

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации Арутюняна Александра Артемовича «Мониторинг распространенности генов резистентности к антибиотикам у больных хроническим пародонтитом», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 1.5.11 – Микробиология (медицинские науки); 3.1.7 – Стоматология (медицинские науки).

Актуальность исследования. Увеличение объёма специализированной медицинской помощи с применением современных костнопластических и реконструктивных технологий в стоматологии влечет за собой все большую необходимость применения антимикробных препаратов. В свою очередь, широкое применение антибиотиков приводит к возникновению штаммов микроорганизмов, обладающих, в том числе, и множественной лекарственной устойчивостью. В связи с вышеизложенным, распоряжением Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. № 2045-р утверждена «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года», которая определяет необходимость углублённого изучения данной проблемы на молекулярно-генетическом уровне, а также создания новых средств борьбы с антибиотикорезистентными штаммами на этой основе.

В автореферате диссертационной работы Арутюняна А.А. сформулирована цель исследования - обосновать рациональное применение антибактериальной химиотерапии в пародонтологии с учётом выявления генетических маркеров резистентности микробиоты пародонта к антибиотикам на основании мониторинга данных фенотипических и генотипических методов исследования при использовании различных схем пародонтологического лечения, отражены задачи, основные положения, выносимые на защиту, раскрыта научная новизна и практическая значимость исследования.

Оценка содержания автореферата. Автором проведён широкий круг микробиологических исследований, позволивший впервые получить не только комплексное представление о качественном и количественном составе

микробиоты слизистой оболочки полости рта в рандомизированных группах пациентов с различной степенью тяжести патологии пародонта, но и оценить динамику изменения в группах сравнения, где пациенты контрольной группы получали традиционное лечение с использованием амоксициллина/клавуланат, основной группы – доксицилина/солютаб. При этом автором проведена комплексная клиничко-микробиологическая оценка результатов применения указанных пероральных форм антибактериальных препаратов в течение 10 суток. В результате получены новые данные о динамике изменения чувствительности к антибиотикам приоритетных патогенов – *MRSA*, *MRSE*, *S. sanguis*, *E. faecium*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* и некоторых других. Проведено исследование с помощью ПЦР достаточно широкого круга молекулярных маркеров резистентности: Bla DHA, CTX -М и Mec A – к бета-лактамам, ErmB и Mef – к макролидам, линкосамидам и стрептограминам, Van A, B – к гликопептидам, Tet M, Q – к тетрациклинам, включая INT – плазмиды интегринов.

Следует подчеркнуть, что использованные схемы лечения обоснованы в экспериментальной части работы Арутюняна А.А., которая имеет несомненную новизну благодаря применению инновационной методики программируемого культивирования штаммов клинических изолятов приоритетных возбудителей пародонтита. Это позволило автору представить данные о чувствительности *in vitro* клинических изолятов потенциальных возбудителей инфекционно-воспалительных осложнений к антибактериальным препаратам, а в условиях клинического применения обосновать МПК используемых препаратов. Несомненную новизну имеет выделение штаммов ряда трудно культивируемых анаэробных микроорганизмов (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*), для которых доказан высокий уровень чувствительности к препаратам тетрациклинового ряда (доксициклин в форме солютаб) и фторхинолонам *in vitro*.

Итоги исследования позволили сделать ряд выводов о динамике формирования резистентности пародонтопатогенной микробиоты к

антибиотикам. Во-первых, наблюдаемое автором явление увеличения частоты резистентных штаммов, впервые прослеженное на представителях анаэробных пародонтопатогенных видов, по-видимому, носит временный характер и после завершения курса лечения снижается. Во-вторых, за последние 10 лет произошли изменения в структуре распространённости конкретных генов резистентности среди штаммов оральной микробиоты (к бета-лактамам препаратам, в том числе, к амоксициллину/клавуланату их число и частота выявления существенно увеличились, а к тетрациклам – напротив, наблюдается снижение). Таким образом, в работе по данным экспериментального и клинического исследования обоснована эффективность применения курсов доксицилина в лекарственной форме «солютаб» для лечения хронического генерализованного пародонтита, что имеет существенное значение для теории и практики.

