

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Алексея Борисовича Мазрухо на тему:
«Панкреатический перевар пекарских дрожжей – питательная основа сред для холерного вибриона и чумного микроба», представленной к защите в диссертационный совет Д 20800806 при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Актуальность темы диссертационного исследования

Несмотря на значительные успехи в области диагностики и профилактики особо-опасных инфекций, к которым относится чума и холера, вопросы эпидемиологического надзора и эпизоотологического мониторинга за этими инфекциями продолжают оставаться актуальными. Сохраняются природные очаги чумы в мире, Российской Федерации и странах СНГ. Седьмая пандемия холеры хотя и ограничилась, но потенциальная возможность ее расширения существует, т.к. сохраняются активные очаги холеры в Юго-Восточной Азии, Америки, Индии и Китая.

Нельзя не учитывать и возможность возникновения чрезвычайных ситуаций, связанных с биотеррористической деятельностью, массового передвижения беженцев из зон военных конфликтов.

В этих условиях важное значение имеет оснащенность практического здравоохранения, СПЭБОБ высокоэффективными, стандартизованными, экономически рентабельными питательными средами для диагностики, индикации и производства иммунобиологических препаратов.

Объемы проводимых микробиологических исследований на чуму и холеру в стране имеют тенденцию к увеличению, что определяет повышенную потребность в питательных средах. Необходимо отметить, что в настоящее время в микробиологии, по-прежнему, в качестве основы для приготовления питательных сред применяют в основном мясные и казеиновые гидролизаты, которые изготавливаются из пищевого сырья. Замена пищевого сырья в производстве питательных сред на более

экономичное непищевое сырье продолжает оставаться актуальной проблемой микробиологии. Положительное решение данной проблемы имеет важное народнохозяйственное значение. Кроме того, создание современных стандартизированных питательных сред из непищевого сырья повысит конкурентоспособность отечественных питательных сред на мировых рынках выпуска. Все это, на наш взгляд, определяет актуальность проведенного исследования.

Новизна исследования, обоснованность и достоверность научных результатов, выводов

Планированию исследования предшествовало тщательное изучение и анализ современных литературных данных, изложенных в литературном обзоре, который включал: физиологические особенности и питательные потребности *Yersinia pestis* и *Vibrio cholerae*. В обзоре были даны характеристики использования различных видов сырья для приготовления основ микробиологических питательных сред и освещены технологические проблемы разных гидролизатов для приготовления основ питательных сред. Обзор всесторонне освещает указанные проблемы с использованием данных литературных материалов об особенностях метаболизма чумного и холерного микробов, фенотипических и генотипических характеристик указанных микроорганизмов при культивировании на средах с различной питательной основой.

В результате осмысления и анализа литературных данных, свидетельствующих о высоком содержании белковых компонентов (на уровне мясных основ) в хлебопекарных дрожжах факультативных анаэробов *Saccharomyces cerevisiae*, выращенных в условиях аэрации, при котором превалирует система аэробного дыхания, с образованием помимо белка и активных субстанции (флавопротеины, убихинон, цитохромы, НАДН и др.), содержание в белках пекарских дрожжей незаменимых аминокислот, высокое содержание в дрожжах витаминов группы В, отсутствие канцерогенных веществ и высокая экономическая составляющая, привели

соискателя к обоснованному выбору для создания инновационной питательной основы – дрожжи пекарские из *S. cerevisiae* с целью выделения, культивирования и идентификации холерного вибриона и чумного микроба. В результате была поставлена цель исследования, направленная на разработку технологии изготовления панкреотического перевара пекарских дрожжей (ПППД) и изучение возможности его использования в качестве питательной основы сред для культивирования холерного вибриона и чумного микроба. Поставленные и выполненные в диссертационной работе задачи исследования обоснованы и в полной мере отражают объем работ необходимый для достижения поставленной цели исследования.

Работу отличает высокий методический уровень. В ходе исследования автором использовались классические микробиологические методики, принятые для анализа и характеристики питательных сред в соответствии с утвержденными методическими документами. Были приготовлены и изучены восемь видов экспериментальных новых сред, восемнадцать контрольных сред, четырнадцать белковых гидролизатов. При оценке биологических свойств изучалась продукция энтеротоксина у штаммов холерного вибриона методом Крейга, и на культуре клеток СНО, содержание фракции I у чумного микроба серологическими методами. Статистическая обработка проведена с использованием компьютерной программы Excel, которая правомерна и обоснованна. Полученные материалы имеют статистическую достоверность.

Научная новизна диссертации Алексея Борисовича Мазрухо представляется несомненной. Впервые разработана научно-обоснованная технология получения универсальной, стандартизированной высокоэффективной моноосновы с использованием панкреатического перевара пекарских дрожжей (ППД), для конструирования питательных сред различного назначения для чумного и холерного микроба. Способ изготовления новой питательной основы защищен патентом на изобретение (патент РФ № 2375441). Впервые показано, что для получения стандартного препарата ПППД и управляемости технологического процесса гидролиза

необходимо применение методов постоянного ингибирования собственных гидролитических ферментов пекарских дрожжей. Было показано, что на средах с использованием ПППД культивируемые штаммы *Yersinia pestis*, *V. Cholerae* имеют нормальные фенотипические и генотипические свойства, и обладают факторами патогенности (синтез энтеротоксина у холерного вибриона и фракции I чумного микроба).

