

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны на тему: «**Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах**», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 «Пищевые системы».

Актуальность работы: инфекционные заболевания крупного рогатого скота, такие как лейкоз КРС, представляют угрозу не только для здоровья животных, но и для потребителей продукции животноводства. Диссертация Лазаревой Е.Г. направлена на решение данной проблемы и ориентирована на обеспечение биологической безопасности молочной продукции. Сформулированные задачи исследования и полученные результаты полностью соответствуют актуальным запросам пищевой промышленности и обеспечивают высокий уровень контроля безопасности продуктов на российском рынке.

Научная новизна исследования заключается в создании высокоточной тест-системы, способной выявлять провирусную ДНК BLV с использованием метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Предложенные автором специфические олигонуклеотидные праймеры обеспечивают высокую чувствительность и специфичность анализа, позволяя определять BLV даже в обработанных молочных продуктах. Данный подход расширяет существующие возможности мониторинга и контроля качества, создавая предпосылки для улучшения биологической безопасности продуктов питания.

Практическая значимость работы подтверждена разработкой стандарта организации, позволяющего внедрить тест-систему в производственную практику. Использование данной методики на всех этапах производства молочных продуктов улучшает санитарные условия и поддерживает конкурентоспособность российских производителей как на внутреннем, так и на внешнем рынке.

Структура и содержание автореферата представляют последовательное и логичное изложение результатов диссертационной работы, включая обоснование актуальности, цель, задачи, а также научные и практические выводы. Основные положения диссертации были представлены и обсуждены на российских и международных научных конференциях.

Отзыв без замечаний.

Таким образом, диссертация Лазаревой Екатерины Германовны на тему «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» представляет собой завершённое исследование, выполненное на высоком научно-техническом уровне, и полностью соответствует требованиям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утверждённым Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013

(в действующей редакции). Её автор, Лазарева Е.Г. заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 «Пищевые системы»

Кандидат технических наук по специальности
05.18.04 –технология мясных, молочных, рыбных
продуктов и холодильных производств,
коммерческий директор ООО «Норра Сол»



Антропс Марис Юрьевич

Общество с ограниченной ответственностью "Норра Сол"
127273, г. Москва, Березовая аллея, д.5А, стр.5, тех. этаж 2, пом.48
Телефон: +7(495)211-91-89, e-mail: m.antrops@norrasol.ru

Я, Марис Юрьевич Антропс, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.

Подпись заверяю
22.11.2024 г.



Гукасян Т.В., бухгалтер

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны на тему:

«Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК Bovine leukemia virus в молоке и молочных продуктах», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 - Пищевые системы.

Распространенность вируса лейкоза крупного рогатого скота остается высокой во всем мире. Контроль над этой болезнью невозможен, поскольку против нее нет эффективной вакцины. Провирусная ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота была обнаружена в молоке и мясных продуктах. Присутствие вируса лейкоза крупного рогатого скота или инфицированных им клеток в коровьем молоке предполагает, что люди могут подвергаться воздействию вируса лейкоза крупного рогатого скота при его употреблении. Это вызывает опасения по поводу общественного здравоохранения и безопасности. Хотя обширными эпидемиологическими исследованиями не было подтверждено, что вирус лейкоза крупного рогатого скота может вызывать человеческие инфекции, необходимы дальнейшие исследования для определения его влияния на здоровье человека.

Поэтому крайне важно строго тестировать и контролировать молоко и молочные продукты, чтобы гарантировать их безопасность. Это позволит обеспечить дополнительную биологическую безопасность молочных продуктов и отсутствие инфицированных продуктов на рынке.

С учетом этого, представленная на защиту диссертационная работа, целью которой является разработка методического подхода к количественному определению провирусной ДНК Bovine leukemia virus в молоке и молочных продуктах методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, является актуальной.

В рамках диссертационной работы Лазаревой Е.Г. проведён обзор научно-технической литературы в области безопасности молока, полученного от коров, зараженных Bovine leukemia virus; исследованы существующие методы выделения ДНК из сырого молока и продуктов его переработки; проведен биоинформационный анализ геномных последовательностей и разработан комплект специфических олигонуклеотидов для амплификации фрагмента провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота; определена эффективность сконструированных олигонуклеотидных праймеров по отношению к молоку и молочным продуктам; разработана тест-система для количественного определения содержания провирусной ДНК Bovine leukemia virus в молоке и молочных продуктах и определены её аналитические характеристики; разработан и утверждён СТО 00419785-075-2024 «Молоко и молочная продукция. Методика выполнения измерений по выявлению и количественному определению провирусной ДНК вируса лейкоза КРС».

Данные, представленные в автореферате, свидетельствуют о научной новизне и практической значимости диссертационной работы.

Достоверность экспериментальных данных подтверждается тщательно спланированной программой проведения исследований, применением современной научно-методической и приборной базы, а также методов статистической обработки данных.

По материалам диссертационной работы опубликовано 15 печатных работ.

В порядке дискуссии по работе имеются замечания:

1. По всему тексту работы приводятся различные названия исследуемого вируса лейкоза крупного рогатого скота: BLV, ВЛКРС, вирус энзоотического лейкоза крупного рогатого скота, вирус лейкоза КРС. Целесообразно название вируса привести к единообразию для положительного восприятия работы;

2. Учитывая, что тест-системы разработаны для оценки не только молока, но и молочных продуктов, непонятно подходят ли они для проведения исследований кисломолочных продуктов, а также молочных продуктов с немолочными компонентами, например, с плодово-ягодными добавками.

Поскольку вышеперечисленные замечания не носят принципиальный характер, считаю, что диссертационная работа Лазаревой Е.Г. отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3. - Пищевые системы

Кандидат технических наук, 05.18.04 –
Технология мясных, молочных и
рыбных
продуктов и холодильных производств
Старший научный сотрудник
лаборатории технологий продуктов
геродиетического питания НИИ
детского питания – филиала ФГБУН
«ФИЦ питания и биотехнологии»

Бегунова
Анна Васильевна
25.11.2024

143500, московская обл., г. Истра,
ул. Московская, д.48
тел. +7 (49831)3-03-96, info@niidp.ru

Я, Бегунова Анна Васильевна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку

Подпись Бегуновой А.В. заверяю

Озерова Е.Г.,
Специалист по кадрам

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах», представленной на соискание учёной степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 – «Пищевые системы»

Для обеспечения населения безопасными и полноценными продуктами питания необходима разработка методов качественного и количественного определения провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота в продукции молочной промышленности.

