

ФМБА РОССИИ
Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Детский научно-клинический центр
инфекционных болезней
Федерального
медико-биологического агентства»
(ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России)

«УТВЕРЖДАЮ»

И. о. Директора ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России,
д. м. н., профессор, чл.-корр. РАН,
Жданов К.В.



« 16 » 2024

адрес: 197022, Санкт-Петербург
ул. Профессора Попова, д.9
тел. (812) 234-60-04 факс (812) 234-9691
e-mail: niidi@niidi.ru; nii_detinf@fmbamail.ru
ОКПО 01966495, ОГРН 1037828009548
ИНН/КПП 7813045265 / 781301001

16.01.2024 № 0124/30

на № _____ от _____

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального Медико-биологического агентства» о диссертационной работе

Гостева Владимира Валерьевича

Диссертационная работа «Популяционная структура *Staphylococcus aureus* и траектории эволюции устойчивости к антимикробным препаратам» выполнена в научно-исследовательском отделе медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального Медико-биологического агентства» (ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России).

В период подготовки диссертационной работы Гостев В.В. работал в НИО медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России научным сотрудником, а с 2019 г. – старшим научным сотрудником.

В 2007 г. Гостев В.В. закончил Курганский Государственный Университет по специальности «Биология».

В 2013 г., после окончания аспирантуры в ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, защитил диссертацию на соискание научной степени кандидата биологических наук «Фенотипическая и генотипическая характеристика метициллинрезистентных

представителей вида *Staphylococcus aureus*» по специальности 03.02.03 «микробиология» в диссертационном совете Д 208.130.01 ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва.

Научный консультант – Сидоренко Сергей Владимирович, чл.-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий НИО медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России (тема НИР 018-Д1), а также по результатам выполненных грантов РНФ: 15-15-00185 (2015 - 2017), 18-75-10114 (2018 – 2021), 18-75-10114-П (2021 – 2023).

По результатам обсуждения диссертационной работы было принято следующее заключение.

Диссертация Гостева В.В. является законченным научным исследованием, выполненным на современном научно-методическом уровне. В диссертации проведена детальная характеристика популяционной структуры доминирующих MRSA, циркулирующих в РФ с использованием геномных подходов, обладающих наибольшей разрешающей способностью. Выявлена связь с другими глобально-циркулирующими клонами, полученные результаты послужили отправной точкой для молекулярно-эпидемиологического анализа циркулирующих клонов ST22 в других странах. Траектории эволюции устойчивости к разным антимикробным препаратам охарактеризованы с использованием экспериментов с направленной селекцией *in vitro*. Результаты проведенного исследования имеют как теоретическую, так и практическую значимость, формируя новые знания о *S. aureus*, механизмах формирования резистентности к антибиотикам и способам их адекватной лабораторной оценки.

Личный вклад автора состоит в участии на всех этапах выполнения диссертационного исследования, начиная от постановки цели, задач, проработки дизайна исследования и методологии до написания текста. Автор принимал участие на всех этапах лабораторного исследования: ведение коллекции бактериальных культур, проведение лабораторных, микробиологических методов исследований, молекулярного типирования, геномного секвенирования и биоинформатического анализа.

О достоверности полученных результатов свидетельствуют следующие сведения. Полученные результаты были рецензированы в различных международных и российских изданиях. Статистика по цитируемости публикаций, в отношении списка опубликованных по теме диссертации работ (n=24) с 2015 – 2023 гг., составляет: суммарно 130 цитирований, в среднем 6 цитирований на публикацию, индекс Хирша (РИНЦ) по данной выборке публикаций – 7; не цитируемых работ – 6 (опубликованные работы в 2022-2023гг.). Часть результатов экспериментальных работ рецензирована экспертами Российского Научного Фонда (РНФ), по грантам которого выполнялись фрагменты исследований. Приведенные аргументы свидетельствуют о достоверности полученных результатов.

