

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора

Коваль Галини Миколаївни

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 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»

1. Ступінь актуальності обраної теми. Актуальність дисертаційної роботи Дениско Т. В. «Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів» не викликає сумнівів. Людство прагне реалізувати досягнення науково-технічного прогресу в галузі охорони здоров'я для підвищення якості та тривалості життя. Активізується пошук технологій поліпшення стану здоров'я в різних його аспектах. Істотну роль в досягненні цих цілей відіграють успіхи в розробці і використанні нових біоматеріалів, тобто матеріалів, які застосовуються в медицині для підтримки життєдіяльності і нормального функціонування організму. У розвиток біоматеріалів вкладаються величезні кошти, а ринок біоматеріалів оцінюється в десятки мільярдів доларів. Одним із найбільш важливих напрямів розробки біоматеріалів є розробка засобів для лікування ран.

В останні роки медичні працівники стикаються реєструють зростання числа пацієнтів, які страждають від ран і опіків, що важко піддаються лікуванню і загоєнню. Через величезні фінансові витрати у всьому світі існує

потреба в розробці нових засобів і матеріалів, які підвищили б ефективність лікування та скоротили терміни загоєння ран.

Нажаль, в наш час Україна потерпає від воєнних дій. Бойові травми часто пов'язані із численними небезпечними для життя ускладненнями, і ранові інфекції є головними наслідками цих воєнних травм. Будь яке поранення характеризується високою ймовірністю розвитку інфекційного процесу в рані. Розробка нових вдосконалених біоматеріалів набуває все більшого значення у різних сферах застосування. Проте, одними з найбільш значущих властивостей матеріалів є антимікробні властивості, які дозволяють перешкоджати виникненню небажаних інфекцій.

Інфекції, пов'язані з наданням медичної допомоги (ППМД), є важливою проблемою в галузі медицини. Поява мікроорганізмів, стійких до антимікробних препаратів, сприяє поширенню і збільшенню тяжкості перебігу ППМД. В умовах поширення антибіотикорезистентності мікроорганізмів та на фоні зниження ефективності антибіотиків набуває актуальності застосування антисептиків у якості антимікробного компонента біоактивних біоматеріалів. А проблема локального створення тривалої концентрації антисептичного препарату повинна вирішуватись за рахунок вибору матриці, з якої буде вивільнюватись антисептичний засіб. Природні полімери, такі як хітозан, альгінат, колаген, еластин, гіалуронова кислота і фібриноген, є біосумісними субстратами, схожі на макромолекули, які розпізнаються людським тілом.

Актуальність роботи Дениско Тетяни Валеріївни пов'язана із необхідністю розробки оптимального складу полімерних антимікробних біоматеріалів із здатністю контрольованого вивільнення активної сполуки, де в якості антимікробного засобу буде виступати ефективний антисептик, обґрунтуванням їх антимікробної ефективності з перспективою подальшого їх впровадження у формі ранового покриття для профілактики і лікування інфекційних ускладнень ран, опіків, зони хірургічного втручання.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача. Дисертаційна робота Дениско Т.В. виконана в рамках наукових

досліджень планової науково-дослідної роботи кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М. І. Пирогова, а саме: «Дослідження біологічних властивостей мікроорганізмів, віднесених Всесвітньою організацією охорони здоров'я до списку «провідних патогенів», що несуть найбільшу загрозу для здоров'я людини, та розробка засобів боротьби з ними» (0117U006903), а авторка є співвиконавцем фрагменту даної науково-дослідної теми.

Належний науковий рівень дисертаційної роботи забезпечений дотриманням усіх вимог до кваліфікаційних робіт на здобуття ступеня доктора філософії як на етапі її планування, так і на етапі її виконання – починаючи із обрання актуальної теми, визначення мети і конкретних послідовних завдань роботи, обрання відповідних методів досліджень, ретельною обробкою, інтерпретацією та аналізом результатів досліджень з їх порівнянням із сучасними даними літератури, достовірною статистичною обробкою та узагальненням отриманих результатів досліджень. Усі прилади, які було використано в ході наукового дослідження, підлягали вчасному систематичному метрологічному контролю. В цілому дисертація виконана на високому сучасному науково-методичному рівні у відповідності з вимогами до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії. Вагомість, достовірність та новизна отриманих результатів підтверджується достатньо високим рівнем публікацій здобувача – загалом Дениско Т.В. у співавторстві 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.

3. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях. Наукова новизна результатів досліджень, які виконала

здобувачка, не викликає сумнівів, адже метою даної дисертаційної роботи було встановлення фізико-хімічних та протимікробних властивостей нових антимікробних біоматеріалів, розроблених на основі четвертинних амонієвих сполук, в умовах експерименту. Для реалізації поставленої мети здобувачкою були визначено 5 чітких завдань, а результати дисертаційного дослідження базуються на достатній для вирішення поставлених завдань кількості мікробіологічних та експериментальних досліджень. Аналізуючи ступінь розв'язання поставлених завдань, необхідно відзначити, що як отримані авторкою конкретні результати досліджень, їх інтерпретація, аналіз та узагальнення, так і основні положення і висновки дисертації, що ґрунтуються на результатах дослідження, характеризуються вагомою науковою новизною.

Слід відзначити, що у кваліфікаційній роботі викладено оригінальні дані результатів наукових досліджень, присвячених мікробіологічному обґрунтуванню розробки біоактивних протимікробних біоматеріалів із контрольованим вивільненням активної сполуки (вітчизняного високоефективного препарату декаметоксину), природного (альгінату кальцію) та синтетичного (полівінілового спирту) полімерів з перспективою використання плівкових матеріалів у вигляді лікарської форми антимікробних ранових пов'язок для лікування інфекційних ускладнень ран, опіків, зони хірургічного втручання. У ході виконання дослідження розроблено принципово нові біоактивні антимікробні полімерні біоматеріали як депо-форми активної речовини та вперше було проведено їх всебічне мікробіологічне дослідження. Плівкові форми біоматеріалів було виготовлено методом лиття з розчинника на основі актуальних в сучасності для розробки систем з контрольованим вивільненням полімерів – альгінату кальцію та полівінілового спирту. Новизною характеризується виростання авторкою кальцієвої солі альгінату відмінного від традиційного альгінату натрію.

Для розробки ефективного складу протимікробного біоматеріалу було проведено всебічне мікробіологічне вивчення та порівняння ефективності сучасних антисептиків. Було одержано нові дані про чутливість до

антисептичних препаратів клінічних штамів актуальних ранових патогенів з ознаками множинної лікарської стійкості *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii* та *P.aeruginosa*, виділених від хворих з інфікованими опіками, поранених з бойовими ранами різної локалізації. Було оцінено ефективність, доцільність застосування препаратів проти певних збудників, проведено порівняння антисептиків між собою, наведено нові дані оцінки бактерицидної активності антисептиків як найбільш бажаної для запобігання виникнення та розповсюдження антибіотикорезистентності ранових патогенів. Було доведено високу протимікробну активність антисептичних препаратів на основі четвертинних амонієвих сполук та йодофорів проти референтних та клінічних полірезистентних штамів сучасних ранових патогенів.

Авторкою одержано нові дані щодо антибіоплівкової активності сучасних антисептичних препаратів, їх вплив на формування біоплівки ізолятами із ознаками множинної лікарської стійкості *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa* та на зрілу біоплівку *P.aeruginosa*.

Авторкою розроблено і науково обґрунтовано доцільність розробки і виготовлення біоматеріалів такого складу на основі проведеного дослідження та порівняльної оцінки антимікробних властивостей нових та комерційно доступних біоматеріалів (ранових пов'язок) на основі антисептиків. В результаті чого було виявлено високий рівень протимікробної активності вперше розроблених біоматеріалів на основі декаметоксину (0,05 – 0,1 %) з альгінатом кальцію та полівініловим спиртом. Розроблені авторські біоматеріали не поступались сучасним ефективним срібловмісним та рановим покриттям на основі катіонних детергентів, активно пригнічували ріст референтних та клінічних штамів ранових патогенів, часто демонстрували найкращий ефект.

