

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата медицинских наук Боднева Сергея Александровича на диссертацию Капустина Дмитрия Вячеславовича «Клинико-эпидемиологическая и молекулярно-генетическая характеристика острых кишечных вирусных инфекций в Новосибирской области», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни

Актуальность проблемы

Острые кишечные инфекции (ОКИ) являются одной из важных проблем современного здравоохранения во всем мире. В течение длительного времени возникновение кишечных инфекций связывали с употреблением загрязненной воды и продуктов питания, и ОКИ считались проблемой развивающихся стран, в которых источники водоснабжения и пищевые продукты могли стать причиной масштабных вспышек кишечных инфекций. Однако, несмотря на постоянное улучшение качества питьевой воды и продуктов питания, а также строгий санитарно-эпидемиологический контроль за объектами окружающей среды, и в экономически развитых странах проблема кишечных инфекций стоит достаточно остро. Как в России, так и в США случаи заболевания кишечными инфекциями занимают одно из ведущих мест среди инфекционных заболеваний, уступая по распространенности лишь инфекциям респираторного тракта. ОКИ проявляются в виде острого гастроэнтерита, основными симптомами которого, как правило, являются тошнота, рвота, диарея, сопровождающиеся обезвоживанием. По данным ВОЗ, смертность, ассоциированная с гастроэнтеритом, составляет 5-7 миллионов человек ежегодно. В связи с развитием и усовершенствованием средств диагностики спектр известных патогенов - возбудителей ОКИ постоянно расширяется, и в настоящее время значительную часть из них составляют вирусные патогены: ротавирусы групп А, В, С, астровирусы серотипов 1-8, аденовирусы типов 40, 41, норовирусы и саповирусы, входящие в семейство калицивирусов, энтеровирусы и другие. Наименее изученными из них являются

калицивирусы. Это связано с трудностями культивирования этих вирусов, а также с отсутствием адекватной модели заболевания на животных. Тем не менее, благодаря развитию и усовершенствованию молекулярно-биологических методов диагностики достигнуты значительные успехи в изучении патогенеза и эпидемиологии калицивирусной инфекции. Семейство *Caliciviridae* состоит из четырех родов, из которых патогенными для человека являются представители родов *Norovirus* и *Sapovirus*, при этом наиболее часто в клинических образцах от больных выявляются норовирусы. Их распространенность при спорадической заболеваемости составляет 10-15% от всех случаев ОКИ.

Современные методы ИФА- и ПЦР-диагностики позволили достаточно подробно изучить этиологию и клинические особенности кишечных инфекций вирусной этиологии у детей, при этом была установлена доминирующая роль ротавирусной инфекции в структуре ОКИ, а также определен и расширен спектр возбудителей данной группы заболеваний. Актуальность исследования кишечных инфекций у детей не подвергается сомнению, так как в этой возрастной группе населения в связи с незрелостью системы гомеостаза наиболее часто возникают угрожающие жизни состояния. Однако указанные методы обследования, несмотря на высокую актуальность, до сих пор не в полной мере внедрены в стационарах для взрослых больных, поэтому до настоящего времени сохраняется высокий процент этиологически неуточненных кишечных инфекций у взрослых, среди которых особенно следует выделить беременных женщин, что ставит данную патологию в ряд важных медико-социальных проблем.

Несмотря на широкомасштабные исследования этиологии кишечных инфекций у детей, проведенные на территории Новосибирской области, этиологические аспекты вирусных кишечных инфекций у взрослых в этом регионе до сих пор изучены недостаточно, что определяет необходимость проведения не только эпидемиологических, но и молекулярно-генетических исследований, в том числе и для прогнозирования вариантов течения

заболевания. Следует приветствовать инициативу автора диссертации, который взялся за изучение сложной и важной как в научном, так и в практическом плане проблемы. Систематические исследования этиологической значимости норо-, рота- и астровирусов, вызывающих ОКИ у взрослых, а также их генотипическая характеристика в Новосибирской области ранее не проводились. Помимо этого, в литературе отсутствуют данные о частоте, этиологической структуре, особенностях течения вирусных ОКИ у такой особенной категории пациентов, как беременные, не существует регламентирующих документов по лечению ОКИ у данной категории больных.

Таким образом, автор поставил перед собой цель не только установить частоту острых кишечных вирусных инфекций у взрослых в Новосибирской области, а также установить их этиологическую структуру, определить их клинико-эпидемиологические особенности и молекулярно-генетическое разнообразие для обоснования рациональных подходов к диагностике и лечению.

В связи с вышесказанным актуальность диссертационной работы и ее научная новизна не вызывают никаких сомнений.