В связи с этим, представленная на защиту диссертационная работа, целью которой является разработка методического подхода к количественному определению провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, своевременна и актуальна.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи: представлены основные характеристики молока от различных сельскохозяйственных животных, факторы, оказывающие влияние на формирование качества и безопасности сырого молока; разработаны специфические праймеры для количественного определения содержания провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* с использованием специализированного программного обеспечения на основе полных нуклеотидных последовательностей генома вируса BLV, депонированных в публичной базе данных GenBank; проведены молекулярно-генетические исследования при помощи методов полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей электрофоретической детекцией результатов анализа и полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ); проведена статистическая обработка и визуализация экспериментальных данных с применением методов математической статистики с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 10.0; проведён анализ эффективности методов выделения ДНК из сырого и сухого молока; произведена предварительная оценка фрагментации молекул при помощи электрофоретического анализа препаратов ДНК; проведён сравнительный количественный анализ эффективности выделения ДНК; проведена оценка степени чистоты полученных препаратов ДНК спектрофотометрическим методом.

Основные положения диссертационной работы опубликованы в 15 работах, из которых 4 в журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе Web of Science, 3 статьи в журналах РИНЦ и 7 публикаций в сборниках трудов конференций.

По представленному материалу автореферата диссертационной работы Лазаревой Е. Г. имеется следующий вопрос:

— На стр. 11 автореферата приведён рисунок, на котором указаны средние значения концентрации ДНК сухого коровьего молока, выделенной

двумя наборами реагентов. Как видно из рисунка, набор № 1 обеспечивает более высокий выход ДНК по сравнению с набором № 2. С чем это может быть связано?

Уровень и содержание проведённых исследований, практические результаты проведённых диссертационных исследований Лазаревой Е. Г. на тему «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» соответствуют завершённой научной работе и в совокупности могут быть квалифицированы как научное достижение, вносящее значительный вклад в развитие науки и производства, что соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении учёных степеней, предъявляемых ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук.

Отзыв рассмотрен и утверждён на заседании технического совета протокол № 295 от 20 ноября 2024 г.

Директор ГБУ Ярославский государственный
институт качества сырья и пищевых продуктов,
д.т.н., заслуженный работник
пищевой индустрии РФ
150030, г. Ярославль,
Московский пр-т., 76а
т. (4852) 44-59-34, 44-74-84
e-mail: milkyar@mail.ru

Гаврилов Гавриил Борисович

подпись руки директора ГБУ ЯО ЯГИКСПП
заверяю

секретарь НТС, к.т.н.

Филиппов Александр Анатольевич

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны на тему:
«Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах», представленной
на соискание ученой степени кандидата технических наук
по специальности 4.3.3. Пищевые системы

Инфекционные заболевания крупного рогатого скота несут высокие риски здоровью населения, вследствие возможных негативных последствий передачи потенциально опасных патогенов через потребление продукции животноводства. В связи с этим, исследования в области выявления распространенных инфекционных агентов жвачных животных, в особенности вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) актуальны для обеспечения безопасности продуктов на отечественном и зарубежном молочном рынке.

Сформулированные задачи и полученные результаты диссертационной работы Лазаревой Е. Г. полностью соответствуют цели молекулярно-генетического исследования, заключающейся в разработке тест-системы, позволяющей выявлять провирусную ДНК BLV в молоке-сырье и продуктах его технологической переработки с помощью ПЦР в реальном времени.

В качестве научной новизны Лазаревой Е. Г. следует отметить дизайн праймеров, позволяющих определять зависимость C_t от изначального количества присутствующей в реакционной смеси провирусной ДНК, что позволяет проводить её количественное определение в исследуемых пищевых матрицах. Автором показана возможность выявления фрагментов провирусного генома и их амплификации в сыром молоке и продуктах его термической обработки. В качестве практической значимости важно отметить, что впервые разработана тест-система на основе ПЦР для проведения молекулярного анализа продуктов на российском молочном рынке. Впервые утверждён СТО с методикой по обнаружению ДНК вируса BLV.

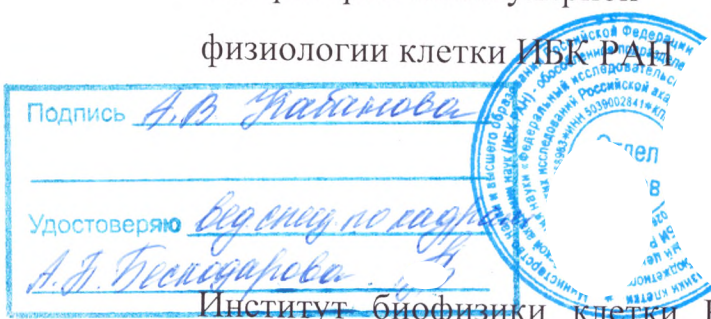
По материалам диссертационной работы вышло в свет 15 печатных работ: 4 статьи в ВАК, 1 статья в журнале, входящим в международную базу данных Web of Science, и 10 статей в журналах РИНЦ и в сборниках трудов конференций. Достоверность полученных данных не вызывает сомнений, поскольку результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на ряде Всероссийских и международных научных конференций в Кемерово (2021, 2023), Вологде (2022), Кирове (2022), Санкт-Петербурге (2023), Угличе (2023) и Москве (2023). Считаю, что диссертационная работа Лазаревой Екатерины Германовны представляет собой законченное научное исследование.

Работа полностью соответствует всем критериям, утвержденным Положением о присуждении ученых степеней и Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), а её автор, Лазарева Екатерина Германовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 – Пищевые системы.

