



## АНОТАЦІЯ

*Дениско Т. В.* Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 “Біологія” за спеціальністю 091 “Біологія” – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2024.

Метою дисертаційної роботи є встановлення фізико-хімічних та протимікробних властивостей нових антимікробних біоматеріалів, розроблених на основі четвертинних амонієвих сполук, в умовах експерименту.

Дисертація присвячена мікробіологічному обґрунтуванню 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, зони хірургічного втручання.

В умовах широкого розповсюдження резистентних мікроорганізмів ефективне лікування ран сьогодні залежить від неантибіотичних протимікробних засобів. На фоні зниження ефективності антибіотиків та недоцільності їх застосування у боротьбі з мікробною біоплівкою вкотре набуває актуальності застосування антисептиків в схемах комплексної профілактики та лікування. Але не тільки активність лікарської сполуки, але і спосіб доставки впливає на численні фактори, які сприяють терапевтичній ефективності. Таким чином, розробка і впровадження біоматеріалів у формі біоактивних, або лікувальних ранових пов’язок з інтегрованими біоактивними компонентами (антисептиками) для забезпечення контрольованого антибактеріального лікування є актуальною і перспективною.

Зразки біоматеріалів із декаметоксином (ДКМ) виготовляли із альгінату кальцію, полівінілового спирту та антисептика ДКМ методом сольвентного лиття (лиття із розчинника). Антибактеріальну активність розроблених біоматеріалів та

комерційних ранових покриттів вивчали за допомогою загальноприйнятого методу дискової дифузії з реєстрацією та порівнянням діаметрів зон затримки росту.

Для розробки ефективного складу протимікробного біоматеріалу було проведено всебічне мікробіологічне вивчення та порівняння ефективності сучасних антисептиків щодо референтних та клінічних штамів з множинною лікарською стійкістю (МЛС) *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii* та *P.aeruginosa* в планктонній та біоплівковій формі, а також оцінено їх активність та цидну дію.

Доведено високу протимікробну активність антисептичних препаратів на основі четвертинних амонієвих сполук та йодофорів проти референтних та клінічних полірезистентних штамів сучасних ранових патогенів. Значення мінімальних бактеріостатичних (МІК) та бактерицидних концентрацій (МБЦК) антисептиків завжди були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації (крім цидної концентрації 0,01 % МРМ щодо *P.aeruginosa*). Всі засоби проявляли переважно бактерицидні властивості, про що свідчить коефіцієнт співвідношення МБЦК/МІК менший, ніж «4». ДКМ та його лікарська форма декасан (ДС) характеризувались високими показниками антимікробної ефективності. ДКМ та ДС проявляли найсильнішу дію проти полірезистентних штамів *S.aureus* (МІК становили відповідно  $7,12 \pm 1,05$  мкг/мл та  $7,66 \pm 0,6$  мкг/мл; МБЦК –  $12,29 \pm 1,38$  мкг/мл та  $12,38 \pm 6,64$  мкг/мл), *E.coli* (МІК становили відповідно  $7,19 \pm 0,53$  мкг/мл і  $7,83 \pm 0,49$  мкг/мл; МБЦК –  $11,30 \pm 0,76$  мкг/мл та  $12,25 \pm 0,88$  мкг/мл), *K.pneumoniae* (МІК становили відповідно  $9,6 \pm 0,75$  мкг/мл і  $10,34 \pm 0,85$  мкг/мл; МБЦК –  $20,61 \pm 1,49$  мкг/мл та  $21,15 \pm 1,15$  мкг/мл), *P.aeruginosa* (МІК становили відповідно  $63,24 \pm 5,24$  мкг/мл і  $68,68 \pm 4,2$  мкг/мл; МБЦК –  $107,89 \pm 5,85$  мкг/мл та  $103,2 \pm 12,88$  мкг/мл); ДКМ, ДС та октенідин (ОКТ) були найефективнішими проти полірезистентного *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). Бактерицидна дія ДКМ на ацинетобактерії достовірно перевищувала таку хлоргексидину (ХГ) у 3,21 рази ( $p < 0,001$ ). Біоцидні властивості ДКМ достовірно перевищували бактерицидну дію мірамістину (МРМ) у 1,77 рази ( $p < 0,001$ ) та полігексаніду (ПГМБ) у 1,89 рази ( $p < 0,01$ ).

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

Аналіз показників ІАА виявив недостатню ефективність повідон-йоду у рекомендованій концентрації 1 % проти мультирезистентних *E.coli* та *K.pneumoniae*, а також концентрації вихідного розчину препарату МРМ (0,01%) недостатньо для профілактики і лікування інфекційних ускладнень, спричинених штамми *A.baumannii* та *P.aeruginosa* з МЛС, 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 МРМ 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.

Рівень цидної активності антисептиків також було оцінено за допомогою коефіцієнта співвідношення бактерицидного і бактеріостатичного ІАА. Найвищі показники (що свідчило про більш цидну активність) проти *A.baumannii* та *E.coli* було визначено для повідон-йоду (0,70 та 0,83). Серед антисептиків ЧАС найвищу бактерицидну дію проти *E.coli* мав ДКМ: відношення БЦ до БС ІАА становило 0,7. Щодо МЛС *K.pneumoniae* найбільші показники визначено для повідон-йоду та ОКТ (0,69 та 0,73), щодо МЛС штамів *P.aeruginosa* – у ПГМБ (0,88). Найбільш висока цидна активність по відношенню до *S.aureus* була характерна для ДС (0,6).

ДКМ, ПГМБ та повідон-йод проявили найбільш виражений ефект пригнічення утворення біоплівки штамами *K.pneumoniae* з МЛС. Через значне пригнічення утворення біоплівки та позитивну кореляцію ( $r=0,5$ ) цієї властивості з чутливістю полірезистентних штамів *K.pneumoniae* до ДКМ, його слід розглядати як ефективний антибіоплівковий засіб. ОКТ, ХГ та ДКМ у суббактеріостатичних концентраціях демонстрували найефективніший інгібуючий вплив на формування біоплівки штамами *S.aureus*. ХГ, ДКМ і ПГМБ показали високу активність проти утворення біоплівки клінічними ізолятами *E.coli*. У присутності суббактеріостатичних концентрацій ХГ та ПГМБ біоплівкоутворювальні властивості штамів *E.coli* помірно, але позитивно корелювали з їх чутливістю ( $r=0,49$  та  $r=0,11$  відповідно). ДКМ у суббактеріостатичних концентраціях найбільш ефективно пригнічував утворення біоплівки *E.coli*, і кореляція була негативною ( $r=-0,67$ ), що свідчить про залежність здатності препарату ефективно пригнічувати утворення біоплівки від його концентрації. Суббактеріостатичні концентрації ДКМ значно пригнічували утворення біоплівки *A.baumannii*. Ця властивість обернено корелювала з чутливістю штамів до ДКМ ( $r= - 0,76$ ). Антибіоплівкова активність ХГ слабо, 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*. ОКТ в суббактеріостатичних концентраціях демонстрував найсильніший вплив на незрілу біоплівку *P.aeruginosa*. Здатність штамів *P.aeruginosa* з МЛС формувати біоплівки в присутності суббактеріостатичних концентрацій антисептиків і їх чутливість до антисептиків характеризувалась негативною кореляцією. Чутливість до впливу антисептиків культур, які знаходились в зрілих біоплівках, була значно нижчою. Тестовані концентрації антисептиків не руйнували сформовану біоплівку більш ніж на 42,4%.

В результаті дослідження та порівняльної оцінки антимікробних властивостей нових та комерційно доступних біоматеріалів (ранових пов'язок) на основі антисептиків було виявлено високий рівень протимікробної активності нових біоматеріалів з вмістом 0,05 – 0,1 % ДКМ. Розроблені біоматеріали не поступались відомим ефективним рановим покриттям з вмістом іонів срібла і катіонних

поверхнево-активних антисептиків, ефективно пригнічували ріст референтних і клінічних штамів *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *E.coli*, часто демонстрували найкращий ефект. Найвищою антистафілоковою дією володіли біоматеріали з ДКМ (0,05 – 0,1 %), пов'язки Suprasorb®, Guanpolisept®, Bétadine®. Найвищою активністю проти клінічних штамів стафілококу володів біоматеріал на основі альгінату кальцію, полівінілового спирту та 0,05 % вмістом ДКМ, про що свідчили достовірно більші у 1,85-2,6 рази зони затримки росту (ЗЗР) *S.aureus*, ніж у випадку срібло- та йод-вмісних покриттів ( $p < 0,001$ ). Найсильнішу дію на референтний та клінічні штами *E.coli* проявили біоматеріали з ДКМ (0,05 – 0,1 %) та Suprasorb®. Ефективність зразка на основі альгінату кальцію та полівінілового спирту з 0,05 % ДКМ проти клінічних штамів *E.coli* з МЛС у 1,7-2,14 разів перевищувала активність пов'язки зі сріблом та йодофорами ( $p < 0,001$ ). Клінічні штами *K.pneumoniae* були найбільш чутливі до Suprasorb® та зразків з ДКМ. Найбільш ефективними були біоматеріали на основі ДКМ та ПГМБ. ЗЗР референтних та клінічних штамів *A.baumannii* навколо ДКМ-вмісних зразків перевищували ЗЗР навколо пов'язок зі сріблом (у 1,81-2,16 рази;  $p < 0,001$ ) та йодофорами (у 1,62-1,68 рази;  $p < 0,001$ ). Встановлено найвищу ефективність зразків із 0,05 – 0,1 % вмістом ДКМ щодо референтних та клінічних штамів *P.aeruginosa*, їх ефективність виявилась рівноцінною, а достовірності різниці значень з іншими біоматеріалами однаково високими ( $p < 0,001$ ). Біоматеріали з вмістом срібла мали меншу ефективність щодо актуальних мікробних ранових патогенів, ніж біоматеріали з ЧАС.

Біоматеріали усіх тестованих складів мали здатність підтримувати контрольоване вивільнення антисептика (ДКМ) впродовж 120 год. Вивільнення лікарського засобу залежало від часу і не залежало від концентрації лікарського засобу або варіанту композиції матриці. Із двох зразків із високим вмістом ДКМ – 0,1 %, тільки для зразка з біополімерами, який містив додатково ЕДТА були характерні більш високі концентрації вивільненого засобу на пізніх етапах дослідження (починаючи з другої доби), в порівнянні з іншими зразками. На першу годину дослідження профілі вивільнення ДКМ із зразків біоматеріалів були рівнозначними: концентрації коливались від  $4,61 \pm 1,07$  до  $5,51 \pm 1,07$  мкг/мл. До того ж, слід зазначити, що не було

«вибухового вивільнення», що завжди важливо досягнути у розробці систем контрольованого вивільнення. Оцінка кінетичних профілів вивільнення ДКМ свідчить про те, що протягом 24 год створюється достатня концентрація для забезпечення цидного ефекту на всі штами досліджених ранових патогенів з МЛС, в тому числі *P.aeruginosa*. На основі даних кінетики вивільнення ДКМ та мікробіологічного дослідження біоматеріалів, можна зробити висновок, що біоматеріали із різною концентрацією активної речовини (0,5%, 0,6% та 0,1%) є рівноцінно ефективними впродовж першої доби та здатні підтримувати тривале контрольоване вивільнення активної сполуки (декаметоксин).

**Ключові слова:** антибіотикорезистентність, антимікробні біоматеріали, антимікробна бактерицидна активність, антисептики, антибіоплівкова активність, бактеріальна біоплівка, біополімери, декаметоксин, грамнегативні умовно-патогенні мікроорганізми, катіонні поверхнево активні речовини, множинна лікарська стійкість, альгінат кальцію, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

## SUMMARY

*Denysko T. V.* Microbiological substantiation for the development of antimicrobial biomaterials - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for obtaining a degree of Doctor of Philosophy in the field of study 09 “Biology”, in specialty 091 “Biology”. – National Pirogov Memorial Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2024.

The aim of the dissertation is to establish the physicochemical and antimicrobial properties of new antimicrobial biomaterials developed on the basis of quaternary ammonium compounds (QAC) under experimental conditions.

The dissertation is devoted to the microbiological substantiation of the development of bioactive antimicrobial biomaterials with controlled release of the active compound based on antiseptic preparations, calcium alginate and polyvinyl alcohol, with the prospect of using film materials as a medicinal form of antimicrobial wound dressings for the treatment of infectious complications of wounds, burns, and surgical site infections.

In the conditions of widespread distribution of resistant microorganisms, effective treatment of wounds today depends on non-antibiotic antimicrobial agents. Against the background of the decrease in the effectiveness of antibiotics and the impracticality of their use in the fight against microbial biofilm, the use of antiseptics in the schemes of complex prevention and treatment is once again becoming relevant. But not only the activity of the medicinal compound, but also the method of delivery affects numerous factors that contribute to therapeutic effectiveness. Therefore, the development and implementation of biomaterials in the form of bioactive or therapeutic wound dressings with integrated bioactive molecules (antiseptics) to achieve controlled antibacterial treatment is relevant and promising.

Samples of biomaterials with decamethoxine (DCM) were made from calcium alginate, polyvinyl alcohol and antiseptic DCM by solvent casting method. The antibacterial activity of the developed biomaterials and commercial wound dressings was studied using the generally accepted disc diffusion method with registration and comparison of the diameters of zones of inhibition (ZOI).

In order to develop an effective composition of antimicrobial biomaterial, a comprehensive microbiological study and comparison of the effectiveness of modern antiseptics against reference and clinical strains with multiple drug resistance (MDR) of *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii* and *P.aeruginosa* in planktonic and biofilm form was conducted, and their activity and bactericidal action were also evaluated.

The high antimicrobial activity of antiseptic preparations based on QAC and iodophors against reference and clinical polyresistant strains of modern wound pathogens has been proven. The values of the minimum inhibitory (MIC) and bactericidal concentrations (MBC) of antiseptics were always lower than the initial commercial concentrations (except for the 0.01% miramistin concentration against *P.aeruginosa*). All agents showed mainly bactericidal properties, as evidenced by the MBC /MIC ratio lower than “4”. DCM and its medicinal form decasan (DS) were characterized by high indicators of antimicrobial efficiency. DCM and DS showed the strongest effect against MDR *S.aureus* strains (MICs were  $7,12 \pm 1,05$   $\mu\text{g/ml}$  and  $7,66 \pm 0,6$   $\mu\text{g/ml}$ , respectively; MBCs –  $12,29 \pm 1,38$   $\mu\text{g/ml}$  and  $12,38 \pm 6,64$   $\mu\text{g/ml}$ ), *E.coli* (MICs were  $7,19 \pm 0,53$   $\mu\text{g/ml}$  and  $7,83 \pm 0,49$   $\mu\text{g/ml}$ ,



respectively; MBCs –  $11,30 \pm 0,76 \mu\text{g/ml}$  and  $12,25 \pm 0,88 \mu\text{g/ml}$ ), *K.pneumoniae* (MICs were  $9,6 \pm 0,75 \mu\text{g/ml}$  and  $10,34 \pm 0,85 \mu\text{g/ml}$ , respectively; MBCs –  $20,61 \pm 1,49 \mu\text{g/ml}$  and  $21,15 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$ ), *P.aeruginosa* (MICs were  $63,24 \pm 5,24 \mu\text{g/ml}$  and  $68,68 \pm 4,2 \mu\text{g/ml}$ , respectively; MBCs –  $107,89 \pm 5,85 \mu\text{g/ml}$  and  $103,2 \pm 12,88 \mu\text{g/ml}$ ); DCM, DS and octenidine (OCT) were the most effective against polyresistant *A.baumannii* (MICs were  $18,8 \pm 3,78 \mu\text{g/ml}$ ;  $19,83 \pm 3,35 \mu\text{g/ml}$  and  $17,38 \pm 2,27 \mu\text{g/ml}$ , respectively; MBCs –  $36,17 \pm 5,17 \mu\text{g/ml}$ ;  $38,32 \pm 6,34 \mu\text{g/ml}$  and  $36,82 \pm 4,69 \mu\text{g/ml}$ ). The bactericidal effect of DCM on *Acinetobacter spp.* was significantly higher than that of chlorhexidine (CHG) by 3,21 times ( $p < 0,001$ ). The biocidal properties of DCM significantly exceeded the bactericidal effect of miramistin (MRM) by 1,77 times ( $p < 0,001$ ) and polyhexanide (PHMB) by 1,89 times ( $p < 0,01$ ).

As a result of the interpretation and analysis of the obtained data, the effectiveness and expediency of using drugs against certain pathogens were evaluated, antiseptics were compared with each other using bacteriostatic and bactericidal indices of antiseptic activity (BS IAA and BC IAA), since currently there are no established recommendations for determining the resistance breakpoints to antiseptics from the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) or the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Also, the biocidal activity of antiseptics was evaluated as the most desirable for preventing the emergence and spread of antibiotic resistance.

The analysis of IAA indicators revealed the insufficient effectiveness of povidone-iodine in the recommended concentration of 1% against MDR *E.coli* and *K.pneumoniae*, as well as the concentration of the initial solution of the drug MRM (0,01%) is insufficient for the prevention and treatment of infectious complications caused by strains of *A.baumannii* and *P.aeruginosa* with MDR, as BS IAA and BC IAA are below the threshold value (both  $< 4$ ). Differentiation of IAA indicators by BS and BC effects of action showed insufficient bactericidal activity of povidone-iodine against clinical strains of *A.baumannii* at a working solution concentration of 1,0% (BS IAA=5,6; BC IAA=3,9), povidone-iodine in concentrations of 2% against MDR *K.pneumoniae* (BS IAA=4,77; BC IAA=3,27), as well as MRM in a concentration of 0,01% against *E. coli* with MDR (BS IAA=5,7; BC IAA=

3,3), which calls into question the expediency of using these antiseptics in such a concentration.

The level of the cidal antiseptic activity was also evaluated using the ratio of bactericidal and bacteriostatic IAA. The highest values (indicating more cidal activity) against *A.baumannii* and *E.coli* were determined for povidone-iodine (0,70 and 0,83). Among the antiseptics of QAC, DCM had the highest bactericidal effect against *E.coli*: the ratio of BC to BS IAA was 0,7. Against MDR *K.pneumoniae*, the highest indicators were determined for povidone-iodine and octenidine (0,69 and 0,73), against MDR *P.aeruginosa* strains – in PHMB (0,88). The highest cidal activity against *S.aureus* was characteristic of DS (0,6).

DCM, PHMB and povidone-iodine showed the most pronounced effect of inhibiting the formation of biofilms by *K.pneumoniae* strains with MDR. Due to the significant inhibition of biofilm formation and the positive correlation ( $r=0,5$ ) of this property with the susceptibility of MDR strains of *K.pneumoniae* to DCM, it should be considered as an effective anti-biofilm agent. OCT, CHG and DCM in sub-bacteriostatic concentrations demonstrated the most effective inhibitory effect on the formation of biofilm by *S.aureus* strains. CHG, DCM and PHMB showed high activity against biofilm formation by clinical isolates of *E. coli*. In the presence of sub-bacteriostatic concentrations of CHG and PHMB, the biofilm-forming properties of *E.coli* strains were moderately but positively correlated with their susceptibility ( $r=0,49$  and  $r=0,11$ , respectively). DCM at sub-bacteriostatic concentrations most effectively inhibited *E.coli* biofilm formation, and the correlation was negative ( $r=-0,67$ ), which indicates the dependence of the drug's ability to effectively suppress biofilm formation on its concentration. Sub-bacteriostatic concentrations of DCM significantly inhibited *A.baumannii* biofilm formation. This property was inversely correlated with the susceptibility of strains to DCM ( $r= - 0,76$ ). The antibiofilm activity of CHG was positively correlated with the susceptibility of *A.baumannii* to this antiseptic, but the value of the correlation coefficient was low ( $r=0,15$ ). All tested antiseptics in sub-bacteriostatic concentrations were effective against *P.aeruginosa* biofilm. OCT in sub-bacteriostatic concentrations demonstrated the strongest effect on the immature biofilm of *P.aeruginosa*. The ability of *P.aeruginosa* strains with MDR to form biofilms in the

presence of sub-bacteriostatic concentrations of antiseptics and their susceptibility to antiseptics was characterized by a negative correlation. Susceptibility to the influence of antiseptics of cultures that were in mature biofilms was significantly lower. The tested concentrations of antiseptics did not destroy the formed biofilm by more than 42,4%.

As a result of research and comparative assessment of antimicrobial properties of new and commercially available biomaterials (wound dressings) based on antiseptics, a high level of antimicrobial activity of new biomaterials with a content of 0,05-0,1% DCM was revealed. The developed biomaterials were not inferior to known effective wound dressings containing silver ions and cationic surfactants; they effectively inhibited the growth of reference and clinical strains of *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *E.coli*, and often demonstrated the best effect. Biomaterials with DCM (0,05-0,1%), Suprasorb®, Guanpolisept®, Bétadine® dressings had the highest antistaphylococcal effect. Biomaterial with 0.1% content of DCM, calcium alginate and polyvinyl alcohol had the highest activity against clinical strains of *S. aureus*, evidenced by significantly 1,85-2,6 times greater ZOI of *S.aureus* than in the case of silver- and iodine-containing dressings ( $p < 0,001$ ). Biomaterials with DCM (0,05-0,1%) and Suprasorb® showed the strongest effect on reference and clinical strains of *E.coli*. The effectiveness of the sample of calcium alginate and polyvinyl alcohol with 0,05% DCM against clinical strains of *E.coli* with MDR was 1,7-2,14 times higher than the activity of the dressings with silver and iodophors ( $p < 0,001$ ). Clinical strains of *K.pneumoniae* were most susceptible to Suprasorb® and samples with DCM. Biomaterials based on DCM and PHMB were the most effective. The ZOIs of reference and clinical strains of *A.baumannii* around DCM-containing samples exceeded the ZOIs around dressings with silver (1,81-2,16 times;  $p < 0,001$ ) and iodophors (1,62-1,68 times;  $p < 0,001$ ). The highest efficiency of samples with 0,05-0,1% DCM content was established against reference and clinical strains of *P.aeruginosa*, their efficiency was equal, and the reliability of the difference in values with other biomaterials was equally high ( $p < 0,001$ ). Silver biomaterials were less effective against topical microbial wound pathogens than QAC biomaterials.

Biomaterials of all tested compositions had the ability to maintain controlled release of antiseptic (DCM) for 120 hours. Drug release was time-dependent and independent of

drug concentration or matrix composition variant. Of the two samples with a high content of DCM - 0,1%, only the sample with biopolymers, which additionally contained EDTA, was characterized by higher concentrations of the released agent at the later stages of the experiment (starting from the second day), compared to the other samples. During the first hour of the experiment, the profiles of DCM release from biomaterial samples were equivalent: concentrations ranged from  $4,61 \pm 1,07$  to  $5,51 \pm 1,07$   $\mu\text{g/ml}$ . In addition, it should be noted that there was no “burst release”, which is always important to achieve in the design of controlled drug release systems. The evaluation of the kinetic profiles of DCM release indicates that within 24 hours, sufficient concentrations are created to ensure a cidal effect on all strains of the investigated wound pathogens with MDR, including *P.aeruginosa*. Based on the data on the kinetics of DCM release and the microbiological study of biomaterials, it can be concluded that biomaterials with different concentrations of the active substance (0,5%, 0,6% and 0,1%) are equally effective during the first day and are able to maintain a prolonged controlled release of the active compound (decamethoxine).

**Key words:** antibiotic resistance, antimicrobial biomaterials, antimicrobial bactericidal activity, antiseptics, antibiofilm activity, bacterial biofilm, biopolymers, decamethoxine, Gram-negative opportunistic microorganisms, cationic surface-active substances, multi-drug resistance, calcium alginate, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

### Список публікацій здобувача за темою дисертації

*Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації*

1. **Denysko, T. V.**, Nazarchuk, O. A., Gruzevskyi, O., Bahniuk, N. À., Dmytriiev, D. V., Chornopyschuk, R. M., & Bebyk, V. V. (2022). *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of antiseptics against clinical *Acinetobacter baumannii* strains isolated from combat wounds. *Frontiers in microbiology*, 13, 932467. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.932467> .

2. Nazarchuk O., **Denysko T.**, Dmytriiev D., Chornopyschuk N., Hruzevskyi O., Burkot V., Nazarchuk H., Ksenchyna K. *In vitro* evaluation of antimicrobial and antibiofilm 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.

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

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

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. DOI: <https://doi.org/10.31393/bba39-2020-05>

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

7. Назарчук, О. А., Грузевський, О. А., **Дениско, Т. В.**, Чернопищук, Р. М., & Кагльак, 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> .

8. Назарчук О. А., **Дениско Т.В.**, Грузевський О. А., Чернопищук Р. М., Багнюк Н. А. 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). – С. 67-68.

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.

10. **Denysko T.**, Nazarchuk O., Bahniuk N., Hruzevskyi O., Bebyk V., Chornopyschuk R. 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

11. **Дениско Т.В.**, Большакова Г. М., Кольцова І.Г., Кагляк М.Д., Кобильник С.М., Дубіна А.В., Гуменюк Л.Д. (2023) 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.

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

<https://www.abstractsonline.com/pp8/#!/10789/presentation/6671>

13. Nazarchuk H., **Denysko T.**, Gruzevsky O.. 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>

14. Nazarchuk H., **Denysko T.**, Chornopyschuk R. (2023). 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. <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01276-2>

15. Nazarchuk H., **Denysko T.**, Nazarchuk O., Bahniuk N., Bebyk V. (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\\_Abstract\\_E-Book.pdf](https://www.professionalabstracts.com/soe2023/eBook/epaper/SOE2023_Abstract_E-Book.pdf)

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	18
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1. ВВЕДЕННЯ У БІОМАТЕРІАЛИ. НАТУРАЛЬНІ ТА СИНТЕТИЧНІ ПОЛІМЕРНІ БІОМАТЕРІАЛИ. АНТИМІКРОБНІ БІОМАТЕРІАЛИ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ДЛЯ РОЗРОБКИ РАНОВИХ ПОКРИТТІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ) .....	30
1.1. Сучасні уявлення про біоматеріали та їх класифікація.....	30
1.2. Природні та синтетичні полімерні біоматеріали для лікування ран.	
Розробка антимікробних біоматеріалів для ранових покриттів .....	35
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	44
2.1. Характеристика антисептичних препаратів, які було використано у тестуванні їх активності щодо референтних та клінічних МЛС штамів мікроорганізмів. ....	44
2.2. Характеристика полімерів та хімічних реагентів .....	54
2.3. Склад зразків розроблених біоматеріалів .....	59
2.4. Характеристика досліджуваних умовно-патогенних мікроорганізмів .....	64
2.5. Методика визначення чутливості мікроорганізмів до антисептиків.	66
2.6. Методика дослідження дії антисептиків на незрілу та сформовану біоплівку мікроорганізмів .....	67
2.7. Методика виготовлення зразків біоматеріалів .....	69
2.8. Методика визначення антимікробної дії розроблених біоматеріалів та комерційних ранових покриттів на референтні та клінічні штами ранових патогенів .....	73
2.9. Методика дослідження кінетики вивільнення ДКМ із розроблених біоматеріалів .....	74
2.10. Методика статистичної обробки результатів .....	75



РОЗДІЛ 3. ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ СУЧАСНИХ АНТИСЕПТИЧНИХ ЗАСОБІВ ЩОДО ЗБУДНИКІВ РАНОВИХ ІНФЕКЦІЙ З ОЗНАКАМИ МНОЖИННОЇ ЛІКАРСЬКОЇ СТІЙКОСТІ .....	76
3.1. Вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	76
3.2. Вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами <i>Escherichia coli</i> .....	83
3.3. Вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	90
3.4. Вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами <i>Staphylococcus aureus</i> .....	96
3.5. Вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	103
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БІОМАТЕРІАЛІВ НА ОСНОВІ ПОЛІМЕРІВ ТА АНТИСЕПТИКІВ .....	117
4.1. Скринінг розроблених пробних зразків антимікробних біоматеріалів на основі декаметоксину та полімерів .....	117
4.2. Порівняльне дослідження антимікробних властивостей розроблених біоматеріалів .....	119
4.3. Порівняльне дослідження антимікробних властивостей розроблених біоматеріалів з декаметоксином та комерційно доступних ранових покриттів на основі антисептиків .....	140
РОЗДІЛ 5. ДОСЛІДЖЕННЯ КІНЕТИКИ ВИВІЛЬНЕННЯ ДКМ ІЗ РОЗРОБЛЕНИХ БІОМАТЕРІАЛІВ .....	154
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	161
ВИСНОВКИ .....	182
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ .....	186
ДОДАТКИ.....	221

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

- ATCC – American taxonomic culture collection
- BC IAA – bactericidal index of antiseptic activity
- BS IAA – bacteriostatic index of antiseptic activity
- Ca-Alg – Calcium Alginate (альгінат кальцію)
- CHG – chlorhexidine
- CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute (Інститут клінічних та лабораторних стандартів)
- DCM – decamethoxine
- DDS – drug delivery system
- DS – decasan
- EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Європейський комітет з тестування чутливості до антимікробних засобів)
- ESBL – бета-лактамаза розширеного спектру
- HCAI – healthcare-associated infections (інфекції, пов'язані з наданням медичної допомоги)
- IAA– index of antiseptic activity
- M – середнє арифметичне значення вибірки
- $m^*$  – стандартне відхилення середнього результату (середня похибка середнього арифметичного)
- MIC – minimum inhibitory concentration
- MBC – minimum bactericidal concentration
- MDR – multiple drug resistance
- MRSA – метицилінрезистентний золотистий стафілокок
- MRM – miramistin
- p – довірча вірогідність
- PHMB – polyhexanide (polyhexamethylene biguanide)
- PVA – polyvinyl alcohol
- r – коефіцієнт кореляції
- SSIs – surgical site infections (Інфекції зони хірургічного втручання)

EDTA – ethylenediaminetetraacetic acid  
OCT – Octenidine  
ODU – optical density unit  
QAC – quaternary ammonium compounds  
ZOI – zones of inhibition  
БАР – біологічно активна речовина  
БС IAA – бактеріостатичний індекс активності антисептика  
БЦ IAA – бактерицидний індекс активності антисептика  
ВНМУ – Вінницький національний медичний університет  
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я  
ДДМ – диско-дифузійний метод  
ДЗЗР – діаметр зони затримки росту  
ДКМ – декаметоксин  
ДС – декасан  
ЕДТА – етилендіамінтетраоцтова кислота  
ЗЗР – зона затримки росту  
ІАА – індекс активності антисептика  
ІПМД – інфекції, пов'язані з наданням медичної допомоги  
МБцК – мінімальна бактерицидна концентрація  
МІК – мінімальна інгібуюча концентрація  
МЛС – множинна лікарська стійкість  
МРМ – мірамістин  
ОКТ – октенідин  
ООГ – одиниця оптичної густини  
ПАР – поверхнево - активна речовина  
ПВС – Полівініловий спирт  
ПГМБ – полігексанід (полігексаметилен-бігуанід)  
ХГ – хлоргексидин  
ЧАС – четвертинна амонієва сполука

## ВСТУП

**Актуальність 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 [1-3].

Масштаби проблеми були визначені країнами G7, які висловили рішучу підтримку першого Глобального плану дій Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) щодо антимікробної резистентності (АМР) [4, 5].

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» [6, 7].

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 [2, 8].

Численні причини «глобального резистому» сприяють тиску генетичного відбору та появі бактеріальних МЛС інфекцій у суспільстві [9-13].

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 [14, 15].

Гострі і хронічні рани із критичною колонізацією, ускладнені мікробними біоплівками залишаються серйозною проблемою, яка 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 [16-23].

Висока чутливість актуальних на сьогодні збудників до антисептичних засобів обґрунтовує необхідність розширеного їх застосування в комплексній профілактиці ранових інфекцій та лікуванні ран [19, 24-27]. 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 [28].

Розробка нових удосконалених біоматеріалів з поліпшеними властивостями стає все більш важливою у широкому діапазоні застосувань. Однак одними з найбільш затребуваних властивостей біоматеріалів є антимікробні, які дозволяють перешкоджати виникненню небажаних інфекцій [29].

Найпростішим способом заміни бар'єрної функції неушкодженої шкіри є накладення пов'язки [17]. Перспективні біоактивні чи лікувальні ранові пов'язки з антимікробними властивостями виготовляють на основі біоматеріалів (природні або синтетичні матеріали, створених для взаємодії з біологічними системами) як депо-форм з інтегрованими біоактивними молекулами (біоциди) для досягнення контрольованого локального антибактеріального лікування [18, 30, 31]. Такі лікарські форми ефективно доставляють ліки, максимізуючи терапевтичну ефективність при мінімізації будь-яких побічних ефектів [32].

Використання біоматеріалів для догляду за ранами пропонує безліч переваг, що впливають із їхніх виняткових характеристик, таких як 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 [33].

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідної роботи кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М. І. Пирогова та є основним фрагментом наукового проекту «Дослідження біологічних властивостей мікроорганізмів, віднесених Всесвітньою організацією охорони здоров'я до списку «пріоритетних патогенів», що є найбільш загрозливими для здоров'я людини, та розробка засобів боротьби з ними» (№ 0117U006903), що має назву «Дослідження біологічних властивостей мікроорганізмів, отриманих від поранених під час війни в Україні».

**Мета** – встановлення фізико-хімічних та протимікробних властивостей нових антимікробних біоматеріалів, розроблених на основі четвертинних амонієвих сполук, в умовах експерименту.

#### **Завдання дослідження:**

1. Дослідити, порівняти та проаналізувати ефективність 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

2. Розробити ефективний склад та технологію виготовлення антимікробних біоматеріалів на основі біополімерів та четвертинних амонієвих сполук.

3. Провести первинний мікробіологічний скринінг протимікробної активності розроблених засобів щодо референтних та клінічних штамів мікроорганізмів.

4. Дослідити та порівняти антимікробну активність 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.

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

**Об'єкт досліджень** – властивості антимікробних біоматеріалів.

*Предмет досліджень* – антимікробні біоматеріали та їх вплив на умовно-патогенні мікроорганізми.

*Методи дослідження:* мікробіологічні (культивування мікроорганізмів для скринінгу розроблених складів біоматеріалів на основі їх антимікробних властивостей; дослідження біологічних властивостей мікроорганізмів в т.ч. вивчення чутливості до антисептичних засобів, антимікробних біополімерних матеріалів, вивчення біоплівкоутворюючих властивостей), фізико-хімічні (виготовлення полімерних протимікробних композицій, вивчення їх властивостей, спектрофотометричний аналіз біоплівкоутворюючих властивостей мікроорганізмів), статистичні (методи варіаційної статистики, визначення коефіцієнту кореляції Пірсона).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено всебічне мікробіологічне дослідження нових біоактивних біоматеріалів з контрольованим вивільненням активної речовини на основі ДКМ, альгінату кальцію, полівінілового спирту на референтних та клінічних штаммах актуальних, клінічно значущих ранових патогенів.

У ході виконання дослідження розроблено принципово нові біоактивні антимікробні полімерні біоматеріали як депо-форми активної речовини – вітчизняного антисептика ДКМ. 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.

Для розробки ефективного складу протимікробного біоматеріалу було проведено всебічне мікробіологічне вивчення та порівняння ефективності сучасних антисептиків. В роботі за результатами проведеного детального дослідження 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 за допомогою індексів активності антисептика, оскільки наразі немає встановлених рекомендацій для визначення порогових показників резистентності до антисептиків від Інституту клінічних лабораторних стандартів (CLSI) або Європейського комітету з тестування чутливості до антимікробних засобів (EUCAST). В роботі наведено нові дані оцінки цидної активності антисептиків як найбільш бажаної для запобігання виникнення та розповсюдження антибіотикорезистентності.

Доведено високу протимікробну активність антисептичних препаратів на основі четвертинних амонієвих сполук та йодофорів проти референтних та клінічних полірезистентних штамів сучасних ранових патогенів. Значення мінімальних бактеріостатичних (МІК) та бактерицидних концентрацій (МБЦК) антисептиків завжди були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації (крім цидної концентрації 0,01% МРМ щодо *P.aeruginosa*). Підтверджено бактерицидні властивості всіх досліджуваних засобів, засвідчені одержаними показниками коефіцієнта співвідношення МБЦК/ МІК. Зокрема, наведено характеристику відомих антисептичних засобів щодо актуальних збудників інфекції ран, а саме: ДКМ, ДС та ОКТ були найефективнішими проти полірезистентного *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 ДКМ на ацинетобактерії над ХГ 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 виявлено оновлені дані щодо недостатньої ефективності повідон-йоду у рекомендованій концентрації 1 % проти мультирезистентної *E.coli* та *K.pneumoniae*, а також визначено недостатню ефективність концентрації вихідного розчину препарату МРМ (0,01%) при профілактиці і лікуванні ран з інфекційними ускладненнями, спричинених 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 МРМ 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.

