



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Кировский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России)

www.kirovgma.ru
e-mail: med@kirovgma.ru
ул. Владимирская, 112, г. Киров, 610998
тел.: (8332) 64-09-76; тел./факс: (8332) 64-07-34
ИНН/КПП 4346010151/434501001
ОКПО 10942252, ОГРН 1034316504540

«Утверждаю»

Ректор

ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России

Железнов Лев Михайлович

«17» сентября 2025



17.09.2025 № 3177-01-26

На № _____

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
на диссертацию Леонтьевой Аурелии Валерьевны
на тему «Особенности микробиоценоза рта у больных хроническим
генерализованным пародонтитом», представленной на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук по научной специальности:
1.5.11 – Микробиология (медицинские науки)

Актуальность темы выполненной работы

Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) и Всемирная Федерация Стоматологов (FDI) отмечают, что состояние зубов, дёсен и всей полости рта играет важнейшую роль в здоровье и благополучии каждого человека. Согласно официальным данным ВОЗ, свыше 3,5 миллиарда человек (примерно 45% мирового населения) сталкиваются с заболеваниями полости рта. В своём докладе за 2021 год ВОЗ сообщила, что проблемы с тканями пародонта наблюдаются примерно у 796 миллионов жителей планеты. Известно, что хронический генерализованный пародонтит ассоциирован с наличием пародонтопатогенной микробиоты в полости рта. Микробиота рта «красного/оранжевого комплекса» по S. Sohransky, или по отечественной классификации 1–2 порядков, на сегодняшний день является ведущим фактором развития пародонтита, так как находясь в биопленках обладает множественными факторами вирулентности. Несмотря на многочисленные исследования в данной области, направленные как на диагностику, так и на

лечение хронического генерализованного пародонтита, достигнутые успехи пока недостаточны для значительного снижения заболеваемости и распространенности заболеваний пародонта среди населения. Это подчеркивает необходимость дальнейшего углубленного изучения всего состава микрэкосистемы полости рта, включая состав и комплекс биологических свойств условно-патогенных микроорганизмов – *Streptococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. и других микроорганизмов. Важной характеристикой условно-патогенных микроорганизмов являются наличие факторов патогенности, чувствительности к антибиотикам, способности формировать биоплёнки и адгезироваться к эпителиальным клеткам полости рта. Актуальным направлением является разработка экспресс-методов определения степени выраженности пародонтита на основе протеолитической активности ротовой жидкости. В последнее время растет интерес к изучению микробиоценоза биотопа ротовой полости с позиции определения микробных газотрасмиттеров. В настоящее время оценка газовых сигнальных молекул оксида азота, сероводорода, оксида углерода основана на определении уровня содержания их в крови. Последние исследования газотрасмиттеров, продуцируемых и поглощаемых микроорганизмами, свидетельствуют о связи между уровнем содержания этих газов в биологических жидкостях и выраженностью патологического процесса при пародонтите.

Таким образом, исследование, проведенное в рамках диссертации Леонтьевой А.В., является актуальным, так как благодаря изучению газовой и протеолитической активности условно-патогенной микробиоты ротовой, разработке экспресс-метода определения степени выраженности пародонтита по анализируемым метаболическим характеристикам, возможно решение проблемы повышения эффективности диагностических и лечебных мероприятий при хроническом генерализованном пародонтите.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна диссертационного исследования заключается в том, что автором впервые было установлено, что *Streptococcus agalactiae* статистически значимо чаще выделялся из биотопов больных хроническим генерализованным пародонтитом, чем у пациентов группы сравнения. Автором диссертации впервые определено, что микробиота пациентов, не страдающих хроническим генерализованным пародонтитом, имела различия в продукции факторов патогенности: представители рода *Staphylococcus* имели все изучаемые в ходе исследования факторы агрессии, а *Streptococcus* spp. проявляли только гемолитическую активность. Автором установлено, что *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp. больных хроническим генерализованным пародонтитом активно поглощали оксид азота и выделяли оксид углерода.

