

Заключение комиссии Диссертационного Совета Д 208.046.01 при ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Шибаевой Анны Валерьевны «Исследование бактериальных консорциумов в качестве этиологического фактора развития болезней пародонта» по специальности 03.02.03. – микробиология

Научный руководитель:

Шевелёв Алексей Борисович – Ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, доктор биологических наук (03.01.03 – Молекулярная биология).

Диссертационная работа Шибаевой Анны Валерьевны соответствует специальности 03.02.03. – микробиология (биологические науки).

Работа посвящена изучению состава микробного консорциума пародонта человека в норме и в условиях развития воспалительных заболеваний пародонта: хронического с различной степенью тяжести или агрессивного. Работа выполнялась методами молекулярной биологии: ПЦР в реальном времени и метагеномное секвенирование. На основании проведенного исследования показана целесообразность использования в качестве материала для исследования микробиома пародонта молекулярными методами мягкого зубного налёта. Проведенный метагеномный анализ позволил выявить роды бактерий характерные для здорового пародонта: *Streptococcus*, *Bergeyella*, *Granulicatella*, *Kingella*, *Corynebacterium* и роды, ассоциированные с диагнозом «агрессивный пародонтит»: *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Treponema*, *Synergistes*, *Tannerella*, *Filifactor*, *Ruminococcus*, *Parvimonas* и *Mycoplasma*. Показано, что при развитии хронического пародонтита наблюдается тенденция к формированию комплекса, состоящего из патогенов *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythensis* и *T. denticola* в мягком зубном налёте. Наиболее устойчивая положительная корреляция наблюдается для видов *T. forsythensis* и *T. denticola*. Впервые установлено, что содержание в мягком зубном налёте бактерий видов *V. parvula* и *S. sanguinis* проявляет статистически достоверную положительную корреляцию со степенью сохранности пародонта и отрицательную – с содержанием в мягком зубном налёте патогенов *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythensis* и *T. denticola*. Впервые выявлены существенные различия во взаимозависимостях, определяющих содержание пародонтопатогенов и потенциальных пародонтопротекторов в микробных консорциумах пародонта мужчин и женщин.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что впервые был выдвинут и экспериментально подтверждён тезис о существовании эубиотического компонента микрофлоры пародонта, повышенное содержание которого в мягком зубном налёте характерно для пациентов с высокой сохранностью пародонта или коррелирует с пониженным содержанием в мягком зубном налёте пародонтопатогенов *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythensis* (*B. forsythus*) и *T. denticola*. Обоими этими признаками обладают бактерии видов *V. parvula* и *S. sanguinis*, которым предложено присвоить обозначение «потенциальные пародонтопротекторы».

Практическое значение работы обусловлено разработкой ранее не существовавших методических основ определения состава микробиома пародонта с применением ПЦР в реальном времени. Собрана и охарактеризована коллекция образцов ДНК микробиома пародонта от 153 пациентов с различной степенью сохранности пародонта, которую можно использовать для исследования симбиотических и антагонистических отношений между различными видами бактерий в норме и при патологии.

Предложен полностью оригинальный алгоритм определения порогового уровня обсеменённости мягкого зубного налёта пародонтопатогенами с применением набора «Дентофлор», обеспечивающий возможность интерпретации данных ПЦР-анализа в

интересах клинической диагностики (заявка на патент на изобретение РФ № 2015120411 от 29.05.2015; решение о выдаче патента от 21.10.2016).

Разработаны и апробированы ПЦР тест-системы, предназначенные для количественного определения содержания доли потенциальных патодонтопротекторов *V. parvula* и *S. sanguinis* в микробиоме мягкого зубного налета пациентов в реальном времени: заявка на патент на изобретение РФ № 2015147190 от 03.11.2015 (решение о выдаче патента 24.01.2017) «Тест-система на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени для количественного определения бактерии-пародонтопротектора *Veillonella parvula*» и заявка на патент на изобретение РФ № 2015147189 от 03.11.2015 (решение о выдаче патента 24.01.2017) «Тест-система на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени для количественного определения бактерии-пародонтопротектора *Streptococcus sanguinis*».

