A.S. Kaprelyants // BMC Genomics. – 2015. – Vol. 16, No. 1. – P. 954. **WoS IF = 4,257.**

3. **Фурсов М.В.** Модели покоящегося состояния *Mycobacterium tuberculosis* in vitro и латентной туберкулезной инфекции in vivo / **М.В. Фурсов**, И.А. Дятлов, В.Д. Потапов // Клини. Лаб. Диагн. - 2019. - Т. 64, № 5. - С. 299-307. **Scopus IF = 0,544.**

4. **Fursov, M.V.** Genotyping, assessment of virulence and antibacterial resistance of the Rostov strain of *Mycobacterium tuberculosis* attributed to the Central Asia Outbreak clade / **M.V. Fursov**, E.A. Shitikov, J.A. Bespyatykh, A.G. Bogun, A.A. Kislichkina, T.I. Kombarova, T.I. Rudnitskaya, N.S. Grishenko, E.A. Ganina, L.V. Domotenko, N.K. Fursova, V.D. Potapov, I.A. Dyatlov // Pathogens. - 2020. - Vol. 9, - N 5. – P. 335. **WoS IF = 3,725.**

5. **Fursov, M.V.** MDR and pre-XDR clinical *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains: assessment of virulence and host cytokine response in mice infectious model / **M.V. Fursov**, E.A. Shitikov, D.A. Lagutkin, A.D. Fursova, E.A. Ganina, T.I. Kombarova, N.S. Grishenko, T.I. Rudnitskaya, D.A. Bespiatykh, N.V. Kolupaeva, V.V. Firstova, L.V. Domotenko, A.E. Panova, A.S. Vinokurov, V.A. Gushchin, A.P. Tkachuk, I.A. Vasilyeva, V.D. Potapov, I.A. Dyatlov // Microorganisms. - 2021. – Vol. 9, N 8. – P. 1792. **WoS IF = 3,864.**

6. База данных «Гены вирулентности *Mycobacterium tuberculosis*»
Свидетельство № 2022621575 от 04.07.2022 г.

На диссертацию и автореферат поступило **8** положительных отзывов от:
(1) канд. биол. наук **Погорелко Геннадия Владимировича**, науч. сотрудника Национальной лаборатории Университета штата Айова, США, содержит замечания: «в тексте присутствуют некоторые варианты англицизма, например, “Референс-штамм” и “Тотальная РНК”», «я посоветовал бы автору в будущем использовать терминологию “ПЦР для оценки уровня транскрипции генов” вместо “ПЦР для оценки уровня экспрессии генов”»; (2) канд. биол. наук **Гостимской Ирины Сергеевны**, науч. сотрудника Института биотехнологии Университета Манчестера, Великобритания – без замечаний; (3) д-ра мед. наук, проф. **Федоровой Валентины Анатольевны**, руководителя лаборатории молекулярной биологии и нанобиотехнологий Саратовского научно-исследовательского ветеринарного института, филиала Федерального

исследовательского центра вирусологии и микробиологии, г. Саратов – без замечаний; (4) д-ра биол. наук **Мокроусова Игоря Владиславовича**, зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург, содержит следующие замечания: «1. Почему использовали мышей линии C57BL/6, внутривенное заражение и дозу заражения 5×10^6 КОЕ/животное; 2. Генотип САО значим для РФ, но незначительно распространен в европейской части РФ; 3. Определение ШЛУ дано согласно устаревшей терминологии; 4. Для публикаций, рецензированных в Scopus, нужно указывать не IF, а SJR»; (5) канд. биол. наук **Ветровой Анны Андрияновны**, старшего науч. сотрудника лаборатории биологии плазмид Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН – обособленного подразделения Федерального исследовательского центра «Пушкинский научный центр биологически исследований Российской академии наук», г. Пушкино – без замечаний; (6) д-ра мед. наук **Краевой Людмилы Александровны**, зав. лабораторией медицинской бактериологии Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург - без замечаний; (7) д-ра биол. наук, доцента **Михайловой Елены Алексеевны**, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии Оренбургского государственного медицинского университета, г. Оренбург - без замечаний; (8) д-ра биол. наук, профессора **Попова Юрия Алексеевича**, главного научного сотрудника Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб», г. Саратов – содержит замечание: «понятия генотипа и фенотипа корректно относятся к штаммам бактерий, а не к таким отдельным их свойствам, как, например, устойчивость».

