

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Корнійчук Олени Петрівни на дисертаційну роботу Мельника Анатолія Леонідовича **"Антибактерійні властивості нових гелевих композицій на основі хмелепродуктів відносно домінуючих різновидів збудників захворювань пародонту"**, яка подається у спеціалізовану вчену раду Д 64.618.01 ДУ "ІМП НАМН" на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія

**Актуальність обраної теми.** Дисертаційна робота Мельника Анатолія Леонідовича, яка має назву "Антибактерійні властивості нових гелевих композицій на основі хмелепродуктів відносно домінуючих різновидів збудників захворювань пародонту", присвячена важливому напрямку у галузі розробки нових протимікробних засобів - пошуку ефективних речовин рослинного походження. На сьогодні лікування запальних процесів, які спричинюються умовно-патогенними мікроорганізмами, за допомогою хіміотерапевтичних препаратів (антибіотиків) не завжди є доцільним: ефективність лікування знижується через розвиток можливих побічних реакцій. Особливо актуальним стоїть питання альтернативної протимікробної терапії, коли йдеться про запальний процес на слизових оболонках природних екосистем. Саме біологічною нішою є ротова порожнина зі складною архітектонікою нормальних симбіонтів у вигляді біоплівки.

Лікувальні властивості хмелю (*Humulus Lupulus* L.) представлені широким спектром біологічно активних речовин, які мають лікувальну дію, у тому числі володіють бактерицидним та фунгіцидним ефектом. Можливість використання сировини хмелю для розробки препаратів, що мають місцеве застосування, зокрема у вигляді гелевих композицій, є вельми привабливим. Такі препарати є необхідним компонентом комплексного лікування хронічних захворювань з локалізацією у ротовій порожнині, особливо для лікування і профілактики пародонтитів. Дослідження гелевих композицій на основі хмелю звичайного з визначенням найбільш оптимального складу стало метою даної

дисертаційної роботи, у відповідності з якою були поставлені наукові і практичні завдання. Вивчалися спиртовий, вуглекислотний екстракти і ефірна олія хмелю, спектр і рівень протибактерійної та протигрибкової активності з визначенням найбільш оптимального складу гелевої композиції для лікування запальних захворювань пародонта. При виконанні цих завдань дисертантом досліджувалися різні комбінації гелевих композицій. Використовувалися сучасні мікробіологічні, хроматографічні, технологічні, фізико-хімічні, математико-статистичні методи досліджень.

**Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.** Дисертаційна робота Анатолія Леонідовича Мельника виконана у рамках планової прикладної науково-дослідної роботи ДУ "ІМІ НАМН" "Експериментальне обґрунтування розробки лікарських засобів протимікробної дії з продуктами хмелю для профілактики і лікування запальних захворювань ротової порожнини" (номер державної реєстрації 0108U001294) в яких особисто здобувачем проведено патентний пошук, виконано експериментальні дослідження з вивчення спектру і рівня протимікробної активності екстракту хмелю вуглекислотного (ЕХВ), екстракту хмелю спиртового (ЕХС), ефірної олії хмелю (ЕОХ) щодо референтних і клінічних штамів бактерій та грибів, швидкості формування резистентності мікроорганізмів до ЕХВ, а також визначено органолептичні, фізичні і фізико-хімічні властивості і стабільність за антибактерійною активністю найбільш перспективного зразку гелю з ЕХВ.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Використання сучасних методів досліджень, достатньої кількості експериментальних даних, їх статистична обробка та порівняння із даними інших дослідників дозволило Мельнику А. Л. в дисертаційній роботі обґрунтувати і узагальнити наукові положення, висновки та практичні рекомендації.

При виконанні роботи Мельник А. Л. використовував сучасні і адекватні з точки зору вирішення поставлених завдань методи досліджень, а саме: мікробіологічні (дослідження антибактерійної і протигрибкової активності зразків хмелепродуктів та розроблених на їх основі гелевих композицій,

вивчення швидкості формування резистентності у мікроорганізмів до ЕХВ), хроматографічні (визначення якісного та кількісного біохімічного складу зразків хмелепродуктів), фізичні та фізико-хімічні (визначення органолептичних характеристик, показника рН, однорідності, реологічних властивостей, осмотичної активності, термостабільності нової гелевої композиції та стабільності за антибактерійною активністю нового гелю з ЕХВ), математико-статистичні (обробка отриманих даних з оцінюванням значень протимікробної активності досліджуваних зразків хмелепродуктів і гелевих композицій з препаратами порівняння).