Вперше вивчено кінетику вивільнення активної речовини із зразків нових антимікробних біоматеріалів, доведено, що біоматеріали всіх тестованих складів здатні підтримувати контрольоване вивільнення лікарської речовини протягом 120 год. Доведено, що протягом 24 год створюється достатня

концентрація для забезпечення бактерицидного ефекту на всі полірезистентні штами досліджених ранових патогенів, біоматеріали із різною концентрацією активної речовини є рівноцінно ефективними протягом першої доби.

Усі наукові публікації здобувача, які наведено, реалізують основні наукові результати дисертації, додатково відображають наукові результати, засвідчують апробацію матеріалів дисертації. Публікації здобувача являють собою статті в фахових вітчизняних та іноземних наукових журналах, у т. ч. виданнях, включених до наукометричних баз Scopus, Web of Science, публікації в матеріалах науково-практичних конференцій, є оригінальними і повністю відповідають вимогам до наукових публікацій здобувача ступеня доктора філософії.

4. Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність та відповідність темі дисертаційної роботи. Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність та відповідність темі дисертації. Дисертаційне дослідження ґрунтується на достатньому якісному матеріалі та його дослідженні відповідно до сформульованої мети та поставлених завдань щодо її досягнення. Авторкою самостійно проведено науково-патентний пошук, вивчено та проаналізовано 266 джерел вітчизняної та зарубіжної літератури з обраної теми, переважно за останні 10 років. Наукові положення, які викладено в дисертації є обґрунтованими, оскільки базуються на результатах власних мікробіологічних, експериментальних дослідженнях та статистичному аналізі одержаних результатів.

На основі виконаних різнопланових мікробіологічних досліджень, авторкою було одержано аргументовані наукові дані щодо ефективності сучасних антисептиків декаметоксину, декасану, мірамістину, хлоргексидину, октенідину, полігексаніду, повідон-йоду щодо сучасних ранових патогенів у планктонній та біоплівковій формі. Автор дослідила вплив антисептиків на процес формування біоплівки та ступінь ерадикації зрілої біоплівки

полірезистентних збудників ранових інфекцій. В результаті проведених досліджень, обробки, інтерпретації та аналізу отриманих даних, встановлено високу антимікробну активність сучасних антисептиків, в тому числі вітчизняного антисептика декаметоксину, що стало достовірним мікробіологічним обґрунтуванням включення його до складу нових антимікробних біоматеріалів.

Автор вивчила антимікробні властивості розроблених біоактивних біоматеріалів із контрольованим вивільненням активної сполуки із полімерної матриці та комерційно доступних антимікробних ранових покриттів на основі антисептиків. Визначені кінетичні профілі вивільнення активної речовини із розроблених біоматеріалів обґрунтовують контрольоване вивільнення активної сполуки (декаметоксину) із полімерної плівки. Наведені дані доводять, що біоматеріали всіх тестованих складів здатні підтримувати контрольоване вивільнення лікарської речовини протягом 120 год. Концентрації вивільненого декаметоксину, визначені у часових точках, свідчать про те, що протягом 24 год створюється достатня концентрація для забезпечення бактерицидного ефекту на всі полірезистентні штами досліджених ранових патогенів, в тому числі на *P.aeruginosa*, а біоматеріали із різною концентрацією активної речовини (0,5 %, 0,6 % та 0,1 %) є рівноцінно ефективними протягом першої доби. Біоматеріали із декаметоксином в концентрації 0,1 % здатні підтримувати більш тривале контрольоване вивільнення антисептика.

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

Таким чином, ступінь обґрунтованості результатів дисертаційної роботи підтверджується її чітким дизайном, обраними сучасними відповідними методами, проведеного наукового пошуку, достатнім обсягом проведених досліджень і відповідною їх математико-статистичною обробкою, належною інтерпретацією та глибоким аналізом, що забезпечило вірогідність отриманих наукових результатів. Висновки є аргументованими, базуються на одержаних

авторкою результатах досліджень та підтверджують досягнення мети щодо розробки, мікробіологічного обґрунтування, виготовлення та встановлення фізико-хімічних та протимікробних властивостей нових антимікробних біоматеріалів, розроблених на основі четвертинних амонієвих сполук. Дисертаційна робота виконана на сучасному науковому рівні, з використанням адекватних методів об'єктивізації результатів досліджень.

5. Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності. Під час планування, підготовки до виконання дисертаційного дослідження та під час безпосереднього виконання досліджень, обробки, інтерпретації та аналізу результатів дисертантка продемонструвала високий рівень володіння методологією наукової діяльності. Перш за все, здобувачка відповідально підійшла до виконання всіх етапів планування дисертаційної роботи: провела патентно-інформаційний пошук за темою дисертації, за консультативної підтримки наукових керівників розробила дизайн дослідження, чітко сформулювала мету, поставила вичерпні задачі, обрала актуальні для виконання методи досліджень, які дозволили повністю виконати перелічені в роботі завдання. Дисертантка опрацювала та провела ретельний аналіз матеріалів наукової літератури за темою дослідження, що відобразилось у високому рівні систематизації відомих знань у огляді літератури дисертації. Також здобувачка оволоділа на високому рівні необхідними методиками, які були використані при проведенні дослідження, творчо підійшла до опису методик, розробила ілюстрації, у яких зрозуміло подано алгоритм виконання. Самостійно виконувала дослідження, провела облік результатів, виконала збір даних та статистичну обробку результатів дослідження, провела інтерпретацію та аналіз одержаних результатів та їх співставлення з відомими даними наукової літератури, написала усі розділи власних досліджень, самостійно оформила дисертаційну роботу відповідно до загальноприйнятих вимог. Поставлене наукове завдання виконане здобувачкою на високому науковому рівні.

6. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.

Теоретичне значення дисертаційного дослідження полягає у доповненні і систематизації існуючої наукової інформації щодо понятійної бази стосовно антимікробних біоматеріалів як важливої в сучасності біомедичної системи, щодо їх класифікації та методів виготовлення.

Важливим є доповнення даних щодо антимікробної ефективності актуальних на сьогодні антисептичних препаратів на основі йодофорів (повідон-йод) та четвертинних амонієвих сполук (октенідин, мірамістин, полігексанід, декаметоксин, декасан). Одержані авторкою результати дозволяють актуалізувати сучасну ситуацію стосовно чутливості до антисептиків проблемних збудників інфекційних ускладнень ран і опіків, пов'язаних з громадою та пов'язаних із наданням медичної допомоги, на прикладі полірезистентних клінічних штамів *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *S.aureus*, *E.coli*, та *P.aeruginosa* в планктонній формі.

Корисною та цікавою є інтерпретація та аналіз результатів: оцінка ефективності та доцільності застосування препаратів проти певних збудників, порівняння антисептиків за допомогою індексів активності антисептика, оцінка цидної дії та цидної активності антисептиків як найбільш важливої в умовах розповсюдження антибіотикорезистентності, оскільки наразі немає встановлених рекомендацій для визначення граничних показників резистентності до антисептиків від CLSI або EUCAST.

Важливою та вкрай актуальною є оцінка активності антисептичних препаратів проти біоплівки полірезистентних штамів. В роботі наведено дані щодо впливу сучасних антисептиків на формування біоплівки полірезистентними ізолятами сучасних ранових патогенів та на зрілу біоплівку *P.aeruginosa*.

Вперше наведено дані всебічного мікробіологічного дослідження нових біоактивних біоматеріалів з контрольованим вивільненням активної речовини на основі декаметоксину, альгінату кальцію, полівінілового спирту на

референтних та клінічних штамів актуальних, клінічно значущих ранових патогенів.

Доведено і актуалізовано високу ефективність вітчизняного препарату на основі четвертинних амонієвих сполук – декаметоксину, включено його у якості активної речовини у нові антимікробні біоматеріали, у яких депо-формою декаметоксину є актуальні та високоефективні для виготовлення систем з контрольованим вивільненням у формі ранових покриттів (пов'язок) полімери – альгінат кальцію та полівініловий спирт.

