

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора

Корнійчук Олени Петрівни

на дисертаційну роботу аспірантки кафедри мікробіології

Вінницького національного медичного університету

ім. М.І. Пирогова МОЗ України

Дениско Тетяни Валеріївни

«Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів»,
представлену до захисту в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 05.600.119

у Вінницькому національному медичному університеті

ім. М.І. Пирогова на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань

09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Розробка нових і ефективних методів лікування ран залишається критичною проблемою, оскільки поточні терапевтичні методи часто залишаються недостатньо ефективними. Розвиток інфекції є ключовим фактором і найчастішим ускладненням при лікуванні ран, що не тільки гальмує репарацію, але й призводить до хронічного інфекційно-запального ранового процесу.

Враховуючи глобальні занепокоєння щодо поширення антибіотикорезистентності і відносно обмежені терапевтичні можливості щодо полірезистентних штамів мікроорганізмів-збудників інфекцій, пов'язаних із наданням медичної допомоги, наявність оновлених терапевтичних схем, правильний вибір та використання препаратів для місцевого застосування та антимікробних препаратів із неспецифічним механізмом дії (антисептиків), регулярний моніторинг чутливості клінічних штамів до біоцидів, розробка нових стратегій для досягнення швидкого загоєння ран є надзвичайно важливими.

Необхідним етапом лікування ран є їхня хірургічна обробка і застосування пов'язки для забезпечення бар'єрної функції через втрату цілісності шкіри. Для того, щоб пов'язка відігравала активнішу роль у

загоєнні ран, в основу деяких ранових пов'язок, відомих як лікувальні (або біоактивні), включають біологічно активний агент. Найчастіше використовують протимікробні препарати, а також анальгетики, анестетики, протизапальні препарати та фактори росту. Через величезні фінансові витрати на оптимізацію лікування інфікованих ран, у всьому світі існує потреба в створенні нових біоактивних біоматеріалів у формі ранових пов'язок, які містили б протимікробні препарати.

Високоєфективні ранові пов'язки забезпечують прискорення загоєння ран, забезпечують прямий контакт ліків з ушкодженою ділянкою, контролюючи вивільнення та забезпечуючи тривалу та ефективну дію в рані. Біополімери використовувалися здавна при розробці високоєфективних ранових пов'язок, оскільки вони мають властивості, які сприяють процесу відновлення тканин, такі як біосумісність, здатність до біодеградації, захист від мікробів, поглинання ексудату тощо.

Проте, незважаючи на інтенсивні дослідницькі зусилля, кількість протимікробних пов'язок, які надходять на ринок, обмежена через високі виробничі витрати, погану стабільність препарату, складні умови зберігання та труднощі у досягненні системи доставки ліків, в якій зберігається повний терапевтичний ефект завантажених біоактивних агентів та їх коштовність.

Технологія контрольованого вивільнення дозволяє вирішувати проблеми, які виникають при використанні активних сполук і коли необхідно забезпечити постійну концентрацію терапевтично активної сполуки в рані, передбачувану і відтворювану швидкість вивільнення впродовж тривалого часу, стабільність в композиційному складі, усунення побічних ефектів.

У зв'язку з цим, робота Дениско Тетяни Валеріївни повною мірою відповідає актуальності окресленої вище проблеми і пов'язана із необхідністю розробки оптимального складу антимікробних біоматеріалів на основі біосумісних полімерних речовин із здатністю контрольованого вивільнення антисептика, обґрунтуванням їхньої антимікробної ефективності з перспективою подальшого їх впровадження у формі ранового покриття для

профілактики і лікування інфекційних ускладнень ран, опіків, ділянки хірургічного втручання та ін..

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність та відповідність темі дисертації. Авторка дисертаційної роботи провела багатопланові дослідження відповідно до поставлених завдань з використанням адекватних до означеної мети методів дослідження. Достатні за обсягом, чітко сплановані та виконані дослідження з використанням високоінформативних адекватних методик дають підставу стверджувати, що робота має високу наукову цінність, а отримані результати є достовірними. Висновки цілком обґрунтовані, базуються на результатах власних досліджень. Авторкою проведено науково-патентний пошук, вивчено, проаналізовано та узагальнено сучасні дані 266 джерел вітчизняної та зарубіжної наукової літератури, переважно за останні 10 років. Наукові положення, які викладено в дисертації, є обґрунтованими, оскільки базуються на результатах власних мікробіологічних та фізико-хімічних досліджень.

