

В диссертационный совет  
99.0.092.02  
на базе ФГАНУ  
«Всероссийский научно-  
исследовательский институт  
молочной промышленности»,  
ФГБОУ ВО «Российский  
биотехнологический  
университет (РОСБИОТЕХ)»  
125080, г. Москва,  
Волоколамское шоссе, д. 11,  
корп. А

## ОТЗЫВ

официального оппонента, к.б.н., ведущего научного сотрудника лаборатории методов и приборов иммунного и генетического анализа ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН Алексеева Якова Игоревича на диссертационную работу Лазаревой Екатерины Германовны на тему:

"Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах", представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности

4.3.3. Пищевые системы

### **Актуальность темы диссертационной работы**

Диссертация Лазаревой Екатерины Германовны затрагивает крайне важную проблему для молочной отрасли - обеспечение качества и безопасности молочной продукции в условиях распространения вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV). На сегодняшний день отсутствие отечественных тест-систем для детекции провирусной ДНК в молоке и молочных продуктах создает значительные препятствия для эффективного мониторинга и контроля качества молочной продукции. Введение современных молекулярно-генетических методов, таких как ПЦР в реальном времени, позволяет значительно повысить точность и достоверность выявления вируса, что критически важно для защиты здоровья потребителей и повышения стандартов безопасности в молочной промышленности. Работа

Лазаревой Екатерины Германовны является своевременной и значимой, так как она направлена на решение этих острых проблем, что делает ее актуальной как для науки, так и для практики.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертационной работе Лазаревой Екатерины Германовны, базируются на всестороннем и глубоком анализе существующих данных и результатах проведенных экспериментов. Автор использовал современные методы молекулярной биологии и генетики, что позволило получить высокоточные и надежные результаты. Применение полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I для количественного определения провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота обеспечивает высокую чувствительность и специфичность анализа.

Лазарева Екатерина Германовна тщательно проанализировала и систематизировала существующие методы диагностики BLV, что позволило ей выбрать наиболее эффективные и надежные подходы для разработки тест-системы. В работе подробно описаны все этапы проведения экспериментов, включая выбор и подготовку образцов, выделение ДНК, амплификацию и анализ результатов. Применение контрольных образцов и многократное повторение экспериментов обеспечили высокую воспроизводимость и достоверность полученных данных.

Результаты, представленные в диссертации, подтверждены данными метрологической оценки разработанной тест-системы. Автор провела детальный анализ ключевых параметров точности, таких как сходимость, воспроизводимость и устойчивость к различным условиям хранения и использования. Следовательно, разработанная методика обладает высокой надежностью и может быть эффективно использована в реальных условиях молочного производства.

Научные положения, выводы и рекомендации диссертации также обоснованы широким спектром экспериментальных данных, полученных при исследовании различных типов молочных продуктов.

Таким образом, научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, имеют высокую степень обоснованности, подтвержденную как теоретическими изысканиями, так и экспериментальными данными. Работа Лазаревой Екатерины Германовны представляет собой значительный вклад в область обеспечения качества и безопасности молочной продукции и может служить основой для дальнейших исследований и практических разработок в этой области.

### **Научная новизна диссертационной работы**

Научная новизна работы Лазаревой Екатерины Германовны заключается в следующем:

- Разработка уникальной отечественной тест-системы для количественного определения провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) в молоке и молочных продуктах с использованием ПЦР в реальном времени.
- Создание новых специфических олигонуклеотидных праймеров, обеспечивающих высокую чувствительность и специфичность при детекции вируса.
- Оптимизация методов выделения ДНК из молока и молочных продуктов, что гарантирует получение высококачественных образцов для анализа.
- Проведение метрологической оценки тест-системы, включая параметры сходимости, воспроизводимости и устойчивости к различным условиям хранения и использования.
- Экспериментальная проверка эффективности тест-системы на молочных продуктах различного типа, в том числе прошедших термическую обработку.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость работы заключается в разработке новых подходов к выявлению и количественной оценке провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота, что расширяет наши знания о биологических свойствах BLV и механизмах его передачи. Практическая значимость работы подтверждается созданием тест-системы, которая может быть внедрена на молокоперерабатывающих предприятиях и в ветеринарных лабораториях для контроля качества молочной продукции. Разработанная методика позволяет эффективно отслеживать заражение молока и молочных продуктов, обеспечивая их безопасность для потребителей. Введение нового Стандарта организации (СТО) обеспечит стандартизацию процессов контроля качества молочной продукции.