Дослідження проведено на 9 штаммах тест-культур мікроорганізмів (*S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538-P, *S. haemolyticus* № 16590, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *B. cereus* ATCC 10702, *K. pneumoniae* NCTC 9127, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 885-653). Для поглибленого дослідження ступеню та спектру протимікробної дії оптимального складу гелю з екстрактом хмелю вуглекислотного було використано музейні та клінічні штами мікроорганізмів (музейні – у кількості 5, клінічні – у кількості 21).

Положення і висновки дисертаційної роботи, в яких відображено достовірно рівень та спектр антибактерійної та протигрибкової активності відносно музейних та клінічних культур мікроорганізмів, об'єктивно відображають узагальнені результати досліджень, які були отримані із застосуванням адекватних методик відтворення тематичних експериментів.

Всі експерименти було виконано у п'яти повторах і їх результати пройшли статистичну обробку.

Дисертант детально проаналізував особисті результати експериментів, провів їх порівняння із даними інших дослідників і логічно сформулював наукові положення та висновки.

Запропоновані автором практичні рекомендації ґрунтуються на об'єктивних даних результатів досліджень і відображають доцільність їх подальшого застосування в розробці нових протимікробних засобів на основі ЕХВ для профілактики і лікування ЗЗП.

Вищезазначене дозволяє оцінити наукові положення, висновки та практичні рекомендації, викладені в дисертаційній роботі Мельника А. Л., як цілком обґрунтовані.

**Достовірність і новизна положень, висновків та рекомендацій.**  
Достовірність основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих в дисертаційній роботі, ґрунтується на: достатньому обсязі виконаних тематичних експериментів; використанні загальноновизнаних методів досліджень (мікробіологічних, хроматографічних, фізичних та фізико-хімічних, математико-статистичних); достатньої кількості взятих в експерименти культур мікроорганізмів, поживних середовищ, лабораторного обладнання і посуду; повноцінної статистичної обробки отриманих результатів та їх об'єктивному аналізі.

Досить детально описано застосовані автором методи досліджень та вказано першоджерела їх запозичення. Наведено результати експериментів із урахуванням їх повторних відтворювань (у п'яти повторях).

Отримані результати досліджень оброблено за допомогою відповідних статистичних методів. Дані представлено як середня арифметична величина та її стандартна похибка. При оцінюванні значень протимікробної активності досліджуваних зразків хмелепродуків і гелевих композицій з препаратами порівняння застосовувався двохвибірковий t-тест. Рівень відмінностей оцінювався як статистично значимий при  $p < 0,05$ .

Викладене вище засвідчує те, що сформульовані в дисертаційній роботі основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації є достовірними.

Вперше встановлено протимікробну активність екстракту хмелю вуглекислотного. За результатами дослідження впливу допоміжних речовин на протимікробну активність ЕХВ обрано поліетиленоксид (ПЕО) 400, пропіленгліколь (ППГ) та розроблено оптимальний склад нового лікарського засобу. Доведено високу протимікробну активність гелю відносно музейних грам позитивних (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*) і грамнегативних (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) мікроорганізмів та клінічних домінуючих різновидів збудників захворювань пародонту (*S. mutans*,

*Neisseria perflava*, *Acinetobacter spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans*). Вперше досліджено швидкість формування резистентності мікроорганізмів до ЕХВ. Вивчено органолептичні, фізичні і фізико-хімічні властивості нового гелю з ЕХВ та визначено його стабільність і відповідність показникам якості (опис, рН, в'язкість, однорідність) та стабільність за антибактерійною активністю.

Результати досліджень вперше обґрунтовують перспективність створення нового протимікробного засобу у формі гелю на основі ЕХВ для підвищення ефективності профілактики і лікування запальних захворювань пародонту.

**Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, в опублікованих працях та авторефераті.**

Результати досліджень, основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації кандидатської дисертації Мельника А. Л. опубліковані в 29 науковій праці (2 – одноосібно), серед них: 9 статей у наукових журналах, із них 7 - у наукових фахових виданнях, затверджених МОН України та 5 - включено до міжнародних наукометричних баз та 1 – у іноземному виданні; 16 тез у збірках матеріалів наукових форумів (з'їздів та науково-практичних конференцій), 2 патенти України на корисну модель.