Дисертанткою проведено мікробіологічні дослідження для отримання аргументованих наукових даних стосовно ефективності сучасних антисептиків повідон-йоду, декаметоксину, хлоргексидину, мірамістину, октенідину, полігексаніду щодо актуальних ранових патогенів з ознаками множинної лікарської стійкості у планктонній та біоплівковій формі. Було розроблено та виготовлено біоактивні антимікробні біоматеріали у формі плівки на основі ефективного вітчизняного антисептика декаметоксину, високу ефективність якого було доказово аргументовано на етапі вивчення активності сучасних антисептиків. У якості депо-форми декаметоксину було використано актуальні для виготовлення сучасних ранових покриттів полімери–альгінат кальцію та полівініловий спирт з перспективою застосування розроблених біоматеріалів у вигляді лікарської форми антимікробних ранових пов'язок з контрольованим вивільненням лікарського засобу.

Авторка вивчила антимікробні властивості опрацьованих біоактивних біоматеріалів із контрольованим вивільненням активної сполуки, а також комерційно доступних ранових пов'язок на основі різних антисептиків, обробила та проаналізувала отримані результати. У своїй роботі Дениско Т.В. обґрунтовано довела властивість розроблених зразків контрольовано вивільняти активну сполуку, про що свідчать кінетичні профілі вивільнення антисептика із розроблених біоматеріалів. Концентрації вивільненого декаметоксину, визначені у часових точках, свідчать про те, що засіб вивільнюється поступово, а кумулятивна концентрація засобу, що створюється протягом 24 годин, є достатньою для бактерицидної дії щодо всіх досліджуваних полірезистентних ранових мікробних патогенів, в тому числі щодо найбільш стійких – *P.aeruginosa*. Також, розроблені зразки характеризуються відсутністю ефекту «вибухового» вивільнення.

Авторкою було проведено статистичну обробку результатів дослідження з використанням прикладних програм Microsoft Office (365) Excel та пакету програм Statistica.

Таким чином, обґрунтованість результатів дисертаційної роботи підтверджується її чітким дизайном, метою, поставленими завданнями, відповідними методами досліджень, які дозволили виконати завдання дослідження, проведеного наукового пошуку, достатнім обсягом проведених досліджень і відповідною їхньою математико-статистичною обробкою, належною інтерпретацією та глибоким аналізом, що забезпечило вірогідність отриманих наукових результатів. Висновки роботи логічно витікають з результатів проведених досліджень та підтверджують досягнення мети – встановлення фізико-хімічних та протимікробних властивостей нових антимікробних біоматеріалів, розроблених на основі четвертинних амонієвих сполук, в умовах експерименту.

Представлена дисертаційна робота Дениско Т. В. виконана на сучасному науковому рівні та відповідає вимогам щодо проведення наукових

досліджень. Викладені наукові положення, висновки, рекомендації цілком відповідають темі дисертації.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях. Матеріали дисертаційної роботи Дениско Т.В. достатньо повно висвітлені в наукових працях. За темою дисертації опубліковано 15 наукових праць, з них 2 статті у фахових наукових виданнях МОН України категорії Б, 1 стаття у фаховому науковому виданні МОН України категорії А, що включено до міжнародної наукометричної бази Scopus, 2 статті у міжнародних фахових виданнях, які входять до наукометричних баз даних Scopus (1 з яких Q1) та 1 стаття у фаховому науковому виданні іншої держави; 9 тез доповідей в матеріалах науково-практичних конференцій.

Наукова новизна одержаних даних. Наукова новизна основних положень дисертаційної роботи не викликає сумніву, адже авторкою було розроблено принципово нові біоактивні антимікробні біоматеріали з контрольованим вивільненням активної речовини – антисептика декаметоксину із полімерної матриці на основі альгінату кальцію та полівінілового спирту. Також, авторкою було проведено всебічне мікробіологічне дослідження активності опрацьованих антимікробних біоматеріалів щодо референтних та клінічних штамів актуальних, клінічно значущих ранових патогенів.

Отримано оригінальні дані наукових досліджень, їхня інтерпретація авторкою, аналіз та узагальнення, основні положення та висновки характеризуються вагомою науковою новизною.

Розроблені нові біоактивні антимікробні полімерні біоматеріали було виготовлено зручним для відтворення та впровадження у масове виробництво методом сольвентного лиття із актуальних в сучасності для розробки систем з контрольованим вивільненням полімерів – альгінату кальцію та полівінілового спирту. Біоматеріали представлено у формі полімерної плівки, яка може служити самостійною системою або бути складовою багатошарової комплексної системи. Полімерна плівка

(монополімер або композит двох полімерів) є матрицею для вивільнення активної речовини за механізмом контрольованого набухання та гідролітичної деструкції матриці.