## **Оценка содержания диссертационной работы и автореферата**

Диссертационная работа Лазаревой Екатерины Германовны " Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах " состоит из 127 страниц текста, включающего введение, три главы, заключение, список литературы и приложения. В работе представлено 36 рисунков и 18 таблиц, а список литературы включает 153 источника, из которых 79 на иностранных языках. Введение содержит обоснование актуальности темы, цели и задачи исследования, а также научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методы исследования и положения, выносимые на защиту. Первая глава посвящена обзору литературы по проблемам эпизоотологии лейкоза крупного рогатого скота, структуре и функционированию вируса BLV, методам диагностики и контроля качества молочной продукции. Вторая глава описывает используемые материалы и методы, включая характеристики образцов, методы выделения и очистки ДНК, а также проведение ПЦР в реальном времени. Третья глава представляет результаты собственных исследований автора, включая оптимизацию методов выделения ДНК, метрологическую оценку тест-системы и экспериментальную проверку на

различных типах молочной продукции. Заключение содержит основные выводы и рекомендации по применению разработанной тест-системы, а также направления дальнейших исследований.

### **Полнота опубликования основных положений и результатов диссертации**

Результаты работы опубликованы в 15 научных публикациях, включая 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 1 статью в журнале, индексируемом в Web of Science, 3 статьи в журналах РИНЦ и 7 публикаций в сборниках материалов конференций. Основные положения и результаты диссертации докладывались на международных и всероссийских научных конференциях, что свидетельствует о высокой степени апробации работы.

### **Замечания по диссертационной работе и автореферату**

При ознакомлении с диссертационной работой возник ряд вопросов и замечаний:

1. Было бы полезно подробнее описать методику отбора точечных проб молока для тестирования. Производился ли контроль температурного режима хранения образцов до их поступления в лабораторию для проведения анализа?
2. Чем обоснован выбор гена, кодирующего цитохромоксидазу I коровы в качестве маркера при оценке качества выделенной ДНК, предназначенной для проведения ПЦР-анализа?
3. Не вполне ясно, почему в разделе, описывающем тест-систему, для построения стандартной кривой автор предлагает использование именно этих (0,1 нг/мкл, 0,001 нг/мкл, 0,00001 нг/мкл и 0,0000001 нг/мкл) концентраций положительного стандартного образца?
4. Проводились ли в ходе работы попытки выявления корреляции между количеством соматических клеток в молоке и уровнем провирусной нагрузки?

5. Хотелось бы рекомендовать автору в дальнейшей работе усовершенствовать разработанный комплект реагентов путём перехода на технологию TaqMan и введения в состав реакционной смеси внутреннего контрольного образца.

Вместе с тем, приведенные выше недочеты не влияют на общее положительное впечатление от работы, и не снижают ее значимость.

**Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней**

Диссертационная работа Лазаревой Екатерины Германовны на тему «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» представляет собой завершённое научное исследование, решающее актуальную задачу в области обеспечения качества и безопасности молочной продукции. Работа соответствует всем требованиям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), и автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 «Пищевые системы».

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), ведущий научный сотрудник лаборатории методов и приборов иммунного и генетического анализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт аналитического приборостроения РАН

198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А.

Телефон: +7 (812) 363-07-19

Факс: +7 (812) 363-07-20

e-mail: [jalex@syntol.ru](mailto:jalex@syntol.ru)

Алексеев Яков Игоревич

Подпись

Вер. н. с.  
Уар-к



Я. И. Удосиоверено

Шванова

15.11.2024

Я, Яков Игоревич Алексеев, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.

Подпись руки Алексеева Я.И. заверяю

15.11.2024 г.

*Лазарева*  
*Шванов*

