

В диссертационный совет по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук 24.1.515.01 при ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»

## ОТЗЫВ

Официального оппонента

доктора технических наук Свириденко Галины Михайловны на диссертационную работу Кишиловой Светланы Анатольевны на тему: «Разработка методических подходов к оптимизации контроля *Pseudomonas aeruginosa* на молочных производствах», представленной на соискание учёной степени кандидата технических наук по специальностям: 4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ и 4.3.3 – Пищевые системы.

### Актуальность темы исследований

В настоящее время обеспечение населения качественными и безопасными продуктами питания является актуальной задачей государственного уровня. Диссертационная работа Кишиловой Светланы Анатольевны отвечает положениям Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года (Распоряжение Правительства Российской Федерации от 29 июня 2016 г № 1364-р).

Молоко и молочные продукты являются одними из основных традиционных элементов рациона питания населения нашей страны, поэтому молочная промышленность обязана обеспечить выпуск качественной и безопасной продукции.

Молочные продукты являются хорошей средой для развития микроорганизмов, в том числе патогенных. Известно, что в последнее время патогенность и резистентность многих бактерий за счет использования антибактериальных средств и ряда технологических приемов производства неуклонно возрастает. К таким микроорганизмам можно отнести *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойную палочку), являющуюся не только причиной порчи молочных продуктов, но и признанным патогеном, влияющим на безопасность.

Особое значение *P. aeruginosa* приобретает как микроорганизм с исключительными адаптивными способностями. Так синегнойная палочка способна развиваться и метаболизировать в широком диапазоне температур, обладая значительной психротрофностью. С одной стороны, *P. aeruginosa* достаточно устойчива к температурам пастеризации, а с другой сохраняет

способность к росту и размножению при температурах хранения молочных продуктов, что создает значительные риски снижения их хранимоспособности.

Основной риск первичного обсеменения молока *P. aeruginosa* связан с попаданием патогена при маститах, вызванных развитием данного микроорганизма в вымени. Риски вторичного обсеменения молочной продукции на производстве чаще всего обусловлены использованием больших объемов воды не гарантированного качества.

*P. aeruginosa* не нормируется в молоке и молочных продуктах, и не подлежит производственному микробиологическому контролю, однако ее роль в снижении качества и безопасности молочных продуктов в результате как первичной, так и вторичной контаминации может быть значима, особенно из-за постоянного стремления производителей к увеличению сроков годности готовой молочной продукции.

Учитывая выше сказанное, диссертационная работа Кишиловой Светланы Анатольевны по оценке рисков, связанных с *P. aeruginosa* при производстве различных молочных продуктов, и поиск способов их снижения за счет использования как технологических приемов, так и различных антимикробных средств, в том числе заквасочных микроорганизмов, является, безусловно, актуальной.

### **Научная новизна исследований**

Научная новизна работы заключается в сравнительной оценке морфологических, культуральных и биохимических свойств штаммов *P. aeruginosa*, выделенных на производственных объектах и их сравнение со свойствами типового коллекционного штамма. Диссертантом установлена способность исследованных штаммов к выживанию в зависимости от температурно-временных режимов пастеризации и к реактивации в хранении молока и молочных продуктов.

Теоретически и экспериментально определена чувствительность исследуемых штаммов *P. aeruginosa* к химическим и биологическим антимикробным агентам, в том числе бактериофагу, антибиотикам, хлорсодержащим дезинфектантам и ПАВ.

Убедительно доказана возможность снижения рисков развития *P. aeruginosa* в ферментируемых молочных продуктах. Предложены варианты природы антагонизма различных видов и штаммов молочнокислых микроорганизмов путем сравнительного анализа продуктов метаболизма при совместном культивировании с синегнойной палочкой в молочных средах.

### **Практическая значимость**

Практическая значимость работы заключается в установлении ККТ при производстве молока и молочных продуктов, в которых риски контаминации *P. aeruginosa* значимы, а так же определении способов ограничения

возможности развития патогена в процессе производства и хранения молочных продуктов. Обосновано доказано, что наибольшие риски снижения уровня безопасности связаны с производством продуктов сыроделия.

На основании полученных результатов разработан СТО ВНИМИ (МР) № 00419785-084-2025 «Оптимизация контроля *Pseudomonas aeruginosa* при производстве молочной продукции».