Важливим компонентом, який є основою біоактивності розроблених зразків, тобто їх протимікробної активності, є ефективний антисептик. Вибір авторки цього важливого компоненту базується на результатах всебічного мікробіологічного вивчення та порівняння ефективності актуальних сучасних антисептиків. За результатами проведеного детального дослідження Дениско Т.В. одержано нові дані моніторинга теперішньої чутливості патогенів, схильних набувати множинну лікарську стійкість (*K.pneumoniae*, *E.coli*, *A.baumannii*, *P.aeruginosata*, *S.aureus*) до антисептичних препаратів. Авторкою, на основі отриманих оновлених даних чутливості клінічних штамів *K.pneumoniae*, *E.coli*, *A.baumannii*, *P.aeruginosata*, *S.aureus*, було оцінено рівень активності, цидної дії, ефективність, доцільність застосування препаратів проти певних збудників, проведено порівняння антисептиків між собою за допомогою індексів активності антисептика, оскільки наразі немає встановлених рекомендацій для визначення порогових показників резистентності до антисептиків від CLSI та EUCAST. Було застосовано саме диференційований індекс активності антисептика, тобто проаналізовано не тільки бактеріостатичну активність вихідного розчину препарату, але і бактерицидну активність, якої прагнуть досягнути виробники. Диференційований показник дозволяє виявити, візуалізувати та проаналізувати межу переходу бактерицидної в бактеріостатичну активність, прогнозувати доцільність застосування препарату проти певних збудників.

На основі отриманих даних авторкою доведено високу протимікробну активність антисептичних препаратів на основі четвертинних амонієвих сполук та йодофорів проти референтних та клінічних штамів сучасних ранових патогенів із ознаками множинної лікарської стійкості. Наприклад, декаметоксин, декасан та октенідин були найефективнішими проти полірезистентних штамів *A.baumannii* (МІК

становили відповідно $18,8 \pm 3,78$ мкг/мл; $19,83 \pm 3,35$ мкг/мл та $17,38 \pm 2,27$ мкг/мл; МБЦК – $36,17 \pm 5,17$ мкг/мл; $38,32 \pm 6,34$ мкг/мл та $36,82 \pm 4,69$ мкг/мл відповідно). В роботі доведено достовірну перевагу бактерицидної дії декаметоксину на ацинетобактерії над хлоргексидином у 3,21 рази ($p < 0,001$), мірамістином у 1,77 рази ($p < 0,001$) та полігексанідом у 1,89 рази ($p < 0,01$). Значення мінімальних бактериостатичних та бактерицидних концентрацій антисептиків були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації. Авторкою виявлено переважання бактерицидних властивостей всіх досліджуваних засобів, що підтверджено одержаними показниками коефіцієнта співвідношення мінімальної бактерицидної концентрації до мінімальної бактериостатичної концентрації.

В даній дисертаційній роботі представлені нові дані щодо активності сучасних антисептичних препаратів щодо незрілої біоплівки ранових патогенів, тобто їхній вплив на формування біоплівки, а також вивчено ступінь ерадикації зрілої біоплівки найбільш стійкого та біоплівкоутворювального мікроорганізму *P.aeruginosa* сучасними антисептиками на основі йодофорів та четвертинних амонієвих сполук. Показано, що декаметоксин, полігексанід та повідон-йод найкраще пригнічували утворення біоплівок штамами *K.pneumoniae*. Так, обґрунтовано, що саме декаметоксин слід розглядати як найефективніший антибіоплівковий засіб через значне пригнічення утворення біоплівки та позитивну кореляцію ($r=0,5$) цієї властивості клінічних штамів *K.pneumoniae* з їхньою чутливістю.

Наступним важливим науковим завданням, при виконанні якого отримано нові дані, було дослідження ефективності саме нових розроблених біоматеріалів на основі декаметоксину, альгінату кальцію та полівінілового спирту, порівняльний аналіз та скринінг розроблених зразків на основі оптимального складу та антимікробної активності проти актуальних збудників інфекційних ускладнень ран та опіків. Тетяною Дениско отримано нові дані дослідження антимікробних властивостей комерційно доступних

антимікробних ранових пов'язок із вмістом антисептиків проти референтних та актуальних в Україні клінічних штамів ранових патогенів. Новизною характеризуються результати проведеного порівняльного аналізу антибактеріальної дії комерційних ранових покриттів між собою та із розробленими новими антимікробними біоматеріалами, в результаті чого було виявлено високий рівень протимікробної активності перше розроблених біоматеріалів на основі декаметоксину (0,05 – 0,1 %). Важливо, що розроблені біоматеріали на основі вітчизняного антисептика декаметоксину не поступались активністю сучасним ефективним срібло-вмісним, йод-вмісним та рановим покриттям на основі катіонних детергентів, активно пригнічували ріст референтних та клінічних штамів ранових патогенів, часто демонстрували найкращий ефект.