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 біоплівкоутворюючою активністю, а також внутрішньою та набутою стійкістю до протимікробних препаратів. ДКМ, ПГМБ та повідон-йод проявили найбільш виражений ефект пригнічення утворення біоплівок МЛС штамми *K.pneumoniae*. Через значне пригнічення утворення біоплівки та позитивну кореляцію ( $r=0,5$ ) цієї властивості з чутливістю полірезистентних штамів *K.pneumoniae* до ДКМ, його слід розглядати як ефективний антибіоплівковий засіб. Всі тестовані антисептики у суббактеріостатичних концентраціях визначено як ефективні проти біоплівки *P.aeruginosa*. ОКТ в суббактеріостатичних концентраціях демонстрував найсильніший вплив на незрілу біоплівку *P.aeruginosa*. визначено негативну кореляцію між здатністю МЛС штамів *P.aeruginosa* формувати біоплівки в присутності суббактеріостатичних концентрацій антисептиків та чутливістю цих ізолятів до антисептиків. Показано вкрай низьку чутливість культур, які знаходились в зрілих біоплівках, до дії антисептиків, які руйнували сформовану біоплівку менш ніж на 42,4 %.

В результаті дослідження та порівняльної оцінки антимікробних властивостей нових та комерційно доступних біоматеріалів (ранових пов'язок) на основі антисептиків 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 срібло-вмісним та рановим покриттям на основі катіонних детергентів, активно пригнічували ріст референтних та клінічних штамів ранових патогенів, часто демонстрували найкращий ефект. Найвищою активністю проти

клінічних штамів стафілококу володів біоматеріал з вмістом 0,05% ДКМ, про що свідчили достовірно більші зони затримки росту клінічних штамів *S.aureus*, ніж при застосуванні срібло- та йод-вмісних покриттів (у 1,85-2,6 рази;  $p < 0,001$ ). Вперше встановлено найсильнішу дію на референтний та клінічні штами *E.coli* біоматеріалів з ДКМ (0,05 – 0,1 %) та Suprasorb®, а також достовірні переваги ефективності зразка з вмістом 0,05 % ДКМ над пов'язками зі сріблом та йодофорами проти клінічних МЛС штамів *E.coli* (у 1,7-2,14 разів;  $p < 0,001$ ). Вперше *in vitro* встановлено переваги ефективної затримки росту референтних та клінічних штамів *A.baumannii* навколо ДКМ-вмісних зразків над срібло-вмісними засобами (у 1,81-2,16 рази;  $p < 0,001$ ) та над пов'язками з йодофорами (у 1,62-1,68 рази;  $p < 0,001$ ). Вперше доведено високу ефективність зразків із 0,05 – 0,1 % ДКМ щодо референтних та клінічних штамів *P.aeruginosa*, антимікробна активність яких виявилась рівноцінною, а достовірності різниці значень з іншими біоматеріалами однаково високими ( $p < 0,001$ ). Показано, що срібло-вмісні біоматеріали були менш ефективні щодо сучасних ранових патогенів, ніж ЧАС-вмісні біоматеріали.

Вперше вивчено кінетику вивільнення активної речовини із зразків нових антимікробних біоматеріалів з ДКМ, доведено, що біоматеріали всіх тестованих складів здатні підтримувати контрольоване вивільнення лікарської речовини протягом 120 год. Профілі вивільнення ДКМ свідчать про те, що протягом 24 годин створюється достатня концентрація для забезпечення бактерицидного ефекту на всі полірезистентні штами досліджених ранових патогенів. На основі даних кінетики вивільнення ДКМ 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 ДКМ 0,1% здатні підтримувати більш тривале контрольоване вивільнення активної сполуки (декаметоксину).

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблено нові біоактивні антимікробні біоматеріали з контрольованим вивільненням ефективної антимікробної четвертинної амонієвої сполуки (вітчизняного антисептика ДКМ) із матриці на основі терапевтично значимих полімерів альгілату 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 у схемах комплексної терапії у пацієнтів з інфекційно-запальними ускладненнями ран, опіків, ділянки хірургічного втручання, хронічними ранами. Одержані дані мікробіологічних досліджень містять важливі теоретичні аспекти для доповнення новими даними аналітичної нормативної документації лікарського антисептичного препарату Декаметоксину<sup>®</sup> у вигляді порошку (субстанція) для промислового виробництва лікарських антисептичних препаратів та медичного використання (реєстраційне посвідчення № UA/12180/01/01, 2017 р.) та лікарського антисептичного препарату Декасану<sup>®</sup> у вигляді антисептичного розчину (реєстраційне посвідчення № UA/5364/01/01, 2016 р.), зареєстрованих у державному реєстрі лікарських засобів МОЗ України.

Одержані результати наукових досліджень впроваджені в навчальні програми 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.), Івано-Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 07.11.2023 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням автора. Автор самостійно обрала напрям дослідження, провела патентно-інформаційний пошук, проаналізувала та узагальнила сучасні дані наукової літератури за темою дисертації, за консультативною участю наукових керівників автор сформулювала тему, мету і завдання дослідження, підбрала адекватні методи, розробила дизайн експериментальних досліджень.

Дисертанткою особисто проведено всі експериментальні дослідження та математично-статистичну обробку, аналіз, інтерпретацію та узагальнення результатів проведених досліджень, сформульовано висновки. Дисертантка самостійно написала всі розділи дисертації.

Дисертанткою самостійно проведено мікробіологічні дослідження, за консультативної участі наукових керівників розроблено та виготовлено біоактивні антимікробні біоматеріали у формі плівки на основі ДКМ, альгінату кальцію та полівінілового спирту з перспективою їх застосування у вигляді лікарської форми антимікробних ранових пов'язок з контрольованим вивільненням для лікування інфекційних ускладнень ран, опіків, зони хірургічного втручання.

Автор самостійно дослідила антимікробну активність сучасних антисептиків проти актуальних полірезистентних ранових патогенів, їх вплив на процес формування біоплівки та ступінь ерадикації зрілої біоплівки, вивчила антимікробні властивості розроблених біоактивних біоматеріалів із контрольованим вивільненням активної сполуки, визначила кінетичні профілі вивільнення активної речовини із розроблених біоматеріалів.

В статтях, що написані у співавторстві і опубліковані в періодичних виданнях, вагомий внесок належить автору.

**Апробація результатів дисертації.** Основні наукові положення дисертації представлені та обговорені на Всеукраїнській науково-практичній конференції з

міжнародною участю «Довкілля і здоров'я» присвяченої 35-ій річниці Чорнобильської катастрофи (Тернопіль, 2021); 6<sup>th</sup> International Conference on Prevention & Infection Control (ICPIC) (Женева, Швейцарія, 2021); міжнародній науково-практичній конференції «Medicine and Health care in modern society: topical issues and current aspects» (Люблін, Республіка Польща, 2021); міжнародній науково-практичній дистанційній конференції «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині» (Харків, 2021); FEMS Conference on Microbiology (Белград, Сербія, 2022); International Union of Microbiological Societies Congress (Нідерланди, 2022); науково-практичній конференції «П'ятий національний форум імунологів, алергологів, мікробіологів та спеціалістів клінічної медицини» (Харків, 2023); міжнародній науково-практичній конференції «Congress of the European Society of Ophthalmology (SOE)» (Прага, Чеська республіка, 2023); XX науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2023» (Вінниця, 2023); ASM Microbe: World Microbe Forum (США, 2023); 7<sup>th</sup> International Conference on Prevention and Infection Control (ICPIC) (Женева, Швейцарія, 2023).

**Публікації.** 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.

**Обсяг та структура дисертації.** Робота викладена українською мовою на 227 сторінках комп'ютерного тексту (основний текст на 159 сторінках), 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). Робота ілюстрована 37 таблицями та 46 рисунками.

## РОЗДІЛ 1

# ВВЕДЕННЯ У БІОМАТЕРІАЛИ. НАТУРАЛЬНІ ТА СИНТЕТИЧНІ ПОЛІМЕРНІ БІОМАТЕРІАЛИ. АНТИМІКРОБНІ БІОМАТЕРІАЛИ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ДЛЯ РОЗРОБКИ РАНОВИХ ПОКРИТТІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1. Сучасні уявлення про біоматеріали та їх класифікація

Науково-технічний прогрес, зокрема досягнення в галузі медицини в сучасному світі дають можливість реалізуватися прагненням людини до підвищення якості та тривалості життя. У свою чергу зростання числа громадян похилого віку і вікових патологій стане стимулом для найважливіших відкриттів в медицині, біо-, нанотехнологіях, когнітивних науках і робототехніці. Старіння населення збільшить потребу в додатковому пошуку технологій поліпшення стану здоров'я, які дозволять залишатися фізично досить бадьорими і енергійними набагато довше, ніж сьогодні. Істотну роль в досягненні цих цілей відіграють успіхи в розробці і використанні нових біоматеріалів. У розвиток біоматеріалів вкладаються величезні кошти, а ринок біоматеріалів оцінюється в десятки мільярдів доларів. Очікується, що до 2025 року тільки ринок ранових покриттів, що є однією із форм біоматеріалів, складе 11,2 мільярда доларів, а глобальний ринок біоматеріалів досягне 47,5 мільярдів доларів США до 2025 року з 35,5 мільярдів доларів США у 2020 році [17, 34-37].

Викликами часу, які потребують розробки нових біоматеріалів, також стали зростання захворюваності на діабет та ожиріння, зростання числа дорожньо-транспортних пригод та операцій [34]. Для України найгострішим викликом часу стали бойові дії, збереження життя та полегшення страждань поранених, повернення їх до нормального життя [38].

Визначення поняття «біоматеріали» змінювалось з часом, а у нас в країні зустрічається з двома різними значеннями. Відповідно до рішення з'їзду Європейського товариства фахівців з біоматеріалів (European Society for Biomaterials), прийнятого у 1987 р., біоматеріалами було визначено «нежиттєздатні матеріали, що використовуються в медичних пристроях і призначені для взаємодії з біологічними

системами» [39, 40]. У 2012 р. Міжнародний союз теоретичної та прикладної хімії (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) дав ширше трактування терміну і рекомендував біоматеріалами називати «матеріали, які використовуються в контакті з живими тканинами» [41-43].

Найновіше визначення біоматеріалів, встановлене в рамках консенсусної конференції, організованої під егідою Міжнародного союзу товариств науки та інженерії про біоматеріали, що відбулася в Ченду 2018 р., звучить так: Біоматеріал – це «матеріал, розроблений для прийняття форми, яка може керувати, шляхом взаємодії з живими системами, перебігом будь-якої терапевтичної чи діагностичної процедури». Було вирішено, що цей термін є синонімом «біомедичного матеріалу» [30, 34, 35, 37, 44, 45].

У вітчизняній практиці під терміном біоматеріали також розуміють матеріали із живих тканин. У англomовної наукової спільноти цьому визначенню відповідає поняття «біологічний матеріал» (biological material), і цей термін не підлягає скороченню. А термін «біоматеріал» зарезервовано для позначення природних або синтетичних матеріалів, створених для взаємодії з біологічними системами для спрямованого лікування [35]. Важливо уточнити, що біоматеріали не дорівнюють кінцевим медичним виробам [46].

Напрямок досліджень біомедичних матеріалів, кінцевою метою яких є відновлення, збереження і/або поліпшення функцій тканин, пошкоджених патологічними станами та/або травмами, за останні кілька десятиліть значно просунувся вперед. Біоматеріали широко використовуються для підтримки, збільшення, відновлення або заміни біологічної функції будь-якої пошкодженої тканини та органу людського тіла. Створення штучних тканин або органів для заміни пошкоджених, дисфункціональних стає великою дисципліною в матеріалознавстві [47]. Щоб замінити природні тканини і/або сприяти їх регенерації, біоматеріали повинні володіти властивостями, подібними до властивостей живих організмів. Цієї умови дуже важко досягти. Вчені використовують багато типів матеріалів, щоб вирішити цю проблему з різним ступенем успіху. Але в даний час існує потенціал для регенерації майже кожної тканини і органу людини [37, 48].

Серед основних властивостей біоматеріалів, необхідних для їх застосування в біомедичній сфері виділяють: зручні фізичні та механічні властивості, біосумісність, безпечність та достатня стабільність, біоінертність/біоактивність, достатня міцність, простота виготовлення та низька вартість [37]. Розробка нових вдосконалених матеріалів з поліпшеними властивостями стає все більш важливою у широкому діапазоні застосувань. А особливо затребуваними є антимікробні властивості біоматеріалів [42, 49-51].

Існують різні класифікації біоматеріалів. Матеріали, які постійно контактують з тканинами організму (біоматеріали) поділяються на три категорії у відповідності з характером їх біологічних (біохімічних) реакцій з навколишніми тканинами: біоінертні, біоактивні і біодеградуючі. До біоінертних (біотолерантних) відносять матеріали, які не викликають імунних реакцій, запальних процесів і, отже, не відторгаються організмом, зберігаючи при цьому свою структуру. Під біоактивними розуміють матеріали, які надають спрямованого (позитивного) впливу на навколишні тканини. Біодеградуючі матеріали поступово розчиняються в тілі і заміщуються натуральними тканинами [49, 52].

Загалом, обговорюються п'ять класів біоматеріалів: металеві, керамічні, полімерні, композитні та біологічного походження (Biologically derived biomaterials; наприклад ксеношкіра). За походженням їх можна розділити на дві великі категорії: натуральні та синтетичні [18, 47]. До найпоширеніших синтетичних біоматеріалів, які використовують для імплантатів, відносять титан, вироби зі срібла, поліестер і фарфор. Синтетичні біоматеріали можна розділити на наступні чотири категорії: метали (наприклад, нержавіюча сталь, титан, золото, залізо, магній), полімери (наприклад, полівініловий спирт, полімолочна кислота, полігліколід, нейлон, силікон, поліестер), кераміка (наприклад, гідроксиапатит, глинозем, цирконій), композити, що поєднують у собі матеріали із зазначених вище категорій [34, 43, 53, 54-56].

На сьогодні, значну увагу зосереджено на розробці біоматеріалів отриманих з природних джерел через низку переваг, таких як біосумісність, неімуногенність, легкість виробництва, низька вартість, доступність. Природні біоматеріали отримують з тварин, бактерій, грибів, рослин. Однією з переваг природних



біоматеріалів є їх схожість до субстанцій, знайомих організму. У зв'язку з цим розширюють галузь біоміметики, імітації природи. Природні біоматеріали можуть нести певні сайти зв'язування з білками та інші біохімічні сигнали, які можуть сприяти загоєнню або інтеграції тканин. Як правило, біоматеріали, отримані з природних джерел, використовуються для відновлення або заміни пошкодженої тканини чи органу, для сприяння регенерації тканин, як система доставки ліків, для розробки кісткових каркасів [37, 50].

Незважаючи на важливе місце серед біоматеріалів металів, неорганічних та вуглецевих сполук першість в цьому напрямку належить полімерам. Це визначається можливістю отримання з високомолекулярних сполук виробів і препаратів, які володіють не тільки необхідними механічними характеристиками, але і здатністю до набухання і розчинення у воді, що не притаманне для інших біоматеріалів. Серед полімерних біоматеріалів значну роль відіграють як синтетичні, так і природні полімери, а також композити [34, 42].

Системи, на основі полімерів, в які введені не пов'язані хімічно з полімерними компонентами речовини з різною біологічною активністю, широко застосовують в медицині. Такі системи нерозчинні в воді, і потрапляння включеної в них активної речовини в тканини організму відбувається за рахунок дифузійних процесів (наприклад, вивільнення активної речовини через полімерну проникну мембрану) або в результаті розпаду полімерної системи (біодеградація, ерозія). Можна виділити дві групи таких препаратів: форми, полімерні компоненти яких не впливають на швидкість виділення БАР (біологічно активних речовин), і форми в яких полімерний компонент визначає швидкість його виділення (резервуари та матриці). Прикладами полімерних компонентів, які не впливають на швидкість виділення БАР, є порошкоподібні полімерні наповнювачі таблеток, компоненти, що полегшують їх пресування. Зазвичай в якості таких компонентів використовують крохмаль, полівініловий спирт та інші біологічно нейтральні полімери [28, 32, 57, 58].

Форми з нехімічно введеними БАР, в яких полімерний компонент визначає швидкість потрапляння БАР в живі тканини, набувають важливого значення. Такі нерозчинні системи (резервуари та матриці), як і комплекси полімерного носія і

активної речовини, з яких БАР виділяється за рахунок поступового розпаду його хімічного зв'язку з полімерним носієм, прийнято називати системами з контрольованим виділенням активної речовини (controlled release systems). Швидкість вивільнення із матриці можна контролювати, варіюючи співвідношенням компонентів системи, щільністю зшивання композиції в композитних полімерах. У резервуарних системах – мембрана забезпечує механізм контрольованого вивільнення. У хімічно контрольованих системах вивільнення БАР, приєднаних до полімерного носія фізичним або хімічним зв'язком, відбувається в процесі гідролітичного або ензиматичного руйнування цих зв'язків. Серед них водорозчинні і нерозчинні полімерні системи, що піддаються біодеструкції [28, 32, 57, 58].

Полімерні системи з контрольованим вивільненням БАР можна умовно поділити на три основні групи за механізмом вивільнення активного агента: системи з контрольованою дифузією (полімерні резервуари та матриці), хімічно контрольовані системи, системи з контрольованим набуханням (гідрогелі). Описано технології створення таких систем з іммобілізованими БАР, що дозволяють варіювати час контрольованого вивільнення від декількох хвилин (наночастинки) до декількох місяців (матриці, резервуари) і більше (поліуретани). Полімерні системи з контрольованим вивільненням БАР у вигляді ін'єкцій, мікросфер, наночастинок, трансдермів, імплантатів, полімерних систем доставки ліків (drug delivery systems, DDS) і т. п. дозволяють дозовано і цілеспрямовано вводити БАР в організм [28].

Інноваційні технології підвищення ефективності систем з контрольованим вивільненням активної речовини (створення модельованих систем вивільнення, контрольованої швидкості вивільнення БАР), спрямовані головним чином на перепрограмування таких систем, включаючи ензиматичну і гідролітичну деструкцію, вплив рН, магнітного, ультразвукового і електричного полів, температури, світла, механічної стимуляції. DDS, доповнена відповідним обладнанням, називається активною доставкою (наприклад активна трансдермальна DDS). Таким чином, швидкість вивільнення БАР можна регулювати, або впливаючи на склад і структуру суміші, або змінюючи зовнішні параметри. Системи доставки БАР в заданих умовах або у відповідь на умови зовнішнього середовища отримали

назву «розумних систем» (smart, intelligent) або систем, що діють за принципом зворотного зв'язку. Певним чином ці системи моделюють процеси, які відбуваються в організмі [20, 32, 59, 60].

## **1.2. Природні та синтетичні полімерні біоматеріали для лікування ран. Розробка антимікробних біоматеріалів для ранових покриттів**

Задля підвищення якості та тривалості життя пацієнтів та через величезні фінансові витрати, у всьому світі існує потреба розробки нових стратегій лікування та досягнення швидкого загоєння ран [18, 20, 21-23]. Інфекція є поширеним ускладненням місцевої терапії ран, вражає як гострі, так і рани, що важко загоюються. Лікування ран із критичною мікробною колонізацією з формуванням мікроорганізмами біоплівки залишається серйозною проблемою, яка з кожним роком стає все більш загрозливою у зв'язку із глобальною проблемою антибіотикорезистентності [16-19].

Рана є порушенням нормальної анатомічної структури, яке може бути наслідком фізичного, хімічного, термічного ушкодження, або обумовлене наявними патологічними станами. Рани, які не загоюються, часто інфікуються, що збільшує ризик небезпечних для життя ускладнень, значно збільшує тривалість лікування та вимагає суттєвих фінансових витрат галузі охорони здоров'я. В свою чергу, інфекція, яка виникає на будь-якому етапі процесу загоєння, є найчастішим ускладненням при терапії ран і може суттєво сповільнити подальше їх загоєння. Крім того, такі складні проблеми середовища рани, як окислювальний стрес, гіпоксія, ішемія, критична роль запальних клітин, перешкоджають нормальному процесу загоєння. Однією із причин дерегуляції процесу загоєння та утворення хронічних ран є інфекція, спричинена біоплівкоутворюючим збудником, коли фармакологічні агенти та захисні сили організму не дістають цілі, і фаза запалення стає довготривалою [17, 18, 61-65].

Для ефективного загоєння ран завжди існувала потреба в відповідному матеріалі, який покрив би рану і запобіг інфекції. На теперішній час дизайн і розробка біоматеріалів для лікування інфекційних ускладнень та прискорення загоєння ран є актуальною гострою потребою [17, 20, 22, 66, 67]. Біоматеріали для лікування

травматичних ран, опіків мають зберігати об'єм і форму, підтримувати асептичні умови, сприяти утворенню тканин і скорочувати час загоєння ран. Ідеальний біоматеріал приваблює клітини-попередники для формування нової життєздатної тканини *in vivo* і стимулює загоєння ран [20, 50, 51, 67].

Для прискореного загоєння контамінованих мікроорганізмами ран велике значення має своєчасне застосування ефективних біоцидів. Сучасні стратегії інженерії тканин шкіри спрямовані на інтеграцію біоактивних компонентів у біоматеріали з різною морфологією, з урахуванням етапів складного і динамічного процесу загоєння рани, включаючи у якості біоактивного компоненту антибактеріальні речовини для контролю інфекції у критично колонізованих ранах [18, 22, 62,]. Найпростішою заміною бар'єрної функції непошкодженої шкіри вважають використання пов'язки. Перспективні біоактивні, лікувальні антимікробні ранові пов'язки виготовляють на основі біоматеріалів з інтегрованими біоактивними молекулами (біоцидами) для досягнення контрольованого антибактеріального лікування [17, 18, 30, 31, 54].

В наш час для боротьби з рановою інфекцією перевагу надають застосуванню антисептиків, які забезпечують за рахунок неспецифічного механізму дії, мікробіоцидний, а не статичний ефект, невисоку алергізацію, ефективний вплив на бактерії незалежно від їх метаболічного статусу. Однією з найбільш перспективних є група поверхнево активних антисептиків, антимікробна активність яких обумовлена незворотнім пошкодженням мембрани, блокуванням негативних зарядів поверхні бактеріальної клітини [19, 25-27, 68].

Неналежна профілактика та контроль інфекцій у закладах охорони здоров'я є найсуттєвішою причиною глобального поширення резистентних бактерій та власне генів резистентності [69]. Досягнути зниження рівня збудників інфекційних ускладнень, які потребують застосування антибіотиків, можна за рахунок ефективної локальної обробки із застосуванням антисептиків, що сприятиме уповільненню зростання та поширення антибіотикорезистентності бактерій. У клініці збільшилося використання антисептиків як компоненту полімерних матеріалів у складі таких виробів, як катетери, пов'язки та шовні матеріали, що містять біоциди, і це надає їм

антимікробних властивостей. Катіонні речовини зайняли помітне місце серед цих біоцидів [17, 19, 31, 70-77].

Серед катіонних протимікробних препаратів найчастіше використовують сполуки четвертинного амонію, які є монокатіонними (ЧАС, хлорид бензалконію), бісбігуаніди з двома катіонними групами (ХГ, ДКМ) та полікатіонні лінійні полімерні бігуаніди (пронтосан<sup>®</sup>, що містить ПГМБ). Клітинна стінка та мембрана бактерій мають протилежний сумарний негативний заряд, тому позитивно заряджені молекули катіонних біоцидів (позитивно заряджені тетразаміщені похідні азоту з гідрофобною ділянкою) міцно зв'язуються з ними, інтегруючись у цитоплазматичну мембрану, що призводить до загибелі бактеріальної клітини [70, 72, 78].

В умовах сьогодення ефективність лікування ран суттєво залежить від застосування неантибіотичних антимікробних засобів, в тому числі антимікробних пов'язок [19]. Забезпечення ефективного загоєння ран залежить від точного вибору найбільш оптимальних матеріалів, адаптованих до унікальних вимог кожної конкретної рани (гострої, хронічної, хірургічної/нехірургічної). Проблему створення тривалої концентрації антисептичного засобу безпосередньо у критично колонізованих та хронічних ранах для їх лікування доцільно вирішувати за рахунок вибору оптимальної матриці, яка забезпечить вивільнення антисептика [33, 79].

Натуральні біоматеріали володіють терапевтичною перевагою в порівнянні з інертними синтетичними біоматеріалами. Природне походження цих біоматеріалів робить їх придатними заміниками позаклітинного матриксу як природного середовища для клітин шкіри. Пом'якшувальні, заспокійливі, в'язучі, протимікробні, протизапальні та антиоксидантні властивості натуральних продуктів можуть бути корисні для процесу загоєння ран. Природні полімери, такі як хітозан, альгінат, колаген, еластин, гіалуронова кислота і фібриноген, є біосумісними субстратами, які схожі на макромолекули, які розпізнаються людським тілом. Обмеженнями є варіабельність складу від партії до партії, неоднорідність і висока вартість. Зазвичай низька механічна міцність природних макромолекул може бути поліпшена шляхом зшивання або змішування з синтетичними полімерами, тобто виготовленням композитів [33, 50, 80, 81, 82].

Таким чином, сучасні види лікувальних засобів можна розділити на дві основні категорії – традиційні пов'язки та вдосконалені (сучасні) пов'язки (ранові покриття). Традиційна пов'язка (бинт, марля) виконує функції гемостазу, покриття та захисту, тоді як вдосконалена пов'язка також спрямована на підтримку вологого мікросередовища та постійної температури, видалення ексудату, захист від екзогенної інфекції, є проникною для кисню та атравматичною [33, 82, 83, 84].

Також, **за природою дії**, ранові покриття (пов'язки) класифікують як пасивні, інтерактивні або біоактивні. Традиційні пов'язки характеризуються як пасивні елементи, що забезпечують основне покриття. Навпаки, полімерні плівки та піни, які відрізняються своєю прозорістю, проникністю для водяної пари та кисню та здатністю до біодеградації, належать до категорії інтерактивних. Пов'язки, які володіють властивістю доставки активних речовин до місця рани, відносять до біоактивних продуктів [33, 83, 85, 86].

За своєю **фізичною формою** розрізняють такі ранові покриття як гідрогелі, плівки, пластирі (патчі), каркаси (скаффолди), гідроколоїдні пов'язки, пінні пов'язки, пов'язки на основі нановолокон та ін [33, 87-89]. Також виділяють замітники шкіри (традиційні трансплантати шкіри – ауотрансплантати, алотрансплантати або ксенотрансплантати; тканинно-інженерні аутологічні або штучні трансплантати шкіри) [54]. Гідрогелі – це нерозчинні у воді полімери, які створюють гідрофобну зшити мережу. Гідрогелі відповідають більшості критеріїв сучасних ранових пов'язок. Полімери, що входять до складу гідрогелів, можуть бути природними, синтетичними або комбінацією природних і синтетичних полімерів. Природні полімери включають полісахариди (целюлоза, крохмаль, хітозан, карагенан, альгінати, декстран, пектин та ін.), полінуклеотиди та поліпептиди (колаген, желатин, шовк, фібрин) [33].

Хоча синтетично розроблені біосумісні та біодеградуєчі полімерні гідрогелі ефективно застосовують у біомедицині, природні полісахариди залишаються привабливими завдяки їх доступності, нетоксичності, хорошій біосумісності та біодеструктивності, легкості модифікації та приготування, низькій вартості та відновлюваним фізико-хімічним властивостям. Так, полісахариди використовуються

у різних формах. Для покращення механічних властивостей природні полімери зшивають, прищеплюють мономерами або змішують із синтетичними полімерами. Гідрогелі отримують шляхом зшивання полімерів, і зшивання може бути фізичним, хімічним або обидва одночасно. Гідрогелі мають позитивні властивості деградації, що робить їх ідеальним вибором у застосуваннях, де потрібна таргетна (цілеспрямована) доставка біоактивних речовин до рани [33, 84, 89, 90].

Пов'язки на основі гідрогелевого альгінату є гідрофільними, забезпечують вологе середовище для рани та мають високу абсорбційну здатність при застосуванні їх у ліофілізованій формі. Вони не оклюзивні і мають високу проникність. Таким чином, необхідна вторинна пов'язка, щоб стабілізувати їх. Альгінатні гідрогелі можна виготовляти у вигляді покриття для поверхневих ран або у вигляді мотузок для глибоких ран. Їм можна надавати антимікробних властивостей [54].

Гідроколоїди – це інтерактивні пов'язки, які складаються з двох шарів: внутрішнього, який представлений суспензією гідрофільних колоїдних частинок, і зовнішнього шару, непроникного для бактерій. Таким чином, гідроколоїди являють собою комбінацію гелеутворюючих агентів (карбоксиметилцелюлоза, желатин та пектин) з іншими матеріалами, такими як еластомери та адгезивні покриття. При їх контакті з ексудатами рани утворюються гелі, які забезпечують відповідне вологе середовище з хорошим поглинанням ексудатів рани. Гідроколоїди рекомендують застосовувати в лікуванні ран зі слабкою та середньою ексудацією (вони неефективні при лікуванні ран з високим вмістом ексудату), ранах з утворенням струпу, і можуть залишатися на поверхні рани до семи днів [83, 88, 91, 92].

Останнім часом спостерігають підвищення інтересу до пластирів (патчів) завдяки помітним перевагам, зокрема гнучкості, неінвазивності, моніторингу в реальному часі, бездоганній інтеграції, чутливості та міцній стабільності. Біосенсорні пластри мають біохімічні та фізіологічні механізми сприйняття, які охоплюють такі параметри, як коливання рН, рівні глюкози та зміни температури. Наприклад, незагоєні рани зазвичай мають лужне рН порівняно з кислим рН шкіри. Концентрація глюкози в крові в рані слугує не тільки індикатором фізичного стану хворого на діабет, але також впливає на ступінь бактеріальної інфекції в рані. Виготовлення цих

патчів (пластирів) часто включає технологію 3D-друку. Вибір відповідного біочорнила має першорядне значення у виробництві патчів, надрукованих на 3D. Ці біочорнила повинні демонструвати високу біосумісність, механічну стабільність і виняткову точність форми після друку [33, 57, 93, 94].

Плівкові пов'язки можуть включати гомополімери (природні чи синтетичні), суміш полімерів (композити) та пластифіковані полімери, які складаються з серії шарів, покритих гіпоалергенним акриловим адгезивом. Вони непроникні для рідин і бактерій і пропускають повітря і водяну пару. Завдяки цьому пов'язки створюють вологе середовище для рани. Під час загоєння ран їх можна використовувати як первинну чи додаткову пов'язку або можна включати в гідрогелі чи піни для створення композитної пов'язки. Плівкові пов'язки набули розповсюдження завдяки своїй неінвазивності, простоті застосування, біосумісності та потенційному включенню антимікробного лікування. Серед природних полімерів, для розробки плівкових пов'язок широко використовують гіалуронову кислоту, кератин, хітозан, альгінат натрію, желатин, колаген, крохмаль, та інші. Завдяки відсутності шкідливості такі полімери, як хітозан, целюлоза, гелланова камедь, альгінати та крохмалі, дозволені до використання для виготовлення плівок для ротової порожнини [33, 54, 84, 87].

**Каркаси/Скаффолди.** Глибокі рани не здатні самостійно регенерувати, тому розробка специфічних структурних каркасів (3D каркасів) має важливе значення для сприяння загоєнню шляхом забезпечення механічної підтримки росту нової тканини. Він взаємодіє з клітинами та ініціює природні фізіологічні процеси, що беруть участь у загоєнні та регенерації тканин. Каркаси можуть бути виготовлені з природних, синтетичних або гібридних полімерів (композитів) і набувають функціональності під дією різних агентів, спрямованих на посилення клітинних реакцій і прискорення загоєння ран. Виробництво цих каркасів може бути досягнуто за допомогою таких технологій, як електропрядіння або 3D-друк [33].

**Пінні пов'язки.** Основною перевагою пінних пов'язок є те, що вони ефективні для лікування гострих і хронічних ран із середнім і сильним ексудатом. Вони виготовлені з пористого матеріалу, зазвичай складаються з поліуретану,



полівінілового спирту або силікону. Пов'язки з поліуретанової піни зазвичай складаються з двох або трьох шарів з гідрофільною поверхнею, яка безпосередньо контактує з раною, і гідрофобний шар із високою абсорбцією [33, 54, 84, 92].

Пов'язки на рани виготовляють різними методами, які залежать від бажаної структури та використовуваних матеріалів. Зазвичай застосовуються техніка лиття з розчину (виготовлення полімерних плівок/гідрогелів шляхом висушування в'язких розчинів, що містять полімери, додаткові складники та активні речовини, у рівномірному шарі), вилюговування сіллю, електроспінінг (електроформування, електропрядіння), центрифугування, мікрофлюїдне формування, розплавлення – видування, термічний відпал та тривимірний (3D) друк типу екструзії. Наприклад, у процедурі електропрядіння використовується висока напруга постійного струму, яка необхідна для генерування електричних зарядів у потоці розчину полімеру, який потім висихає, у результаті чого утворюються полімерні нановолокна [33, 82, 92].

У процесі розплавлення – видування термопластичні полімери розплавляються, а потім пропускаються через тонкі сопла для формування мікрОВОЛОКОН. Ці мікрОВОЛОКОН швидко охолоджуються високошвидкісними потоками повітря, змушуючи їх твердіти та створювати неткане полотно з взаємопов'язаних ВОЛОКОН. Технологія дозволяє вводити різні матеріали, такі як антимікробні агенти або фактори росту, в розплав полімеру, покращуючи функціональні властивості пов'язок [33].

Термічний відпал передбачає проведення контрольованих циклів нагрівання та охолодження полімерної плівки або матеріалу для спричинення структурних змін на молекулярному рівні замість використання хімічних і шкідливих засобів для зшивання. Технологія 3D-друку створює шари матеріалів для формування тривимірної структури. Ця техніка дозволяє друкувати різні матеріали, від пластику до металу, від смол до різних полімерів. Використання 3D-друку для перев'язки ран дозволило створити шкірну тканину та конструкції, подібні до фізіологічної шкіри. Основні методи 3D-друку базуються: на основі екструзії, на основі порошку та фотополімеризації. Технологія 3D біодруку широко використовується в

регенеративній медицині. Зокрема, для створення різних типів тканин, створюючи трансплантати безпосередньо на шкірі пацієнта в найкоротші терміни та з меншими витратами. Це тип адитивного виробництва, який інтегрує живі клітини в процедуру друку, часто в поєднанні з біоматеріалами. Виділяють дві ключові технології: екструзія та струменевий біодрук [33, 54, 92].

Біоматеріали для створення ранових покриттів (пов'язок) доповнюють антимікробними агентами (антибіотиками, антимікробними наночастками, катіонними органічними агентами) для запобігання колонізації рани та лікування інфекції [33, 54]. Незважаючи на інтенсивні зусилля дослідників, кількість антимікробних пов'язок, що надійшли на ринок, обмежена через високі виробничі витрати, погану стабільність препарату, складні умови зберігання та труднощі у створенні системи доставки ліків, яка задовільнила збереження повного терапевтичного ефекту завантажених біоактивних агентів. Багато фахівців погоджуються з тим, що жоден з комерційно доступних препаратів антимікробного біоматеріалу не забезпечує оптимальної антимікробної ефективності [17].

Безумовно, при розробці антимікробних ранових покриттів слід враховувати біоплівковий статус патогена, на присутність ранових патогенів з високою природною та набутою резистентністю, та з огляду на дані сучасного моніторингу чутливості МЛС ранових патогенів до біоцидів. В результаті неналежної антимікробної терапії часто відбувається селекція мікроорганізмів зі зростанням кількості *Pseudomonas*, МЛС штамів та грибів. Безумовно антимікробна терапія має бути ефективною, проте не призводить до подальшого формування мікробної резистентності. Існує необхідність розробки нових, вдосконалених або альтернативних методів лікування. Ряд антисептиків належать саме до цієї категорії, серед них, катіонні детергенти. Можливість утворення рановими патогенами біоплівки є важливим фактором вірулентності та основною причиною уповільненого загоєння ран. Хронічні рани, ускладнені бактеріальною біоплівкою, залишаються одним із загрозливих викликів сучасної охорони здоров'я, тому в дослідників і лікарів зростає інтерес щодо застосування місцевих антисептиків у **різних формах доставки** проти ранових мікроорганізмів, інкорпорованих у біоплівки [19, 73, 76, 95- 102].

