

НА ПРАВАХ РУКОПИСИ

МАЗРУХО АЛЕКСЕЙ БОРИСОВИЧ

**ПАНКРЕАТИЧЕСКИЙ ПЕРЕВАР ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖЕЙ -
ПИТАТЕЛЬНАЯ ОСНОВА СРЕД ДЛЯ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА
И ЧУМНОГО МИКРОБА**

03.02.03 – МИКРОБИОЛОГИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

**ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА МЕДИЦИНСКИХ НАУК**

РОСТОВ – НА – ДОНУ

2016

Работа выполнена в
ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора

Научный консультант: доктор медицинских наук
Лобанов Владимир Владимирович

Официальные оппоненты: *доктор медицинских наук, профессор*
Рыбкин Владимир Семенович
доктор медицинских наук
Гальцева Галина Васильевна
доктор медицинских наук
Яговкин Эдуард Александрович

Ведущая организация: ФКУЗ Иркутский противочумный
институт Роспотребнадзора

Защита состоится _____ 2017 г. в _____
на заседании диссертационного совета Д 208.008.06 при ГБОУ ВПО
«Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл.
Павших Борцов, д.1. E-mail: post@volgmed.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ГБОУ ВПО
«Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл.
Павших Борцов, д.1. E-mail: post@volgmed.ru.

Автореферат разослан « ___ » _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор социологических наук,
кандидат медицинских наук, профессор **Ковалева Марина Дмитриевна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Известно, что контроль инфекционной заболеваемости остается одной из актуальнейших проблем современного здравоохранения в связи с существованием в мире потенциальных и реальных рисков возникновения чрезвычайных ситуаций, угрожающих санитарно-эпидемиологическому благополучию населения.

Отмечается сохранение стойких очагов чумы и холеры во многих регионах земного шара (Кутырев В.В., Попов Н.В., Ерошенко Г.В., 2011; Москвитина Э.А., 2014).

Вышеизложенное требует от медицинских исследователей разных специальностей постоянного поиска новых и совершенствования известных путей борьбы с эпидемиями, направленных на реализацию организационных, профилактических и противоэпидемических мероприятий (Онищенко Г.Г., 2103; Шиянова А.Е., 2009). Очевидна необходимость совершенствования эпидемиологического надзора за чумой и холерой в целом и его важнейшей составляющей – лабораторной диагностики. Успехи человечества в борьбе с инфекционными болезнями во многом зависят от развития методов выделения, культивирования и идентификации их возбудителей, для чего обязательно использование разнообразных питательных сред. Ассортимент разрабатываемых и внедряемых в микробиологическую практику питательных сред постоянно расширяется, в связи с чем ведется интенсивный поиск универсального, стандартизованного, экономически выгодного и доступного сырья для их приготовления (Антонычева М.В., 2009; Старцева О.Л., 2005; Шепелин А.П., 2015).

Возбудители чумы и холеры имеют полноценный рост при посеве на питательные среды, содержащие мясные и казеиновые гидролизаты с широким набором аминокислот (Губарев Е.М., 1958). Вследствие высокой себестоимости и нестандартности подобных продуктов на протяжении многих лет существует необходимость в замене мяса, субпродуктов, казеина,

рыбы на непищевое сырье. Этой цели были посвящены многочисленные труды целого ряда исследователей (Курилова А.А., 2009; Меджидов М.М., 1986; Милютин В.Н., 1975).

Мировая практика (Лабинская А.С., 2010; Черкасова Л.С., 2008; Sarma Z., 1998) свидетельствует, что одним из значимых и перспективных направлений решения этой проблемы является изучение возможности использования биомассы микроорганизмов (в том числе и дрожжей) в качестве исходного сырья для микробиологических питательных основ и сред.

В биомедицинской отрасли видное место занимают дрожжи (Сакар Z. P., 2012; Edward J.E., 2012). По генотипическим признакам дрожжи занимают промежуточное положение между растениями и микробами, что отражается на их фенотипическом разнообразии (Нестерова Г.М., 1977; Gèlinas P., 2009). Хлебопекарные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* обладают широкими возможностями модификации синтеза ферментов, необходимых для адаптации, что позволяет постоянно совершенствовать приёмы управления их выращиванием в производстве (Баснакьян И.Л., 1992, Braker M., Gymrek M., 2013; . Li Yi, Gerbard M.C., Qing Li et al., 2013). С 1927 по 2008 гг. было запатентовано более 337 штаммов, предназначенных для нужд дрожжевой индустрии (Gèlinas P., 2009). По некоторым данным, 500 г сухих хлебопекарных дрожжей по содержанию белка, эквивалентны 1 кг свиного мяса, и экономичность использования этого микробиологического сырья как источника питательных веществ очевидна (Фараджаева Е.Д., Болотов Н.А., 2002; Abulhassan A.M., Sayied A.S., 2013). В результате анализа вышеперечисленных аргументов, нами было выбрано сырьё для создания инновационной питательной основы сред выделения, культивирования и идентификации холерного вибриона и чумного микроба - дрожжи хлебопекарные *S.cerevisiae*. Исходным продуктом для получения нового белкового гидролизата являлись выпускаемые отечественными предприятиями «Дрожжи хлебопекарные прессованные».

По нашему мнению представляется целесообразным и перспективным использовать для гидролиза пекарских дрожжей стандартные ферментные препараты панкреатина крупного рогатого скота, выпускаемые предприятиями мясоперерабатывающей и фармацевтической промышленности, с известной активностью его основных компонентов – трипсина, амилазы и липазы. Низкая себестоимость и стандартность (соответствие ГОСТ 171-81 и некоторым ТУ) исходного сырья – дрожжей хлебопекарных прессованных и панкреатина крупного рогатого скота сухого, достаточное количество отечественных предприятий, выпускающих указанную продукцию, простая технология изготовления панкреатического перевара пекарских дрожжей и сред из него, в перспективе создают предпосылки конкурентоспособности и востребованности данного белкового гидролизата на современном рынке отечественных и импортных микробиологических питательных сред, что особо актуально и в аспекте импортозамещения.

Цель работы. Разработка технологии изготовления панкреатического перевара пекарских дрожжей (ПППД) и изучение возможности его использования в качестве питательной основы сред для холерного вибриона и чумного микроба.

Задачи исследования

1. Изучение возможности и эффективности использования различных марок дрожжей хлебопекарных прессованных в качестве исходного сырья для изготовления белкового гидролизата – ПППД.

2. Определение оптимальных условий панкреатического гидролиза дрожжей хлебопекарных прессованных для получения белкового гидролизата – ПППД с заданными характеристиками (физико-химическими и биологическими показателями).

3. Характеристика и оптимизация стадий технологического процесса изготовления ПППД.