Досліджено кінетику вивільнення активної речовини із зразків нових антимікробних біоматеріалів. Було доведено здатність виготовлених біоматеріалів підтримувати контрольоване вивільнення лікарської речовини протягом тривалого часу (120 годин), а профілі вивільнення активної сполуки свідчать про те, що за 24 години створюється достатня концентрація для забезпечення цидного ефекту на всі полірезистентні штами досліджених ранових патогенів, в тому числі на *P.aeruginosa*. Акцентовано увагу на вкрай небажаному ефекті «вибухового вивільнення» активної сполуки для запобігання побічної дії та доведено відсутність такого для нових біоматеріалів.

Практичне значення дисертаційної роботи полягає в тому, що у ході виконання дослідження розроблено, виготовлено та вивчено принципово нові біоактивні антимікробні полімерні біоматеріали як депо-форми активної речовини – вітчизняного антисептика декаметоксину, які виготовлено методом сольвентного лиття, а матрицею, що містить і контролює вивільнення антимікробної сполуки служить композит актуальних для цієї мети полімерів – альгінату кальцію та полівінілового спирту. Біоматеріал представлено у формі полімерної плівки, а наявність антимікробних властивостей відкриває можливість використання плівкових матеріалів як потенційних лікарських форм (ранових пов'язок) для адресної доставки активної речовини з метою лікування інфекційних ускладнень ран, опіків, зони хірургічного втручання.

Наведені дані досліджень чутливості актуальних полірезистентних ранових патогенів та протимікробної ефективності сучасних антисептиків щодо

них, активності антисептиків проти незрілої та сформованої бактеріальної біоплівки дозволяють рекомендувати застосування антисептиків (декаметоксину, декасану) у схемах комплексної терапії у пацієнтів з інфекційно-запальними ускладненнями ран, опіків, зони хірургічного втручання, хронічними ранами.

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому. Робота викладена українською мовою на 223 сторінках комп'ютерного тексту (основний текст 170 сторінок). Дисертація 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 найменувань (248 джерел латиницею та 18 кирилицею), додатки. Робота ілюстрована 37 таблицями та 46 рисунками.

У «**Вступі**» дисертації авторка яскраво характеризує актуальність теми, підкреслює визначення масштабів проблеми антибіотикорезистентності в сучасних реаліях у світі, спираючись на відому доказову базу, зокрема визначену авторитетними міжнародними фахівцями та організаціями, як Глобальний план дій ВООЗ. Акцентує увагу глобальних організацій та міжнародної спільноти за участю різних країн у світі до розробки заходів боротьби з антимікробною резистентністю, спираючись на підхід «Єдине здоров'я». Актуалізує необхідність розробки ефективних антимікробних біоматеріалів. Авторкою зазначено 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.

«**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 огляді систематизовано сучасні дані щодо біоматеріалів, наведено еволюцію

понятійної бази стосовно біоматеріалів, їх класифікацію, розглянуто методи виготовлення. Акцентовано увагу на актуальності розробки біоактивних антимікробних біоматеріалів саме на основі антисептиків, підкреслено важливість враховувати біоплівковий статус патогена, присутність ранових патогенів з високою природною та набутою резистентністю при розробці антимікробних ранових покриттів. Автором зазначено, що задля досягнення очікуваного ефекту на мікроорганізми, доцільно розробити оптимальні лікарські форми локальної доставки антисептика у осередок ураження, які будуть забезпечувати згубний вплив на широкий спектр збудників ранових інфекцій у будь-яких формах існування впродовж тривалого часу з контрольованим вивільненням активного компоненту.

У розділі «**Матеріали та методи досліджень**» автор надає відомості про антисептики, полімери, ранові пов'язки та методи, які було використано. Методи адекватні поставленим завданням та достатньо інформативні. Приділено багато уваги візуалізації інформації: наведено велику кількість ілюстрацій, виконано графічну візуалізацію алгоритму виконання важливих у даній роботі методів. Інформацію подано систематизовано, послідовно, логічно. Суміжні категорії згруповано та подано в таблицях, що покращує сприйняття інформації.