У вітчизняній медичній практиці з успішно застосовують препарат на основі ЧАС – декаметоксин (ДКМ). Висока протимікробна активність щодо бактерій, які спричиняють інфекції м'яких тканин, здатність долати стійкість до біоцидів, потенціювати дію багатьох хіміотерапевтичних засобів, здатність тривало зберігати антимікробну дію, відсутність цитотоксичного впливу позитивно характеризують цей антисептик, що потенційно дозволить вирішити актуальні проблеми менеджменту інфекційних ускладнень [103].

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 часу, який необхідний для створення сприятливих умов перебігу ранозагоювання та його досягнення. Таким чином, актуальними є розробка оптимального складу депо-форми ДКМ з обґрунтуванням антимікробних властивостей нового біоматеріалу.

Майбутні тенденції у розробці ранових пов'язок вимагають зосередження уваги на використанні більш економічно виправданих і екологічно безпечних підходів, а також підвищення ефективності компонентів матеріалів. Існує нагальна потреба у синтезі нових гібридних полімерів, пошуку високоефективних методів зшивання, розробці пов'язок з індивідуальними параметрами (доза, властивість набухання, профіль вивільнення препарату, розмір). Для реалізації цього виправданим і оптимальним є використання існуючих ресурсів серед біополімерів для створення матриці-носія та поверхнево-активних антисептиків [33, 104-108].

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота присвячена мікробіологічному обґрунтуванню розробки антимікробних біоматеріалів. У відповідності з поставленими завданнями, з метою розробки ефективних антимікробних біоматеріалів, дана робота складалась із трьох основних напрямків: дослідження і порівняння ефективності сучасних антисептичних препаратів, розробка оптимального складу антимікробного біоматеріалу, дослідження та порівняння антимікробної ефективності розробленого матеріалу із комерційно доступними сучасними рановими покриттями. Робота виконана на кафедрі мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України в умовах бактеріологічної лабораторії кафедри (Свідоцтво про технічну компетентність № 115/21). Усі дослідження проведені у відповідності з дотриманням принципів біоетики, що схвалено комітетом біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова (протокол № 11 від 03.12.2020 р.; протокол № 4 від 01 .04.2024 р.).

#### **2.1. Характеристика антисептичних препаратів, які було використано у тестуванні їх активності щодо референтних та клінічних МЛС штамів мікроорганізмів**

Антисептика ран пережила відродження завдяки розробці ефективних сумісних з ранами антисептичних речовин, їх бактерицидній дії замість бактеріостатичної, порівняно високому рівню сенсibiliзації до місцево застосовуваних антибіотиків, також з причин пандемічного розповсюдження полірезистентних до антибіотиків мікроорганізмів, і на перевагу, відсутності (рідко) розвитку резистентності до тих антисептиків, які незворотно ушкоджують хвороботворні мікроорганізми [71].

Серед різноманіття антисептичних препаратів для дослідження було обрано катіонні поверхнево-активні засоби, а саме монокатіонними речовини (ЧАС, хлорид бензалконію); бісбігуаніди, з двома катіонними групами (ХГ та ДКМ) та полімерні

бігуаніди, що є полікатионними лінійними полімерами (Пронтосан<sup>®</sup>, що містить ПГМБ) [70, 72].

Загальні відомості досліджуваних антисептичних препаратів та їх активних сполук наведено у таблицях 2.1, 2.2

**Декаметоксин<sup>®</sup> (Decamethoxine<sup>®</sup>).** ДКМ [1,10-Декаметилен-біс(N,N-диметилментоксикарбонілметил)амонію дихлорид] – катіонний детергент, належить до класу бісчетвертинних амонієвих сполук, містить L-ментол, отриманий з м'яти перцевої (рис. 2.1). Реєстраційне посвідчення № UA/12180/01/01, затверджено наказом МОЗ України від 29.03.17 р. № 341 (термін дії реєстраційного посвідчення на території України необмежений) [109]. ДКМ – білий, дрібнокристалічний порошок зі слабким запахом, на смак гіркий, 1,0 % розчин ДКМ безбарвний і прозорий, рН розчину – від 5,5 до 7,5 [104, 110, 111]. Добре розчиняється у воді та етанолі, не розчиняється в бензолі, хлороформі, ефірі та інших органічних розчинниках. Температура плавлення – від 159 до 168 °С. ДКМ застосовують у вигляді водних, спиртових, водно-спиртових, гліцерінових розчинів.



**Рис. 2.1.** Хімічна структура (ліворуч -2D і праворуч - 3D) та білий кристалічний порошок ДКМ.

## Характеристика досліджуваних антисептиків

Продукт/ виробник	Абреві атура	Активний інгредієнт	Початкова концентрація %	Початкова концентрація мкг/мл
Octenisept® Октенісепт® farblos/incolore, Schulke & Mayr GmbH, Німеччина	ОСТ ОКТ	octenidine dihydrochloride октенідину дигідрохлорид	0,1 %	1000
Prontosan®, Пронтосан® B Braun Medical, Німеччина	PHMB ПГМБ	polyhexamethylene biguanide полігексаметилен- бігуанід	0,1 %	1000
Chlorhexidine- Viola® Хлоргексидин- Віола® Viola, FF, JSC, Україна	CHG ХГ	chlorhexidine digluconate хлоргексидину диглюконат	0,5%	500
Miramistin® Мірамістин®, Darnitsa PrAT, Україна	MRM МРМ	miramistin мірамістин	0,01%	100
Decamethoxine® Декаметоксин®, Yuria-Pharm, Україна	DCM ДКМ	decamethoxine декаметоксин	0,1%	1000
Decasan® Декасан®, Yuria- Pharm, Україна	DCM ДС	decamethoxine декаметоксин	0,02%	200
Betadine®, Бетадин®, EGIS Pharmaceuticals PLC, Угорщина	PVP-I ПВП- Йод	povidone-iodine повідон-йод	10% Рекомендовані робочі розведення 1:5 (2%) 1:10 (1%)	100000  20000 10000

**Фізико-хімічні властивості активних компонентів антисептиків**

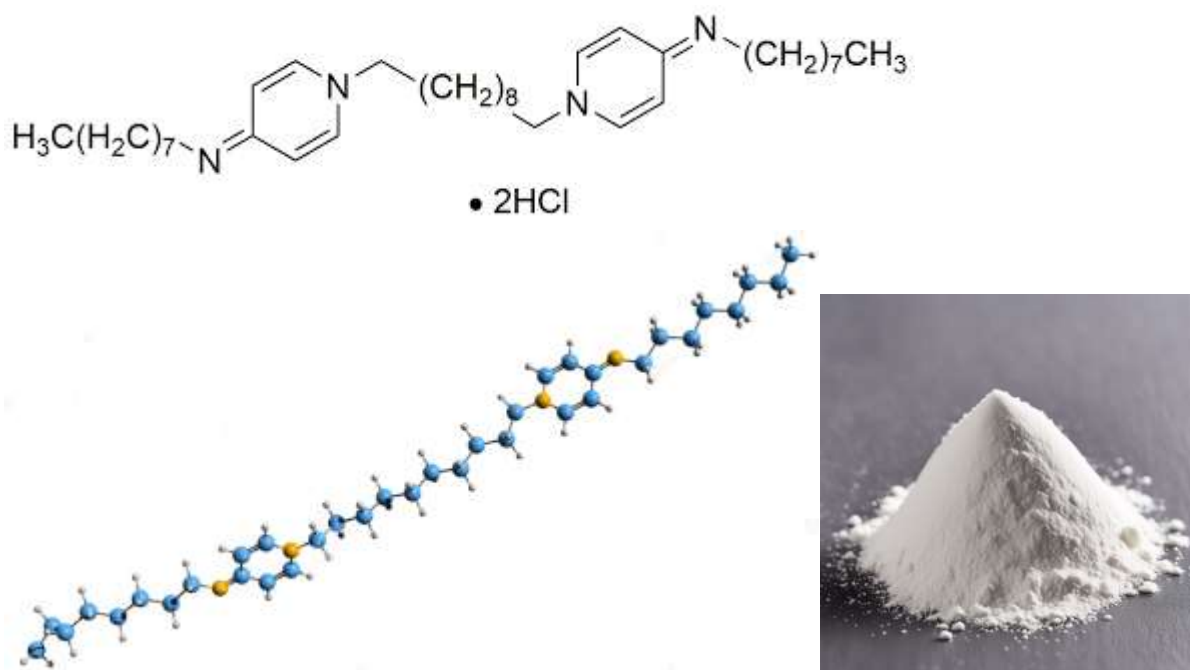
Антисептик	Хімічна формула	Молекулярна вага	Група/Клас
Octenidine (Октенідин)	$C_{36}H_{64}Cl_2N_4$	622,451	Біс-піридин
Polyhexanide (Полігексанід)	$(C_8H_{17}N_5)_n \cdot (HCl)_x$ Variable	213,323 варіабельна	Полімерні бігуаніди
Chlorohexidine (Хлоргексидин)	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45	Біс-бігуанід
Miramistin (Мірамістин)	$C_{26}H_{47}N_2O^+$	403,67	Четвертинна амонієва сполука
Decamethoxine (Декаметоксин)	$C_{38}H_{74}Cl_2N_2O_4$	693,9	Біс-четвертинна амонієва сполука
Povidone-Iodine (Повідон-йод)	$(C_6H_9NO)_n \cdot xI$ $(C_6H_9NO)_x \cdot xI_2$	364,95 варіабельна	Полі(вінілпіролідон)-йодний комплекс

**Декасан® (Decasan®).** Препарат повністю відповідає сучасним вимогам Державної Фармакопеї України. Належить до фармакотерапевтичної групи “Антисептичні препарати”. ДС – це розчин, який містить 0,2 мг/мл діючої речовини (ДКМ) та допоміжні речовини (вода для ін’єкцій, натрію хлорид). Реєстраційне посвідчення №UA/5364/01/01 (Наказ МОЗ України № 1391 від 22.12.2016 р. Термін дії реєстраційного посвідчення на території України необмежений) [112, 113].

Механізм дії біс-ЧАС, у тому числі ДКМ, проти бактеріальних клітин включає загальне порушення біліпідного шару мембран, а саме бактеріальної цитоплазматичної мембрани та зовнішньої мембрани клітинної стінки грамнегативних бактерій. Така дія призводить до генералізованого та прогресуючого витоку вмісту цитоплазми в навколишнє середовище. Низькі концентрації ЧАС міцно зв’язуються з аніонними ділянками на поверхні мембрани, змушуючи клітини втрачати осморегуляторну функцію, іони та протони калію. Проміжні рівні

порушують мембранну фізіологію, таку як дихання, транспорт речовин та біосинтез клітинної стінки. Однак високі концентрації, які використовуються у багатьох біоцидних складах, руйнують клітини шляхом солюбілізації мембран з вивільненням всього вмісту клітин, тому їх називають біологічними детергентами. На молекулярному рівні дія включає асоціацію позитивно зарядженого четвертинного азоту із головними групами кислотних фосфоліпідів мембрани. Гідрофобний хвіст сполучається з гідрофобним ядром [19, 25, 68, 72, 114, 115].

**Октенісепт® (Octenisept®).** Реєстраційне посвідчення №UA/4056/01/01 від 28.03.2016 р. Октенідину дигідрохлорид - N-октил-1-[10-(4-октилімінопіридин-1-іл)децил]піридин-4-імін; дигідрохлорид – це синтетична антимікробна молекула, належить до групи біспіридинів, має 2 катіонні активні центри. Два катіонних залишки піридину розділені десятьма метиленовими групами, і кожен амінопіридин має кінцеву гідрофобну октанільну групу. Хімічна структура ОКТ представлена на рисунку 2.2. Амфіпатичний характер ОКТ (наявність гідрофобних та гідрофільних доменів) нагадує особливості мембраноактивних антимікробних пептидів, наприклад дефензинів [72, 116].



**Рис. 2.2** Хімічна структура (2D і 3D) та білий кристалічний порошок октенідину дигідрохлориду.

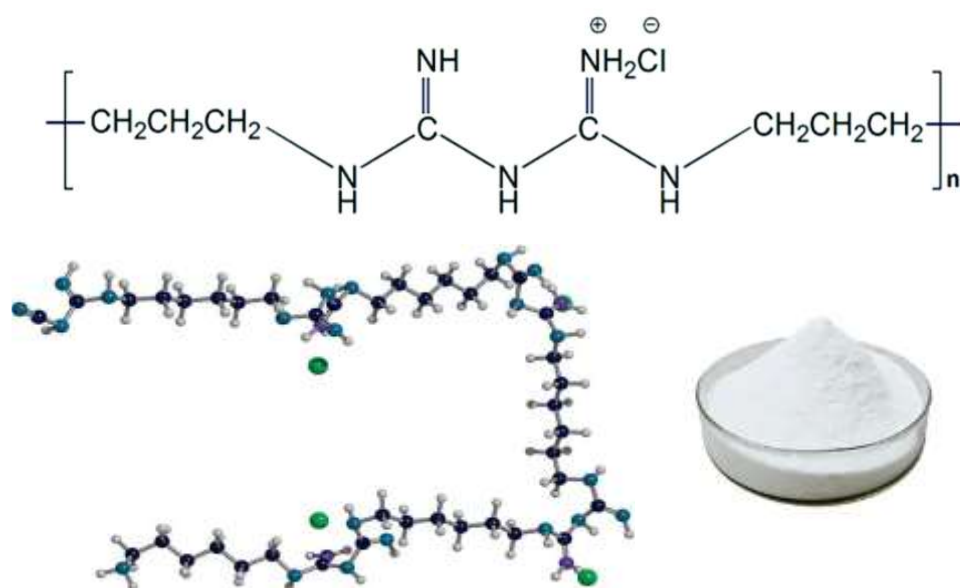


Дослідження впливу ОКТ на грамнегативні бактерії показали, що ОКТ нейтралізує поверхневий заряд мікроорганізму, що призводить до руйнування зовнішньої мембрани та різкої втрати клітинної стінки, і далі проникає через периплазматичний простір, досягаючи внутрішньої мембрани, що призводить до швидкого руйнування клітинної оболонки. Досліди на модельних мембранних системах показали, що ОКТ вбудовується в гідрофобну область жирного ацильного ланцюга біошару мембран, викликаючи повну дезорганізацію ліпідів. Втрата цілісності мембрани також відображається її деполіаризацією та зміною плинності. Неспецифічний механізм дії, заснований на суто фізичних взаємодіях, є основою дуже широкого антимікробного спектру та робить малоймовірним розвиток стійкості до ОКТ [117].

Механізм дії ОКТ на грампозитивні бактерії полягає у приєднанні до грампозитивної бактерії, нейтралізації поверхневого заряду мікроорганізму за рахунок електростатичних взаємодій і негайному проникненні крізь товсту клітинну стінку, щоб досягти цитоплазматичної мембрани, де також сприяє дезорганізації ліпідів, порушенню структури мембрани, що призводить до підвищення її проникності [118, 119]. Донедавна вважалось, що ОКТ не викликає резистентності. У 2018 р. спостерігали зниження чутливості до ОКТ у штамів *Pseudomonas* і *Burkholderia* [120, 121]. ОКТ має низьку цитотоксичність для еукаріотичних клітин і є біосумісним. Про можливий розвиток алергії повідомляють рідко [71, 122, 123].

**Пронтосан® (Prontosan®).** Реєстраційне посвідчення № ФСЗ 2007/00571 від 06.11.2007. Активна речовина – полігексаметилен бігуанід гідрохлорид (Полігексанід, ПГМБ) –  $N_3N'''$ -1,6-гександиілбіс( $N'$ -ціаногуанідин) гексаметилендіамін полімерний гідрохлорид. Полігексанід – катіонний детергент, що є полікатіонним лінійним полімером, структурно подібний з антимікробними пептидами [17]. ПГМБ складається з повторюваних основних бігуанідинових одиниць, з'єднаних гексаметиленовими вуглеводневими ланцюгами, що забезпечує катіонну та амфіпатичну структуру (рис. 2.3) [124]. Основним місцем дії ПГМБ є цитоплазматична мембрана. Зокрема, ПГМБ як полікатіон з позитивним зарядом та будучи сильною основою, зв'язується з кислими, негативно зарядженими

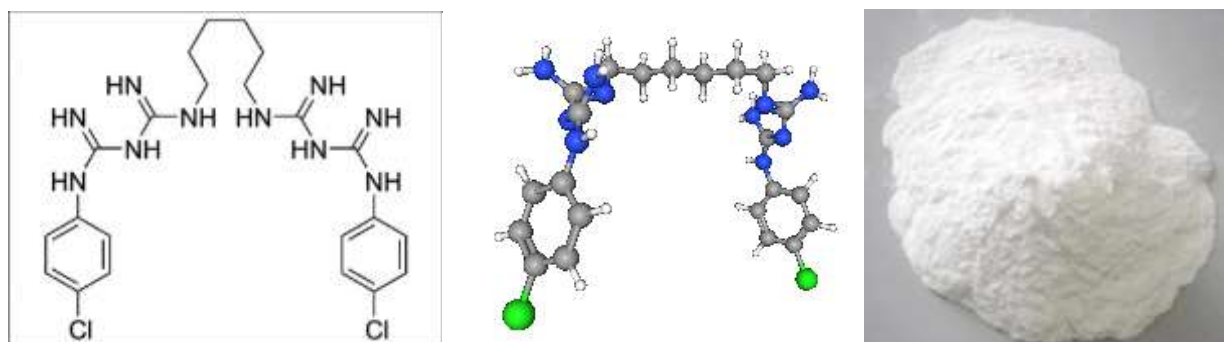
фосфатними головними групами фосфоліпідів як у грамнегативних, так і у грампозитивних бактерій, утворюючи полігексанід-фосфоліпідний комплекс, що підвищує плинність та проникність мембрани, спричиняючи руйнування клітинної мембрани з подальшим витоком цитоплазми, колапсом клітини. Максимальна активність спостерігається при значенні рН від 5 до 6. ПГМБ також переноситься в цитоплазму, де призводить до порушення метаболізму бактерій. Іншими мішенями ПГМБ є пептидоглікани клітинної стінки, тейхоєві кислоти на клітинній стінці грампозитивних бактерій, білки цитоплазматичної мембрани, ліпополісахарид зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій. ПГМБ також зв'язується з ДНК та іншими нуклеїновими кислотами, утворюючи наночастинки, викликаючи зупинку поділу клітин і конденсацію хромосом у клітинах прокаріотів. Про стійкість до ПГМБ не повідомлялося [125, 126].



**Рис. 2.3.** Хімічна структура (2D і 3D) та білий кристалічний порошок ПГМБ.

З іншого боку, на нейтральні фосфоліпіди ПГМБ чинить тільки незначний вплив. Це зазвичай розглядають як основну причину низької токсичності ПГМБ проти клітин людини та його високого терапевтичного діапазону. ПГМБ класифікується як «практично нетоксичний» [71, 123, 126, 127, 128].

**Хлоргексидин® (Chlorhexidine®).** Реєстраційне посвідчення № UA/5492/01/01 з 19.05.2017, термін дії необмежений. Активна речовина – хлоргексидину диглюконат. Хлоргексидин (ХГ) – (1E)-2-[6-[[аміно-[(E)-[аміно-(4-хлораніліно) метиліден]аміно]метиліден]аміно]гексил]-1-[аміно-(4-хлораніліно) метиліден]гуанідин – це симетрична молекула біс-бігуаніду, яка складається з двох хлоргуанідних ланцюгів, з'єднаних центральним гексаметиленовим ланцюгом, і несе два позитивних заряди при фізіологічному рН (рис. 2.4).



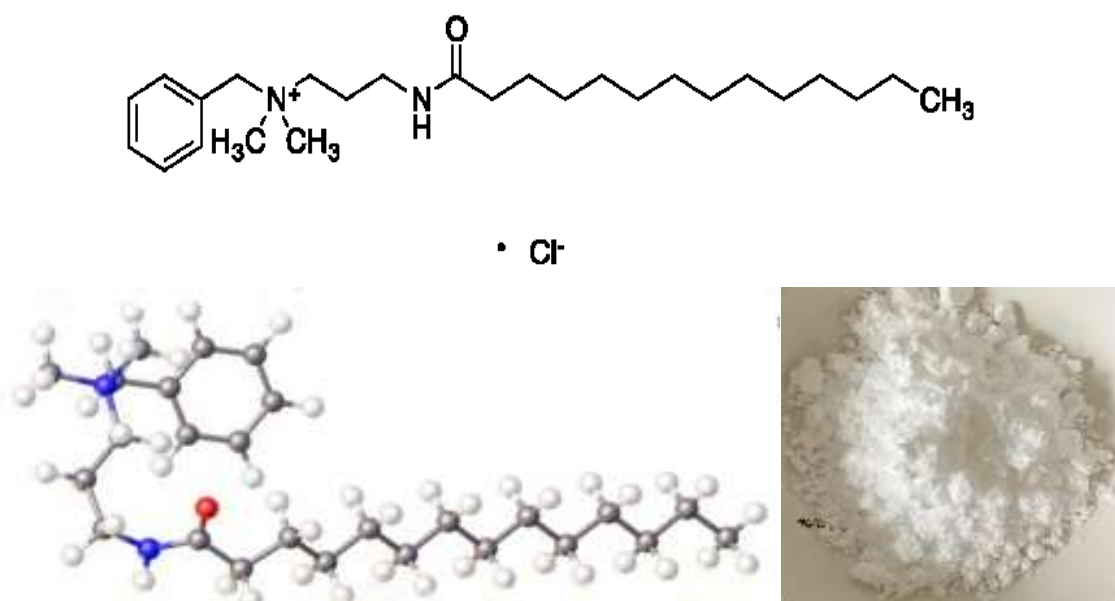
**Рис. 2.4.** Хімічна структура (2D і 3D) ХГ та білий кристалічний порошок хлоргексидину диглюконату.

Він діє як сильна основа і практично нерозчинний у воді, але реагує з кислотами, утворюючи солі, які мають різні характеристики розчинності у воді. Сьогодні в основному використовуються диглюконатні або діацетатні солі, розчинність диглюконату ХГ у воді значно вища, ніж діацетату ХГ. Водні розчини ХГ найбільш стабільні в межах рН 5-8. Вище рН 8,0 хлоргексидинова основа випадає в осад, і в більш кислотних умовах відбувається поступове погіршення активності, оскільки сполука менш стабільна [123, 129-131].

ХГ зв'язується з мікробною цитоплазматичною мембраною, порушує її цілісність, а також функцію мембранозв'язаних ферментів, спричинює цитоплазматичний витік і, зрештою, коагуляцію та преципітацію внутрішньоклітинних компонентів, таких як білки та нуклеїнові кислоти [129, 131]. Є повідомлення, що ХГ індукує резистентність бактерій і призводить до перехресної резистентності до антибіотиків. Існують численні побічні ефекти, пов'язані з його

застосуванням, такі як цитотоксичність, анафілактична реакція та ризик гідролізу до канцерогенного 2-хлораніліну [123, 132].

**Мірамістин<sup>®</sup> (Miramistin<sup>®</sup>).** Активна речовина – мірістамідопропілдиметилбензол амонію хлорид. Реєстраційне посвідчення №UA/1804/02/01 від 13.04.2021 р. Допоміжні речовини: динатрію едетат, проксанол 268, пропіленгліколь, макрогол 400, вода очищена. МРМ представляє собою білий дрібнокристалічний порошок без запаху, добре розчинний у воді, спирті, хлороформі [111]. Мірамістин – це катіонний детергент класу ЧАС (рис. 2.5).

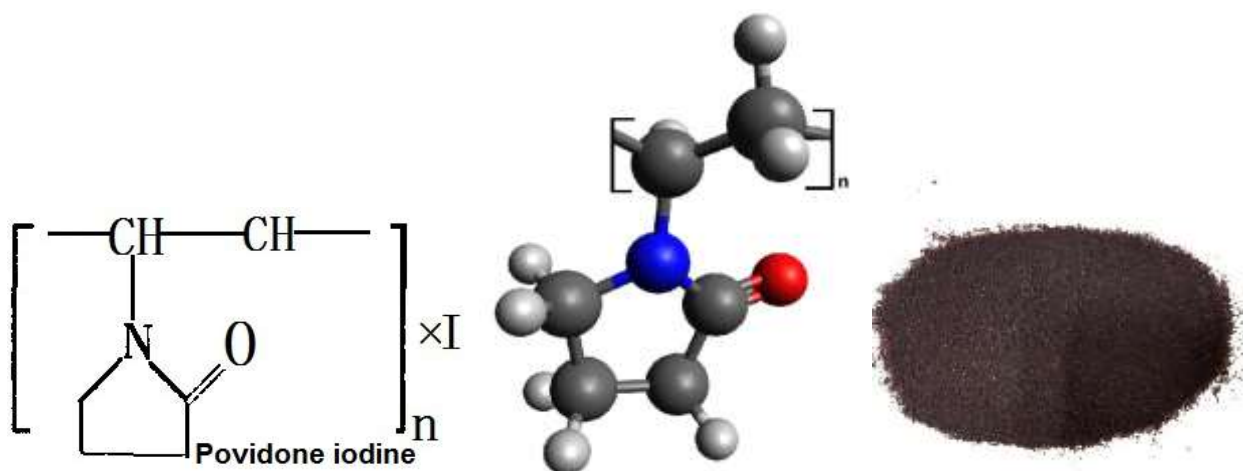


**Рис. 2.5.** Хімічна структура (2D і 3D) та білий кристалічний порошок МРМ.

Антимікробний механізм дії ґрунтується на асоціації між негативно зарядженими фосфоліпідами в мікробних мембранах та позитивно зарядженим азотом МРМ, як у випадку ЧАС [70]. Гідрофобний хвіст МРМ проникає в гідрофобну бактеріальну мембрану з наступним порушенням її фізичних і біохімічних властивостей, що призводить до руйнування мембрани та, зрештою, витоку клітинного вмісту. У більш високих концентраціях МРМ може розчиняти клітинні мембрани з подальшим утворенням міцелярних агрегатів. Існує також можливість того, що МРМ зв'язується з мікробною ДНК. МРМ відзначається вибірковою дією щодо мікроорганізмів, практично не діє на мембрани клітин людини, не проявляє

прямих мутагенних властивостей, не виявляє гострої системної токсичності [133].  
Має помірний цитотоксичний ефект на епітелій [134].

**Бетадин® (Betadine®).** Реєстраційне посвідчення № UA/6807/01/01 від 09.08.2017 р. Основна діюча речовина – полі (1-(2-оксо-1-піролідиніл)етилен)йодний комплекс є комплексною сполукою йоду та синтетичного полімеру полівінілпіролідону, у вигляді в'язкої темно-коричневої рідини із слабовираженим специфічним запахом (рис. 2.6).



**Рис. 2.6.** Хімічна структура (2D і 3D) та білий кристалічний порошок повідон-йоду.

Допоміжні речовини: гліцерин (85%), ноноксинол 9, лимонна кислота безводна, натрію гідрофосфат безводний, натрію гідроксид, вода очищена. Повідон-йод – це водорозчинний йодофор (або агент, що вивільняє йод), який складається з комплексу між йодом і солюбілізуєчим полімерним носієм, полівінілпіролідонем. У водному розчині виникає динамічна рівновага між вільним йодом ( $I_2$ ), активним бактерицидним агентом, і повідон-йод-комплексом. Будучи маленькою молекулою, йод швидко проникає в мікроорганізми та окислює ключові білки, нуклеотиди та жирні кислоти, що зрештою призводить до загибелі клітин [135, 136].

Зміна структури ненасичених жирних кислот фосфоліпідів призводить до пошкодження клітинних мембран. Внаслідок окислення білка відбувається інактивація мікробних ферментів; крім того, йодування похідних піримідинових основ і амінокислот призводить до пошкодження структури ДНК [137]. На даний час

немає доказів індукції резистентності бактерій у результаті використання повідон-йод. Цитотоксичність повідон-йоду низька, але існує ризик проникнення вільного йоду в кров. Тому повідон-йод не слід застосовувати довше семи днів, і його не рекомендують пацієнтам із проблемами щитовидної залози. Повідон-йод має коричневий колір, який блідне з втратою антимікробної активності повідону [71, 123, 137 ].

## 2.2. Характеристика полімерів та хімічних реагентів

Для ефективного загоєння ран завжди існувала потреба вибору відповідного матеріалу, який покрив би рану і запобіг інфекції. Біоматеріали для лікування травматичних ран і опіків повинні зберігати об'єм і форму, підтримувати асептичні умови, сприяти утворенню тканин і скорочувати час загоєння ран. Ідеальний біоматеріал приваблює клітини-попередники для формування нової життєздатної тканини *in vivo* і стимулює загоєння ран.

Проблема локального створення тривалої концентрації антисептичного препарату слід вирішувати за рахунок вибору полімерної матриці, з якої буде вивільнюватись антисептичний матеріал. Наше дослідження передбачало розробку оптимального складу полімерної депо-форми ДКМ – ефективного вітчизняного антисептика, та виготовлення ефективних біоактивних біоматеріалів.

Зазвичай полімери розглядають як наповнювачі, але вони стали важливим компонентом для виготовлення ранозагоювальних плівок. Полімери становлять основу складів біоматеріалів у формі плівок (табл. 2.3 –2.4).

Більше того, вибір відповідного полімеру під час розробки плівки має вирішальне значення для забезпечення терапевтичного успіху. Об'єднання двох або більше полімерів для одержання сумішей (композитних біоматеріалів) є простою та економічно ефективною стратегією розробки біоматеріалу з покращеними властивостями [87].

**Технічна характеристика хімічних реагентів та полімерних складових біоматеріалів**

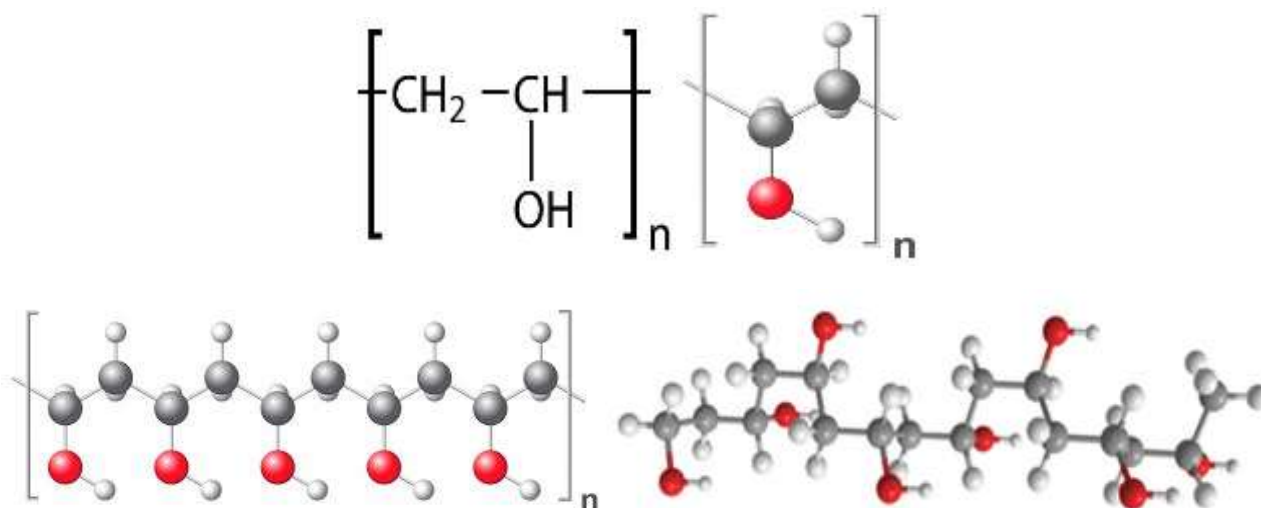
<b>Найменування</b>	<b>Технічна характеристика</b>	<b>Науково-технічна документація</b>
Альгінат кальцію Calcium Alginate Ca-Alg β-D-маннопірануросил- (1→4)- α-L- гулопірануросил- (1→4)- α- L-гулопірануросилат кальцію	Кальцієва сіль альгінової кислоти Формула: (C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>12</sub> Ca) <sub>n</sub>	ТУ У 6-04872 671.061-96 Е 404
Полівініловий спирт ПВС Polyvinil alcohol PVA	Синтетичний водорозчинний полімер аліфатичного ряду, що має гідроксильні групи і належить до полімерів і співполімерів вінілацетату. Формула; (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>n</sub> .	РТУ ЕРЗ 5-66
Еозин Н	Тетрабромфлуоресцеїн. Індикатор з рН переходом від 2,5 до 4,5: оранжевий – інтенсивно червоний	ТУ 6-09-183-75
Кислота хлорводнева	HCl	ГОСТ 3118-77
Вода очищена (Aqua purificata)	Безбарвна, прозора рідина без запаху та смаку (H <sub>2</sub> O).	[ФС 42-2619-89]
Етилендіамінтетраоцтова кислота (ЕДТА)		ДСТУ ISO 2482- 2001 (ISO 2482:1973, IDT)
Етиловий спирт		ДСТУ 7402:2013
Генціанвіолет		ГОСТ 21237-75.

**Основні властивості використаних полімерів, корисні для розробки  
антимікробних біоматеріалів**

Полімер	Властивості
<p>Полівініловий спирт (ПВС) Polyvinil alcohol (PVA)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>-біосумісний</li> <li>-біорозкладний</li> <li>-водорозчинний</li> <li>-нетоксичний</li> <li>-хороші фізико-механічні властивості</li> <li>-плівкоутворення</li> <li>-неканцерогенний</li> <li>-низька вартість</li> <li>-немає власних антибактеріальних властивостей</li> </ul> <p>Пластифікатори, такі як вода, гліцерин або сорбат калію, можна використовувати, щоб зробити ПВС-плівки більш гнучкими [33, 138].</p>
<p>Альгінат кальцію Calcium Alginate (Ca-Alg)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>-біосумісний</li> <li>-нетоксичний</li> <li>-неімуногенний</li> <li>-просто зшивати</li> <li>-використовується в системах з контрольованим вивільненням ліків.</li> </ul> <p>Альгінатні пов'язки мають високу абсорбцію, неадгезивні і створюють сильно гідратовані гелі за наявності ексудату рани [33, 92, 138, 139].</p>



**Полівініловий спирт (Polyvinil alcohol , PVA, ПВС).** ПВС - матеріал, який виявляє кристалічність. Він складається в основному з 1.3-діольних зв'язків [-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-], але деякий відсоток 1.2-діолів [-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-] зустрічається в залежності від умов полімеризації вінілу (рис. 2.7).