4. Сравнительное изучение ПППД и применяемых в микробиологической практике белковых гидролизатов в составе питательных сред по основным биологическим показателям в отношении холерного вибриона и чумного микроба, в том числе, и в аспекте возможности создания на его основе универсальной питательной среды для обоих указанных микроорганизмов.

5. Исследование возможности использования ПППД в качестве питательной основы сред для культивирования и выделения чумного микроба.

6. Исследование возможности использования ПППД в качестве питательной основы сред для культивирования, выделения и изучения свойств холерного вибриона.

Научная новизна

1. Впервые разработан и защищен патентом на изобретение (патент РФ № 2375441) способ изготовления новой питательной основы – ПППД: определены требования к исходному сырью (дрожжам хлебопекарным прессованным); подобраны препараты панкреатина крупного рогатого скота сухого, необходимые для гидролиза дрожжей хлебопекарных; установлены оптимальные способы предварительного ингибирования собственных дрожжевых ферментов; определены факторы, влияющие на панкреатический гидролиз дрожжей хлебопекарных прессованных (марка дрожжей, плотность их суспензии, дозы и временные точки внесения в гидролизуемую суспензию хлебопекарных дрожжей препаратов панкреатина, значения рН, температуры и длительности гидролиза) и найдены оптимальные условия его проведения; дифференцированы основные этапы и стадии получения ПППД, обобщенные в технологическую схему.

2. Впервые показаны преимущества ПППД перед используемыми в микробиологической практике белковыми гидролизатами по биологическим показателям (в составе питательных сред) в отношении холерного вибриона

и чумного микроба, в том числе, и в аспекте создания на его основе универсальной питательной среды для обоих указанных микроорганизмов.

3. Впервые показана возможность эффективного использования ПППД в качестве универсальной моноосновы питательных сред различного назначения для холерного вибриона.

4. Впервые на основе ПППД создан комплекс питательных сред для культивирования, выделения и идентификации по биохимическим признакам холерного вибриона, превосходящих по ряду биологических показателей существующие аналоги. Входящая в состав комплекса жидкая накопительная питательная среда запатентована (Патент РФ № 2392310 «Среда обогащения для холерного вибриона»).

5. Впервые продемонстрированы преимущества разработанного на основе ПППД комплекса питательных сред для культивирования, выделения и идентификации холерного вибриона перед используемыми в практике средами аналогичного назначения в ходе мониторинга объектов окружающей среды на наличие холерного вибриона и тактико-специального учения (ТСУ) СПЭБ по локализации очага холеры.

6. Впервые показана возможность использования ПППД в качестве моноосновы питательных сред для культивирования чумного микроба при 28°C и 37°C.

7. Впервые на основе ПППД сконструирована агаризованная питательная среда для культивирования чумного микроба при 37°C, являющаяся единственной монокомпонентной по питательному субстрату и самой малозатратной из предложенных ранее сред аналогичного назначения и превосходящая последние по ряду биологических показателей. Сконструированная среда запатентована как составляющая способа определения зараженности продовольствия патогенными биологическими агентами в условиях чрезвычайных ситуаций (патент РФ № 2350656).

8. Впервые на основе ПППД сконструирована экономически выгодная агаризованная питательная среда для культивирования и выделения чумного

микроба при 28°C, не уступающая по биологическим показателям применяемым в лабораторной практике средам.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость настоящей работы заключается в том, что впервые сформулированы научно обоснованные подходы к разработке новой универсальной основы питательных сред – ПППД. Впервые дана характеристика ПППД по физико-химическим и биологическим (в составе питательных сред) показателям. Продемонстрированы преимущества ПППД перед используемыми в практике в качестве питательных основ белковыми гидролизатами отечественного и импортного производства (что особо значимо в аспекте импортозамещения в сфере обеспечения лабораторной диагностики опасных инфекционных болезней). Показана возможность конструирования на основе ПППД питательных сред различного назначения для холерного вибриона и чумного микроба. Впервые предложены критерии оценки белковых гидролизатов в аспекте возможности создания на их основе универсальной питательной среды, позволяющей культивировать и выделять оба указанных микроорганизма. Полученные экспериментальные данные о характере и особенностях роста исследованных штаммов *V.cholerae* и *Y.pestis* на средах, включающих предлагаемую основу в качестве единственного питательного субстрата, свидетельствуют о том, что ПППД обеспечивает потребности в необходимых для жизнедеятельности указанных микроорганизмов веществах и в перспективе может служить инструментом для их всестороннего и углубленного изучения.

Практическая значимость настоящей работы состоит в следующем.

1. Впервые разработана технология изготовления новой универсальной основы питательных сред для холерного вибриона и чумного микроба.
2. Разработана новая питательная основа сред для холерного вибриона и чумного микроба – ПППД. По результатам её комиссионных испытаний получено положительное заключение. На препарат оформлена нормативная и эксплуатационная документация, одобренная Ученым Советом ФКУЗ

Ростовский-на-Дону противочумный институт и утвержденная директором института.

3. Сконструирован щелочной агар на основе ПППД для культивирования и выделения холерного вибриона. По результатам его комиссионных испытаний получено положительное заключение. На препарат оформлена нормативная и эксплуатационная документация, одобренная Ученым Советом ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт и утвержденная директором института. Осуществляется процедура государственной регистрации указанной питательной среды.

4. Сконструирована жидкая накопительная питательная среда на основе ПППД для культивирования и выделения холерного вибриона. По результатам её комиссионных испытаний получено положительное заключение. На препарат оформлена нормативная и эксплуатационная документация, одобренная Ученым Советом ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт и утвержденная директором института. Осуществляется процедура государственной регистрации указанной питательной среды.

5. Разработан бульон на основе ПППД для культивирования холерного вибриона. По результатам его комиссионных испытаний получено положительное заключение. На препарат оформлена нормативная и эксплуатационная документация, одобренная Ученым Советом ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт и утвержденная директором института.

6. Сконструирована питательная среда на основе ПППД для идентификации холерного вибриона по признаку ферментации глюкозы в аэробных и анаэробных условиях. По результатам её комиссионных испытаний получено положительное заключение. На препарат оформлена нормативная и эксплуатационная документация, одобренная Ученым Советом ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт и утвержденная директором института.

7. Сконструирована питательная среда на основе ПППД для идентификации холерного вибриона по признаку ферментации аминокислот. По результатам её комиссионных испытаний получено положительное заключение. На препарат оформлена нормативная и эксплуатационная документация, одобренная Ученым Советом ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт и утвержденная директором института.

8. Сконструирована глюкозо-лактозная агаризованная питательная среда на основе ПППД для идентификации холерного вибриона на этапе отбора подозрительных колоний. По результатам её комиссионных испытаний получено положительное заключение. На препарат оформлена нормативная и эксплуатационная документация, одобренная Ученым Советом ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт и утвержденная директором института.