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что доктор биологических наук, профессор **Черноусова Лариса Николаевна** является признанным специалистом в области микробиологии, а именно методов идентификации и определения уровней чувствительности туберкулезного микроба к противотуберкулезным препаратам, имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Фурсова М.В. (Вестн. Центр. Научно-Иssl. Инст. Туб. - 2022. - № 1. - С. 29-35.; 2021. -

№ 1. - С. 87-98; **Туб. Социал.-Значим. Забол.** - 2021. - № 1. - С. 61.; **Клин. Лаб. Диагн.** - 2020. - Т. 65, № 9. - С. 552-556; **Biochimie.** - 2020. - V. 171-172. - P. 170-177; **ВМС Inf. Dis.** - 2020. - V. 20, № 1. - P. 543; **Bul. Rus. State Med. Univ.** - 2020. - № 1. - P. 21-26; 2020. - № 4. - P. 10-15; **Tuberculosis.** - 2019. - V. 114. - P. 17-23; **Вестн. Рос. Акад. Мед. Наук.** - 2019. - Т. 74, № 6. - С. 413-422; **Туб. Бол. Легких.** - 2019. - Т. 97, № 9. - С. 40-44; 2018. - Т. 96, № 6. - С. 7-16; **Бол. Органов Дых. Прил. Журн. Cons. Medicum.** - 2019. - № 1. - С. 13-16; **Урал. Мед. Журн.** - 2018. - № 8 (163). - С. 5-9; **Мол. Биол.** - 2017. - Т. 51, № 4. - С. 595-602);

доктор медицинских наук, профессор **Владимирский Михаил Александрович** является специалистом в области изучения иммунного ответа макроорганизма на туберкулезную инфекцию и разработки молекулярно-генетических методов диагностики туберкулеза, имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Фурсова М.В. (**Europ. Resp. J. Supp.** - 2020. - Vol. 56, N 64. - P. 1563; **Туберкул. Бол. Легк.** - 2020. - Т. 98, № 8. - С. 14-23; 2019. - Т. 97, № 12. - С. 28-33; 2018. - Т. 96, № 12. - С. 18-26; 2017. - Т. 95, № 11. - С. 27-35; **Bull. Experiment. Biol. Med.** - 2018. - Vol. 164, N 3. - P. 344-346; **Иммунол.** - 2018. - Т. 39, № 1. - С. 61-66; **Клин. Лаб. Диагн.** - 2017. - Т. 62, № 12. - С. 757-763; **Бюлл. Эксперимент. Биол. Мед.** - 2017. - Т. 164, № 9. - С. 326-329; **Пат 2726789 С1, 15.07.2020.** Заявка № 2020101939 от 17.01.2020; **2728943 С1, 03.08.2020.** Заявка № 2019145353 от 31.12.2019; **RU 2691439 С1, 13.06.2019.** Заявка № 2018129791 от 16.08.2018).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области изучения патогенеза туберкулезной инфекции, вакцинопрофилактики туберкулеза и популяционных исследований, наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Фурсова М.В. (**Мед. Совет.** - 2022. - Т. 16, № 4. - С. 90-96; **Тихоокеан. Мед. Жур.** - 2021. - Т. 2, № 84. - С. 75-79; **Туберкул. Бол. Легк.** - 2021. - Т. 99, № 1. - С. 15-26; 2020. - Т. 98, № 1. - С. 5-15; 2019. - Т. 97, № 12. - С. 34-45; **Туберкул. Социал. Знач. Забол.** - 2021. - Т. 3. - С. 37-44; 2021. - Т. 4. - С. 17-26; 2020. - Т. 1. - С. 20-25; 2020. - Т. 1. - С. 26-33; 2019. - Т. 1. - С. 19-24; **Antibiotics.** - 2021. - Vol. 10, N 10 - P. 1243; 2019. - Т. 2. - С. 29-39; 2019. - Т. 3. - С. 4-12; 2019. - Т. 4. - С. 10-16; 2018. - Т. 1. - С. 12-19; 2018. - Т. 1. - С. 6-11; 2018. - Т. 3. - С. 19-25; **Acta Biomed. Sci.** - 2021. - Т. 6, № 5. - С. 184-195; **J. Infect.** - 2019. - Vol. 78, N 1. - P. 35-39; **Жур. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол.** - 2019. - Т. 5. - С. 102-108; **PLoS ONE.** - 2018. - Vol. 13, N 12. - P.

