

ОТЗЫВ

официального оппонента, Член-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора, заведующего научно-исследовательским отделом медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» Сидоренко Сергея Владимировича на диссертационную работу Туневой Натальи Александровны на тему: «Диагностически значимые микробиологические показатели в развитии периимплантитов», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности: 1.5.11 – Микробиология (медицинские науки).

Актуальность темы исследования

В настоящее время для восстановления частично или полностью утраченных зубов используют дентальные имплантаты. В норме после установки дентальных имплантатов в период остеоинтеграции и после ее завершения в периимплантной области отсутствуют признаки воспаления. Однако с увеличением количества устанавливаемых дентальных имплантатов возрастает и количество осложнений. Изменения, возникающие в периимплантной зоне, характеризуются воспалительными проявлениями в мягких тканях, окружающих имплантат, и потерей опорной костной ткани в более позднем периоде. Среди множества существующих факторов развития воспалительных изменений инфицирование периимплантной области микроорганизмами – один из наиболее важных факторов риска периимплантита. Имеющиеся научные данные в большей степени характеризуют микробиоту при пародонтитах. Особенности микробиоциноза периимплантных зон в настоящее время недостаточно изучены. Не изучены различия микробного состава периимплантных зон пациентов со здоровым пародонтом и с признаками пародонтита, сопутствующего периимплантиту. Не изучена роль *Helicobacter pylori* в прогрессировании воспалительных

заболеваний пародонта. Рост антибиотикорезистентности у микроорганизмов, являющихся причиной воспалительных заболеваний пародонта, способствует пересмотру существующих схем и поиску новых эффективных подходов к профилактике и лечению воспалительных заболеваний пародонта.

В связи с этим диссертационная работа Туневой Н.А., в которой описаны микроорганизмы, играющие роль в развитии периимплантитов, является актуальной, способствующей разработке научно-обоснованной программы иммунопрофилактических и лечебных мероприятий, направленных на уменьшение инфекционных осложнений в стоматологической практике после установки имплантатов. Актуальность проведенных Туневой Н.А. исследований соответствует пункту 20(в) приоритетных направлений Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации, утвержденной Указом Президента Российской Федерации от 1 декабря 2016 г. № 642 «Переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных)».

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Проведенное Туневой Н.А. исследование позволило впервые на основании определения прямой и обратной корреляционной зависимости между количеством микроорганизмов, с одной стороны, и степенью выраженности клинических, гигиенических и рентгенологических изменений, с другой – обосновать культивируемые облигатные анаэробы, способствующие развитию патологических процессов в периимплантной зоне – *Bacteroides* spp. (*B. fragilis*, *B. vulgatus*, *B. ovatus*), *Prevotella* spp. (*P. buccalis*, *P. nigrescens*), *Peptostreptococcus* spp. (*P. anaerobius*, *P. stomatis*), *Actinomyces* spp. (*A. cardiffensis*, *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. oris*, *A.*

odontolyticus, *A. viscosus*) и уменьшающие развитие воспалительных изменений при перимплантите – *Veillonella parvula*, *Bifidobacterium dentium*, *Neisseria* spp. (*N. flava*, *N. mucosa*, *N. perflava*, *N. subflava*), *Lactobacillus* spp. (*L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. paracasei*, *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*). При этом доказано, что данная закономерность более выражена во всех группах лиц с пародонтитом. В группах лиц с мукозитом при сопутствующем течении с пародонтитом автором установлено статистически значимое повышение количества культивируемых факультативных аэробов и анаэробов – *Streptococcus* spp. (*S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. uberis*, *S. vestibularis*, *S. gordonii*, *S. anginosus*), *Staphylococcus* spp. (*S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Rothia* spp. (*R. dentocariosa*, *R. aeria*, *R. mucilaginosa*) с наличием прямых статистически значимых корреляционных связей между количеством данных микроорганизмов и степенью выраженности клинических, гигиенических и рентгенологических изменений. С помощью молекулярно-генетического метода (ПЦР в режиме реального времени) выявлено увеличение частоты встречаемости и количества плохо культивируемых микроорганизмов – *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* (*Tannerella forsythensis* или *Bacteroides forsythus*), *Treponema denticola*, *Candida albicans* при прогрессировании перимплантита с преимущественным преобладанием количества микроорганизмов в перимплантных зонах у лиц с пародонтитом. Автором диссертационной работы доказано влияние *H. pylori* на развитие патологических процессов в перимплантной области. Выявлен высокий процент лиц с имплантатами, загрязненными *H. pylori*, независимо от наличия у пациентов пародонтита. При этом среди лиц с мукозитом и прогрессирующим перимплантитом преобладают пациенты, из перимплантных зон которых выделены штаммы *H. pylori*, синтезирующие белок патогенности CagA.

