

## ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора Філімонової Наталії Ігорівни, завідувача кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету МОЗ України на дисертацію Мельника Анатолія Леонідовича **"Антибактерійні властивості нових гелевих композицій на основі хмелепродуктів відносно домінуючих різновидів збудників захворювань пародонту"**, поданої до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.618.01 при ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія.

Попередження виникнення і лікування запальних захворювань пародонту віднесено до актуальних проблем сучасної стоматології завдяки тому, що вони найчастіше є причиною не тільки ускладненого перебігу запального процесу, але й головним фактором зниження якості життя та значних соціально-економічних збитків.

Сучасні методи лікування, що включені до сучасних протоколів надання медичної допомоги при захворюваннях пародонту, обумовлених симбіотичними асоціаціями мікробної флори, не завжди дають очікуваний лікувально-профілактичний ефект. Тому, дослідження в удосконаленні принципів лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота, а саме цьому і присвячена представлена дисертація, слід визначити актуальними за фундаментально-прикладними ознаками. Останні роки розвитку стоматології, довели, що застосування сучасних протимікробних препаратів різного походження, супроводжуються впливом на усі ланки біоценозу порожнини рота, призводячи до дисбіотичних змін у цьому біотопі та селекції лікарсько-стійких штамів мікроорганізмів.

Одним з перспективних напрямків вирішення проблеми пошуку ефективних засобів для лікування запальних захворювань пародонту мікробного генезу є застосування фітопрепаратів. Останнє обґрунтовано тим, що до складу рослинних препаратів входять різноманітні біологічно активні речовини та мікроелементи. Саме з цієї точки зору найбільшу увагу слід при вернути до хмелю звичайного, як лікарської рослини, у якої виявлена наявність поліфенолів, гірких речовин та ефірної олії.

З огляду на вищезазначене, дисертаційна робота Мельника А.Л. спрямована на обґрунтування перспективності застосування хмелепродуктів для лікування запальних захворювань пародонту. Виходячи з цього тема дисертаційного дослідження є **актуальною**.

Дисертаційна робота А. Л. Мельника виконувалась в лабораторії протимікробних засобів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» у межах бюджетної НДР «Експериментальне обґрунтування розробки лікарських засобів протимікробної дії з продуктами хмелю для профілактики і лікування запальних захворювань ротової порожнини» (номер державної реєстрації 0108U001294). Фрагменти планової НДР виконано здобувачем як виконавцем вищеназваної наукової теми.

### **Наукова новизна одержаних результатів**

Безперечно наукову значимість мають дослідження ефективності екстракту хмелю вуглекислотного як ефективного протимікробного засобу при лікуванні запальних захворювань пародонту. Вивчений спектр антимікробної активності відносно референс-культур та клінічних штамів найбільш розповсюджених збудників захворювань пародонту.

Вперше вивчені селективні властивості EXB щодо формування резистентності у мікроорганізмів.

Особливу увагу привертає вивчення органолептичних, фізичних та фізико-хімічних властивостей експериментальних зразків гелю ЕХВ. Встановлені стабільність нового лікарського засобу та відповідність його показникам якості та чинним вимогам Державної фармакопеї України.

Доведена перспективність створення нового протимікробного засобу у формі гелю на основі ЕХВ для ефективних профілактики та лікування захворювань пародонту.

### **Практичне значення роботи**

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що пошукувачем розроблено новий протимікробний засіб у формі гелю для профілактики та лікування запальних захворювань пародонту, вивчені питання чутливості мікроорганізмів, швидкості формування резистентності мікроорганізмів до екстракту хмелю вуглекислотного (ЕХВ), встановлена антимікробна активність нової гелевої композиції на основі ЕХВ відносно домінуючих збудників захворювань пародонту.

За експериментально обґрунтованими висновками і сформульованими у дисертації пропозиціями щодо безпосереднього впровадження у клінічну медицину представляє доведена перспективність застосування фітозасобів, що створені на основі хмелепродуктів для лікування запальних захворювань пародонту.

