

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. ректора ЗВО

Вінницького національного  
медичного університету

ім. М.І. Пирогова

д.мед.н., професор

Юрій ШЕВЧУК

« 10 » 05 2024 р.

## ВИСНОВОК

**про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації аспірантки кафедри мікробіології Дениско Тетяни Валеріївни на тему: «Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів», що представлена на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»**

З метою надання висновку про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертаційної роботи Дениско Т.В. проведено засідання кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. На засіданні були присутніми: головуєчий – зав. кафедри мікробіології., д.мед.н., проф. Ковальчук В.П.; д.мед.н., проф. Назарчук О.А.; к.мед.н., доц Вовк І. М.; д.мед.н., доц. Іванова С. І.; ph.d., доц. Буркот В.М., к.мед.н., доц. Жорняк О. І.; к.б.н., доц. Крижановська А. В.; к.мед.н., доц. Колодій С. А.; к.мед.н., доц. Кордон Ю. В.; к.мед.н., доц. Прокопчук З. М., к.мед.н., доц. Сорокоумова Л. К.; аспірант Багнюк Н.А., аспірант Левченко Б.І., аспірант Мельниченко М. В., аспірант Бебик В. В., асистент Ксенчина К. В..

Рішенням засідання кафедри ухвалили (протокол №13 від 30.04.2024 р.):  
1) для надання висновку про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертаційної роботи Дениско Тетяни Валеріївни створити комісію у складі: голови – професора Ковальчука Валентина

Петровича, доктора медичних наук, завідувача кафедри мікробіології ЗВО Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (штатний співробітник), рецензента – доцента Крижановської Алли Володимирівни, кандидата медичних наук, доцента ЗВО Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (штатний співробітник), рецензента – доцента Прокопчук Зої Миколаївни, кандидата медичних наук, доцента ЗВО Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (штатний співробітник);

2) рекомендувати до затвердження наступний персональний склад разової спеціалізованої вченої ради для захисту дисертації здобувача ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія» Дениско Т.В.: голова ради – професор Ковальчук Валентин Петрович, доктор медичних наук, завідувач кафедри мікробіології, штатний співробітник Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; рецензент – доцент Крижановська Алла Володимирівна, кандидат біологічних наук, доцент кафедри мікробіології, штатний співробітник Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; рецензент – доцент Прокопчук Зоя Миколаївна, кандидат медичних наук, доцент кафедри мікробіології, штатний співробітник Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; офіційний опонент – професор Коваль Галина Миколаївна, доктор медичних наук, завідувачка кафедри мікробіології, вірусології та епідеміології з курсом інфекційних хвороб Ужгородського національного університету; офіційний опонент – професор Корнійчук Олена Петрівна, доктор медичних наук, завідувачка кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Під час засідання було проаналізовано результати виконання здобувачем ступеня доктора філософії, аспірантки заочної форми навчання Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова Дениско Тетяни Валеріївни індивідуального плану наукових досліджень та освітньо-наукової програми, ознайомлення з текстом дисертації, опублікованими науковими

статтями та тезами за темою дисертаційної роботи, висновками комітету з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, а також було заслухано доповідь здобувачки у вигляді публічної презентації дисертаційної роботи та відповіді здобувача на питання учасників наукового засідання.

**Актуальність обраної теми.** Умовно-патогенні мікроорганізми з фенотипом множинної лікарської стійкості (МЛС) стали серйозною загрозою в медичній практиці. Виникнення множинної лікарської стійкості у бактерій стало одним із найстрашніших викликів цього століття: зростає поширення інфекцій, які важко лікувати, відповідні терапевтичні альтернативи відсутні.

Масштаби проблеми були визначені країнами G7, які висловили рішучу підтримку першого Глобального плану дій Всесвітньої організації охорони здоров'я щодо антимікробної резистентності.

Глобальна спільна організація «Спільна програмна ініціатива щодо стійкості до протимікробних препаратів» (Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance JPIAMR) залучила 29 країн до боротьби з антимікробною резистентністю, спираючись на підхід «Єдине здоров'я».

Поява, розповсюдження і персистенція бактерій з множинною лікарською стійкістю, або «супербактерій», ставить під загрозу здоров'я людей, тварин і навколишнє середовище як взаємопов'язані компоненти єдиної екосистеми. Численні причини «глобального резистому» сприяють тиску генетичного відбору та появі бактеріальних інфекцій з МЛС у суспільстві.

Поява мікроорганізмів, стійких до антимікробних препаратів, сприяє поширенню і збільшенню тяжкості перебігу інфекцій, пов'язаних із наданням медичної допомоги (ІПМД), які вважають поширеними причинами захворюваності та летальності на сьогодні. До того ж, ІПМД створюють високе фінансове навантаження на системи охорони здоров'я. Останнім часом в медицині спостерігають зростання числа пацієнтів, які страждають від ран і опіків, що важко піддаються лікуванню і загоєнню.

