



Министерство сельского хозяйства Российской Федерации  
Департамент научно-технологической политики и образования

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
**ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ, РАДИАЦИОННОЙ  
И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)**

420075, г. Казань, Научный городок-2 тел. (843) 239-53-20, 239-53-11  
тел./факс: (843) 239-71-73, 239-71-33. e-mail: vnivi@mail.ru ИНН – 1660022161, КПП – 166001001

« 21 » 11. 2016г № 1116

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

### Отзыв

официального оппонента **Ефимовой Марины Анатольевны** на  
диссертацию **Сафроновой Валентины Андреевны** «Экспресс-методы  
иммуноанализа прогестерона в молоке для целей ветеринарной  
диагностики», представленной на соискание ученой степени кандидата  
химических наук по специальностям:

**03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).**

### Актуальность избранной темы.

Эффективность и рентабельность ведения отрасли молочного скотоводства в значительной степени обусловлена уровнем репродуктивной способности животных. В последнее время наблюдается устойчивая тенденция снижения репродуктивных качеств коров на фоне различных факторов, в связи с этим, диагностика стельности коров, основанная на определении специфического маркера беременности прогестерона (ПГ) в молоке является важным фундаментальным направлением, несущим также и важное прикладное значение.

В этой связи диссертационная работа Сафроновой В.А. выполнена на актуальную тему и посвящена разработке экспресс-методов иммунохимических аналитических тест-систем для ранней диагностики стельности у коров по уровню прогестерона в молоке. Внедрение в широкую ветеринарную практику разработанных экспресс-тестов на основе методов ЛПИФА и ИФиА позволит выявлять субклинические формы нарушений репродуктивной функции и сократить непроизводительные расходы на передержке яловых животных.

В рамках решаемой проблемы Сафроновой В.А. научно обоснованы направление исследований, сформулирована тема диссертационной работы и определена методология решения этих задач.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, их достоверность и новизна.**

Автором проанализирован большой объем современной научной литературы по методам определения ПГ для выявления стельности коров, на основе которого сделан обоснованный вывод о высокой востребованности ветеринарной медицины в новых экспресс-тестах для ранней диагностики ПГ.

Изложенные в диссертационной работе научные положения, выводы и рекомендации подтверждаются результатами собственных исследований, выполненных Сафроновой В.А. на высоком научно-методическом уровне. Научные положения и основные результаты диссертационной работы отражены в публикациях автора на международных научных и научно-практических конференциях и в изданиях рекомендованных ВАК РФ. По материалам диссертационной работы опубликовано 14 работ, в том числе 2 статьи в изданиях, индексируемых в базах данных «Web of Science» и «Scopus».

**Научная новизна** диссертационной работы состоит в обосновании и разработке основных принципов создания экспрессных тест-систем для определения низкомолекулярных веществ на примере гормона ПГ в водных растворах и цельном молоке.

На основании проведенных автором комплексных исследований созданы новые высокочувствительные экспресс тест-системы для анализа ПГ на основе ЛПИА и ИФиА, оптимизированы условия проведения разработанных схем экспресс-иммуноанализа ПГ в водных растворах и цельном коровьем молоке для определения уровня ПГ в необходимом диапазоне концентраций. Определены количественные параметры и условия регистрации ферментной метки в тестовой зоне разрабатываемых тест-систем, изучено влияние структуры и компоновки пористых мембранных компонентов на аналитические характеристики анализа, определены оптимальные условия регистрации сигнала, оптимизированы условия проведения анализа в образцах цельного молока.

#### **Значимость для науки и практики, полученных автором результатов.**

Существенную значимость для науки и практики представляют, разработанные автором простые тест-системы для количественного и полуколичественного определения низкомолекулярного гормона ПГ в цельном молоке коров и диагностировать эмбриональную смертность. Предложенные экспресс-тесты на основе ЛПИФА и ИФиА апробированы с положительными результатами в животноводческих хозяйствах. Производственные испытания разработанных аналитических тест-систем показали их высокую эффективность по сравнению с классическими рутинными методами. Основными преимуществами разработанных тестов являются простота, экспрессность и возможность проведения анализа в полевых условиях с визуальной оценкой получаемых результатов.