Автором разработан способ получения наночастиц коллоидного серебра, основанный на пошаговой методике получения наночастиц размером 30 ± 3 нм при восстановлении и стабилизации нитрата серебра (AgNO_3) цитратом натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) при соотношении концентраций растворов $\text{AgNO}_3/\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 - 1:0,75$ и их объемов 5:1 (Патент на изобретение РФ № 2729991).

Новизна результатов проведенного Туновой Н.А. научного исследования укладывается в программу фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на период (2021-2030 гг.), утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2020 г. № 3684-р по направлению 3.4.3 Микробиология, так как проделанная работа позволяет изучить микробиоциноз перимплантных зон у лиц с имплантатами на фоне воспаления.

Представленные в работе данные свидетельствуют о высокой научной и практической значимости использования полученных данных в практическом здравоохранении.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Туновой Н.А. систематизированы научные данные о существующих проблемах в дентальной имплантологии, в том числе о формировании воспалительных процессов в перимплантной зоне, связанных с влиянием отдельных представителей микробиоты на течение перимплантита.

Расширены современные представления о взаимном влиянии хеликобактериоза на течение перимплантита и наоборот, основанные на взаимосвязи, с одной стороны, патологического воспалительного процесса в костной ткани челюсти, непосредственно прилегающей к зубному имплантату, с носительством *H. pylori*, с другой стороны, о влиянии данного микроорганизма на рецидивирующее течение хеликобактериоза и возможности реинфицирования после эрадикационной терапии.

Дополнены научные данные о возрастающей устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам, используемым в стоматологической практике.

Полученные данные о высоком проценте лиц с имплантатами, загрязненными *H. pylori*, и значимости микроорганизма в развитии перимплантита обосновывают целесообразность ее эрадикации перед установкой импланта с целью улучшения результатов имплантации.

Разработанный пошаговый способ получения наночастиц коллоидного серебра (НЧКС) может быть использован в различных областях медицины, в том числе для разработки на основе НЧКС, обладающих антимикробными и антитоксическими свойствами, иммунобиологического препарата для профилактики и лечения перимплантитов.

Сформированная и депонированная на базе централизованной клинико-диагностической лаборатории Кировского областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Кировская областная клиническая больница» рабочая коллекция микроорганизмов может быть использована для научных исследований, а также для разработки иммунобиологического препарата для профилактики и лечения перимплантита.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверности результатов диссертационного исследования Туновой Н.А. подтверждается использованием достаточного количества экспериментов, современных бактериологических и молекулярно-генетических методов исследования, соответствующих поставленным задачам, воспроизводимостью результатов и применением методов статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту, аргументированы, выводы подтверждены экспериментальными данными и научно обоснованы, соответствуют содержанию представленной работы.

Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

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

Материалы диссертационной работы внедрены в образовательный процесс на кафедре микробиологии и вирусологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Разработанные методические рекомендации «Профилактика и лечение перимплантита» используются в практической деятельности клиник г. Кирова ООО «Ортосоло» и ООО «МедХим».

По теме диссертации Туновой И.А. опубликовано 11 научных работ, из которых 3 статьи в рецензируемых изданиях, 3 – статьи в других изданиях, 1 тезис – в рецензируемом издании, 1 методические рекомендации, 1 монография в соавторстве, 1 учебное пособие и 1 патент на изобретение РФ.