Гострі і хронічні рани із критичною колонізацією, ускладнені мікробними біоплівками залишаються серйозною проблемою, що з кожним роком стає все більш загрозливою у зв'язку із глобальною проблемою антибіотикорезистентності. У всьому світі існує потреба в нових стратегіях лікування та досягнення швидкого загоєння ран.

Висока чутливість актуальних в сучасності збудників ранових інфекцій до антисептиків диктує необхідність розширеного їх застосування в схемах комплексної профілактики та лікування. Ефективність в боротьбі зі стійкими мікробними патогенами шляхом локального застосування антимікробних засобів досягається не тільки за рахунок активності лікарської сполуки, але й контрольованого тривалого впливу протимікробного засобу на мікроорганізм в осередку інфекційного процесу. Визначальне значення серед численних факторів, які сприяють терапевтичній ефективності має спосіб доставки речовин з антисептичною дією.

З цього випливає, що розробка нових удосконалених біоматеріалів з поліпшеними властивостями стає все більш важливою у широкому діапазоні застосувань, а одними з найбільш актуальних властивостей біоматеріалів є антимікробні, які дозволяють перешкоджати виникненню небажаних інфекцій.

Найпростішим способом заміни бар'єрної функції неушкодженої шкіри є накладення пов'язки. Перспективні біоактивні чи лікувальні ранові пов'язки з антимікробними властивостями виготовляють на основі біоматеріалів (природних або синтетичних матеріалів, створених для взаємодії з біологічними системами) як депо-форм з інтегрованими біоактивними молекулами (біоцидами) для досягнення контрольованого локального антибактеріального лікування. Такі лікарські форми ефективно доставляють ліки, максимізуючи терапевтичну ефективність при мінімізації будь-яких побічних ефектів.

Використання біоматеріалів для догляду за ранами пропонує безліч переваг, що випливають із їх виняткових характеристик, як от біосумісність, здатність сприяти проліферації клітин, регенеративний потенціал, здатність до

біологічного розкладання. Ці біоматеріали можуть містити як природні, так і синтетичні полімери, або мати композитний склад, використовуючи переваги обох доменів.

Це обґрунтовує актуальність розробки та впровадження біоматеріалів у формі біоактивних, чи лікувальних ранових пов'язок з інтегрованими біоактивними молекулами (антисептиками) для досягнення контрольованого антибактеріального лікування.

З урахуванням наведеного вище слід зазначити, що дисертаційна робота Дениско Т.В. на тему: «Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів» є своєчасною та актуальною, оскільки спрямована на вирішення актуальної важливої науково-практичної задачі, а саме розробці ефективного складу та технології виготовлення антимікробних біоматеріалів шляхом мікробіологічного обґрунтування розробки біоактивних антимікробних біоматеріалів з контрольованим вивільненням активної сполуки на основі антисептичного препарату декаметоксину, біополімеру 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.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх новизна, повнота викладу в опублікованих працях.**

Дисертаційна робота Дениско Т.В., представлена як завершене наукове дослідження, присвячене мікробіологічному обґрунтуванню розробки біоактивних антимікробних біоматеріалів з контрольованим вивільненням активної сполуки на основі антисептичного препарату декаметоксину, альгінату кальцію та полівінілового спирту з перспективою використання плівкових матеріалів у вигляді лікарської форми антимікробних ранових пов'язок для лікування інфекційних ускладнень ділянки хірургічного втручання, ран, опіків.

Результати дисертаційного дослідження базуються на достатній для вирішення поставлених завдань кількості мікробіологічних та експериментальних досліджень. Дисертація виконана на сучасному науковому рівні.

З урахуванням завдань дисертаційної роботи, було проведено системний аналіз вітчизняних та світових наукових досліджень щодо існуючих даних про етіологію інфекційних ускладнень ран і опіків, пов'язаних з наданням медичної допомоги, акцентовано увагу на даних літератури щодо основних проблем у боротьбі з провідними мікробними патогенами, які колонізують рани, опіки, зону хірургічного втручання, зокрема висвітлено роль антибіотикорезистентності та зазначено тривожні тенденції щодо зниження ефективності антибіотикотерапії та необхідності розробки альтернативних підходів, зокрема розширення ролі антисептиків у схемах комплексної терапії; наведено відомі сучасні дані щодо біоматеріалів як біомедичних систем, що постійно контактують із тканинами організму, наведено їх класифікацію, розглянуто методи виготовлення; акцентовано увагу на актуальності розробки біоактивних антимікробних біоматеріалів як систем з контрольованим вивільненням активної сполуки, використання плівкових матеріалів у вигляді лікарської форми антимікробних ранових пов'язок для лікування інфекційних ускладнень ран (гострих та хронічних), опіків, ділянки хірургічного втручання.

