«УТВЕРЖДАЮ»
Директор Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, академик РАН, д.м.н., профессор
_____ В.Г. Акимкин
«10» 11 2026 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической значимости диссертационной работы Мансура Ула «Генетическое разнообразие и молекулярный анализ вирусов парагриппа человека, циркулировавших в Санкт-Петербурге в период с 2017 по 2025 год», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность темы исследования.

Рецензируемая работа посвящена изучению генетического разнообразия и молекулярных особенностей вирусов парагриппа человека (hPIV), циркулировавших в Санкт-Петербурге на протяжении восьми эпидемических сезонов. Острые респираторные вирусные инфекции остаются одной из ведущих причин заболеваемости во всем мире, особенно среди детей раннего возраста, пожилых людей и лиц с иммунодефицитными состояниями. Вирусы парагриппа человека занимают важное место в этиологической структуре ОРВИ, вызывая широкий спектр заболеваний - от легких инфекций верхних дыхательных путей до тяжелого крупа, бронхиолита и пневмонии. У

госпитализированных с ОРВИ детей инфекции, вызванные hPIV, составляют около 40%, а при госпитализации с крупом - до 75% случаев.

Несмотря на признанное клиническое и эпидемиологическое значение hPIV, объем доступной информации об их генетическом разнообразии остается ограниченным. Большинство последовательностей, представленных в международных базах данных, соответствует отдельным фрагментам генома (чаще всего гену HN) и характеризуется неравномерным географическим распределением. До настоящего исследования молекулярно-генетическая характеристика hPIV на территории Российской Федерации до настоящего времени не проводилась на систематической основе, полногеномные данные о российских штаммах hPIV1–4 в международных базах данных практически отсутствовали, а их генетическое разнообразие и положение в глобальной филогенетической структуре оставались неизученными.

В связи с этим диссертационное исследование Мансура Ула, которое направлено на выделение изолятов, получение и анализ полных геномных последовательностей вирусов парагриппа человека типов 1-4, циркулирующих в Санкт-Петербурге, восполняет существующий пробел, и расширяет возможности сравнительного геномного анализа отечественных изолятов с вирусами, циркулирующими в других регионах мира. Актуальность темы не вызывает сомнений.

Научная новизна, обоснованность и достоверность выносимых на защиту положений, научных выводов, рекомендаций и заключений, сформулированных в диссертации.

В рамках выполненного исследования автором впервые в Российской Федерации выполнено комплексное молекулярно-генетическое исследование вирусов парагриппа, циркулировавших в эпидемических сезонах 2017-2025 гг. в Санкт-Петербурге, в том числе получены полногеномные последовательности для вирусов парагриппа 4 типа. Показано, что амплификация SMART-9N обеспечивает надежную реконструкцию полных

геномов hPIV4, пригодных для последующего молекулярного и филогенетического анализа.

Впервые установлено, что вирусы парагриппа человека типов 1–4, циркулировавшие в Санкт-Петербурге, относятся к глобально распространённым филогенетическим группам и характеризуются значительным внутритиповым генетическим разнообразием.

Одним из наиболее значимых результатов диссертационного исследования является выявление ранее неописанной филогенетической группы hPIV3, обозначенной как кластер D, который формировал самостоятельную устойчивую монофилетическую ветвь с высокой бутстреп-поддержкой и характеризовался уровнем генетической дивергенции, соответствующим критериям выделения отдельных кластеров hPIV3. Дополнительным аргументом в пользу его филогенетической обособленности служило наличие большого числа групп-специфических аминокислотных замен, распределённых по нескольким вирусным белкам. Наиболее выраженные различия выявлялись в белках P и L, тогда как дополнительные характерные замены определялись в поверхностных гликопротеинах HN и F.

Существенным достоинством работы является разработка и реализация подходов выделения hPIV в клеточных культурах LLC-MK2 и MA-104, создание и валидация панелей праймеров для полногеномной амплификации с последующим полногеномным секвенированием hPIV1–3. С помощью предложенного подхода получены оригинальные данные, в частности, впервые в России проведен анализ рекомбинационных событий для вирусов парагриппа 1-4 типов с использованием полногеномных последовательностей, и установлено, что для hPIV1 и hPIV4 статистически подтверждённых событий рекомбинации не происходило, а для hPIV2 и hPIV3 эти события являются единичными.

Обоснованность и достоверность выносимых на защиту положений, научных выводов, рекомендаций и заключений обеспечивается адекватностью использованных современных вирусологических, молекулярно-

биологических, включая полногеномное секвенирование и биоинформатических методов исследования, соответствующих целям и задачам исследования, а также воспроизводимостью результатов, полученных в ходе работы.