Авторкою представлено нові наукові дані про кінетику вивільнення активної речовини зі зразків нових антимікробних біоматеріалів з декаметоксином: кінетичні профілі розроблених зразків свідчать, що всі склади нових біоматеріалів здатні підтримувати контрольоване вивільнення лікарської речовини за 120 год, забезпечуючи відразу (перші 24 год) ефективну концентрацію активної сполуки, потрібну для забезпечення бактерицидного ефекту щодо досліджених ранових патогенів, в тому числі на штамів із множинною лікарською стійкістю.

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження. Дисертаційне дослідження Дениско Т.В. має важливе теоретичне значення, яке полягає у систематизації існуючої наукової інформації стосовно понятійної бази, систем класифікації та методів виготовлення біоматеріалів як важливих в сучасності біомедичних матеріалів, створених для взаємодії із біологічними системами для спрямованого лікування, які керують перебігом терапевтичних або діагностичних процедур. Доповнено існуючу інформацію а також акцентовано увагу на важливій проблемі сучасності – виникненні та розповсюдженні антибіотикорезистентності, проблемі боротьби із інфекціями, які спричинені

антибіотикорезистентними мікроорганізмами та запобіганню їх розповсюдження. Наголошується на тому, що ефективність лікування ран суттєво залежить від застосування неантибіотичних антимікробних засобів, в тому числі антимікробних пов'язок із вмістом антисептиків, оскільки сучасні збудники зберігають чутливість до них. Це вимагає розширеного їх застосування в комплексній профілактиці ранових інфекцій та лікуванні ран.

Для боротьби зі стійкими мікроорганізмами важливим є не тільки локальне застосування антисептиків, але й контрольований тривалий вплив протимікробного засобу на мікроорганізм в осередку інфекційного процесу.

Мета роботи, її завдання, теоретичне підґрунтя, отримані дані в результаті вирішення поставлених завдань, їх інтерпретація та глибокий аналіз, втілення поставлених задач у вигляді створення реальних продуктів – протимікробних біоматеріалів, які можна застосовувати у формі антимікробних біоактивних пов'язок, мають важливе практичне значення.

Перш за все отримано важливі результати досліджень чутливості актуальних збудників інфекційних ускладнень з ознаками множинної лікарської стійкості у планктонній та біоплівковій формі до сучасних антисептиків. Доведено високу ефективність сучасних антисептиків, їх переважно цидну дію, що обґрунтовує доцільність розробки систем локальної пролонгованої доставки цих засобів у різних сферах застосування. Результати дослідження активності антисептиків проти незрілої та сформованої біоплівки дозволяють рекомендувати застосування антисептика декаметоксину у схемах комплексної терапії у пацієнтів з інфекційно-запальними ускладненнями ран, опіків, ділянки хірургічного втручання, хронічними ранами.

Важливе значення мають інтерпретація та аналіз результатів, а саме оцінка ефективності та доцільності застосування певних антисептиків проти певних збудників. Використаний авторкою комплексний підхід до порівняння антисептиків за допомогою диференційованого показника індексу активності антисептика, оцінки цидної дії та цидної активності

антисептиків дозволяють порівняти антисептики на етапі скринінгу для їх обґрунтованого вибору при створенні нових композиційних біополімерів.

Вперше наведено дані всебічного мікробіологічного дослідження нових біоактивних біоматеріалів з контрольованим вивільненням активної речовини на основі декаметоксину, альгінату кальцію, полівінілового спирту, досліджено кінетику вивільнення активної речовини із зразків нових антимікробних біоматеріалів, доведено їх здатність підтримувати контрольоване вивільнення лікарської речовини протягом 120 годин, а у контрольних точках визначено достатні концентрації для забезпечення цидного ефекту на всі полірезистентні штами досліджених ранових патогенів, доведено відсутність «вибухового вивільнення» активної сполуки для нових біоматеріалів.

Важливо, що результати досліджень вже впроваджені автором у навчальний процес ряду провідних в Україні вищих медичних навчальних закладів: кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету ім.О.О.Богомольця МОЗ України (акт впровадження від 05.12.2023 р.), кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (акт впровадження від 30.10.2023 р.); кафедри мікробіології, вірусології, імунології, епідеміології, медико-біологічної фізики та інформатики Дніпровського державного медичного університету (акт впровадження від 20.09.2023 р.), кафедри мікробіології, вірусології та імунології Івано-Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 07.11.2023 р.).

