

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Гостева Владимира Валерьевича «Популяционная структура *Staphylococcus aureus* и траектории эволюции устойчивости к антимикробным препаратам», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Диссертационная работа Гостева В.В. представляет собой капитальный труд, содержащий научное и практическое обоснование популяционной структуры *Staphylococcus aureus* и траекторий эволюции его устойчивости к антимикробным препаратам.

Автором впервые предложены эволюционные модели, объясняющие появление клонов ST8 и ST239 на территории Российской Федерации и предполагающие формирование MRSA задолго до внедрения метицилина в клиническую практику (1930 – 1950 гг.). Установлено, что клоны ST8, длительно циркулирующие на всей территории России, имеют общее происхождение с европейскими клонами, но в настоящее время эволюционируют как отдельные генетические линии. Клоны ST239 представлены разными кластерами, что предполагает их многократный импорт.

В данном исследовании убедительно показана популяционная структура циркулирующих CA-MRSA и определены доминирующие клоны – ST22 и ST59. Выявлен отдельный кластер – «Газа клон» сиквенс типа ST22. Впервые для молекулярно-эпидемиологического анализа клонов ST22, циркулирующих в других странах проведен филогенетический анализ. Среди CA-MRSA выявлен ранее не описываемый в Российской Федерации клон ST59, который относится к Восточно-Азиатскому кластеру.

Большой раздел диссертационной работы посвящен характеристике фенотипов OS-MRSA, характеризующиеся мутациями в промоторе гена *tesA*, низкой его экспрессией, а также фенотипической гетерорезистентностью к оксациллину, описанную впервые на территории РФ. Установлено, что OS-MRSA способны быстро трансформироваться в MRSA за счет хромосомных мутаций, влияющих на формирование устойчивости к бета-лактамам антибиотикам, независимо от *tesA*. Основная опасность OS-MRSA – это сложность корректной лабораторной детекции данного фенотипа, которая может привести к назначению неадекватной антибактериальной терапии.

Значительное внимание автор посвятил изучению начальных этапов становления резистентности. При этом им установлено, что при формировании устойчивости к бета-лактамам затрагивается процесс изменения метаболизма c-di-AMP за счет мутаций в *gdpP*. У мутантов, полученных при селекции на разных бета-лактамах, детектируются мутации в

пенициллинсвязывающих белках, системах регуляции, биосинтеза клеточной стенки, генах генерального метаболизма. Селекция мутаций может происходить через формирование множества минорных клонов с различными полиморфизмами, последующей экспансией единичных клонов, их доминированием и закреплением во всей популяции, что было продемонстрировано при анализе данных геномного секвенирования с обнаружением минорных (редких) генетических событий, а также фенотипически, с использованием популяционного анализа.

В диссертационной работе показано, что приобретение устойчивости сопровождалось снижением скорости роста бактериальных культур, наиболее значимые изменения были выявлены при формировании устойчивости к даптомицину. Это позволяет прогнозировать длительный процесс эволюции устойчивости к препаратам, действующим на цитоплазматическую мембрану, что может являться вектором для будущих разработок антибактериальных препаратов.

Диссертационная работа В.В. Гостева имеет большое практическое значение, в частности, в диагностическом процессе, фармакологии (корректировка существующих схем антибактериальной терапии), а также при разработке лабораторных диагностических платформ. Предложенные модели эволюции доминирующих генетических линий могут быть использованы в эпидемиологическом мониторинге за эволюцией MRSA на территории РФ. Характеристика циркулирующих «клонов высокого риска» является важным эпидемиологическим звеном в системе здравоохранения для сохранения национальной безопасности в нашей стране.

Особую значимость имеют выявленные MRSA-изоляты с ложной чувствительностью к бета-лактамам, циркулирующие на территории РФ. Такие фенотипы представляют опасность из-за возможного определения ошибочной чувствительности в лабораториях системы здравоохранения РФ. В работе приведен сравнительный анализ эффективности разных методов выявления OS-MRSA фенотипов. Полученные в ходе выполнения научной работы по эволюции устойчивости *in vitro* могут быть использованы при разработке и поиске новых антибактериальных препаратов. Производные устойчивые штаммы могут быть использованы в качестве тест-культур для оценки чувствительности к гликопептидным, липопептидным и бета-лактамам антибиотикам или как референс-штаммы для постановки PAP-анализа, «time-killing»-анализа.

Значительную практическую ценность представляют штаммы, депонированные в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболensk). Они доступны для практического и научного использования. Полученные данные по исследованию гетерорезистентности, антибиотикотолерантности, общих путей

формирования устойчивости *S. aureus* к бета-лактамам, гликопептидам, даптомицину могут быть использованы для разработки и оптимизации существующих схем антибактериальной терапии.

Научная работа Гостева В.В., безусловна, актуальна, обладает очевидной научной новизной и практической значимостью.

Диссертационная работа является качественным научным исследованием, выполнена на большом фактическом материале и на высоком научном уровне. Обоснованность и достоверность полученных результатов исследований не вызывает сомнений. Основные материалы диссертации опубликованы в 23 высокорейтинговых отечественных и зарубежных журналах, 5 изобретений защищены патентами.

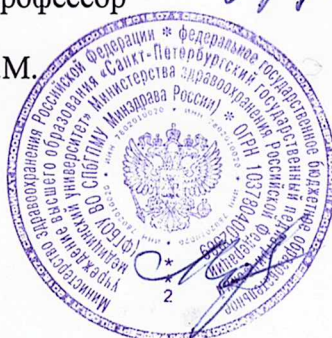
Диссертационная работа Гостева В.В. на тему: «Популяционная структура *Staphylococcus aureus* и траектории эволюции устойчивости к антимикробным препаратам», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11. «Микробиология», является законченной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Гостев Владимир Валерьевич, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11. «Микробиология».

Профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета» Минздрава России, лауреат Государственной премии СССР, д.м.н., профессор

Подпись д.м.н, профессора Королюка А.М.

удостоверяю

Ученый секретарь ученого совета  
к.ф.н, доцент



Королюк  
Александр  
Михайлович

26.04.2014

Могилева И.И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Адрес: 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2, [spb@gpmu.org](mailto:spb@gpmu.org), [microb3@mail.ru](mailto:microb3@mail.ru)