Личный вклад автора в разработку научной проблемы

Личное участие автора заключается в постановке цели, определению путей решения задач в рамках диссертационной работы. Автор лично провела анализ научной литературы по теме диссертации; разработала дизайн исследования; проводила отбор пациентов для исследования; осуществляла клинический осмотр и оценку индексов гигиены у пациентов; проводила все этапы экспериментального исследования по выделению и идентификации культур. Результаты, представленные в диссертации, получены лично автором либо при его непосредственном участии в

экспериментальной работе. Диссертант лично провел анализ и систематизацию результатов исследования, сделал обоснованные выводы.

По результатам диссертационной работы Тунева Н. А. подготовила к публикации статьи, участвовала с докладами на научных конференциях, лично участвовала в оформлении апробации результатов исследования.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы. Общий объем диссертации, включая 16 таблиц, 21 рисунок составляет 156 страниц машинописного текста. Список литературы включает 152 источника, из которых 107 отечественных и 45 зарубежных.

В разделе «Введение» обоснована актуальность работы, сформированы цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены материалы и методы исследования (микробиологические, молекулярно-генетические, иммунохроматографические и др.), сформированы положения, выносимые на защиту, подтверждена степень достоверности и апробация результатов исследования.

В первой главе автор описывает проблемы дентальной имплантологии, которые связаны с развитием осложнений после установки имплантатов. Автор указывает на одну из значимых причин развития осложнений – контаминацию периимплантных зон микроорганизмами, вызывающими воспаление в виде периимплантитов и муказитов. Представляет анализ имеющихся научных данных об особенностях микробиома у пациентов с пародонтитами и периимплантитами. В качестве неизученных вопросов, на основании анализа научных данных, автор диссертационной работы определяет состав микробиоты при периимплантите при независимом и

сопутствующем с пародонитом течением, а также роль *H. pylori* в развитии и прогрессировании воспалительного процесса.

Особое внимание Тунева Н.А. уделяет изучению проблемы роста антибиотикорезистентности у микроорганизмов, являющихся источником воспалительных заболеваний пародонта, и поиску новых эффективных подходов к профилактике и лечению воспалительных заболеваний пародонта.

Во второй главе представлены результаты бактериологического этапа исследования и молекулярно-генетического этапов исследования микробиоты периимплантных зон. Показано, что отдельные культивируемые облигатные анаэробы (*Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp. и *Actinomyces* spp.) способствуют развитию патологических процессов в периимплантной зоне. *Veillonella parvula*, *Bifidobacterium dentium*, *Neisseria* spp. и *Lactobacillus* spp. сдерживают развитие воспалительных изменений.

Кроме того, по результатам данного этапа исследования Тунева Н.А. статистически обосновывает, что в группах лиц с мукозитом при сопутствующем течении с пародонитом установлено статистически значимое повышение количества культивируемых факультативных аэробов и анаэробов – *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Rothia* spp. с наличием прямых статистически значимых корреляционных связей между количеством данных микроорганизмов и степенью выраженности клинических, гигиенических и рентгенологических изменений.

С помощью молекулярно-генетического метода (ПЦР в режиме реального времени) во второй главе также выявлено увеличение частоты встречаемости и количества плохо культивируемых микроорганизмов – *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* (*Tannerella forsythensis* или *Bacteroides forsythus*), *Treponema denticola*, а также грибов *Candida albicans* при

прогрессировании периимплантита с преимущественным преобладанием количества микроорганизмов в периимплантных зонах у лиц с пародонтитом.

В главе три проведен анализ роли *H. pylori* в развитии периимплантитов. Результаты данного этапа исследования показали, что 48,03 % лиц с имплантатами и наличием воспалительного процесса колонизованы *H. pylori* независимо от наличия сопутствующего пародонтита, среди них 18,11 % являются носителями патогенных штаммов. Статистический анализ уровня колонизации *H. pylori* пациентов с периимплантитами позволил определить его к микроорганизмам, влияющим на обострение и прогрессирование процесса. При этом у лиц с мукозитом Туновой Н.А. было доказано преобладание носителей патогенных штаммов, синтезирующих белок патогенности CagA.