Автореферат дисертаційної роботи Мельника А. Л. викладено (на 24 сторінках тексту, містить 4 рисунки і 7 таблиць) із дотриманням вимог МОН України. Автореферат складається із загальної характеристики дисертаційної роботи, основних положень змісту кожного її розділу з результатами досліджень та їх аналізом, висновків, списку опублікованих праць, анотацій українською, російською та англійською мовами. Матеріали автореферату є ідентичними дисертації, досить ґрунтовно розкривають основні її положення і дозволяють сформулювати повне уявлення про роботу в цілому.

Вказане вище, дозволяє мені визначити, що опубліковані праці та автореферат повною мірою розкривають основні наукові положення, висновки і рекомендації дисертаційної роботи.

**Структура, зміст і завершеність дисертаційної роботи.** Кандидатська дисертація Мельника А. Л. викладена на 163 сторінках комп'ютерного тексту, містить 26 таблиць, ілюстрована 10 рисунками. Структура дисертації складається із вступу, огляду літератури, основної частини, яка включає опис матеріалів і методів дослідження, 8 розділів власних досліджень, розділу аналізу і узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел (всього 187 джерел, у тому числі 80 кирилицею та 107 – латиною).

**У вступі** обґрунтовано актуальність для медичної галузі проблеми розробки нових гелевих композицій на основі хмелепродуктів для підвищення ефективності профілактики і лікування запальних захворювань пародонту. Висвітлено зв'язок роботи з науковими програмами, сформульовано мету, визначено завдання дослідження, окреслено об'єкт та предмет дослідження, розкрито наукову новизну, теоретичне та практичне значення, наведено дані щодо апробації і опублікування отриманих результатів, а також відомості про обсяг і структуру дисертації.

**В огляді літератури** описано сучасні уявлення на патогенез хвороб пародонта за участі мікроорганізмів. Розглянуто проблеми, пов'язані з розвитком полірезистентності у штамів мікроорганізмів до протимікробних препаратів. Незважаючи на досягнення сучасної стоматології, проблема профілактики і лікування ЗЗП потребує нагального вирішення, через те що більшість засобів і методів лікування залишається на недостатньо ефективному рівні. Постійною перешкодою для досягнення ефективною терапії є полірезистентність штамів збудників ЗЗП до антибактерійних та протигрибкових препаратів. Проаналізовано дані літератури щодо пошуку нових протимікробних засобів і з'ясовано, що одним з перспективних напрямків є використання речовин рослинного походження, а саме, хмелю та хмелепродуктів.

**Розділ 2 "Матеріали і методи досліджень"** складається із 7 підрозділів, в яких наведено дані про кількість і походження культур мікроорганізмів, представлено відомості щодо поживних середовищ. Повнота викладення

автором мікробіологічних, хроматографічних, фізичних та фізико-хімічних, математико-статистичних методів є цілком достатньою для оцінки обґрунтованості вибраних методів досліджень, їх сучасності з точки зору забезпечення якості проведення експериментів.

**У розділі 3 Якісний та кількісний біохімічний склад спиртового, вуглекислотного екстрактів та ефірної олії хмелю** викладено результати стосовно якісного та кількісного біохімічного складу зразків екстракту хмелю спиртового (ЕХС), екстракту хмелю вуглекислотного (ЕХВ) та ефірної олії хмелю (ЕОХ). Ідентифікацію речовин, які входять до складу ЕХС та ЕХВ проводили за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), а склад ЕОХ визначали за методом газової хроматографії (ГХ) з використанням кварцової капілярної колонки. Зазначеними методами в зразках ЕХС, ЕХВ, ЕОХ було визначено хроматографічні піки гірких сполук: кугумулона, гумулон - адгумулона, кулупулона, лупулон – адлупулона, які використовували для стандартизації. З'ясовано, що виявлені відмінності в біохімічному складі гірких сполук досліджених зразків екстрактів і ефірної олії хмелю додатково обґрунтовують доцільність вивчення їх протимікробної активності.