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому. Робота містить такі складові: анотацію, вступ, огляд літератури, розділ матеріалів і методів досліджень, 4 розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки, список використаної літератури, що включає 266 джерел (248 – латиницею, 18 – кирилицею), додатки. Дисертація ілюстрована

37 таблицями та 46 рисунками. Робота викладена українською мовою на 159 сторінках основного тексту та 227 сторінках у повному обсязі.

Кожний розділ власних досліджень після викладення основного матеріалу завершено узагальненням і переліком власних друкованих праць, у яких оприлюднено відповідні результати досліджень дисертаційної роботи.

У вступі чітко, ґрунтовно окреслено актуальність наукової роботи, науково коректно сформульовано мету дисертаційного дослідження, яка корелює з темою та конкретизується у завданнях. Вказано об'єкт та предмет дослідження. Логічними є дизайн та система використаних в роботі дослідницьких методів.

Дениско Т.В. зазначила взаємозв'язок роботи із науковими програмами та науково-дослідними темами, висвітлила свій особистий внесок, рівні апробації, оприлюднення і впровадження результатів досліджень. На підставі оцінювання кожного із зазначених блоків зроблено заключення щодо повної відповідності представленого для опонування дослідження Дениско Т.В. вимогам МОН України щодо дисертаційної роботи на здобуття ступеня доктора філософії.

У **«Вступі»** дисертації автор характеризує актуальність теми, аргументовано окреслює масштаби проблеми антибіотикорезистентності, для запобігання розповсюдження якої необхідні альтернативні підходи і засоби профілактики та лікування інфекцій, викликаних антибіотикорезистентними супер-мікробами. Авторка підкреслює, що в умовах сьогодення ефективність лікування ран суттєво залежить від застосування неантибіотичних антимікробних засобів, а саме сучасних антисептиків, обґрунтовує необхідність розширеного їх застосування в комплексній профілактиці ранових інфекцій та їхнього лікування. Зазначається, що для ефективної боротьби зі стійкими супер-мікробами, необхідне локальне застосування ефективних антисептиків у складі сучасних біосумісних керуючих біомедичних систем з контрольованою доставкою біоактивної сполуки.

Таким чином, дисертанткою у вступі зазначено актуальність, мету роботи, перелічено конкретні задачі дослідження, охарактеризовано об'єкт та предмет дослідження, представлено дані про наукову новизну роботи та її практичне значення, апробацію матеріалів дисертації на науково-практичних конференціях, їх впровадження в практику закладів освіти та охорони здоров'я тощо.

У *першому розділі* дисертації, який є достатнім за обсягом, представлено ретельно проведений аналіз та систематизацію даних сучасної вітчизняної та зарубіжної наукової літератури стосовно біоматеріалів, наведено сучасне визначення цього терміну, його еволюцію, системи класифікації, методи виготовлення, форми застосування. Огляд літератури базується на аналізі великої кількості сучасних наукових джерел інформації, що включає 266 найменувань (248 джерел латиницею та 18 кирилицею) та свідчить про вміння дисертантки опрацьовувати літературу, володіти методами синтезу наукової інформації.

У *другому розділі* описано дизайн, охарактеризовано досліджувані лікарські антисептичні препарати, полімери, хімічні реагенти, комерційні ранові пов'язки, зазначено склад зразків розроблених біоматеріалів, надано характеристику досліджуваних умовно-патогенних мікроорганізмів. Описано методику визначення чутливості мікроорганізмів до антисептиків, методику дослідження дії антисептиків на незрілу та сформовану біоплівку мікроорганізмів, методику виготовлення зразків біоматеріалів, методику визначення антимікробної дії розроблених біоматеріалів та комерційних ранових покриттів на референтні та клінічні штами ранових патогенів, методику дослідження кінетики вивільнення декаметоксину із розроблених біоматеріалів, методику статистичної обробки результатів. Методи адекватні поставленим завданням та достатньо інформативні, дають змогу досягти поставлених цілей. Важливі методи графічно візуалізовані в схемах. Наведено велику кількість ілюстрацій, які характеризують алгоритм ряду дослідів. Інформацію подано систематизовано, послідовно, логічно.