9. Разработаны агаризованные питательные среды на основе ПППД для культивирования чумного микроба при 28°C и 37°C. По результатам комиссионных испытаний получено положительное заключение. На препараты оформлены нормативная и эксплуатационная документация.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработана технология, позволяющая получать белковый гидролизат – ПППД, являющийся новой экономически выгодной и конкурентоспособной универсальной питательной основой сред для холерного вибриона и чумного микроба.

2. Разработанный белковый гидролизат – ПППД обеспечивает питательные потребности как холерного вибриона, так и чумного микроба, может служить основой при конструировании питательных сред для их культивирования, выделения и идентификации, а по своим биологическим показателям в отношении указанных микроорганизмов превосходит используемые в практике средоварения отечественные и импортные белковые гидролизаты, в том числе и в аспекте возможности создания на его основе универсальной питательной среды для *V.cholerae* и *Y.pestis*.

3. Разработаны методические подходы к оценке возможности использования белковых гидролизатов в качестве моноосновы универсальной питательной среды для холерного вибриона и чумного микроба.

4. Созданный на основе ПППД новый комплекс питательных сред для культивирования, выделения и идентификации холерного вибриона по ряду биологических показателей превосходит используемые в практике аналоги, что обуславливает его более высокую эффективность при решении научных и практических задач.

5. Питательные среды, сконструированные на основе ПППД позволяют осуществлять культивирование чумного микроба как при 28°C, так и при 37°C.

6. Разработанная на основе ПППД агаризованная питательная среда для культивирования чумного микроба при 37°C, являясь единственной монокомпонентной по питательному субстрату средой из предложенных для этой цели ранее, превосходит последние по скорости роста, накоплению биомассы и фракции I.

Апробация работы

Основные положения диссертации были доложены:

- на заседаниях Проблемной комиссии (48.04) «Холера и патогенные для человека вибрионы» Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации (Ростов-на-Дону, 2002, 2004, 2006, 2010, 2012 г.г.);

- на Совещаниях специалистов Роспотребнадзора по вопросам совершенствования эпидемиологического надзора за холерой (Ростов-на-Дону, 2011, 2013 г. г.);

- на расширенной коллегии Управления Роспотребнадзора по Ростовской области (Ростов-на-Дону, 2011 г.);

- на Совещании руководителей противочумных учреждений (Москва, 2013 г.);

- на межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики инфекционных заболеваний (микробиология, биотехнология, эпидемиология, паразитология)» (Ростов-на-Дону, 2015 г.);

- на научных конференциях ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт в 2001(3 доклада), 2004, 2009, 20015 гг.

Публикации результатов исследований

По материалам диссертации опубликована 31 научная работа, из них - 26 статей, в том числе 14 – в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденного ВАК Министерства образования и науки РФ и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание искомой ученой степени, подготовлены в соавторстве два нормативно-методических документа федерального уровня, восемь комплектов нормативной и эксплуатационной документации на разработанные питательные среды. Получены три патента на изобретения.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 302 страницах, содержит введение, обзор литературы, пять глав собственных исследований (включающих главу 2 «Материалы и методы»), заключение, выводы, иллюстрирована 39 таблицами и тремя рисунками. Библиография представлена 524 работами, в том числе 347 - отечественными, 177 - иностранными.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В настоящем исследовании были использованы 50 штаммов холерного вибриона различных биоваров и серогрупп, 11 штаммов чумного микроба, отличающихся по вирулентности и месту выделения, в том числе, тест-штаммы для контроля питательных сред из коллекции музея живых культур ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Для оценки дифференцирующих свойств разработанных и контрольных питательных сред были использованы также штаммы других микроорганизмов: *Shigella flexneri* 1 «А»8516, *Proteus vulgaris* 14, *Aeromonas hydrophila* 6020-Р, *Pseudomonas aeruginosa* Р-5810, *Escherichia coli* 1015.

В настоящей работе в качестве контрольных были использованы как коммерческие зарегистрированные в установленном порядке питательные среды, так и среды лабораторного изготовления (которым нет коммерческих аналогов), рекомендованные действующими практическими руководствами и методическими указаниями по лабораторной диагностике холеры и чумы.

Контрольные коммерческие питательные среды: агар щелочной сухой, пептон основной сухой, питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий – среда Клиглера сухая, питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий – среда Ресселя сухая (все - производства ФГУП НПО «Микроген»), питательная среда для культивирования и выделения чумного микроба ЧПС, производства ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», п. Оболенск Московской области.

Контрольные питательные среды лабораторного изготовления: бульон Мартена рН $7,8 \pm 0,2$; агар Мартена рН $7,8 \pm 0,2$; агар Хоттингера рН $7,2 \pm 0,2$; бульон Хоттингера рН $7,2 \pm 0,2$; среда АКІ (Iwanaga M, 1985); среды Меллера с аминокислотами; среды Гисса с углеводами и многоатомными спиртами; среда Хью-Лейфсона; среда лактозо-сахарозная.

При изучении разработанной на основе ПППД агаризованной питательной среды для культивирования чумного микроба при 37°C в качестве сред сравнения использовали предложенные в разные годы экспериментальные питательные среды аналогичного назначения: ЛХАТ, ДК-37, СО (Пустовалов В.Л., 1981; Шеремет О.В., 1991), а также питательную среду из компонентов Veston Dickinson – LB.

В качестве препаратов сравнения для оценки ПППД как основы питательных сред для холерного вибриона и чумного микроба были

использованы следующие белковые гидролизаты: Пептон ферментативный (производитель - ООО НПО «Порт-Петровск», г. Курск); гидролизат казеина солянокислый (ФГУП НПО «Микроген»); гидролизат казеина панкреатический (ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, г.Оболенск); гидролизат каспийской кильки панкреатический – сухой питательный бульон (ФГУП НПО «Микроген»); бакто-пептон («Becton Dickinson», США); казаминовые кислоты – сернокислый гидролизат казеина высокой степени расщепления («Becton Dickinson», США); бакто-триптон («Becton Dickinson», США); гидролизат мяса по Хоттингеру; пептон Мартена.

Сравнительное изучение разработанных на основе ПППД и контрольных питательных сред по физико-химическим и биологическим показателям осуществляли согласно требованиям МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля питательных сред» и МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителя чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцелллёза, легионелллёза».

Гемолитическую активность штаммов холерного вибриона определяли постановкой пробы Грейга с эритроцитами барана согласно действующим методическим указаниям и практическим руководствам

Оценку энтеротоксинпродуцирующей активности штаммов холерного вибриона на опытной и контрольных питательных средах проводили путем постановки теста кожной проницаемости (Craig J.P., 1966) и титрованием в культуре клеток СНО-К1.

Выявление продукции капсульного антигена (фракции I) чумного микроба проводили следующими серологическими методами: постановкой реакции агломерации объемной (РАО), реакции непрямой гемагглютинации (РНГА), методом флюоресцирующих антител (МФА).