кандидат физико-математических
наук по специальности 03.00.02,
старший научный сотрудник
лаборатории молекулярной
физиологии клетки ИБК РАН

Кабанов Артем Валерьевич

А.В. Кабанов



Институт биофизики клетки Российской академии наук - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

142290, Московской область, г.о. Серпухов, г. Пущино, ул. Институтская, 3

Телефон: +7 (4967) 73-05-19; e-mail: kabanov@mail.ru

Я, Кабанов Артем Валерьевич, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.

15.11.2024

✓ / (Кабанов А.В.)

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны на тему:
«Разработка тест-системы для количественного определения провирусной
ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах»,
представленной на соискание ученой степени
кандидата технических наук
по специальности 4.3.3. Пищевые системы.

Обеспечение безопасности пищевой продукции, особенно молочных продуктов, является приоритетной задачей, учитывая возможные риски для здоровья населения. Наличие вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) в молочных продуктах создает угрозу не только экономическим показателям отрасли, но и общественному здоровью. Разработка Лазаревой Е.Г. отечественной тест-системы для количественного определения провирусной ДНК BLV позволяет обеспечить более высокий уровень контроля безопасности молока и молочной продукции на всех этапах их производства и обработки. Актуальность данной работы трудно переоценить, так как разработанная система, соответствующая современным требованиям, вносит значительный вклад в развитие пищевой безопасности и контроля качества.

Научная новизна работы Лазаревой Е.Г. заключается в разработке уникальной отечественной тест-системы, включающей комплекс специфических реагентов для выявления провирусной ДНК BLV с использованием ПЦР в реальном времени. Работа предоставляет оригинальные научные результаты, такие как разработка олигонуклеотидных праймеров и установление параметров амплификации для обеспечения высокой специфичности и чувствительности тест-системы. Данные результаты существенно расширяют методы диагностики в области пищевой безопасности и позволяют использовать тест-систему на различных видах молочной продукции.

Практическая значимость работы подтверждена разработкой стандарта организации, регламентирующего использование тест-системы в промышленных условиях. Внедрение разработанной тест-системы позволит молочным предприятиям поддерживать высокий уровень качества и безопасности продукции, что особенно важно в современных условиях растущих требований к пищевой безопасности. Данная работа обеспечивает основу для создания единого стандарта контроля на отечественных производствах, укрепляя их конкурентоспособность.

Материалы диссертационного исследования нашли полное отражение в 15 печатных работах, в том числе: 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе Web of Science, 3 статьи в журналах РИНЦ и 7 публикаций в сборниках трудов конференций.

Несмотря на высокую значимость и уровень проработки исследования, хотелось бы задать несколько уточняющих вопросов:

1. Учитывая, что система прошла тестирование на устойчивость к многократному замораживанию и оттаиванию, проверялась ли она при условии кратковременного повышения температуры (например, при транспортировке)?

2. Каким образом отбирались молочные продукты для исследования (пастеризованное, обезжиренное молоко, йогурт и т. д.)? Можно ли расширить ассортимент исследуемых молочных продуктов? Например, включить ультрапастеризованное молоко или продукты, подвергшиеся другим видам термической обработки.

Указанные вопросы носят уточняющий характер и не снижают высокой оценки диссертационной работы Лазаревой Е.Г. Представленная диссертация по научной и практической ценности соответствует требованиям Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции). Считаю, что Екатерина Германовна Лазарева заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3. Пищевые системы.

Доктор технических наук по
специальности 05.18.12, доцент,
Заведующий кафедрой
Технологии виноделия,
бродильных производств и химии
им. Г.Г. Агабальянца



Казарцев Дмитрий Анатольевич

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный университет технологий
и управления имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)»

109004, Москва, ул. Земляной Вал, д. 73

Телефон: +7 (495) 915-03-73, email: d.kazarcev@mgutm.ru

Я, Казарцев Дмитрий Анатольевич, даю согласие на включение моих
персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации
Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.

Подпись Казарцева Д.А. Заверяю



Верующий специалист
по работе с персоналом
Павлова Я.В.
26.11.2024

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Лазаревой Екатерины Германовны на тему: «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 – Пищевые системы в диссертационный совет 99.0.092.02 на базе ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)».

С учетом глобальных изменений в мире, вектор внимания производителей продуктов питания смещается в сторону оценки потенциальных рисков в связи с возможными мутациями вирусных инфекций животных в форму, опасную для человека. Значительное место в качестве источника продуктов животноводства занимает крупный рогатый скот. Поэтому особенно остро стоит вопрос влияния заболеваний крупного рогатого скота на качество и безопасность получаемого от них сырья, в особенности по такому заболеванию, как лейкоз КРС. Данное заболевание является опухолевым и имеет инфекционную природу. Кроме того, лейкоз КРС имеет повсеместное распространение практически во всех странах мира. Поэтому поиск методов количественной идентификации данного вируса в продуктах животноводства, полученных от КРС является мерой обязательной, для получения качественного и безопасного сырья. В связи с этим, диссертационная работа Лазаревой Екатерины Германовны, посвященная разработке методического подхода к количественному определению провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, является актуальной и перспективной.

Автором работы впервые предложена пара олигонуклеотидных праймеров, обеспечивающая оптимальный выход специфического ПЦР-продукта при использовании различного стартового материала; установлено, что зависимость порогового цикла от исходной концентрации ДНК сохраняет линейность до предела, соответствующего 28 молекулам-мишеням на реакцию; показана возможность эффективной амплификации фрагмента провирусной ДНК, интегрированной в геном хозяина, выделенной из молочных продуктов, в диапазоне от 10 нг до 1 пг на реакцию.

С точки зрения практики, полученные данные, расширяют область оценочных критериев безопасности молока и молочных продуктов за счет внедрения ПЦР-анализа, направленного на выявление и количественное определение провирусной ДНК; впервые создана отечественная тест-система, позволяющая производить неинвазивный скрининг животных-вирусоносителей и

контроль качества молочной продукции; разработан и утверждён стандарт организации СТО 00419785-075-2024 «Молоко и молочная продукция. Методика выполнения измерений по выявлению и количественному определению провирусной ДНК вируса лейкоза КРС».