Разработанные в данной работе основные принципы создания экспрессных тест-систем могут быть применимы при конструировании новых иммунохимических аналитических тестов для идентификации широкого спектра биомаркеров различного генеза.

**Структура диссертационной работы, степень завершенности и качество оформления.** Диссертационная работа В.А.Сафроновой содержит все необходимые разделы: введение, обзор литературы, экспериментальная часть, результаты и обсуждения, выводы, список цитируемой литературы. Работа изложена на 139 страницах, содержит 12 таблиц и 67 рисунков. Список литературы включает 201 ссылку.

Во введении автором обосновывается актуальность темы исследования, представлена научная и практическая новизна, сформулирована цель, поставлены задачи, направленные на ее достижение, отражены положения, выносимые на защиту и личный вклад соискателя. В первой главе диссертации приводится подробный обзор литературы, который позволяет понять этапы развития проблемы и ее современное состояние.

В экспериментальной части указаны методы исследования, используемые материалы и оборудование, которые позволили автору полностью выполнить поставленные задачи.

Раздел «Результаты и обсуждение» включает большой объем экспериментальных данных. Рассмотрены основные конкурентные схемы создания быстрых проточных тест-систем на основе ЛПИА и ИФиА низкомолекулярных веществ на примере гормона ПГ с использованием в качестве визуальной метки наночастиц золота и пероксидазы хрена (ПХ).

В результате сравнительных исследований показано, что применение в качестве маркера ПХ в конкурентной схеме позволяет снизить предел обнаружения ПГ до рабочего диапазона необходимого для раннего определения стельности коров. В дальнейшем автором определены количественные параметры и условия регистрации ферментной метки в тестовой зоне разрабатываемых тест-систем ЛПИА и ИФиА, рассмотрено влияние структуры и компоновки пористых мембранных компонентов на аналитические характеристики. Полученные результаты позволили разработать: метод ЛПИФА для инструментального фотометрического количественного определения ПГ с рабочим диапазоном определяемых

концентраций 1-40 нг/мл и экспресс-тест на основе метода ИФиА с использованием фермента для количественного и полуколичественного определения уровня ПГ в цельном молоке коров с пределом обнаружения 0,4 нг/мл. Экспресс-тест ИФиА в отличие от ЛПИФА позволяет проводить точную визуальную оценку нестельных коров по принципу «да-нет» без использования специального оборудования и навыков.

В целом материал диссертационной работы изложен логично, в грамотном научном стиле, аккуратно оформлен, содержит информативные графические иллюстрации. Цифровой материал сведен в таблицы, проанализирован, статистически обработан. Формулируемые выводы обоснованы, логично вытекают из экспериментальных данных, полностью соответствуют целям и задачам исследования. Представленные материалы диссертации свидетельствуют об успешном достижении поставленной цели исследования.

Автореферат диссертации Сафроновой В.А. полно отражает содержание работы и полученные результаты.

Диссертация В.А. Сафроновой «Экспресс-методы иммуноанализа прогестерона в молоке для целей ветеринарной диагностики» высокопрофессиональное и цельное исследование, имеет большую научную ценность и практическую значимость. Считаю, что разработки Сафроновой В.А. будут востребованы ветеринарными специалистами, в связи с этим, хотелось бы поинтересоваться, когда можно ожидать внедрения экспресс-тестов в широкую ветеринарную практику?

### **Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.**

Рассматриваемая диссертационная работа Сафроновой Валентины Андреевны на тему: «Экспресс-методы иммуноанализа прогестерона в молоке для целей ветеринарной диагностики», представленная к публичной защите в диссертационный совет Д 501.001.59 при Московском государственном

университете имени М.В. Ломоносова по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), является научно-квалификационной работой, которая вносит существенный вклад в животноводство, биотехнологию, ветеринарию и полностью отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук (п.9 «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ от 24.09.2013г. №842), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Официальный оппонент,  
заведующая лабораторией иммунологии  
ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»

доктор биологических наук



Ефимова Марина Анатольевна

Подпись М.А. Ефимовой заверяю;  
Ученый секретарь ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»,

к.в.н.



Владимир Иванович Степанов