Впервые разработан новый метод экспресс-диагностики оценки степени выраженности пародонтита по определению протеолитической активности ротовой жидкости (Патент РФ на изобретение № 2768493).

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Новизна результатов проведенного 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 (3.4.3.5; 3.4.3.7; 3.4.3.9), так как проделанная работа позволяет изучить особенности микробиоценоза больных с хроническим генерализованным пародонтитом, что позволяет повысить эффективность назначаемой терапии с учетом персонализированного подхода к пациенту и преодолеть формирование антимикробной резистентности.

Тема диссертации 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)».

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертационной работы

Результаты исследования имеют как теоретическое, так и практическое значение. Полученные в работе данные расширяют представление о значении условно-патогенной микробиоты полости рта в развитии хронического генерализованного пародонтита и об эффективности диагностических мероприятий при данной нозологии.

Систематизирована информация об антибиотикочувствительности стафилококков и стрептококков больных хроническим генерализованным пародонтитом – создана база данных «Чувствительность к антибиотикам стрептококков, выделенных из полости рта людей с хроническим генерализованным пародонтитом» (Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2020620658 Российская Федерация. Чувствительность к антибиотикам стрептококков, выделенных из полости рта людей с хроническим генерализованным пародонтитом: № 2020620488: заявл. 24.03.2020: опубл. 09.04.2020 / Э.О. Григорьянц, В.М. Червинец, Н.М. Стулов [и др.]

Систематизирована информация о спектре и частоте встречаемости ротовой микробиоты больных пародонтитом – создана база данных «Характеристика микробиоты рта больных хроническим генерализованным пародонтитом и лиц, не имеющих заболеваний пародонта» (Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023620881 Российская

Федерация. Характеристика микробиоты полости рта больных хроническим генерализованным пародонтитом и лиц, не имеющих заболеваний пародонта: № 2023620544: заявл. 03.03.2023: опубл. 14.03.2023 / А. В. Леонтьева, Ю.В. Червинец, В.М. Червинец, В. С. Беляев).

Описаны и систематизированы спектр и концентрация газовых сигнальных молекул, выделяемых и поглощаемых стафилококками и стрептококками от пациентов, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом – создана база данных (Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021620850 Российская Федерация. Газовые сигнальные молекулы, выделенные стафилококками и стрептококками от людей здоровых и больных хроническим генерализованным пародонтитом: № 2021620716: заявл. 15.04.2021: опубл. 26.04.2021 / В. М. Червинец, Ю. В. Червинец, Е. А. Козлова [и др.]).

Получены патенты на изобретения «Способ определения адгезии микроорганизмов на эпителиальных клетках слизистой оболочки полости рта и клеточной линии HEp 2» (Патент № 2630060 Российская Федерация, МПК G01N 33/48, G01N 1/30. Способ определения адгезии микроорганизмов на эпителиальных клетках слизистой оболочки полости рта и клеточной линии HEp 2: № 2016111680: заявл. 29.03.2016: опубл. 05.09.2017 / В. М. Червинец, Ю. В. Червинец, Е. А. Беляева [и др.]) и «Способ диагностики степени пародонтита по определению протеолитической активности микроорганизмов ротовой жидкости» (Патент № 2768493 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/487, C12Q 1/37. Способ диагностики степени пародонтита по определению протеолитической активности микроорганизмов ротовой жидкости: № 2020143100: заявл. 25.12.2020: опубл. 24.03.2022 / В. М. Червинец, Ю. В. Червинец, А. В. Леонтьева [и др.]).

