



2023 г.

Научный руководитель – директор Иркутского научно-исследовательского противочумного института доктор медицинских наук профессор Балахонов Сергей Владимирович. Тема и план диссертационной работы

одобрены ученым советом Иркутского научно-исследовательского противочумного института 30.10.2018 г. (протокол № 9).

В 2003 г. Хаптанова Наталья Маркеловна окончила Восточно-Сибирский государственный технологический университет по специальности «Биотехнология».

В период подготовки диссертации соискатель Хаптанова Наталья Маркеловна работала в Иркутском научно-исследовательском противочумном институте в должности младшего научного сотрудника отдела биологического и технологического контроля.

Удостоверение № 001736 о сдаче кандидатских экзаменов (иностранный язык /французский/, философия /биологические науки/, по специальности /биотехнология/) выдано 04.12.2017 г. ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления»; Справка № 03 о сдаче кандидатского экзамена по специальности микробиология (биологические науки) выдана 01.03.2021 г. ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ.

По итогам обсуждения диссертационной работы принято следующее заключение:

Актуальность темы и направленность исследования. Листериоз – инфекционное сапрозоонозное заболевание человека и животных, вызываемое патогенными видами листерий, характеризующееся множеством источников и резервуаров инфекции, разнообразием путей и факторов передачи возбудителя, полиморфизмом клинических проявлений, высокой летальностью новорожденных и лиц с иммунодефицитом. В лабораторной диагностике листериоза остаются востребованными серологические методы исследования. Специфичным, надежным и доступным серологическим методом обнаружения возбудителя листериоза является реакция агглютинации (РА), для постановки которой необходима сыворотка листериозная агглютинирующая. В производстве сыворотки листериозной агглютинирующей одним из основных этапов технологического процесса является наращивание суточной культуры *Listeria monocytogenes* в S-форме, используемой для получения иммуногена. При подборе питательной среды для культивирования листерий оценивают её специфическую активность по совокупности основных показателей (прорастание, чувствительность, эффективность, скорость роста, стабильность основных биологических свойства микроорганизма).

В связи с этим, разработка технологии получения сыворотки листериозной агглютинирующей с использованием сконструированной питательной среды для культивирования *L. monocytogenes* является актуальной задачей в лабораторной диагностике листериоза.

С этой точки зрения диссертация Хаптановой Н.М. представляется весьма своевременной и актуальной. Цель и задачи исследования обоснованы и направлены на комплексное изучение этапов технологического производства сыворотки листериозной агглютинирующей и питательной среды для культивирования листерий.

Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации. Хаптанова Н.М. участвовала в обсуждении актуальности и цели работы, постановке задач исследования и положений, выносимых на защиту, а также при выборе объектов, используемых методов и дизайна диссертации. Материалы, представленные в диссертации, получены лично автором при выполнении экспериментальной работы (бактериологические, биохимические и серологические исследования). Автор принимала непосредственное участие в подготовке нормативно-технической документации на питательную среду для культивирования листерий и сыворотку листериозную агглютинирующую. Помощь на отдельных этапах исследований оказывали сотрудники научно-производственного отдела Иркутского научно-исследовательского противочумного института.

Диссертантом совместно со специалистами ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора на базе Референс-центра по мониторингу за листериозом проведена апробация сыворотки листериозной агглютинирующей (серия № 44) со штаммами *L. monocytogenes*, *Listeria* spp. и гетерологичными штаммами, определена оценка ее эффективности по показателям чувствительности и специфичности.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Достоверность результатов исследования, выводов и положений диссертации подтверждаются достаточным объемом собранного материала. В работе использованы классические и современные методы исследования (бактериологические, биологические протеометрические, серологические, физико-химические и статистические), полностью соответствующие поставленным задачам. Полученные в ходе исследования данные проанализированы и статистически обработаны. Выводы диссертации отражают суть выполненной работы, основаны на собственных результатах и вполне аргументированы. Таким образом, материал и качество его представления в полной мере позволяют надежно обосновать основные положения диссертации и сделать заключение о достоверности представленных данных. Все процедуры исследования были проведены с учетом требований менеджмента качества.

Научная новизна. Автором показано, что панкреатический гидролизат сороги является полноценной питательной основой при конструировании питательной среды для культивирования листерий. Определен аминокислотный со-

став панкреатического гидролизата сороги (аланин, валин, треонин, аргинин, лизин, лейцин, метионин, фенилаланин, глицин, гистидин, тирозин, триптофан), который удовлетворяет питательные потребности листериозного микроба. Сконструирована питательная среда для культивирования *L. monocytogenes* 766, используемая в производстве сыворотки листериозной агглютинирующей. Разработана оптимальная схема иммунизации кроликов-продуцентов, позволяющая в короткие сроки (21-22 дня) получить гипериммунную высокоспецифичную сыворотку листериозную агглютинирующую без адсорбции гетерологичных антител. Для стабилизации сыворотки листериозной агглютинирующей подобрана эффективная комбинация стабилизаторов и их концентрации (3 % сахара и 1 % тиосульфат натрия), позволяющие сохранять препарат в течение 5 лет с титрами антител (1:400) к *L. monocytogenes*.

Практическая значимость заключается в совершенствовании лабораторной диагностики листериоза, разработке и внедрении нормативно-технической документации: Технические условия и Промышленный регламент на производство сыворотки листериозной агглютинирующей сухой для реакции агглютинации; Промышленный регламент на производство питательной среды для культивирования листерий сухой.

Разработаны Методические рекомендации по верификации статистической достоверности результатов оценки показательной эффективности *in vitro* диагностики (утв. директором Иркутского научно-исследовательского противочумного института, протокол № 5 от 26.10.2021 г.).

