

## ОТЗЫВ

Официального оппонента Подколзина Александра Тихоновича о научно-практической ценности диссертации Морозовой Ольги Владимировны «Генотиповое разнообразие и филодинамика циркулирующих на территории России ротавирусов, сравнение с вакцинными штаммами» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02. – «Вирусология»

### **Актуальность исследования.**

В Российской Федерации ротавирусная инфекция (РВИ) является лидирующей по распространенности среди инфекционных диарей у госпитализированных детей дошкольного возраста. Выраженная манифестность и тяжесть клинических проявлений при первичном инфицировании у детей младшего возраста, наряду с высокой долей заболеваний, требующих госпитализаций и характеризующихся высокими рисками развития осложнений, обуславливает высокие показатели экономического ущерба от данного заболевания. Перечисленные факторы делают РВИ одной из наиболее приоритетных и перспективных целей для управления средствами специфической профилактики. Несмотря на доказанную эпидемиологическую эффективность ротавирусных вакцин, одобренных ВОЗ для международного применения, накоплено значительное количество наблюдений о достоверных различиях в эффективности вакцинопрофилактики РВИ на различных территориях. Наряду с этим, остается открытым вопрос о возможном влиянии массового применения вакцин на естественную эволюцию популяций ротавирусов. Ответы на данные вопросы находятся в плоскости исследований естественной изменчивости протективных антигенов ротавирусов и оценки их гомологии антигенам вакцинных штаммов ротавирусов.

С учетом вышеизложенного, можно отметить, что диссертационная работа Морозовой Ольги Владимировны, в которой представлена характеристика генетического разнообразия циркулирующих ротавирусов и проведен расчет параметров, характеризовавших их эволюцию, а также сравнение их с вакцинными штаммами является безусловно актуальной, а ее связь с биологической наукой (вирусология) и с прикладными аспектами эпидемиологии очевидна.

Целью проведенной работы явилось характеристика генетического разнообразия и расчет филодинамических параметров циркулирующих ротавирусов, их сравнение с вакцинными штаммами.

Для достижения заявленной цели были поставлены следующие задачи:

Определить типовой состав и дать молекулярно-генетическую характеристику популяции ротавируса вида А в Нижнем Новгороде в период 2016-2020 гг.;

Дать филодинамическую характеристику нижегородских изолятов ротавируса с генотипами G4P[8] и G2P[4] на основе полного генома;

Установить нуклеотидные последовательности фрагментов генов VP7, VP4, VP6 и NSP4 нижегородских ротавирусов;

Провести филогенетический анализ российских и вакцинных штаммов RotaTeq® и Rotarix® на основе генов VP7, VP4, VP6 и NSP4;

Дать сравнительную характеристику выведенных аминокислотных последовательностей в регионах антигенных детерминант белков VP7, VP4, VP6 и NSP4 штаммов ротавирусов дикого типа и компонентов вакцин.

**Научная новизна исследования** заключается в характеристике локальной изменчивости популяции ротавирусов на протяжении длительного периода времени в условиях отсутствия масштабного применения вакцин на примере Нижегородской области. Досконально охарактеризованы антигенные различия VP4 и VP7 белков у вакцинных и циркулирующих штаммов ротавирусов. С применением методов полногеномных исследований охарактеризованы полные генотипы ротавирусов, выявлены их реассортантные штаммы и определены их филогеографические связи.

**Теоретическая и практическая значимость работы** заключается в получении данных, характеризующих естественные эволюционные закономерности, свойственные популяциям ротавирусов. Полученные филодинамические характеристики позволяют совершенствовать эпидемиологический надзор за данным патогеном, а также проводить сравнительный анализ перспективного применения ротавирусных вакцин различных производителей.

#### **Оценка содержания работы.**

Диссертация Морозовой О.В. построена по традиционному принципу, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, полученных результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературных источников и приложений. Диссертация изложена на 173 страницах, содержит 20 рисунков и 13 таблиц. Список литературы состоит из 27 отечественных и 313 зарубежных источников.