Методи мікробіологічних та експериментальних досліджень, математико-статистичного аналізу, які були використані в роботі, є інформативними, сучасними та адекватними поставленим для вирішення завданням. Розроблено чіткий дизайн дослідження, який представляє логічне і послідовне розв'язання поставлених автором задач для досягнення мети дисертаційної роботи.

Дисертанткою на основі проведених досліджень було проаналізовано та викладено у дисертаційній роботі оригінальні дані результатів наукових досліджень ефективності сучасних антисептиків проти референтних та клінічних штамів з множинною лікарською стійкістю *S. aureus*, *E. coli*,

*K. pneumoniae*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa* в планктонній та біоплівковій формі, доведено високу протимікробну активність антисептичних препаратів на основі четвертинних амонієвих сполук та йодофорів. Встановлено, що всі засоби проявляють переважно бактерицидні властивості, про що свідчить коефіцієнт співвідношення МБцК/ МБсК менший 4-х. Декаметоксин характеризується високими показниками антимікробної ефективності. Бактерицидна дія декаметоксину на ацинетобактерії перевищувала таку хлоргексидину у 3,21 рази і ця різниця мала високе значення достовірності ( $p < 0,001$ ). Декаметоксин виявив біоцидні властивості, що достовірно перевищували бактерицидну дію мірамістину у 1,77 рази ( $p < 0,001$ ) та полігексаніду у 1,89 рази ( $p < 0,01$ ).

На основі аналізу бактериостатичного та бактерицидного показників індексу активності антисептика (БС ІАА та БЦ ІАА) було виявлено недостатню ефективність повідон-йоду у рекомендованій концентрації 1 % проти мультирезистентної *E. coli* та *K. pneumoniae*, а також концентрації вихідного розчину препарату мірамістину (0,01 %) недостатньо для профілактики і лікування інфекційних ускладнень, спричинених штамами *A. baumannii* та *P. aeruginosa*, оскільки БС ІАА та БЦ ІАА є нижчими за порогове значення (обидва  $< 4$ ). Диференціювання показників ІАА за БС та БЦ ефектами дії показало недостатню бактерицидну активність повідон-йоду проти 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 мірамістину в концентрації 0,01 % проти *E.coli* з МЛС (БС ІАА=5,7; БЦ ІАА=3,3), що ставить під сумнів доцільність застосування цих антисептиків у такій концентрації. Також, авторкою було оцінено рівень цидної активності сучасних антисептиків. Серед антисептиків ЧАС найвищу бактерицидну дію проти *E. coli* мав декаметоксин: відношення БЦ до БС ІАА становило 0,7. Щодо штамів *K. pneumoniae* з МЛС найбільші показники визначено для повідон-йоду та октенідину (0,69 та 0,73), щодо

штамів *P. aeruginosa* з МЛС – у полігексаніду (0,88). Найбільш висока цидна активність щодо *S. aureus* була характерна для 0,02 % декаметоксину (0,6).

Одержано нові дані щодо антибіоплівкової активності сучасних антисептичних препаратів, їх вплив на формування біоплівки полірезистентними ізолятами *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* та на зрілу біоплівку *P. aeruginosa*, який характеризується високою біоплівкоутворювальною активністю, а також внутрішньою та набутою стійкістю до протимікробних препаратів. Декаметоксин, полігексанід та повідон-йод проявили найбільш виражений ефект пригнічення утворення біоплівок штамми *K. pneumoniae* з МЛС. На основі встановленої здатності щодо значного пригнічення утворення біоплівки та позитивної кореляції ( $r=0,6$ ) цієї властивості з чутливістю полірезистентних штамів *K. pneumoniae* до декаметоксину, його слід розглядати як ефективний антибіоплівковий засіб. В роботі доведено, що октенідин, хлоргексидин та декаметоксин у суббактеріостатичних концентраціях демонстрували найефективніший інгібуючий вплив на формування біоплівки штамми *S. aureus*. Хлоргексидин, декаметоксин і полігексанід показали високу активність проти утворення біоплівки клінічними ізолятами *E. coli*. У присутності суббактеріостатичних концентрацій хлоргексидину та полігексаніду біоплівкоутворювальні властивості штамів *E. coli* позитивно корелювали з їх чутливістю ( $r=0,49$  та  $r=0,11$  відповідно). Переконаливо доведено найвищу ефективність декаметоксину щодо пригнічення у суббактеріостатичних концентраціях утворення біоплівки *E. coli*, і встановлено негативну кореляцію ( $r=-0,67$ ), яка підтверджує залежність здатності ефективно пригнічувати утворення біоплівки від концентрації препарату. Наведено переконливі дані щодо вираженого пригнічення утворення біоплівки *A. baumannii* під дією суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину значно пригнічували. Ця властивість обернено корелювала з чутливістю штамів до декаметоксину ( $r= - 0,76$ ). Антибіоплівкова активність хлоргексидину погано, але позитивно корелювала з чутливістю *A. baumannii* до цього антисептика ( $r=0,15$ ). Всі тестовані антисептики у