Структура и содержание работы отвечают существующим требованиям ВАК. Автореферат написан в соответствии с установленными требованиями, чётко структурирован, содержит необходимую доказательную и иллюстративную базу (3 таблицы, 6 рисунков). Проведена корректная статистическая обработка результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 6 – в изданиях рекомендуемых ВАК РФ, результаты исследования представлены на научных конгрессах и конференциях, в том числе, международных. Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе (изданы 2 учебных пособия для студентов), а также внедрены в работу стоматологических ЛПУ.

Заключение

Диссертационная работа Арутюняна Александра Артёмовича на тему «Мониторинг распространенности генов резистентности к антибиотикам у больных хроническим пародонтитом», судя по автореферату, позволяет решить важную научную и практическую задачу – оптимизацию схем

антибактериальной химиотерапии в комплексном лечении пародонтита; по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, автореферат и диссертация соответствуют требованиям п. 9 ВАК РФ, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в действующей редакции Постановления Правительства РФ № 1539 от 11.09.2021 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 1.5.11 – Микробиология (медицинские науки); 3.1.7 – Стоматология (медицинские науки).

Заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заслуженный работник высшей школы РФ, доктор медицинских наук, профессор



Евстропов Александр Николаевич

Подпись д.м.н., профессора Евстропова А.Н. заверяю:

Ученый секретарь НГМУ,
д.м.н. профессор



Осипенко М.Ф

13.09.2021

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Россия, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52, +7 (383) 222-32-04)

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Арутюняна Александра Артёмовича
на тему: «Мониторинг распространенности генов резистентности к
антибиотикам у больных хроническим пародонтитом», представленную
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук,
по специальности: 1.5.11. – Микробиология (медицинские науки),
3.1.7. – Стоматология (медицинские науки)

В связи с увеличением объема стоматологической помощи с применением современных пародонтологических, в том числе, костнопластических и реконструктивных технологий, необходимость применения антибактериальных химиопрепаратов с профилактической и лечебной целью становится всё более актуальной задачей. На начальных этапах лечения пародонтита базовое пародонтологическое лечение включает профессиональную гигиену полости рта и лекарственную терапию с целью уменьшения бактериальной обсемененности и снижения воспаления. Однако, с другой стороны, в последние годы наблюдается повсеместный рост частоты выделения полирезистентных и мультирезистентных штаммов микроорганизмов, что требует расширения круга используемых антибиотиков и антибактериальных химиопрепаратов.

Поэтому цель работы А.А. Арутюняна – обосновать рациональное применение антибактериальной химиотерапии с учётом выявления генетических маркеров антибиотикорезистентности на основании мониторинга данных фенотипических и генотипических методов исследования при различных схемах пародонтологического лечения, – следует признать вполне обоснованной, как с научной теоретической, так и практической стороны.

Как следует из материала, представленного в автореферате, для решения поставленных задач диссертантом проводился отбор клинических изолятов микробиоты, её полноценная идентификация с последующим определением фенотипических и генотипических признаков резистентности в 3-х группах сравнения:

1- хронический (генерализованный) пародонтит в стадии обострения – 90 пациентов, которые получали полноценное пародонтологическое лечение с антибиотикотерапией (30 пациентов – амоксициллин/клавуланат, 30 – доксициклин/солютаб, 30 – контроль без антибиотиков);

2- хронический (генерализованный) пародонтит в стадии ремиссии – 33 пациента (группа пациентов, которым проводили дентальную имплантацию);

3-практически здоровые пациенты с интактным пародонтом, обратившиеся к стоматологу с профилактической целью – 30 человек.

После проведения идентификации штаммов, выделенных при культуральном исследовании, осуществляли молекулярно-генетическое исследование путём RT-PCR с использованием генетических праймеров для выявления соответствующих R-генов. При этом в качестве контролируемых генетических детерминант для оценки резистоста были использованы известные генетические маркеры Bla DHA – к пенициллинам, CTX -M и Mec A – к цефалоспорином 1 и 2 типа, к ErmB и Mef – к макролидам, линкосамидам и стрептограминам, Van A, B – к гликопептидам, Tet M, Q – к тетрациклинам, включая INT – плазмиды интегринов, которые ранее в отечественной и иностранной практике определялись в единичных исследованиях и на небольшом объёме материала, что определяет новизну и значимость данного диссертационного исследования.