### **Обоснованность и достоверность основных научных положений и выводов, сформулированных в диссертации**

Исследования проведены во ФГАНУ «ВНИМИ» в рамках выполнения работ по Государственному заданию № FNSS–2024-0002 и № FNSS–2025-0004. Обоснованность и достоверность полученных результатов подтверждается использованием современных стандартных и специальных физико-химических, биохимических и микробиологических методов исследований, применением статистических расчетов и повторностью проводимых экспериментов.

Научные положения и выводы подтверждены фактическими данными, представленными табличными и графическими материалами и обсуждением результатов исследований на научных конференциях.

### **Публикации результатов исследований**

По материалам диссертационной работы опубликовано 14 печатных работ, из них – 6 статей в журналах Перечня рецензируемых научных журналов ВАК РФ (К1 и К2), 4 статьи – в изданиях, индексируемых в международных базах научного цитирования Scopus и Web of Science.

### **Анализ содержания диссертационной работы**

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, объектов и методов исследований, экспериментальной части, выводов, перечня использованных литературных источников и приложений. Работа изложена на 141 странице машинописного текста, содержит 9 таблиц и 49 рисунков. Список литературы включает 189 источников, из них 57 отечественных и 132 зарубежных авторов.

**Во введении** обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы концепция, цель и задачи исследования, изложены научная новизна, практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту, представлены степень достоверности, методология, результаты публикационной активности, апробации и данные по структуре и объему диссертации.

**В первой главе** представлен анализ научно-технической литературы, касающийся рисков снижения качества и безопасности молока и молочных продуктов при контаминации синегнойной палочкой. Дана общая характеристика *P. aeruginosa*, как патогена и микроорганизма, вызывающего

порчу молочных продуктов. Подробно проанализированы особенности метаболизма псевдомонад; их полирезистентность, в частности к температурам пастеризации и антимикробным препаратам; значительная психротрофность.

Оценены риски персистенции *P. aeruginosa* на молочных производствах. Проведен анализ их устойчивости к технологическим воздействиям и поиск эффективных средств противодействия *P. aeruginosa*.

Рассмотрены перспективы применения бактериофагов для ингибирования *P. aeruginosa*, а также пробиотических молочнокислых микроорганизмов и вырабатываемых ими метаболитов.

На основании анализа литературных источников обоснована необходимость разработки порядка контроля *P. aeruginosa* при возникновении рисков контаминации и условий развития данного патогена в молоке и молочных продуктах.

**Во второй главе «Объекты и методы исследований»** описан порядок организации работы, объекты, методы и схема проведения исследований.

На различных этапах работы объектами исследований являлись:

- молоко, контаминированное штаммами *P. aeruginosa* дикого типа, выделенными в процессе мониторинга санитарно-гигиенического состояния на молочных производствах и контрольным штаммом *P. aeruginosa* 25668, полученным в Государственной коллекции микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск».

- 17 штаммов молочнокислых бактерий и кефирные грибки из коллекции микроорганизмов Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (ФГАНУ «ВНИМИ»).

При выполнении экспериментальной части работы применялись стандартные и специальные методы исследований физико-химических, биохимических и микробиологических показателей, а также методы выделения, идентификации и культивирования штаммов *P. aeruginosa*.

Обработка данных проводилась стандартными методами математической статистики.

**В третьей главе «Экспериментальная часть»** диссертантом изложены результаты экспериментальных исследований.

**На первом этапе** исследований проведен мониторинг объектов производственной среды на ряде молочных предприятий и выделено 4 штамма, предварительно отнесенные к *P. aeruginosa*. С помощью посевов на специфические питательные среды и микроскопирования препаратов проведена их идентификация по ростовым, морфологическим и биохимическим признакам.

В результате сравнительной оценки свойств установлена различная способность штаммов к пигментообразованию и различная чувствительность к ряду антибиотиков. Выявлена значительная устойчивость штаммов к

тетрациклину и левомицетину, а так же резистентность к линкомицину.

Исследование ферментативной активности штаммов *P. aeruginosa* при их развитии в молоке показало, что культуры в целом обладают высокой эстеразной активностью, что согласно литературным данным обеспечивает *P. aeruginosa* высокую выживаемость в неблагоприятных условиях.

Согласно полученным данным проявление протеолитической активности зависит как от штамма, так и от температуры культивирования. У всех исследуемых штаммов протеолитическая активность наблюдалась при температуре  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ , однако у 50% штаммов сохраняется незначительная протеолитическая активность при  $(6 \pm 1) ^\circ\text{C}$ , что подтверждает риски снижения хранимоспособности продуктов, связанные с психротрофностью *P. aeruginosa*.

**На втором этапе** исследований проводилась оценка эффективности действия биологических антимикробных агентов на рост штаммов *P. aeruginosa*.