суббактеріостатичних концентраціях були ефективними проти біоплівки *P.aeruginosa*. У дисертації доведено, що октенідин в суббактеріостатичних концентраціях демонстрував найсильніший вплив на незрілу біоплівку *P.aeruginosa*. Авторкою доведено негативну кореляцію здатності штамів *P.aeruginosa* з МЛС формувати біоплівки в присутності суббактеріостатичних концентрацій антисептиків та чутливістю цих ізолятів до антисептиків. Доведено значно нижчу чутливість до впливу антисептиків культур, що знаходились в зрілих біоплівках та показано, що тестовані концентрації антисептиків не руйнували сформовану біоплівку більш ніж на 42,4%.

Авторкою вперше проведено всебічне мікробіологічне дослідження нових біоактивних біоматеріалів з контрольованим вивільненням активної речовини на основі декаметоксину, альгілату кальцію, полівінілового спирту на референтних та клінічних штамів актуальних, клінічно значущих ранових патогенів. В результаті дослідження та порівняльної оцінки антимікробних властивостей нових та комерційно доступних біоматеріалів на основі антисептиків було виявлено високий рівень протимікробної активності нових біоматеріалів на основі декаметоксину (ДКМ 0,05-0,1 %). Розроблені біоматеріали не поступались сучасним ефективним рановим покриттям на основі катіонних детергентів та срібло-вмісним покриттям, активно пригнічували ріст референтних та клінічних штамів *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* та *E.coli*, часто демонстрували найкращий ефект. Найвищою антистафілококовою активністю володіли біоматеріали на основі декаметоксину №1 (0,05% ДКМ + ПВС + альгілат кальцію), №2 (0,05% ДКМ + альгілат кальцію), №3 (0,1% ДКМ + ПВС + альгілат кальцію + ЕДТА), Suprasorb®, Guanpolisept® та Bétadine®. Найвищою активністю проти клінічних штамів стафілококу володів біоматеріал з ДКМ №3 (0,1% ДКМ), який достовірно ефективніше затримував ріст клінічних штамів *S. aureus* у порівнянні з срібло- та йод-вмісними покриттями у 1,85-2,6 рази ( $p < 0,001$ ). Дисертаційна робота містить нові дані, які переконливо засвідчили переваги антимікробної дії на референтний та клінічні штами *E.coli* розроблених

авторкою біоматеріалів з ДКМ №1-3 (0,05 – 0,1% ДКМ) та Suprasorb<sup>®</sup>, а також засвідчили переваги антимікробної активності зразка ДКМ №1 проти клінічних штамів *E.coli* з МЛС вищою над пов'язками зі сріблом та йодофорами (у 1,7-2,14 разів;  $p < 0,001$ ).

Доведено, що клінічні штами *K.pneumoniae* були найбільш чутливі до Suprasorb<sup>®</sup> та розроблених зразків з декаметоксином. Найбільш ефективними були біоматеріали на основі декаметоксину та полігексаніду. Наведено переконливі дані щодо суттєвих переваг щодо здатності затримувати ріст референтних та клінічних штамів *A.baumannii* декаметоксин-вмісних зразків, достовірно перевищували подібні властивості срібло-вмісних (у 1,81-2,16 рази;  $p < 0,001$ ) пов'язок з йодофорами (у 1,62-1,68 рази;  $p < 0,001$ ). Так, доведено, що дослідні зразки із розроблених аспіранткою біоматеріалів з декаметоксином №1-3(0,05 – 0,1% ДКМ) були найефективнішими щодо референтних та клінічних штамів *P.aeruginosa*, їх антимікробна активність виявилась рівноцінною, а достовірності різниці значень з іншими біоматеріалами однаково високими ( $p < 0,001$ ). Авторкою також встановлено, срібло-вмісні біоматеріали були менш ефективні щодо сучасних ранових патогенів з МЛС, ніж ЧАС-вмісні біоматеріали.

В роботі авторка вперше вивчила кінетику вивільнення активної речовини із зразків нових антимікробних біоматеріалів з декаметоксином, та довела, що розроблені нею біоматеріали всіх тестованих складів здатні підтримувати контрольоване вивільнення лікарської речовини впродовж 120 год. Профілі вивільнення декаметоксину свідчать про те, що впродовж 24 годин створюється достатня концентрація для забезпечення мікробоцидного ефекту щодо всіх полірезистентних до антибіотиків штамів досліджених ранових патогенів, в тому числі *P.aeruginosa* з МЛС.