е0208705; **Вест. Центр. Науч. Исслед. Инстит. Туберкул.** - 2018. – Т. 3. - С. 11-20), а также наличием ученых, являющихся безусловными специалистами по теме диссертации Фурсова М.В.

В состав совета дополнительно введены на одно заседание 3 приглашенных члена совета по специальности 1.5.4. Биохимия:

член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор РАН **Ильина Елена Николаевна**, главный научный сотрудник Федерального бюджетного учреждения науки «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, имеет публикации в реферируемых журналах за период 2017-2022 гг. (**Sci. Rep.** - 2020. – Vol. 9, N 1. - P. 19255; 2019. - Vol. 10, N 1. - P. 4511. - Vol. 10, N 1. - P. 4511; 2017. - Vol. 7, N 1. - P. 9227; **Pathogens.** - 2020. – Vol. 9, N 2. - P. 131; **Mol. Phylogen. Evol.** - 2019. - Vol. 139. - P. 106559; **J. Proteom.** - 2019. - Vol. 192. - P. 18-26; **Инф. иммун.** - 2019. - Т. 9, № 1. - С. 173-182; 2018. - Т. 8. - № 4. - С. 690; **Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол.** - 2018. - № 2. - С. 58-67; **Biochem. Mosc.** - 2018. – Vol. 12, N 1. - P. 32-38; **Биомед. хим.** - 2017. - Т. 63, № 4. - С. 334-340; **FEBS J.** - 2017. - Vol. 284, N 1. - P. 347; **Acta Natur.** - 2017. - Т. 9, № 1 - С. 16-26);

доктор биологических наук Шлеева Маргарита Олеговна, заведующая лабораторией биохимии стрессов микроорганизмов Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», имеет публикации в реферируемых журналах за период 2017-2022 гг. (**Appl. Microbiol. Biotechnol.** - 2021. – Vol. 105, N 10. – P. 4099-4109; **Прикл. Биохим. Микробиол.** - 2021. - Т. 57, № 2. - С. 127-137; 2020. - Т. 56, № 3. - С. 242-249; 2019. - Т. 55, № 4. - С. 360-365; **Metabolomics.** - 2020. - Vol. 16, N 2. - P. 24; **PLoS ONE.** - 2020. - Vol. 15, N 9. - P. e0239668; **Front. Microbiol.** - 2020. - Vol. 11. - P. 605899; 2018. - Vol. 9. - P. 2083; 2017. - Vol. 8. - P. 524; **Front. Cell. Infect. Microbiol.** - 2020. - Vol. 10. - P. 26; 2017. - Vol. 7. - P. 375; **Appl. Microbiol. Biotechnol.** - 2019. - Vol. 103, N 23-24. - P. 9687-9695; **Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.** - 2017. - Vol. 16, N 1. - P. 69; **Вест. Центр. Научно-исслед. Инст. Туберкул.** - 2017. – Т. 1. - С. 32-34; 2017. - Т. 1. - С. 68-69);