Исследование возможности использования бактериофагов, как эффективных и экологически безопасных биоцидных средств, показало, что штаммы *P. aeruginosa*, в том числе циркулирующие на одном предприятии, обладают разной фагоустойчивостью, вплоть до резистенции. Следовательно, применение синегнойного фага для предотвращения рисков развития штаммов *P. aeruginosa* не является целесообразным.

Значительная часть исследований посвящена определению антимикробной активности 14 штаммов молочнокислых бактерий разных видов и грибковой кефирной закваски в отношении *P. aeruginosa*.

В результате исследований показана различная степень антагонистической активности МКБ по отношению к штаммам *P. aeruginosa*. Подтверждена высокая антагонистическая активность грибковой кефирной закваски и *L. helveticus*, и их метаболитов. Результаты исследования позволяют рассматривать МКБ и грибковую кефирную закваску в качестве перспективных антимикробных агентов относительно *P. aeruginosa*.

Представляло интерес изучение возможных механизмов ингибирующего действия *L. helveticus* на *P. aeruginosa*. Для этого был проведен сравнительный протеомный и метаболомный анализ образцов среды культивирования монокультуры *L. helveticus* и при сокультивировании с *P. aeruginosa*.

Установлено, что при совместном культивировании активно синтезировались белки, влияющие на защиту от стресса, усиливались метаболические пути, что подтверждает снижение рисков развития *P. aeruginosa* при использовании заквасочных микроорганизмов.

**На третьем этапе** исследований проводилась оценка влияния температурно-временных параметров пастеризации и хранения молока на развитие *P. aeruginosa*.

Подтверждены литературные данные о способности отдельных клеток синегнойной палочки выдерживать тепловую обработку, предусмотренную технологическими режимами. Так, по данным автора, при режимах тепловой обработки  $(72\pm 2)$  °С до 10 минут;  $(76\pm 2)$  °С и  $(85\pm 2)$  °С до 20 секунд отмечали сохранение жизнеспособности отдельных клеток. При этом показано изменение морфологии клеток после термического воздействия, по сравнению с исходными культурами синегнойной палочки. Диссертантом установлена эффективность элиминации клеток *P. aeruginosa* при температуре  $(72\pm 2)$  С и выдержке 15 мин,  $(76\pm 2)$  С и  $(85\pm 2)$  С до 10 мин.

Убедительно доказано, что возможность *P. aeruginosa* противостоять принятым режимам пастеризации молока необходимо учитывать при риске контаминации молока патогеном. Наиболее высокие риски существуют для сыроделия, т.к. температура  $(72\pm 2)$ °С недостаточно эффективна для элиминации *P. aeruginosa*; а психротрофность позволяет выйти из термошока и развиваться в процессе созревания сыров и последующего хранения.

**На четвёртом этапе** проводили исследования эффективности действия биоцидных препаратов на элиминацию штаммов *P. aeruginosa*.

Установлено, что штаммы *P. aeruginosa*, выделенные на одном предприятии, отличались по чувствительности к действию дезинфектанта на основе нейтрального анолита с добавлением амфотерных ПАВ. Показана их высокая выживаемость, сопровождающаяся изменениями в характере роста и морфологии клеток. Повышенную устойчивость синегнойной палочки следует учитывать при создании системы контроля эффективности используемых дезинфицирующих средств для снижения рисков вторичного обсеменения.

**Практический этап исследований** связан с разработкой методических рекомендаций по контролю *P. aeruginosa* в ККТ производства молочных продуктов с учетом возможных рисков первичной (молоко-сырье) и вторичной (производственная среда) контаминации и возможности развития психротрофных псевдомонад в процессе холодильного хранения (СТО ВНИМИ (МР) № 00419785-084-2025 «Оптимизация контроля *Pseudomonas aeruginosa* при производстве молочной продукции»).

**В заключении** по результатам работы автор обобщает полученные результаты.

**В приложениях** представлены: Титул разработанной документации и Акты апробации предлагаемого контроля *P. aeruginosa* в условиях молокоперерабатывающих предприятий.

## Анализ основных результатов и выводов

Общее оформление работы соответствует нормам, принятым при написании диссертационных работ. Содержание публикаций и автореферат отражают основные положения диссертационной работы. Диссертационная работа и автореферат Кишиловой С. А. оформлены в соответствии с требованиями, предъявляемыми ВАК к кандидатским диссертациям. Выводы соответствуют целям и задачам исследования, отражают результаты выполненной работы и основные положения, выносимые на защиту.