Глава 1 - «Обзор литературы» достаточно полно отражает современные представления о классификации ротавирусов, их репликации, особенностях иммунного ответа на ротавирусную инфекцию. Значительная часть обзора посвящена вопросам вакцинопрофилактики РВИ с характеристикой современных вакцин, оценкам

эффективности их применения в различных странах и перспективам внедрения в Российской Федерации. Обзор заканчивается краткими выводами, подтверждающими актуальность тематики проведенного исследования и его дизайна.

В главе 2 «Материалы и методы» дана характеристика включенных в исследование образцов материала. В работу было включено 6100 клинических образцов от госпитализированных с подозрением на инфекционные диареи детей в возрасте младше 14 лет. Методами генотипоспецифичной ПЦР и РНК-ПААГ было исследовано 1661 образец, содержащий РНК ротавирусов гр А. Также в работу были включены образцы архивного материала. В данной главе представлена подробная информация по используемым в работе методам генетических и биоинформатических исследований. Используемый набор методов исследований является современным и соответствует поставленным задачам.

Результаты собственных исследований и обсуждение их результатов представлены автором в третьей главе.

В ней последовательно отражены результаты характеристики популяций ротавирусов, циркулирующих на территории Нижегородской области, распределение доминирующих антигенных типов и структура Wa- и DS-1 подобных реассортантов.

За суммарный период наблюдений 2016-2020 гг. выявлено превалирование G9P[8] генотипа ротавирусов, составлявшего 47% от числа всех изолятов, а также значительное возрастание доли G2P[4] генотипа. Была доказана гетерогенность циркулирующей популяции ротавирусов G2P[4] генотипа, представленных двумя наиболее распространенными комбинациями аллелей VP7 и VP4. Особый интерес представляет выявление значительной доли (2,6%) реассортантов Wa/Ds-1 штаммов, объединявших нейтрализующие антигенные детерминанты G1P[8] штаммов с VP6 и NSP4 сегментами, характерными для штаммов G2P[4] генотипа.

На основе данных полногеномной характеристики ротавирусов представлена филодинамическая характеристика отдельных генотипов и определены филогенетические отношения ротавирусов глобальных генотипов, циркулирующих на территории Российской Федерации. Автором представлены результаты ретроспективной реконструкции временного и территориального происхождения штаммов ротавирусов, полученные с применением Байесовских алгоритмов анализа.

В отдельном разделе главы проведен подробный сравнительный анализ секвенциальных и нейтрализующих VP4, VP7 и VP6 антигенных эпитопов вакцинных штаммов и штаммов ротавирусов глобальных генотипов, характерных для нашей страны.

В заключении автор подводит краткие итоги всех стадий проделанной работы и интерпретирует полученные результаты.

### **Обоснованность и достоверность полученных результатов.**

Обоснованность научных выводов и положений диссертационной работы обеспечивается эффективным выбором методологии исследований, их объемом и логической интерпретацией полученных результатов.

Основные научные положения диссертации изложены в 15 научных работах, в том числе 7 - в изданиях, рекомендованных ВАК по специальности 03.02.02 вирусология, а также индексированных в Scopus и Web of Science.

Результаты работы могут быть рекомендованы к более широкому дальнейшему практическому применению в целях совершенствования эпидемиологического надзора за ротавирусной инфекцией и совершенствования подходов к вакцинопрофилактике данного заболевания в Российской Федерации. Использование результатов исследования в учебном процессе позволит повысить эффективность обучения студентов и специалистов, проходящих послевузовскую подготовку по специальности «вирусология».

Принципиальных замечаний к изложенным в диссертации материалам нет.

В ходе ознакомления с диссертационной работой возникли следующие **вопросы**:

- Были ли выявлены в работе случаи сочетанного наличия в образцах клинического материала ротавирусов различных генотипов, в том числе G1P[8] и G2P[4]?

- С чем связано различие в числе секвенированных фрагментов VP7 (124), VP4 (48), VP6 (30) и NSP4 (15)?