Для изучения вопросов клинико-эпидемиологической характеристики острых кишечных инфекций автор поставил перед собой несколько комплексных задач: 1) определение частоты выявления РНК норо-, рота-, астровирусов в образцах фекалий обследованных больных, включая беременных, с оценкой их молекулярно-генетического разнообразия; 2) определение их клинико-эпидемиологических и лабораторных особенностей; 3) оценка эффективности терапии беременных женщин с включением в лечебное питание синбиотика.

Задачи исследования охватывают весь круг вопросов изученной проблемы.

Общая характеристика работы, представленная во введении, содержит достаточную аргументацию научной новизны проведенного исследования. Диссертантом впервые получены данные о частоте норо-, рота-, астровирусной кишечных инфекций у взрослых, госпитализированных больных в Новосибирской области в 2016-2018 гг на выборке более чем 1500 человек. В анализе полученных данных использовался широкий спектр статистических подходов, повышающих достоверность результатов. Установлено, что в структуре вирусных диарей доминировала норовирусная инфекция (60%), на втором месте находилась ротавирусная инфекция (32%), астровирусная инфекция составила 8%.

Впервые проведено сравнительное изучение клинико-эпидемиологических и лабораторных особенностей вирусных кишечных инфекций различной этиологии у госпитализированных взрослых в Новосибирской области. В частности, показано, что норовирусная ОКИ в большинстве случаев протекала в среднетяжелой форме с большей частотой фебрильной лихорадки по сравнению с ротавирусной и астровирусной ОКИ, рвоты по сравнению с астровирусной инфекцией, болей в эпигастрии по сравнению с ротавирусной инфекцией и лимфоцитоза в анализе крови.

Впервые представлена генетическая характеристика вирусных возбудителей острых кишечных инфекций у взрослых в Новосибирской области. Важным достижением автора является также определение превалирующих в периоде выполнения работы субтипов норовирусов, а также выявление новых их рекомбинантных штаммов. Установлено, что тяжелая степень дегидратации регистрировалась чаще при норовирусной инфекции, чем при ротавирусной и астровирусной, при этом у большинства больных с тяжелой дегидратацией выявлены рекомбинантные штаммы, ранее не встречавшиеся в Новосибирской области, что является не только новыми научными данным о эпидемиологии норовирусов, но и важным прогностическим признаком для использования в практической медицине.

Впервые дана характеристика острых кишечных инфекций у беременных женщин, установлена высокая частота вирусной этиологии заболевания (53,3%) с существенным преобладанием норовирусной инфекции (51,4%) над ротавирусной (2%). Было установлено, что при включении в лечебное питание беременным с кишечной инфекцией норовирусной и неуточненной этиологии синбиотика, содержащего лиофилизированные штаммы *Lactobacillus acidophilus* (La-5), *Bifidobacterium lactis* (Bb12), фруктоолигосахарид рафтилозу происходит более раннее купирование диареи по сравнению с больными, получавшими стандартную диету, что является неоспоримым практическим результатом автора.

Таким образом, данная работа выполнена на большом клиническом материале и высоком методическом уровне. Автором использованы адекватные методы статистического анализа, позволившие провести корректную оценку полученных данных, что обеспечивает достоверность сделанных на их основе заключений и выводов.

Практическая значимость диссертации определяется, в первую очередь, усовершенствованием диагностики ОКИ вирусной этиологии у взрослых пациентов Новосибирской области, важностью использования предложенной автором схемы обследования больных ОКИ, чувствительностью и информативностью избранных тестов. Проведенное исследование распространенности норо-, рота-, астровирусной инфекции показало значимость вирусов в заболеваемости ОКИ и позволило определить этиологическую причину в случаях, ранее относившихся к кишечным инфекциям неустановленной этиологии (КИНЭ). Показано преобладание норовирусной ОКИ у взрослых и, особенно, у беременных женщин. Установленный автором факт, вероятно, является косвенным обоснованием высокой частоты встречаемости норовирусной инфекции у детей раннего возраста, для которых источником инфекции в первую очередь является взрослое окружение. В связи с этим очень актуальным становится

проведенное автором исследование по комплексному лечению диарей у беременных.

Комплексная оценка клинических и молекулярно-генетических особенностей у пациентов с ОКИ в ряде случаев позволяет прогнозировать варианты течения заболевания, может служить дополнительным критерием в оценке степени тяжести заболевания. Предложенные новые диагностические приемы улучшат качество обследования и лечения больных ОКИ.

Модифицирование диетотерапии беременных с ОКИ с включением синбиотика, содержащего лиофилизированные штаммы *Lactobacillus acidophilus* (La-5), *Bifidobacterium lactis* (Bb12) и фруктоолигосахарозу, позволяет уменьшить продолжительность диарейного синдрома, что также, безусловно, применимо для всех категорий госпитализированных пациентов, включая детей.