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе при подготовке врачей (биологов) по программе ДПО на базе отдела подготовки и усовершенствования специалистов Иркутского научно-исследовательского противочумного института (Акт внедрения от 14.02.2022 г.).

Полнота изложенных материалов диссертационной работы отражена в 18 публикациях, четыре из них в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикаций результатов диссертационной работы.

Перечень основных публикаций по теме диссертационной работы

Статьи, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. Остяк, А.С. Сравнительный анализ состава питательных основ методом спектроскопии ЯМР / А.С. Остяк, И.А. Ушаков, **Н.М. Хаптанова**, Н.Г. Гефан, В.И. Кузнецов, Е.Н. Обороина, С.Н. Адамович, И.Б. Розенцвейг // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2019. – Т. 9, № 3. – С. 430-438.
2. **Хаптанова, Н. М.** Сравнительная оценка гидролизатов как основы при конструировании питательной среды для культивирования *Listeria*

monocytogenes / **Н.М. Хаптанова**, А.С. Остяк, С.В. Лукьянова, В.И. Кузнецов, Н.М. Андреевская, С.Н. Адамович, И.А. Ушаков, С.В. Юденич, С.В. Балахонов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – Т. 98, № 4. – С. 481-485.

3. **Хаптанова, Н.М.** Получение и оценка эффективности диагностической агглютинирующей сыворотки для идентификации возбудителя листериоза / **Н.М. Хаптанова**, Н.М. Андреевская, Ж.А. Коновалова, Н.Г. Гефан, С.В. Лукьянова, А.С. Остяк, Н.Н. Карцев, В.Н. Борзенков, С.В. Балахонов // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. – 2021. – Т. 37. – С. 43-53.

4. Гефан, Н.Г. Подбор питательной основы и экспериментальная оценка качества бактериологической питательной среды для культивирования листерий / Н.Г. Гефан, С.В. Лукьянова, **Н.М. Хаптанова**, В.И. Кузнецов, Ж.А. Коновалова, Н.М. Андреевская, А.С. Остяк, Е.Ю. Киселева, В.С. Косилко // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. – 2021. – Т. 37. – С. 31-42.

Прочие публикации:

5. **Хаптанова, Н.М.** Особенности серологической диагностики листериоза (обзор литературы) / **Н.М. Хаптанова**, Н.М. Андреевская, С.В. Лукьянова, Ж.А. Коновалова, Н.Г. Гефан, А.С. Остяк, Е.Г. Токмакова // Acta biomedica scientifica. – 2019. – Т. 4, № 1. – С. 43-49.

6. **Хаптанова, Н.М.** Оценка эффективности сыворотки листериозной агглютинирующей для реакции агглютинации / **Н.М. Хаптанова**, Н.М. Андреевская, Н.Г. Гефан, В.Н. Борзенков, Н.Н. Карцев, Э.А. Светоч, С.В. Балахонов // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2019. – № 37 – С. 82-83.

7. **Хаптанова, Н.М.** Конструирование питательной среды для культивирования листерий / **Н.М. Хаптанова**, С.В. Лукьянова, В.И. Кузнецов, Н.Г. Гефан, Н.М. Андреевская, Ж.А. Коновалова, А.С. Остяк, В.С. Косилко // Acta biomedica scientifica. – 2020. – Т. 5, № 4. – С. 60-66.

8. Свидетельство 2020621065 РФ № 2020620898. База данных: Питательные среды для культивирования, выделения и идентификации листерий / **Н.М. Хаптанова**, В.И. Кузнецов, О.Н. Ивашкова, Н.Г. Гефан, А.С. Остяк, С.В. Лукьянова, С.В. Балахонов. – Заявл. 09.06.2020; опубл. 25.06.2020, Бюл. № 7. – 1,71 Мб.

9. Пат. 2767782 РФ 2021116115. Питательная среда для получения биомассы листерий / В.И. Кузнецов, **Н.М. Хаптанова**, Н.Г. Гефан, О.Н. Ивашкова, А.С. Остяк, В.С. Косилко, С.В. Балахонов. – Заявл. 02.06.2021; опубл. 21.03.2022, Бюл. № 9.

Опубликованные работы и содержание автореферата полностью соответствуют тексту диссертационной работы.

В совокупности по методическим подходам и комплексу исследованных

проблем диссертационная работа Хаптановой Н.М. соответствует специальностям – 1.5.11. Микробиология (п. 12 Получение биологически активных препаратов микробного происхождения (вакцин, сывороток, анатоксинов, витаминов, ферментов и пробиотиков) для медицины, ветеринарии, промышленности, экологии и сельского хозяйства) и 1.5.6. Биотехнология (п. 8 Технологии производства вакцин, биологически активных препаратов, средств диагностики вирусных, бактериальных и грибных болезней).

Диссертационное исследование Хаптановой Натальи Маркеловны «Разработка питательной среды для культивирования листерий и технологии производства сыворотки листериозной агглютинирующей» является завершенной научно-квалификационной работой, соответствует предъявленным к кандидатским диссертациям критериям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (ред. от 11.09.2021 г.), и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям – 1.5.11. Микробиология и 1.5.6. Биотехнология.

Заключение принято на научной конференции института, где присутствовало 38 человек, из них докторов наук – 7, кандидатов наук – 14. Результаты голосования: «за» – 38 человек, «против» – нет, «воздержавшихся» – нет (протокол № 3 от 19.10. 2022 г.).

Председатель научной конференции
Заместитель директора по научной и лабораторно-диагностической работе Федерального казенного учреждения здравоохранения «Иркутский орден Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
доктор медицинских наук

Секретарь научной конференции
Ученый секретарь института
к.м.н.



Л.В. Миронова

А.Г. Трухина