Примечательно, что ни для одного из определённых генов не отмечено столь высокой частоты выявления, как в группах 1 и 2 (при хроническом пародонтите). Наиболее часто, у 1/3 пациентов определяли генетические детерминанты Van A, B и Mef, несколько ниже – для Tet M и INT. Минимальная частота установлена для CTX-M и Mec A (4-6%), а также TetQ.

Диссертантом грамотно составлен план пародонтологического лечения пациентов в группах сравнения с использованием профессиональной гигиены, процедуры полировки корней зуба и применением соответствующих видов антимикробной терапии в группах сравнения (амоксциллин/клавуланат или доксициклин/соллютаб), проведён клинический мониторинг по соответствующим гигиеническим и пародонтологическим индексам.

Степень достоверности полученных результатов определяется достаточным объемом клинических и экспериментальных исследований, соответствует положениям, выдвинутым на защиту. Фактический материал корректно обработан с использованием современных методов математического и статистического анализа. Выводы диссертации, основанные на получении данных, логически и статистически обоснованы, соответствуют поставленной цели и задачам.

Автореферат чётко структурирован, логичен в изложении материала, хорошо иллюстрирован. Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в центральной научной печати и обсуждены на конференциях. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 6 публикаций – в рецензируемых изданиях. Публикации соответствуют тематике проведённого исследования.

Замечаний по тексту и структуре автореферата нет.

Заключение

Таким образом, по своей актуальности, новизне и практической значимости автореферат и диссертационная работа Арутюняна Александра Артемовича отвечают требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в действующей редакции, внесёнными Постановлениями Правительства РФ № 751 от 26.05.2020 г., № 1690 от 26.09.2022 г. «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а её автор, Арутюнян Александр Артёмович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – Микробиология (медицинские науки), 3.1.7. – Стоматология (медицинские науки).

Директор Института стоматологии имени Е.В. Боровского,
заведующий кафедрой терапевтической стоматологии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
(Сеченовский Университет)
Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук,
профессор

Макеева Ирина Михайловна

Подпись д.м.н., профессора И.М. Максевой заверяю.



Копия заверяю
И.М. Максеева
сентябрь 2023 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет)» Министерства здравоохранения Российской Федерации (119991, г. Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2. +7 (495) 609-14-00, <http://do.sechenov.ru>.

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертационной работы Арутюняна Александра Артемовича «Мониторинг распространенности генов резистентности к антибиотикам у больных хроническим пародонтитом», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 1.5.11 – микробиология (медицинские науки); 3.1.7 – стоматология (медицинские науки).

Актуальность и степень разработанности тематики. Борьба с прогрессирующе развивающейся во всём мире резистентностью бактерий к антимикробным препаратам является одной из важнейших задач современного здравоохранения. Уровень нерешённых вопросов в области противодействия антибиотикорезистентности в Российской Федерации и в мире настолько значим, что за последние годы принят ряд документов ВОЗ, приказов и постановлений Министерства здравоохранения Российской Федерации, разработана межотраслевая программа СКАТ (Стратегия контроля антимикробной терапии в России).

Для современной клинической и амбулаторной стоматологической практики проблема антибиотикорезистентности стоит особенно остро, так как нет достаточно убедительных и полноценных исследований в этом направлении, а антимикробная терапия хронических воспалительных заболеваний пародонта применяется врачами-стоматологами достаточно широко и бессистемно.

Целью работы автора было обосновать рациональное применение антибактериальной химиотерапии в пародонтологии с учётом выявления генетических маркеров резистентности микробиоты пародонта к антибиотикам на основании мониторинга данных фенотипических и генотипических методов исследования на различных схемах пародонтологического лечения.

В автореферате диссертантом логично и убедительно представлены исчерпывающие результаты клинического, микробиологического контроля и контроля качества жизни 123 пациентов, включённых в исследование, на протяжении 1 года динамического наблюдения (выборка из 153 обследованных). Приведены статистически доказательства эффективности предложенного комплекса мероприятий.