У підтвердження пріоритетності отриманих результатів дисертації свідчать отримання 2 деклараційних патентів України на корисну модель, методичні рекомендації та інформаційний лист МОЗ України.

За тематичною підпорядкованістю отримані результати впровадженні у відповідні розділи навчальних програм кафедр мікробіології, вірусології і імунології медичних вузів України.

## **Ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації**

Експериментальна робота виконана пошукувачем у відповідності до мети та поставлених задач на сучасному науково-методичному рівні з використанням мікробіологічних, хроматографічних, фізичних, фізико-хімічних та математико-статистичних методів дослідження.

Наукові положення та висновки є достовірними і обґрунтованими, що забезпечується достатнім обсягом досліджень, їх кратністю, статистичною обробкою даних і логічною інтерпретацією результатів.

Отримані результати зіставні з даними літератури, ілюстровані зведеними таблицями, що дозволило автору не тільки сформулювати аргументовані висновки, а й обґрунтувати новий спосіб лікування запальних захворювань пародонту.

### **Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради**

Дисертаційна робота Мельника А. Л. "Антибактерійні властивості нових гелевих композицій на основі хмелепродуктів відносно домінуючих різновидів збудників захворювань пародонту" за актуальністю обраної теми, обсягом матеріалу, методами дослідження, науковою новизною, практичним значенням відповідає спеціальності 03.00.07 - мікробіологія та профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01.

### **Повнота викладу основних положень, висновків, практичних рекомендацій в опублікованих роботах та авторефераті**

Основні положення дисертації з позитивним обговоренням апробовані у доповідях на 16 наукових конференціях. За матеріалами дисертації опубліковано 29 наукових праць (2 одноосібно), у тому числі 7 статей в фахових виданнях, 5 - у виданнях, що включені до міжнародних наукометричних баз та 1 - у іноземному виданні. В

матеріалах дисертації здобувач вказує в яких опублікованих роботах викладені результати досліджень кожного розділу роботи.

Автореферат структурно складається із загальної характеристики роботи, розділів, які віддзеркалюють її основний зміст, висновків, списку опублікованих робіт, анотацій українською, російською та англійською мовами. Матеріали автореферату досить повно розкривають зміст кожного розділу дисертації і формують повне уявлення про роботу в цілому.

Висновки, що представлені в авторефераті відповідають поставленим завданням, узагальнюють результати багатопланових досліджень і відповідають загальним висновкам дисертаційної роботи. Автореферат написано у відповідності із вимогами ДАК України.

Опубліковані роботи та автореферат досить повно розкривають основні положення, висновки і рекомендації дисертаційної роботи А. Л. Мельника.

### **Структура дисертації**

Дисертація складається із вступу, огляду літератури, основної частини, яка включає опис матеріалів і методів дослідження, шістьох розділів власних досліджень, розділу аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, що містить 187 найменувань, у тому числі 107 іноземних авторів. Робота викладена на 163 сторінках друкованого тексту (14 шрифт, 1,5 інтервал), ілюстрована 26 таблицями та 10 рисунками.

Здобувач обґрунтував актуальність вибраної теми і сформулював тему роботи, спрямовану на удосконалення лікування запальних захворювань пародонту шляхом експериментального доказу перспективності застосування гелевої композиції на основі хмелепродуктів.

Для вирішення мети роботи автором підпорядковано сім завдань, які передбачили вивчення якісного та кількісного біохімічного складу

спиртового, вуглекислотного екстрактів і ефірної олії хмелю за допомогою хроматографічних досліджень; дослідити спектр та рівень антибактерійної та протигрибкової дії спиртового, вуглекислотного екстрактів і ефірної олії хмелю щодо музейних тест-штамів та відібрати зразок з найвищою протимікробною активністю; розробити нові гелеві композиції на основі відібраного зразку хмелепродуктів; визначити оптимальний склад гелю з найвищою антибактерійною та протигрибковою активністю щодо референтних тест-штамів мікроорганізмів; вивчити протимікробну активність оптимального складу гелю відносно клінічних штамів домінуючих різновидів збудників ЗЗП; дослідити швидкість формування резистентності у мікроорганізмів до відібраного зразку хмелепродуктів, який є основним протимікробним компонентом гелевої композиції; визначити органолептичні, фізичні та фізико-хімічні властивості нового перспективного лікарського засобу.