Основные результаты и положения диссертационной работы доложены и обсуждены на всероссийских и международных научно-практических конференциях.

По материалам диссертационной работы опубликовано 15 печатных работ, в том числе: 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе Web of Science, 3 статьи в журналах РИНЦ и 7 публикаций в сборниках трудов конференций.

Оценивая диссертационную работу и автореферат Лазаревой Е. Г. следует отметить, что научный материал изложен ясно, в строгой логической последовательности, все части работы взаимосвязаны, достаточно проанализированы экспериментальными данными. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

В целом, диссертационная работа Лазаревой Екатерины Германовны на тему: «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» отвечает всем положениям и требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842), полученные исследования обладают важной значимостью для пищевых производств и ветеринарии, а соискатель заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 – Пищевые системы.

Профессор кафедры
биотехнологии, биохимии и биофизики
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
аграрный университет имени И. Т. Трубилина»
(350044, г. Краснодар, ул. им. Калинина, дом 13,
тел.: +7(861)221-59-42, e-mail: mail@kubsau.ru),
Научная специальность: 16.00.04 – Ветеринарная
фармакология с токсикологией,
доктор биологических наук, профессор,
академик РАН

27.11.2024 г



Кошарев Андрей Георгиевич

Лазарева А.Г.
"15/11/2024"

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны на тему «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности

4.3.3. Пищевые системы.

Работа Лазаревой Екатерины Германовны затрагивает важную тему безопасности молочной продукции, исследуя возможности выявления провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV), который представляет угрозу не только для животноводства, но и – потенциально – для здоровья человека. Учитывая отсутствие на российском рынке отечественных тест-систем для количественного определения BLV в молочной продукции, разработка такой системы с высокой чувствительностью и адаптированностью к условиям отечественной молочной промышленности имеет существенное значение. Работа также соответствует современным тенденциям повышения стандартов пищевой безопасности и контроля качества продукции.

Научная новизна работы заключается в создании эффективной тест-системы для детекции провирусной ДНК BLV, что представляет собой важное достижение в области применения молекулярно-генетических методов в пищевой промышленности. В работе предложены специфические праймеры и оптимизированы методы выделения ДНК из различных видов молочной продукции. Это расширяет научные и практические возможности мониторинга пищевых продуктов, и улучшает точность оценки биологической безопасности.

Практическая значимость работы очевидна, так как разработанная методика позволяет выработать стандартизированные подходы к детекции BLV в сфере молочной промышленности, и тем самым повысить безопасность конечного продукта. Внедрение тест-системы на производственных предприятиях может улучшить контроль качества продукции и укрепить конкурентные позиции отечественных производителей на мировом рынке.

Замечания и вопросы по работе:

1. Следовало бы уточнить, каким образом учитывались особенности различных типов молочной продукции, например сливки и йогурт, которые могут отличаться по составу и уровню ингибирующих веществ.

2. Было бы полезно рассмотреть возможности применения разработанной тест-системы для скрининга поголовья в условиях фермерских хозяйств.

Диссертационная работа Лазаревой Екатерины Германовны выполнена на высоком научно-техническом уровне, является самостоятельным и завершённым исследованием. Работа соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), и её автор, Лазарева Екатерина Германовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 – Пищевые системы.

Кандидат сельскохозяйственных наук
по специальности 06.02.07

Разведение, селекция и генетика
сельскохозяйственных животных,
главный биоинформатик
ООО "Мираторг-Генетика"


Мельникова
Екатерина Евгеньевна

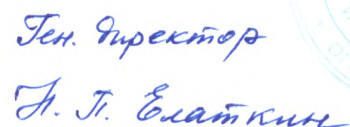
Общество с ограниченной ответственностью "Мираторг-Генетика";
142000, Московская область, г. Домодедово, мкр-н Центральный, Трио-
Инвест-Ям, стр. 1

Тел.: +7 985 226-44-97, +7 495 651-92-52, email: melnikovae_1982@inbox.ru

Я, Мельникова Екатерина Евгеньевна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.

Печать организации

Подпись заверяю


Ген. директор
А. А. Блаткин

исх

Фамилия И.О., должность

заверившего лица

« 19 » ноября 2024 г.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности

4.3.3. Пищевые системы.

Диссертация Лазаревой Екатерины Германовны посвящена актуальной и значимой проблеме обеспечения безопасности молочных продуктов. Вопрос о наличии вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) в молочной продукции стал особенно актуальным ввиду возможных рисков для здоровья человека и животных, а также значительных экономических потерь в отрасли. На сегодняшний день в России отсутствуют отечественные тест-системы, позволяющие точно и своевременно выявлять BLV в молочной продукции. В этой связи работа Лазаревой Е.Г. не только соответствует требованиям пищевой промышленности, но и отвечает современным запросам в области пищевой безопасности, что подчеркивает её практическую и социальную значимость.

Научная новизна диссертации заключается в создании уникальной тест-системы, способной выявлять провирусную ДНК BLV в молоке и молочных продуктах с высокой точностью и чувствительностью. В работе предложены специфические олигонуклеотидные праймеры, которые прошли тщательный биоинформатический анализ и продемонстрировали высокую специфичность при тестировании на различных образцах молочной продукции. Использование метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) позволило добиться существенного повышения эффективности обнаружения BLV даже в обработанных молочных продуктах, что особенно важно для предприятий, занимающихся массовым производством молока и его продуктов. Таким образом, работа не только обогащает научные знания в области молекулярной биологии, но и создает основу для внедрения новых методов контроля качества молочной продукции.

Практическая значимость диссертационной работы Лазаревой Е.Г. заключается в разработке и апробации отечественной тест-системы, способной обеспечить надежный мониторинг молочных продуктов на наличие провирусной ДНК BLV. Данная методика способна заменить импортные системы, что существенно повысит независимость отечественной молочной промышленности и снизит стоимость контроля качества продукции. Предлагаемая тест-система также позволяет стандартизировать процесс проверки продукции на содержание BLV, что способствует установлению единых подходов и требований к качеству молока и молочных продуктов. Это особенно важно в условиях международной конкуренции, когда соблюдение высоких стандартов безопасности становится ключевым условием для выхода на зарубежные рынки.