Автором разработаны и валидированы панели праймеров для полногеномной амплификации вирусов парагриппа человека типов hPIV1–3, выполнены все этапы амплификации, проведены эксперименты по выделению вирусов парагриппа человека в культурах клеток MA-104 и LLC-MK2. Автором выполнена биоинформатическая обработка данных секвенирования, сборка вирусных геномов, контроль качества последовательностей, филогенетический анализ, расчёт генетических расстояний, анализ аминокислотных вариаций, выявление потенциальных событий рекомбинации и прогнозирование потенциальных сайтов N-гликозилирования.

Полученные автором результаты логически связаны между собой, положения, выносимые на защиту, соответствуют представленным экспериментальным данным, а сформулированные выводы отражают содержание выполненной работы.

Методологическая база работы соответствует современным стандартам молекулярной вирусологии. Автор сочетает классические вирусологические подходы (выделение вирусов в культурах клеток LLC MK2 и MA 104) с передовыми молекулярно-генетическими и биоинформатическими методами. Подробное описание методик в главе «Материалы и методы» позволяет воспроизвести исследование в других лабораториях. Особенно ценным представляется внедрение метода SMART 9N для hPIV4, который расширяет возможности геномного надзора в случаях, когда традиционные подходы неэффективны.

Статистическая обработка данных (критерий $\chi 2$, точный критерий Фишера с поправкой Бенджамини–Хохберга) выполнена корректно и обеспечивает надёжность выводов.

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая значимость работы заключается в комплексной характеристике полных геномов вирусов hPIV1–4, циркулирующих на территории Санкт-Петербурга. Проведенный полногеномный филогенетический анализ позволил определить положение российских штаммов среди глобально циркулирующих вариантов и выявить характерные молекулярные особенности отдельных филогенетических групп. Показана сходимость результатов филогенетического анализа для гена HN иерархической структуре, выявленной при анализе полных геномов вирусов парагриппа 1–4.

Наиболее значимой практической ценностью работы является разработка и валидация панели праймеров для полногеномной амплификации вирусов hPIV1–3. Разработанные праймерные системы представляют собой оригинальный методический подход и защищены патентами (патент № 2833687; патент № 2859039).

Патентованные панели праймеров могут быть внедрены в систему эпидемиологического мониторинга hPIV, в том числе в лабораториях Роспотребнадзора и научно исследовательских центрах.

Получены 453 (105 hPIV1, 37 hPIV2, 303 hPIV3 и 8 hPIV4) полногеномные последовательности вирусов парагриппа человека, все они депонированы в международную базу GenBank, что позволило существенно увеличить репрезентативную выборку полных геномов парагриппа в глобальном масштабе и впервые депонировать полногеномные последовательности вирусов парагриппа всех 4 типов из России.

Показано, что в Санкт-Петербурге одновременно циркулируют множественные генетические линии в рамках типов (hPIV1: клайды B, C и D; hPIV2: кластеры A и B; hPIV3: кластеры C и D; hPIV4a: кластер C), распространенные в глобальном масштабе. Для всех типов идентифицированы и охарактеризованы групп-специфические аминокислотные замены в

поверхностном гликопротеине HN, подтверждающие топологию полногеномных деревьев.

Сформирована коллекция из 56 современных изолятов вирусов парагриппа, полученных на клеточных линиях MA-104 и LLC-MK2; впервые в России выделен современный представитель hPIV 4 типа. Полученные изоляты hPIV 1–4 депонированы в Государственную коллекцию вирусов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Депонированные геномы и изоляты служат основой для разработки диагностических тест систем, референс материалов и потенциально - для поиска кандидатов на вакцины.

Апробация результатов на 9 российских и международных конференциях дополнительно подтверждает научную значимость работы. Публикации автора (4 статьи в журналах Q1) свидетельствуют о востребованности результатов в научном сообществе.

Структура и общая характеристика диссертационной работы. Диссертационная работа построена по классической схеме и состоит из Введения, Обзора литературы, главы «Материалы и методы», главы «Результаты исследования», Обсуждения, Заключения, Выводов, Списка сокращений и условных обозначений, Списка литературы и Приложения.

Диссертация изложена на 193 страницах машинописного текста, включает 25 таблиц, 30 рисунков и дополнительные материалы, иллюстрирующие полученные результаты. Список литературы содержит 247 источников, из которых 11 являются отечественными.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, изложены основные положения, выносимые на защиту, сведения о достоверности и апробации результатов, личном вкладе автора.