- Какой материал использовался для подготовки библиотек для полногеномного секвенирования (клинические образцы или культуральная жидкость)? Применялись ли автором методы обогащения клинического материала для проведения полногеномного секвенирования ротавирусов? Если да, то какие и каков параметр полученного эффективного покрытия различных сегментов генома?

### **Заключение.**

Диссертация Морозовой Ольги Владимировны «Генотиповое разнообразие и филодинамика циркулирующих на территории России ротавирусов, сравнение с вакцинными штаммами», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «Вирусология», является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи характеристики генетического разнообразия и расчета филодинамических параметров циркулирующих ротавирусов и их сравнения с вакцинными штаммами, имеющей значение для развития вирусологии, в ней изложены научно-обоснованные решения, имеющие существенное значение для развития страны.

Работа Морозовой Ольги Владимировны полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями Постановления Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02. – «Вирусология».

Заместитель директора ФБУН «Центральный НИИ  
эпидемиологии» Роспотребнадзора, д.м.н.



Подколзин А.Т.

20.04.2022.

Подпись *Г.М.Н.*  
*Подколзина А.Т.* заверяю  
Ученый секретарь *Гусева А.С.*  
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора *Г.С.*

## СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте Подколзине Александре Тихоновиче по диссертации Морозовой О.В. «Генотиповое разнообразие и филогенетика циркулирующих на территории России ротавирусов, сравнение с вакцинальными штаммами» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02. – «Вирусология»

№ пп	Фамилия, имя, отчество	Место основной работы, должность	Ученая степень, звание, шифр специальности	Основные научные труды
1	2	3	4	5
	Подколзин Александр Тихонович	ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, заместитель директора	доктор медицинских наук по специальности: 14.02.02 – «Эпидемиология», 14.01.09 – «Инфекционные болезни»	<p>1. Global phylogeography and evolutionary history of <i>Shigella dysenteriae</i> type 1 / Njamkero E., Fawal N., Tran-Dien A., Nawkey J., Stockbine N. et al. // <i>Nat Microbiol.</i> – 2016. – V. 1(11). – P. 16209.</p> <p>2. Результаты мониторинга антигенных типов ротавирусов группы А на территории российской федерации в период 2011-2015 гг. / Зайцева Е.В., Ольнева Т.А., Кулешов К.В., Кондратьева Л.М., Шихина Т.М. и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61. № 7. – С. 445-448.</p> <p>3. Global Spread of Norovirus GII.17 Kawasaki 308, 2014-2016 / Chan M.C.W., Hu Y., Chen H., Rodkolzin A.T., Zaytseva E.V. et al. // <i>Emerg Infect Dis.</i> – 2017. – V. 23 (8). – P. 1359-1354.</p> <p>4. Burden of Childhood Rotavirus Disease in the Outpatient Setting of the Russian Federation / Lobzin Y.V., Kharit S.M., Goveia M.G., O'Brien M.A., Rodkolzin A.T., Blokin B.M., Bekherueva M.K., Rudakova A.V., Tikunova N.V. // <i>Pediatr Infect Dis J.</i> – 2017. – V. 36(5). – P. 472-476.</p> <p>5. Molecular surveillance of norovirus, 2005-16: an epidemiological analysis of data collected from the NoroNet network / van Beek J., de Graaf M., Al-Hello H., Allen D.J., Ambert-Balau K. et al. // <i>Lancet Infect Dis.</i> – 2018. – V. 8(5). – P. 545-553.</p>

			<p>6. Оценка эпидемиологических эффектов применения пятивалентной ротавирусной вакцины при низком уровне охвата вакцинацией целевой когорты / Кожанмстова Т.А., Кулешов К.В., Яснова Д.Х., Коновалова Т.А., Паркина Н.В., Подколзин А.Т. // Журнал инфектологии. – 2019. – Т. 11. № 3. – С. 71-76.</p>
--	--	--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Заместитель директора ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»  
Роспотребнадзора, д.м.н.



Подколзин А.Т.