При статистической обработке данных математический анализ включал вычисление средних величин, ошибок средних арифметических, коэффициентов вариаций, доверительных интервалов, t – критерия

Стьюдента. Для сравнения результатов, полученных на опытных и контрольных средах, использовали критерий «хи-квадрат». Группировку первичных данных и вычисления проводили на персональных компьютерах с использованием пакета программ Excel 7.0.

Оптимизацию конструируемых питательных сред по количественному содержанию ингредиентов с учетом их влияния на биологические показатели данных сред проводили методами Гаусса-Зейделя и Розенброка-Вотрубса.

Результаты исследований и их обсуждение

На первом этапе исследований были подобраны оптимальные для изготовления ПППД коммерческие марки определённых рас прессованных хлебопекарных дрожжей *S.cerevisiae*: «Особые» Ростовского-на-Дону дрожжевого завода (ТУ 9182-023-00371185-98) и «Дрожжи хлебопекарные прессованные» Черкесского дрожжевого завода (ГОСТ 171-81). В качестве перспективных, по результатам исследования, следует рассматривать дрожжи хлебопекарные «Экстра», производства ООО «Воронежские дрожжи» (ТУ 9182-001-59559671-2003), марки «Градус» и «Хлебное дерево» Ростовского-на-Дону дрожжевого завода (ГОСТ 171-81), а также продукцию Санкт-Петербургского дрожжевого завода (ТУ 9182-005-00353595-2001).

Анализ кривых гидролиза дрожжей (рисунок 1) выявил, что характерная константа нарастания скорости (по аминному азоту) на протяжении первых восьми часов была зарегистрирована при использовании марки «Особые».

У других дрожжей имело место отставание, связанное с ригидностью клеточных стенок (рисунок 2).

В ходе проведенных исследований был разработан способ изготовления ПППД, включающий пять стадий: получение суспензии пекарских дрожжей; получение неосветлённого панкреатического перевара пекарских дрожжей; получение осветлённого панкреатического перевара пекарских дрожжей; получение готового целевого продукта – ПППД; фасовка, герметизация, стерилизация, этикетировка и упаковка готовой продукции.

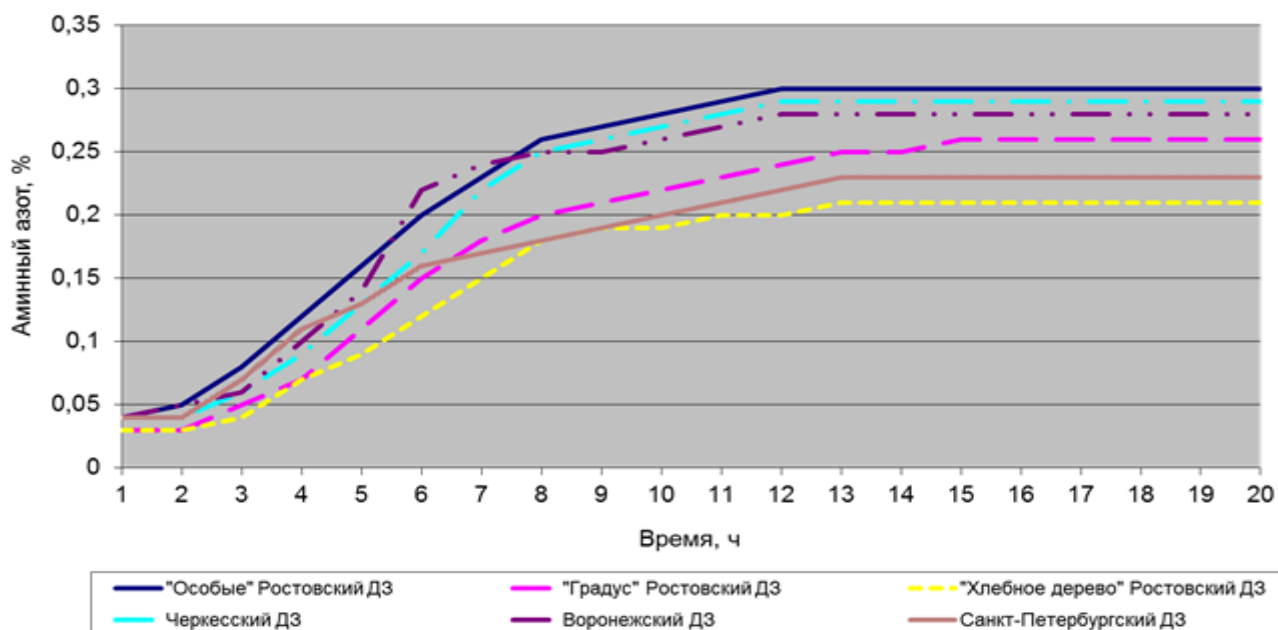


Рисунок 1. Кривые нарастания аминного азота при гидролизе хлебопекарных дрожжей различных марок и производителей

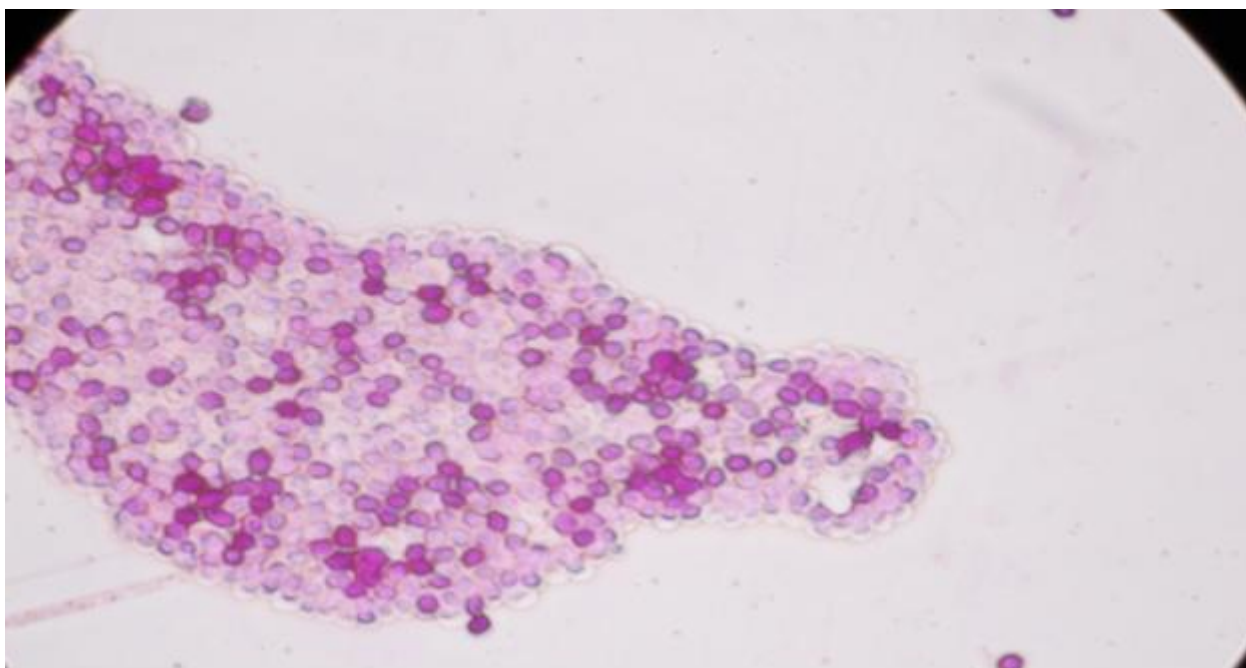


Рисунок 2. Мазок из гидролизуемой суспензии дрожжей пекарских ООО «Воронежские дрожжи» через 4 часа после внесения фермента. В полях зрения до 10-15% исходных крупных грамположительных клеток с неразрушенной клеточной стенкой