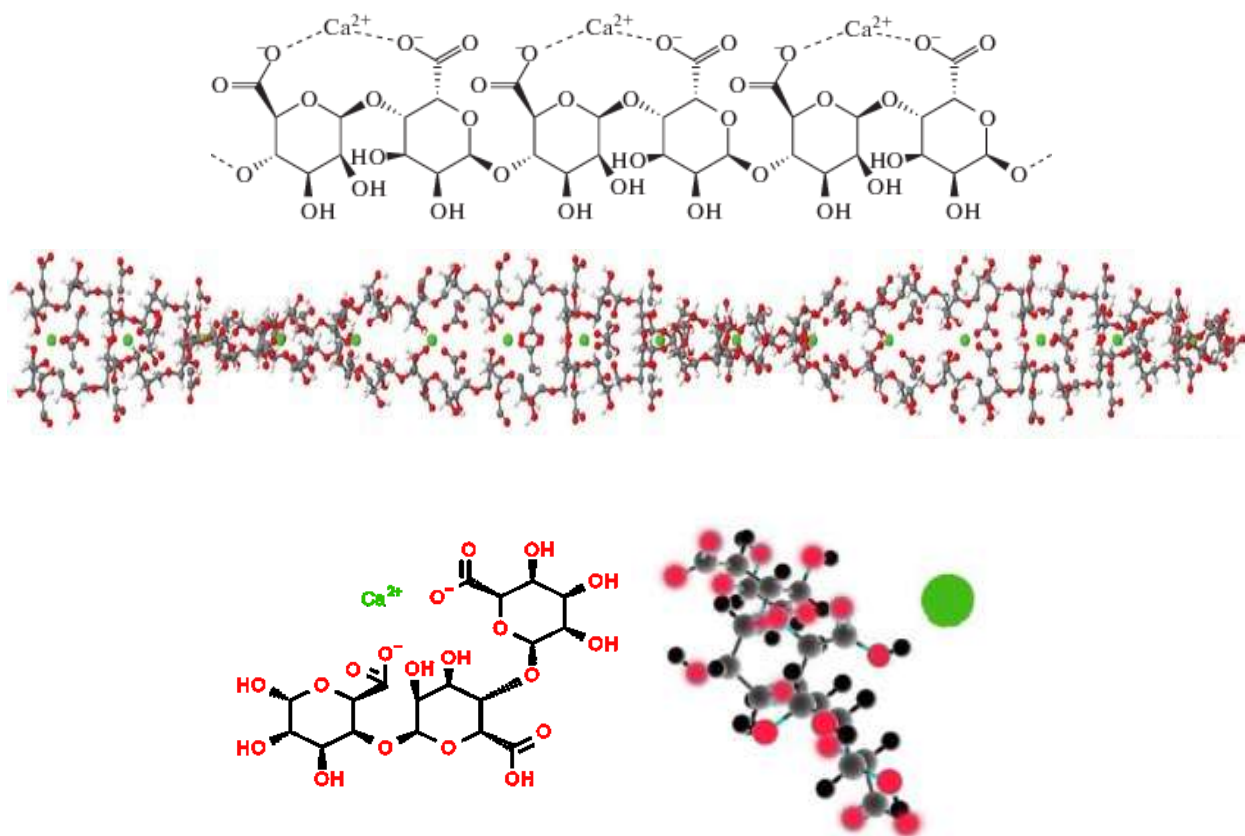


**Рис. 2.7.** Хімічна структура (2D і 3D) полівінілового спирту.

ПВС отримують шляхом гідролізу полівінілацетату. Чисті гідрогелі ПВС не мають гемостатичного та антибактеріального ефекту, їм бракує еластичності та гідрофільності. ПВС використовується при створенні матриці в поєднанні з іншими композитними матеріалами або біоактивними речовинами, а його взаємодія з клітинами прискорює процес загоєння ран. Було виявлено, що ПВС проявляє синергізм з додатковими функціональними компонентами, включаючи хітозан, желатин, альгінат, у покращенні загоєння ран [33, 138].

**Альгінат кальцію (кальцієва сіль альгінової кислоти).** Альгінати (солі альгінових кислот) - полісахариди, що представляють полімерний ланцюг, який складається з залишків  $\alpha$ -L-глюкуронової кислоти (G) і  $\beta$ -D-маннуринової кислоти (M), лінійно пов'язаних 1,4-глікозидними зв'язками. (рис. 2.8). Одиниці цукру розподіляються блоками, які складаються з послідовних залишків G (GGGGGG), послідовних залишків M (MMMMMM) і чергування залишків M і G (GMGMGM). Альгінати, отримані з різних джерел, відрізняються вмістом M і G, а також довжиною кожного блоку. При додаванні розчину дво- або тривалентного катіону альгінати

утворюють гелі шляхом іотропного гелеутворення. Вважається, що лише G-блоки альгінату беруть участь у міжмолекулярному зшиванні з двовалентними катіонами (наприклад,  $\text{Ca}^{2+}$ ) з утворенням гідрогелів [33, 139, 140].



**Рис. 2.8.** Хімічна структура (2D і 3D; полімерна та мономерна) альгінату кальцію.

Молекулярна маса альгінату натрію коливається від 32 000 до 400 000 г/моль, а розчинність залежить від хімічного складу. Альгінати у воді утворюють колоїдні розчини, на відміну від нерозчинної альгінової кислоти. Якщо альгінат багатий глюкуроною кислотою, він буде краще розчинятися у воді, ніж якщо він багатий маннураною кислотою. В'язкість альгінату залежить від його концентрації, молекулярної маси, довжини та кількості мономерних одиниць: чим довша довжина сегментів – тим вища в'язкість [33].

Альгінова кислота синтезується у клітинних стінках рослин у вигляді солей. Отримують альгінат кальцію із застосуванням хімічних речовин: кислоту нейтралізують гашеним вапном або вуглекислим кальцієм, очищують, висушують.

Являє собою волокнистий порошок або гранули від білого до жовтувато-коричневого кольору. Продуцентами є бурі водорості (*Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* і *Macrocystis pyrifera*). Бактеріальний біосинтез може забезпечити альгінат з більш визначеною хімічною структурою та фізичними властивостями, ніж альгінат, отриманий з морських водоростей. Бактеріальний альгінат можна отримати з *Azotobacter* і *Pseudomonas* [140].

Альгінат кальцію, вступаючи в реакцію із солями натрію, які перебувають у рановому секреті, утворює гель. Цей гель вбирає в себе велику кількість ранового секрету, повністю закриває навіть глибокі рани, не висихає, але при цьому до рани не прилипає, має знеболювальну дію. Альгінат зберігає структуру, подібну до позаклітинного матриксу, демонструючи високу біосумісність. Крім того, альгінатні пов'язки можуть зменшувати запалення, рановий запах, діяти як кровоспинний засіб і мати достатню газопроникність. Пов'язки з кальцію альгінату полегшують перев'язки, роблячи їх практично безболісними. Показаннями до призначення пов'язок із кальцію альгінату є: розсічені та глибокі рани; кровоточиві рани, а також рани, які важко обробляти; пролежні; трофічні виразки; виразки, спричинені діабетом; фурункули та карбункули; абсцеси. Широкого застосування пов'язки із кальцію альгінату набули у невідкладній хірургії. Значення альгінатів у технології іммобілізації біологічно активних речовин дуже велика [92, 141, 142].

### **2.3. Склад зразків розроблених біоматеріалів**

*Склад скринінгових зразків антимікробних біоматеріалів на основі альгінату кальцію, полівінілового спирту на ДКМ.* На першому етапі розробки полімерних антимікробних біоматеріалів, було виготовлено скринінгові зразки із різними концентраціями ДКМ та різним складом полімерів для первинного відбору (табл. 2.5). Досліджувані зразки – круглі тонкі плівки, насичені декаметоксином (ДКМ), діаметром  $\approx 7,5$  см.

## Склад скринінгових антимікробних біоматеріалів

№	Інгредієнти	Зразки/Позначення
1.	Декаметоксин – 0-0,1% Альгінат кальцію – 4%	1.1. ДКМ – 0 1.2. ДКМ – 0,02 % 1.3. ДКМ – 0,04 % 1.4. ДКМ – 0,06 % 1.5. ДКМ – 0,08 % 1.5. ДКМ – 0,1 %
2.	Декаметоксин – 0-0,1% Полівініловий спирт (ПВС) – 4%	2.1. ДКМ – 0 2.2. ДКМ – 0,02 % 2.3. ДКМ – 0,04 % 2.4. ДКМ – 0,06 % 2.5. ДКМ – 0,08 % 2.6. ДКМ – 0,1 %
3.	Декаметоксин – 0-0,1% Альгінат кальцію – 4% ЕДТА – 4%	3.1. ДКМ – 0 3.2. ДКМ – 0,02 % 3.3. ДКМ – 0,04 % 3.4. ДКМ – 0,06 % 3.5. ДКМ – 0,08 % 3.6. ДКМ – 0,1 %
4.	Декаметоксин – 0-0,1% Альгінат кальцію – 4% Полівініловий спирт – 4 %	4.1. ДКМ – 0 4.2. ДКМ – 0,02 % 4.3. ДКМ – 0,04 % 4.4. ДКМ – 0,06 % 4.5. ДКМ – 0,08 % 4.6. ДКМ – 0,1 %
5.	Декаметоксин – 0-0,1% Альгінат кальцію – 4% Бупівакаїн – 0,5 %	5.1. ДКМ – 0 5.2. ДКМ – 0,02 % 5.3. ДКМ – 0,04 % 5.4. ДКМ – 0,06 % 5.5. ДКМ – 0,08 % 5.6. ДКМ – 0,1 %

Після первинного мікробіологічного скринінгу, для подальших досліджень було виготовлено наступні зразки такого складу:

№1 – 0,05% ДКМ + ПВС + альгінат кальцію

№2 – 0,05% ДКМ + альгінат кальцію

№3 – 0,05% ДКМ + ПВС

№4 – 0,1% ДКМ + ПВС + альгінат кальцію + ЕДТА

№5 – 0,05% ДКМ + ПВС + альгінат кальцію + ЕДТА


№6 – 0,1% ДКМ + альгінат кальцію



№7 – 0,06% ДКМ + альгінат кальцію

Три зразки для глибокого порівняльного дослідження відповідають №1, №2, №4 із наведеного переліку, які на згаданому етапі будуть позначатись №1, №2, №3. В роботі, для порівняльного дослідження антимікробної активності біоматеріалів, також використовували відомі антимікробні ранові покриття, які випускаються фармацевтичною галуззю (табл. 2.6).

Таблиця 2.6.

**Характеристика комерційно доступних ранових покриттів, які використовували у дослідженні**

Продукт/Виробник	Фото упаковки/пов'язки	Склад/ Характеристика
<b>Suprasorb® X + PHMB (Lohmann &amp; Rauscher GmbH; USA)</b>		<p>Склад: вода, целюлоза, 0,3 % полігексанід (PHMB/polihexanide). Це місцева антимікробна ранова пов'язка для використання на інфікованих або критично колонізованих ранах із легким або помірним ексудатом. Підтримує вологе середовище для загоєння ран завдяки біосинтетичним волокнам HydroBalance (бактеріальна целюлоза).</p>

Продукт/Виробник	Фото упаковки/пов'язки	Склад/ Характеристика
<b>SILVERCEL® Hydro-Alginate (Systagenix; UK)</b>	 <p>The image shows the packaging for Silvercel Hydro-Alginate dressing. The top part is the box with text in English and Ukrainian, including 'ANTIMICROBIAL DRESSING WITH SILVER' and '10cm x 30cm per carton'. Below the box is a photograph of the dressing itself, which is a rectangular, textured, greyish material.</p>	<p>Пов'язка Silvercel® – це стерильний нетканый матеріал, що складається з альгінату з високим вмістом G (гулурунової кислоти), карбоксиметилцелюлози (СМС) і нейлонових волокон, покритих сріблом. З високою абсорбуючою здатністю, високою міцністю на розтягнення у вологому стані [143].</p>
<b>Urgotul SSD® (Urigo Medical; France)</b>	 <p>The image shows the packaging for Urgotul SSD dressing. The top part is the box with the brand name 'UrgoTul sso' and 'URGO' logo. Below the box is a photograph of the dressing, which is a rectangular, dark-colored material with a textured surface, partially wrapped in a clear plastic bag.</p>	<p>Ліпідно-колоїдна пов'язка з поліефірної сітки, просоченої гідроколоїдними частинками (карбоксиметилцелюлоза, вазеліновими частинками та сульфадіазином срібла. Вміст сульфадіазину срібла 3,75% [144].</p>

Продукт/Виробник	Фото упаковки/пов'язки	Склад/ Характеристика
<b>GUANPOLISEPT®</b> <b>(RIVS; UA),</b>		<p>Гель-пов'язка антисептична.</p> <p>Склад: вода очищена, календула, біоцид ПГМГ-ГХ, нетканий перев'язувальний матеріал, функціональні компоненти.</p> <p>Свідоцтво про державну реєстрацію засобу №05.03.02-08/1363 від 04.11.2015 МОЗ України.</p>
<b>Bétadine TULLE 10% DRESSING (MEDA PHARMA; France)</b>		<p>Просочена гелем гідрофільна марля. Діюча речовина (на 100 г гелю): йод повідон: 10 г допоміжні речовини: макрогол 400, макрогол 4000, макрогол 6000, вода очищена.</p>

## 2.4. Характеристика досліджуваних умовно-патогенних мікроорганізмів

Для дослідження використовували референтні штами музею живих культур кафедри мікробіології ВНМУ ім. Пирогова *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *A.baumannii* ATCC BAA-747 та клінічні МЛС ізоляти цих видів мікроорганізмів, які було отримано від пацієнтів з інфікованими бойовими опіками та осколковими пораненнями різної локалізації (табл. 2.7.). Для культивування мікроорганізмів використовували агар та бульйон Мюллера-Хінтон (HiMedia, Індія).

У дослідженні було використано клінічні штами, для яких було виявлено фенотипову антимікробну стійкість. Профіль чутливості до антибіотиків визначали на агарі Мюллера-Хінтона (HiMedia Laboratories, India) за допомогою методу дискової дифузії (Kirby-Bauer тест) з інтерпретацією розміру зон затримки росту на основі рекомендацій Інституту клінічних і лабораторних стандартів (CLSI, США, 2021) та Європейського комітету з тестування антимікробної чутливості [145, 146]. Стійкість до одного або більше агентів у трьох або більше категоріях свідчила про приналежність ізолятів бактерій до категорії МЛС (з множинною лікарською стійкістю; Multidrug-resistant, MDR) [147, 148].

Таблиця 2.7

### Перелік мікроорганізмів, використаних у дослідженнях

Мікроорганізми	Кількість штамів, n	Характеристика
<b>Контрольні штами</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1	Контрольний ізолят, чутливий до різних антибіотиків, включаючи метицилін



<b>Мікроорганізми</b>	<b>Кількість штамів, n</b>	<b>Характеристика</b>
<i>Esherichia coli</i> ATCC 25922	1	Сприйнятливий, дикий тип (EUCAST 2023)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	1	Продуцент $\beta$ -лактамаз TEM-1, стійка до ампіциліну (EUCAST 2023)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1	Чутливий, дикий тип (EUCAST 2023)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	1	Чутливий
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	1	Продуцент ESBL* (SHV18) (EUCAST 2023)
<i>A.baumannii</i> ATCC 15151	1	Чутливий
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC BAA-747	1	Контрольний штам, є клінічним зразком, виділеним із вушного гною
<b>Клінічні МЛС** ізоляти</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	40	Виділено від хворих
<i>Esherichia coli</i>	46	Виділено від хворих
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25	Виділено від хворих
<i>Acinetobacter baumannii</i>	42	Виділено від хворих
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43	Виділено від хворих

Примітка. \*ESBL –  $\beta$ -лактамази розширеного спектру; \*\*МЛС – множинна лікарська стійкість

## 2.5. Методика визначення чутливості мікроорганізмів до антисептиків.

Визначення мінімальної інгібуючої (МІК) та мінімальної бактерицидної концентрації (МБЦК). Визначення бактериостатичного та бактерицидного індексу активності антисептиків (БС ІАА та БЦ ІАА). Мікробіологічні дослідження було виконано в умовах акредитованої науково-дослідної бактеріологічної лабораторії кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (Свідоцтво про технічну компетентність № 115/21). Випробування на чутливість референтних та клінічних штамів з МЛС мікроорганізмів проводили стандартним макрометодом подвійних серійних розведень у бульйоні Мюллера-Хінтона (HiMedia Laboratories, Індія) згідно з рекомендаціями Інституту клінічних і лабораторних стандартів (CLSI, США) та рекомендаціями України [149-152].

Бактеріальні культури ресуспендували до 0,5 концентрації МакФарланда. Готували послідовні двократні розведення досліджуваних антисептиків, починаючи з робочих концентрацій. Потім, у кожен пробірник вносили 0,1 мл завису бактерій, інкубували 24 год за температури 37°C. Мінімальну бактериостатичну (інгібуючу) концентрацію (МІК) визначали як найнижчу концентрацію засобу, яка пригнічувала видимий ріст досліджуваного ізоляту, при спостереженні за ознаками його росту в середовищі неозброєним оком. Облік бактерицидної дії антисептиків (визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБЦК)) проводили за наявністю або відсутністю росту після висіву вмісту пробірок на агар Мюллера-Хінтона.

Отримані значення МІК та МБЦК також реєстрували у вигляді бактериостатичного індексу активності антисептика (БС ІАА = відношення робочої концентрації антисептика до його мінімальної бактериостатичної концентрації), та бактерицидного індексу активності антисептика (БЦ ІАА = відношення робочої концентрації антисептика до його мінімальної бактерицидної концентрації), тим самим оцінюючи доцільність використання даної робочої концентрації антисептика проти МЛС ізолятів *Pseudomonas aeruginosa*. Антисептик вважали активним (бактеріостатична активність та бактерицидна активність), якщо значення ІАА виявлялось більше чотирьох (ІАА>4), оскільки в природних умовах ефективність антисептика знижується в чотири рази [71, 153-156].

## 2.6. Методика дослідження дії антисептиків на незрілу та сформовану біоплівку мікроорганізмів

Здатність штамів формувати біоплівку, інгібування процесу біоплівкоутворення (дія антисептиків у суббактеріостатичних концентраціях на незрілу біоплівку при одночасному внесенні у лунку культури та антисептика), деструкцію зрілої біоплівки під дією бактеріостатичної, бактерицидної та  $\frac{1}{2}$  вихідної концентрації антисептиків моделювали за допомогою тесту Крістенсена, що ґрунтується на здатності мікроорганізмів до адгезії до поверхні пластикового планшету з подальшою їх фіксацією, фарбуванням кристалічним фіолетовим та спектрофотометричним аналізом фарбника, що розчинився у спирті (рис. 2.9).

Використовували добову культуру бактерій у планктонній формі, суспендовану у триптичному соєвому бульйоні (TSB, EMD Millipore, США) з 1 % глюкозою, концентрацією  $1,5 \times 10^8$  КУО/мл, що відповідає 0,5 за McFarland. В лунки негативного контролю вносили поживне середовище.

Для моделювання інгібування процесу біоплівкоутворення 100 мкл приготованої суспензії та 100 мкл розчину антисептика в концентрації  $2 \times 1/3$  МІК (контролем слугував фізіологічний розчин) додавали в стерильний 96-лунковий плоскодонний мікротитраційний планшет (USA Scientific, Inc), досягаючи кінцевої концентрації антисептика в лунці  $1/3$  МІК. Кожен штамп було піддано дії певної, попередньо визначеної для нього концентрації антисептиків ( $1/3$  МІК). Планшети культивували у вологій камері у термостаті при  $37^\circ\text{C}$  протягом 24 год. Після інкубації планктонні клітини видаляли з лунок піпетуванням, планшет триразово промивали фосфатно-сольовим буферним розчином, рН 7,2 (Sigma, USA; cat. no. P-3813).

Згодом, проводили фіксацію біоплівок, їх фарбування та визначення оптичної густини. Для цього матрикс та адгезовані клітини фіксували абсолютним метанолом і фарбували 220 мкл 0,1 % розчину кристалічного фіолетового (Merck, Німеччина) протягом 15 хв при кімнатній температурі. Після чого, лунки тричі промивали буферним розчином для видалення незв'язаного барвника, висушували впродовж 30 хв при  $37^\circ\text{C}$  (рис. 2.9).

Визначення дії антисептиків на незрілу біоплівку мікроорганізмів за допомогою тесту Крістенсена

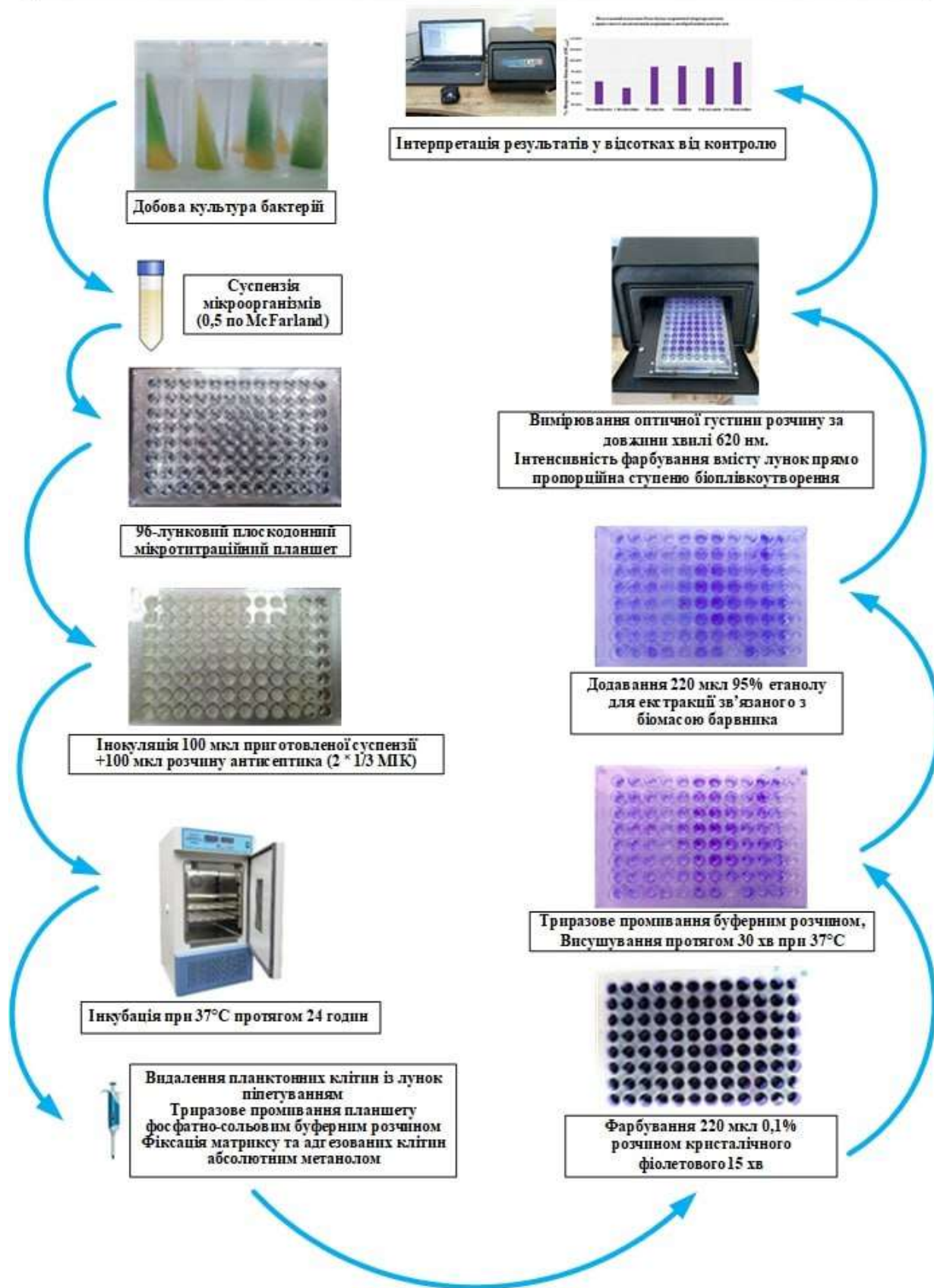


Рис. 2.9. Схематичне зображення алгоритму дослідження дії антисептиків на біоплівкоутворення мікроорганізмів.

Для екстракції зв'язаного з біомасою барвника до кожної лунки додавали 220 мкл 95% етанолу. Вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 620 нм. Для контрольних лунок алгоритм дій був аналогічний. Інтенсивність фарбування вмісту лунок прямо пропорційна ступеню біоплівкоутворення, кількісним виразом активності утворення біоплівки є значення оптичної густини, яке вимірювали на спектрофотометрі STAT FAX®4300 (Нідерланди). Для визначення здатності антисептиків у МІК, МБцК та  $\frac{1}{2}$  вихідної концентрації руйнувати зрілу біоплівку, з планшета з досліджуваними культурами штамів через 72 год інкубації видаляли планктонні клітини і вносили в кожну лунку по 100 мкл поживного середовища та 100 мкл розчину антисептика у концентраціях  $2 \times$  МІК,  $2 \times \frac{1}{2}$  МБцК та у вихідній концентрації для досягнення в результаті тестованих концентрацій (в контрольні лунки вносили фізіологічний розчин). Продовжували інкубувати протягом 24 год у вологій камері у термостаті при  $37^\circ\text{C}$ . Подальший порядок дій аналогічний наведеному вище.

Гранична оптична щільність (OD<sub>c</sub>) вказувала на утворення біоплівки, яку визначали як суму середнього арифметичного негативного контролю та потрійного значення його стандартного відхилення ( $\text{OD}_c = \bar{x} + 3\sigma$ ). Неінокульоване культуральне середовище слугувало негативним контролем. Результати інтерпретували таким чином: якщо оптична густина була  $<0,120$ , то біоплівкоутворюючу здатність оцінювали як низьку, якщо  $= 0,121-0,239$  – як середню, якщо  $>0,240$  – як високу. Позитивним контролем, з яким порівнювали результати, було середнє значення оптичної густини для кожного штаму без додавання антисептика (замість нього до суспензії додавали фізіологічний розчин). Інгібуючі властивості інтерпретували у відсотках від контролю і порівнювали між собою [153, 157, 158].

## **2.7. Методика виготовлення зразків біоматеріалів**

Дослідження передбачало розробку, виготовлення антимікробних біоматеріалів у формі плівки із полівінілового спирту, альгінату кальцію та ДКМ. Зразки виготовляли методом сольвентного лиття (рис. 2.10) [52, 87].

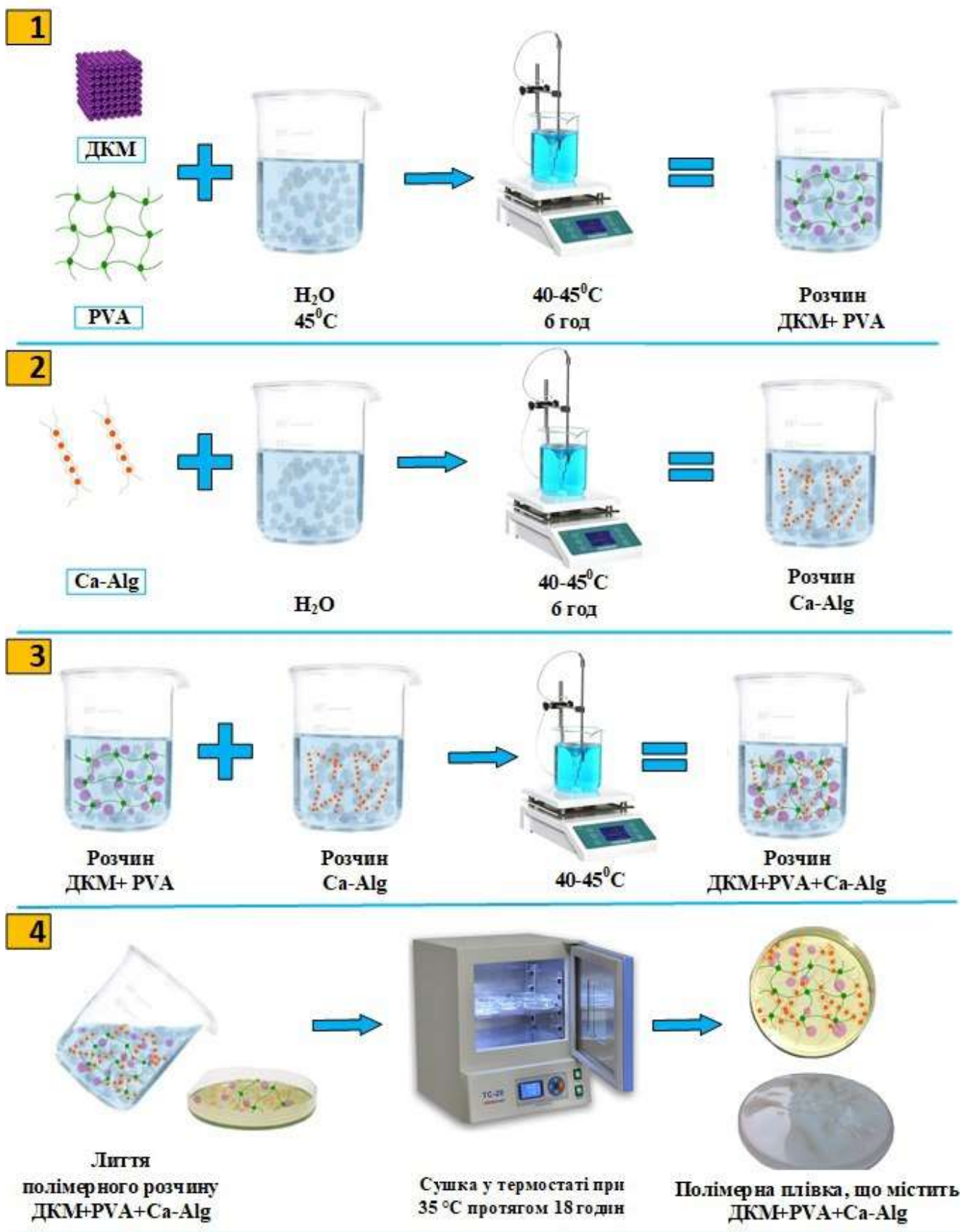


Рис. 2.10. Виготовлення полімерних зразків з ДКМ методом лиття з розчинника.

**Техніка сольвентного лиття** (метод лиття із розчинника) полягала у створенні полімерних плівок із різними концентраціями полімерів та активної речовини шляхом висушування в'язких розчинів, які містили полімери, добавки та активні речовини, у рівномірному шарі (рис. 2.10). Як правило, полімери розчиняли або диспергували в розчиннику, який потім виливали на опорну поверхню. По мірі випаровування розчинника, під час висушування на підкладці, утворювався твердий шар. Метод лиття із розчинника підходить для виготовлення полімерних плівок для біомедичних застосувань та широко використовується для додаткового включення ліків. Цей метод дає відповідні результати щодо гладкості, високої пластичності, товщини, прозорості плівки [87, 159].

Метод лиття із розчинника – це процес, який включає сольобілізацію полімеру та пластифікатора, розтікання розчину по підкладці та видалення розчинника, який викликає молекулярну орієнтацію полімерних ланцюгів та інтеркаляцію молекул пластифікатора, що призводить до утворення плівки. Методика лиття з розчинника має безліч переваг, таких як покращення фізико-хімічних властивостей, простота, низька вартість обробки та достатня однорідність товщини. Таким чином, метод лиття з розчинника є надійним процесом, який легко масштабувати в промисловому виробництві [87].

Що стосується загоєння ран, метод лиття з розчинника забезпечує деякі переваги пов'язок: прозорість, непроникність, пористість, економічна ефективність та гнучкість. Наприклад, прозорість дозволяє краще оцінювати рану без зняття пов'язки, не вимагає частих змін пов'язки, а також знижує ризик інфікування та травм. Пористість або паропроникність і киснепроникність пригнічують ріст анаеробних бактерій. Непроникність пригнічує ріст мікроорганізмів та слугує фізичним бар'єром для води та бактерій. Також, ранове покриття може допомогти створити вологе середовище, корисне для ранозагоєння, та спричинити аутолітичну санацію. Поява комбінованих плівок дозволила покращити фізичні, транспортні та механічні властивості порівняно з однокомпонентними плівками [84, 87, 160].

**Виготовлення.** Процес розчинення. Технологія лиття з розчинника включала першу стадію, на якій полімери та лікарський засіб розчиняли у відповідному

розчиннику для подальшого формування відповідної геометричної форми. Безсумнівно, тип перемішування мав вирішальне значення для мінімізації утворення бульбашок, збереження зовнішнього вигляду і механічних характеристик. Для приготування розчинів використовували лабораторний посуд другого класу точності. Для зважування – лабораторні аналітичні ваги (METRINCO AB224, Китай). Для перемішування – магнітну мішалку к контролем температури (Магнітна мішалка SH-II-4C, Voltcraft, Німеччина). Першу партію скринінгових зразків виготовляли з різними концентраціями активної речовини ДКМ від 0 до 1 % з кроком 0,02 %. Кінцеві концентрації ДКМ у розчині, таким чином, були: 0%, 0,02 %, 0,04 %, 0,06 %, 0,08 %, 0,1 %.

Полімери (альгінат кальцію і ПВС) розчиняли окремо. ДКМ розчиняли разом із полівініловим спиртом, або окремим розчином від розчину альгінату або ПВС, якщо зразок складався з одного полімеру. Готували по 6 стаканів, по 50 мл розчинів кожного з полімерів. Так як в результаті змішували два розчини – 50 мл (ДКМ та /або ПВС ) + 50 мл (альгінат кальцію), то кожний із компонентів брали у подвійній концентрації, щоб в результаті отримати 4% альгінату, 1,2% ПВС, 0-0,1% ДКМ (мас. %). Таким чином, альгінату кальцію вносили 8 г, ПВС – 3 г, ДКМ – 20 мг, 40 мг, 60 мг, 80 мг, 100 мг, 120 мг. Розчини альгінату кальцію (у концентрації 4 мас.%; 8г) готували легким перемішуванням у магнітній мішалці з використанням деіонізованої води як розчинника (6 стаканів по 50 мл) при температурі ~40-45 °С.

Концентрація полівінілового спирту становила ~1,2 мас.% (3г для приготування початкового розчину). Розчин полівінілового спирту готували через перемішування за температури ~40-45 °С з використанням деіонізованої води як розчинника (воду брали уже підігріту до 40 °С) та додаванням ДКМ (6 стаканів по 50 мл).

Вихідні розчини ПВС + ДКМ і альгінат кальцію змішували у співвідношенні 50:50 ( 50 мл+50 мл=100 мл), в результаті чого був отриманий гомогенний розчин з кінцевою концентрацією 4 % (маса/об'єм) альгінату і 1,2% (маса/об'єм) ПВС (співвідношення 70 % до 30 %) і різними концентраціями ДКМ. До складу деяких зразків входила ЕДТА у концентрації 4 %. Розчин ЕДТА готували разом із ПВС та



ДКМ (вносили 8 г для досягнення 4 % концентрації при змішуванні розчинів). Зразки висушували у термостаті при 35 °С протягом 18 год.

## 2.8. Методика визначення антимікробної дії розроблених біоматеріалів та комерційних ранових покриттів на референтні та клінічні штами ранових патогенів

Антибактеріальну активність розроблених біоматеріалів та досліджуваних ранових покриттів вивчали на агарі Мюллера-Хінтона (HiMedia Laboratories, India) за допомогою загальноприйнятого методу дискової дифузії (Kirby-Bauer тест) з реєстрацією та порівнянням діаметрів зон затримки росту на основі рекомендацій Інституту клінічних і лабораторних стандартів (CLSI, США, 2021) та Європейського комітету з тестування антимікробної чутливості [145, 146, 149-152, 161, 162].

Наразі момент немає затверджених рекомендацій Європейського комітету з тестування чутливості до антимікробних препаратів (EUCAST) або Інституту стандартів клінічної лабораторії (CLSI) з поточними таблицями контрольних точок (Breakpoint Tables) щодо інтерпретації діаметрів зон за категоріями сприйнятливості (S, I та R) для антисептиків та антимікробних матеріалів. Тому, інтерпретацію результатів проводили на основі порівняння діаметрів зон затримки росту навколо культур референтних та клінічних штамів *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii* під дією досліджуваних біоматеріалів із обчисленням достовірності різниці значень. Чутливість кожного штаму досліджували в чотирьох повторях.

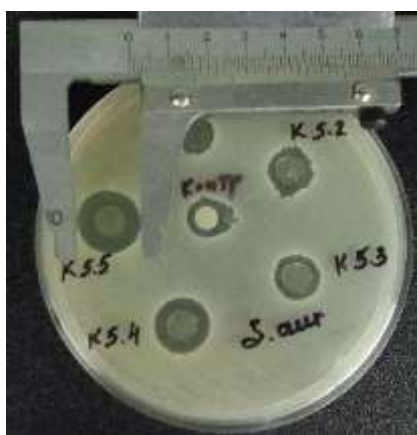


Рис. 2.11. Реєстрація зони затримки росту мікроорганізмів.

## 2.9. Методика дослідження кінетики вивільнення ДКМ із розроблених біоматеріалів

Досліджувані зразки – круглі тонкі плівки, насичені декаметоксином (ДКМ), діаметром  $\approx 7,5$  см. Зважували зразки, вносили в скляні стакани з широким дном. Дослідження кінетики вивільнення проводили у цитратному буферному розчині. Площу плівки знаходили за формулою визначення площі кола:  $\pi R^2$ . Якщо на  $1 \text{ см}^2$  припадає  $2 \text{ г}$  суміші, то  $1$  плівка мала масу в насиченому рідиною стані  $\approx 80 \text{ г}$ . Для перевірки вираховували вміст ДКМ в  $1$  плівці за формулою визначення  $V$  циліндра:  $\pi R^2 h$  [162].