**У розділі 4 "Протимікробна дія екстракту хмелю вуглекислотного, екстракту хмелю спиртового, ефірної олії хмелю щодо музейних референс-штамів мікроорганізмів"** автором визначено протимікробну дію ЕХВ, ЕХС та ЕОХ щодо 9 музейних референс-штамів мікроорганізмів. За результатами цього розділу досліджень встановлено, що найбільшою антибактерійною активністю відносно референтних штамів грамполозитивних (*S. aureus* АТСС 25923, *S. pneumoniae* АТСС 49619) та грамнегативних (*E. coli* АТСС 25922, *P. aeruginosa* АТСС 27853) мікроорганізмів характеризується зразок ЕХВ. Крім того, зазначений зразок хмелепродуктів має виражений протигрибковий ефект щодо грибів роду *Candida*. Тому, ЕХВ було відібрано в якості протимікробного компоненту для конструювання нових гелевих композицій.

**У розділі 5 "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"** викладено результати щодо складів розроблених експериментальних зразків гелевих композицій з ЕХВ та допоміжними речовинами, а також результати вивчення їх протимікробної активності щодо тест-штамів мікроорганізмів різних таксономічних груп. Розроблено вісім нових експериментальних зразків гелевих композицій з ЕХВ та допоміжними речовинами в різних концентраціях. За результатами досліджень восьми нових експериментальних зразків гелевих композицій з ЕХВ 0,5 % найвищу ( $p < 0,05$ ) протимікробну дію стосовно грампозитивних (*S. aureus* ATCC 25923, *S. pneumoniae* ATCC 49619) та грамнегативних (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853) бактерій встановлено у зразку гелю № 8, що містить допоміжні речовини (мас. %): ППГ 10,0, ПЕО 400 5,0, карбомер 0,7, натрію гідроксид 0,08, вода до 100 (рН=6,0). Виявлено більш виражений ( $p < 0,05$ ) протигрибковий ефект оптимального складу гелю відносно грибів роду *Candida* у порівнянні з "Камістад гель Н".

**У розділі 6 "Антибактерійна та протигрибкова активність оптимального складу гелю з екстрактом хмелю вуглекислотного 0,5 % відносно клінічних штамів домінуючих різновидів збудників запальних захворювань пародонту"** автором визначено антибактерійну та протигрибкову дію оптимального складу гелю з ЕХВ 0,5 % у порівнянні із "Камістад гель Н" виробництва компанії "СТАДА Арцнайміттель АГ" (Німеччина) відносно двадцяти одного клінічного штаму домінуючих різновидів збудників ЗЗП. Встановлено, що новий зразок гелевої композиції з ЕХВ 0,5 % характеризується високою протимікробною активністю щодо клінічних штамів *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *C. perfringens* і *C. albicans*, яка достовірно ( $p < 0,05$ ) перевищує показники активності препарату "Камістад гель Н". Відносно штамів *S. mutans*, *Acinetobacter* spp., *A. actinomycetemcomitans*, *N. perflava*, *E. faecalis* і *K. oxytoca* ступінь антибактерійної активності розробленого гелю з ЕХВ 0,5 % є близькою до аналогічного показника препарату порівняння.

**У розділі 7 "Швидкість формування резистентності у мікроорганізмів до екстракту хмелю вуглекислотного"** наведено результати дослідження



формування резистентності у мікроорганізмів до ЕХВ, що є основним протимікробним компонентом оптимального зразку гелю. За допомогою методу послідовних пасажів на живильних середовищах із зростаючими концентраціями ЕХВ досліджено формування резистентності у клінічних тест-штамів *S. mutans* КЛПЗ-7, *Acinetobacter* spp. КЛПЗ-9 і *C. albicans* КЛПЗ-19. Встановлено повільне формування стійкості до дії ЕХВ у зазначених мікроорганізмів, що підтверджується зростанням МІК до 30 пасажу у: *S. mutans* КЛПЗ-7 від 31,5 до 125,0 мкг/мл, *C. albicans* КЛПЗ-19 від 31,5 до 250 мкг/мл, *Acinetobacter* spp. КЛПЗ-9 від 31,5 мкг/мл до 500 мкг/мл.