Общая характеристика работы:

Диссертация имеет классическую структуру научных работ и изложена на 155 страницах, состоит из введения, 7 глав (обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения), выводов, практических рекомендаций, списка условных сокращений и списка литературы, включающего 207 источников, из которых 57 отечественных и 150 зарубежных авторов, списка иллюстративного материала. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 19 рисунками.

Во введении автор обосновывает актуальность исследования, формулирует цель и задачи, отражает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, а также основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы, которому посвящена первая глава, рассмотрены наиболее актуальные вопросы, касающиеся возбудителей вирусных кишечных инфекций, эпидемиологии, патогенеза, клинических проявлений, которые описаны преимущественно у детей, сложностях диагностики

различных форм, лечения и профилактики. Обзор литературы по форме и содержанию написан логично, структурировано, с глубоким анализом затронутых вопросов, представленных в теме диссертации, что свидетельствует о высоком теоретическом уровне подготовки диссертанта, способного свободно интерпретировать результаты исследований различных авторов.

Во второй главе диссертации приведены сведения о больных и исследуемых группах, структуре и методах, используемых в данной работе. В главе даны критерии включения пациентов в исследуемые группы. Приводится подробная информация относительно методов оценки клинического течения ОКИ, а так же наглядно представлена методология проведенного исследования. Автором обследовано 1603 больных ОКИ, включая 103 беременных женщины. Этиологическая верификация диагноза вирусных ОКИ проводилась с использованием диагностических систем на основе метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления в фекалиях РНК ротавирусов групп А и С, норовирусов GII и астровирусов с последующим секвенированием полученных ампликонов с целью дальнейшего генотипирования. Методы исследования современные и информативны, использовались в сопоставлении с клиническими данными. Представление собственных материалов диссертант осуществляет так же логично и последовательно, как и написание данных литературы, в строгом соответствии с целью и задачами работы.

В главе 3 приведена этиологическая и эпидемиологическая характеристики острых кишечных инфекций у взрослых в Новосибирской области. Установлено, что частота встречаемости вирусных кишечных инфекций (норо-, рота-, астровирусных) в Новосибирской области составляет 22%, при этом ежегодно идет неуклонное повышение регистрации данных форм. Доля больных ОКИ с верифицированной бактериальной этиологией (сальмонеллы, шигеллы) в этом исследовании была небольшой, составив 15,9%. Другие уточненные бактериальные инфекции (вызванные условно-

патогенными возбудителями) выявлены у 90 человек (6,0%). Микст-инфекции, вызванные вирусами + бактериями, верифицированы у 2,2% человек. Полученные данные свидетельствуют о высокой доле вирусных агентов в общей этиологической структуре острых кишечных инфекций у взрослых, однако до проведения настоящего исследования их роль в общей структуре ОКИ у взрослых больных в Новосибирске не уточнялась. 62% ОКИ осталось неуточненными, среди них можно предполагать наличие как бактериальных инфекций, таких как эшерихиозы, кампилобактериозы, ОКИ, вызванные анаэробной микрофлорой, а также вирусных инфекций (аденовирусной, энтеровирусной, коронавирусной, пестивирусной, торовирусной, и др. этиологии). Установленная высокая частота вирусных ОКИ у взрослых показывает необходимость разработки и внедрения в клиническую практику универсальных тест-систем для диагностики наиболее распространенных вирусных возбудителей□.

В главе 4 представлена молекулярно-генетическая характеристика острых кишечных вирусных инфекций. Следует указать, что данное изучение генетической характеристики вирусов, возбудителей ОКИ, у взрослых на территории РФ проводилось впервые. Установлено высокое генетическое разнообразие циркулирующих изолятов норовирусов, выделенных от взрослых больных с симптомами ОКИ, при этом автором были обнаружены новые рекомбинантные штаммы. Помимо этого, автором идентифицирован широкий спектр ротавирусов, циркулирующих среди взрослых. Социркуляция ротавирусов различных генотипов также создает основу для формирования смешанных популяций и реассортантных штаммов, характеризующихся различными сочетаниями генов.

Полученные диссертантом данные свидетельствуют о необходимости постоянного мониторинга циркуляции норо-, рота-, астровирусов в связи с высоким уровнем их генетической изменчивости, обуславливающим появление генетических вариантов с новыми свойствами. Последнее может повлечь за собой изменение эпидемиологической ситуации, включая

возникновение эпидемических вспышек, а также более выраженную манифестацию клинических проявлений болезни.

В главе 5 представлена клиническая и лабораторная характеристика острых кишечных инфекций вирусной этиологии у взрослых. В целом клиническая картина имела характерные для вирусных ОКИ черты и в большинстве случаев протекала в виде гастроэнтерита средней степени тяжести. Автором были достоверно установлены различия в клинических проявлениях ОКИ, вызванных различными вирусными патогенами, что, безусловно, является важным практическим результатом данного исследования. При этом комплексный подход с использованием молекулярно-генетической характеристики возбудителей позволил определить, что у большинства больных с тяжелой дегидратацией заболевание вызвано рекомбинантными штаммами норовирусов, ранее не встречавшихся в Новосибирской области.