Огляд літератури тематично підпорядкований теоретичному обґрунтуванню обраного напрямку власних досліджень і у своєму викладенні ґрунтується на критично-аналітичному обговоренні відповідних даних сучасної літератури. На основі критичного співставлення використаних джерел літератури здобувач ретельно і всебічно аналізує причини загрозливого поширення інфекційно-запальних захворювань порожнини роту. З належною логікою при цьому у мікробіологічному аспекті розглянуто етіогенез з визначенням превалюючих збудників захворювань порожнини рота. Автор навів дані про основні ланки патогенезу захворювань порожнини роту та охарактеризував клінічні ознаки найпоширеніших захворювань ЗЗП: гінгівіту, пародонтиту, пародонтозу. Особливу увагу привертає аналіз сучасних протимікробних препаратів для місцевого лікування запальних захворювань пародонту. Пошукувач послідовно виклав характеристики протимікробних препаратів, що традиційно

використовуються для лікування ЗЗП, з переліком їх переваг та недоліків. Дисертант ґрунтовно висвітлив перспективність застосування фітопрепаратів в сучасній медичній практиці. Автором оцінено терапевтичний ефект фітопрепаратів, охарактеризовано антимікробні та фармакологічні властивості лікарських препаратів рослинного походження. В якості перспективної лікарської рослини для створення фітопрепаратів для лікування ЗЗП, пошукувач визнає хмель звичайний. В цілому представлений огляд літератури характеризує Мельника А. Л. як сформованого висококваліфікованого науковця, здатного до самостійного вирішення визначаючих фундаментально-прикладних питань експериментальної і клінічної інфектології.

У розділі «Матеріали і методи досліджень» представлена інформація щодо штамів мікроорганізмів (музейних та клінічних), субстанцій хмелепродуктів, допоміжних речовин, препаратів порівняння при вивченні протимікробних властивостей. Наведені методи визначення якісного та кількісного біохімічного складу спиртового, вуглекислотного екстрактів і ефірної олії хмелю, визначення протимікробної активності екстрактів хмелю (отриманих різними шляхами) та ефірної олії хмелю та швидкості формування резистентності у мікроорганізмів до екстракту хмелю вуглекислотного. Надана характеристика методів визначення органолептичних, фізичних та фізико-хімічних властивостей запропонованого гелю з ЕХВ.

Описані методи статистичної обробки результатів дослідження.

У розділі 3 «Якісний та кількісний біохімічний склад спиртового, вуглекислотного екстракту в та ефірної олії хмелю» автором проведені дослідження та проаналізовані їх результати щодо вмісту БАР у екстрактах хмелю. За даними проведених досліджень встановлено, що домінуючою складовою гірких сполук у зразках хмелепродуктів (спиртовий екстракт та ефірна олія хмелю) був гумулон-адгмулон, а значно меншою - колупулом. Одночасно вуглекислотному екстракту

притаманна більш вища кількість колупону та лупулону-адгумулону у співставленій з вмістом гумулону- адгумулоном.

Матеріали цього розділу тематично підпорядковані узагальненому визначенню біологічно активних речовин у хмелепродуктах отриманих різними шляхами. При аналізі одержаних результатів здобувач обґрунтовано доходить висновку, що на вміст гірких сполук в експериментальних зразках хмелепродуктів впливає метод отримання лікарського тест-зразка.