доктор биологических наук, старший научный сотрудник **Кулаковская Татьяна Валентиновна**, заведующая лабораторией регуляции биохимических

процессов Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», имеет публикации в реферируемых журналах за период 2017-2022 гг. (**Истор. Наук. Техн.** - **2020.** - Т 6. - С. 36-41; **Folia Microbiol.** - **2021.** – Vol. 66, N 2. – P. 247-253; **2019.** - Vol. 64, N 6. - P. 867-873; **2018.** - Vol. 63, N 4. - P. 507-510; **Извест. Тул. Государ. Универ.** - **2020.** - Т 1. - С. 26-32; **Arch. Microbiol.** - **2019.** - Vol. 201, N 9. - P. 1307-1312; **Biochimie.** - **2019.** - Vol. 163. - P. 101-107; **Cells.** - **2019.** - Vol. 8, N 5. - P. 461; **FEMS Yeast Research.** - **2017.** - Vol. 17, N 3. - P. fox026; **J. Bas. Microbiol.** - **2017.** - Vol. 57, N 11. - P. 982-986; **Metallomics.** - **2017.** - Vol. 9, N 2. - P. 175-182).

Диссертационный совет отмечает, что, на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция комплексного изучения гипервирулентных клинических штаммов *M. tuberculosis*, включающая в себя характеристику культурально-морфологических и биохимических свойств, чувствительности к противотуберкулезным препаратам, определение принадлежности к генетическим линиям, анализ геномов на наличие мутаций, ассоциированных с фенотипом лекарственной устойчивости, и оценка степени вирулентности на животных моделях;

предложено использовать анализ изменения транскрипции 26 генов цитокинов (*Ifn-γ, Tnf-α, Il-1α, Il-1β, Il-6, Il-7, Il-10, Il-12(p35), Il-12(p40), Il-13, Il-15, Il-17, Mx1, IFI44, Cxcl2, Cxcl5, Cxcl9, Cxcl10, Ccl2, Ccl3, Ccl4, Ccl5, Ccl11, Csf1, Csf2* и *Vegf*) мышей, зараженных клиническими штаммами *M. tuberculosis*, по сравнению с интактными мышами, для оценки воздействия гипервирулентных штаммов туберкулезного микроба на иммунную систему макроорганизма;

доказана профилактическая эффективность препарата «Полиантигенная вакцина для профилактики и вспомогательного лечения туберкулеза ЛТБвак» на моделях острой туберкулезной инфекции у мышей линии C57BL/6 и морских свинок альбиносов и терапевтическая эффективность этого препарата на модели хронического туберкулеза у мышей линии C57BL/6;

введены новые представления о «раннем» ответе экспрессии 10 генов малых некодирующих РНК *M. tuberculosis* (MTS0997/Mcr11, MTS1338/Drrs, MTS2823/Ms1, B11/C6, Mpr5, Mcr3, Mcr15, Mcr7, Mpr11 и Mpr18) *in vitro* на стрессы («осмотический», «голодание», гипоксический, «кислотный», оксидативный), моделирующие условия окружения клеток *M. tuberculosis* в фагосомах макрофагов организма-хозяина.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что клинические штаммы *M. tuberculosis* 120/26, Ростов и 267/47, выделенные от людей с тяжелыми формами туберкулеза, являются гипервирулентными, относящимися к генетическим кладам CAO и B0/W148 возбудителя туберкулеза генотипа Beijing, имеющими фенотипы резистентности множественной, пред-широкой и широкой лекарственной устойчивости, соответственно, и несущими мутации, ассоциированные с резистентностью к противотуберкулезным препаратам;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования: микробиологических (культивирование микобактерий, определение индекса роста культуры, оценка чувствительности к противотуберкулезным препаратам, моделирование стрессовых условий культивирования), биохимических (выделение геномной ДНК и тотальной РНК), молекулярно-генетических (синтез кДНК, полимеразная цепная реакция, сполиготипирование, MIRU-VNTR-типирование, полногеномное секвенирование), биоинформатических (дизайн и анализ специфичности праймеров, филогенетический анализ), биологических (моделирование туберкулезной инфекции на мышах и морских свинках, иммунизация животных), гистологических (анализ и полуколичественная оценка гистологических срезов) и статистических (анализ экспериментальных данных проводили с использованием программы GraphPad Prism версии 8.0.1 и оценка уровней транскрипции генов методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$);