Третій розділ дисертації Дениско Т.В. присвячений власним результатам дослідження, а саме результатам вивчення антимікробної ефективності сучасних антисептиків проти референтних та клінічних штамів з множинною лікарською стійкістю *A.baumannii*, *K.pneumoniae*, *S.aureus*, *E.coli* та *P.aeruginosa* в планктонній та біоплівковій формі. Дані щодо дії антисептиків згруповано за певним видом мікроорганізмів, чутливість яких досліджували. Кожному виду збудника присвячений окремий підрозділ. Матеріал подано послідовно та логічно. У кожному підрозділі спочатку наведено дані чутливості полірезистентних ізолятів певного виду збудника у планктонній формі. Було проведено детальну обробку даних, їх інтерпретацію та порівняння. Дані щодо ефективності антисептиків відображено у вигляді різних показників, індексів,

відношень, що розширює можливості поглинутого сприйняття інформації та дозволяє порівняти антисептики між собою. Акцентовано увагу на важливості мікробоцидної дії антисептика. Так, в роботі наведено показники бактерицидних концентрацій та бактерицидної активності антисептиків.

Авторкою доведено високу протимікробну активність антисептичних препаратів на основі четвертинних амонієвих сполук та йодофорів проти референтних та клінічних полірезистентних штамів сучасних ранових патогенів. Вітчизняний антисептик декаметоксин та його лікарська форма декасан характеризувались високими показниками антимікробної ефективності. В результаті інтерпретації та аналізу отриманих даних здобувачкою було оцінено ефективність, доцільність застосування препаратів проти певних збудників, проведено порівняння антисептиків між собою за допомогою бактериостатичного та бактерицидного індексів активності антисептика, в результаті чого було виявлено недостатню ефективність певних препаратів проти певних збудників з ознаками множинної лікарської стійкості. Наприклад, аналіз показників індексів активності антисептиків виявив недостатню ефективність повідон-йоду у рекомендованій концентрації 1 % проти полірезистентних *K.pneumoniae* та *E.coli*, а також концентрації вихідного розчину мірамістину (0,01%) недостатньо для профілактики і лікування інфекційних ускладнень, спричинених штамми *A.baumannii* та *P.aeruginosa*, оскільки бактериостатичний та бактерицидний індекси активності були нижчими за порогове значення. Було проаналізовано цидну активність антисептиків на основі коефіцієнту співвідношення бактерицидного і бактериостатичного ІАА. Найвищу цидну активність проти *A.baumannii* та *E.coli* було визначено для повідон-йоду: розраховані коефіцієнти становили 0,70 та 0,83 відповідно. Серед антисептиків ЧАС найвищу бактерицидну активність проти *E.coli* було виявлено у декаметоксину (БЦ ІАА / БС ІАА = 0,7), проти *K.pneumoniae* – у повідон-йоду та октенідину (0,69 та 0,73), а щодо штамів *P.aeruginosa* – у полігексанідувк(0,88). Найбільш висока цидна активність по відношенню до *S.aureus* була характерна для декасану (0,6).

Після даних дослідження дії антисептиків на мікроорганізми у планктонній формі, подано результати впливу антисептиків на формування біоплівки полірезистентними штамми ранових патогенів, тобто їх вплив на незрілу біоплівку, що має визначальне значення, оскільки бактеріальна біоплівка є важливим фактором вірулентності та додатково захищає мікроорганізми від дії біоцидів. Щодо найбільш стійкого патогена *P.aeruginosa*, було досліджено ступінь ерадикації зрілої біоплівки 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*. 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. Декаметоксин, хлоргексидин та октенідин у суббактеріостатичних концентраціях демонстрували найефективніший інгібуючий вплив на формування біоплівки штамми *S.aureus*. Щодо незрілої біоплівки *E.coli* найефективнішими були полігексанід, хлоргексидин та декаметоксин. Декаметоксин ефективно пригнічував утворення біоплівки *A.baumannii*. Октенідин в суббактеріостатичних концентраціях демонстрував найсильніший вплив на незрілу біоплівку *P.aeruginosa*. Що стосується чутливості до дії антисептиків на культури мікроорганізмів, 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 **4-му розділі** описано результати розробки ефективного складу та технології виготовлення антимікробних біоматеріалів, їх первинний відбір на основі оптимального складу та ефективності щодо референтних та клінічних штамів мікроорганізмів, дослідження та порівняння протимікробної активності зразків біоматеріалів, відібраних за результатами первинного скринінгу, та сучасних комерційно доступних антимікробних ранових пов'язок щодо референтних та клінічних штамів збудників ранових інфекцій, пов'язаних із