Были также найдены оптимальные параметры технологического процесса изготовления ПППД (таблица 1).

Таблица 1

Оптимальные параметры технологического процесса изготовления панкреатического перевара пекарских дрожжей

Наименование параметра	Оптимум
Марка прессованных пекарских дрожжей	«Особые» ТУ 9182-023-00371185-98; дрожжи Черкесского дрожжевого завода ГОСТ 171-81
Плотность суспензии прессованных пекарских дрожжей в воде очищенной	0,2 кг дрожжей / 1 кг суспензии (эквивалентная 1 кг дрожжей на 4 л воды очищенной)
Стабилизатор	Хлороформ в насыщающих концентрациях
Метод ингибирования собственных дрожжевых ферментов	Щелочение до рН выше 8,0 с помощью 20% раствора гидроксида натрия
Ферментный препарат	Панкреатин крупного рогатого скота сухой ОСТ 49167-92
Доза ферментного препарата	0,7 г / кг дрожжей
рН гидролиза	8,3±0,2
Температура гидролиза	45±1°С
Длительность гидролиза	16,5±1,5 ч
Метод осветления гидролизата	Отстаивание на холоде при температуре 5±3°С с последующей декантацией
Метод стерилизации	Автоклавирование при 110°С 20 минут

Разработанный препарат ПППД характеризуется следующими физико-химическими показателями:

- прозрачность и цветность – препарат должен быть прозрачным, коричневого или светло-коричневого цвета;

- рН – $(8,2 \pm 0,3)$;

- аминный азот - $(0,285 \pm 0,065)$ %;

- общий азот - $(0,93 \pm 0,21)$ %;

- содержание хлорида натрия - $(0,46 \pm 0,14)$ %;

- углеводы - $(0,04 \pm 0,015)$ %;

- свободный триптофан – $(0,107 \pm 0,004)$ %;

- нуклеиновые кислоты – $(0,002 \pm 0,00005)$ %.

Будучи введенным в состав питательных сред для холерного вибриона и чумного микроба в качестве питательной основы, ПППД обеспечивает соответствие последних требованиям МУ 3.3.2.2124-06 по биологическим показателям.

Наиболее широкий «диапазон концентраций, обеспечивающих позитивный отклик» - соответствие требованиям МУ 3.3.2.2124-06 в отношении тест-штаммов холерного вибриона и чумного микроба среди 10 протестированных белковых гидролизатов был зарегистрирован при использовании ПППД – 12 исследованных значений концентрации гидролизата дали положительный результат в отношении тест-штамма холерного вибриона и 21 значение концентрации – в отношении тест-штамма чумного микроба.

Наибольшая величина «интервала универсальности» была зарегистрирована также у ПППД – девять значений концентрации гидролизата (от 0,03 до 0,07% по аминному азоту). Таким образом, разработанный белковый гидролизат – ПППД является наиболее эффективным и экономически выгодным среди протестированных в ходе настоящей работы отечественных и зарубежных аналогов в аспекте

возможности создания на его основе как отдельных агаризованных сред для возбудителей чумы и холеры, так и универсальной питательной среды для обоих микроорганизмов.

Продемонстрированные преимущества ПППД перед используемыми в практике отечественными и зарубежными белковыми гидролизатами в аспекте обеспечения питательных потребностей чумного микроба послужили фундаментом для конструирования на основе данного препарата агаризованных питательных сред для культивирования *Y.pestis* при 28°C и 37°C.

На основании результатов проведённых лабораторных испытаний, можно сделать заключение, что разработанная среда для культивирования чумного микроба при 28°C может являться полноценной альтернативой используемым в лабораторной практике питательным средам: ЧПС (ФБУЗ ГНЦ ПМБ) и агару Хоттингера.

Сконструированная на основе ПППД агаризованная питательная среда для культивирования чумного микроба при 37°C по всем изученным биологическим показателям превосходила все предложенные ранее для данной температуры культивирования контрольные среды.

Две разработанные на основе ПППД агаризованные питательные среды (для культивирования и выделения чумного микроба при 28°C; для культивирования чумного микроба при 37 °C) были апробированы в ходе тактико-специального учения (ТСУ) СПЭБ по проведению специфической индикации патогенных биологических агентов (ПБА). Об эффективности сконструированных сред свидетельствует выделение с их помощью культуры чумного микроба из обеих учебных проб с разной степенью их контаминации вакцинным штаммом *Y.pestis* EV 1290 при двух температурах инкубации посевов - 28°C и 37°C, в то время как на контрольном агаре Хоттингера возбудитель чумы был изолирован только из пробы № 1 с более высокой концентрацией чумного микроба (при 37°C - в более поздние, чем на опытной среде, сроки).

В ходе проведенного исследования на основе ПППД был создан новый комплекс питательных сред для лабораторной диагностики холеры и всестороннего изучения различных штаммов холерного вибриона. Разработанный комплекс включает:

- Щелочной агар для выделения и культивирования холерного вибриона;
- Жидкую накопительную питательную среду для выделения и культивирования холерного вибриона в концентрированном (аналог основного раствора пептона) и разведенном (аналог 1% пептонной воды) вариантах;
- Бульон для культивирования холерного вибриона;
- Питательную среду для идентификации холерного вибриона по признаку ферментации аминокислот;
- Агаризованную питательную среду для идентификации холерного вибриона по признаку ферментации глюкозы в аэробных и анаэробных условиях;
- Глюкозо-лактозную агаризованную питательную среду для выделения холерного вибриона на этапе отбора колоний.

Проведенные исследования показали, что разработанный на основе ПППД щелочной агар не только соответствует критериям качества, регламентированным действующими методическими указаниями, но и превосходит используемый в практике аналог – коммерческий щелочной агар по ряду биологических показателей в отношении трёх из четырёх исследованных групп штаммов *V.cholerae*.