Зразки спочатку поміщали в буфери, що містять  $0.5 \text{ г/л}$  еозину ( $0,05\%$  р-н еозину), на  $12$  год. Після імпрегнації вимірювали масу кожного розчину еозину/буферу, щоб визначити об'єм, який залишився (щільність вважали рівною  $1$ ). Концентрацію ДКМ вимірювали фотоколориметрично за реакцією з еозином проти холостого розчину: концентрацію еозину оцінювали за допомогою спектрометра КФК-2 (рф). Потім кількість еозину, яка залишилася, порівнювали з початковою кількістю еозину, щоб отримати масу еозину, включеного в зразки ( $m_{\text{включеного}}$ ). Після імпрегнації зразки поміщали безпосередньо в розчин буферу без еозину, при легкому перемішуванні, та відбирали аліквоти в необхідний час протягом  $120$  год. Об'єм підтримували постійним, шляхом заміни аліквот розчином буферу, що не містив еозину. Кожну аліквоту аналізували за допомогою спектроскопії, кумулятивну масу вивільненого еозину розраховували за формулою:

$$m_{\text{вивільненого}} = \sum m_{\text{аліквот}} \quad (2.1)$$

де  $m_{\text{аліквот}}$  відповідали масі еозину, видаленого в аліквоті. Відсоток вивільнення визначали як відношення  $m_{\text{вивільненого}} \times 100 / m_{\text{включеного}}$ . Криві вивільнення було адаптовано за моделлю Корсмайера-Пеппаса, що об'єднувало два процеси, які перебігали незалежно: дифузію за законом Фіка та Case-II-переніс.

$$m_{\text{вивільненого}} / m_{\text{включеного}} = kt^n, \quad (2.2)$$

або

$$M_t / M = kt^n \quad (2.3)$$

де  $M_t$  – це кількість засобу, що вивільнився до часу  $t$ ,  $M$  – максимальна кількість засобу, що вивільнився,  $k$  – константа вивільнення,  $n$  – експонента вивільнення,  $M_t/M$  – частка засобу, який вивільнився за одиницю часу. Адаптацію проводили за допомогою рівняння степеневого типу з довірчим інтервалом 95 % [162, 163, 164].

## 2.10. Методика статистичної обробки результатів

Для реалізації методів аналізу результатів біомедичних досліджень використовували ряд широко відомих комерційних статистичних пакетів Microsoft Office (365) Excel та пакету програм Statistica.

Обчислювалися основні показники параметричних методів варіаційної статистики (середня арифметична ( $M$ ), середня арифметична похибка ( $m$ ), середня похибка ( $t$ ), достовірність різниці значень ( $p$ )), коефіцієнт кореляції ( $r$ ). Критичний рівень статистичної достовірності ( $p$ ) дорівнював  $\leq 0,05$  [165].

*Коефіцієнт кореляції ( $r$ )* визначали для характеристики ступеня лінійного взаємозв'язку між двома вибірками. Оцінювали зміну коефіцієнта кореляції від -1 (сувора обернена лінійна залежність) до 1 (сувора пряма пропорційна залежність), при значенні 0 лінійної визначали відсутність залежності між двома вибірками. На практиці коефіцієнт кореляції набував деякого проміжного значення.

Глибину кореляційного зв'язку між величинами оцінювали згідно критеріїв:  $0,0 < r < 0,4$  – лінійного взаємозв'язку між параметрами виявити не вдалося;  $0,3 < r < 0,6$  – помірний зв'язок між параметрами;  $0,6 < r < 0,8$  – присутній лінійний зв'язок між параметрами;  $0,8 < r < 0,95$  – зв'язок між параметрами сильний;  $0,95 < r < 1,0$  – зв'язок між параметрами дуже сильний. Кореляційний аналіз дозволив отримати кореляційну матрицю, яка містила коефіцієнти кореляції між різними параметрами. Для оцінювання параметрів розподілу малих вибірок використовували розподіл Стюдента та визначали рівень значущості  $p$  [165].

## РОЗДІЛ 3

### ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ СУЧАСНИХ АНТИСЕПТИЧНИХ ЗАСОБІВ ЩОДО ЗБУДНИКІВ РАНОВИХ ІНФЕКЦІЙ З ОЗНАКАМИ МНОЖИННОЇ ЛІКАРСЬКОЇ СТІЙКОСТІ

#### **3.1. Вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами *Acinetobacter baumannii***

На основі використання методу багатокритеріального аналізу рішень, експерти ВООЗ разом з дослідниками з Відділення інфекційних хвороб Тюбінгенського університету (Німеччина), опублікували перелік “пріоритетних патогенів” – 12 видів бактерій, які становлять найбільшу загрозу для здоров’я людини (2017 р.). Представлені у переліку ВООЗ бактерії розділені на три групи за рівнем потреби в пошуку нових стратегій боротьби з ними. До групи критичної пріоритетності потрапили *Acinetobacter*, *Pseudomonas* і різні види родини *Enterobacteriaceae* (включаючи *K. pneumoniae*, *E. coli*), які сформували стійкість до дії широкого ряду антибіотиків, включаючи карбапенеми і цефалоспорини третього покоління [166]. Стійкий до карбапенемів *A.baumannii* був класифікований як найсерйозніша загроза в “критичній групі” пріоритетності [167-170].

У цьому контексті, поряд зі зростаючою стійкістю ізолятів *A.baumannii* до антибіотиків резерву, терапевтичні можливості дуже обмежені або відсутні в деяких випадках інфекцій, спричинених бактеріями з пан-антимікробною стійкістю. Ця ситуація спонукає дослідників в усьому світі шукати і вивчати нові терапевтичні стратегії в якості альтернативи антибіотикам [171, 172].

**Тестування чутливості до антисептиків МЛС штамів *A.baumannii* у планктонній формі. Визначення МІК та МБцК. Визначення індексу активності антисептиків.** В дослідженні *in vitro* виявлено достатньо високу ефективність основних антисептичних засобів, які зазвичай використовують для хірургічної антисептики та антисептичної обробки шкіри, ран та слизових оболонок, щодо розповсюдженого ранового патогена *A.baumannii* (табл. 3.1).

**Антимікробна активність антисептиків  
щодо клінічних штамів *A. baumannii* (n=43), в мкг/мл (M ± m)**

Антисептики	Показники				
	МІК	МБцК	1/3 МІК	МБцК / МІК	БЦ ІАА / БС ІАА
ДКМ	18,8±3,78	36,17±5,17	6,27 ± 1,19	1,92	0,47
ДС	19,83±3,35	38,32±6,34	6,61 ± 1,12	1,93	0,47
МРМ	36,22±3,37	67,95±5,03	12,07±1,13	1,88	0,5*
ХГ	55,24±9,81	123,14±23,15	18,41±3,27	2,23	0,5
ОКТ	17,8±2,27	36,82±4,69	5,79±0,76	2,07	0,5
ПГМБ	37,82±4,19	72,37±7,94	12,61±1,4	1,91	0,5
Повідон-йод	2516,03± 252,02	3910,26± 416,28	838,68 ± 84,01	1,55	0,7

*Примітка.* \*БЦ та БС ІАА МРМ були нижче порогового рівня (<4), що свідчить про недостатню активність антисептика у цій концентрації. Але показник співвідношення визначених індексів тут зазначено.

Мікробоцидні концентрації засобів перевищували мікробостатичні. Показник співвідношення МБцК/ МІК >4 вказує на те, що засіб має бактериостатичні властивості, тоді як значення <4 свідчить про бактерицидні властивості засобу [154, 155]. Щодо *A. baumannii*, значення співвідношення МБцК/МІК для всіх антисептиків були визначені менше чотирьох (<4), що вказує на бактерицидні властивості засобів. Найвищу активність щодо клінічних штамів *A. baumannii* серед досліджуваних антисептичних препаратів встановили для ДКМ, ДС та ОКТ, про що свідчили їх середні значення МІК, які становили 18,8±3,78 мкг/мл; 19,83±3,35 мкг/мл та 17,38±2,27 мкг/мл відповідно; та МБцК – 36,17±5,17 мкг/мл; 38,32±6,34 мкг/мл та 36,82±4,69 мкг/мл відповідно. Бактерицидна дія ДКМ на ацинетобактерії перевищувала таку ХГ у 3,21 рази і ця різниця мала високе значення достовірності ( $p < 0,001$ ). ДКМ виявив біоцидні властивості, що достовірно перевищували

бактерицидну дію МРМ у 1,77 рази ( $p < 0,001$ ) та ПГМБ у 1,89 рази ( $p < 0,01$ ). Схожу тенденцію проявив ОКТ з достовірними значеннями різниці результатів.

Таблиця 3.2

**Коефіцієнти достовірності різниці МІК досліджуваних антисептиків щодо клінічних штамів *A. baumannii* (p1)**

	МІК ДКМ 0,1%	МІК ДКМ 0,02%	МІК ХГ 0,05%	МІК ОКТ 0,1 %	МІК МРМ 0,01 %	МІК ПГМБ 0,1 %
МІК ДКМ 0,1%		>0,10	0,001	>0,10	<0,001	<0,01
МІК ДКМ 0,02%	>0,10		0,001	>0,10	<0,001	<0,01
МІК ХГ 0,05%	0,001	0,001		<0,001	>0,05	>0,10
МІК ОКТ 0,1 %	>0,10	>0,10	<0,001		<0,001	<0,001
МІК МРМ 0,01 %	<0,001	<0,001	>0,05	<0,001		>0,10
МІК ПГМБ 0,1 %	<0,01	<0,01	>0,05	<0,001	>0,10	

Таблиця 3.3.

**Коефіцієнти достовірності різниці МБцК досліджуваних антисептиків щодо клінічних штамів *A. baumannii* (p2)**

	МБцК ДКМ 0,1%	МБцК ДКМ 0,02%	МБцК ХГ 0,05%	МБцК ОКТ 0,1 %	МБцК МРМ 0,01 %	МБцК ПГМБ 0,1 %
МБцК ДКМ 0,1%		>0,10	<0,001	>0,10	<0,001	<0,001
МБцК ДКМ 0,02%	>0,10		<0,001	>0,10	<0,001	<0,01
МБцК ХГ 0,05%	<0,001	<0,001		<0,001	< 0,05	>0,10
МБцК ОКТ 0,1 %	>0,10	>0,10	<0,001		<0,001	<0,001
МБцК МРМ 0,01 %	<0,001	<0,001	< 0,05	<0,001		>0,10
МБцК ПГМБ 0,1 %	<0,001	< 0,05	>0,10	<0,001	>0,10	

МРМ та ПГМБ проявляли досить високу мікробостатичну та мікробоцидну активність щодо штамів *A.baumannii*. Спостерігали ефективне пригнічення росту ацінетобактерій при застосуванні МРМ ( $36,22 \pm 3,37$  мкг/мл) та ПГМБ ( $37,82 \pm 4,19$  мкг/мл), а також достатню цидну активність МРМ ( $67,95 \pm 5,03$  мкг/мл) та ПГМБ ( $72,37 \pm 7,94$  мкг/мл). Клінічні ізоляти ацінетобактерій були найменш чутливими до ХГ. Середні значення бактеріостатичних концентрацій останнього склали  $55,24 \pm 9,81$  мкг/мл, а бактерицидні властивості визначали в присутності концентрацій, які були у 2,23 рази вищими ( $123,14 \pm 23,15$  мкг/мл).

Таким чином, ранжування ефективності антисептичних препаратів за бактеріостатичними властивостями виглядає таким чином (від найбільш ефективного препарату):

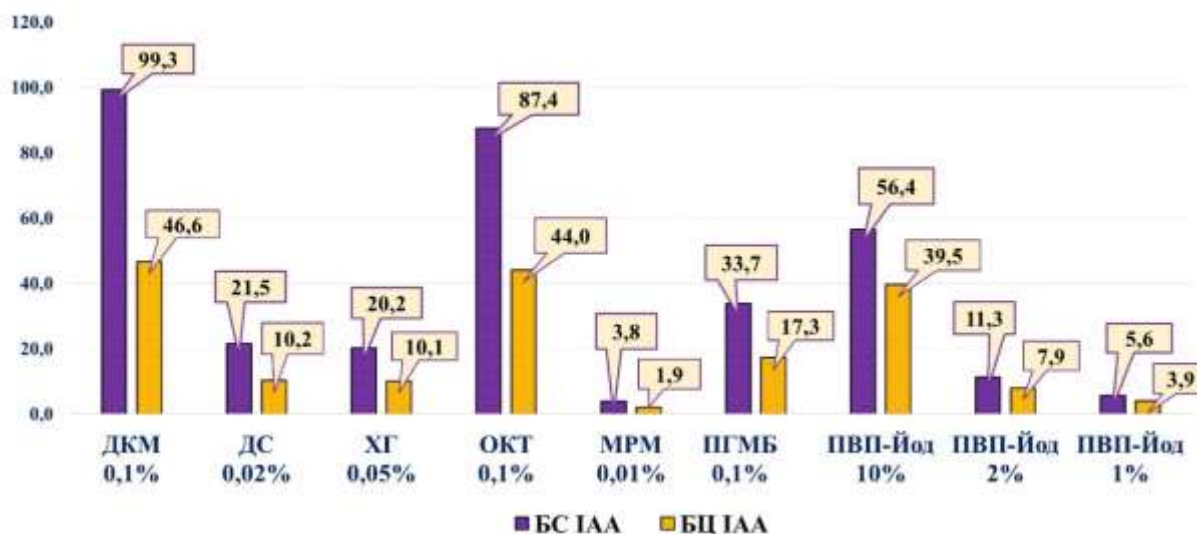
Octenisept > Decamethoxine > Decasan > Miramistin > Prontosan > Chlorhexidine.

Шкала бактерицидної активності препаратів наступна (від найбільш активного):

Decamethoxine > Octenisept > Decasan > Miramistin > Prontosan > Chlorhexidine.

Бактеріостатичні концентрації повідон-йоду щодо *A. baumannii* становили в середньому  $2516,03 \pm 252,02$  мкг/мл, а бактерицидні –  $3910,26 \pm 416,28$  мкг/мл. З огляду на те що повідон-йод належить до іншої хімічної групи антисептиків (галоїдвмісні сполуки), на відміну від інших досліджуваних препаратів (катіонні ПАР), його активна діюча речовина присутня у вихідному розчині у значно вищих концентраціях і порівнювати ці препарати за показником МБцК неможливо.

Порівняльний аналіз антисептиків було додатково проведено за диференційованим показником ІАА, розраховуючи БС ІАА та БЦ ІАА. Це дозволило оцінити доцільність застосування певних концентрацій активної діючої речовини у вихідному робочому розчині препарату. Оскільки препарат Betadine®, що містить повідон-йод, за інструкцією рекомендовано застосовувати в розведеннях 1:5 та 1:10, такі концентрації (2 % та 1 %) також було включено у порівняльний аналіз як вихідні розчини препарату (рис. 3.1).



**Рис 3.1.** Середні значення бактеріостатичного (БС) та бактерицидного (БЦ) ІАА щодо клінічних штамів *A. baumannii*.

На основі аналізу показників БС ІАА та БЦ ІАА щодо штамів *A. baumannii* антисептики ДКМ, ДС, ХГ, ОКТ, ПГМБ та повідон-йод у концентраціях 10% та 2% розцінювали як активні, оскільки показники їх ІАА значно перевищували порогове значення ІАА, яке має бути не меншим ніж чотири. Співвідношення бактерицидного і бактеріостатичного ІАА варіювало для препаратів групи катіонних ПАВ від 0,47 до 0,50, а для різних концентрацій повідон-йоду цей показник складав 0,70, що свідчило про його вищий бактерицидний ефект.

Показники ІАА були найвищими у ДКМ, ОКТ та повідон-йоду 10%, що корелювало з високими концентраціями активної діючої речовини у вихідних розчинах цих препаратів. Показники БС і БЦ ІАА для ДКМ, ОКТ і 10% повідон-йоду становили 99,3 та 46,6; 87,4 та 44,0; 56,4 та 39,5 відповідно, що значно перевищувало поріг активності. Антисептики ДС, ХГ і ПГМБ мали нижчі показники ІАА, проте встановлені концентрації визначили ефективними щодо ацінетобактерій, оскільки показники БС ІАА цих антисептиків перевищували гранично допустимі у 5,05 – 7,4 рази, а БЦ ІАА – у 2,53 – 4,0 рази.

На основі аналізу показників ІАА встановлено недостатню ефективність концентрації препарату МРМ (0,01%) щодо профілактики і лікування інфекційних



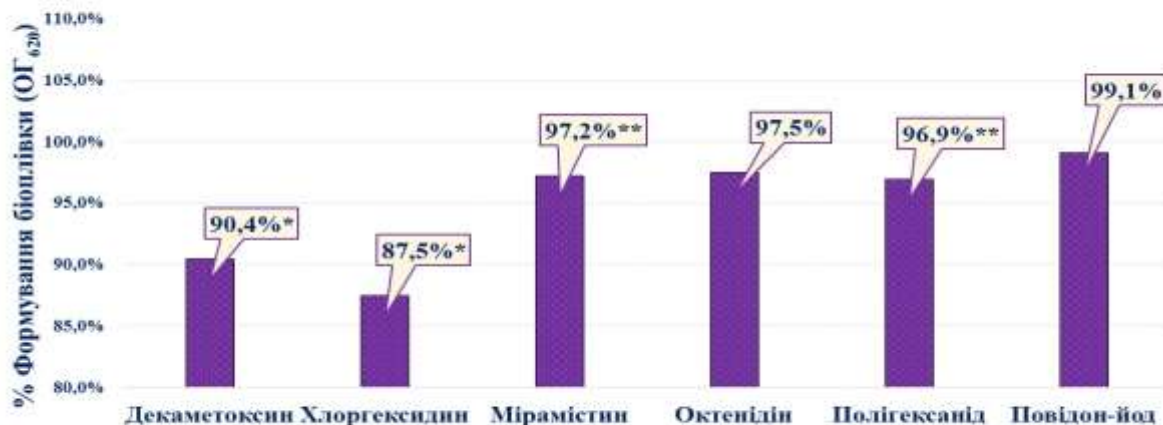
ускладнень, спричинених штамами *A. baumannii* з МЛС, оскільки показники ІАА МРМ не перевищували допустимий поріг цього показника (“4”), що особливо помітно при диференціюванні показника за бактеріостатичним і бактерицидним ефектами (БС ІАА = 3,8; БЦ ІАА = 1,9).

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 %, що ставить під сумнів доцільність застосування цього антисептика у такій концентрації. Показник БС ІАА повідон-йоду 1,0 % наближався до порогового значення і становив 5,6, а значення БЦ ІАА було за допустимим порогом і становило 3,9.

**Дія антисептиків на незрілу біоплівку *A. baumannii*: ефективність пригнічення формування біоплівки.** Наступним кроком було визначення чутливості біоплівкових форм ранових МЛС ізолятів *A. baumannii* до антисептиків. Всі досліджувані штами виявляли біоплівкоутворюючі властивості. Цю властивість було інтерпретовано як середню, оскільки значення оптичної щільності були у межах від 0,121 до 0,239 одиниць оптичної густини (ООГ або ODU – optical density units). Середнє значення ступеня поглинання барвника біоплівками в контрольних лунках становило  $0,230 \pm 0,05$  одиниць оптичної густини (ОГ).

Дослідження показало, що суббактеріостатичні (1/3 МІК) концентрації ДКМ ( $6,44 \pm 1,19$  мкг/мл) і ХГ ( $18,41 \pm 3,27$  мкг/мл) надійно інгібували утворення біоплівки *A. baumannii* протягом 24 годин (рис. 3.2.;  $p < 0,001$ ). Під дією ДКМ середнє значення оптичної густини біоплівок *A. baumannii* зменшувалось у 1,11 рази, порівняно з контролем і становило  $0,207 \pm 0,01$  ОГ, а за присутності ХГ – в 1,15 рази і становило  $0,200 \pm 0,01$  ОГ. Субінгібуючі концентрації ОКТ (в середньому  $5,79 \pm 0,76$  мкг/мл), ПГМБ (в середньому  $12,61 \pm 1,4$  мкг/мл), МРМ (в середньому  $12,07 \pm 1,12$  мкг/мл) та повідон-йоду (в середньому  $838,68 \pm 84,01$  мкг/мл) показали нижчий антибіоплівкоутворюючий ефект, проте різниця не була статистично значущою. Коефіцієнти достовірності коливалися від  $p = 0,29$  до  $p = 0,93$ . У ДКМ і ХГ встановлено найбільш виражену дію на незрілі біоплівки *A. baumannii*. Їх інгібуючий ефект становив відповідно 90,45 % і 87,47 % порівняно з контролем (100 %). Для МРМ,

ОКТ, ПГМБ та повідон-йоду ці значення становили 97,21%, 97,46%, 96,92% та 99,10% відповідно (рис. 3.2).



**Рис. 3.2.** Відсотковий показник дії 1/3 МІК антисептиків на незрілу біоплівку *A.baumannii* (n=42) порівняно з необробленим контролем; \*- коефіцієнт достовірності ( $p < 0.001$ ); \*\* - коефіцієнт достовірності  $p < 0.01$ .

ДКМ і ХГ у суббактеріостатичних концентраціях достовірно пригнічували утворення незрілої біоплівки *A. baumannii* на 9,55 % ( $p < 0,001$ ) і 12,53 % ( $p < 0,001$ ) відповідно, у порівнянні з контролем. Визначили, що МРМ пригнічував утворення біоплівки на 2,79 % ( $p < 0,01$ ), ОКТ – на 2,54 % ( $p > 0,10$ ), ПГМБ – на 3,08 % ( $p < 0,01$ ), а повідон-йод – на 0,9 % ( $p > 0,10$ ) порівняно з необробленим контролем. Встановлено негативну кореляцію між біоплівкоутворюючими властивостями штамів за наявності суббактеріостатичних концентрацій досліджуваних антисептиків та їх чутливістю до них. Коефіцієнти кореляції Пірсона для ДКМ, МРМ, ОКТ, ПГМБ та повідон-йоду становили  $r = - 0,76, - 0,92, - 0,59, - 0,87, - 0,9$  відповідно. Таким чином, пригнічення біоплівкоутворюючих властивостей залежить від концентрації антисептика, а не від чутливості *A. baumannii* до цих антисептиків. Біоплівкоутворювальні властивості клінічних штамів *A. baumannii* погано корелювали з їх чутливістю до ХГ (коефіцієнт  $r$ -Пірсона ( $r=0,15$ )). Якщо ранжувати ефективність препаратів за дією їх суб-МІК

концентрацій на незрілу біоплівку полірезистентних ацинетобактерій, то шкала ефективності буде такою (від найбільш ефективного):

Chlorhexidine > Decamethoxine/Decasan > Prontosan > Miramistin > Octenisept > Betadine

Значення МІК і МБЦК антисептиків класу ЧАС, таких як ДКМ і ОКТ, показали, що вони є найбільш ефективними препаратами. ЧАС і галоген-вмісні антисептики, якщо їх значення ІАА (БС і БЦ) були >4, вважалися активними. Співвідношення БЦ до БС ІАА коливалося від 0,47 до 0,5 для антисептиків ЧАС. Для різних концентрацій повідон-йоду цей коефіцієнт становив 0,70, що свідчить про його найвищу бактерицидну дію.

Аналізуючи отримані результати, можна стверджувати, що бактеріостатичні та більш високі концентрації ДКМ можуть забезпечити надійний захист від формування мікроорганізмами біоплівок. Суббактеріостатичні концентрації ОКТ, ПГМБ, МРМ та повідон-йоду показали низький антибіоплівкоутворюючий ефект щодо штамів *A.baumannii*, і різниця відносно контролю не була статистично значущою. Сильна негативна кореляція між біоплівкоутворюючими властивостями *A.baumannii* у присутності суббактеріостатичних концентрацій згаданих антисептиків та їх чутливістю до них вказує на залежність цих властивостей від концентрації антисептика, а не від підвищеної чутливості окремого штаму.

### **3.2. Вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами *Escherichia coli***

Мультирезистентні ентеробактерії як збудники інфекційних процесів різної локалізації стали серйозним викликом інфекційного контролю, особливо інфекцій м'яких тканин і шкіри, глибоких та поверхневих інфекцій місця хірургічного втручання, інфікованих пролежнів, опіків та ран, на яких сфокусоване наше дослідження [132, 173]. Генетична пластичність *E.coli* забезпечує більшу мінливість і адаптацію до різних умов росту та ніш. Генотипове різноманіття проявляється в широкому діапазоні способів життя та вірулентності, починаючи від невірулентних до високопатогенних форм, в т.ч. їх позакишковою вірулентністю.

Очевидною стає необхідність просування альтернативних стратегій лікування цих інфекцій [71, 174, 175-178].

**Тестування чутливості до антисептиків МЛС штамів *Escherichia coli* у планктонній формі. Визначення МІК та МБцК. Визначення індексу активності антисептиків.** За дії антисептиків на планктонні форми клінічних ізолятів ранового збудника *E.coli*, який ВООЗ класифікує як критично пріоритетний збудник через профіль антибіотикорезистентності виявлено високу ефективність основних антисептиків із групи поверхнево-активних речовин. Найвищу антимікробну активність щодо клінічних штамів *E.coli* серед досліджуваних антисептиків із групи ЧАС виявлено у ДКМ (0,1 % та 0,02 %) та ОКТ (0,1 %). Їх мінімальні інгібуючі та мінімальні бактерицидні концентрації були найнижчими (табл. 3.4).

Таблиця 3.4.

**Антимікробна активність антисептиків щодо клінічних штамів *E.coli* (n=46), в мкг/мл (M ± m)**

Антисептики	Показники				
	МІК (МІК)	МБцК	1/3 МІК	МБцК / МІК	БЦ ІАА / БС ІАА
ДКМ	7,19±0,53	11,30±0,76	2,40 ± 0,18	1,57	0,65
ДС	7,83±0,49	12,25±0,88	2,60 ± 0,19	1,56	0,74
МРМ	20,38±1,31	34,24±1,8	6,79 ± 0,44	1,68	0,58*
ХГ	23,79±1,39	34,39±2,12	2,61 ± 0,16	1,45	0,53
ОКТ	12,42±0,67	22,49±2,08	4,14 ± 0,22	1,81	0,61
ПГМБ	23,77±2,96	47,55±5,91	7,92 ± 0,99	2,00	0,5
Повідон-йод	2989,13± 147,84	3695,65± 186,16	996,38 ± 49,28	1,24	0,84

Примітка. \* БС ІАА МРМ була нижче порогового рівня (<4), що свідчить про недостатню активність антисептика у цій концентрації. Але показник співвідношення визначених індексів тут зазначено.

Середні значення мінімальних пригнічуючих концентрацій ДКМ 0,1%, ДКМ 0,02% (ДС) та ОКТ (0,1%) становили  $7,19 \pm 0,53$  мкг/мл;  $7,83 \pm 0,49$  мкг/мл і  $12,42 \pm 0,67$  мкг/мл. Бактерицидні властивості визначали за наявності концентрацій  $11,30 \pm 0,76$  мкг/мл (ДКМ 0,1%);  $12,25 \pm 0,88$  мкг/мл (ДКМ 0,02%) та  $22,49 \pm 2,08$  мкг/мл (ОКТ 0,1%). МРМ, ХГ і ПГМБ продемонстрували досить високу бактеріостатичну та бактерицидну активність щодо клінічних штамів *E.coli*. Ефективне пригнічення росту ешерихій отримано при застосуванні МРМ в концентрації  $20,38 \pm 1,31$  мкг/мл; ХГ – у концентрації  $23,79 \pm 1,39$  мкг/мл і ПГМБ – у концентрації  $23,77 \pm 2,96$  мкг/мл. Щодо бактерицидної дії цих антисептиків, то найбільше значення мінімальної бактерицидної концентрації встановлено для ПГМБ ( $47,55 \pm 5,91$  мкг/мл), що вдвічі перевищує його бактеріостатичну концентрацію. Значення МБцК для МРМ та ХГ становили  $34,24 \pm 1,8$  мкг/мл та  $34,39 \pm 2,12$  мкг/мл відповідно.

Встановлено, що клінічні штами *E.coli* були найбільш чутливими до ОКТ та ДКМ. МІК ОКТ були достовірно нижчими від МРМ у 1,64 рази ( $p < 0,001$ ), ХГ – у 1,92 рази ( $p < 0,001$ ), ПГМБ – у 1,91 рази ( $p < 0,001$ ) (табл. 3.5).

Таблиця 3.5.

**Коефіцієнти достовірності різниці МІК антисептиків щодо клінічних штамів *E.coli* (p1)**

	МІК ДКМ 0,1%	МІК ДКМ 0,02%	МІК ХГ 0,05%	МІК ОКТ 0,1 %	МІК МРМ 0,01 %	МІК ПГМБ 0,1 %
МІК ДКМ 0,1%		>0,10	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
МІК ДКМ 0,02%	>0,10		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
МІК ХГ 0,05%	<0,001	<0,001		<0,001	<0,1	>0,10
МІК ОКТ 0,1 %	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001
МІК МРМ 0,01 %	<0,001	<0,001	<0,1	<0,001		>0,10
МІК ПГМБ 0,1 %	<0,001	<0,001	>0,10	<0,001	>0,10	

Бактеріостатична дія ДКМ щодо клінічних штамів кишкової палички достовірно (табл. 3.5) перевищувала таку МРМ у 2,71 рази ( $p < 0,001$ ), ХГ – у 3,17 рази

( $p < 0,001$ ), ОКТ – у 1,65 рази ( $p < 0,001$ ), ПГМБ – у 3,17 рази ( $p < 0,001$ ). Бактерицидна активність ДКМ достовірно перевищувала таку МРМ у 2,91 рази ( $p < 0,001$ ), ХГ – у 2,92 рази ( $p < 0,001$ ), ОКТ – у 1,91 рази ( $p < 0,001$ ), ПГМБ – у 4,04 рази ( $p < 0,001$ ). Значення МБцК ОКТ були достовірно нижчими від МРМ у 1,52 рази ( $p < 0,001$ ), ХГ – у 1,53 рази ( $p < 0,001$ ), ПГМБ – у 2,11 рази ( $p < 0,001$ ) (табл. 3.6).

Таблиця 3.6.

**Коефіцієнти достовірності різниці МБцК досліджуваних антисептиків щодо клінічних штамів *E.coli* (p2)**

	МБцК ДКМ 0,1%	МБцК ДКМ 0,02%	МБцК ХГ 0,05%	МБцК ОКТ 0,1 %	МБцК МРМ 0,01 %	МБцК ПГМБ 0,1 %
МБцК ДКМ 0,1%		>0,10	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
МБцК ДКМ 0,02%	>0,10		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
МБцК ХГ 0,05%	<0,001	<0,001		<0,001	>0,10	< 0,05
МБцК ОКТ 0,1 %	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001
МБцК МРМ 0,01 %	<0,001	<0,001	>0,10	<0,001		>0,10
МБцК ПГМБ 0,1 %	<0,001	<0,001	< 0,05	<0,001	< 0,05	

Підсумовуючи вищесказане, можна підкреслити, що серед досліджених ЧАС клінічні ізоляти *E.coli* були найбільш чутливими до ДКМ та ОКТ, а найменш – до ПГМБ. Таким чином, ранжування ефективності антисептичних препаратів за бактериостатичними властивостями буде виглядати таким чином (від найбільш ефективного препарату):

Decamethoxine > Decasan > Octenisept > Miramistin > Prontosan > Chlorhexidine.

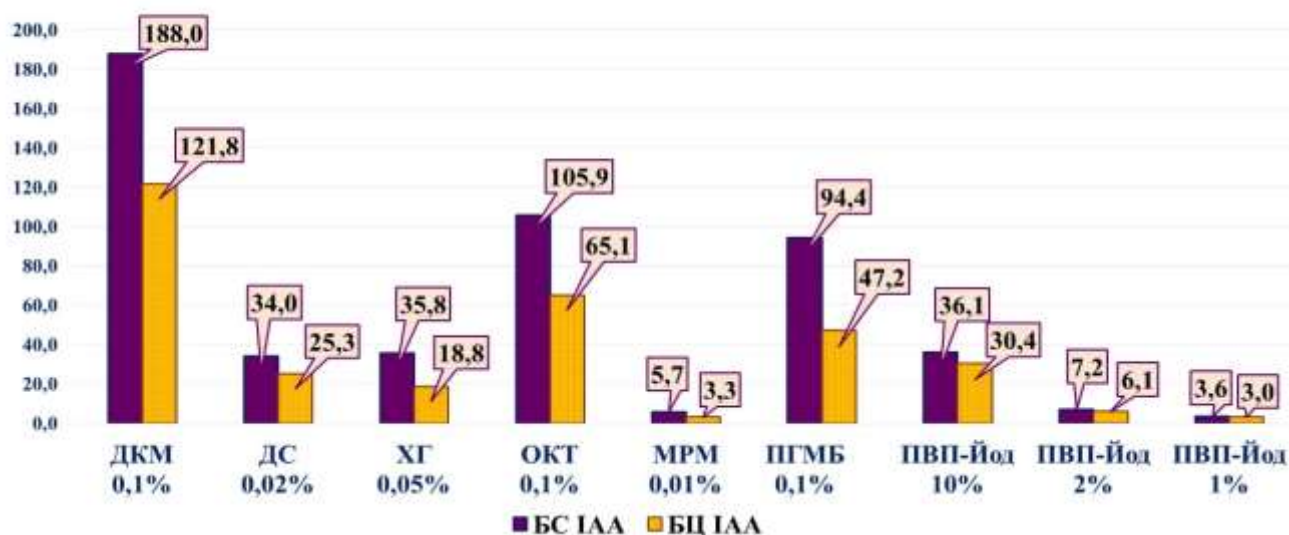
Шкала бактерицидної активності препаратів буде наступною (від найбільш активного):

Decamethoxine > Decasan > Octenisept > Miramistin > Chlorhexidine > Prontosan.

МІК повідон-йоду щодо *E.coli* становили у середньому  $2989,13 \pm 147,84$  мкг/мл, а бактерицидні концентрації –  $3695,65 \pm 186,16$  мкг/мл. Оцінка ефективності повідон-йоду за індексом активності антисептика показала, що значення БС ІАА та БЦ ІАА

для повідон-йоду 10% становили 36,1 та 30,4, для повідон-йоду 2% - 7,2 та 6,1, для повідон-йоду 1% - 3,6 та 3,0 відповідно. В той час як для ОКТ 0,1 % визначено значення БС ІАА та БЦ ІАА 105,9 та 65,1. БС ІАА та БЦ ІАА для 0,05% ХГ становили 35,8 і 18,8 відповідно. Для ПГМБ 0,1 % значення БС ІАА та БЦ ІАА становили 94,4 та 47,2. Визначено значення БС ІАА (5,7) та БЦ ІАА (3,3) для МРМ 0,01 %. БС ІАА для ДКМ 0,1% становив в середньому 188,0, а БЦ ІАА для ДКМ 0,1% становив 121,8. Бактеріостатичний ІАА та бактерицидний ІАА для ДКМ 0,02% становили 34,0 та 25,3 відповідно (рис. 3.3).