Результаты исследования внедрены в практическую работу врачей стоматологов в стоматологической поликлинике ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России. Материалы диссертации используются в учебном процессе и в научно-исследовательской деятельности ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения, выносимые на защиту, сформулированные выводы и предлагаемые рекомендации обоснованы и базируются на результатах диссертационного исследования. Все этапы экспериментальной работы изложены в тексте диссертации доступно и в полной мере соответствуют задачам и цели исследования, в связи с чем достоверность результатов не вызывает сомнений. Выводы сопоставимы с поставленными задачами. Рекомендации изложены на основании полученных результатов диссертационной работы и направлены на повышения эффективности диагностики, а также разработку оптимального плана лечения пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикаций в рецензируемых изданиях

Степень достоверности результатов диссертационного исследования подтверждается использованием достаточного количества экспериментов, современных методов исследования, соответствующих поставленным задачам, воспроизводимостью результатов и применением методов статистического анализа. Полученные результаты согласованы с данными других исследователей.

По материалам диссертации опубликовано 6 печатных работ, изданных в рецензируемых научных изданиях и приравненных к ним: 1 статья, входящая в перечень ВАК по специальности 1.5.11. Микробиология (медицинские науки), 1 статья – RSCI, 1 статья – входящая в базу данных Scopus, а также 1 статья, входящая в перечень ВАК по специальности 1.5.11. Микробиология (биологические науки) и 2 статьи РИНЦ. Получено 2 патента на изобретение и 3 свидетельства о государственной регистрации базы данных.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

На основании результатов определения частоты встречаемости микробиоты в различных биотопах ротовой полости у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом создана база данных «Характеристика микробиоты рта больных хроническим генерализованным пародонтитом и лиц, не имеющих заболеваний пародонта». Разработанная база данных может быть использована стоматологами г. Тверь, а также стоматологами других регионов при работе с пациентами для определения степени выраженности пародонтита, при оценке динамики процесса на фоне лечения и при формировании индивидуального подхода к терапии.

Систематизированные данные об антибиотикочувствительности *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp. больных хроническим генерализованным пародонтитом легли в основу базы данных «Чувствительность к антибиотикам стрептококков, выделенных из полости рта людей с хроническим генерализованным пародонтитом» и могут быть использованы для формирования персонализированного подхода и решения проблемы растущей антибиотикорезистентности.

Определенные, по результатам научного исследования, спектр и концентрация газовых сигнальных молекул, выделяемых и поглощаемых стафилококками и стрептококками от пациентов, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом в сравнении со здоровыми лицами позволили разработать базу данных «Газовые сигнальные молекулы, выделенные стафилококками и стрептококками от людей здоровых и больных хроническим генерализованным пародонтитом», которая с успехом может быть использована при проведении дифференциальной диагностики между лицами, страдающими пародонтитом и без него.

Новый экспресс-метод определения степени выраженности пародонтита, основанный на оценке протеолитической активности ротовой жидкости пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, нашел

свое отражение в патенте на изобретение «Способ диагностики степени пародонтита по определению протеолитической активности микроорганизмов ротовой жидкости», может быть рекомендован к использованию при формировании индивидуального подхода к лечению пациентов в зависимости от тяжести пародонтита.

Практические рекомендации

По результатам работы автор диссертации обосновал следующие практические рекомендации:

1. Для повышения эффективности диагностики хронического генерализованного пародонтита и разработки оптимального плана лечения необходимо проводить бактериологический мониторинг содержимого ротовой микробиоты с определением *Streptococcus agalactiae*, *Stomatococcus* spp., *Peptococcus* spp. *Peptostreptococcus* spp. и их биологических свойств.

2. Для повышения эффективности определения степени выраженности пародонтита в качестве экспресс-метода диагностики необходимо оценивать протеолитическую активность микроорганизмов.

3. При назначении антибиотикотерапии в лечении хронического генерализованного пародонтита необходимо учитывать высокую резистентность условно-патогенной микробиоты к ванкомицину и тетрациклину.

Соответствие специальности

Тема диссертации, цели, задачи, основные положения и выводы, сформированные автором, полностью соответствуют научной специальности 1.5.11 – Микробиология (медицинские науки).

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация написана в соответствии с ГОСТ 7.0.11-2011, объем текста составляет 131 страница. Состоит из 6 глав, включая введение, обзор литературы, глава материалы и методы, глава результаты собственных

исследований, глава обсуждения результатов с заключением, выводы, список сокращений.