Автореферат диссертации логично и последовательно раскрывает цели и задачи исследования, научную новизну и практическую значимость работы. Диссертация имеет четкую структуру, в которой представлен полный обзор

актуальности проблемы, анализ существующих методов выделения и анализа ДНК, а также обоснованы выбранные подходы и методики. В приложениях описаны подробности апробации предложенной тест-системы, включая результаты испытаний на образцах молочной продукции, что подтверждает достоверность и обоснованность результатов, полученных автором.

Кроме того, проведенные автором работы позволили разработать и утвердить СТО 00419785-075-2024 «Молоко и молочная продукция. Методика выполнения измерений по выявлению и количественному определению провирусной ДНК вируса лейкоза КРС», что свидетельствует о высокой степени завершенности работы и ее готовности к практическому внедрению. Утвержденный стандарт содержит детальное описание всех этапов выполнения анализа, включая процедуры подготовки образцов, методику ПЦР и критерии оценки результатов, что обеспечивает стандартизацию и высокое качество контроля молочной продукции.

В заключение можно отметить, что диссертационная работа Лазаревой Екатерины Германовны выполнена на высоком научно-техническом уровне, представляет собой завершенное и актуальное исследование в области молекулярной биологии и пищевой безопасности. Работа полностью соответствует требованиям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), и её автор, Лазарева Екатерина Германовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 – Пищевые системы.

Заведующий отделом экспериментальной
фармакологии и функционирования живых систем
ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»,
кандидат ветеринарных наук
по специальностям: 16.00.02 –
патология, онкология и морфология животных;
16.00.04 - ветеринарная фармакология
с токсикологией
«20» 11 2024 г.

Е.В. Михайлов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт
патологии, фармакологии и терапии» (ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»);

Я, Михайлов Евгений Владимирович, даю согласие на включение моих
персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации
Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.

Подпись к.в.н., Е.В. Михайлова заверяю:
ученый секретарь ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»
кандидат биологических наук, доцент
Адрес: 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, д. 114б
Телефон: 8 (473) 253-93-07 e-mail: vnivipat@mail.ru

Т. И. Ермакова

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3. Пищевые системы

Диссертация Лазаревой Екатерины Германовны посвящена актуальной задаче обеспечения биологической безопасности молочных продуктов. Вирус лейкоза крупного рогатого скота представляет собой серьезную угрозу для здоровья животных, а также косвенно затрагивает вопросы продовольственной безопасности и качества продуктов. Исследования автора направлены на разработку тест-системы, позволяющей проводить точное и количественное определение провирусной ДНК BLV, что, безусловно, востребовано в современных условиях молочного производства.

Научная новизна работы заключается в разработке оригинальных подходов к созданию тест-системы, использующей метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) для обнаружения BLV в молочной продукции. Применение молекулярно-генетических методов, адаптированных к условиям отечественного производства, позволяет повысить чувствительность и специфичность анализа. Решения, предложенные автором, способствуют улучшению системы контроля качества молочной продукции и снижению риска распространения провируса.

Практическая значимость работы подтверждается тем, что разработанный метод и стандарт для внедрения ПЦР-РВ-анализа могут быть использованы на всех этапах производства молочной продукции, что повышает безопасность продукта для потребителей и поддерживает конкурентоспособность отечественной продукции. Разработанный нормативный документ (СТО) обеспечивает широкие возможности для внедрения данной системы на различных производствах, что также способствует укреплению позиций российских производителей на внутреннем и внешнем рынках молочной продукции.

Результаты диссертации представлены на российских и международных научных конференциях, что подтверждает уровень апробации работы. Автореферат представляет структуру и содержание исследования в полном объеме, позволяя составить целостное представление о достигнутых результатах и практическом значении работы.

Таким образом считаю, диссертация Лазаревой Екатерины Германовны на тему «Разработка тест-системы для количественного определения

провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, (ред. от 25.01.2024 г.), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3. Пищевые системы.

Доктор технических наук по
специальности 05.18.15 – Технология
и товароведение пищевых продуктов
и функционального и
специализированного назначения и
общественного питания,
доцент, зав. кафедрой пищевых
технологий и биоинженерии
ФГБОУ ВО «Российский
экономический университет имени
Г.В. Плеханова»

Игорь Алексеевич Никитин

12.11.2024

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Российский экономический университет имени Г.В.
Плеханова»

115054, Москва, Стремянный переулок, д.36

Телефон: +7 (495) 958-27-43; e-mail: Nikitin.IA@rea.ru

Я, Никитин Игорь Алексеевич, даю согласие на включение моих
персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации
Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.

подпись Никитина И.А.
удостоверяю
Специалист по работе с персоналом
Миказян А.Р. 12.11.2024 г.



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации ЛАЗАРЕВОЙ ЕКАТЕРИНЫ ГЕРМАНОВНЫ, «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3. Пищевые системы

В настоящее время в Российской Федерации лидирующие позиции в структуре нозологического профиля патологий крупного рогатого скота занимает энзоотический лейкоз. Одной из причин широкого распространения лейкоза крупного рогатого скота является отсутствие средств ранней диагностики, которая способна обеспечивать оперативное выявление инфицированных животных и быть при этом простой и эффективной. Применяемые в настоящее время для диагностики лейкоза крупного рогатого скота серологические и гематологические методы исследования не обеспечивают полного выявления инфицированных животных и существует вероятность попадания молока, инфицированных ретровирусами коров, в сборное молоко, что может отразиться на качестве вырабатываемой продукции, а впоследствии, на здоровье населения. В связи с этим, важность разработки метода по выявлению и количественному определению провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота не вызывает сомнений.

Степень обоснованности полученных данных и достоверность научных выводов, сформулированных в диссертации, обусловлена компетентным подходом при постановке задач исследований и выполнением измерений на современном аналитическом оборудовании, а также при математической обработке данных с использованием программных средств.