Назва дисертаційної роботи чітко відповідає її змісту. Висновки та практичні рекомендації, які містяться в дисертації, є науково обґрунтованими, логічно витікають з отриманих результатів досліджень, базуються на фактичних даних та проведеному статистичному аналізу.

Основні положення дисертаційної роботи опубліковані у 15 наукових працях, 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 стаття у міжнародних фахових виданнях, які входять до наукометричних баз даних Scopus (1 з яких Q1) та 1 стаття у фаховому науковому виданні іншої держави, а також 9 тез доповідей за результатами досліджень, які були презентовані на міжнародних науково-практичних конференціях, п'ять з яких закордоном.

**Список публікацій здобувача, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. **Denysko TV**, Nazarchuk OA, Gruzevskiy O, Bahniuk NA, Dmytriiev DV, Chornopyschuk RM and Bebyk VV (2022) In vitro evaluation of the antimicrobial activity of antiseptics against clinical *Acinetobacter baumannii* strains isolated from combat wounds. *Front. Microbiol.* 13:932467. doi: 10.3389/fmicb.2022.932467 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.932467/> (Авторка особисто проводила дослідження протимікробної активності антисептиків щодо частини клінічних штампів, дослідження впливу антисептиків на незрілу біоплівку, інтерпретацію та аналіз результатів)

2. Nazarchuk O., **Denysko T.**, Dmytriiev D., Chornopyschuk N., Hruzevsky i O., Burkot V., Nazarchuk H., Ksenchyna K. In vitro evaluation of antimicrobial and anti-biofilm properties of antiseptics against multidrug resistant clinical *Escherichia coli* strains, isolated from combat wounds (2023). *Paediatric Surgery (Ukraine)*. 3(80):8-20; DOI: 10.15574/PS.2023.80.8 <https://med-expert.com.ua/journals/wp-content/uploads/2023/11/04.pdf> (Авторка особисто проводила дослідження впливу антисептиків на незрілу біоплівку, інтерпретацію та аналіз результатів, пошук та аналіз літературних джерел за темою роботи).

3. **Denysko, T.**, Nazarchuk, O. (2023). Evaluation of antimicrobial activity of biomaterials based on alginate and decametoxin against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Science Rise: Biological Science*, 4 (37), 11–18. doi: <http://doi.org/10.15587/2519-8025.2023.298594> (Авторка особисто проводила

дослідження, інтерпретацію та аналіз результатів, пошук та аналіз літературних джерел за темою роботи)

4. **Denysko T. V.** (2024). Comparative study of antimicrobial properties of biomaterials and dressings based on antiseptics against gram-negative bacteria as pathogens of wound infections. *Bulletin of problems biology and medicine*. Issue 1 (172); 357-363. DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-357-363.

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

5. Nazarchuk O., **Denysko T.**, Nagaichuk V., Chornopyschuk R., Burkot V. Bobyr V., Dobrovanov, O. (2024). The research of antimicrobial activity of antiseptics against multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from infected wounds of patients with combat trauma *Lekarsky Obzor*, 73(1):8-14, ISSN 04574214 (Авторка особисто проводила дослідження впливу антисептиків на незрілу біоплівку, інтерпретацію та аналіз результатів)

6. Nazarchuk, A. A., **Denisko, T. V.**, Voloshchuk, N. I., & Nazarchuk, H. H. (2020). The study of antimicrobial properties of film materials based on biopolymers and antiseptics. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 39, 29–34. <https://doi.org/10.31393/bba39-2020-05> (Авторка особисто проводила дослідження, інтерпретацію та аналіз результатів).

**Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

7. Назарчук, О. А., Грузевський, О. А., Дениско, Т. В., Чернопищук, Р. М., & Кагляк, М. Д. (2021). Мікробіологічний скринінг властивостей матеріалів на основі біополімерів та антисептиків. *Medicine and health care in modern society: topical issues and current aspects: International scientific and practical conference, February 26–27, Lublin, Republic of Poland: «Baltija Publishing»*, P. 211–214. <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-038-4-59> (Авторка особисто проводила дослідження, підготувала матеріали до друку).

8. Назарчук О.А., **Дениско Т.В.**, Грузевський О.А., Чернопищук Р.М., Багнюк Н.А. (2021) Дослідження чутливості референтних та клінічних штамів мікроорганізмів до сучасних антисептиків // Мікробіологічні та імунологічні

дослідження в сучасній медицині: матеріали науково-практичної міжнародної дистанційної конференції (26 березня 2021 р., м. Харків) – Х. : НФаУ, 2021. – С. 67-68. (*Аспірантка особисто виконала дослідження чутливості референтних та клінічних штамів мікроорганізмів до антисептиків*).