Нами была сконструирована новая жидкая накопительная питательная среда на основе ПППД для выделения и культивирования холерного вибриона в концентрированном (аналог основного раствора пептона) и разведенном (аналог 1% пептонной воды) вариантах. Результаты сравнительного изучения разработанной и контрольной жидких накопительных питательных сред наглядно продемонстрировали достоверно более высокое среднее значение показателя чувствительности разработанной

среды по сравнению с контрольной в отношении трех из четырех взятых в исследование групп штаммов: *V.cholerae classical O1*, *V.cholerae El Tor O1* и *V.cholerae O139*.

За шесть лет апробации разработанного на основе ПППД комплекса сред «Щелочной агар - Жидкая накопительная среда» при мониторинге воды поверхностных водоемов и стоков на территории г.Ростова-на-Дону с его помощью были выделены 18 культур *V.cholerae O1* (16 – из воды поверхностных водоемов, две – из сточных вод), на контрольном комплексе сред «Агар щелочной сухой – Пептон основной сухой» производства ФГУП НПО «Микроген» была изолирована только одна культура *V.cholerae O1* (из сточных вод). Следует отметить, что 85% всех изолированных в Ростовской области за шесть лет (2000-2005 гг.) культур *V.cholerae O1* было выявлено только при использовании сред, сконструированных на основе ПППД, в процессе их лабораторных испытаний (таблица 2).

В 747 пробах материала от людей холерный вибрион не был обнаружен как на опытных, так и на контрольных средах. Вместе с тем, результаты модельных опытов по выделению холерного вибриона из смесей, имитирующих клинический материал (которые показали преимущество сред на основе ПППД перед традиционными 1% пептонной водой и щелочным агаром), создают предпосылки возможности эффективного использования разработанных сред для исследования материала от людей.

В качестве недорогой адекватной альтернативы традиционным мясо-пептонным бульонам была создана новая рецептура бульона для культивирования холерного вибриона на основе ПППД:

Результаты сравнительного изучения разработанного бульона для культивирования холерного вибриона на основе ПППД и контрольной среды – бульона Мартена свидетельствуют, что по основным биологическим показателям разработанный бульон не уступает контрольному в отношении всех 28 изученных музейных штаммов холерного вибриона различных биоваров и серогрупп.

Таблица 2.

Сравнительное изучение эффективности использования опытного («Щелочной агар – Жидкая накопительная среда» на основе ПППД) и контрольного («Агар щелочной сухой – Пептон основной сухой», ФГУП НПО «Микроген») комплексов питательных сред в ходе мониторинга объектов окружающей среды за период 2000-2005 гг. (по показателю выделения штаммов *V.cholerae O1*)

Годы	Кол-во исследованных проб воды / кол-во выделенных культур <i>V.cholerae O1</i>					
	Всего		Из поверхностных водоемов		Из сточных вод	
	Опытный комплекс сред	Контр. комплекс сред	Опытный комплекс сред	Контр. комплекс сред	Опытный комплекс сред	Контр. комплекс сред
2000	143 / 1	143 / 1	123 / 0	123 / 0	20 / 1	20 / 1
2001	146 / 6	146 / 0	125 / 5	125 / 0	21 / 1	21 / 0
2002	169 / 4	169 / 0	148 / 4	148 / 0	21 / 0	21 / 0
2003	160 / 1	160 / 0	140 / 1	140 / 0	20 / 0	20 / 0
2004	152 / 2	152 / 0	133 / 2	133 / 0	19 / 0	19 / 0
2005	168 / 4	168 / 0	147 / 4	147 / 0	21 / 0	21 / 0
Итого:	938 / 18	938 / 1	816 / 16	816 / 0	122 / 2	122 / 1

Разработанный на основе ПППД бульон был исследован также в аспекте возможности его применения для оценки продукции холерного энтеротоксина (СТ) *in vitro* с тестированием полученных из исследованных штаммов *V.cholerae* супернатантов в тесте кожной проницаемости и культуре клеток СНО-К1 (таблица 3).

Таблица 3.

Продукция холерного энтеротоксина (СТ) штаммами *V.cholerae* при их культивировании в бульоне на основе ПППД и контрольных средах (бульоне Мартена и среде АКІ)

Штаммы <i>V.cholerae</i>	Питательные среды					
	Бульон на основе ПППД		Б-н Мартена		Среда АКІ	
	Титр в тесте кожной проицаем.	Титр в культуре клеток СНО-К1	Титр в тесте кожной проицаем.	Титр в культуре клеток СНО-К1	Титр в тесте кожной проицаем.	Титр в культуре клеток СНО-К1
<i>V.cholerae classical</i> 569В (штамм-продукент)	1/1280	1/25600	1/1280	1/25600	1/2560	1/51200
<i>V.cholerae El Tor</i> 1310 (штамм-продукент)	1/640	1/6400	1/640	1/3200	1/2560	1/12800
<i>V.cholerae O139</i> 16077 (штамм-продукент)	1/640	1/3200	1/640	1/3200	1/1280	1/6400
Штаммы <i>V.cholerae El Tor</i> , выделенные от людей в г. Казани во время вспышки 2001 г. 29 штаммов	1/4 – 1/64	1/100 – 1/3200	1/4 – 1/64	1/100 – 1/3200	1/8 – 1/256	1/200 – 1/6400
Штаммы <i>V.cholerae El Tor</i> , выделенные из воды поверхностных водоемов и стоков в г.Ростове-на-Дону в 2000-2001 гг. 3 штамма	1/2 - 1/64	1/10 – 1/800	1/4 - 1/32	1/10 – 1/800	1/32 – 1/512	1/100 – 1/1600

При исследовании 29 штаммов холерного вибриона, выделенных от людей во время вспышки холеры в г.Казани летом 2001 г., и трех

токсигенных штаммов *V.cholerae eltor*, изолированных из воды поверхностных водоемов и стоков на территории г.Ростова-на-Дону в 2000-2001 гг., было установлено что по величине титров СТ в указанных тестах опытная среда не уступала бульону Мартена и лишь незначительно отставала по этому показателю от одной из лучших в мире сред накопления СТ, состоящей из дорогих импортных ингредиентов – среде АКІ.

Исследование гемолитической активности 28 использованных штаммов холерного вибриона различных биоваров и серогрупп в пробе Грейга показало отсутствие расхождения в результатах, полученных при использовании разработанного на основе ПППД бульона и бульона Мартена.

Сконструированные на основе ПППД дифференциальные среды, имея значительные преимущества по себестоимости, не уступали используемым в практике средам аналогичного назначения по изученным биологическим показателям.

Новый комплекс питательных сред на основе ПППД для культивирования, выделения и идентификации холерного вибриона прошел успешную апробацию и в ходе опытно-исследовательского тактико-специального учения (ТСУ) СПЭБ на тему: «Выдвижение, развёртывание и организация работы СПЭБ на базе мобильного комплекса (МК СПЭБ) в автономных условиях по индикации и идентификации холерных вибрионов», состоявшегося 26-30 июля 2010 г.