Розділ 3 «Вивчення ефективності сучасних антисептичних засобів щодо збудників ранових інфекцій з ознаками множинної лікарської стійкості» містить результати власних досліджень з вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами *A.baumannii*, *K.pneumoniae*, *S.aureus*, *E.coli* та *P.aeruginosa* у планктонній та біоплівковій формах. Кожному виду збудника присвячено окремий підрозділ, де представлені результати чутливості цих збудників у різних формах існування до сучасних антисептиків, інтерпретація результатів у вигляді індексів та коефіцієнтів дає інформацію про ефективність антисептиків проти конкретного збудника. Акцентовано увагу на важливості цидної дії антисептика, для чого подано показники цидної активності антисептиків.

За результатами досліджень дисертанткою доведено високу антимікробну активність антисептиків на основі четвертинних амонієвих сполук та йодофорів щодо референтних та клінічних штамів з ознаками множинної лікарської стійкості сучасних ранових патогенів. Значення мінімальних інгібуючих та бактерицидних концентрацій антисептиків завжди були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації. Усі засоби проявили переважно бактерицидні властивості, що показано одержаними показниками коефіцієнта співвідношення цидної та інгібуючої концентрацій. Декаметоксин, дека сан та октенідин були найефективнішими проти полірезистентних штамів *A.baumannii* (МІК становили відповідно $18,8 \pm 3,78$ мкг/мл; $19,83 \pm 3,35$ мкг/мл та $17,38 \pm 2,27$ мкг/мл; МБЦК – $36,17 \pm 5,17$ мкг/мл; $38,32 \pm 6,34$ мкг/мл та $36,82 \pm 4,69$ мкг/мл відповідно), що водночас демонструє достовірні переваги бактерицидної дії декаметоксину на ацинетобактерії над хлоргексидином у 3,21 рази ($p < 0,001$), МРМ у 1,77 рази ($p < 0,001$) та ПГМБ у 1,89 рази ($p < 0,01$).

Аналіз показників ІАА виявив оновлені дані щодо недостатньої ефективності повідон-йоду у рекомендованій концентрації 1 % проти мультирезистентної *E.coli* та *K.pneumoniae*, а також доведено недостатню ефективність концентрації вихідного розчину препарату мірамістину (0,01%)

при профілактиці і лікуванні ран, інфікованих МЛС штамми *A.baumannii* та *P.aeruginosa*, оскільки БС ІАА та БЦ ІАА нижчі за порогове значення (< 4). На основі диференціювання показників ІАА за БС та БЦ ефектами дії показано недостатню бактерицидну активність повідон-йоду проти актуальних клінічних штамів *A.baumannii* за концентрації робочого розчину 1,0 % (БС ІАА=5,6; БЦ ІАА=3,9), повідон-йоду в концентрації 2 % щодо МЛС *K.pneumoniae*(БС ІАА=4,77; БЦ ІАА=3,27), а також мірамистину в концентрації 0,01 % проти МЛС *E.coli*(БС ІАА=5,7; БЦ ІАА=3,3), що ставить під сумнів доцільність застосування цих концентрацій антисептика.

Наступним етапом авторкою описано результати вивчення ефективності дії антисептиків на формування біоплівки клінічними штамми ранових патогенів. Представлено опис та графічну характеристику їхнього впливу на незрілу біоплівку, а також було досліджено ступінь ерадикації зрілої біоплівки *P.aeruginosa* під впливом різних концентрацій антисептиків. Авторкою було досліджено, що декаметоксин, полігексанід та повідон-йод проявили найбільш виражений вплив на незрілу біоплівку полірезистентних штамів *K.pneumoniae*. Проведено аналіз та показано, що через значне пригнічення утворення біоплівки та позитивну кореляцію ($r=0,5$) цієї властивості з чутливістю полірезистентних штамів *K.pneumoniae* до декаметоксину, його слід розглядати як ефективний антибіоплівковий засіб. Вказано, що декаметоксин, хлоргексидин та октенідин у суббактеріостатичних концентраціях демонстрували найефективніший інгібуючий вплив на формування біоплівки штамми *S.aureus*. Змістовно викладено дані, які свідчать про найбільш виражену дію для пригнічення незрілої біоплівки *E.coli* полігексаніду, хлоргексидину та декаметоксину. Декаметоксин ефективно пригнічував утворення біоплівки *A.baumannii*. Авторка навела об'єктивні дані, які свідчать про те, що досліджувані антисептики у суббактеріостатичних концентраціях визначено як ефективні проти біоплівки *P.aeruginosa*. Октенідин в суббактеріостатичних концентраціях демонстрував найсильніший вплив на незрілу біоплівку

P.aeruginosa. Що стосується чутливості до впливу антисептиків культур, які знаходились в зрілих біоплівках, було продемонстровано, що вона була значно нижчою: досліджені концентрації антисептиків не руйнували сформовану біоплівку більш ніж на 42,4%.