У розділі 4 «Протимікробна дія екстракту хмелю вуглекислотного, екстракту хмелю спиртового, ефірної олії хмелю щодо музейних референс-штамів мікроорганізмів» сконцентровані дослідження здобувача, які мають важливе прикладне значення. Враховуючи різноманітність етіологічних чинників, що призводять до захворювань порожнини рота, доведена ефективність застосування препаратів на тлі хмелю. Автор за результатами проведених досліджень експериментально доводить, що нові розроблені препарати хмелеродуктів виявляють більш високу активність у співставленні з препаратами порівняння: спиртом етиловим 90° та спиртовим розчином хлорофіліпту.

Результатами мікробіологічного скринінгу здобувач переконливо доводить високі протимікробні властивості, які притаманні фітопрепаратам отриманим з дикого та сортового хмелю звичайного. Так, МТЖ тест- препаратів, що досліджувалися, по відношенню до грампозитивних бактерій знаходився в межах 2-50 мкг/мл, до грамнегативних - від 32 до 64 мкг/мл, відносно *C.albicans*- близько 128 мкг/мл. При цьому слід відзначити, що найбільша антибактерійна та протигрибкова активності була притаманна ЕХВ. Останнє автор пов'язує з тим, що при отриманні екстракту хмелю вуглекислотного гіркі сполуки представлені очищеними речовинами (когумулону, гумудону,



ксантогумулон). Автор доводить, що найбільш виражена антибактерійна та протигрибкова активності притаманна ЕХВ.

У наступному 5 розділі "Склад розроблених експериментальних зразків гелевих композицій з екстрактом хмелю вуглекислотного і допоміжними речовинами та їх протимікробна активність щодо музейних референс-штамів мікроорганізмів різних таксономічних груп" наведена інформація, що стосується розробки експериментальних гелевих композицій на тлі ЕХВ. Автор акцентував увагу на значенні правильного підбору основи та допоміжних речовин. Результати мікробіологічних досліджень, переконливо довели, що зразки тест-препарату ЕХВ, які виготовлені на основі ПЕО-400 з додаванням гліцерину з концентрацією 5% та поліпропіленгліколю з концентрацією 10% та зразки, що виготовлені на спирті етиловому, об'ємна частка якого 96% з додаванням гліцерину з концентрацією 5% та пропіленгліколю з концентрацією від 5 до 15%, виявили найбільшу протимікробну активність відносно музейних тест-штамів *S. aureus* ATCC 25923 і *E. coli* ATCC 25922. За результатами досліджень було розроблено 8 нових експериментальних гелевих композицій з різними концентраціями допоміжних речовин. За результатами проведених досліджень пошуку здобувач доводить перспективність подальшого вивчення, в якості проти мікробного засобу, гелевого тест-зразку №8 до складу якого входить (мас.%): ППГ 10,0, ПЕО 400 - 5,0, карбом ер 0,7, натрію гідроксид 0,08, вода до 100. Перспективність зразка №8 обумовлена вираженою антибактерійною (відносно *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) та протигрибковою активністю.

Розділ 6 «Антибактерійна та протигрибкова активність оптимального складу гелю з екстрактом хмелю вуглекислотного 0,5% відносно клінічних штамів домінуючих різновидів збудників запальних захворювань пародонту» сконцентровані дослідження здобувача, які мають важливе прикладне значення.

У контексті запланованих досліджень автором приділяється особлива увага вивченню протимікробних властивостей нової гелевої композиції з ЕХВ 0,5% відносно 21 клінічного штаму збудників запальних захворювань пародонту. В якості препарату порівняння автор використав «Камістад гель Н». За даними проведених досліджень встановлено, що дослідний зразок гелевої композиції на основі ЕХВ 0,5% характеризувався високою протимікробною активністю щодо клінічних штамів *S. aureus*, *K. pneumonia*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *C. perfringens* і *C. albicans*. Відносно штамів *S. mutans*, *Acinetobacter spp.*, *A. actinomycetemcomitans*, *N. perflava*, *E. faecalis* і *K. oxytoca* тест-зразок виказав активність на рівні препарату порівняння.