В рамках исследования были описаны способы оценки иммунного ответа на микробную инфекцию пародонта у индивидуальных пациентов в интересах клинической диагностики и поданы две заявки на патент РФ: № 2015120410 от 29.05.2015; решение о выдаче патента от 16.02.2017, № 2015120412 от 29.05.2015; решение о выдаче патента от 26.09.2016, в которых описаны способы оценки иммунного ответа на микробную инфекцию пародонта у индивидуальных пациентов в интересах клинической диагностики.

Все пять перечисленных заявок на патенты содержат детальные методические указания по использованию разработанных и ранее существовавших тест-систем на основе ПЦР в реальном времени для оценки эффективности выполняемого лечения пациентов с воспалительными поражениями пародонта. Применение этих указаний уже сейчас позволяет оперативно вносить изменения в тактику лечения в случае её неэффективности. В перспективе, по мере накопления массива данных, полученных с их помощью, позволит разработать методические указания (рекомендации) для лечения конкретных нозологических форм пародонтита, которые в настоящее время не удается различить без использования методов молекулярной диагностики.

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс на кафедре пародонтологии и используются при подготовке студентов и ординаторов в соответствии с ФГОС по специальности «Стоматология терапевтическая», проведении практических занятий со студентами и ординаторами в рамках курса «Методы обследования и лечения больных с заболеваниями пародонта», а также в лекционном материале по теме «Функциональная диагностика в пародонтологии» ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. Тест-системы для определения *V. parvula* и *S. sanguinis* в микробиоме мягкого зубного налета пациентов серийно выпускаются ООО «Иннотех-21» (акты внедрения от 15.12.2016; 10.04.2017).

Представленные результаты являются достоверными, так как был проведен достаточный объем исследований. Научные положения и выводы, сформулированные Шибаевой Анной Валерьевной, логически вытекают из результатов проведенных исследований.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03. – микробиология. Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники.

Материалы диссертации были представлены и обсуждены на 2-ой Всероссийской научно-практической конференции по геномному секвенированию «Геномное секвенирование 2014», (Москва, 2014), «Геномное секвенирование 2015», (Москва, 2015); Форуме Университетской науки – 2015. «Научное медицинское прогнозирование: молекулярно-генетические аспекты, триггеры патогенеза, ятрогенные влияния», (Москва, 2015); на Тематическом секционном заседании XXXVII Итоговой Научной конференции ОМУ, (Москва, 2015)

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 8 статей в рецензируемых изданиях, 1 - в других изданиях, 2 - в сборниках материалов конференций.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины» Федерального медико-биологического агентства».

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

- Припутневич Татьяна Валерьевна - доктор медицинских наук (03.02.03 - микробиология), заведующая отделом микробиологии и клинической фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

- Ризванов Альберт Анатольевич - доктор биологических наук (03.01.04 - биохимия), член-корреспондент Академии наук Республики Татарстан, заместитель руководителя САЕ Трансляционная 7П медицина, главный научный сотрудник, профессор кафедры генетики Института фундаментальной медицины и биологии, заведующий отделом поисковых исследований НОЦ фармацевтики Казанского (Приволжского) федерального университета

Согласие оппонентов и ведущей организации имеются.

Заключение: комиссия диссертационного совета рекомендует диссертацию Шibaевой Анны Валерьевны: «Исследование бактериальных консорциумов в качестве этиологического фактора развития болезней пародонта» по специальности 03.02.03. – микробиология к приему к защите.

Заключение подготовили члены Диссертационного совета:

Председатель:

Заместитель директора по биотехнологии ФБУН
«Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им.
Г.Н.Габричевского» Федеральной службы по надзору в
сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

С.С. Афанасьев

Члены комиссии:

Профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ
ВО «Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор

Б.А. Ефимов

Заведующий лабораторией медико-биологических
исследований «Научно-исследовательский институт детского
питания» Российской академии сельскохозяйственных наук,
доктор биологических наук

Б.М. Мануйлов

Руководитель лаборатории диагностики дифтерийной и
коклюшной инфекций ФБУН «Московский НИИ
эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
доктор медицинских наук, доцент

О.Ю. Борисова