У **четвертому розділі «Дослідження антимікробних властивостей біоматеріалів на основі полімерів та антисептиків»** дисертантка описала результати вивчення та розробки ефективного складу та технології виготовлення антимікробних біоматеріалів, їх первинний скринінг на основі оптимального складу та ефективності щодо референтних та клінічних штамів мікроорганізмів, дослідження та порівняння протимікробної активності зразків біоматеріалів, відібраних за результатами первинного відбору, та сучасних комерційно доступних антимікробних ранових пов'язок щодо збудників ранових інфекцій, **пов'язаних із наданням медичної допомоги**. Дениско Т.В. виявила високий рівень антимікробної активності нових біоматеріалів з вмістом декаметоксину 0,05 – 0,1 %, які не поступались відомим рановим покриттям, які містять повідон-йод, іони срібла, катіонні поверхнево-активні антисептики. Нові біоматеріали на основі декаметоксину, альгінату кальцію та полівінілового спирту інгібували ріст актуальних ранових патогенів, переважно демонструючи найкращий ефект. Наведено переконливі дані, які вказують, що найвищою антистафілоковою активністю володіли зразки з декаметоксином (0,05 – 0,1 %), пов'язки Suprasorb®, Guanpolisept®, Bétadine®. Зразок з декаметоксином 0,05 %, альгінатом та полівініловим спиртом проявив найвищу активність щодо клінічних штамів стафілококу. За показниками зон затримки росту стафілококів, ефективність розроблених зразків біоматеріалів була у 1,85-2,6 рази більшою порівняно із срібло- та йод-вмісними покриттями ($p < 0,001$). При використанні клінічних штамів *E.coli* достовірна ефективність зразка на основі альгінату кальцію та полівінілового спирту з 0,05 % декаметоксином, у 1,7-2,14 разів перевищувала активність пов'язки зі сріблом та йодофорами ($p < 0,001$). Наведено показники зон затримки росту штамів

A.baumannii навколо декаметоксин-вмісних зразків, які перевищували такі навколо пов'язок зі сріблом у 1,81-2,16 рази ($p < 0,001$) та йодофорами у 1,62-1,68 рази ($p < 0,001$). Описано достовірні переваги зразків із 0,05 – 0,1 % вмістом декаметоксину за результатами визначеної найвищої активності щодо референтних та клінічних штамів *P.aeruginosa*, показано їх рівноцінну ефективність та однаково високу достовірність різниці з іншими біоматеріалами ($p < 0,001$). Показано, що срібло-вмісні біоматеріали були менш ефективні щодо сучасних ранових патогенів, ніж ЧАС-вмісні біоматеріали.

У п'ятому розділі, «Дослідження кінетики вивільнення декаметоксину із розроблених біоматеріалів» авторка наводить доказові дані про те, що біоматеріали всіх тестованих складів здатні підтримувати контрольоване вивільнення декаметоксину протягом 120 год. Профілі вивільнення декаметоксину свідчать про те, що протягом 24 год створюється достатня концентрація для забезпечення бактерицидного ефекту на всі полірезистентні штами досліджених ранових збудників. На основі даних кінетики вивільнення декаметоксину та мікробіологічного дослідження біоматеріалів доведено, що біоматеріали із різною концентрацією активної речовини (0,5%, 0,6% та 0,1%) є рівноцінно ефективними протягом першої доби. Біоматеріали із декаметоксину 0,1% здатні підтримувати більш тривале контрольоване вивільнення активної сполуки (декаметоксину).

В розділі «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» авторка провела аналітичне порівняння отриманих нею даних із даними інших дослідників, які працювали у подібному науковому напрямку, логічно подала тлумачення дискусійних питань.

«Висновки» ґрунтовні та відповідають поставленим завданням дисертаційної роботи, сформульовані чітко та лаконічно, містять конкретні власні дані проведених всебічних різнопланових досліджень, викладені логічно і послідовно.

«Список використаних джерел» представлений у відповідності до вимог МОН України, містить першоджерела вітчизняних і зарубіжних авторів включно до 2024 р. Зауважень щодо оформлення списку використаних джерел немає.

«Додатки» містять інформацію, яка характеризує рівень апробації матеріалів дисертаційної роботи, публікацію їх у наукових виданнях, а також результати їх впровадження у педагогічних процес закладів вищої освіти України.

Усі розділи написані грамотно та зрозуміло, матеріал викладено логічно і послідовно. Водночас із загальною позитивною оцінкою дисертаційної роботи слід зазначити, що зауважень принципового характеру щодо представленої дисертаційної роботи немає. Є лише зауваження щодо змісту та оформлення роботи, а саме:

1. В роботі зустрічаються поодинокі орфографічні, пунктуаційні та стилістичні неточності технічного характеру.