наданням медичної допомоги. Дисертанткою Дениско Т.В. було виявлено високий рівень протимікробної активності нових біоматеріалів з вмістом декаметоксину 0,05 – 0,1 %. Розроблені біоматеріали не поступались відомим ефективним рановим покриттям, які містять у якості активної антимікробної сполуки іони срібла, повідон-йод, катіонні поверхнево-активні антисептики. Розроблені біоматеріали на основі декаметоксину, альгінату кальцію та полівінілового спирту ефективно пригнічували ріст референтних і клінічних штамів актуальних ранових патогенів, часто демонстрували найкращий ефект. Було досліджено, що найвищою антистафілококовою активністю володіли зразки з декаметоксином (0,05 – 0,1 %), пов'язки Suprasorb[®], Guanpolisept[®], Bétadine[®]. Наприклад, зразок з декаметоксином 0,05 %, альгінатом та полівініловим спиртом проявив найвищу активність щодо клінічних штамів стафілококу: зони затримки росту стафілококів реєстрували достовірно більші у 1,85-2,6 рази, порівняно із срібло- та йод-вмісними покриттями ($p < 0,001$). Щодо клінічних штамів *E.coli* також виявили достовірну ефективність зразка на основі альгінату кальцію та полівінілового спирту з 0,05 % декаметоксином, яка у 1,7-2,14 разів перевищувала активність пов'язки зі сріблом та йодофорами ($p < 0,001$). А зони затримки росту штамів *A.baumannii* навколо декаметоксин-вмісних зразків перевищували такі навколо пов'язок зі сріблом у 1,81-2,16 рази ($p < 0,001$) та йодофорами у 1,62-1,68 рази ($p < 0,001$). У зразків із 0,05 – 0,1 % вмістом декаметоксину виявили найвищу активність щодо референтних та клінічних штамів *P.aeruginosa*, їх ефективність виявилась рівноцінною, а достовірності різниці значень з іншими біоматеріалами однаково високими ($p < 0,001$). Наведені в даному розділі результати дослідження продемонстрували, що біоматеріали з вмістом срібла мали меншу ефективність щодо актуальних мікробних ранових патогенів, ніж біоматеріали з четвертинними амонієвими сполуками.

У 5-му розділі дисертанткою показано вивчення кінетичних профілів вивільнення протимікробної речовини із розроблених зразків полімерних біоматеріалів для оцінки тривалого контрольованого вивільнення

антисептичних сполук із полімерної матриці. Результати дослідження доводять, що розроблені біоматеріали мають здатність підтримувати контрольоване вивільнення антисептика впродовж 120 год, а вивільнення антисептика залежить від часу і не залежить від концентрації активної сполуки або варіанту композиції матриці.

Також важливим є те, що протягом 24 год створюється достатня концентрація для забезпечення цидного ефекту на всі штами досліджених ранових патогенів, в тому числі *P.aeruginosa*.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» лаконічно підсумовано, систематизовано та проаналізовано одержані в процесі досліджень дані. Здобувачка представила коректне порівняння результатів власного дослідження з даними інших авторів, надала розгорнутий аналіз порівняльної інформації, навела власне бачення та розуміння науково-практичної задачі та можливих шляхів її розв'язання.

Основні результати роботи сформульовані у 6 ретельно конкретизованих **висновках**, які відображають виконання поставлених завдань та досягнення мети дисертаційного дослідження. Висновки, які наведені в дисертації, зроблені на основі визначення їх статистичної достовірності, повністю відповідають поставленим завданням дисертаційного дослідження, відображають зміст роботи та свідчать про досягнення поставленої мети, викладені логічно і послідовно.