В главе четыре проведена оценка корреляционной зависимости между количеством выделенных и определенных к группе статистически значимых облигатных анаэробов, факультативных анаэробов, аэробов и микроаэрофилов по влиянию их действия на клиническую картину и рентгенологические показатели, выраженные в баллах, как наиболее значимые для прогрессирования процесса периимплантита у пациентов в двух группах: без пародонтита и с пародонтитом. При этом определение уровня значимости участия микроорганизмов в развитии и прогрессировании периимплантита проведено в работе при независимом и сопутствующем с пародонтитом течении в зависимости от уровня корреляции между количеством микроорганизмов и клинко-рентгенологическими изменениями. Результаты данного этапа работы позволили Туновой Н.А. определить диагностически значимые микроорганизмы в составе микробиоты периимплантных зон, влияющих на развитие воспаления, и перейти к этапу определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, достоверно влияющих на развитие периимплантитов.

Кроме того, в диссертационной работе одним из этапов исследования стала разработка пошаговой методики получения наночастиц серебра

размером 30 ± 3 нм. Разработанный пошаговый способ получения наночастиц коллоидного серебра (НЧКС), предложен автором для использования в различных областях медицины, в том числе для разработки на основе НЧКс, обладающих антимикробными и антитоксическими свойствами, иммунобиологического препарата для профилактики и лечения перимплантитов.

Выводы обоснованы и подтверждены полученными результатами. Сформулированы практические рекомендации, которые важны для практического здравоохранения. Автореферат отражает основное содержание диссертационной работы, сопровождается достаточным количеством рисунков и таблиц.

Вышеизложенное свидетельствует о том, что представленная диссертационная работа является исследованием, обладающим новизной, выполненным на высоком методическом уровне, результаты которого представляют практический интерес, что дает возможность сделать заключение о высоком уровне научной и профессиональной подготовки.

Соответствие специальности

По тематике, объектам исследования, методам исследования, основным положениям и выводам, сформулированным автором, представленная диссертационная работа соответствует специальности – 1.5.11 Микробиология.

В целом работа производит неплохое впечатление, при этом необходимо указать и на некоторые недостатки, касающиеся методологии и результатов оценки чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Так автор утверждает, что при анализе антибиотикочувствительности микроорганизмов использовали препараты, рекомендуемые Европейским комитетом (EUCAST). Однако это не совсем так. EUCAST приводит перечень препаратов и критерии для оценки чувствительности *Peptostreptococcus* spp, *Rotifia* spp. и *Actinomyces* spp. При оценке чувствительности *Staphylococcus* spp. из бета-лактамов рекомендуется

использовать только оксациллин и цефокситин. Рекомендации по использованию антибиотиков включают препарат цефидерокол, который не зарегистрирован в Российской Федерации. Не существует лекарственной формы чистого антибиотика цефтолозан, препарат выпускается только в комбинации с тазобактамом. Несмотря на важность приведенных замечаний они не оказывают принципиального влияния на общую положительную оценку работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Туневой Натальи Александровны на тему «Диагностически значимые микробиологические показатели в развитии периимплантитов», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности: 1.5.11 – Микробиология, выполненная под руководством доктора медицинских наук, доцента Богачевой Натальи Викторовны, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи – обоснование значимых микроорганизмов в развитии периимплантитов для разработки иммунобиологического препарата направленного действия, имеющей существенное значение для медицинских наук. Диссертационная работа Туневой Натальи Александровны на тему «Диагностически значимые микробиологические показатели в развитии периимплантитов», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности шифр – 1.5.11 Микробиология (медицинские науки), по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям п. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от

26.05.2020 № 751, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Тунева Наталья Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности шифр - 1.5.11 Микробиология (медицинские науки).

Заведующий научно-исследовательским отделом медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России; 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9; телефон: 8-963-316-08-08; e-mail: sidorserg@gmail.com)

Член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор  Сидоренко Сергей Владимирович

«25» апреля 2023 г.

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9; Телефон: +7 (911) 228-59-98; e-mail: scs@niidi.ru
Кандидат медицинских наук, доцент

 Волжанин Валерий Михайлович