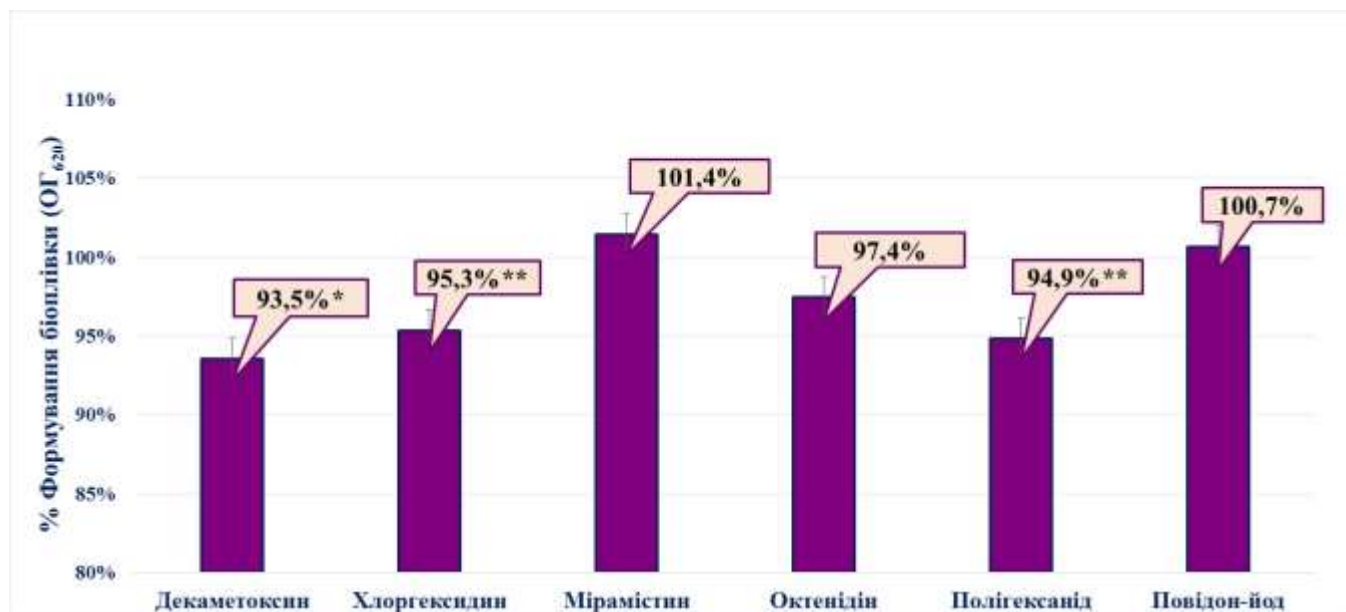
Співвідношення БЦ до БС ІАА коливалося в діапазоні від 0,5 до 0,83 для ЧАС і галоген-вмісних антисептиків. Найбільшу бактерицидну дію виявляв повідон-йод, оскільки відношення БЦ до БС ІАА становило 0,83 для різних концентрацій повідон-йоду. Серед антисептиків ЧАС найвищу бактерицидну дію мав ДКМ, оскільки відношення БЦ до БС ІАА становило 0,7. Для ХГ і ПГМБ цей коефіцієнт становить 0,5, для МРМ – 0,58, для ОКТ – 0,61. Найбільші показники ІАА (ІАА >4) були у антисептиків ПГМБ (0,1%), ОКТ (0,1%) та ДКМ (0,1%), оскільки робочі розчини цих препаратів містять високі концентрації діючої речовини.



**Рис. 3.3.** Середні значення бактеріостатичного (БС) та бактерицидного (БЦ) ІАА відносно клінічних штамів *E.coli*.

**Дія антисептиків на незрілу біоплівку *E.coli*: ефективність пригнічення формування біоплівки.** Встановлено, що усі досліджувані полірезистентні клінічні штами *E.coli* були біоплівкоутворюючими і мали середні властивості утворення біоплівки. Середнє значення ступеня поглинання барвника біоплівками в контрольних лунках становило  $0,212 \pm 0,004$  одиниць оптичної густини (ООГ).

Визначення антибіоплівкоутворюючої активності показало, що суббактеріостатичні концентрації (1/3 МІК) ДКМ ( $2,40 \pm 0,18$  мкг/мл), хлогексидину ( $2,61 \pm 0,16$  мкг/мл) і ПГМБ ( $7,92 \pm 0,99$  мкг) достовірно (коефіцієнт достовірності  $p < 0,001$  – для ДКМ та ХГ,  $p < 0,01$  – для ПГМБ) інгібували утворення біоплівок *E.coli* протягом 24 год. Під впливом ДКМ середнє значення оптичної щільності біоплівок кишкової палички зменшувалось у 10,8 рази порівняно з контролем і становило  $0,198 \pm 0,001$  ООГ, під впливом ХГ – у 1,05 рази і становило  $0,201 \pm 0,001$  ООГ, а за присутності ПГМБ – у 1,06 рази і становило  $0,200 \pm 0,001$  ООГ (рис. 3.4).



**Рис. 3.4.** Відсотковий показник дії 1/3 МІК антисептиків на незрілу біоплівку *E.coli* (n=46) порівняно з необробленим контролем; \*- коефіцієнт достовірності ( $p < 0,001$ ); \*\* - коефіцієнт достовірності  $p < 0,01$

ОКТ в присутності 1/3 МІК ( $4,14 \pm 0,22$  мкг/мл) показав нижчий антибіоплівкоутворюючий ефект, але різниця не була статистично значущою. Результати цього дослідження продемонстровано у вигляді відсоткового показника



здатності ізолятів *E.coli* утворювати біоплівки в присутності досліджуваних антисептиків порівняно з інтактним контролем. Оцінка антибіоплівкоутворюючого ефекту досліджуваних антисептиків свідчить, що ДКМ, ХГ і ПГМБ виявляли найсильніший вплив на незрілі біоплівки *E.coli*. Інгібуючий ефект становив 93,52%, 95,34% і 94,85% порівняно з контролем (100%). Для ОКТ це значення становило 97,44%. Навпаки, суб-МІК МРМ ( $6,79 \pm 0,44$  мкг/мл) і повідон-йоду ( $996,38 \pm 49,28$  мкг/мл) незначно стимулювали утворення біоплівки. Стимулюючий ефект порівняно з контролем становив 101,43% і 101,68% відповідно.

ДКМ і ПГМБ у суб-МІК продемонстрували найсильніший вплив на незрілу біоплівку та значно пригнічували утворення біоплівки *E. coli* на 6,48% ( $p < 0,001$ ) і 5,15% ( $p < 0,01$ ) відповідно, порівняно з контролем. ХГ і ОКТ показали менш інтенсивну дію. ХГ пригнічував утворення біоплівки на 4,66% ( $p < 0,01$ ), а ОКТ – на 2,56% ( $p > 0,10$ ) порівняно з необробленим контролем. МРМ та повідон-йод у субМІК підвищували здатність мікроорганізмів утворювати біоплівки на 1,43 % та 0,68 % відповідно.

Було доведено негативну кореляцію між біоплівкоутворювальною здатністю ізолятів у присутності суб-МІК ОКТ та ДКМ та їх чутливістю до них. Коефіцієнти кореляції Пірсона для ДКМ та ОКТ становили  $r = -0,67$  та  $-0,53$  відповідно. Таким чином, для цих антисептиків пригнічення біоплівкоутворюючих властивостей залежало саме від концентрації антисептика, а не від чутливості до них *E.coli*. Біоплівкоутворювальні властивості штамів *E.coli* добре корелювали з їх чутливістю до ХГ ( $r = 0,49$ ). Властивості *E.coli* утворювати біоплівки погано корелювали з їх чутливістю до ПГМБ ( $r = 0,11$ ).

Якщо ранжувати ефективність препаратів за дією їх суб-МІК концентрацій на незрілу біоплівку полірезистентних ешерихій, то шкала ефективності буде такою (від найбільш ефективного):

Decamethoxine/Decasan > Prontosan > Chlorhexidine > Octenisept > Betadine > Miramistin

### **3.3. Вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами *Klebsiella pneumoniae***

Рани особливо схильні до мікробної колонізації різними представниками ентеробактерій з високим ризиком інфікування мікроорганізмами з множинною лікарською стійкістю [73, 74, 174, 179]. Звіти ВООЗ показують, що резистентність бактерій до ліків була виявлена в усіх частинах світу, на що припадає приблизно 50% інфекцій *E.coli*, *K.pneumoniae*, *S.aureus* і *P.aeruginosa*, які були стійкі до більшості потужних антибіотиків [132, 180].

Для України сьогодні це особливо актуально, оскільки ранові інфекції є основними наслідками бойових поранень. Мікробіологія пов'язаних з війною ранових інфекцій варіабельна з переважанням грамнегативних бактерій серед яких суттєво зросла роль *K.pneumoniae* [38, 178, 181]. Протягом останніх кількох десятиліть *K.pneumoniae* швидко розвинула стійкість до багатьох лікарських засобів у всьому світі, що обмежує терапевтичний вибір [183, 184]. Вирішальним є використання антисептиків як місцевих препаратів для запобігання подальшій резистентності [185].

**Тестування чутливості до антисептиків МЛС штамів *K. pneumoniae* у планктонній формі. Визначення МІК та МБцК. Визначення індексу активності антисептиків.** На першому етапі дослідження за дії антисептиків на планктонні форми клінічних ізолятів ранового збудника *K.pneumoniae* виявлено високу ефективність поверхнево-активних антисептиків про що свідчили встановлені середні значення МІК та МБцК, суббактеріостатичних концентрацій, коефіцієнт співвідношення МБцК/МІК, індекси цидної активності БЦ ІАА/БС ІАА досліджуваних антисептиків. Мінімальні інгібуючі концентрації були найнижчими для ДКМ (0,1% і 0,02%) і МРМ (0,01%).

Ефективне пригнічення росту *K.pneumoniae* спостерігалось при застосуванні ДКМ (0,1 % і 0,02 %) у концентраціях  $9,6 \pm 0,75$  мкг/мл і  $10,34 \pm 0,85$  мкг/мл відповідно; МРМ – у концентрації  $15,28 \pm 2,16$  мкг/мл. Середні значення мінімальних інгібуючих концентрацій для ХГ 0,5 % , ОКТ 0,1 % та ПГМБ 0,1 % достовірно не

відрізнялися між собою ( $p > 0,05$ ) і становили  $21,62 \pm 1,70$ ;  $22,37 \pm 3,69$  і  $21,63 \pm 4,45$  мкг/мл відповідно (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Антимікробна активність антисептиків щодо клінічних штамів**

***K. pneumoniae* (n=25), в мкг/мл (M ± m)**

Антисептики	Показники				
	МІК (МІК)	МБцК	1/3 МІК	МБцК / МІК	БЦ ІАА / БС ІАА
ДКМ	9,52±0,71	20,61±1,49	3,17 ± 0,24	2,16	0,46
ДС	10,34±0,85	21,15±1,15	3,45 ± 0,28	2,05	0,47
МРМ	15,28±2,16	26,37±3,36	5,09 ± 0,72	1,73	0,51
ХГ	21,62±1,70	41,47±3,54	7,21 ± 0,57	1,92	0,6
ОКТ	22,37±3,69	28,23±3,73	7,46 ± 1,23	1,26	0,73
ПГМБ	21,63±4,45	39,06±8,33	7,21 ± 1,48	1,81	0,52
Повідон-йод	5384,6±549,3	7693,3±969,9	1794,87 ± 183,11	1,43	0,69

Бактеріостатична дія ДКМ щодо клінічних штамів *K. pneumoniae* вірогідно перевищувала таку МРМ в 1,53 рази ( $p < 0,05$ ), ХГ – у 2,17 рази ( $p < 0,001$ ), ОКТ — у 2,24 рази ( $p < 0,01$ ), ПГМБ — у 2,17 рази ( $p < 0,05$ ). МІК МРМ були достовірно нижчими, ніж ХГ в 1,4 рази ( $p < 0,05$ ). Значення МБцК були еквівалентними для ДКМ (0,1% та 0,02%), МРМ та ОКТ ( $p > 0,05$ ). Бактерицидні властивості визначали за наявності концентрацій  $20,61 \pm 1,49$  мкг/мл;  $21,15 \pm 1,15$  мкг/мл;  $26,37 \pm 3,36$  мкг/мл та  $28,23 \pm 3,73$  мкг/мл відповідно. Найвищі значення мінімальної бактерицидної концентрації встановлено для ХГ та ПГМБ ( $41,47 \pm 3,54$  мкг/мл та  $39,06 \pm 8,33$  мкг/мл відповідно), що вдвічі перевищує їх бактеріостатичну концентрацію. Значення МБцК МРМ були достовірно нижчими, ніж ХГ у 1,57 рази ( $p < 0,01$ ). Бактерицидна активність ДКМ достовірно перевищувала таку ХГ у 1,99 рази ( $p < 0,001$ ), ПГМБ – у 1,87 рази ( $p < 0,05$ ). Підсумовуючи вищесказане, можна підкреслити, що серед досліджених антисептиків ЧАС, клінічні ізоляти *K. pneumoniae* були найбільш чутливими до ДКМ, МРМ та ОКТ, а найменш – до ХГ та ПГМБ (табл. 3.8, табл. 3.9).

**Коефіцієнти достовірності різниці МІК досліджуваних антисептиків щодо клінічних штамів *K.pneumoniae* (p1)**

	<b>МІК ДКМ 0,1%</b>	<b>МІК ДКМ 0,02%</b>	<b>МІК ХГ 0,05%</b>	<b>МІК ОКТ 0,1 %</b>	<b>МІК МРМ 0,01 %</b>	<b>МІК ПГМБ 0,1 %</b>
<b>МІК ДКМ 0,1%</b>		>0,05	<0,001	<0,01	<0,05	<0,05
<b>МІК ДКМ 0,02%</b>	>0,05		<0,001	<0,01	<0,05	<0,05
<b>МІК ХГ 0,05%</b>	<0,001	<0,001		>0,05	<0,05	>0,05
<b>МІК ОКТ 0,1 %</b>	<0,01	<0,01	>0,05		>0,05	>0,05
<b>МІК МРМ 0,01 %</b>	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05		>0,05
<b>МІК ПГМБ 0,1 %</b>	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	

Таблиця 3.9

**Коефіцієнти достовірності різниці МБцК досліджуваних антисептиків щодо клінічних штамів *K.pneumoniae* (p2)**

	<b>МБцК ДКМ 0,1%</b>	<b>МБцК ДКМ 0,02%</b>	<b>МБцК ХГ 0,05%</b>	<b>МБцК ОКТ 0,1 %</b>	<b>МБцК МРМ 0,01 %</b>	<b>МБцК ПГМБ 0,1 %</b>
<b>МБцК ДКМ 0,1%</b>		>0,05	<0,001	>0,05	>0,05	<0,05
<b>МБцК ДКМ 0,02%</b>	>0,05		<0,001	>0,05	>0,05	<0,05
<b>МБцК ХГ 0,05%</b>	<0,001	<0,001		<0,05	<0,01	>0,05
<b>МБцК ОКТ 0,1 %</b>	>0,05	>0,05	<0,05		>0,05	>0,05
<b>МБцК МРМ 0,01 %</b>	>0,05	>0,05	<0,01	>0,05		>0,05
<b>МБцК ПГМБ 0,1 %</b>	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	

Таким чином, ранжування ефективності антисептичних препаратів за бактеріостатичними властивостями буде виглядати таким чином (від найбільш ефективного препарату):

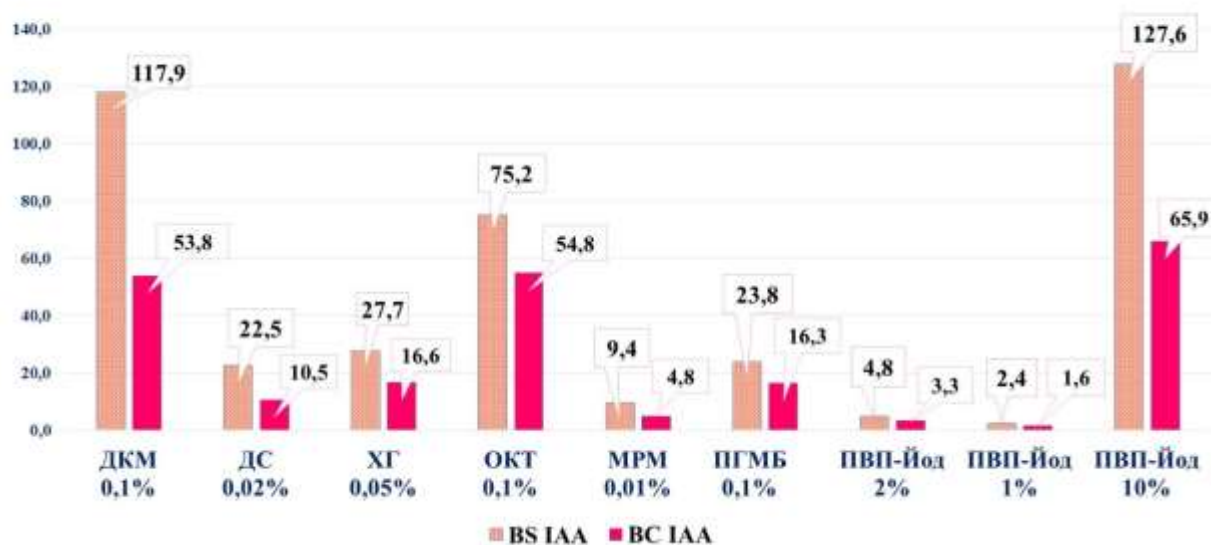
Decamethoxine > Decasan > Miramistin > Chlorhexidine > Prontosan > Octenisept

Шкала бактерицидної активності препаратів буде такою (від найбільш активного):

Decamethoxine > Decasan > Miramistin > Octenisept > Prontosan > Chlorhexidine.

МІК повідон-йоду проти *K.pneumoniae* становили в середньому  $5384,62 \pm 549,34$  мкг/мл, а бактерицидні концентрації –  $7693,31 \pm 969,96$  мкг/мл.

Порівняльний аналіз антисептиків різної хімічної природи за диференційованим показником ІАА, дозволив оцінити доцільність використання певних концентрацій діючої речовини повідон-йоду у вихідному робочому розчині препарату. Оскільки виробником рекомендовані до використання розведення повідон-йоду 1:5 і 1:10, такі концентрації (2 % і 1 %) також були включені в порівняльний аналіз як вихідні розчини препарату. Так, значення БС ІАА та БЦ ІАА для повідон-йоду 10 % становили 23,85 та 16,35, для повідон-йоду 2 % – 4,77 та 3,27, для повідон-йоду 1 % – 2,38 та 1,63 відповідно (рис. 3.5).

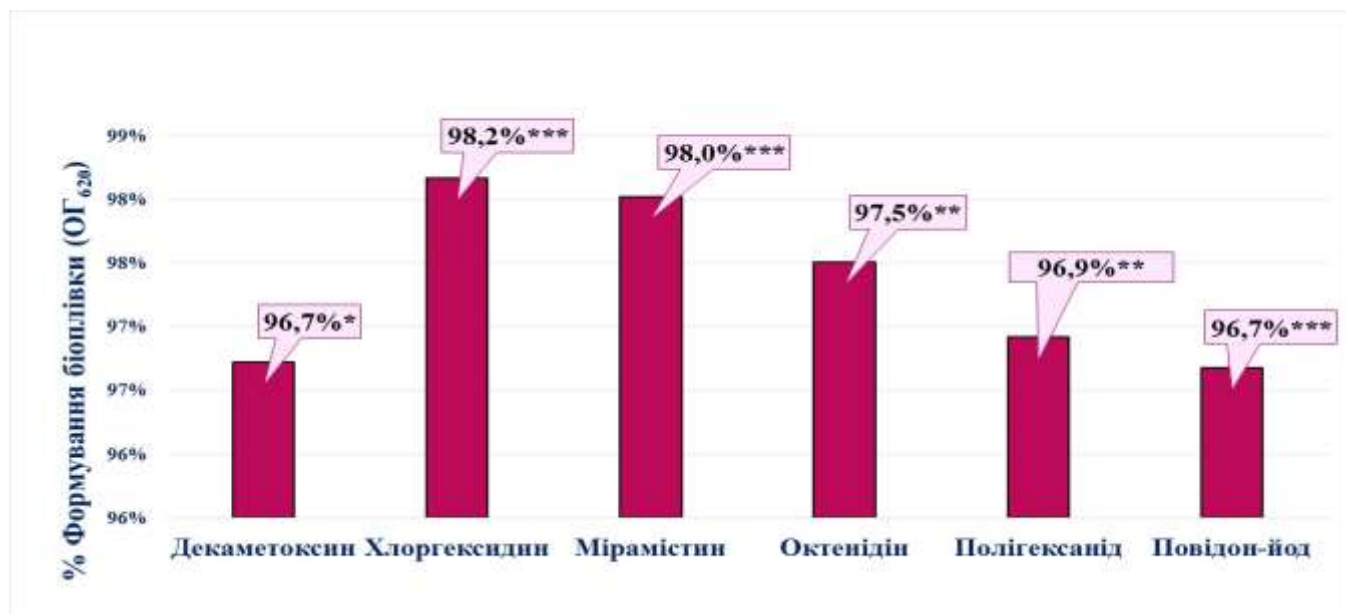


**Рис. 3.5.** Середні значення бактеріостатичного (БС) та бактерицидного (БЦ) ІАА відносно клінічних штамів *K. pneumoniae*.

Бактеріостатичний індекс антисептичної активності ДКМ 0,1 % становив 123,08, а бактерицидний індекс антисептичної активності (БС ІАА) ДКМ 0,1 % – 53,83. БС ІАА та БЦ ІАА для ДКМ 0,02% становили 22,46 і 10,46 відповідно. Для ХГ 0,05 % визначено значення БС ІАА та БЦ ІАА 27,73 та 16,62. Значення БС ІАА та БЦ ІАА для ОКТ 0,1% становили 75,19 і 54,84 відповідно. Для МРМ 0,01 % значення БС ІАА та БЦ ІАА становили 9,44 та 4,84. Для ПГМБ 0,1 % визначено значення БС ІАА та БЦ ІАА 127,57 та 65,92.

**Дія антисептиків на незрілу біоплівку *K.pneumoniae*: ефективність пригнічення формування біоплівки.** У дослідженні *in vitro* впливу антисептиків на біоплівкоутворювальну активність *K.pneumoniae* встановлено, що усі досліджувані клінічні ізоляти активно утворювали біоплівки. Було виявлено, що досліджувані штами *K.pneumoniae* з множинною лікарською стійкістю мали середні властивості утворення біоплівки згідно середніх значень ступеня поглинання барвника біоплівками в контрольних лунках становило  $0,212 \pm 0,002$  (ООГ).

Визначення антибіоплівкоутворюючої активності антисептиків показало, що суббактеріостатичні концентрації всіх досліджуваних речовин достовірно інгібували утворення біоплівок *K.pneumoniae* впродовж 24 год. Під дією ДКМ середнє значення оптичної щільності біоплівок *K.pneumoniae* зменшилось у 1,04 рази ( $p < 0,001$ ) порівняно з контролем і становило  $0,204 \pm 0,001$  ООГ, у присутності ХГ та МРМ – у 1,02 рази ( $p < 0,05$ ) і становило  $0,207 \pm 0,001$  ООГ, у присутності ОКТ – у 1,03 рази ( $p < 0,01$ ) і становило  $0,206 \pm 0,001$  ООГ, у присутності повідон-йоду – у 1,04 рази ( $p < 0,01$ ) та становило  $0,204 \pm 0,001$  ООГ і в присутності ПГМБ у у 1,03 рази і становило  $0,205 \pm 0,001$  ООГ. Результати цих експериментів узагальнено у відсотках здатності ізолятів *K.pneumoniae* до утворення біоплівки в присутності антисептиків порівняно з необробленим контролем. При оцінці антибіоплівкової дії згаданих антисептиків, ДКМ, ПГМБ та повідон-йод виявили найбільш виражену дію на незрілі біоплівки. Інгібуючий ефект становив 96,72 %, 96,92 % і 96,68 % порівняно з контролем (100%). Для ХГ та МРМ цей показник становив 98,16 % та 98,02 % відповідно, для ОКТ – 97,50 % (рис. 3.6).



**Рис. 3.6.** Відсотковий показник дії 1/3 МІК антисептиків на незрілу біоплівку *K.pneumoniae* (n=25) порівняно з необробленим контролем; \*- коефіцієнт достовірності ( $p < 0,001$ ); \*\* - коефіцієнт достовірності  $p < 0,01$ ; \*\*\* - коефіцієнт достовірності  $p < 0,05$ .

Ранжування ефективності препаратів за дією їх суб-МІК концентрацій на незрілу біоплівку полірезистентних клебсієл демонструє наступну шкалу ефективності (від найбільш ефективного):

Betadine > Decamethoxine/Decasan > Prontosan > Octenisept > Miramistin > Chlorhexidine

За наявності суб-МІК концентрацій ДКМ біоплівкоутворювальні властивості клінічних штамів *K. pneumoniae* мали позитивну кореляцію з їх чутливістю до цього антисептика (коефіцієнт кореляції  $r=0,5$ ). Через значне пригнічення утворення біоплівки та позитивну кореляцію цієї властивості з чутливістю МЛС штамів *K.pneumoniae* до цього антисептика, ДКМ слід розглядати як ефективний антибіоплівковий засіб. Позитивну кореляцію було виявлено також для МРМ та ОКТ, але вона була дуже незначною: значення становили  $r= 0,03$  та  $r= 0,01$  відповідно. Для ХГ, ПГМБ та повідон-йоду коефіцієнти кореляції приймали негативне значення. Найсильнішу залежність інгибування утворення біоплівки штамми *K.pneumoniae* від концентрації активної речовини засобу було виявлено для ХГ:  $r= - 0,32$ . Для повідон-

йоду коефіцієнт кореляції становив  $r = -0,14$ . Для ПГМБ кореляція була дуже незначною:  $r = -0,05$

Тим не менш, наше дослідження виявило досить високу *in vitro* ефективність тестованих антисептиків, які широко використовуються. На підставі значень МІК та МБЦК можна зробити висновок, що серед досліджених четвертинних амонійних антисептиків клінічні ізоляти *K.pneumoniae* найбільш чутливі до ДКМ, МРМ та ОКТ, найменше – до ХГ та ПГМБ.

ЧАС і галоген-вмісні антисептики, оскільки їх ІАА (БС і БЦ) були  $> 4$ , вважалися активними. Найбільші показники ІАА (ІАА  $> 4$ ) були у антисептиків ДКМ (0,1%), ОКТ (0,1%) та ПГМБ (0,1%), що корелювало з високими концентраціями діючої речовини у вихідних розчинах цих препаратів. При проведенні порівняльного аналізу антисептиків за диференційованим показником ІАА встановлено, що доцільність використання повідон-йоду в концентрації 2% є сумнівною, оскільки БС ІАА перевищує порогове значення, а БЦ ІАА – ні, що може створити селективні умови для появи резистентних штамів. Ефективність повідон-йоду 1% проти МЛС *K.pneumoniae* була визнана недостатньою, оскільки БС ІАА та БЦ ІАА були нижчими за порогове значення.

Розуміючи важливість мікробних біоплівки, ми досліджували ефективність антисептичних речовин проти бактерій у біоплівках, а саме їх вплив на формування біоплівки (дія на незрілу біоплівку). Наше дослідження показало, що суббактеріостатичні концентрації ХГ, ДКМ, МРМ, ОКТ, ПГМБ та повідон-йоду пригнічують утворення біоплівки *K.pneumoniae*, але ДКМ, ПГМБ та повідон-йод виявляють найбільш виражений ефект.

#### **3.4. Вивчення дії антисептиків на антибіотикорезистентні штами *Staphylococcus aureus***

Золотистий стафілокок часто виділяють від здорових людей (20% - постійне носійство, 60 % - транзиторне носійство) і з цієї точки зору може розглядатися як факультативний компонент нормальної мікрофлори. Проте, *S.aureus* також є розповсюдженим патогеном людини, що викликає цілу низку позалікарняних та



внутрішньолікарняних інфекцій Стафілококи є основними збудниками внутрішньолікарняної інфекції шкіри та м'яких тканин [188, 189, 190]. Невибіркове застосування антибіотиків відіграло значну роль у появі резистентних стафілококів, включаючи появу пеніцилін-резистентного *S.aureus* (PRSA), за яким слідує метицилінрезистентні (MRSA), community-acquired MRSA, hospital-acquired MRSA, Vancomycin intermediate (VISA) та Vancomycin-resistant (VRSA) відповідно [186, 191, 192, 193].

**Тестування чутливості до антисептиків МЛС штамів *Staphylococcus aureus* у планктонній формі. Визначення МІК та МБЦК. Визначення індексу активності антисептиків.** Згідно встановлених у дослідженні результатів, МБЦК для всіх антисептиків були вищими, ніж їхні відповідні МІК. Аналіз коефіцієнтів співвідношення МБЦК/МІК як важливого показника переважання цидної дії антисептика, який для досліджених антисептиків коливався в межах від 1,52 до 2,11, засвідчив переваги бактерицидних властивостей препаратів, оскільки коефіцієнти співвідношення <4 сідчили, що засоби є бактерицидними (табл. 3.10) [154, 155].

Таблиця 3.10

**Антимікробна активність антисептиків щодо клінічних штамів *S.aureus* (n=41), в мкг/мл (M ± m)**

Антисептики	Показники				
	МІК (МІК)	МБЦК	1/3 МІК	МБЦК / МІК	БЦ ІАА / БС ІАА
ДКМ	7,12±1,05	12,29±1,38	2,37 ± 0,35	1,73	0,57
ДС	7,66±0,6	12,38±6,64	2,55 ± 0,20	1,62	0,6
МРМ	11,56±1,64	24,38±2,61	3,85 ± 0,55	2,11	0,44
ХГ	10,56±1,62	20,33±2,53	3,52 ± 0,54	1,93	0,45
ОКТ	11,51±0,62	23,23±1,39	3,84 ± 0,21	2,02	0,53
ПГМБ	12,01±1,8	23,64±2,33	4,00 ± 0,60	1,97	0,46
Повідон-йод	1421,88± 192,49	2156,25± 195,03	473,96 ± 64,16	1,52	0,54

Всі антисептики проявили високу антистафілококову активність, а серед них ДКМ виявив найсильніший ефект. Середні значення бактеріостатичних концентрацій для ДКМ та ДС становили  $7,12 \pm 1,05$  мкг/мл та  $7,66 \pm 0,6$  мкг/мл. Для МРМ, ХГ, ОКТ та ПГМБ відповідно  $11,56 \pm 1,64$  мкг/мл  $10,56 \pm 1,62$  мкг/мл  $11,51 \pm 0,62$  мкг/мл та  $12,01 \pm 1,8$  мкг/мл. Середні значення МБЦК становили  $12,29 \pm 1,38$  мкг/мл та  $12,38 \pm 6,64$  мкг/мл для ДКМ та ДС, а для МРМ, ХГ, ОКТ та ПГМБ відповідно  $24,38 \pm 2,61$  мкг/мл  $20,33 \pm 2,53$  мкг/мл  $23,23 \pm 1,39$  мкг/мл  $23,64 \pm 2,33$  мкг/мл. Середнє МІК для повідон-йоду дорівнювало  $1421,88 \pm 192,49$  мкг/мл.

Порівняння показників інгібуючих властивостей між антисептиками з визначенням достовірності різниці значень показало, що значення для ДКМ та ДС достовірно не відрізнялись між собою. ДКМ та ДС ефективніше інгібували ріст МЛС штамів *S.aureus*, ніж ХГ у 1,48 та 1,38 рази відповідно, але достовірної різниці не було виявлено ( $p > 0,05$ ). У той же час, ДКМ інгібував ріст МЛС штамів *S.aureus* активніше, ніж МРМ у 1,62 рази ( $p < 0,05$ ), у 1,62 рази активніше за ОКТ ( $p < 0,001$ ), у 1,69 рази активніше за ПГМБ ( $p < 0,05$ ). Бактеріостатичні властивості ДС аналогічно переважали у 1,51 рази, 1,5 рази, 1,57 рази відповідно. Середні значення МІК ХГ, МРМ, ОКТ та ПГМБ достовірно між собою не відрізнялись ( $p > 0,05$ ) (табл.3.11).

Таблиця 3.11

**Коефіцієнти достовірності різниці МІК досліджуваних антисептиків щодо клінічних штамів *S.aureus* (p1)**

	<b>МІК ДКМ 0,1%</b>	<b>МІК ДКМ 0,02%</b>	<b>МІК ХГ 0,05%</b>	<b>МІК ОКТ 0,1 %</b>	<b>МІК МРМ 0,01 %</b>	<b>МІК ПГМБ 0,1 %</b>
<b>МІК ДКМ 0,1%</b>		>0,05	>0,05	<0,001	<0,05	<0,05
<b>МІК ДКМ 0,02%</b>	>0,05		>0,05	<0,001	<0,05	<0,05
<b>МІК ХГ 0,05%</b>	>0,05	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05
<b>МІК ОКТ 0,1 %</b>	<0,001	<0,001	>0,05		>0,05	>0,05
<b>МІК МРМ 0,01 %</b>	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05		>0,05
<b>МІК ПГМБ 0,1 %</b>	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	

Таким чином, ранжування ефективності антисептичних препаратів за бактеріостатичними властивостями буде виглядати таким чином (від найбільш ефективного препарату):

Decamethoxine > Decasan > Chlorhexidine > Octenisept > Miramistin > Prontosan

Таку ж тенденцію було виявлено при порівнянні бактерицидних концентрацій. Мікробоцидна дія ДКМ достовірно перевищувала таку ХГ у 1,65 рази ( $p < 0,01$ ), МРМ – у 1,98 рази ( $p < 0,001$ ), ОКТ – у 1,89 рази ( $p < 0,001$ ), ПГМБ – у 1,92 рази ( $p < 0,001$ ). Цидна дія ДС достовірно перевищувала таку ХГ у 1,64 рази ( $p < 0,01$ ), МРМ – у 1,97 рази ( $p < 0,001$ ), ОКТ – у 1,88 рази ( $p < 0,001$ ), ПГМБ – у 1,91 рази ( $p < 0,001$ ). Середні значення МБцК ХГ, МРМ, ОКТ та ПГМБ достовірно між собою не відрізнялись ( $p > 0,05$ ; табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Коефіцієнти достовірності різниці МБцК досліджуваних антисептиків щодо клінічних штамів *S. aureus* (p2)**

	МБцК ДКМ 0,1%	МБцК ДКМ 0,02%	МБцК ХГ 0,05%	МБцК ОКТ 0,1 %	МБцК МРМ 0,01 %	МБцК ПГМБ 0,1 %
МБцК ДКМ 0,1%		>0,05	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001
МБцК ДКМ 0,02%	>0,05		<0,01	<0,001	<0,001	<0,001
МБцК ХГ 0,05%	<0,01	<0,01		>0,05	>0,05	>0,05
МБцК ОКТ 0,1 %	<0,001	<0,001	>0,05		>0,05	>0,05
МБцК МРМ 0,01 %	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05		>0,05
МБцК ПГМБ 0,1 %	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	

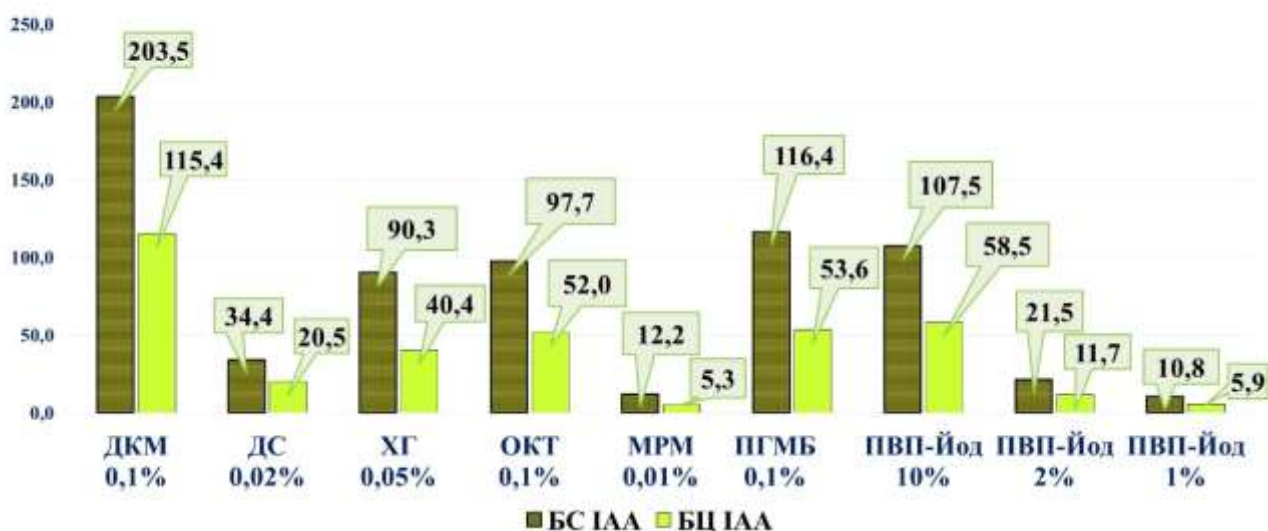
Шкала бактерицидної активності препаратів буде такою (від найбільш активного):

Decamethoxine > Decasan > Chlorhexidine > Octenisept > Prontosan > Miramistin

Галоген-вмісний препарат Betadine® містить активну речовину повідон-йод у набагато вищих концентраціях, ніж антисептики із групи детергентів, тому ми не можемо їх порівнювати. МБцК повідон-йоду становила –  $2156,25 \pm 195,03$  мкг/мл.

