

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.078.02**  
**НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО КАЗЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ**  
**ЗДРАВООХРАНЕНИЯ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ**  
**ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ «МИКРОБ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО**  
**НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ**  
**ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ**  
**КАНДИДАТА НАУК**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 31 мая 2019 г. № 12

О присуждении Шпаку Ивану Михайловичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Генотипирование штаммов возбудителя гистоплазмоза» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 27 марта 2019 г. (протокол заседания № 9) диссертационным советом Д 208.078.02, созданным на базе Федерального казенного учреждения здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46, приказом Минобрнауки России № 903/нк от 6 августа 2015 года.

**Соискатель** Шпак Иван Михайлович 1987 года рождения. В 2010 году соискатель окончил ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России. Работает в должности научного сотрудника сектора бионформационного анализа в ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Диссертация выполнена в лаборатории генодиагностики ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

**Научный руководитель** – кандидат медицинских наук, доцент Ткаченко Галина Александровна, ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, лаборатория генодиагностики, ведущий

научный сотрудник.

**Официальные оппоненты:** Дентовская Светлана Владимировна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы ФГБУ Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора; Тараскина Анастасия Евгеньевна, кандидат биологических наук, заведующая научно-исследовательской лабораторией молекулярно-генетической микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** – ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Гуцином Александром Евгеньевичем, кандидатом биологических наук, заведующим молекулярной диагностики и эпидемиологии органов репродукции, указала, что принципиальных замечаний по существу и оформлению диссертационной работы нет.

В целом диссертация Шпака Ивана Михайловича является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – разработаны методические подходы для внутривидовой дифференциации микромицетов *Histoplasma capsulatum* на основе молекулярно-генетических методов, что имеет существенное значение для микробиологии. Работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. в редакции постановления Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Соискатель имеет 70 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 9 работ общим объемом 30 страниц, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 3 работы, кроме того соискатель является соавтором 2 патентов РФ. Публикации отражают все разделы диссертации. Соискатель принимал непосредственное участие в подготовке всех работ, в 4 из них является первым автором. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных

соискателем ученой степени работая. Наиболее значительные публикации:

1. Шаров Т.Н. Сравнительная характеристика методов типирования микроскопических грибов / Т.Н. Шаров, М.А. Гришина, Г.А. Ткаченко, И.М. Шпак // Проблемы медицинской микологии. - 2012. Т.14, № 2. - С.18-24; 2. Леденева М.Л. Изучение генетического полиморфизма коллекционных штаммов *Histoplasma capsulatum* s.Darling с помощью реакции амплификации с произвольными праймерами / М.Л. Леденева, Г.А. Ткаченко, И.М. Шпак, Н.В. Вьючнова, М.А. Гришина, В.А. Антонов // Проблемы медицинской микологии.- 2013. Т. 15, № 3. - С.48-54; 3. Шпак, И.М. Разработка схемы генотипирования возбудителя гистоплазмоза методом амплификации дифференцирующих регионов / И.М. Шпак, М.Ш. Айгумов, Г.А. Ткаченко, В.А. Антонов // Проблемы медицинской микологии.- 2013. - Т.15, № 2. - С. 142. 4. Шпак И.М., Патент 2650752 Российская Федерация, МПК С12Q1/68 Набор олигонуклеотидных праймеров для типирования штаммов возбудителя гистоплазмоза *Histoplasma capsulatum* методом амплификации дифференцирующих фрагментов ДНК (DFR) / И.М. Шпак, Г.А. Ткаченко, М.Л. Леденева, С.С. Савченко, Н.В. Половец, В.А. Антонов, заявитель и патентообладатель Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. –№ 2017104384; заявл. 09.02.2017; опубл. 17.04.2018, Бюл. №11.