Теоретическое значение и научную новизну имеют разработанные праймеры для выявления провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* и разработанный алгоритм выполнения измерений, обеспечивающий высокую специфичность и достоверность при количественном определении провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота в молочных продуктах.

Практическая значимость работы включает создание отечественной тест-системы, позволяющей производить неинвазивный скрининг животных-вирусоносителей, и возможность внедрения ПЦР-анализа для выявления и количественного определения провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота в практику животноводства и переработки молока, что будет расширять спектр критериев безопасности молочной продукции.

Материалы диссертации, опубликованные в открытой печати, включают 15 печатных работ, в том числе: 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе Web of Science, 3 статьи в журналах базы РИНЦ и 7 публикаций в сборниках трудов конференций.

В тексте автореферата раскрыто содержание научных положений, вынесенных на защиту. Научные положения, выносимые на защиту, полностью отражают научную новизну, теоретическую и практическую значимость. Выводы работы соответствуют поставленным целям и задачам, обоснованы и не противоречат существующим научным представлениям. Текст автореферата имеет графические пояснения и рисунки.

При общей положительной оценке работы, возникают некоторые вопросы и замечания.

1. Из автореферата не ясно, какие альтернативные методы выделения ДНК из сырого молока и продуктов его переработки сравнивали в исследовании и каким образом?

2. При защите желательно пояснить, по каким критериям были отобраны для исследования образцы молочной продукции? Не оказывает ли влияние на результаты тестирования провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота разное агрегатное состояние и макронутриентный состав молочных продуктов?

3. На какие именно объекты распространяется разработанный СТО 00419785-075-2024 «Молоко и молочная продукция. Методика выполнения измерений по выявлению и количественному определению провирусной ДНК вируса лейкоза КРС»? Есть ли различия в пробоподготовке исследуемых образцов?

В целом диссертационная работа Лазаревой Е.Г. представляет собой законченное научное исследование на актуальную тему, результаты которого имеют теоретическое и практическое значение и свидетельствуют о решении важной научной и производственной задачи в пищевой промышленности – созданию метода для оперативного выявления и количественного определения провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота в молоке и молочной продукции.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа, представленная на соискание ученой степени кандидата технических наук, полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), а ее автор, Лазарева Екатерина Германовна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3. Пищевые системы.

Доктор технических наук,

05.18.15 Технология и товароведение пищевых продуктов функционального и специализированного назначения и общественного питания,
ведущий научный сотрудник

лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

ФГБУН «ФИЦ ПИТАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИИ» **Новокшанова Алла Львовна**

Сведения об организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки **Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи**

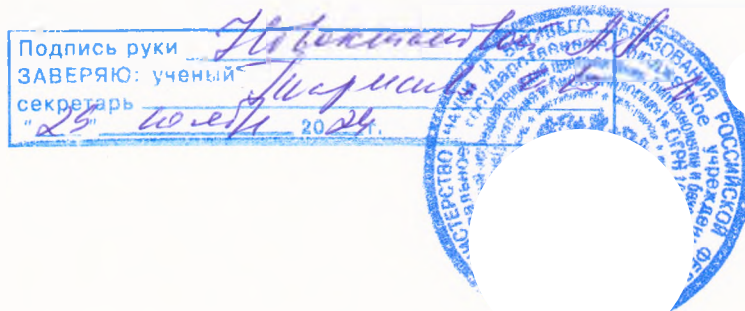
Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

тел.: 8 (495) 698-53-71

e-mail: novokshanova@ion.ru

я, **Новокшанова Алла Львовна**, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.

«29» ноября 2024



ОТЗЫВ

на автореферат Лазаревой Екатерины Германовны на тему «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» по специальности 4.3.3 «Пищевые системы», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук

Проблема распространенности вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) и его влияния на безопасность молочной продукции является одной из острых тем современной молочной промышленности. Вирус лейкоза КРС (*Bovine leukaemia virus (BLV)*) относится к РНК-содержащим вирусам семейства *Retroviridae*. В процессе жизнедеятельности вируса РНК переходит в двуцепочечную ДНК, которая встраивается в геном клетки хозяина и может длительное время персистировать в клетке в виде ДНК провируса лейкоза.

Веские доказательства в пользу вирусной этиологии лейкоза, были получены в 1969 году Д. Миллером, обнаружившим вирусные частицы типа С в лимфоцитах периферической крови больных лейкозом коров и описавшим их морфологию. Это позволило В.П. Шишкову сформулировать вирусно-иммуно-генетическую концепцию этиологии лейкоза. Вирус лейкоза – экзогенный, то есть передается от больных или инфицированных животных только внутри вида главным образом через лимфоциты. Поэтому у таких животных все жидкости (кровь, молоко и другие), содержащие лимфоциты, могут стать источником заражения. Считается, что вирус лейкоза КРС не вызывает лейкоза человека и не относится к возбудителям зооантропогенных болезней. Но у больных животных в крови и молоке появляются различные метаболиты – вещества, обладающие лейкозогенной потенцией.

Проблема ЛКРС – одна из наиболее важных проблем не только ветеринарной медицины, животноводства, но и биологии в целом, имеющая непосредственное отношение к безопасности здоровья человека, так как вирус ЛКРС имеет близкое морфологическое и эволюционное родство с вирусом Т-клеточного лейкоза человека. Высокая степень сходства вируса ЛКРС с вирусом Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1, *Human T-cell Leukemia virus*), относящемуся также к семейству *Retroviridae*, свидетельствует об их общем пути в процессе эволюции.

В связи с вышесказанным большой интерес представляют проблемы потенциальной опасности для человека продуктов питания от животных из стад, неблагополучных по лейкозу, влияния вредных метаболитов, накапливающихся в организме больных коров, на организм человека.

До настоящего времени основным и единственным методом борьбы с ЛКРС является выбраковка больных и изоляция инфицированных коров. Поэтому первостепенное значение имеет своевременная и точная диагностика как болезни, так и инфекции.