Выделение в ходе ТСУ атоксигенного штамма *V.cholerae eltor* из реальной пробы воды открытого водоёма только с помощью сред разработанного комплекса подтверждает полученные в результате многолетнего мониторинга водных объектов данные о преимуществе этих сред перед используемыми в микробиологической практике.

Анализ наших результатов и данных, приведённых в специальной литературе, позволяет нам утверждать, что открывается новое перспективное направление в производстве питательных сред. Продолжением и расширением нашего научного направления станет изучение возможности

использования ПППД в качестве основы селективно-дифференциальных питательных сред для холерного вибриона, чумного микроба и других возбудителей опасных инфекционных болезней. Перед отечественными производителями питательных сред стоят задачи импортозамещения в области обеспечения функционирования автоматизированных систем в микробиологии. В соответствии с этой генеральной линией другим перспективным направлением наших исследований представляется разработка на основе ПППД сред для автоматических устройств, а также хромогенных сред, которые были бы конкурентоспособны и могли внести свой вклад в борьбу с угрожающими человечеству опасными инфекционными болезнями.

ВЫВОДЫ

1. Разработана новая экономически выгодная и конкурентоспособная универсальная питательная основа сред для холерного вибриона и чумного микроба – панкреатический перевар пекарских дрожжей (ПППД).

2. Панкреатический перевар пекарских дрожжей (ПППД) является адекватной альтернативой традиционным мясным, казеиновым и рыбным белковым гидролизатам, способной обеспечить питательные потребности различных штаммов холерного вибриона и чумного микроба.

3. Панкреатический перевар пекарских дрожжей (ПППД) может служить полноценной моноосновой при конструировании питательных сред для культивирования, выделения и идентификации холерного вибриона и чумного микроба.

4. Панкреатический перевар пекарских дрожжей (ПППД) превосходит по биологическим показателям используемые в практике средоварения белковые гидролизаты отечественного и зарубежного производства, в том числе и в аспекте создания на его основе универсальной питательной среды для холерного вибриона и чумного микроба.

5. На основе панкреатического перевара пекарских дрожжей (ПППД) создан новый комплекс питательных сред для культивирования, выделения и

идентификации холерного вибриона, превосходящий существующие аналоги по ряду биологических показателей в отношении штаммов *V.cholerae* различных биоваров и серогрупп. Разработанный комплекс питательных сред для холерного вибриона является эффективным инструментом для решения многих научных и практических задач.

6. Продемонстрирована возможность использования панкреатического перевара пекарских дрожжей (ПППД) в качестве единственного азотсодержащего компонента (моноосновы) питательных сред, предназначенных для культивирования чумного микроба как при 28 °С, так и при 37 °С.

7. Сконструированная на основе панкреатического перевара пекарских дрожжей (ПППД) агаризованная питательная среда для культивирования чумного микроба при 37 °С превосходит все ранее предложенные среды аналогичного назначения по скорости роста, выходу биомассы с единицы объема среды и накоплению капсульного антигена (фракции I) *Y.pestis*.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанный и запатентованный способ получения белкового гидролизата дрожжей хлебопекарных прессованных может использоваться в микробиологическом производстве с целью изготовления панкреатического перевара пекарских дрожжей (ПППД) – эффективной и экономически выгодной импортозамещающей питательной основы сред для холерного вибриона и чумного микроба.

2. Сконструированные на основе ПППД питательные среды могут быть использованы для лабораторной диагностики холеры и чумы в качестве сред выделения, культивирования и идентификации возбудителей этих опасных инфекционных болезней.

3. Разработанные на основе ПППД питательные среды могут быть использованы при решении ряда научных задач, связанных с всесторонним изучением холерного вибриона и чумного микроба, а также для накопления антигенов и токсинов указанных микроорганизмов.

4. Разработанные питательные среды могут быть использованы в качестве сред мобилизационной составляющей резерва специализированных противэпидемических бригад (СПЭБ) для работы в очагах холеры и чумы.

5. Материалы диссертационной работы могут быть использованы в учебных целях при подготовке специалистов на цикле повышения квалификации по специальности «Бактериология».

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Каминский Д.И., Мазрухо А.Б., Рожков К.К., Шестиалтынова И.С. Изучение возможности использования ХДС-агара для культивирования и выделения холерных вибрионов // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2001.- Вып.14.- С.90-92.

2. Криваченко К.Б., Мазрухо А.Б., Черепихина И.Я., Фецайлова О.П., Каминский Д.И. Изучение возможности использования питательной среды ЧДС-37 для культивирования чумного микроба при 37оС // Природно-очагов особо опас. инфекции на юге России, их профилакт. и лаб. диаг. Сб.науч. тр. посвящ. 100-лет. Астраханской противочум. Станции, Астрахань: Волга, 2001.- С.240-241.

3. Фецайлова О.П., Черепихина И.Я., Криваченко К.Б., Мазрухо А.Б., Бурлакова О.С. Использование среды ЧДС-37 для выделения чумного микроба // Актуал. аспекта природно-очагов. бол-ней: Матер.межрегион. науч-практ.конф. посвящ. 80-лет. Омского НИИПЧ, Омск, 2001 - С.169-170.

4. Сальникова О.И., Маркина О.В., Мазрухо А.Б., Овсова Л.М., Алексеева Л.П. Оценка токсинопродуцирующей активности штаммов холерного вибриона выделенных при вспышке холеры в Казани в 2001 году, на модели культуры клеток СНО-К 1 и ИФА-2 АТ // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2002.- Вып.15.- С.41-42.

5. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Рожков К.К., Криваченко К.Б., Овсова Л.М. Новая накопительная питательная среда для культивирования и выделения холерного вибриона на основе панкреатического перевара пекарских дрожжей // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2002.- Вып.15.- С.80-82.

6. Каминский Д.И., Мазрухо А.Б., Рожков К.К., Кругликов В.Д., Овсова Л.М. Результаты использования нового комплекса сред для диагностики холеры при исследовании проб воды на территории Ростова-на-Дону в 2000-2001г.г. // Окруж. среда и здоровье: Матер. науч.- практ. конф. с междунар. участ. посвящ. 90-лет. осн.кафедра общ. гигиены и экологии СГМУ, Саратов: СГМУ, 2002. - С.95-96.

7. Мазрухо Б.Л., Кругликов В.Д., Ишина Е.В., Авдеева Е.П., Мазрухо А.Б. Результаты многолетнего мониторинга за возбудителями холеры в водных объектах окружающей среды г.Ростова-на-Дону // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2003.- Вып.16.- С.65-68.

8. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Рожков К.К., Криваченко К.Б., Овсова Л.М. Новая накопительная питательная среда ХДС-Н для культивирования и выделения холерного вибриона // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2003.- Вып.16.- С.239-241.