изложены новые данные об экспрессии генов малых некодирующих РНК *M. tuberculosis* (MTS0997/Mcr11, MTS1338/Drrs, MTS2823/Ms1, B11/C6, Mpr5, Mcr3, Mcr15, Mcr7, Mpr11 и Mpr18), каждый из которых обладал уникальным спектром ответа на воздействие стрессов окружающей среды *in vitro*, что, по-

видимому, связано с их специфической активностью в экстремальных условиях окружающей среды внутри фагосом макрофагов;

раскрыты особенности фенотипов и генотипов резистентности к противотуберкулезным препаратам штаммов *M. tuberculosis* 120/26, Ростов и 267/47, которые отнесены к категориям множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), пред-широкой лекарственной устойчивости (пред-ШЛУ) и широкой лекарственной устойчивости (ШЛУ), соответственно;

изучены дифференциальные изменения уровней транскрипции 26 генов цитокинов *Ifn-γ*, *Tnf-α*, *Il-1α*, *Il-1β*, *Il-6*, *Il-7*, *Il-10*, *Il-12(p35)*, *Il-12(p40)*, *Il-13*, *Il-15*, *Il-17*, *Mx1*, *IFI44*, *Cxcl2*, *Cxcl5*, *Cxcl9*, *Cxcl10*, *Ccl2*, *Ccl3*, *Ccl4*, *Ccl5*, *Ccl11*, *Csf1*, *Csf2* и *Vegf* в легких мышей линии C57BL/6, зараженных гипервирулентными штаммами *M. tuberculosis* 267/47 и 120/26, по сравнению с таковыми для вирулентного лабораторного штамма *M. tuberculosis* H37Rv;

проведена комплексная оценка влияния бустерной иммунизация лабораторных животных препаратом «Полиантигенная вакцина для профилактики и вспомогательного лечения туберкулеза ЛТБвак» и доказан усиливающий эффект защиты, вызванной вакциной БЦЖ, что выразалось в статистически достоверном ($p \leq 0,05$) снижении микобактериальной нагрузки в органах мышей в ~5 раз и морских свинок в ~10 раз, а также в уменьшении патологических изменений в легких животных, по сравнению с аналогичными показателями в контрольных группах.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены: набор специфичных праймеров для детекции и определения уровней представленности транскриптов 26 генов цитокинов мышей (*Ifn-γ*, *Tnf-α*, *Il-1α*, *Il-1β*, *Il-6*, *Il-7*, *Il-10*, *Il-12(p35)*, *Il-12(p40)*, *Il-13*, *Il-15*, *Il-17*, *Mx1*, *IFI44*, *Cxcl2*, *Cxcl5*, *Cxcl9*, *Cxcl10*, *Ccl2*, *Ccl3*, *Ccl4*, *Ccl5*, *Ccl11*, *Csf1*, *Csf2* и *Vegf*) – учрежденческий уровень внедрения;

набор специфичных праймеров для детекции и определения уровней представленности транскриптов 10 малых некодирующих РНК *M. tuberculosis* (MTS0997/Mcr11, MTS1338/Drrs, MTS2823/Ms1, B11/C6, Mpr5, Mcr3, Mcr15, Mcr7, Mpr11 и Mpr18) – учрежденческий уровень внедрения;

база данных «Гены вирулентности *Mycobacterium tuberculosis*»,
Свидетельство № 2022621575 от 04.07.2022 – федеральный уровень внедрения;

в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск» депонированы 3 штамма *M. tuberculosis* В-9343, В-9344 и В-9351 – федеральный уровень внедрения;