В соответствии с действующим законодательством «Молоко от инфицированных и остальных коров оздоравливаемого стада (фермы,

индивидуального подсобного хозяйства, фермерского хозяйства) сдают на молокоперерабатывающий завод или используют внутри хозяйства после пастеризации в обычном технологическом режиме. После обеззараживания молоко используется без ограничения». Подобный подход к переработке молока, полученного от коров-вирусоносителей, по крайней мере, не корректен, т.к. при производстве молочных продуктов используются различные режимы пастеризации. При производстве таких продуктов, как сметана, масло, различные кисломолочные напитки, йогурт, чаще всего применяют высокотемпературную пастеризацию при режимах 85–87 °С или 90–95 °С. Принятые режимы пастеризации молока в сыроделии 72 °С – 15 секунд и не могут обеспечить гарантированного обеззараживания молока, то есть быть безопасными для здоровья человека. Таким образом, эффективность температурной обработки молока, а, следовательно, и эффективность обеззараживания при производстве различных молочных продуктов неодинакова.

Создание методов прижизненной диагностики: гематологической, серологической, ИФА, ПЦР позволило установить истинные масштабы распространения лейкоза, полнее изучить проявление эпизоотического процесса и разработать систему профилактики и ликвидации болезни.

Гематологический анализ позволяет выявить клиническую стадию болезни, тогда как для обнаружения онковирусной инфекции необходим комплекс иммунологических (РИД; РСК; РИА; ИФА) методов в сочетании с молекулярно-биологическими (ДНК – зонд, полимеразная цепная реакция – ПЦР) тестами.

Диагностические исследования вирусоносителей ЛКРС (ВЛКРС) в нашей стране представлены только определением антител в сыворотках крови реакцией иммунодиффузии в геле (РИД), тогда как в странах Европы и США применяется иммуноферментный анализ (ИФА) как наиболее чувствительный и специфичный.

Представленная работа Лазаревой Е.Г. вносит существенный вклад в решение проблемы, предлагая методику для молекулярно-генетического мониторинга BLV в молочных продуктах.

Таким образом цель работы - разработка методического подхода к количественному определению провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с помощью отечественных тест-систем является несомненно актуальной.

Автором сформулирована цель и поставлено 6 задач, необходимых для ее реализации.

Работа обладает научной новизной и практической значимостью.

Проведённые исследования охватывают анализ существующих коммерческих наборов для выделения ДНК из молока и молочных продуктов, в результате чего выявлены их достоинства и недостатки.

Автором разработан комплект специфических олигонуклеотидных праймеров для амплификации фрагмента провирусной ДНК BLV,

демонстрирующий амплификацию клонированного фрагмента в динамическом диапазоне от 0,1 нг/мкл до 0,1 пг/мкл ДНК.

Кроме того, доказана 100%-ная специфичность праймеров ВВР, созданных для выявления провирусной ДНК BLV, что подтверждается отсутствием ложноположительных результатов при тестировании на ДНК других патогенов крупного рогатого скота. Показатели воспроизводимости и сходимости результатов амплификации также были оценены и варьируются от 0,39% до 3,41% в зависимости от типа исходного образца, при воспроизводимости 2,3%, что свидетельствует о высокой надёжности тест-системы.

Предложенная тест-система для детекции провирусной ДНК BLV включает все необходимые реагенты и стандартные образцы, что делает её удобной для промышленного использования. Доказана устойчивость тест-системы к циклам замораживания и оттаивания, с коэффициентом вариации C_v , не превышающим 4,95% при 10 циклах, что позволяет её использовать в реальных производственных условиях.

Автором опубликовано 15 печатных работ, отражающих основное содержание диссертации, в том числе, 4 в журналах списка ВАК РФ. Работа апробирована на международных и российских конференциях.

При общей положительной оценке работы, можно отметить некоторые недостатки:

1) По содержанию автореферата не понятно проводились ли исследования корреляции между количеством соматических клеток в молоке и уровнем провирусной нагрузки BLV.

2) Из автореферата не совсем понятно, чем предложенный метод обнаружения провирусной ДНК BLV принципиально отличается от существующих методов, применяемых в лабораторной практике.

Указанные замечания не снижают общей положительной оценки рецензируемой работы. Она отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям ВАК РФ (Постановление Правительства № 842), а ее автор Лазарева Екатерина Германовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 «Пищевые системы».

Доктор технических наук по
специальности 05.18.04 Технология
мясных, молочных и рыбных продуктов
и холодильных производств,
главный научный сотрудник,
руководитель направления
микробиологических исследований
молока и молочных продуктов

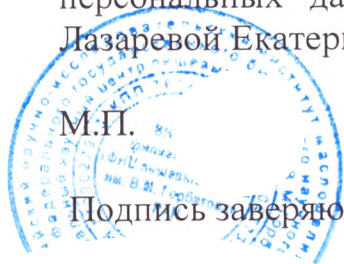


Свириденко Галина
Михайловна

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН;

152613, Ярославская обл., г. Углич, Красноармейский бульвар, д. 19; телефон +7 (48532) 5-48-64; e-mail sg_microbiology@mail.ru.

Я, Свириденко Галина Михайловна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.



11

U

Аристова О. А,
начальник отдела кадров
21.11.2024 г.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3. Пищевые системы

Актуальность темы исследования

Актуальность диссертационной работы Лазаревой Екатерины Германовны для молочной промышленности очевидна, поскольку вирус лейкоза крупного рогатого скота (BLV) не только наносит существенный экономический ущерб, но и представляет потенциальную угрозу для здоровья потребителей. Разработка и внедрение отечественной тест-системы для количественного определения провирусной ДНК BLV в молочных продуктах имеет высокую практическую значимость, так как позволяет обеспечить контроль качества и безопасности молока и молочных продуктов. В условиях роста потребления молочной продукции разработка эффективных методов для выявления BLV имеет первостепенное значение.

Научная новизна исследования

Научная новизна работы заключается в разработке уникальных подходов к детекции провирусной ДНК BLV с использованием молекулярно-генетических методов, что позволяет не только улучшить показатели чувствительности и специфичности анализа, но и создать отечественную тест-систему, адаптированную к специфике молочной промышленности России. В работе предложен новый комплект праймеров, обеспечивающий высокую эффективность амплификации ДНК BLV, что позволяет проводить детекцию вируса в продуктах, прошедших различные виды обработки, включая пастеризацию.