9. Каминский Д.И., Мазрухо А.Б., Ломов Ю.М., Рожков К.К., Криваченко К.Б. Оценка жидкой накопительной питательной среды ХДС-Н для культивирования и выделения холерного вибриона // Биотехнология, 2003.- № 4. - С.70-74.

10. Мазрухо Б.Л., Кругликов В.Д., Ишина Е.В., Авдеева Е.П., Мазрухо А.Б. Динамика выделения и биологические свойства культур холерных вибрионов 01 и 0139 серогрупп, выделенных из поверхностных водоемов и сточных вод на территории г. Ростова-на-Дону // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 2003г.- № 2.- С.12-16.

11. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Рожков К.К., Кругликов В.Д., Мазрухо Б.Л. Результаты использования комплекса сред для культивирования и выделения холерного вибриона на основе панкреатического перевара пекарских дрожжей при мониторинге водных объектов г.Ростова-на-Дону в 2000-2003 г.г. // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2004.- Вып.17.- С.81-83.

12. Мазрухо Б.Л., Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Михась Н.К., Шестиалтынова И.С., Мазрухо А.Б. Микробиологические аспекты мониторинга за наличием холерных вибрионов в водных объектах окружающей среде г.Ростова-на-Дону // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного

научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2005.- Вып.18.- С.22-25.

13. Ломов Ю.М., Мазрухо Б.Л., Кругликов В.Д., Авдеева Е.П., Монахова Е.В., Мазрухо А.Б. Изучение динамики выделения и характеристика фено-и генотипических свойств штаммов холерных вибрионов, изолированных в процессе мониторинга из водных объектов окружающей среды г.Ростова-на-Дону // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2007.- Вып.20.- С.16-22.

14. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К. Алгоритм и тактика обеспечения питательными средами специализированных противэпидемических бригад Роспотребнадзора при работе в очаге холеры // Здоровье населения и среда обитания-2009- №11-С.8-16.

15. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р. Использование новых питательных сред на этапах подготовки сотрудников специализированных противэпидемических бригад к работе в зонах чрезвычайных ситуаций // Медико-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях, 2010- № 3. - С.75-80.

16. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К. Апробация новых питательных сред для культивирования и выделения чумного микроба ЧДС-28 и ЧДС-37 в ходе тактико-специального учения специализированной противэпидемической бригады // Здоровье населения и среда обитания, 2010- №6 – С.42-45.

17. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К. Резерв питательных сред специализированной противэпидемической бригады для работы в очаге холеры: проблемы формирования, поддержания и обновления // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2010.- Вып.23.- С.128-132.

18. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К. Результаты использования нового комплекса питательных сред для диагностики холеры в ходе тактико-специального учения специализированной противэпидемической бригады // Пробл. особо опасных инф., 2011.- № 3(109).- С.54-57.

19. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К. Новая питательная среда ХДС-агар как перспективный элемент мобилизационного резерва специализированных противэпидемических бригад // Известия высш. учеб. заведен.: Сев-Кав. рег. Естеств. науки, 2011. - № 3.- С.101-105.

20. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К. Сравнительная оценка белковых гидролизатов в аспекте создания на их основе универсальной питательной среды для диагностики чумы и холеры // *Клин. лаб. диагностика*, 2011.- № 6.- С. 48-52.

21. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К. Новая питательная среда для культивирования и выделения чумного микроба ЧДС-37 как элемент мобилизационного резерва специализированных противэпидемических бригад Роспотребнадзора // *Клин. лаб. диагностика*, 2011г.- № 4.-С. 46-48.

22. Мазрухо А.Б., Шелухович А.И., Харабаджахан Г.Д., Карбышев Г.Л., Терентьев А.Н. Оценка биологических показателей новой селективно-дифференциальной среды для выделения холерных вибрионов по результатам лабораторных испытаний // *Проблемы особо опас. инф*, 2011г. -Вып.2(108). - С. 64-67.

23. Ежова М.И., Архангельская И.В., Григоренко Л.В., Шестиалтынова И.С., Мазрухо А.Б. Мониторинг водных объектов на наличие холерных вибрионов // *Матер. науч. конф., посвящ. 120 лет.ФНЦ гигиены им.Ф.Ф.Эрисмана*. 2011г.- № 5- С.40.

24. Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Кругликов В.Д., Авдеева Е.П., Ежова М.И., Мазрухо А.Б. Фенотипическая и молекулярно-биологическая характеристика штаммов холерных вибрионов Эль-Тор, выделенных из объектов окружающей среды г.Ростова-на-Дону в 2003-2011г.г. // *Эпидемиол.и инф. болезни*, 2011.- № 1.- С.24-28.

25. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Лобанов В.В. Преимущества и перспективы использования панкреатического перевара пекарских дрожжей в качестве основы питательных сред для холерного вибриона // *Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2012.- Вып.25.- С.53-55.*

26. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Рожков К.К., Лобанов В.В., Сухарь В.В. Разработка глюкозо-лактозной агаризованной питательной среды на основе панкреатического перевара пекарских дрожжей для первичной идентификации холерного вибриона // *Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.- Ростов-на-Дону, 2012.- Вып.25.- С.182.*

27. Мазрухо А.Б., Лобанов В.В. Современные тенденции в области изучения метаболизма и особенностей питания холерного вибриона // *Проблемы особо опас. инф.*, 2012.- Вып.2(112). - С. 35-38.

28. Мазрухо А.Б., Монахова Е.В., Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н., Кругликов В.Д. Изучение генетической детерминированности твиназной активности холерных вибрионов // *Пробл. особо опас.инф.*, 2012 г. - Вып.4/114. - С.44-46.

29. Мазрухо А.Б., Москвитина Э.А., Водяницкая С.Ю., Соловьев М.Ю., Айдинов Г.В. Основные направления научно-практического взаимодействия ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Управления Роспотребнадзора по Ростовской области и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» // Здоровье населения и среда обитания – 2012-№ 9.- С.38-41.

30. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Иванов С.А., Рожков К.К., Булахова О.Г. Глюкозо-лактозная питательная среда на основе панкреатического перевара пекарских дрожжей для идентификации холерного вибриона // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы совещания специалистов Роспотребнадзора по вопросам совершенствования эпидемиологического надзора за холерой (5-6 июня 2013 г.), Ростов-на-Дону: Дониздат, 2013. - Вып.26. - С.223-227.

31. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Рожков К.К., Лобанов В.В., Иванов С.А. Новый комплекс питательных сред для идентификации холерного вибриона по различным биохимическим признакам на основе панкреатического перевара пекарских дрожжей // Современные аспекты изучения особо опасных и других инфекционных болезней: Материалы научно-практической конференции, посвященной 80-летию Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону: Мини Тайп, 2014.- С.186-188.