



Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору  
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Федеральный центр охраны здоровья животных»  
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)



Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру. Центр МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья.  
Референтный центр ФАО по ящуру для стран Центральной Азии и Западной Евразии

«16» мая 2018 г.

№ 01-07/5100

УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора по НИР и развитию  
ФГБУ «Федеральный  
центр охраны здоровья животных»  
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)



А.Е. Метлин

» 05 2018 г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию **СИЗОНЕНКО Марины Николаевны**  
**«ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НОВЫХ СТИМУЛЯТОРОВ**  
**РОСТА ЛИСТЕРИЙ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ**  
**ЛИСТЕРИОЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ»,**  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности **06.02.02** - ветеринарная микробиология, вирусология,  
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология,  
**03.01.06** – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

#### Актуальность темы.

Листериоз - широко распространенная инфекционная болезнь, наносящая значительный экономический ущерб животноводству и представляющая серьезную угрозу здоровью людей. Сложность борьбы с листериозом обусловлена особенностью биологии возбудителя, наличием большого числа патогенных и непатогенных штаммов, длительным бактерионосительством среди животных. Основным источником возбудителя инфекции являются больные животные – овцы, свиньи, крупный рогатый скот и птица. Листериоз зафиксирован во многих странах мира. Россия входит в их число.

Для специфической профилактики болезни в Российской Федерации используется сухая живая вакцина против листериоза сельскохозяйственных животных штамма «АУФ», выпускаемая Ставропольской биофабрикой.

Производство качественного биопрепарата возможно только при соблюдении всех технологических норм и регламентов технологического процесса, первым этапом которого является получение биомассы микроорганизмов с заданными параметрами и в необходимой концентрации.

Для устойчивого воспроизведения этой стадии производства необходимо применение стандартизованных питательных сред, которые обеспечат накопление необходимого количества микроорганизмов. Проблема нестабильности выхода биомассы является общей для широкого круга микроорганизмов, в том числе и для *Listeria monocytogenes*.

Кроме того, при производстве живых вакцин важным технологическим этапом является сублимационная сушка препарата, которая должна обеспечить максимальную сохранность бактериальных клеток.

Поэтому, подбор новых эффективных стимуляторов роста для листерий и разработка оптимальных защитных сред, которые могут обеспечить высокую эффективность биологических препаратов по окончании сублимационной сушки и при последующем хранении, является своевременной и актуальной задачей.

**Научная новизна диссертационной работы** состоит в разработке нового эффективного стимулятора роста для листерий на основе инкубационного перепелиного яйца.

Разработана эффективная технология применения озона в биотехнологическом цикле получения стимулятора роста листерий «СРМП» с целью дезинфекции сырья а также повышения в нем количества белка.

Научно обосновано положительное влияние стимулятора роста листерий «СРМП» при добавлении к защитной среде высушивания на

жизнеспособность листерий в вакцине против листериоза животных из штамма «АУФ» при ее лиофилизации и хранении.

Новизна исследований подтверждена 2 патентами на изобретение.

**Достоверность полученных диссертантом результатов, обоснованность выводов и рекомендаций** не вызывает сомнений.

Материалы, представленные в диссертации, подтверждены экспериментальными данными, полученными микробиологическими, физико-химическими, микроскопическими и гематологическими исследованиями.

**Практическая значимость** диссертации состоит в том, что результаты работы по разработке стимулятора роста для листерий внедрены в практику ФГПУ «Ставропольская биофабрика», о чем свидетельствуют два акта внедрения результатов научно-исследовательской работы.

Материалы диссертации были представлены в тезисах 16-ти международных конференций, в одной монографии, 25 публикациях, 5 из которых - в рецензируемых изданиях.

Разработанные стимуляторы роста были удостоены диплома и золотой медали на XIII Международной выставке «Мир биотехнологии – 2015».

**Оценка содержания работы.** Диссертационная работа изложена на 158 страницах машинописного текста и состоит из традиционных разделов. Список использованной литературы включает 288 источников, в том числе иностранных авторов - 67. Иллюстрационный материал состоит из 16 таблиц, 22 рисунков и 6 микрофотографий.

Диссертация начинается разделом «Введение», в котором обосновывается актуальность темы диссертации, обозначается ее цель и задачи, научная новизна, определяется практическая значимость работы.

В обзоре литературы диссертант представляет информацию о проблемах производства живых вакцинных препаратов, особенностях культивирования листерий и о применении разнообразных стимуляторов

роста при культивировании бактерий. Кроме того, в обзоре литературы автор подробно освещает вопросы технологии получения различных стимуляторов роста листерий.

Автор анализирует научные публикации по теме диссертации и обосновывает необходимость проведения настоящей работы.

Глава «Собственные исследования» начинается с описания использованных в работе материалов и методов, а далее изложены непосредственно «Результаты собственных исследований».

В целом используемые материалы, примененные методы исследований и объем проведенных экспериментов обеспечивают выполнение поставленных перед диссертантом задач.