2. При опрацюванні літератури здобувачка проаналізувала 266 джерел наукової літератури, серед яких більшість (148 публікацій) наукові праці, опубліковані у авторитетних іноземних фахових виданнях, водночас було проаналізовано лише 18 праць вітчизняних вчених.

3. У змісті незрозуміло, де шукати характеристику комерційно доступних ранових покриттів, які використовували у дослідженні, хоча в матеріалах і методах наведено опис усіх досліджених авторкою матеріалів.

4. На рис 3.5 було б доцільніше розмістити індекс активності (ІАА) повідон-йоду в послідовності за зростанням концентрації досліджуваного препарату, оскільки наявна послідовність утруднює сприйняття. Але це не впливає на відображення результатів, наведених на рисунку.

Під час ознайомлення з роботою до дисертантки виникли такі *запитання*, на які бажано дати відповідь у процесі наукової дискусії:

1. Чим на Вашу думку обумовлена висока ефективність дії антисептиків на незрілу біоплівку *P.aeruginosa*, в порівнянні із іншими мікроорганізмами? Адже цей патоген характеризується підвищеною стійкістю до біоцидів. **Чому щодо зрілої біоплівки ефективність антисептиків є нижчою?**

2. Чим Ви можете пояснити високу антисиньогнійну активність розроблених Вами біоматеріалів з декаметоксином, якщо відомо що клінічні штами синьогнійної палички поводять себе неоднозначно щодо даного антисептичного препарату?

3. На Вашу думку, за результатами дослідження кінетики вивільнення антисептика із розроблених Вами матеріалів, як швидко відбувається вивільнення препарату? Чи є воно дозованим? **Чи впливають компоненти ранового вмісту на процес вивільнення антисептика?**

Зазначені зауваження та запитання не мають принципового характеру, не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи та не зменшують її науково-практичної цінності.

Дані про відсутність порушень академічної доброчесності. Ознак порушень академічної доброчесності в дисертаційній роботі «Мікробіологічне обґрунтування розробки антимикробних біоматеріалів» та наукових публікаціях Дениско Тетяни Валеріївни не встановлено. За результатами перевірки дисертації здобувачки програмою "*StrikePlagiarism.com*" рівень подібності не ,32 % з урахуванням загальноновживаних термінів, понять, фраз професійного спрямування та описів загальноновідомих методик та з урахуванням подібності з опублікованими матеріалами власних досліджень за темою дисертації. Водночас, при врахуванні поглибленого аналізу результатів звіту перевірки за даним електронним сервісом плагіату, самоплагіату, фабрикування або фальсифікації даних не виявлено, а рівень оригінальності рукопису складає 92,86 %. Перевірка посилань комп'ютерною програмою виявила, що наявні окремі співпадіння з власними публікаціями та загальноновживаними фразами,

описом стандартних загальновідомих методик, а також посиланнями на літературу. Отже, дисертаційну роботу слід визнати самостійною оригінальною науковою працею.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Дениско Тетяни Валеріївни «Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів» подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія» є завершеною науковою працею, що містить нові обґрунтовані наукові положення та результати, які розв'язують важливе науково-прикладне завдання щодо мікробіологічного обґрунтування розробки біоактивних антимікробних біоматеріалів з контрольованим вивільненням активної сполуки на основі антисептичного препарату, альгінату кальцію та полівінілового спирту з перспективою використання плівкових матеріалів у вигляді лікарської форми антимікробних ранових пов'язок для лікування інфекційних ускладнень ран, опіків, ділянки хірургічного втручання.

Представлена дисертаційна робота Дениско Тетяни Валеріївни є актуальною і своєчасною, вносить суттєвий вклад у теоретичну та практичну галузь «Біології», а саме в мікробіологію та має важливе міждисциплінарне значення. За методологічним рівнем виконання, змістом, науковою новизною, обґрунтованістю основних положень, висновків і рекомендацій відповідає «Вимогам до оформлення дисертації», затверджених наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р. та постанови Кабінету Міністрів України №44 від 12.01.2022 р. «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (зі змінами і доповненнями, внесеними постановами Кабінету Міністрів України від 21 березня 2022 року № 341, від 19 травня 2023 року № 502 та від 3 травня 2024 року №507), а її авторка

Дениско Тетяна Валеріївна заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Офіційний опонент

завідувачка кафедри мікробіології

Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького,
доктор медичних наук, професор

Олена КОРНІЙЧУК