Список використаних джерел представлений у відповідності до вимог МОН України, містить першоджерела вітчизняних і зарубіжних авторів включно до 2024 р. Усі розділи написані грамотно та зрозуміло, матеріал викладено логічно і послідовно.

8. Дані про відсутність порушень академічної доброчесності.

За результатами перевірки матеріалів дисертації здобувача наукового ступеня доктора філософії Дениско Тетяни Валеріївни «Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів» програмним засобом «Strike Plagiarism» рівень оригінальності становить 92,86 %. За перевіркою

посилань комп'ютерною програмою було визначено, що наявні окремі співпадіння з власними публікаціями та загальноживаними фразами, описом стандартних загальновідомих методик, а також посиланнями на літературу.

Всі внутрішньо-текстові цитування та список літератури оформлено згідно рекомендацій Міністерства освіти і науки України з допомогою стилю APA style (American Psychological Association, 2010). Дисертанткою дотримано вимоги норм законодавства про авторське право. Про результати проведеної наукової роботи та використані методи дослідження надано повну та достовірну інформацію.

Текст представлених матеріалів дисертації Дениско Тетяни Валеріївни є оригінальним: всі цитати позначені коректно та правильно відображені в списку літератури, всі текстові збіги мають відповідні посилання на першоджерело, що міститься в списку використаних робіт.

Таким чином, дисертаційна робота є самостійною авторською працею, в якій описано оригінальні результати наукового дослідження Дениско Т.В.

9. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача. Загалом дисертація написана грамотною літературною українською мовою, водночас зустрічаються орфографічні, пунктуаційні та стилістичні неточності комп'ютерного набору тексту.

При аналізі літератури здобувачка недостатньо уваги приділила роботам вітчизняних авторів (було опрацьовано 248 іноземних джерел та лише 18 джерел вітчизняної літератури).

Незважаючи на висловлені зауваження слід зазначити, що загалом дисертаційна робота виконана на достатньо високому науковому рівні, а наявні недоліки не впливають на її наукову цінність.

Потребують пояснення запитання до дисертантки в ході дискусії:

1. Чому ви розраховували індекси активності для повідон-йоду в концентраціях 2% та 1%? Адже вихідна концентрація препарату – 10%.

2. Як Ви обґрунтуєте застосування саме диференційованого показника індексу активності антисептика?

3. Чи спостерігали у Ваших дослідженнях знижену чутливість до антисептиків у мікроорганізмів із ознаками множинної лікарської стійкості? Та чи існує відповідність одержаних Вами результатів з уже відомими даними інших дослідників?

4. Як ви можете проаналізувати дані кінетики вивільнення декаметоксину та мікробіологічні дані чутливості мікроорганізмів до розроблених біоматеріалів?

Поставлені запитання не носять принципового характеру, не знижують позитивної оцінки дисертаційної роботи в цілому, а також розроблених Дениско Т.В. основних наукових положень, висновків, практичних рекомендацій та одержаних результатів проведених авторкою наукових досліджень.

10. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

За актуальністю даної тематики, методичним рівнем виконання, обґрунтованістю вибору методів наукових досліджень, науковою новизною отриманих результатів, їхньою достовірністю та обґрунтованим описом, достатньою повнотою викладу в наукових публікаціях і оприлюдненні широкій науковій громадськості в матеріалах конференцій, конгресів і наукових форумів, теоретичним і практичним значенням основних положень, аргументованістю висновків дисертаційна робота Дениско Тетяни Валеріївни «Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів» повністю відповідає вимогам, затверджених Наказом Міністерства освіти і науки України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12 січня 2017 р. та постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 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 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 має

необхідний рівень компетентностей та заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Офіційний опонент
Завідувачка кафедри мікробіології,
вірусології та епідеміології
з курсом інфекційних хвороб
Ужгородського національного
Університету МОН України,
доктор медичних наук, професор

Галина КОВАЛЬ