Новизна исследования. Впервые получена детальная характеристика популяционной структуры с оценкой времени дивергенции и анализом связей с глобально-распространенными клонами, циркулирующих на территории РФ доминирующих внутрибольничных и внебольничных генетических линий MRSA. Впервые проведен сравнительный анализ резистомов в зависимости от клональной принадлежности *S. aureus*. Впервые в России описаны штаммы, характеризующиеся ложной чувствительностью MRSA к бета-лактамам антибиотикам. В опытах по селекции устойчивости *in vitro* установлено, что формирование устойчивости происходит через гетерорезистентность. Приведено описание новых механизмов резистентности.

Теоретическая значимость работы. В диссертационной работе затрагиваются такие фундаментальные вопросы, как популяционные траектории эволюции, в частности эффект клонального сдвига, отражающийся в появлении и исчезновении разных клонов с какими-либо уникальными биологическими особенностями в стафилококковых популяциях. Расчет времени дивергенции и время появления первых клонов MRSA демонстрирует, что они появились задолго до внедрения первых бета-лактамов антибиотиков в клинической практике, что позволяет иначе оценить стафилококковую эволюцию. Траектории эволюции, затрагивающие формирование мутационных резистомов посредством разных мутационных событий показывают, что путей формирования устойчивости может быть множество, но эволюционный путь (траектория) по которому пойдет развитие, ограничивается биологической ценой сопротивления и уровнем устойчивости к антибиотикам.

Практическая значимость работы. Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы Гостева В.В., могут быть полезны для медицины, в частности в

диагностическом процессе, фармакологии (корректировка существующих схем антибактериальной терапии), а также при разработке лабораторных диагностических платформ. Данные анализа популяционной структуры могут быть использованы в эпидемиологическом мониторинге за эволюцией золотистого стафилококка на территории РФ. Полученные и детально охарактеризованные в ходе выполнения диссертации штаммы оформлены в виде изобретений (получено пять патентов РФ). Изобретения относятся к медицинской микробиологии и могут быть использованы в качестве тест-культур для оценки чувствительности к гликопептидным, липопептидным и бета-лактамам антибиотикам или как референс-штаммы для постановки РАР-анализа, «time-killing»-анализа; для поиска новых мишеней в клетке с целью разработки новых потенциальных антибактериальных препаратов; для тестирования новых потенциальных антимикробных соединений. Десять штаммов депонировано в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболensk) и доступны для практического и научного использования.

В основе научных положений данной диссертационной работы лежит тщательный анализ поставленной проблемы и полученных автором результатов. В работе четко сформулированы и обоснованы научные положения и выводы. Выносимые на защиту положения диссертации опубликованы в рецензируемых журналах, доложены на научных конференциях. Для получения достоверных результатов в работе использовано более 800 культур *S. aureus*, относящихся к различным генетическим линиям. Исследование выполнено с использованием современного исследовательского оборудования. Были использованы современные международные протоколы и стандарты исследований, касающихся разделов по оценке чувствительности и молекулярного типирования бактерий. Экспериментальные работы проводились с необходимыми биологическими повторностями и включением надлежащих контролей. На всех этапах использовались контрольные референсные штаммы АТСС. Полученные данные наглядно представлены в диссертационной работе в виде таблиц, рисунков, графиков и результатов филогенетического анализа. Статистическая обработка полученных данных проведена адекватно и грамотно с использованием современных методов статистического анализа. Исходя из вышеуказанного, научные положения, выдвигаемые диссертантом, выводы и заключения, сформулированные в результате работы, обоснованы и достоверны. Результаты работы были представлены на 40 различных международных и всероссийских конгрессах, опубликовано 32 печатные работы, из них, 24 работы – в изданиях,