В обзоре литературы представлен подробный анализ современных данных о вирусах парагриппа человека, их таксономии, структуре вириона и

организации генома, молекулярной биологии репликации, эпидемиологии инфекции и ее клинических проявлениях. Обоснован выбор методов. Особое внимание уделено подходам к секвенированию hPIV, молекулярной эпидемиологии и филогенетическому анализу, а также выделению вирусов в клеточных культурах. Обзор литературы свидетельствует о глубоком понимании автором изучаемой проблемы.

В главе «Материалы и методы» подробно описаны:

- сбор и обработка клинических образцов (назофарингеальные и орофарингеальные мазки);

- выделение вирусов в культурах клеток LLC-MK2 и MA-104;

- определение инфекционной активности изолятов методом по методу Рида и Менча;

- получение сывороток, от лабораторных животных, иммунизированных изолятам hPIV;

- разработка и валидация панелей праймеров для hPIV1–3 с определением аналитических характеристик;

- применение метода SMART-9N для hPIV4;

- проведение биоинформатического и статистического анализа.

Методология работы тщательно продумана и адекватна поставленным задачам.

В главе «Результаты исследования» представлены данные о распространенности вируса парагриппа человека в Санкт-Петербурге (11,48 % среди ОРВИ, при этом показано доминирование hPIV3 - 74 %), выделении hPIV в клеточных культурах LLC-MK2 и MA-104 (успешность 32–87 %), дана характеристика биологических свойств изолятов. Описаны результаты разработки и валидации панелей праймеров для полногеномной амплификации hPIV1–3, амплификации генома hPIV4 методом SMART-9N. 3.

На основе полученных 453 полногеномных последовательностей hPIV1–4 охарактеризована популяционная структура вирусов парагриппа, циркулирующих в Санкт-Петербурге. Показано, что в регионе одновременно

циркулируют множественные генетические линии в рамках типов (hPIV1: клайды B, C и D; hPIV2: кластеры A и B; hPIV3: кластеры C и D; hPIV4a: кластер C), распространенные в глобальном масштабе. Для всех типов идентифицированы и охарактеризованы групп-специфические аминокислотные замены в поверхностном гликопротеине HN, подтверждающие топологию полногеномных деревьев.

Проведено сравнение последовательностей геномов, полученных непосредственно из клинических образцов и из культивированных изолятов, а также результатов сравнения филогенетического анализа на основе всего генома и гена HN. Представлены результаты анализа аминокислотных вариаций, потенциальных сайтов N-гликозилирования и рекомбинационных событий.

В главе «Обсуждение» автор критически анализирует полученные данные в контексте современных мировых исследований, что свидетельствует о его высокой профессиональной компетенции.

Выводы и заключение логично вытекают из результатов исследования и полностью соответствуют поставленным цели и задачам.

Значение полученных соискателем результатов исследования для развития соответствующей отрасли науки.

Полученные соискателем результаты имеют существенное значение для вирусологии и молекулярной эпидемиологии. В проведенном диссертационном исследовании сформированы методические подходы к изучению современных вирусов парагриппа человека всех типов, которые могут быть использованы в дальнейших научных исследованиях и в эпидемиологическом мониторинге за возбудителями как в России, так и на международном уровне.

Диссертантом охарактеризованы биологические свойства полученной коллекции современных изолятов четырёх типов вирусов парагриппа человека и было показано, что краткосрочное пассирование вирусов парагриппа в клеточных культурах LLC-MK2 и MA-104 не приводит к появлению

адаптационных мутаций как в генах, кодирующих поверхностные гликопротеины вируса, так и во внутренних генах вирусов парагриппа.

Большинство последовательностей, представленных в международных базах данных, содержат лишь фрагменты генома, чаще всего ген HN, и характеризуются неравномерным географическим распределением. Такие ограничения затрудняют комплексный анализ генетического разнообразия и молекулярных характеристик циркулирующих вирусов, а также ограничивают возможности сопоставления вирусных штаммов, выявленных в различных регионах мира.

Полногеномное секвенирование позволяет проводить детальную характеристику вирусных геномов, выявлять генетические варианты и сопоставлять циркулирующие штаммы в широком глобальном контексте.

Полученные диссертантом полногеномные данные, разработанные методические подходы и сформированная коллекция вирусных изолятов могут быть использованы для совершенствования системы геномного мониторинга респираторных вирусов в Российской Федерации. Работа расширяет современные представления об эволюции и генетическом разнообразии вирусов парагриппа человека и формирует научную основу для дальнейших молекулярно-эпидемиологических исследований.