В первой главе диссертации автор представляет аналитический обзор, в котором представлен современный взгляд на патогенез развития хронического генерализованного пародонтита (ХГП), существующие подходы к диагностике и лечению заболевания.

Во второй главе подробно описаны материалы, реагенты, оборудование, необходимые для проведения анализа микробиоты ротовой полости. Рассмотрены основные методики по выделению и идентификации представителей условно-патогенной флоры, определению их протеолитической и газотрансмиттерной активности.

В 3-5 главах представлены результаты собственных исследований.

В третьей главе проанализированы родовой и видовой состав микробиоты различных биотопов ротовой полости, проведена оценка частоты встречаемости и уровня содержания основных условно-патогенных бактерий ротовой полости в зависимости от наличия пародонтита.

В четвертой главе представлен анализ патогенных свойств выделенных условно-патогенных микроорганизмов, определена выраженность факторов патогенности у *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp. в основной группе у лиц с хроническим генерализованным пародонтитом и у здоровых лиц; в сравниваемых группах оценены адгезивные свойства и газотрансмиттерная активность выделенных микроорганизмов ротовой полости.

В пятой главе на основании оценки протеолитической активности микробиоты разработан подход к оценке степени выраженности пародонтита. По результатам исследования показано, что микробиота ротовой жидкости пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести обладает выраженной протеинолитической активностью по сравнению с тем же показателем микробиоты ротовой жидкости пациентов, не имеющих ХГП.

В шестой главе автор представляет обсуждение результатов собственных исследований и сравнивает их с уже имеющимися научными данными. Полученные результаты позволяют сделать автору заключение, что во всех изученных биотопах рта (зубном налете, налете языка, пародонтальном кармане, десневом желобке и ротовой жидкости) доминировали с высокой частотой встречаемости статистически значимые *Streptococcus agalactiae* ($p < 0,001$), а также *Peptostreptococcus spp.*, которые определяли в большом количестве во всех биотопах, кроме ротовой жидкости; показатели адгезии, биопленкообразования, патогенности и антибиотико-резистентности наиболее часто встречающихся микроорганизмов рта — *Streptococcus spp.* *Staphylococcus spp.*, *Bifidobacteria spp.*, — выделенных от лиц с пародонтитом, были более высокими по сравнению со здоровыми людьми; представители ротовой нормобиоты людей с пародонтитом — *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus spp.*, — либо не продуцируют необходимые газотрансмиттеры (NO), либо вырабатывают их в больших количествах (CO). На основании анализа микробиоты разработан экспресс-метод диагностики степени выраженности пародонтита.

Список литературы, включает 157 источников, из них — 78 отечественных и 79 зарубежных авторов. В работе имеются 10 таблиц и 20 рисунков.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор лично участвовала в разработке дизайна диссертационного исследования, его планировании, определении цели и задач исследования. Автором самостоятельно проведен анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Для реализации практической части исследования освоены методики взятия микробиологического материала от пациентов в различных биотопах полости рта. Автором лично проведен посев исследуемого материала на питательные среды, выделение чистой культуры, идентификация и определение биологических свойств микроорганизмов. Статистическая обработка

результатов исследования проведена при участии канд. мед. наук, доцента А. А. Родионова, лаборатории доказательной медицины и биостатистики ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава

По результатам диссертационной работы Леонтьева Аурелия Валерьевна подготовила 6 печатных работ, изданных в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК, RSCI, Scopus. Получено 2 патента на изобретение и 3 свидетельства о государственной регистрации базы данных. Результаты работ представлены автором на научных конференциях.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Структура автореферата соответствует ГОСТ 7.0.11-2011, в автореферате изложены основные положения и тезисы, сформулированные в диссертации.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Представленный в диссертации материал изложен последовательно, логично и аргументировано. Обзор литературы отражает осведомленность автора об изучаемой проблеме. Каждая глава заканчивается грамотно сформулированным заключением.