рекомендованных ВАК и индексируемые в базах данных РИНЦ, Scopus или Web of Science, включая 8 публикаций в изданиях, входящих (на момент публикации) в Q1 по системе SJR. Исследование было поддержано гратами РФФ: 15-15-00185, 18-75-10114, 18-75-10114-П, где Гостев В.В. был основным исполнителем или руководителем.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Gostev, V.; Kalinogorskaya, O.; Sopova, J.; et al. Adaptive Laboratory Evolution of *Staphylococcus aureus* Resistance to Vancomycin and Daptomycin: Mutation Patterns and Cross-Resistance. *Antibiotics* 2023, 12, 928 Q1, WoS, Scopus, РИНЦ
2. Gostev, V., Sabinova, K., Sopova, J. et al. Phenotypic and genomic characteristics of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*, rapid selection of high-level resistance to beta-lactams. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 42, 1125–1133 (2023) Q1, WoS, Scopus, РИНЦ
3. Gostev V., Ivanova K., Kalinogorskaya O., Kalisnikova E., Likholetova D., Lobzin Y., Sidorenko S., Kruglov A., Ryabchenko I., Zyryanov S. Comparative Genome Analysis Of Global And Russian Strains Of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* ST22, A ‘Gaza Clone’, *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2021. Т. 57. № 2. С. 106264. Q1, WoS, Scopus, РИНЦ
4. Gostev V., Kalinogorskaya O., Ivanova K., Kalisnikova E., Lazareva I., Starkova P., Sidorenko S. In vitro Selection Of High-Level Beta-Lactam Resistance In Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*, *Antibiotics*. 2021. Т. 10. № 6. Q1, WoS, Scopus, РИНЦ
5. Gostev V., Kalinogorskaya O., Tsvetkova I., Lobzin Y., Sidorenko S., Sopova J., Klotchenko S. In vitro Ceftaroline Resistance Selection Of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Involves Different Genetic Pathways, *Microbial Drug Resistance*. 2019. Т. 25. № 10. С. 1401-1409. Q1, WoS, Scopus, РИНЦ
6. Monecke S., Slickers P., Gawlik D., Müller E., Reissig A., Ehricht R., Ruppelt-Lorz A., Thürmer A., Akpaka P.E., Roberts R., Bandt D., Bes M., Boswihi S.S., Coleman D.C., Shore A.C., Udo E.E., Coombs G.W., Dorneanu O.S., Vremera T., Gostev V.V. et al. Molecular Typing Of ST239-Mrsa-III From Diverse Geographic Locations And The Evolution Of The SCCmec III Element During Its Intercontinental Spread, *Frontiers in Microbiology*. 2018. Т. 9. № JUL. С. 1436. Q1, WoS, Scopus, РИНЦ

7. Gostev V., Kalinogorskaya O., Kruglov A., Lobzin Y., Sidorenko S. Characterisation Of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* With Reduced Susceptibility To Ceftaroline Collected In Russia During 2010–2014, *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2018. Т. 12. С. 21-23. WoS, Scopus, РИНЦ
8. Gostev V., Kalinogorskaya O., Lobzin Y., Sidorenko S., Kruglov A., Ryabchenko I., Dmitrenko O., Khokhlova O., Yamamoto T. Molecular Epidemiology and Antibiotic Resistance Of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Circulating In The Russian Federation, *Infection, Genetics and Evolution*. 2017. Т. 53. С. 189-194. Q1, WoS, Scopus, РИНЦ
9. Wan T.-W., Khokhlova O.E., Iwao Y., Reva I.V., Yamamoto T., Teng L.-J., Peryanova O.V., Higuchi W., Hung W.-C., Reva G.V., Singur O.A., Gostev V.V., Sidorenko S.V., Salmina A.B. Complete Circular Genome Sequence Of Successful ST8/SCCmec IV Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (OC8) In Russia: One-Megabase Genomic Inversion, IS256's Spread, And Evolution Of Russia ST8-IV, *PLoS ONE*. 2016. Т. 11. № 10. С. 164168. Q1, WoS, Scopus, РИНЦ
10. Гостев В.В., Калиногорская О.С., Сулян О.С., Чулкова П.С., Сопова Ю.В., Велижанина М.Е., Плешков В.Ю., Агеевец В.А., Сидоренко С.В. Влияние шоковых концентраций гентамицина на формирование устойчивости и мелкоколониальных фенотипов у *Staphylococcus aureus*. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023. Т. 68. № 9-10. Scopus, РИНЦ
11. Сопова Ю.В., Велижанина М.Е., Кандина Д.А., Гостев В.В., Чулкова П.С., Сулян О.С., Сидоренко С.В. Влияние делеции в некаталитическом домене GdpP на фенотип *Staphylococcus aureus* посредством направленного геномного редактирования с помощью системы CRISPR/CAS9. *Генетика*. 2023. Т. 59. № 9. С. 1094-1098. WoS, Scopus, РИНЦ
12. Гостев В.В., Сидоренко С.В. Гетерорезистентность: клиническое значение и методы выявления (Обзор Литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023. Т. 68. № 7. С. 418-427. Scopus, РИНЦ
13. Гостев В.В., Сулян О.С., Павлова П.А., Нестерова Е.В., Калиногорская О.С., Чулкова П.С., Трофимова Н.Н., Агеевец В.А., Агеевец И.В., Сидоренко С.В. Геномная характеристика mecA-положительных *Staphylococcus aureus* ST59, проявляющих чувствительность к оксациллину. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2023. Т. 25. № 2. С. 116-122. Scopus, РИНЦ