В целом, положительно оценивая представленную работу, считаю необходимым высказать следующие замечания и пожелания:

1. В литературном обзоре значительное внимание уделяется патогенности *P. aeruginosa*, а по тексту диссертации синегнойная палочка относится то к патогенным, то к условно-патогенным микроорганизмам. Необходимо уточнить степень их патогенности, определяющую риски снижения безопасности молочных продуктов и, как следствие, порядок контроля.

2. В состав псевдомонад входит более 200 видов, однако в качестве патогена рассматривают только синегнойную палочку. До настоящего времени не установлена МИД для *P. aeruginosa* и допустимые нормы ее содержания, как в пищевых продуктах, так и в объектах производственной среды (вода, смывы и т.д.). В СССР были разработаны НИИ гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана в 1984г МР «Обнаружение и идентификация *Pseudomonas aeruginosa* в объектах окружающей среды (пищевых продуктах, воде, сточных жидкостях)» и предложены рекомендуемые нормы, в том числе для воды (отсутствие в 1000мл) и пастеризованном молоке (отсутствие в 100 мл).

Проведение контроля предполагает в первую очередь наличие допустимых норм содержания в конкретном продукте, необходимость работы через накопительные культуры и дальнейшую идентификацию до вида.

Как Вы предполагаете проведение данного контроля различных объектов в условиях производственных лабораторий?

3. При исследовании возможности использования синегнойного фага для снижения рисков развития *P. aeruginosa* в молочных продуктах использовали только один фаг, следовательно, можно говорить о разной фагочувствительности штаммов, а не о разном фаготипе.

4. Исследуя продукты метаболизма, предположительно обладающие специфическим антагонизмом к синегнойной палочке, объектами служили среды культивирования с монокультурой *Lb. helveticus* и сокультивирования *Lb. helveticus* с *P. aeruginosa* (стр.86). Вывод о том, что при совместном культивировании происходит изменение метаболизма *Lb. helveticus* не однозначен, т.к. отсутствуют данные о продуктах метаболизма монокультуры *P. aeruginosa*.

5. В качестве технических замечаний следует отметить, что

- при упоминании тех или иных нормативных документов в тексте необходимо давать на них ссылку;

- в соответствии с Приложением А ГОСТ 34372-2017 «Закваски бактериальные для производства молочной продукции» для сокращенного обозначения лактобацилл используется *Lb.*, а не *L.*

- при оформлении списка литературных источников необходимо пользоваться ГОСТ Р 7.0.11—2011 «Диссертация и Автореферат диссертации. Структура и правила оформления» — представлены примеры оформления списка литературы, также в пункте 5.6 написано: «Библиографические записи в списке литературы оформляют согласно ГОСТ 7.1.-2003 «Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления».

Анализ материалов исследований и выводов по диссертационной работе дает основание полагать, что она является законченным научным исследованием, в котором решены важные технические и технологические задачи, направленные на обеспечение населения качественными и безопасными молочными продуктами.

Материалы выполненных исследований нашли отражение в научных публикациях. Диссертационная работа выполнена на достаточно высоком теоретическом и научном уровнях с использованием современных средств и методов измерений, что обеспечивает достоверность и объективность сделанных выводов.

По совокупности сформулированных и научно обоснованных положений, актуальности, новизне и практической значимости диссертация на тему: «Разработка методических подходов к оптимизации контроля *Pseudomonas aeruginosa* на молочных производствах» соответствует пп. 3 и 26 паспорта специальности 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ» и пп. 16 и 17 паспорта специальности 4.3.3 «Пищевые системы», а ее автор – Кишилова Светлана Анатольевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по

специальностям 4.3.3. Пищевые системы и 4.3.5 Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

Официальный оппонент,  
доктор технических наук

Свириденко Г.М.

*Свириденко Галина Михайловна*

« 12 » марта 2026 г

152613, г. Ярославль ул Свободы,  
д. 62, кор.2, кв.9.  
Телефон: 8(903) 823-56-88  
E-mail: [sg\\_microbiology@mail.ru](mailto:sg_microbiology@mail.ru)

**Российская Федерация**

**Город Углич Ярославской области**

**Шестнадцатого марта две тысячи двадцать шестого года**

Я, Канахистова Любовь Вячеславовна, нотариус Угличского нотариального округа Ярославской области, свидетельствую подлинность подписи Свириденко Галины Михайловны.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 76/43-н/76-2026-3-307.

Уплачено за совершение нотариального действия: 2000 руб. 00 коп.



*Л.В.Канахистова*