9. Багнюк Н. А., Левченко Б. М., **Дениско Т. В.** (2021) Дослідження чутливості до антисептиків клінічних штамів *S.aureus*, що колонізують дихальні шляхи важкохворих з інфекційними ускладненнями, пов'язаними з наданням медичної допомоги. Матеріали XXI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 35-ій річниці Чорнобильської катастрофи (Тернопіль, 22–24 квіт. 2021 р.) / за ред. проф. С. Н. Вадзюка. – Тернопіль: ТНМУ, 2021. – С. 118-120 (*Авторка особисто проводила, інтерпретацію та аналіз результатів*).

10. **Denysko T.**, Nazarchuk O., Bahniuk N., Hruzevskyi O., Bebyk V., Chornopyschuk R. (2022) In vitro evaluation of the antimicrobial and antibiofilm activity of antiseptic agents against clinical *Acinetobacter baumannii* strains with antibiotic resistance phenotype. *FEMS Microbiology Reviews*, June 2022; p.312; ISBN-978-86-914897-8-6 (*Авторка особисто проводила дослідження впливу антисептиків на незрілу біоплівку, інтерпретацію та аналіз результатів*)

11. **Дениско Т.В.**, Большакова Г. М., Кольцова І.Г., Кагляк М.Д., Кобильник С.М., Дубіна А.В., Гуменюк Л.Д. Чутливість до сучасних антисептиків клінічних штамів із множинною лікарською стійкістю *Klebsiella pneumoniae*, виділених з інфікованих бойових ран // П'ятий національний форум імунологів, алергологів, мікробіологів та спеціалістів клінічної медицини: матеріали науково-практичної міжнародної конференції (24-25 травня 2023 р., м. Харків) – Х. : , 2023. – С 31-32 (*Дисертантка досліджувала протимікробну активність антисептиків проти *Klebsiella pneumoniae*, підготувала матеріали до друку*).

12. **T. Denysko**, O. Nazarchuk, O. Hruzevskyi, H. Nazarchuk. Antimicrobial Activity Of New And Commercially Available Biomaterials Containing Antiseptics// *ASM Microbe: World Microbe Forum 2023*.

<https://www.abstractsonline.com/pp8/#!/10789/presentation/6671> (Авторка особисто проводила дослідження, підготувала матеріали до друку)

13. Halyna Nazarchuk, **Tetyana Denysko**, Oleksandr Gruzevsky (2023). Activity of modern antiseptic agents against immature biofilms of multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from combat wounds. International Conference on Prevention and Infection Control 2023. *Antimicrob Resist Infect Control* 12 (Suppl 1), 81 (2023). <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01276-2> (Авторка особисто проводила дослідження, інтерпретацію та аналіз результатів)

14. Halyna Nazarchuk, **Tetyana Denysko**, Roman Chornopyschuk. Evaluation of the effectiveness of modern antiseptics against multidrug-resistant clinical strains of *P. aeruginosa* isolated from combat wounds during hostilities on the territory of Ukraine. International Conference on Prevention and Infection Control 2023. *Antimicrob Resist Infect Control* 12 (Suppl 1), 81 (2023). <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01276-2> (Авторка особисто проводила дослідження, інтерпретацію та аналіз результатів)

15. H. Nazarchuk, **T. Denysko**, O. Nazarchuk, N. Bahniuk, V. Bebyk (2023). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of antiseptics against clinical *Acinetobacter baumannii* strains isolated from combat wounds of the eye and eyelids. Congress of the European Society of Ophthalmology (SOE) 15 - 17 June, 2023, Prague, Czech Republic. [https://www.professionalabstracts.com/soe2023/eBook/epaper/SOE2023\\_Abtract\\_E-Book.pdf](https://www.professionalabstracts.com/soe2023/eBook/epaper/SOE2023_Abtract_E-Book.pdf) (Авторка особисто проводила інтерпретацію та аналіз результатів)

**Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.**  
Теоретичне значення дисертаційного дослідження полягає у доповненні існуючої наукової інформації щодо протимікробної активності сучасних антисептичних препаратів на основі четвертинних амонієвих сполук та йодофорів. Одержані авторкою результати дозволяють поглибити сучасні

уявлення щодо чутливості до антисептиків проблемних збудників інфекційних ускладнень ран і опіків, пов'язаних з наданням медичної допомоги, на прикладі клінічних штамів *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa* в планктонній формі.

Було оцінено ефективність та доцільність застосування препаратів проти певних збудників, проведено порівняння між собою антисептиків за допомогою індексів активності антисептика, оскільки наразі немає встановлених рекомендацій для визначення граничних показників резистентності до антисептиків від Інституту клінічних лабораторних стандартів (CLSI) або Європейського комітету з тестування чутливості до антимікробних засобів (EUCAST). Також було оцінено цидну дію та цидну активність антисептиків як найбільш бажану для запобігання виникнення та розповсюдження антибіотикорезистентності.