Практическая значимость исследования

Практическая значимость работы Лазаревой Е.Г. состоит в разработке и апробации тест-системы, которая может применяться для рутинного контроля молочной продукции на наличие провирусной ДНК BLV, что значительно упрощает мониторинг безопасности продукции и улучшает санитарные показатели на производстве. Разработанная методика может также способствовать повышению конкурентоспособности российской молочной продукции на международном рынке за счет повышения ее безопасности.

Структура и содержание работы

Автореферат чётко и последовательно раскрывает основные положения и выводы диссертационной работы, обоснование актуальности темы, формулировку цели и задач, научную новизну, практическую значимость, а

также положения, выносимые на защиту. Автореферат отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям и их авторефератам.

Замечания и вопросы по работе

В разделе о биоинформатическом анализе праймеров можно было бы уточнить, каким образом обеспечивается исключение ложноположительных результатов при нахождении в пробах иных вирусов, патогенных для крупного рогатого скота.

Следует более детально объяснить, какое влияние на результаты использования разработанной тест-системы оказывают различные виды термической обработки молока, включая ультрапастеризацию, а также использование в качестве матрицы молочных продуктов с высоким содержанием жира (например, сыра и сливок).

Указанные замечания не снижают научной и практической значимости работы, а служат лишь предложениями по дальнейшему расширению поля исследований.

Заключение

Диссертационная работа Лазаревой Екатерины Германовны представляет собой завершенное исследование на актуальную тему, выполненное на высоком научно-техническом уровне. Работа соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), а её автор, Лазарева Екатерина Германовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 – Пищевые системы.

Кандидат биологических наук
по специальностям 03.02.03, 03.01.06,
заместитель директора по
аналитической работе, в.н.с.
лаборатории микробиологии
сибирской язвы ФБУН «ГНЦ ПМБ»



Виталий Сергеевич Тимофеев

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
Россия, 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, д. 24,
Территория «Квартал А»

Телефон: +7 991 177 1905; e-mail: timofeev_vitalii@mail.ru

Я, Виталий Сергеевич Тимофеев, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.

Подпись заверяю



Алексеева Н.В., начальник
отдела кадров ФБУН ГНЦ ПМБ

20.11.2024 г.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лазаревой Екатерины Германовны на тему
«Разработка тест-системы для количественного определения
провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных
продуктах», представленной на соискание ученой степени кандидата
технических наук по специальности 4.3.3 Пищевые системы

Актуальность. Главной задачей, стоящей перед производителями продуктов питания и государством, является обеспечение безопасности реализуемой на рынке пищевой продукции. Обеспечение высокого уровня безопасности продуктов питания возможно только на базе применения комплексного подхода при анализе и управлении рисками на всех этапах цепочки прослеживаемости – от поля до прилавка магазина. К одним из таких рисков при производстве молока и молочных продуктов относятся инфекционные заболевания, запущенные зоонозные болезни, болезни пищевого происхождения. Молоко, полученное от больных животных, может приводить к рискам производства и реализации молочных продуктов, несоответствующих требованиям безопасности и качества. Скрытые формы заболевания, в частности, вирусного лейкоза крупного рогатого скота, и невозможность ее определения на ранних стадиях увеличивает вероятность производства продукции, несоответствующей установленным требованиям, что крайне нежелательно для производителей молочных продуктов, государства и конечных потребителей. В связи с чем, исследования, связанные с разработкой тест-систем для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молочном сырье и готовой продукции, являются актуальными.

Научная новизна работы состоит в разработке методологического подхода проведения оценки качества молочного сырья и готовых молочных продуктов на количественное определение провирусной ДНК *Bovine leukemia virus*. Предложен новый комплекс оценочных критериев безопасности молочного сырья, молока и молочных продуктов за счет внедрения ПЦР-анализа, направленного на выявление и количественное определение провирусной ДНК.

Практическая значимость исследования заключается в создании отечественной тест-системы для определения *Bovine leukemia virus*, способной использоваться на всех этапах производства молока и его продуктов. Разработан и утверждён СТО 00419785-075-2024 «Молоко и молочная продукция. Методика выполнения измерений по выявлению и количественному определению провирусной ДНК вируса лейкоза КРС», что подтверждает готовность к промышленному применению результатов исследования.

Достоверность результатов не вызывает сомнений. Результаты исследования базируются на большом массиве экспериментальных данных, получены с применением современных и общепринятых методов анализа с последующей статистической обработкой. Результаты диссертационной

работы многократно обсуждены и одобрены на конференциях различного уровня.

По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе: 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе Web of Science, 3 статьи в журналах РИНЦ и 7 публикаций в сборниках трудов конференций.

При ознакомлении с авторефератом возникли следующие вопросы и замечания:

1. Как учтено влияние различных видов молочной продукции на качество детекции провирусной ДНК, особенно в отношении продуктов с высокой жирностью?

2. В некоторых местах встречаются термины, которые используются некорректно или неоднозначно. Например, термин "лизис образцов" лучше заменить на "лизис клеток".

Указанные вопросы и замечания не снижают общей положительной оценки проведенного диссертационного исследования. Диссертационная работа соответствует всем критериям, утвержденным Положением о присуждении ученых степеней и Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013, а её автор, Лазарева Екатерина Германовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по научной специальности 4.3.3 – Пищевые системы.

Профессор кафедры управления качеством
и товароведения продукции
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Российский государственный
аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»,
доктор технических наук
(по научной специальности
4.3.3 Пищевые системы), доцент

Янковская Валентина Сергеевна

"27" ноября 2024 г.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева» ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева 127434, г. Москва, Тимирязевская ул., 49.
Тел.: +7(499)976-04-80, E-mail.: vs3110@rgau-msha.ru

Я, Янковская Валентина Сергеевна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Лазаревой Екатерины Германовны, и их дальнейшую обработку.