**У розділі 8 "Органолептичні, фізичні та фізико-хімічні властивості і стабільність антибактерійної дії оптимального складу з екстрактом хмелю вуглекислотного 0,5 %" дисертантом висвітлено результати досліджень органолептичних, фізичних та фізико-хімічних властивостей оптимального складу нової гелевої композиції з ЕХВ 0,5 %. Визначено, що новий гель з ЕХВ 0,5 % за фізичними та фізико-хімічними властивостями цілком відповідає вимогам ДФУ щодо м'яких лікарських засобів: однорідний; рН=6,0-7,0; структурна в'язкість 7,15-54,83 Па·с; осмотична активність 65 %; термостабільний; стабільний за антибактерійною активністю протягом 18 місяців (термін зберігання).**

**У розділі "Аналіз та узагальнення результатів досліджень"** представлено підсумки виконаної роботи, обговорено основні результати експериментів, проведено порівняння отриманих результатів з даними вітчизняних та зарубіжних авторів, що дозволило Мельнику А. Л. реалізувати мету і задачі дисертації, обґрунтувати висновки.

**Висновки** включають стисле формулювання здобувачем наукових узагальнень, які в сукупності повною мірою відображають теоретичні та практичні результати роботи і вирішення завдання щодо перспективи використання хмелепродуктів при розробці нових гелевих композицій. У висновках представлено кількісні показники основних здобутих результатів. Висновки сформульовані чітко і зрозуміло, їх послідовність і зміст логічно відображає завершеність дисертаційної роботи.

**Практичні рекомендації** щодо використання результатів дисертаційної роботи Мельника А. Л. мають медико-прикладне (доцільність подальшого застосування результатів експериментів в розробці нових протимікробних засобів на основі ЕХВ для профілактики і лікування ЗЗП) і навчально-педагогічне (використання у навчальному процесі кафедр мікробіології, вірусології та епідеміології медичних вищих навчальних закладів матеріалів дисертаційної роботи).

**Список використаних джерел** викладено з дотриманням чинних бібліографічних вимог ДСТУ ГОСТ 7.1:2006. Список складено за порядком появи посилань у тексті дисертації. Всього в списку 187 джерел, у тому числі: 80 - українською та російською кирилицею та 107 – латиною.

**Відповідність дисертації спеціальності та профілю спеціалізованої вченої ради.** Дисертаційна робота "Антибактерійні властивості нових гелевих композицій на основі хмелепродуктів відносно домінуючих різновидів збудників захворювань пародонту" за формулою спеціальності, напрямами досліджень і галуззю науки відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 та спеціальності 03.00.07 – мікробіологія, медичні науки.

**Зауваження щодо змісту дисертації.** При рецензуванні матеріалів дисертаційної роботи Мельника А. Л. виникли наступні зауваження і запитання.

Перелік і суть зауважень:

- Відсутня інформація про осіб, які були джерелом виділення клінічних ізолятів мікроорганізмів, умови виділення.
- В обговоренні є повтор того, що є в огляді літератури.

Зазначені зауваження не мають принципового значення і не впливають на наукову та практичну цінність дисертаційної роботи та її позитивну оцінку.

**Запитання:**

1. Чи можуть мікроорганізми ротової порожнини взаємодіяти з компонентами лікарської форми препаратів (наприклад, ферментувати гліцерин), що вплине на консистенцію препарату?
2. Який механізм антимікробного ефекту гірких речовин хмелю?

3. Гіркі речовини хмелю мають також інші біологічні ефекти. Чи не будуть вони превалювати над протимікробним ефектом під час місцевого лікування пародонтиту?

**Висновок.** За своєю актуальністю, обсягом проведених досліджень, науковою новизною та практичним значенням отриманих результатів, дисертація "Антибактерійні властивості нових гелевих композицій на основі хмелепродуктів відносно домінуючих різновидів збудників захворювань пародонту" є завершеною науковою працею, виконаною на сучасному рівні. Отримані обґрунтовані результати в сукупності вирішують актуальну наукову проблему мікробіології – застосування хмелепродуктів при розробці нових гелевих композицій для підвищення ефективності профілактики і лікування запальних захворювань пародонту.

Дисертаційна робота Мельника Анатолія Леонідовича є такою, що цілком відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 і здобувач заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія.

**Завідувач кафедри мікробіології  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького  
МОЗ України"  
доктор медичних наук,  
професор**



**О. П. Корнійчук**



*проф. Корнійчук С.С.*  
ПАСВІТЧУЮ  
ВІСНЕННИ СЕКРЕТАР  
Львівського національного  
медичного університету  
імені Данила Галицького  
*[Signature]*