В 6 главе представлена характеристика норовирусной инфекции у беременных и опыт включения в лечебное питание синбиотика. Данные о течении вирусных ОКИ у беременных, их молекулярно-генетической характеристике и подходах к терапии ОКИ вирусной этиологии у данной категории больных в литературе отсутствуют. Установлена более высокая частота вирусной этиологии заболевания (53,3%), по сравнению с общей группой 1500 взрослых пациентов с ОКИ (22,1%). У беременных с ОКИ выявлено существенное преобладание норовирусной этиологии заболевания над ротавирусной, а астровирусная инфекция не регистрировалась, что также отличает эту группу от общей группы больных ОКИ, где доля норовирусной инфекции была существенно ниже. Норовирусная инфекция у беременных протекала в среднетяжелой форме, преимущественно в гастроэнтеритическом варианте и имела характерные клинические черты, ранее установленные диссертантом у взрослых больных с ОКИ той же этиологии.

Проблема нерационального использования лекарственных средств для лечения ОКИ в современном периоде привлекает все большее внимание. Особой группой пациентов являются беременные женщины, которым нежелательно назначение антибиотиков, и выбор их затруднен из-за обширных противопоказаний. У взрослых больных, согласно Глобальным практическим рекомендациям Всемирной Гастроэнтерологической Организации, пробиотики рекомендуются для лечения и профилактики диареи. Для беременных лечение ОКИ с использованием пре- и пробиотиков является наиболее физиологичным. У беременных с ОКИ норовирусной этиологии и ОКИ неуточненной этиологии при включении в лечебное питание синбиотика, содержащего лиофилизированные штаммы *Lactobacillus acidophilus* (La-5), *Bifidobacterium lactis* (Bb12), фруктоолигосахарид рафтилозу отмечено более раннее купирование диареи по сравнению с больными, получавшими только патогенетическую терапию. Полученные результаты являются важными с практической точки зрения, поскольку в литературе отсутствуют данные об эффективности про- и пребиотиков в лечении вирусных ОКИ у беременных, отсутствуют практические рекомендации по данной категории больных.

Заключительная 7 глава диссертации посвящена обсуждению полученных результатов. Обсуждение написано интересно с привлечением литературных данных, раскрывая основные клинико-диагностические и молекулярно-генетические аспекты вирусных кишечных инфекций, что убедительно показывает целесообразность включения комплекса использованных в диссертации методик в схему обследования больных.

Завершают диссертацию выводы, которые соответствуют поставленным задачам, суммируют главные результаты исследования и свидетельствуют о достижении цели работы. Предложенные практические рекомендации необходимы для повышения эффективности работы практического здравоохранения.

Основные результаты исследования в достаточной степени представлены в печатных изданиях. Материалы диссертации неоднократно докладывались на научно-практических конференциях различного уровня.

Подводя итог оценке диссертационного исследования Д.В. Капустина, следует отметить, что работа выполнена полностью в соответствии с поставленными целями и задачами. Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению диссертации нет. Тем не менее, при рецензировании работы возникло несколько вопросов, которые хотелось бы обсудить с автором.

1. Каким образом сочетание вирусных и бактериальных диарей может влиять на протекание и клиническую картину заболевания?
2. Что является основным фактором передачи вирусных кишечных инфекций у взрослых пациентов?
3. Какова вероятность того, что после клинического выздоровления пациент может являться вирусовыделителем еще какое-либо время?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Капустина Дмитрия Вячеславовича на тему: «Клинико-эпидемиологическая и молекулярно-генетическая характеристика острых кишечных вирусных инфекций в Новосибирской области», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненного автором исследования содержится решение актуальной научно-практической задачи – определен спектр клинических проявлений вирусных кишечных инфекций у взрослых, и доказана необходимость включения в алгоритм диагностики кишечных инфекций ПЦР с детекцией РНК норо-, рота-, астровирусов для своевременной и

эффективной верификации заболевания, что имеет существенное значение для инфекционных болезней.

Работа Капустина Дмитрия Вячеславовича по актуальности, научной новизне, практической значимости, полноте изложения и обоснованности выводов соответствует требованиям пункта 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. , предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни.

Официальный оппонент
заведующий лабораторией особо опасных
вирусных инфекций Федерального бюджетного
учреждения науки «Государственный научный
центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Роспотребнадзора,

кандидат медицинских наук



С.А. Боднев

630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия
Тел. 8(383)363-47-10, e-mail: vector@vector.nso.ru

Подпись Боднева С.А. удостоверяю:

Начальник отдела кадров
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора



Ильин И.В.

“ 11 “ января 2021 г.