геномы штаммов *M. tuberculosis* Ростов, 267/47 и 120/26 размещены в базе данных GenBank [JAAMPG000000000.1, NZ_CP071128.1 и NZ_CP071127.1, соответственно] – международный уровень внедрения;

материалы для учебной программы «Бактериология. Основы биологической безопасности и практика работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности» (Справка о внедрении от 29.06.2022 г.) – учрежденческий уровень внедрения;

определены перспективы практического использования результатов диссертационного исследования: геномы штаммов *M. tuberculosis*, размещенные в базе данных GenBank, могут быть использованы для сравнительного анализа геномов возбудителя туберкулеза разных генетических линий; результаты изменения экспрессии генов малых некодирующих РНК в клетках *M. tuberculosis* в стрессовых условиях - в экспериментах по изучению роли мнРНК в разных физиологических процессах возбудителя туберкулеза;

создан набор специфичных праймеров для детекции и количественного определения транскриптов генов цитокинов мышей с помощью ПЦР в реальном времени для изучения ответа иммунной системы мышей на разные типы воздействий, такие как инфекции микроорганизмов, токсины и др.;

представлены результаты тестирования препарата «Полиантигенная вакцина для профилактики и вспомогательного лечения туберкулеза ЛТБвак», которые показали перспективность дальнейших клинических испытаний его как профилактического и терапевтического противотуберкулезного препарата;

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

результаты обоснованы большим объемом экспериментальных данных, полученных на сертифицированном и прошедшем поверку оборудовании, воспроизводимость результатов подтверждена проведением серии независимых экспериментов, проведена их статистическая обработка;

идея диссертационного исследования о значимости гипервирулентных, мультирезистентных штаммов *M. tuberculosis*, принадлежащих к генотипу Beijing, опирается на анализ имеющихся в научной литературе экспериментальных и теоретических данных, а также на обобщение знаний международных экспертов в области молекулярной эволюции возбудителя туберкулеза;

установлена корреляция полученных автором результатов с опубликованными ранее в научной литературе данными независимых зарубежных и отечественных авторов, касающимися генетического контроля множественной (МЛУ), пред-широкой (пред-ШЛУ) и широкой (ШЛУ) лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*;

использованы современные методы статистической обработки информации, в том числе программа GraphPad Prism версии 8.0.1, включающая в себя оценку выживаемости животных по критерию Гехана-Бреслоу-Уилкоксона, определение индекса роста и S_{max} культуры по непарному *t*-критерию Стьюдента, оценку бактериальной обсемененности органов животных по непараметрическому критерию Манна-Уитни или дисперсионному анализу ANOVA, полуколичественную гистологическую оценку по непарному *t*-критерию Уэлча, анализ относительных уровней транскрипции генов методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$ по Livak, 2001 и оценку представленности транскриптов генов методом математического моделирования по Pfaffl, 2001.

Личный вклад соискателя состоит в анализе научной литературы, планировании экспериментов, выполнении микробиологических, молекулярно-генетических, биохимических, биологических экспериментов и анализе полученных результатов, в подготовке материалов для публикаций, в представлении устных и стендовых докладов на конференциях.

На заседании 09.09.2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Фурсову М.В. за решение актуальной научно-практической задачи, связанной с молекулярно-генетической характеристикой гипервирулентных штаммов *M. tuberculosis*, которое может быть квалифицировано как научное достижение современной микробиологической науки, ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.11. Микробиология и 3 доктора наук по специальности 1.5.4. Биохимия, дополнительно введенных на одно заседание, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета (23 человек основного состава совета и 3 человек, дополнительно введенных на одно заседание), проголосовали: за 22, против 0, недействительных бюллетеней нет.

Председатель
диссертационного совета
д.б.н., профессор


(Шемякин Игорь Георгиевич)

Ученый секретарь
диссертационного совета
д.б.н., доцент


(Хохлова Ольга Евгеньевна)

Дата оформления Заключения – 09.09.2022 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.