Розділ 7 «Швидкість формування резистентності у мікроорганізмів до екстракту хмелю вуглекислотного» вміщує матеріали щодо актуальної проблеми - формування лікарсько-стійких штамів мікроорганізмів. Враховуючи відносно швидке формування резистентності у мікроорганізмів *S. mutans*, *Acinetobacter spp.* і *C. albicans* до протимікробних препаратів, пошукувач дослідив швидкість формування у клінічних штамів зазначених мікроорганізмів резистентності до ЕХВ. Результати досліджень показали, що резистентність до ЕХВ у досліджуваних штамів формувалася досить повільно. Так, найбільш чутливими до дії ЕХВ виявилися штами *S. mutans* (МІК з вихідної до 30 пасажу підвищилась з 31,5 до 125,0 мкг/мл і *C. albicans* (стійкість до ЕХВ зросла у 8 разів (від 31,5 до 250 мкг/мл). У *Acinetobacter spp.* Визначена більша швидкість формування резистентності. Так, на 20 пасажі вихідний рівень МІК ЕХВ зріс у 4 рази, а на 25 та 30 пасажах у 8 та 16 разів відповідно.

У наступній серії експериментів, яким присвячений 8 розділ "Органолептичні, фізичні та фізико-хімічні властивості і стабільність антибактерійної дії оптимального складу з екстрактом хмелю вуглекислотного 0,5 %", досліджені органолептичні, фізичні та

фізико-хімічні властивості та стабільність за антибактерійною активністю нової гелевої композиції з ЕХВ 0,5%. Узагальненим висновком проведених досліджень встановлено, що експериментальний гель з ЕХВ 0,5% за основними ознаками відповідає чинним вимогам ДФУ.

Як позитивне слід відмітити короткі заключения в кожному розділі роботи, що надає ефект завершеності цим розділам.

Разом з цим дисертацію не обходять ряд зауважень;

1. Огляд літератури повинний мати узагальнену титульну назву;
2. Слід привести до єдиного написання назви препаратів та мікроорганізмів.
3. Більш доцільно було б об'єднати розділ 3 та 4.
4. Не обходять дисертацію деякі невдалі речення.

Вищевказані зауваження не знижують позитивної оцінки дисертаційної роботи Мельника А. Л. в цілому, в тому числі сформульованих основних наукових положень, висновків і практичних рекомендацій.

Оцінюючи позитивно виконану роботу, в плані наукової дискусії прошу Вас, Анатолію Леонідовичу, дати відповідь на такі запитання:

1. За поширенням які багатокомпонентні асоціації найчастіше реєструються у хворих на запальні захворювання пародонту і чи впливають на їх характер варіативні відмінності перебігу гнійно-запальної інфекції порожнини рота?

2. З чим пов'язана уповільнена за розвитком і обмежена за рівнем селективна здатність гелевої композиції екстракту хмелю вуглекислотного у формуванні відповідної антисептикорезистентності?

## **ВИСНОВОК**

Дисертаційна робота Анатолія Леонідовича Мельника є самостійним, завершеним науковим дослідженням, виконана на

сучасному науково-методичному рівні і присвячена вирішенню актуальної наукової задачі - пошуку засобів лікування запальних захворювань пародонту.

Таким чином, за актуальністю теми, методичним рівнем, науковою новизною та її практичним значенням дисертаційна робота Мельника Анатолія Леонідовича "Антибактерійні властивості нових гелевих композицій на основі хмелепродуктів відносно домінуючих різновидів збудників захворювань пародонту", повністю відповідає пункту 11 «Положення про присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України 24.07.2013 р., що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, а її автор заслуговує на присудження вченого ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія.

Зав. кафедри мікробіології,  
вірусології та імунології  
Національного фармацевтичного  
університету МОЗ України,  
доктор медичних наук, професор



Філімонова Н.І.

Підпис професора Філімонової Н.І. засвідчую

Заст. ректора  
з питань  
кадрової роботи



З.Ф.Подстрелова