Впервые показана возможность использования ПППД в качестве моноосновы питательных сред для культивирования чумного микроба при 28 С° и 37 С°, что имеет не только диагностическое значение, но и будет способствовать научному изучению факторов вирулентности чумного микроба при различных экологических условиях существования. Впервые, созданная на основе ПППД агаризованная питательная среда для культивированного чумного микроба при 37 С°, является единственной монокомпонентной по питательному субстрату и превосходит ранее предложенные среды по биологическим показателям, что позволило применить данную среду в способе определения зараженности продовольствия патогенными биологическими агентами в условиях чрезвычайной ситуации, и получить патент РФ № 2350656.

Впервые, созданный на основе ПППД, комплекс питательных сред для культивирования, выделения и идентификации по биохимическим признакам холерного вибриона превосходит существующие отечественные и зарубежные аналоги по ряду биохимических показателей, а входящая в состав комплекса жидкая накопительная питательная среда запатентована (патент РФ № 2392310).

В целом научные положения, выводы хорошо автором аргументированы, имеют большое научное и практическое значение для микробиологии и медицины.

Практическая ценность работы и значимость полученных автором результатов

Практическая значимость работы заключается в разработке нормативно-технической документации I порядка на восемь препаратов. На препарат щелочной агар на основе ПППД осуществляется процедура государственной регистрации питательной среды. Получено 3 патента на изобретение. Запатентована технология изготовления новой универсальной основы питательных сред с использованием ПППД (панкреатический перевар пекарских дрожжей). Получены результаты, свидетельствующие о преимуществе ПППД перед используемыми в практике в качестве питательных основ белковыми гидролизатами отечественного и импортного производства, что имеет значение в плане импортозамещения. Разработанные на основе ПППД питательные среды для культивирования чумного микроба и холерного вибриона с успехом были применены в деятельности СПЭБ и используются в системе эпидемиологического мониторинга за возбудителями.

Оценка содержания диссертации и ее завершенность в целом

Оппонируемая диссертация имеет завершенный характер, т.к. цель работы достигнута, все поставленные автором задачи успешно решены, полученный фактический материал статистически обработан и проанализирован, выводы корректны и логически вытекают из ее содержания.

Диссертация написана хорошим языком. Работа достаточно иллюстрирована, в ней присутствуют в необходимом количестве таблицы и рисунки.

Наиболее значимые результаты диссертации опубликованы в 31 печатных работах, в том числе в 14 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК. Публикации по теме полностью соответствуют содержанию работы. Материалы диссертации обсуждены на научных конференциях, материалах проблемной комиссии по особо опасным инфекциям.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

В результате проведенного исследования фактически сформировано новое направление по созданию и применению высокоэффективных инновационных питательных сред из непищевого сырья. Полученный результат имеет значение не только в решении вопросов создания питательных сред для возбудителей холеры и чумы, но и для других микроорганизмов. Особый интерес представляет использование описанной технологии получения основ питательных сред для труднокультивируемых микроорганизмов (гемофильный микроб, пневмококков и др.).

Предложенная питательная основа для сред в отличие от ранее разработанных сред на основе углеводородокисляющих дрожжей не может содержать канцерогенных агентов, поэтому, на наш взгляд, следует рассмотреть возможность использования ПППД для выпуска сред для вакцинного производства, что требует специального изучения.

Учитывая, что в настоящее время широко используются автоматизированные системы микробиологического анализа с набором специальных сред следует рассмотреть создание отечественных наборов сред, полученных с применением ПППД для автоматизированных систем, а также для разработки хромогенных питательных сред.

Заключение

Диссертация Алексея Борисовича Мазрухо «Панкреатический перевар пекарских дрожжей – питательная основа сред для холерного вибриона и чумного микроба» является законченной научной квалификационной работой, содержащей решение актуальной проблемы создания новых питательных сред из непищевого сырья для диагностики холеры и чумы, сформировано новое направление по созданию и применению высокоэффективных инновационных питательных сред из непищевого сырья, что имеет важное народнохозяйственное значение и способствует

совершенствованию диагностики и профилактики особо опасных инфекций: холеры и чумы.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, объему проведенных исследований работа Алексея Борисовича Мазрухо полностью соответствует п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, а сам автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03. - микробиология.

Официальный оппонент
Заместитель директора по
научно-производственной деятельности
ФБУН «РостовНИИ микробиологии и
паразитологии» Роспотребнадзора
доктор медицинских наук,
старший научный сотрудник



Яговкин Эдуард Александрович

344000 г. Ростов-на-Дону,
пер. Газетный 119. Тел. +7 (863) 234-91-84
Эл. Почта: rostovniimp@mail.ru

«22» февраля 2017 г.

Подпись д.м.н., с.н.с. Яговкина Э.А. «Заверяю»

Начальник отдела кадров



В.И. Сечная