Наведено нові дані щодо антибіоплівкової активності сучасних антисептичних препаратів, їх вплив на формування біоплівки полірезистентними ізолятами *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* та на зрілу біоплівку *P. aeruginosa*, який характеризується високою біоплівкоутворювальною активністю, а також внутрішньою та набутою стійкістю до протимікробних препаратів.

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.

Вперше наведено дані щодо кінетики вивільнення активної речовини із зразків нових антимікробних біоматеріалів з декаметоксином, доведено, що біоматеріали всіх тестованих складів здатні підтримувати контрольоване вивільнення лікарської речовини протягом 120 год. Наведені профілі вивільнення декаметоксину свідчать про те, що протягом 24 годин створюється

достатня концентрація для забезпечення цидного ефекту на всі полірезистентні штами досліджених ранових патогенів, в тому числі на *P.aeruginosa*.

Практичне значення дисертаційної роботи полягає в тому, що у ході виконання дослідження розроблено принципово нові біоактивні антимікробні полімерні біоматеріали як депо-форми активної речовини – вітчизняного антисептика декаметоксину. Біоматеріали було виготовлено методом сольвентного лиття із актуальних в сучасності для розробки систем з контрольованим вивільненням полімерів – альгінату кальцію та полівінілового спирту. Біоматеріал представлено у формі полімерної плівки, яка є матрицею для вивільнення активної речовини за механізмом контрольованого набухання та гідролітичної деструкції матриці.

Наявність антимікробних властивостей розроблених Дениско Т.В. біоматеріалів відкриває можливості використання цих плівкових матеріалів як потенційних лікарських форм для адресної доставки активної речовини.

Отримані результати мікробіологічних досліджень є науковим обґрунтуванням розробки нових антимікробних біоматеріалів на основі антисептичних препаратів з перспективою їх впровадження у вигляді лікарської форми антимікробних ранових пов'язок для лікування інфекційних ускладнень ран, опіків, ділянки хірургічного втручання.

Результати досліджень чутливості актуальних ранових патогенів з ознаками множинної лікарської стійкості та протимікробної активності сучасних антисептиків щодо них, 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.

### **Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому**

Робота викладена українською мовою на 227 сторінках комп'ютерного тексту (основний текст 159 сторінок), складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів досліджень, 3 розділів власних



досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаної літератури, що включає 266 найменувань (248 джерел латиницею та 18 кирилицею), додатків. Робота ілюстрована 32 таблицями та 47 рисунками.

У «Вступі» дисертації автор підкреслює актуальність теми, поставлені конкретні задачі дослідження, охарактеризовано об'єкт та предмет дослідження. Представлені дані про наукову новизну роботи та 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 найменування (248 джерел латиницею та 18 кирилицею) та свідчить про вміння дисертанта опрацьовувати літературу, володіти методами синтезу наукової інформації. У огляді відображені сучасні дані щодо біоматеріалів, наведено їх класифікацію, розглянуто методи виготовлення; акцентовано увагу на актуальності розробки біоактивних антимікробних біоматеріалів як систем з контрольованим вивільненням активної сполуки, використання плівкових матеріалів у вигляді лікарської форми антимікробних ранових пов'язок.

У розділі «Матеріали та методи досліджень» автор надає відомості про антисептики, полімери, ранові пов'язки та методи, які були використанні. Методи адекватні поставленим завданням та достатньо інформативні.

3-й розділ присвячений дослідженню, порівнянню та аналізу антимікробної ефективності сучасних антисептиків проти референтних та клінічних штамів з множинною лікарською стійкістю *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A. baumannii* та *P.aeruginosa* в планктонній та біоплівковій формі.

4-й розділ присвячений характеристиці розробки ефективного складу та технології виготовлення антимікробних біоматеріалів на основі біополімерів та четвертинних амонієвих сполук, первинному мікробіологічному скринінгу протимікробної активності розроблених засобів щодо референтних та клінічних

штамів мікроорганізмів, дослідженню та порівнянню антимікробної 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.

У 5-му розділі вивчено кінетичні профілі вивільнення біоактивного компонента (протимікробної речовини) із розроблених зразків полімерних біоматеріалів для оцінки тривалого контрольованого вивільнення антисептичних сполук із полімерної матриці.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» лаконічно підсумовано одержані в процесі досліджень дані.

Основні результати роботи сформульовані у 6 ретельно конкретизованих висновках, які відображають виконання поставлених завдань та досягнення мети дисертаційного дослідження. Робота ілюстрована 31 таблицею та 46 рисунками. Первинна документація дисертаційної роботи представлена в повному об'ємі і повністю відповідає змісту дисертаційного дослідження. Перевірка первинної документації показала повну вірогідність усіх первинних документів. Під час перевірки узагальнених даних з фактичним матеріалом виявлена їх повна відповідність.

**Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.** Розроблено нові біоактивні антимікробні біоматеріали з контрольованим вивільненням ефективною антимікробною четвертинною амонієвою сполуки (вітчизняного антисептика ДКМ) із матриці на основі терапевтично значимих полімерів альгінату кальцію та полівінілового спирту. Наявність антимікробних властивостей відкриває можливості використання плівкових матеріалів як потенційних лікарських форм для адресної доставки активної речовини.

Отримані результати мікробіологічних досліджень є науковим обґрунтуванням розробки нових антимікробних біоматеріалів на основі антисептичних препаратів з перспективою їх впровадження у вигляді лікарської

форми антимікробних ранових пов'язок для лікування інфекційних ускладнень ран, опіків, зони хірургічного втручання. Результати проведених досліджень дають можливість подальшої розробки технологічної та функціональної схеми автоматизації процесу отримання полімерних плівок та ранових покриттів на основі альгінату кальцію та ДКМ.

Результати досліджень чутливості актуальних ранових патогенів з ознаками множинної лікарської стійкості та протимікробної активності сучасних антисептиків щодо них, активності антисептиків проти незрілої та сформованої біоплівки дозволяють рекомендувати застосування антисептиків (ДКМ, ДС) у схемах комплексної терапії у пацієнтів з інфекційно-запальними ускладненнями ран, опіків, зони хірургічного втручання, хронічними ранами.

Одержані результати наукових досліджень впроваджені в навчальні програми кафедри мікробіології, вірусології та імунології 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 02.09.2023 р.), кафедри мікробіології та парзитології з основами імунології Національного медичного університету ім.О.О.Богомольця МОЗ України (акт впровадження від 05.12.2023 р.), Івано-Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 15.11.2023 р.).

#### **Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності**

Принципи академічної доброчесності при виконанні дисертаційного дослідження та написання роботи Дениско Т.В. на тему: «Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів» не були порушені автором. За результатами перевірки дисертації на плагіат програмним засобом «Strike Plagiarism» рівень оригінальності становить 80,68 %. За перевіркою посилань комп'ютерною програмою було визначено, що наявні окремі співпадіння з власними публікаціями та загальноновживаними фразами, описом стандартних загальновідомих методик, а також посиланнями на літературу.

## **Результати обговорення презентації на засіданні кафедри**

На засіданні кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова заслухано доповідь, під час якої дисертантка продемонструвала глибоке володіння матеріалами дослідження, уміння чітко відповідати на поставлені запитання, дотримуватись таймінгу доповіді. Представлена інформація у доповіді змістовно відповідає матеріалам дослідження.

## **Відповідність дисертації встановленим вимогам**

Дисертаційна робота оформлена згідно наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації». Узагальнюючи дані, які були представлені у рецензіях, слід відзначити, що на час проведення фахового семінару для апробації дисертації всі неточності були усунені, зауваження рецензентів ліквідовані. Претензій до дисертанта та його дослідження немає. Дисертаційна робота в повній мірі відповідає спеціальності 091 «Біологія».

## **ВИСНОВОК**

Дисертація Дениско Тетяни Валеріївни на тему: «Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів», представлена на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія», є завершеною науковою працею, в якій висвітлені нові науково обґрунтовані результати досліджень, виконаних здобувачем особисто, щодо вирішення науково-практичної задачі, яка полягає у мікробіологічному обґрунтуванні розробки біоактивних антимікробних біоматеріалів з контрольованим вивільненням активної сполуки на основі антисептичних препаратів, 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.

Результати, які були одержані під час виконання дисертаційної роботи, мають суттєве значення для сучасної медичної біології, мікробіології та медицини, а також підтверджуються документами, які засвідчують проведення таких досліджень. За визначеними основними змістовними ознаками, науковою новизною, актуальністю, теоретичним і практичним значенням та висновкам дисертація повною мірою відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 зі змінами, внесеними згідно з Постановою КМ від 21 березня 2022 р. № 341, від 19 травня 2023 р. № 502 та від 3 травня 2024 р. № 507 і оформлена відповідно до наказу МОН України № 40 від 12. 01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» та рекомендується до проведення публічного захисту дисертації з метою присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Висновок підготовлено за результатами фахового семінару, який відбувся 10 травня 2024 року на кафедрі мікробіології за участі фахівців кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова.

**Головуючий на засіданні**

завідувач кафедри мікробіології

ВНМУ ім. М. І. Пирогова

д.мед.н., професор

10.05.2024 р.

Валентин КОВАЛЬЧУК



Підпис Новолісчук В.  
завіряю  
зав. відділу кадрів  
Вінницького національного  
медичного університету  
ім. М. І. Пирогова  
В. Новолісчук  
« 10 » 05 2024 р.