Сильной стороной работы является новизна исследования, касающаяся возможности дифференцировать пациентов по степени тяжести пародонтита в зависимости от особенностей метаболической активности условно-патогенных микроорганизмов микробиоты полости рта, что имеет практическую значимость для формирования персонализированного подхода к пациенту и, в определенной степени, решает проблему растущей антибиотикорезистентности.

В тексте работе имеются некоторые неточности по формулировке.

Например, в выводе по результатам оценки чувствительности значимых микроорганизмов к антибиотикам автор пишет: «Таким образом,

чувствительность условно-патогенных штаммов *Streptococcus* spp., выделенных от пациентов основной группы, к эритромицину, ципрофлоксацину и клиндамицину была значительно ниже, чем у *Staphylococcus* spp. (в 3 раза меньше, чем у чувствительных штаммов)». Можно ли сравнивать по чувствительности разные роды микроорганизмов? Корректно проводить сравнительную оценку чувствительности антимикробной активности одного рода микроорганизма, выделенного от пациентов в основной группе и группе сравнения.

Во 2 выводе автор пишет «Выявлена высокая способность (более чем в 10 раз) *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp. образовывать биопленки на пластиковой поверхности, чем на стекле». Корректно ли сравнивать адгезивную способность пластика и стекла? Даже пластик различных планшетов для ИФА и РНГА может отличаться. Пластик для ИФА обладает более высокой адгезивной способностью, чем для РНГА. Планшеты для ИФА различных фирм могут также отличаться из-за особенностей используемого для их производства пластика. Может быть, всё-таки сравнительная способность адгезии должна быть проведена в отношении одного рода (вида) микроорганизма на одном виде материала, но в различных группах.

Так как одной из задач работы было определение концентрации газовых сигнальных молекул, выделяемых и поглощаемых ротовой микробиотой, хотелось бы видеть отражение в работе (в материалах и методах, в задачах, пунктах новизны, практических рекомендациях и т.д.) вида используемого биологического материала, который брали для проведения анализа (сыворотка крови, слюна, содержимое пародонтальных карманов и др.).

Принципиальных замечаний, влияющих на научную и практическую значимость диссертационной работы нет.

На обсуждение предлагаются следующие вопросы:

1. Уточните 3 пункт новизны «Впервые установлено, что *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp. больных хроническим генерализованным пародонтитом активно поглощали оксид азота и выделяли

оксид углерода?». Данная характеристика по активности процесса является больше качественной нежели количественной. Для доказательной базы хотелось бы услышать цифровое подтверждение сравнительной оценки количества поглощаемых и выделяемых *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp., анализируемых в работе газотрансмиттеров, у лиц с наличием хронического генерализованного пародонтита и здоровых пациентов. В каком биологическом материале определяли уровень газотрансмиттеров?

2. Учитывая, что оксид азота синтезируется в центральной нервной системе из аминокислоты L-аргинина, можно предположить, что патологические состояния нервной системы могут влиять на уровень содержания данного газа в биологическом материале. Каким образом следует подойти к корректной оценке уровня содержания NO, в анализируемом у пациента биологическом материале, для установления уровня выраженности пародонтита, учитывая результаты научных исследований по данному факту.

3. Какой материал следует использовать для оценки адгезивной способности микроорганизмов, чтобы наиболее правильно оценить состояние биотопа, в котором они обитают?

Заключение

Диссертационная работа А.В. Леонтьевой «Особенности микробиоценоза рта у больных хроническим генерализованным пародонтитом», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности: 1.5.11 – Микробиология, выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Червинец Юлии Вячеславовны, является завершенной научно-квалификационной работой и содержит новое решение актуальной научной задачи (проблемы) – разработка метода экспресс-диагностики степени выраженности пародонтита на основе протеолитической активности ротовой жидкости в аспекте определения особенностей микробиоценоза рта условно-патогенной микробиоты при хроническом генерализованном пародонтите, что