Новизна исследования. Как следует из текста автореферата, в качестве возможного решения поставленной цели автор предлагает использовать молекулярно-биологический метод исследования, позволяющий с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR) выявлять генетический профиль резистентности пациента. Впервые была проведена выборка пациентов, обращающихся за стоматологической помощью, в ЛПУ Москвы и Московской области, что позволило диссертанту собрать данные о

распространённости генов резистентности к антибиотикам, сопоставить частоту выявления отдельных маркеров с результатами стандартного диско-диффузионного метода определения чувствительности. После проведения предварительной идентификации штаммов, выделенных при культуральном исследовании больных пародонтитом в фазе обострения, в фазе ремиссии и практически здоровых лиц, осуществляли молекулярно-генетическое исследование путём RT-PCR с использованием генетических праймеров для выявления соответствующих R-генов с использованием достаточного набора референс-штаммов.

Впервые, по данным молекулярно-биологического методов исследования, выявлены группы генов, кодирующие резистентность пародонтопатогенной и резидентной микрофлоры полости рта к антибиотикам *in vitro* (Bla DNA – к пенициллинам, CTX -M и Mec A – к цефалоспорином 1 и 2 типа, к ErmB и Mef – к макролидам, линкосамидам и стрептограммам, Van A, B – к гликопептидам, Tet M, Q – к тетрациклинам, INT – плазмиды интегринов), которые ранее определялись у этой микрофлоры частично и лишь в единичных исследованиях.

Несомненную новизну и значение для практики имеет использование анаэробной технологии диагностики хронического пародонтита, позволившее получить достаточное количество штаммов пародонтопатогенных и резидентных видов, а также применение инновационной методики программируемого культивирования пародонтопатогенных бактерий и их ассоциаций *in vitro*, позволившее уточнить аспекты фармакодинамики использованных химиопрепаратов.

Практическая значимость. Следует подчеркнуть, что в диссертационном исследовании Арутюняна А.А. предложенные схемы антимикробной терапии детально обоснованы в экспериментальной части работы микробиологическими исследованиями современного уровня, представлены данные о чувствительности *in vitro* клинических изолятов потенциальных возбудителей к исследуемым препаратам (амоксциллин/клавуланат натрия и доксициклин/соллютаб), описана клиническая и клиничко-лабораторная эффективность каждой схемы, её положительные характеристики и недостатки.

Результаты диссертационного исследования внедрены в образовательный процесс, включая 2 учебных пособия для студентов медицинских вузов по данной тематике.

Структура и содержание работы отвечают существующим требованиям ВАК. По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 8 – в изданиях рекомендуемых ВАК РФ, результаты широко представлены научной общественности в выступлениях диссертанта на научных конгрессах и конференциях, включая международные.

Заключение

Автореферат и диссертационная работа Арутюняна Александра Артёмовича на тему «Мониторинг распространённости генов резистентности

к антибиотикам у больных хроническим пародонтитом» позволяет решить важную практическую задачу совершенствования антибактериальной химиотерапии хронического пародонтита с учётом генетического контроля резистентности, имеющую важное научное и практическое значение. Диссертация Арутюняна Александра Артёмовича на тему «Мониторинг распространенности генов резистентности к антибиотикам у больных хроническим пародонтитом» отвечает критериям внутреннего единства исследования, а по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов, выводов и практических рекомендаций соответствует требованиям п. 9 ВАК РФ, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в действующей редакции Постановления Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 1.5.11 – «Микробиология» (медицинские науки); 3.1.7 – «Стоматология» (медицинские науки).

Заведующий отделом санитарно-гигиенической безопасности человека
в искусственной среде обитания ГНЦ РФ ИМБП РАН

доктор медицинских наук,
профессор

Вячеслав Константинович Ильин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Государственного научного центра Российской Федерации Института
медико-биологических проблем Российской академии наук.

Адрес организации: Хорошевское шоссе 76А, Москва, 123007, Россия

Тел.: +7 (499) 195-2363, +7 (499) 195-1573

Официальный сайт: www.imbp.ru, e-mail: doc@imbp.ru

« 11 » сентября 2023 г.

Подпись члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук,
профессора Ильина Вячеслава Константиновича «ЗАВЕРЯЮ»

Ученый секретарь совета

ГНЦ РФ ИМБП РАН

доктор биологических наук

М.А. Левинских

« 11 » сент. 2023 г.