При выполнении работы автор изучил стимуляторы роста для листерий на основе гидролизатов зебрины повислой, яблок и эмбрионально-яичной массы перепелов, оценил эффект от озонирования перепелиных яиц при производстве эмбрионально-яичной массы перепелов, разработал технологию получения стимулятора роста листерий на основе эмбрионально-яичной массы перепелов и описал его качественные характеристики. Далее автор отработал оптимальные стимулирующие дозы ферментативного гидролизата из эмбрионально-яичной массы перепелов и СРМП при культивировании *Listeria monocytogenes*, оценил эффективность применения указанных стимуляторов при культивировании листерий на твердых и жидких питательных средах, оценил стимулирующий эффект СРМП на всех этапах культивирования листерий при изготовлении опытной серии вакцины.

Обсуждение результатов исследований отражает основные положения работы, в сопоставлении с данными, изложенными в литературе.

Сформулированные автором выводы обоснованы и следуют из результатов проведенных экспериментов.

Автореферат отражает содержание диссертации.

Вместе с положительной оценкой работы необходимо отметить некоторые замечания и вопросы:

1. В работе описано приготовление гидролизата из яблок сезонных, без указания конкретного сорта. При этом известно, что химический состав яблок различных сортов варьирует по ряду показателей.

2. В части материалы и методы отсутствует раздел «Штаммы микроорганизмов», а по тексту есть упоминание о том, что автор в работе использовал штаммы: «АУФ» и патогенный штамм листерий «А-исходный». Кроме того, стоит отметить тот факт, что разработанные автором стимулирующие ростовые добавки не испытаны на референтных штаммах *Listeria monocytogenes*.

3. В научной литературе есть информация о стимуляторах роста для листерий на основе куриных яиц и дрожжевого экстракта, при этом автор не проводил экспериментов, доказывающих преимущество разработанного препарата СРМП по сравнению с ними.

4. При описании ростовых качеств бульона Хоттингера с добавлением СРМП (таблица 15) автор использует показатель – количество колоний, выросших из разведения  $10^{-6}$ , в то время как логичнее было бы представить полученные данные в виде концентрации бактерий в  $1 \text{ см}^3$ .

5. В диссертации подробно описаны эксперименты, подтверждающие не только безвредность препарата СРМП, но и его положительное влияние на иммунную систему морских свинок, при этом результаты испытаний, подтверждающие безвредность опытного вакцинного препарата не представлены, а только констатировано что вакцина «безвредна» (таблица 16).

6. В разделе материалы и методы описан метод определения иммуногенности вакцинных препаратов с использованием морских свинок, в то время как в разделе «Результаты собственных исследований» в таблице 17 приведена характеристика производственной и опытной серий вакцины –

«иммуногена», а каким образом это установлено, не указано (сколько морских свинок из 10 вакцинированных выжило?).

7. При описании концентрации живых листерий через 12 месяцев хранения не указан температурный режим хранения.

8. Из текста работы не совсем понятно как автор предлагает практически использовать эффект от большей выживаемости листерий после лиофильной сушки, планируется ли редакция инструкции по применению вакцинного препарата с тем чтобы увеличить количество прививных доз из того же объема вакцины?

9. По тексту встречаются отдельные опечатки и неудачные выражения: («производство вакцины против листериоза нуждается в дополнительных манипуляциях» стр. 42; «... в любом гидролизате не исключается наличие той или иной аминокислоты, необходимой в соответствии с нашими задачами» стр. 59; «Результаты, полученные в соавторстве, свидетельствуют ....» стр. 77; «Исходя из вышесказанного, а также тот факт, что гидролизаты обладают ....» стр. 85; «... однако не дают полную картину о биологических свойствах культуры под действием субстанций» стр.93; «...высевали на мелкие питательные среды» стр. 99).

Перечисленные замечания не снижают ценности рецензируемой работы и могут быть устранены или уточнены.

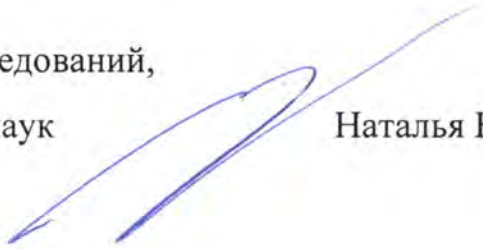
### Заключение

Диссертационная работа **Сизоненко Марины Николаевны «Эффективность использования новых стимуляторов роста листерий при изготовлении вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных»**, является законченной научно-квалификационной работой, которая по актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне и практической значимости отвечает требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемым к кандидатским

диссертациям, а ее автор, достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям **06.02.02** - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология, и **03.01.06** – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).


Отзыв рассмотрен на заседании лаборатории микробиологических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», протокол №1 от 14 мая 2018 года.

Зав. лаборатории  
микробиологических исследований,  
кандидат биологических наук

  
Наталья Борисовна Шадрова

Подпись Н.Б. Шадровой  
заверяю, Ученый секретарь,  
доктор ветеринарных наук



  
Владимир Сергеевич Русалеев