На диссертацию и автореферат дали положительные отзывы без замечаний:

1. Голицына Людмила Николаевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. 2. Замираев Валерий Семенович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России. 3. Куклева Любовь Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Дентовская Светлана Владимировна является признанным специалистом в области микробиологии и генетики возбудителей особо опасных болезней, активно публикует в ведущих отечественных и зарубежных научных изданиях результаты исследований по использованию молекулярно-генетических методов в решении прикладных и фундаментальных задач; Тараскина Анастасия Евгеньевна обладает богатым опытом работы в области медицинской микологии, возглавляет лабораторию референс-центра микологического мониторинга, основное направление деятельности которой - молекулярно-генетическая идентификация возбудителей

микозов. Ведущая организация занимает одно из лидирующих положений в системе Роспотребнадзора по созданию средств диагностики и генотипирования инфекционных агентов различной природы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: разработан методический подход к генотипированию штаммов возбудителя гистоплазмоза, основанный на комплексном использовании анализа дифференцирующих регионов, случайной амплификации полиморфной ДНК, моно- и мультилокусного сиквенс-типирования, что позволяет повысить точность внутривидовой дифференциации штаммов *Histoplasma capsulatum*; создана библиотека дифференцирующих регионов генома микромицетов *H. capsulatum* и разработан набор специфичных олигонуклеотидов для внутривидовой дифференциации штаммов *H. capsulatum* методом амплификации дифференцирующих фрагментов ДНК; показана высокая вариабельность гена *ms8* и доказана перспективность использования данного локуса в схеме мультилокусного сиквенс-типирования с целью повышения эффективности внутривидовой дифференциации микромицетов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: получены данные, вносящие вклад в расширение представлений о внутривидовом разнообразии штаммов *H. capsulatum*; доказано, что типирование *H. capsulatum* на основе сочетания методов амплификации дифференцирующих фрагментов ДНК, полимеразной цепной реакции со случайной амплификацией полиморфной ДНК, моно- и мультилокусного секвенирования отличается высокой дискриминирующей способностью. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс микробиологических, молекулярно-генетических, биоинформационных и статистических методов исследования, позволивших получить новые данные о вариабельности генов или фрагментов ДНК *H. capsulatum* и разработать комплекс методических подходов для внутривидовой дифференциации возбудителя гистоплазмоза, определить генотипы и установить происхождение штаммов *H. capsulatum* из коллекции микроорганизмов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, дать объективную оценку эффективности дифференцирующей способности методов случайной амплификации полиморфной ДНК и мультилокусного сиквенс-

типирования на исследуемой модели. Научная новизна работы подтверждена получением патентов РФ на изобретения: «Набор олигонуклеотидных праймеров для типирования штаммов возбудителя гистоплазмоза *Histoplasma capsulatum* методом амплификации дифференцирующих фрагментов ДНК» (№ 2650752); «Набор олигонуклеотидных праймеров для идентификации медицински значимых микромицетов методом секвенирования ДНК» (№2631935).

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: разработаны и внедрены в работу референс-центра по мониторингу за возбудителями глубоких микозов на базе ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора методические рекомендации «Алгоритм генотипирования микромицетов *Histoplasma capsulatum*» (утверждены директором института, протокол № 8 от 22.12.16 г.; акт о внедрении от 23.12.2016 г.). Материалы диссертации используются в лекционном материале по микологии на курсах профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов на базе ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (акт о внедрении от 19.12.2016 г.).

Оценка достоверности результатов исследования выявила: экспериментальные данные получены с применением современных методологий на сертифицированном и прошедшем метрологическую поверку высокотехнологичном оборудовании, показана воспроизводимость результатов в повторяющихся опытах, полученные данные проанализированы с привлечением биоинформационных и статистических методов, проведено сравнение авторских данных с результатами, полученными другими исследователями по рассматриваемой тематике.


Личный вклад соискателя состоит в: планировании научных исследований, проведении сравнительного анализа последовательностей геномов штаммов возбудителя гистоплазмоза, выборе потенциальных мишеней для внутривидового типирования *H. capsulatum*, оптимизации условий амплификации, разработке различных способов генотипирования штаммов *H. capsulatum*. Биоинформационный анализ, обработка и интерпретация экспериментальных данных выполнена лично автором. Подготовка основных публикаций и оформление патентов осуществлена как лично автором, так и при его непосредственном участии.

На заседании 31 мая 2019 года диссертационный совет принял решение

присудить Шпаку И.М. ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 5 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология (медицинские науки), участвовавших в заседании, из 29 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 21, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Заместитель председателя  
диссертационного совета

 Попов Юрий Алексеевич

Ученый секретарь  
диссертационного совета

 Микшис Наталья Ивановна

31 мая 2019 г.