Бактерицидний ефект у всіх досліджених антисептичних речовин, в тому числі повідон-йоду, досягався при концентраціях, які від 1,52 до 2,11 разів перевищували концентрації, за яких спостерігався бактеріостатичний ефект. Таким чином, співвідношення МБЦК/ МІК для всіх препаратів було менше чотирьох, що свідчить на користь більш бактерицидної їх дії (табл. 3.10).

Результати також було інтерпретовано у вигляді бактеріостатичного та бактерицидного індексу активності антисептика (БС ІАА та БЦ ІАА) та їх співвідношенні. Оскільки інструкцією препарату Betadine® (вихідна концентрація повідон-йоду – 10%) рекомендовано до застосування також розведення 1:5 та 1:10, тому для концентрацій повідон-йоду 2% та 1% додатково розраховували показники індексів активності антисептика. Найбільш високі значення бактеріостатичного ІАА щодо клінічних штамів *S.aureus* з множиною лікарською стійкістю було розраховано для повідон-йоду 10 % (БС ІАА=107,50), ДКМ 0,1% (БС ІАА=203,52), ОКТ 0,1% (БС ІАА=97,75), ХГ 0,5% (БС ІАА=90,27) ПГМБ 0,1% ( БС ІАА=116,44). Для ДКМ 0,02% (ДС) БС ІАА дорівнював 34,37, для повідон-йоду 2% - 21,50, повідон-йоду 1% - 10,75, МРМ 0,01%– 12,20 (рис. 3.7).

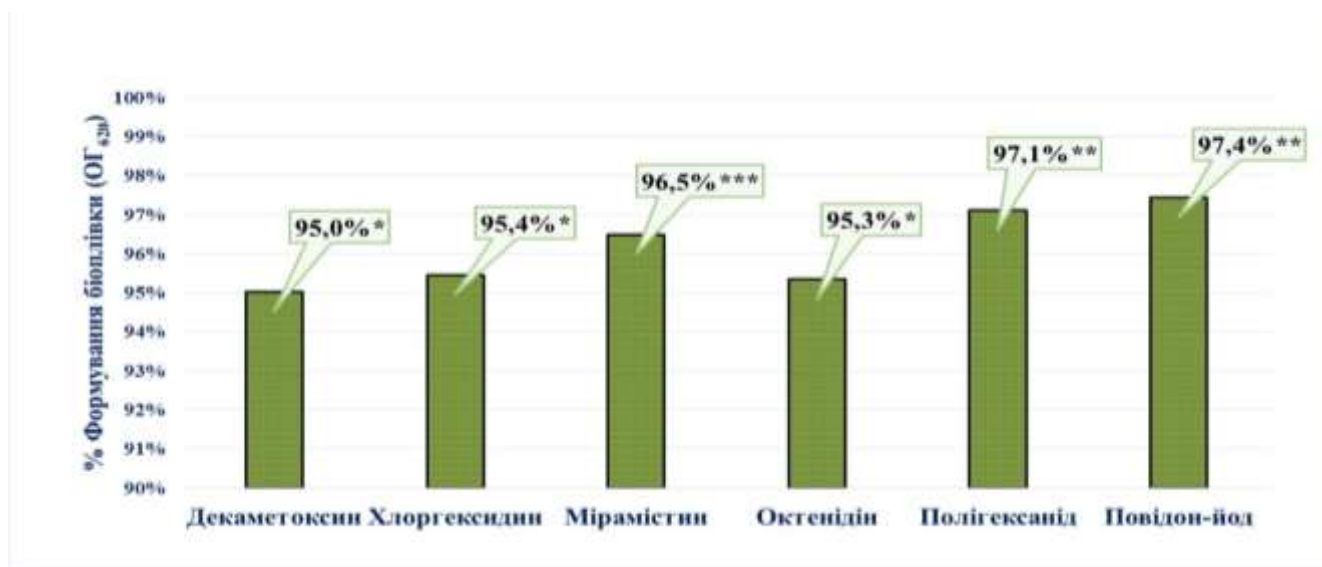


**Рис. 3.7.** Середні значення бактеріостатичного (БС) та бактерицидного (БЦ) ІАА відносно клінічних штамів *S.aureus*.

Бактерицидні індекси активності приймали найбільш високі значення для повідон-йоду 10% (БЦ ІАА=58,50), ДКМ 0,1% (БЦ ІАА=115,38), ОКТ 0,1% (БЦ ІАА=52,05), ПГМБ 0,1% (БЦ ІАА=53,59). БЦ ІАА ХГ 0,5% становив 40,43, ДКМ 0,02% - 20,51, МРМ 0,01% - 5,33, повідон-йоду 2% - 11,70 та повідон-йоду 1% - 5,85.

Найбільш висока бактерицидна активність була характерна для ДКМ, ДС, ОКТ та повідон-йоду: відношення БЦ ІАА до БС ІАА становили 0,57, 0,6, 0,53 та 0,54 відповідно. Значення відношення БЦ ІАА / БС ІАА для всіх інших антисептиків коливались в діапазоні від 0,44 до 0,46. Таким чином, всі препарати виявились активними щодо клінічних штамів *S.aureus*. А найбільш активними були препарати ДКМ 0,1%, Пронтосан, Бетадин, Октенідин.

**Дія антисептиків на незрілу біоплівку *S.aureus*: ефективність пригнічення формування біоплівки.** Проведене дослідження активності антисептиків у суб-бактеріостатичних концентраціях (табл. 3.10) щодо незрілої біоплівки МЛС штамів *S.aureus* дозволило встановити ефективність їх впливу на стадію формування біоплівки (рис.3.8.).



**Рис. 3.8.** Відсотковий показник дії 1/3 МІК антисептиків на незрілу біоплівку *S.aureus* (n=40) порівняно з необробленим контролем; \*- коефіцієнт достовірності ( $p < 0.001$ ); \*\* - коефіцієнт достовірності  $p < 0.01$ ; \*\*\* - коефіцієнт достовірності  $p < 0.05$ .

Згідно результатів дослідження біоплівкоутворювальні властивості штамів *S.aureus* було інтерпретовано як середні, оскільки значення оптичної щільності були у межах від 0,121 до 0,239 ООГ. Середнє значення ступеня поглинання барвника біоплівками в контрольних лунках становило  $0,213 \pm 0,001$  ООГ. Усі антисептики у суббактеріостатичних концентраціях достовірно пригнічували утворення біоплівки *S.aureus* протягом 24 год. Встановили, що під дією ДКМ середнє значення оптичної щільності біоплівок *S.aureus* зменшилось у 1,054 рази ( $p < 0,001$ ) порівняно з контролем і становило  $0,202 \pm 0,001$  ООГ, у присутності ХГ – у 1,049 рази ( $p < 0,001$ ) і становило  $0,203 \pm 0,001$  ООГ, МРМ – у 1,039 рази ( $p < 0,05$ ) і становило  $0,205 \pm 0,003$  ООГ, у присутності ОКТ – у 1,049 рази ( $p < 0,001$ ) і становило  $0,203 \pm 0,001$  ООГ, у присутності ПГМБ у 1,034 рази і становило  $0,206 \pm 0,002$  ООГ і в присутності повідон-йоду – у 1,029 рази ( $p < 0,01$ ) та становило  $0,207 \pm 0,001$  ООГ.

Відсотковий показник інгібуючої дії становив 97,1 % для ПГМБ ( $p < 0,01$ ), 97,4 % для повідон-йод ( $p < 0,01$ ), 96,5% для МРМ ( $p < 0,05$ ), 95,4 % для ХГ ( $p < 0,001$ ), 95,3 % для ОКТ ( $p < 0,001$ ), 95,0 % для ДКМ ( $p < 0,001$ ), порівняно з контролем (100 %). ОКТ, ХГ та ДКМ у суб-МІК концентраціях продемонстрували найефективніший інгібуючий вплив на формування біоплівки: ОКТ – на 4,7% ( $p < 0,001$ ), ХГ – на 4,6%, а ДКМ на 5,0% ( $p < 0,001$ ) пригнічували біоплівкоутворення штамми *S. aureus*. Наступним за шкалою ефективності був МРМ, який на 3,5% пригнічував формування біоплівки порівняно з контролем. Коефіцієнт достовірності різниці значень становив  $p < 0,05$ . ПГМБ – на 2,9% ( $p < 0,01$ ), а повідон-йод – на 2,6% ( $p < 0,01$ ) інгібували дозрівання біоплівки.

Якщо ранжувати ефективність препаратів за дією їх суб-МІК концентрацій на незрілу біоплівку полірезистентних стафілококів, то шкала ефективності буде такою (від найбільш ефективного):

Decamethoxine/Decasan > Octenisept > Chlorhexidine > Miramistin > Prontosan > > Betadine

Було виявлено незначну від'ємну кореляцію між здатністю штамів *S.aureus* формувати біоплівки в присутності суббактеріостатичних концентрацій ДКМ, ХГ, МРМ, ОКТ та чутливістю цих ізолятів до даних антисептиків. Тобто, коефіцієнти

кореляції Пірсона мали від'ємне значення для цих антисептиків, а величина самого значення вказувала на ступінь залежності антибіоплівкових властивостей саме від концентрації антисептика, а не від підвищеної чутливості штамів до певного антисептика. Таким чином, коефіцієнт кореляції Пірсона для ДКМ становив  $r = -0,2$ , для ХГ  $r = -0,2$ , для МРМ  $r = -0,11$ , для ОКТ  $r = -0,32$ . Як видно, для ОКТ коефіцієнт кореляції приймав найвище значення, але також інтерпретується як незначний ( $r = -0,32$ ). Для ПГМБ та повідон-йоду антибіоплівкові властивості помірно корелювали із чутливістю клінічних штамів до цих антисептиків. Коефіцієнти кореляції Пірсона мали для них позитивне значення і становили відповідно  $r = 0,46$  та  $r = 0,41$ . Результати нашого дослідження свідчать про високу ефективність сучасних антисептиків проти штамів *S.aureus* з МЛС. Більше того, штами *S.aureus* виявились найбільш чутливими серед інших досліджуваних ранових патогенів. Значення МІК антисептиків проти штамів *S.aureus* завжди були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації. Безумовно, МБцК для всіх мікробіцидів були вищими, ніж їхні відповідні МІК, співвідношення МБцК/ МІК було менше 4, що вказувало на їх бактерицидні властивості [154, 155].

Регулярний моніторинг чутливості МЛС штамів *S.aureus* у різних формах існування до місцевих біоцидів, розширення спектру регламентованих ефективних антисептичних препаратів, є необхідними для їх розумного раціонального використання сьогодні та збереження їх ефективності в майбутньому.

### **3.5. Вивчення дії антисептиків на МЛС штами *Pseudomonas aeruginosa***

Бактерії *P.aeruginosa* стали серйозною загрозою в медицині. Інфекції, викликані *P.aeruginosa*, дуже важко лікувати, оскільки цей мікроб використовує численні механізми резистентності (внутрішньої та набутої), форми і стани існування (планктонна та біоплівкова форма, клітина-персистер), які зазвичай зумовлюють та призводять до важко виліковних хронічних інфекцій [194-201].

Синьогнійна паличка поряд з *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *E.coli* та *Acinetobacter spp.*, входить до списку супербактерій-лідерів, що ускладнюють перебіг бойової травми [178, 202]. Одним із предикторів високої смертності при синьогнійних

інфекціях є множинна антибіотикорезистентність штаму-збудника, а частота інфекцій, спричинених стійкою до антибіотиків *P.aeruginosa*, постійно зростає у всьому світі [200-205].

**Тестування чутливості до антисептиків МЛС штамів *P. aeruginosa* у планктонній формі. Визначення МІК та МБцК. Визначення індексу активності антисептиків.** Тестування ефективності сучасних біоцидів проводили використовуючи сорок три полірезистентні ізоляти *P.aeruginosa*, які було отримано від пацієнтів з інфікованими бойовими опіками та пораненнями різної локалізації. У дослідженні також використовували референтний (контрольний) штам *P.aeruginosa* ATCC 27853.

Встановлено, що значення МІК антисептиків проти штамів *P.aeruginosa* завжди були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації (крім МРМ: вихідна концентрація діючої речовини – 100 мкг/мл). Таблиця 3.13 демонструє середні значення МІК та МБцК, суббактеріостатичні концентрації –  $\frac{1}{2}$  МІК, коефіцієнт співвідношення МБцК/ МІК, індекс цидної активності (БЦ ІАА/БС ІАА) досліджуваних антисептиків (табл. 3.13).

Таблиця 3.13.

**Антимікробна активність антисептиків щодо клінічних штамів *P.aeruginosa***

(n=48), в мкг/мл (M ± m)

Антисептики	Показники				
	МІК (МІК)	МБцК	$\frac{1}{2}$ МІК	МБцК / МІК	БЦ ІАА / БС ІАА
ДКМ	63,24±5,24	107,89±5,85	30,89±2,66	1,7	0,5
ДС	60,17±5,05	106,98±9,28	30,09±2,52	1,78	0,55
МРМ	94,19±2,47	>100	47,09±1,24	-	-
ХГ	95,75±13,25	193,86±22,90	47,87±6,62	2,02	0,6
ОКТ	84,67±7,63	155,52±16,43	42,33±3,81	1,84	0,52
ПГМБ	68,68±4,2	103,2±12,88	35,61±2,10	1,5	0,88
Повідон-йод	3313,95± 369,5	5552,33± 682,6	1656,98± 184,73	1,68	0,58



Аналізуючи та характеризуючи значення МІК та МБЦК, такі антисептики із групи детергентів як ДКМ (0,1 % та 0,02 %) та ПГМБ (0,1 %) продемонстрували найвищу антимікробну активність. Бактеріостатичні концентрації цих антисептиків були відповідно  $63,24 \pm 5,24$  мкг/мл та  $68,68 \pm 4,2$  мкг/мл, а бактерицидні –  $107,89 \pm 5,85$  мкг/мл та  $103,2 \pm 12,88$  мкг/мл. Середні значення МІК для МРМ, ХГ та ОКТ визначили відповідно  $94,19 \pm 2,47$  мкг/мл,  $95,75 \pm 13,25$  мкг/мл та  $84,67 \pm 7,63$  мкг/мл. Значення МБЦК для ХГ та ОКТ були  $193,86 \pm 22,90$  мкг/мл та  $155,52 \pm 16,43$  мкг/мл. Щодо МРМ, то вихідної концентрації активної речовини цього засобу (100 мкг/мл) було недостатньо для визначення бактерицидної концентрації, тобто значення МБЦК проти штамів *P.aeruginosa* були вищими, ніж 100 мкг/мл.

Порівняння даних та визначення достовірності їх різниці показало, що ПГМБ у 1,37 рази ефективніше пригнічував ріст *P.aeruginosa*, ніж МРМ ( $p < 0,001$ ). ДКМ інгібував ріст МЛС штамів *P.aeruginosa* у 1,49 активніше, ніж МРМ ( $p < 0,001$ ), у 1,51 разів активніше, ніж ХГ ( $p < 0,05$ ), у 1,34 рази за ОКТ ( $p < 0,05$ ). Цидна дія ПГМБ у 1,59 разів перевищувала таку ХГ ( $p < 0,01$ ) та у 1,51 рази ОКТ ( $p < 0,05$ ). Бактерицидні концентрації ДКМ у 1,8 рази меншими, ніж у ХГ ( $p < 0,001$ ) та у 1,44 рази меншими, ніж у ОКТ ( $p < 0,01$ ) (табл. 3.14, 3.15).

Таблиця 3.14

**Коефіцієнти достовірності різниці МІК досліджуваних антисептиків щодо клінічних штамів *P.aeruginosa* (p1)**

	<b>МІК ДКМ 0,1%</b>	<b>МІК ДКМ 0,02%</b>	<b>МІК ХГ 0,05%</b>	<b>МІК ОКТ 0,1 %</b>	<b>МІК МРМ 0,01 %</b>	<b>МІК ПГМБ 0,1 %</b>
<b>МІК ДКМ 0,1%</b>		>0,05	<0,05	<0,05	<0,001	>0,05
<b>МІК ДКМ 0,02%</b>	>0,05		>0,05	<0,01	<0,001	>0,05
<b>МІК ХГ 0,05%</b>	<0,05	<0,05		>0,05	>0,05	>0,05
<b>МІК ОКТ 0,1 %</b>	<0,05	<0,01	>0,05		>0,05	>0,05
<b>МІК МРМ 0,01 %</b>	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05		<0,001
<b>МІК ПГМБ 0,1 %</b>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	

Таким чином, ранжування ефективності антисептичних препаратів за бактеріостатичними властивостями буде виглядати таким чином (від найбільш ефективного препарату):

Decasan > Decamethoxine > Prontosan > Octenisept > Miramistin > Chlorhexidine.

Шкала бактерицидної активності препаратів буде такою (від найбільш активного):

Decasan > Decamethoxine > Prontosan > Octenisept > Chlorhexidine.

Галоген-вмісний препарат Betadine® містить активну речовину повідон-йод у набагато вищих концентраціях, ніж антисептики із групи детергентів, тому ми не можемо їх порівнювати. МІК повідон-йоду становила  $3313,95 \pm 369,45$  мкг/мл, а МБЦК -  $5552,33 \pm 682,63$  мкг/мл.

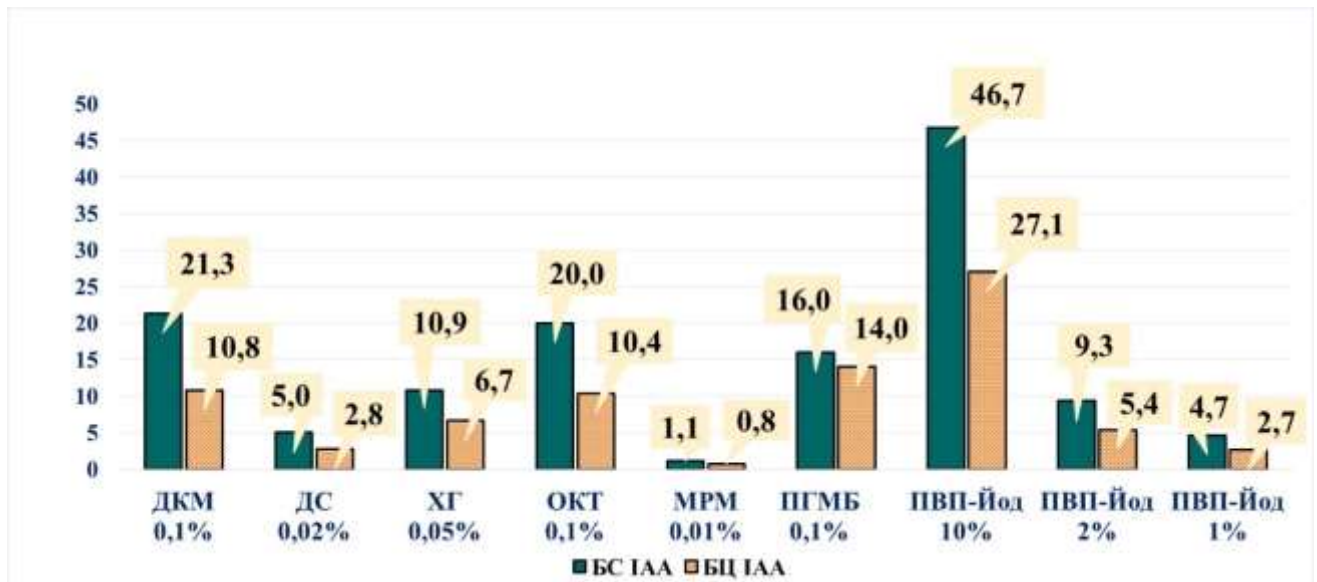
Бактерицидний ефект у всіх досліджених антисептичних речовин (в тому числі повідон-йоду) досягався при концентраціях, які від 1,5 до 2,02 разів перевищували концентрації, за яких спостерігався бактеріостатичний ефект. Таким чином співвідношення МБЦК/МІК для всіх препаратів було менше чотирьох, що свідчить на користь переваги їх бактерицидної дії.

Таблиця 3.15

**Коефіцієнти достовірності різниці МБЦК досліджуваних антисептиків щодо клінічних штамів *P.aeruginosa* (p2)**

	МБЦК ДКМ 0,1%	МБЦК ДКМ 0,02%	МБЦК ХГ 0,05%	МБЦК ОКТ 0,1 %	МБЦК МРМ 0,01 %	МБЦК ПГМБ 0,1 %
МБЦК ДКМ 0,1%		>0,05	<0,001	<0,01	<0,01	>0,05
МБЦК ДКМ 0,02%	>0,05		<0,001	<0,05	<0,01	>0,05
МБЦК ХГ 0,05%	<0,001	<0,001		>0,05	>0,05	<0,01
МБЦК ОКТ 0,1 %	<0,01	<0,05	>0,05		>0,05	<0,05
МБЦК МРМ 0,01 %	<0,01	<0,01	>0,05	>0,05		<0,01
МБЦК ПГМБ 0,1 %	>0,05	>0,05	<0,01	<0,05	<0,01	

Інтерпретація результатів, представлена у вигляді індексів активності антисептика (БС ІАА та БЦ ІАА), дозволяє порівнювати препарати з різними вихідними концентраціями активної речовини в засобі, препарати різних хімічних груп з різним механізмом дії, що дає можливість оцінювати доцільність застосування даного препарату і саме такої концентрації активної речовини проти певного мікроорганізму. Оскільки інструкцією препарату Betadine® (вихідна концентрація повідон-йоду – 10%) рекомендовано до застосування також розведення 1:5 та 1:10, тому для концентрацій повідон-йоду 2% та 1% додатково розраховували показники індексів активності антисептика (рис. 3.9).



**Рис. 3.9.** Середні значення бактеріостатичного (БС) та бактерицидного (БЦ) ІАА відносно клінічних штамів *P.aeruginosa*.

Найбільш високі значення бактеріостатичного ІАА щодо клінічних штамів *P.aeruginosa* з множиною лікарською стійкістю було розраховано для повідон-йоду 10% (БС ІАА=46,7), ДКМ 0,1% (БС ІАА=21,34), ОКТ 0,1% (БС ІАА=20,0), ПГМБ 0,1% (БС ІАА=16,0). Для ДКМ 0,02% БС ІАА дорівнював 5,02, для ХГ 0,5% - 10,86, для повідон-йоду 2% - 9,35, повідон-йоду 1% - 4,67. БС ІАА МРМ 0,01% мав значення нижче граничного і становив – 1,12. Цієї концентрації засобу недостатньо для застосування проти штамів *P.aeruginosa* з МЛС.

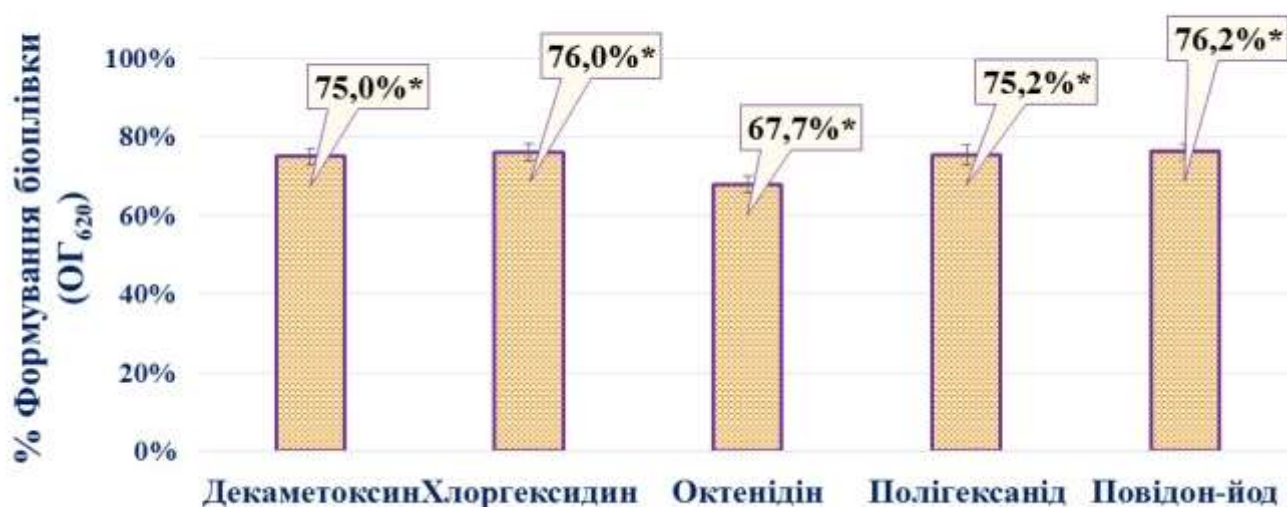
Встановлено найбільш високі значення бактерицидних індексів активності для повідон-йоду 10% (БЦ ІАА=27,09), ДКМ 0,1% (БЦ ІАА=10,76), ОКТ 0,1% (БЦ ІАА=10,37), ПГМБ 0,1% (БЦ ІАА=14,05). БЦ ІАА ХГ 0,5% становив 6,74, повідон-йоду 2% – 5,42. Бактерицидна активність ДКМ 0.02% та повідон-йоду 1% характеризувалась індексами 2,77 та 2,71. БЦ ІАА МРМ не розраховували, оскільки вихідної концентрації засобу було недостатньо для визначення бактерицидних концентрацій.

Найбільш високу бактерицидну активність було виявлено для ПГМБ: відношення БЦ ІАА до БС ІАА становило 0,88. Значення відношення БЦ ІАА / БС ІАА для всіх інших антисептиків коливались в діапазоні від 0,5 до 0,6.

**Дія антисептиків на незрілу та сформовану біоплівку антибіотикорезистентних штамів *P.aeruginosa*.** Дослідження чутливості біоплівкових форм ранових ізолятів *P.aeruginosa* до антисептиків, активних щодо планктонних форм цих штамів показало, що МРМ у його робочій концентрації 0,01% не мав активності щодо планктонних форм досліджених бактерій (ІАА  $\leq 4$ ), тому даний антисептик був виключений з тестування біоплівкових форм.

Препарати октенідин, хлоргексидин, бетадин, декаметоксин/декасан та Пронтосан були активні щодо планктонних форм досліджених штамів бактерій. Найбільшу активність щодо планктонних форм бактерій проявляв препарат Бетадин 10%. Серед антисептиків-детергентів це були декаметоксин 0,1%, октенідин 0,1% та пронтосан 0,1%. Як зазначено вище, Хлоргексидин 0,05% та Декасан 0,02% були менш активними. Здатність до біоплівкоутворення мали всі досліджувані штами. При чому, цю властивість було інтерпретовано як високу, оскільки значення оптичної щільності перевищували  $>0,240$  одиниць (середні значення ООГ= $0,415 \pm 0,017$ ).

**Дія антисептиків на незрілу біоплівку *P.aeruginosa*: ефективність пригнічення формування біоплівки.** Встановлено, що усі антисептики в суббактеріостатичних (1/2 МІК) концентраціях (табл. 3.13) достовірно пригнічували утворення біоплівки МЛС штамами *P.aeruginosa* ( $p < 0,001$ ). Відсотковий показник інгібуючої дії становив 75,2 % для ПГМБ, 67,7 % для ОКТ, 76,0 % для ХГ, 75,0 % для ДКМ і 76,2 % для повідон-йоду порівняно з контролем (100%; рис. 3.10).



**Рис. 3.10.** Відсотковий показник дії 1/2 МІК антисептиків на незрілу біоплівку *P.aeruginosa* (n=43) порівняно з необробленим контролем; \*- коефіцієнт достовірності (p<0,001)

Оскільки мінімальні інгібуючі концентрації антисептиків проти штамів псевдомонад з МЛС були достатньо високими, порівняно з такими, які необхідні, наприклад проти інших мікроорганізмів, які ми досліджували, то і вплив суб-МІК концентрацій на незрілі біоплівки псевдомонад був більш істотним, і всі антисептики показали високий рівень інгібуючої здатності [206-208]. ОКТ в суб-МІК концентраціях продемонстрував найсильніший вплив на незрілу біоплівку та на 32,3% пригнічував її утворення (p <0,001). Наступним за шкалою ефективності були ДКМ та ПГМБ, які на 25% та на 24,8 % пригнічували формування біоплівки порівняно з контролем (p <0,001). ХГ та повідон-йод пригнічували на 24% та на 23,8 % відповідно. Якщо ранжувати ефективність препаратів за дією їх суббактеріостатичних концентрацій на незрілу біоплівку полірезистентних псевдомонад, то шкала ефективності буде такою (від найбільш ефективного):

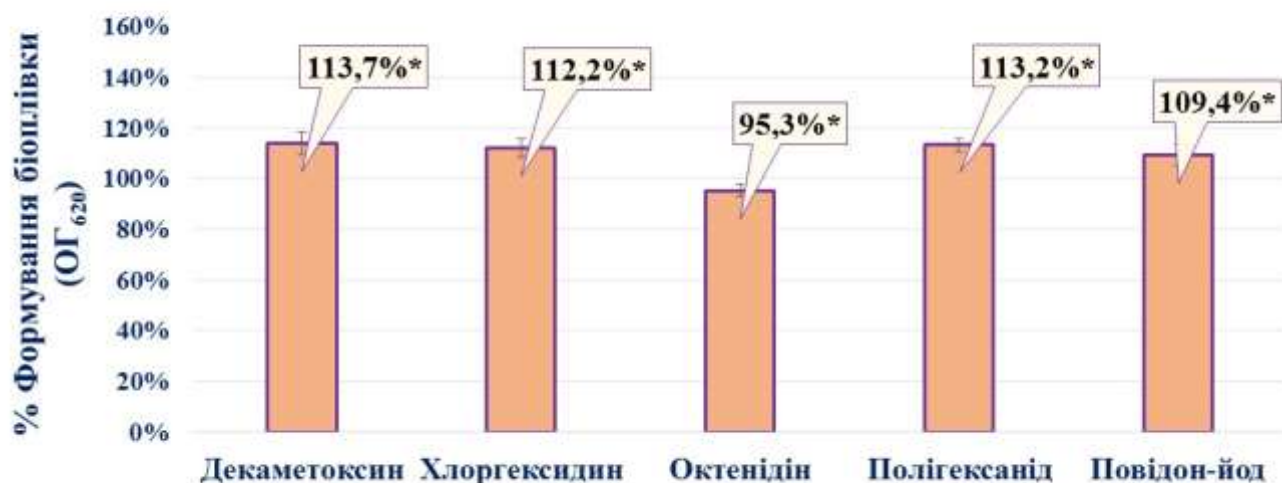
Octenisept > Decamethoxine/Decasan > Prontosan > Chlorhexidine > Betadine

Щодо ізолятів *P.aeruginosa* з МЛС, було виявлено негативну кореляцію між здатністю штамів формувати біоплівки в присутності суббактеріостатичних концентрацій антисептиків та чутливістю цих ізолятів до антисептиків. Коефіцієнти

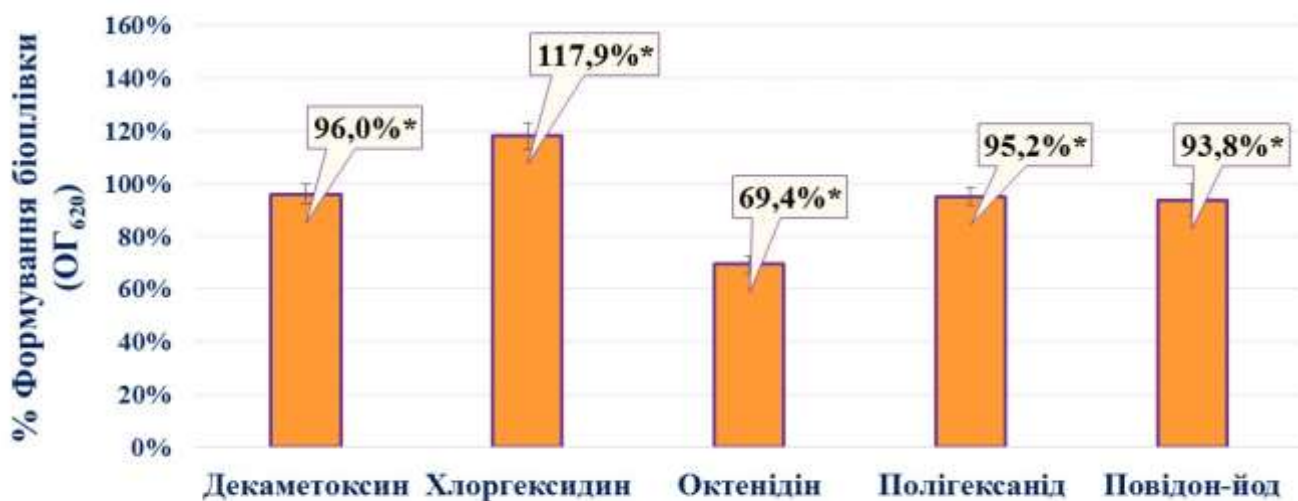
кореляції Пірсона мали від'ємне значення для всіх антисептиків, а величина самого значення вказує на ступінь залежності антибіоплівкових властивостей саме від концентрації антисептика, а не від підвищеної чутливості штамів до певного антисептика. Коефіцієнт кореляції Пірсона для повідон-йоду становив  $r = -0,92$ , для ПГМБ  $r = -0,73$ , для ХГ  $r = -0,75$ , для ОКТ  $r = -0,74$ , для ДКМ  $r = -0,87$ . Як видно, для всіх антисептиків кореляція була достатньо сильною, але найбільше – для ДКМ та повідон-йоду. Найбільшу активність проти формування біоплівки проявив ОКТ. Бактеріостатичні концентрації ОКТ мають достатньо високе значення, перевищуючи такі, наприклад, у ПГМБ та ДКМ. До того ж – достатньо сильний від'ємний кореляційний зв'язок залежності від концентрації ( $r = -0,74$ ).

Таким чином, для досліджуваних антисептиків із групи детергентів та галоген-вмісних сполук, властивість пригнічувати формування біоплівки залежала саме від концентрації антисептика, а не від чутливості до них ізолятів *P. aeruginosa*.

**Ефективність антисептиків щодо попередньо сформованої біоплівки *P. aeruginosa*. Оцінка впливу МІК, МБцК та  $\frac{1}{2}$  вихідної концентрації антисептиків на сформовану біоплівку.** Досліджували вплив антисептиків на сформовану біоплівку (72 год). Вивчали не тільки здатність до ерадикації біоплівки, але і здатність пригнічувати її розвиток, оскільки до зрілої біоплівки, крім розчину антисептиків, додавали і поживне середовище з подальшим культивуванням протягом доби. Як видно на рис. 3.11, МІК більшості антисептиків стимулювала захисні сили біоплівки, як форми організації, що наближалось до тканинного рівня. «Quorum sensing» забезпечив реакцію структури в більшій мірі у вигляді продукції захисного матриксу. МІК повідон-йоду простимулювала розвиток біоплівки на 9,4%, бактеріостатична концентрація ПГМБ – на 13,2%, ХГ – на 12,2 %, ДКМ – на 13,7 % ( $p < 0,001$ ). Бактеріостатична концентрація ОКТ ( $84,67 \pm 7,63$  мкг/мл) призвела до ерадикації біоплівки порівняно з контролем на 4,7% ( $p < 0,001$ ) [209]. При дії МБцК більшості антисептиків на сформовану біоплівку МЛС штамів *P. aeruginosa* спостерігали ерадикацію останньої на 4% ДКМ ( $p < 0,001$ ), на 4,8 % ПГМБ ( $p < 0,001$ ), на 6,2 % повідон-йодом ( $p < 0,001$ ) та на 30,6 % ОКТ ( $p < 0,001$ ). ХГ простимулював біоплівку на 17,9 % ( $p < 0,001$ ) (рис. 3.12).