Рекомендации по использованию результатов и выводов, приведенных в диссертации.

Предложенные диссертантом методологические подходы могут быть внедрены в систему геномного мониторинга вирусов парагриппа человека и других возбудителей ОРВИ. Использованная диссертантом методология (NGS, SMART 9N) в дальнейшем может быть применима не только к hPIV, но и к другим респираторным вирусам, что повышает её универсальность.

Целесообразно продолжить молекулярный надзор за hPIV на расширенных выборках для интеграции получаемых геномных данных с клинико-эпидемиологической информацией. Сформированная коллекция изолятов hPIV1–4 и антисывороток к ним послужит основой для дальнейших

исследований по расширенной характеристике антигенных свойств вирусов парагриппа человека и их взаимосвязи с генетической изменчивостью гликопротеинов. Интеграция геномных данных с клинико-эпидемиологической информацией открывает перспективы для прогнозирования эпидемий и своевременного реагирования на появление новых вариантов.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Диссертационная работа является законченным научным исследованием, написана научным языком, имеет логичную структуру и содержит значительный объем экспериментального материала. Результаты представлены наглядно, хорошо иллюстрированы и сопровождаются статистическим анализом. Поставленные задачи последовательно решены, а выводы соответствуют представленным результатам.

К достоинствам работы следует отнести логичную структуру, четкую постановку цели и задач, комплексный подход с сочетанием классических вирусологических методов с современными молекулярно-генетическими и биоинформатическими технологиями, репрезентативную выборку, высокую практическую значимость, подтверждённую патентами и депонированием штаммов в Государственную коллекцию вирусов.

Вместе с тем, в тексте автореферата и диссертации встречаются отдельные технические погрешности и опечатки, не носящие принципиального характера, не снижающие научную и практическую ценность проведенного исследования и не влияющие на общую положительную оценку работы.

В частности: 1. В автореферате на стр. 5 и в диссертации на стр. 9–10 в разделе «Теоретическая и практическая значимость» имеется стилистическая неточность: «Показана сходимость результатов филогенетического анализа для гена HN иерархической структуре, выявленной при анализе полных геномов...» (вероятно, следует читать «...с иерархической структурой...» или «...соответствие...»).

2. В диссертации на стр. 10 в разделе «Методология и методы исследования» допущена опечатка: «с соблюдением требованием СанПиН 3.3686-21» (вместо «требований»).

3. В диссертации на стр. 89–90 в подписи к рисунку 16 (a–c) указано: «Рисунок 16. Графики покрытия геномов hPIV...», однако в тексте на стр. 87–88 приведены ссылки на «Рисунок 9», что является несоответствием нумерации.

Заключение.

Диссертационная работа Мансура Ула «Генетическое разнообразие и молекулярный анализ вирусов парагриппа человека, циркулировавших в Санкт-Петербурге в период с 2017 по 2025 год» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача - комплексный полногеномный молекулярно-генетический анализ вирусов парагриппа человека типов 1–4, циркулировавших в Санкт-Петербурге в течение восьми эпидемических сезонов с 2017 по 2025 гг., имеющая большое теоретическое и практическое значение для развития вирусологии и совершенствования системы геномного мониторинга вирусов парагриппа и других респираторных вирусов в Российской Федерации.

Полученные результаты обладают достаточной степенью обоснованности и достоверности. Содержание работы соответствует научной специальности 1.5.10. Вирусология.

По актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Мансура Ула соответствует соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями и дополнениями от Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 г. N 723, 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168, от 26.05.2020 N 751, от 20.03.2021

N 426, от 11.09.2021 N 1539, от 26.09.2022 N 1690, от 26.01.2023 N 101, 18.03.2023 г. N 415, 26.10.2023 г. N 1786, 25.01.2024 г. N 62, 16.10.2024 г. N 1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Мансура Ула, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Отзыв на диссертационную работу Мансура Ула был заслушан, обсужден и одобрен на заседании Ученого совета ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, протокол № 9 от 10.11.2026 г..

Заведующий лабораторией
молекулярной диагностики и эпидемиологии
инфекций дыхательных путей,
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
кандидат биологических наук Яцышина С. Б.

Подпись к.б.н. Яцышиной С.Б. заверяю:
Ученый секретарь
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Кандидат медицинских наук Никитина Т.С.

Сведения о ведущей организации:
Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а.Тел. 8-495-672-10-69, e-mail: cri@pcr.ru