14. Гостев В.В., Сулян О.С., Калиногорская О.С., Попенко Л.Н., Круглов А.Н., Гордеева С.А., Нестерова Е.В., Гладин Д.П., Трофимова Н.Н., Чулкова П.С., Агеевец И.В., Агеевец В.А., Черненькая Т.В. Сравнительная активность липогликопептидных антибиотиков в отношении грамположительных бактерий. Антибиотики и химиотерапия. 2022. Т. 67. № 9-10. С. 18-24. Scopus, РИНЦ
15. Гостев В.В., Пунченко О.Е., Сидоренко С.В. Современные представления об устойчивости *Staphylococcus aureus* к бета-лактамам антибиотикам. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2021. Т. 23. № 4. С. 375-387. Scopus, РИНЦ
16. Гостев В.В., Сопова Ю.В., Калиногорская О.С., Велижанина М.Е., Лазарева И.В., Старкова П.С., Сидоренко С.В. Влияние шоковых концентраций ванкомицина на формирование гетерорезистентности у *Staphylococcus aureus*, Антибиотики и химиотерапия. 2020. Т. 65. № 9-10. С. 3-7. Scopus, РИНЦ
17. Гостев В.В., Сопова Ю.В., Калиногорская О.С., Цветкова И.А., Сидоренко С.В. Селекция устойчивости к даптомицину метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus*: роль гомо- и гетеро-мутаций, Генетика. 2020. Т. 56. № 3. С. 282-291. WoS, Scopus, РИНЦ
18. Гостев В.В., Калиногорская О.С., Юдин С.М., Дмитренко О.А., Кудрявцева А.В., Сидоренко С.В. Полиморфизм генов, участвующих в сборке клеточной стенки у метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* со сниженной чувствительностью к ванкомицину, Антибиотики и химиотерапия. 2018. Т. 63. № 7-8. С. 11-16. Scopus, РИНЦ
19. Сопова Ю.В., Лыхолай А.Н., Гостев В.В., Калиногорская О.С., Сидоренко С.В. Динамика протеома антибиотикорезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* при воздействии субингибирующих концентраций бета-лактамов антибиотиков, Экологическая генетика. 2018. Т. 16. № 2. С. 4-10. Scopus, РИНЦ
20. Хохлова О.Е., Перьянова О.В., Владимиров И.В., Мацкевич В.А., Поткина Н.К., Капшук Д.Н., Копытко Л.Н., Гостев В.В., Сидоренко С.В., Ивао Я., Ямамото Т. Микробиологический мониторинг гнойных осложнений у ожоговых больных и молекулярно-генетические особенности метициллинрезистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA), Антибиотики и химиотерапия. 2017. Т. 62. № 9-10. С. 27-33. Scopus, РИНЦ
21. Гостев В.В., Калиногорская О.С., Дмитренко О.А., Цветкова И.А., Сидоренко С.В. Молекулярные механизмы снижения чувствительности к цефтаролину

метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus*, Антибиотики и химиотерапия. 2016. Т. 61. № 9-10. С. 17-21. Scopus, РИНЦ

22. Гостев В.В., Калиногорская О.С., Попенко Л.Н., Черненькая Т.В., Науменко З.С., Ворошилова Т.М., Захарова Ю.А., Хохлова О.Е., Круглов А.Н., Ершова М.Г., Молчанова И.В., Сидоренко С.В. Антибиотикорезистентность метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus*, циркулирующих в Российской Федерации, Антибиотики и химиотерапия. 2015. Т. 60. № 1-2. С. 3-9. Scopus, РИНЦ

23. Козлов Р.С., Сухорукова М.В., Сидоренко С.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Гостев В.В., Лазарева И.В., Калиногорская О.С., Волкова М.О., Дехнич А.В. Чувствительность основных возбудителей бактериальных инфекций к цефтаролину в российской федерации, Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2015. Т. 17. № 3. С. 217-226. РИНЦ

24. Гостев В.В., Сидоренко С.В. Метициллинрезистентные золотистые стафилококки: проблема распространения в мире и России, Фарматека. 2015. № 6 (299). С. 30-38. РИНЦ

ПАТЕНТЫ НА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Гостев В.В., [и др.]. Штамм метициллинрезистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA), характеризующийся устойчивостью к цефтаролину и используемый в качестве контрольной тест-культуры для определения чувствительности к бета-лактамам антибиотикам (варианты). Патент RU2798788C1.
2. Гостев В.В., [и др.]. Штаммы *Staphylococcus aureus* (MSSA), характеризующиеся тес-независимыми механизмами устойчивости к бета-лактамам и используемые в качестве контрольных тест-культур для определения чувствительности к бета-лактамам антибиотикам. Патент RU2802895C1.
3. Гостев В.В., [и др.]. Штаммы *Staphylococcus aureus*, характеризующиеся устойчивостью к ванкомицину и используемые в качестве контрольных тест-культур для определения чувствительности к гликопептидным антибиотикам. Патент RU2802896C1.
4. Гостев В.В., [и др.]. Штамм *Staphylococcus aureus*, характеризующийся устойчивостью к даптомицину и используемый в качестве контрольной тест-культуры для определения чувствительности к антибиотикам. Патент RU2809847C1.

5. Гостев В.В., [и др.]. Штамм *Staphylococcus aureus* A9, характеризующийся толерантностью к ципрофлоксацину и используемый в качестве контрольной тест-культуры для определения чувствительности к антибиотикам. Патент RU2809538C1.

Диссертация Гостева В.В. «Популяционная структура *Staphylococcus aureus* и траектории эволюции устойчивости к антимикробным препаратам» соответствует паспорту научной специальности 1.5.11 «микробиология», по части следующих пунктов:

1. Проблемы эволюции микроорганизмов, установление их филогенетического положения.
2. Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов.
3. Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов.
4. Исследование микроорганизмов на популяционном уровне.
5. Использование микроорганизмов в народном хозяйстве, ветеринарии и медицине.

Таким образом, диссертация Гостева В.В. рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11 «микробиология».

Заключение принято на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального Медико-биологического агентства». В состав Ученого совета входит 22 человека, из них присутствовали на заседании 18 человек. Результаты голосования: «за» – 18 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол №9 от 24.10.2023 г.

Заведующий научно-исследовательским отделом
интенсивной терапии и неотложных состояний

ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, д.м.н.

А.А. Вильниц