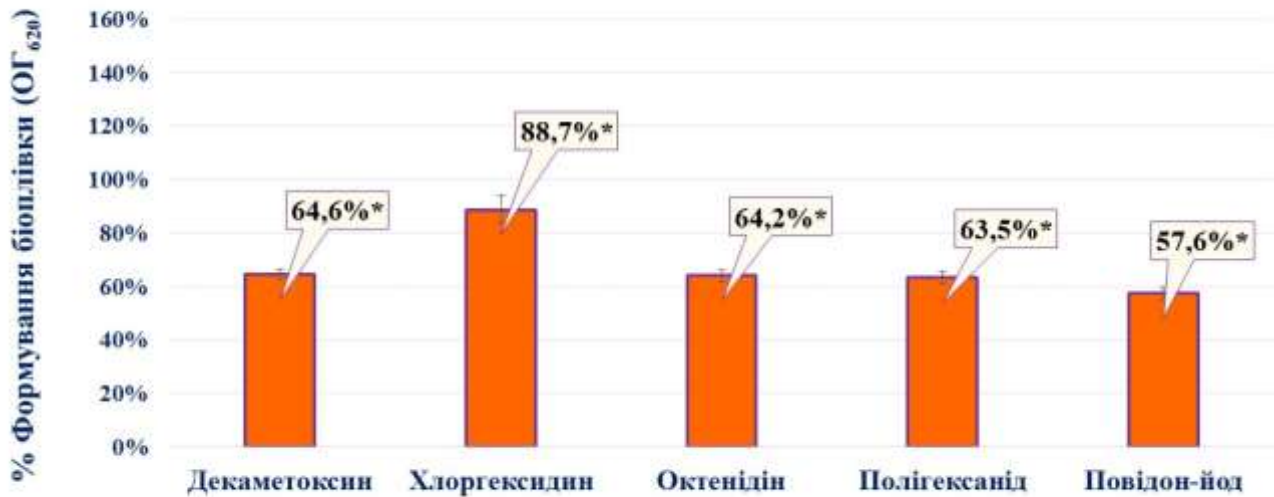


**Рис. 3.11.** Відсотковий показник дії МІК антисептиків на сформовану біоплівку *P.aeruginosa* (n=43) порівняно з необробленим контролем; \*- коефіцієнт достовірності (p<0,001).



**Рис. 3.12.** Відсотковий показник дії МБЦК антисептиків на сформовану біоплівку *P.aeruginosa* (n=43) порівняно з необробленим контролем; \* - коефіцієнт достовірності (p<0,001).

Таким чином відсоток біоплівки в порівнянні з контролем становив 93,8% при дії повідон-йоду, 95,2% при дії ПГМБ, 69,4% при дії ОКТ, 117,9% при дії ХГ, 96,0% при дії ДКМ ( $p < 0,001$ ).



**Рис. 3.13.** Відсотковий показник дії  $\frac{1}{2}$  вихідної концентрації антисептиків на сформовану біоплівку *P.aeruginosa* ( $n=43$ ) порівняно з необробленим контролем; \* - коефіцієнт достовірності ( $p < 0,001$ ).

Всі антисептики в концентрації, що дорівнювала половині вихідної концентрації активної речовини (3.13), призводили до часткової ерадикації біоплівки МЛС штамів псевдомонад. Відсоток біоплівки порівняно з контролем при дії ДКМ був нижчим на 35,4 % ( $p < 0,001$ ) і становив 64,6%, при дії ХГ – на 11,3% ( $p < 0,001$ ) та становив 88,7%, при дії ОКТ – на 35,8% ( $p < 0,001$ ) та становив 64,2%, при дії ПГМБ – на 36,5% ( $p < 0,001$ ) та становив 63,5 %, при дії повідон-йоду – на 42,4% ( $p < 0,001$ ) і становив 57,6%. ХГ показав найменшу активність щодо сформованої біоплівки в концентрації, що становить половину вихідної. Але його вихідна концентрація вдвічі менша, ніж інших детергентів.

Таким чином, чутливість до впливу антисептиків культур, що знаходяться в зрілих біоплівках, значно нижче. Ефективний вплив на сформовану біоплівку потребує значно більших концентрацій антисептиків. Значно простіше пригнічувати або попереджувати її формування. Тестовані концентрації антисептиків не руйнують



сформовану біоплівку більш ніж на 42,4%. Здатність антисептиків до ерадикації біоплівки залежала від концентрації: найефективнішими являлися найвищі тестовані концентрації, що дорівнювали половині концентрації готового комерційного продукту.

Прослідковуючи тенденцію дії ОКТ у різних концентраціях на різні стадії формування біоплівки, слід відзначити його найвищу активність проти біоплівки *P.aeruginosa*. Результати нашого дослідження свідчать про високу ефективність сучасних антисептиків проти МЛС штамів *P.aeruginosa*. Значення МІК антисептиків (крім МРМ) проти штамів *P.aeruginosa* завжди були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації. Безумовно, МБцК для всіх мікробіоцидів були вищими, ніж їхні відповідні МІК, але співвідношення МБцК/ МІК було менше 4, що вказує на те, що засоби проявляють переважно бактерицидні властивості [154, 155].

Оцінка ефективності, доцільність застосування препарату, використовуючи диференційний показник бактеріостатичного ІАА дозволила встановити ефективність повідон-йоду 10%, ДКМ 0,1%, ОКТ 0,1%, ПГМБ 0,1%, ДКМ 0,02%, ХГ 0,5%, повідон-йоду 2%, повідон-йоду 1%. Концентрації МРМ 0,01% недостатньо для застосування проти МЛС штамів *P.aeruginosa*. Концентрація діючої речовини цього препарату найнижча серед досліджуваних тут. За цидним індексом активності ефективними є повідон-йод 10%, ДКМ 0,1%, ОКТ 0,1%, ПГМБ 0,1% (БЦ ІАА=14,05), ХГ 0,5%, повідон-йод 2%. Найбільш високі значення індекси приймали для повідон-йоду 10%. Відношення БЦ ІАА до БС ІАА на користь цидної дії мало найвище значення для ПГМБ.

Наші дослідження дії антисептиків на незрілу біоплівку, тобто їх ефективності щодо пригнічення формування біоплівки показали, що всі антисептики мають високий рівень інгібуючої здатності. ОКТ в суб-МІК концентраціях продемонстрував найсильніший вплив на незрілу біоплівку. Наступними за шкалою ефективності були ДКМ, ПГМБ, ХГ та повідон-йод. Було виявлено негативну кореляцію між здатністю штамів *P.aeruginosa* з МЛС формувати біоплівку в присутності суббактеріостатичних концентрацій антисептиків та чутливістю цих ізолятів до антисептиків. Таким чином, для тестованих антисептиків із групи детергентів та галоген-вмісних сполук,

властивість пригнічувати формування біоплівки залежала саме від концентрації антисептика, а не від чутливості до них ізолятів *P.aeruginosa*.

Чутливість до впливу антисептиків культур, що знаходяться в зрілих біоплівках, була значно нижчою. Ефективний вплив на сформовану біоплівку потребує значно більших концентрацій антисептиків, тому значно простіше пригнічувати або попереджувати її формування. Тестовані концентрації антисептиків не руйнують сформовану біоплівку більш ніж на 42,4%. Здатність антисептиків до ерадикації біоплівки залежала від концентрації: найефективнішими виявились найвищі тестовані концентрації, що дорівнювали половині концентрації готового комерційного продукту. Прослідковуючи тенденцію дії ОКТ у різних концентраціях на стадії формування біоплівки, слід відзначити його найвищу активність проти біоплівки *P.aeruginosa*. Але, в цілому, слід зазначити, що всі досліджувані антисептики є ефективними проти біоплівки *P.aeruginosa*.

### **Висновки до розділу 3**

Клінічні штами *A.baumannii*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *S.aureus* *P.aeruginosa*, які володіють набутою стійкістю до протимікробних препаратів, зберігають чутливість до сучасних антисептиків. Сучасні поверхнево-активні антисептики, такі як ДКМ, ХГ, ОКТ, ПГМБ і галоген-вмісний повідон-йод (10 % і 2 %), забезпечують ефективну антимікробну дію проти планктонних форм антибіотикорезистентних клінічних штамів *A.baumannii*, які колонізують рани та опіки. Згідно показників ІАА концентрація вихідного розчину препарату МРМ (0,01%) є недостатньою для профілактики і лікування ранових інфекційних ускладнень, спричинених штамми *A.baumannii*, оскільки показники ІАА МРМ проти ацинетобактерій є нижчими за допустимий поріг цього показника. Суббактеріостатичні концентрації ДКМ та ХГ надійно пригнічували утворення біоплівок клінічними штамми *A.baumannii*, які колонізували бойові рани. Високі антибіоплівкоутворювальні властивості ХГ позитивно корелювали з чутливістю *A.baumannii* до цього антисептика. Аналіз показників ІАА за БС та БЦ ефектами дії показав недостатню бактерицидну

активність 1 % повідон-йоду проти штамів *A.baumannii*, що ставить під сумнів доцільність застосування його в низьких концентраціях.

Клінічні штами *E.coli* були найбільш чутливими до ОКТ та ДКМ. Найбільші значення ІАА проти *E.coli* були для ПГМБ (0,1%), ОКТ (0,1%) та ДКМ (0,1%). Згідно показника ІАА, доцільність застосування МРМ в концентрації 0,1% є сумнівною, оскільки БС ІАА перевищує порогове значення, а БЦ ІАА – ні, що може створювати селективні умови для виникнення резистентних штамів. Ефективність повідон-йоду 1% проти мультирезистентної *E.coli* є недостатньою, оскільки БС ІАА та БЦ ІАА були нижчими за порогове значення. Антисептики ПГМБ, ХГ та ДКМ демонструють найбільш виражену інгібуючу дію на незрілі біоплівки штамів *E.coli*. МРМ і повідон-йод у суббактеріостатичних концентраціях стимулювали утворення біоплівки штамами *E.coli*. ХГ і ПГМБ слід вважати найбільш ефективними антибіоплівковими агентами через значне пригнічення утворення біоплівки ізолятів *E.coli* та позитивну кореляцію з їх чутливістю до антисептиків. ДКМ у суббактеріостатичних концентраціях найбільш ефективно пригнічував утворення біоплівки, причому кореляція була негативною, що свідчить про залежність здатності ефективно пригнічувати утворення біоплівки від певної концентрації препарату, а не від підвищеної чутливості конкретного штаму до антисептика. 0,1 % і 0,02 % ДКМ, 0,05% ХГ, 0,1% ОКТ, 0,1 % ПГМБ, 10 % і 2 % повідон-йод є найбільш активними щодо антибіотикостійких клінічних ізолятів *E.coli*.

Клінічні штами *K.pneumoniae* найбільш чутливі до ОКТ, МРМ та ДКМ. Найвищі значення ІАА щодо *K.pneumoniae* визначено для ДКМ (0,1%), ОКТ (0,1%) та ПГМБ (0,1%). Ефективність повідон-йоду 2% проти МЛС штамів *K.pneumoniae* є недостатньою. ДКМ, ПГМБ і повідон-йод проявили найбільш виражену дію на незрілі біоплівки *K.pneumoniae*. Через значне пригнічення утворення біоплівки та позитивну кореляцію цієї властивості з чутливістю МЛС штамів *K.pneumoniae* до ДКМ його слід розглядати як ефективний антибіоплівковий засіб. Виходячи з аналізу всіх проведених досліджень, 0,1% і 0,02% ДКМ, 0,01% МРМ, 0,05% ХГ, 0,1% ОКТ, 0,1% ПГМБ, 10% повідон-йод є ефективними проти клінічних ізолятів *K.pneumoniae* з МЛС.

Всі антисептики проявили високу активність проти МЛС штамів *S.aureus*, а серед них ДКМ та ДС виявили найсильніший ефект. Найвищі значення ІАА щодо *S.aureus* характерні для повідон-йоду 10% , ДКМ 0,1%, ОКТ 0,1% , ХГ 0,5% ПГМБ 0,1%. Всі препарати виявились активними щодо клінічних штамів *S.aureus*. А найбільш активними є препарати ДКМ 0,1%, Пронтосан, Бетадин, Октенідин. ОКТ, ХГ та ДКМ у суб-МІК концентраціях демонструють найефективніший інгібуєчий вплив на формування біоплівки *S.aureus*.

Найбільш активними відносно МЛС *P.aeruginosa* є антисептики ДКМ 0,1%, ПГМБ 0,1%, ОКТ 0,1%, повідон-йод 10%. Ефективність МРМ 0,01% була визнана недостатньою, оскільки ІАА був нижчим за порогове значення (<4). ОКТ в суб-МІК концентраціях продемонстрував найсильніший вплив на незрілу біоплівку (на її формування). Коефіцієнти кореляції Пірсона мали від'ємне значення для всіх антисептиків. Для антисептиків із групи детергентів та йодофорів властивість пригнічувати формування біоплівки залежала саме від концентрації антисептика, а не від чутливості до них ізолятів *P.aeruginosa*. МІК більшості антисептиків стимулювала розвиток зрілої біоплівки *P.aeruginosa*. Бактеріостатична концентрація ОКТ призвела до ерадикації зрілої біоплівки на 4,7%. МБЦК більшості антисептиків (крім ХГ) призводила до ерадикації зрілої біоплівки на 4-30,6%. ХГ простимулював зрілу біоплівку на 17,9%. Здатність антисептиків до ерадикації сформованої біоплівки *P.aeruginosa* залежала від концентрації: найефективнішими являлися найвищі тестовані концентрації, що дорівнювали половині концентрації готового комерційного продукту. Тестовані концентрації антисептиків не руйнують сформовану біоплівку більш ніж на 42,4%. Прослідковуючи тенденцію дії ОКТ у різних концентраціях на різні стадії формування біоплівки, слід відзначити його найвищу активність проти біоплівки *P.aeruginosa*. Результати дослідження підкреслюють необхідність ретельного моніторингу ізолятів *P.aeruginosa* щодо чутливості до антисептиків, що допоможе запобігти створенню селективних умов для виникнення резистентних мікроорганізмів та запобігти їх поширенню.

Результати досліджень представлені в даному розділі викладені в публікаціях [206-208, 210-216].

## РОЗДІЛ 4

### ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БІОМАТЕРІАЛІВ НА ОСНОВІ ПОЛІМЕРІВ ТА АНТИСЕПТИКІВ

#### **4.1. Скринінг розроблених пробних зразків антимікробних біоматеріалів на основі декаметоксину та полімерів**

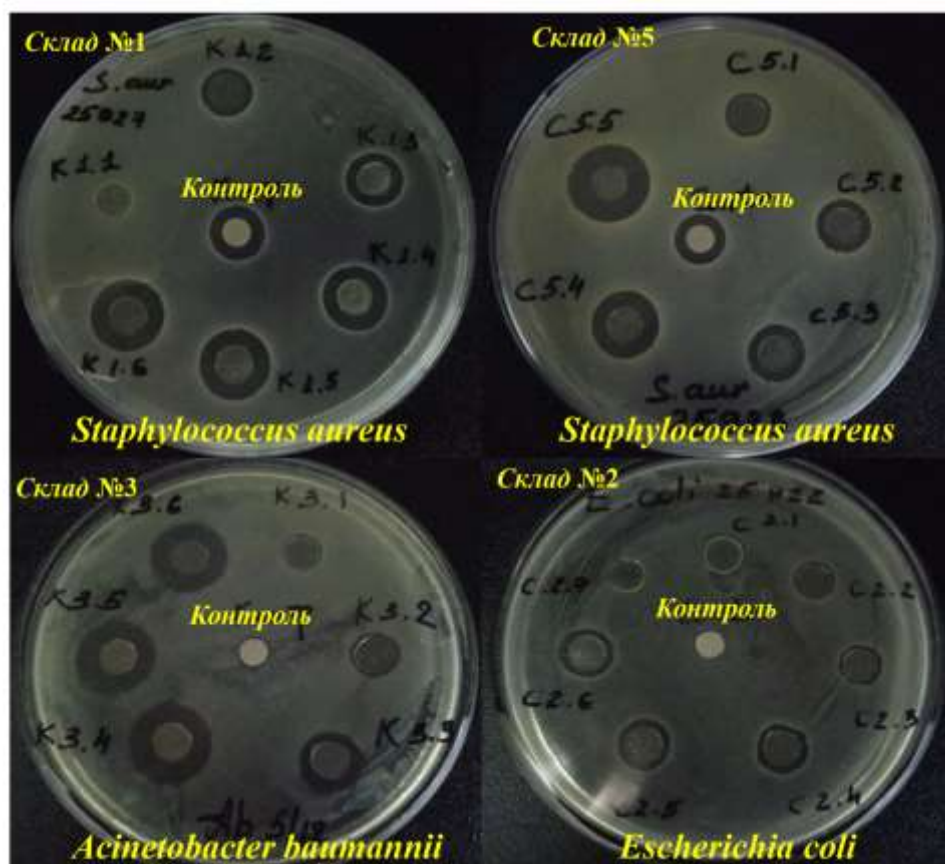
На першому етапі розробки полімерних антимікробних біоматеріалів, було виготовлено скринінгові зразки із різними концентраціями ДКМ та різним складом полімерів для первинного відбору, а саме 5 складів базових полімерів. В кожному із п'яти базових складів (формул) по 6 зразків із різною концентрацією ДКМ від 0 (негативний контроль) до 0,1% (табл. 2.5). Розробка нових біоматеріалів з поліпшеними властивостями суттєво розширює можливості їх практичного застосування. Надзвичайно важливими є антимікробні властивості біоматеріалів, які дозволяють перешкоджати виникненню небажаних ранових інфекцій, особливо в умовах зростаючої стійкості бактерій до антибіотиків [29].

В даному розділі наведено результати дослідження антимікробних властивостей біоматеріалів на основі альгінату кальцію, як полімерної системи локальної пролонгованої доставки ДКМ, на референтні та клінічні штами основних ранових патогенів. Чутливість штамів мікроорганізмів визначали диско-дифузійним методом, вимірюючи середнє значення діаметрів зон затримки росту (ЗЗР). Як контроль використовували диски фільтрувального паперу діаметром 6 мм, просочені 0,02% розчинами ДКМ.

Результати проведених досліджень свідчать про високі антимікробні властивості зразків біоматеріалів на основі ДКМ та альгінату кальцію. Варто зауважити, що досліджувані зразки антимікробних біоматеріалів із концентрацією ДКМ як у контролі і вище (0,02% і вище) не поступалися протимікробній дії контрольних розчинів ДКМ.

Встановлено, що досліджувані зразки біоматеріалів на основі ДКМ проявили високі антимікробні властивості щодо референтного та клінічних штамів *A.baumannii*, який є широко розповсюдженим антибіотикорезистентним

мікроорганізмом, що колонізує рани і віднесений ВООЗ до патогенів критичного рівня пріоритетності. Середні діаметри ЗЗР референтних та клінічних штамів *A.baumannii* у контролі (фільтрувальний папір, просочений 0,02% ДКМ) становили від  $7,1\pm 0,1$  мм до  $12,9\pm 0,15$  мм. Діаметри зон затримки росту (ДЗЗР) референтних та клінічних штамів *A.baumannii* навколо зразків біоматеріалів з концентрацією ДКМ від 0,02% до 0,1% становили в середньому від  $7,6\pm 0,05$  мм до  $23,2\pm 0,03$  мм. Їх протимікробна дія щодо деяких штамів *A.baumannii* достовірно перевищувала таку дію контрольних розчинів ДКМ ( $p < 0,05$ ; рис. 4.1).



**Рис. 4.1.** Зони затримки росту навколо зразків біоматеріалів різних складів.

ДЗЗР навколо досліджуваних зразків щодо референтних та клінічних штамів *E.coli* були від  $8,05\pm 0,13$  мм до  $24,3\pm 0,05$  мм, а навколо контрольних дисків – від  $7,7\pm 0,2$  до  $10,9\pm 0,5$  мм. Дія антисептика в контрольних розчинах та у складі полімерних біоматеріалів на референтні та клінічні штами *K.pneumoniae* у вигляді середніх ДЗЗР становила відповідно від  $7,23\pm 0,1$  мм до  $8,71\pm 0,06$  мм та від  $7,78\pm 0,14$

мм до  $19,5 \pm 0,04$  мм. Щодо штамів *P.aeruginosa*: ДЗЗР навколо контролю становили в середньому від  $6,78 \pm 0,13$  до  $8,63 \pm 0,08$  мм, а навколо зразків біоматеріалів – від  $7,95 \pm 0,05$  мм до  $14,9 \pm 0,5$  мм.

Найвищу протимікробну дію полімерні композиції на основі ДКМ, альгінату та полівінілового спирту, подібно до контрольних тест-об'єктів, насичених розчинами антисептика, проявили щодо референтних та клінічних штамів *S.aureus*, що віднесений ВООЗ до патогенів високого рівня пріоритетності: ДЗЗР для зразків та для контролів відповідно були від  $12,03 \pm 0,04$  мм до  $26,68 \pm 0,09$  мм та від  $11,65 \pm 0,4$  мм до  $12,27 \pm 0,08$  мм.

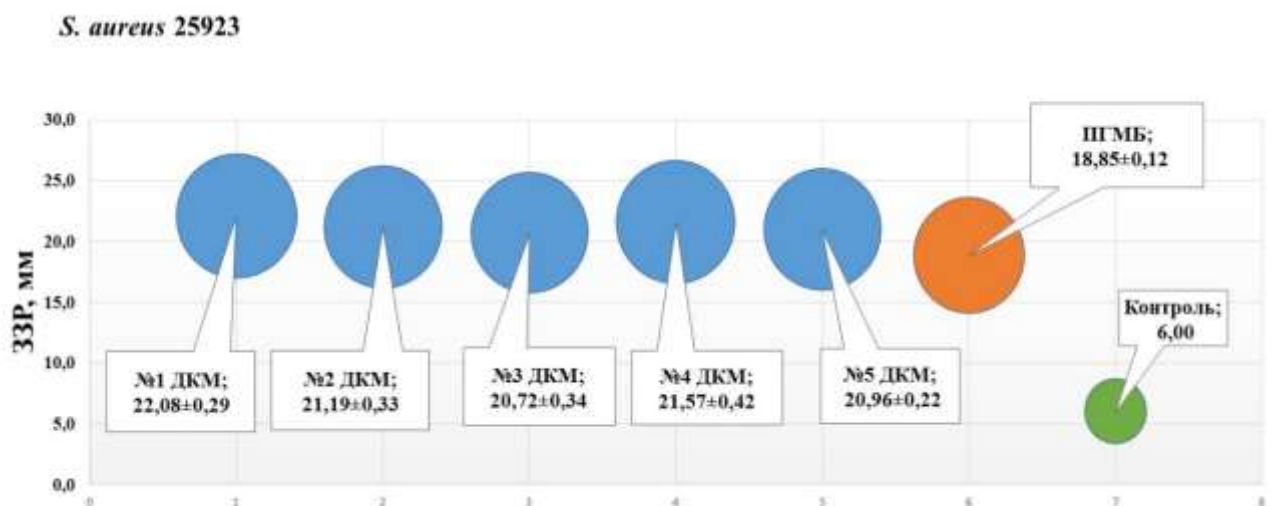
Таким чином, на етапі скринінгу було доведено високі протимікробні властивості досліджуваних зразків антимікробних біоматеріалів на основі альгінату кальцію, полівінілового спирту та ДКМ. Композиція не поступається активності розчину ДКМ щодо всіх штамів мікроорганізмів. Оптимально ефективними концентраціями ДКМ у складі зразків біоматеріалів були 0,04% та 0,06%. Для подальших розробок та порівняльного дослідження, до складу біоматеріалів включити ДКМ у концентрації 0,05%, 0,06% та 0.1%.

#### **4.2. Порівняльне дослідження антимікробних властивостей розроблених біоматеріалів**

На основі даних первинного скринінгу розроблених антимікробних біоматеріалів було виготовлено сім композицій з оптимальним ефективним складом та властивостями ДКМ (0,05 %, 0,05 %, 0,05 %, 0,1 % та 0,06 %), які відповідають біоматеріалам №1, №2, №3, №4 та №7, що після скринінгу були відібрані для порівняльного дослідження і відповідно позначені в даному розділі №1, №2, №3, №4, №5. Подальше дослідження антимікробних властивостей відібраних біоматеріалів проводили диско-дифузійним методом в два етапи, поглиблюючи вивчення антимікробних властивостей шляхом розширення спектру цільових мікроорганізмів та порівняння розроблених нових біоматеріалів із існуючими доступними комерційними продуктами.

На першому етапі п'ять зразків біоматеріалів на основі ДКМ, альгілату кальцію та полівінілового спирту порівнювали із негативним контролем (неантимікробним біоматеріалом – неімпрегнованою ксеношкірою,  $d = 6,00$  мм) та сучасним ефективним антимікробним біоматеріалом на основі ЧАС полігексаметиленбігуаніду (0,3 % Polyhexamethylene biguanide - ПГМБ) та біосинтетичних волокон HydroBalance (біоцелюлоза), пов'язкою Suprasorb® X + ПГМБ від Lohmann & Rauscher у якості позитивного контролю. Дослідження, проведені на першому етапі, виявили високі антимікробні властивості нових біоматеріалів на основі ДКМ щодо референтних та клінічних штамів цільових мікроорганізмів, що є провідними патогенами ран та опіків.

**Антимікробна дія біоматеріалів на референтні та клінічні штами стафілококів.** За результатами визначення антимікробних властивостей біоматеріалів, референтний штам *S.aureus* 25923 виявив найвищу чутливість до зразку №1 ДКМ на основі ДКМ. Діаметр зони затримки росту для зразку №1 ДКМ в середньому становив  $22,08 \pm 0,29$  мм та в 3,68 рази перевищував діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ) та в 1,17 разів – позитивного контролю, біоматеріалу Suprasorb® X + РНМВ ( $p < 0,001$ ) (рис. 4.2; табл. 4.1)



**Рис. 4.2.** Чутливість *S. aureus* 25923 до антимікробних біоматеріалів (M±m). Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов'язка Suprasorb® X + РНМВ – позитивний контроль.



Таблиця 4.1

**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів зон затримки росту *S.aureus* 25923 під впливом антимікробних біоматеріалів**

	№1 ДКМ	№2 ДКМ	№3 ДКМ	№4 ДКМ	№5 ДКМ	ПГМБ	Контроль
№1 ДКМ		>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,001	<0,001
№2 ДКМ	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
№3 ДКМ	<0,05	>0,05		>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
№4 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05		>0,05	<0,001	<0,001
№5 ДКМ	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05		<0,001	<0,001
ПГМБ	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
Контроль	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Діаметри ЗЗР зразків №2, №3, №4, №5 також статистично значимо відрізнялись від негативного ( $p < 0,001$ ) та позитивного контролів. ДЗЗР для біоматеріалу ПГМБ (Suprasorb<sup>®</sup> X + РНМВ) як позитивного контролю становив  $18,85 \pm 0,12$  мм. Біоматеріал на основі ПГМБ також ефективно пригнічував ріст *S.aureus* 25923: ДЗЗР у 3,14 разів достовірно ( $p < 0,001$ ) перевищували діаметр негативного контролю. Середні значення діаметрів зон затримки росту та достовірність різниці з позитивним контролем ( $p$ ) становили для зразку №2 ДКМ-  $21,19 \pm 0,33$  мм ( $p < 0,001$ ), №3 ДКМ -  $20,72 \pm 0,34$  мм ( $p < 0,001$ ), №4 ДКМ -  $21,57 \pm 0,42$  мм ( $p < 0,001$ ), №5 ДКМ -  $20,96 \pm 0,22$  мм ( $p < 0,001$ ).

Середні значення ДЗЗР для №1 ДКМ достовірно не відрізнялись від таких для №2 ДКМ та №4 ДКМ ( $p > 0,05$ ), і у 1,07 рази та 1,05 рази достовірно ( $p < 0,05$ ) перевищували такі для зразків №3 ДКМ та №5 ДКМ (рис. 4.2, табл. 4.1).

Для зразків з ДКМ ефективність була такою: №1 ДКМ > №4 ДКМ > №2 ДКМ > №5 ДКМ > №3 ДКМ.

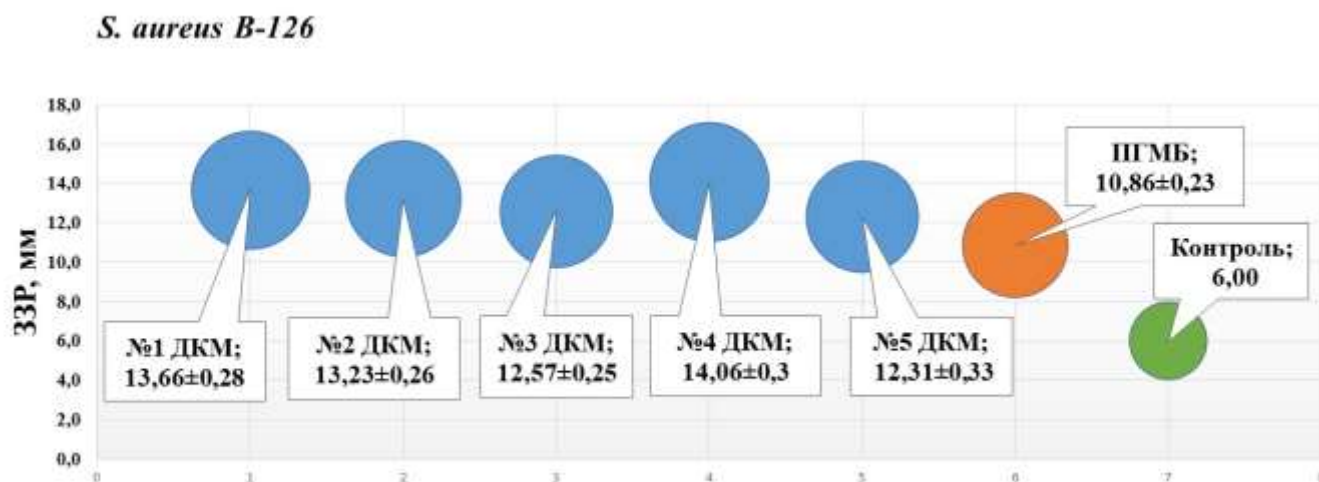
Зразок №1 ДКМ також виявився найбільш дієвим щодо *S.aureus* 29213. Середні значення ДЗЗР для цього зразку в середньому становили  $16,45 \pm 0,24$  мм, в 2,74 рази перевищували діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ) та в 1,26 рази середній



Загалом, для зразків з ДКМ ранжування ефективності від більшої до меншої залежно від величини значення ДЗЗР вибудовується таким чином: №1 ДКМ > №4 ДКМ (ЗЗР-16,01±0,2 мм) > №2 ДКМ (ЗЗР-15,47±0,19 мм) > №5 ДКМ (ЗЗР-15,21±0,13 мм) > №3 ДКМ (ЗЗР - 15,06±0,08 мм). Всі зразки з ДКМ статистично значимо відрізнялись від негативного та позитивного контролів. Середнє значення діаметрів зон затримки росту навколо зразка №4 ДКМ в 1,23 рази перевищувало діаметр позитивного контролю ( $p < 0,001$ ); для зразка №3 ДКМ значення були більшими в 1,16 ( $p < 0,001$ ); для зразка №2 ДКМ - в 1,19 рази ( $p < 0,001$ ); для зразка №5 ДКМ - в 1,17 рази ( $p < 0,001$ ).

Порівнюючи зразки, що містять ДКМ, середні значення ЗЗР для №1 та №4 достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ). Ефективність зразка №1 достовірно перевищувала таку зразків №2, №3 та №5 у 1,06 ( $p < 0,05$ ), 1,09 ( $p < 0,001$ ) та 1,08 ( $p < 0,01$ ) рази відповідно. Для зразка №4 ДКМ достовірною була його більш висока ефективність порівняно зі зразком №3 ( $p < 0,001$ ) та №5 ( $p < 0,001$ ) у 1,06 ( $p < 0,01$ ) та 1,05 ( $p < 0,05$ ) разів відповідно. Матеріал Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB ефективно пригнічував ріст *S.aureus* 29213: діаметр зон затримки росту в середньому складав 13,02±0,18 мм та у 2,17 рази перевищував діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ).

Встановлено, що клінічний штамп *S.aureus* B-126 виявився найбільш чутливим до зразків №1 ДКМ, №2 ДКМ та №4 ДКМ. Діаметри ЗЗР в середньому становили 13,66±0,28 мм, 13,23±0,26 мм та 14,06±0,3 мм та достовірно відрізнялись від значень негативного та позитивного контролів (табл. 4.3). Діаметри ЗЗР навколо зразків №3 та №5 становили 12,57±0,25 та 12,31±0,33 мм і також достовірно відрізнялись від значень ЗЗР позитивного контролю. Значення ДЗЗР зразка №1 ДКМ достовірно перевищували значення для зразків з ДКМ №3 та №5 ( $p < 0,05$ ) у 1,09 та 1,11 разів відповідно. Значення ДЗЗР зразка №4 ДКМ достовірно перевищували значення для зразків з ДКМ №3 та №5 ( $p < 0,01$ ) у 1,12 та 1,14 разів відповідно. Середні значення діаметрів зон затримки росту (10,86±0,23 мм) для матеріалу Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB (позитивний контроль) достовірно перевищували діаметр негативного контролю у 1,81 рази ( $p < 0,001$ ) (рис. 4.4., табл. 4.3).



**Рис. 4.4.** Чутливість *S.aureus B-126* до антимікробних біоматеріалів ( $M \pm m$ ). Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов’язка Suprasorb® X + РНМВ – позитивний контроль.

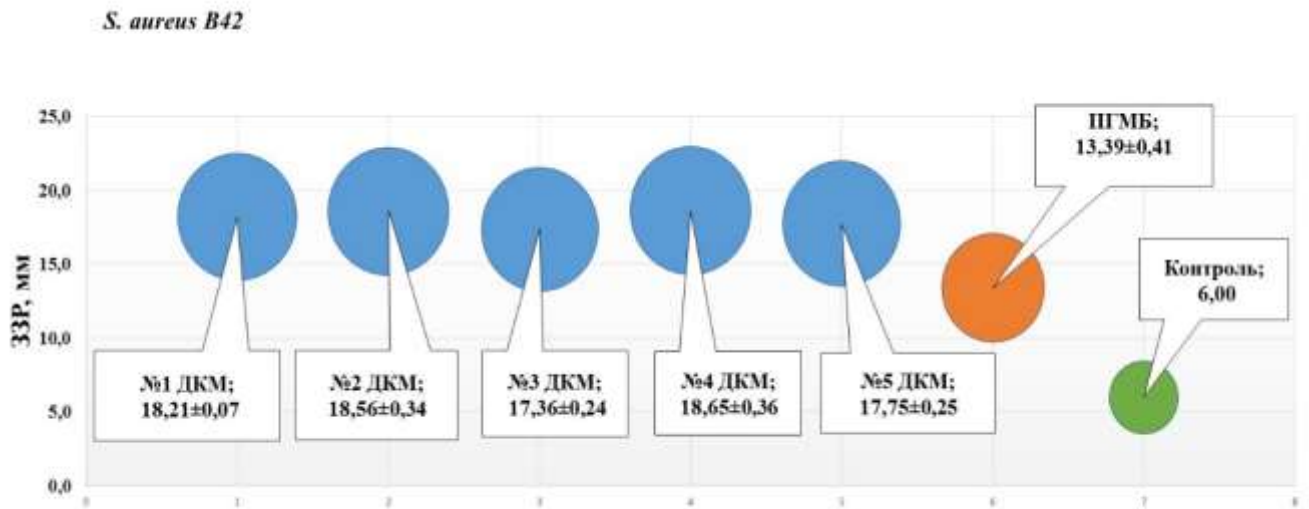
Таблиця 4.3

**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів зон затримки росту *S.aureus B-126* під впливом антимікробних біоматеріалів**

	№1 ДКМ	№2 ДКМ	№3 ДКМ	№4 ДКМ	№5 ДКМ	ПГМБ	Контроль
№1 ДКМ		>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,001	<0,001
№2 ДКМ	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
№3 ДКМ	<0,05	>0,05		<0,01	>0,05	<0,001	<0,001
№4 ДКМ	>0,05	>0,05	<0,01		<0,01	<0,001	<0,001
№5 ДКМ	<0,05	>0,05	>0,05	<0,01		<0,01	<0,001
ПГМБ	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01		<0,001
Контроль	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Таким чином, шкала ефективності для зразків з ДКМ щодо до *S. aureus B-126* є такою: №4 ДКМ > №1 ДКМ > №2 ДКМ > №3 ДКМ > №5 ДКМ.

Шкала ефективності зразків з ДКМ по відношенню до *S.aureus B42* була наступною: №4 ДКМ > №2 ДКМ > №1 ДКМ > №5 ДКМ > №3 ДКМ (рис. 4.5).



**Рис. 4.5.** Чутливість *S.aureus B42* до антимікробних біоматеріалів ( $M \pm m$ ). Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов’язка Suprasorb® X + PHMB – позитивний контроль.

Діаметри зон затримки росту були відповідно  $18,65 \pm 0,36$  мм для №4,  $18,56 \pm 0,34$  мм для №2,  $18,21 \pm 0,07$  мм для №1,  $17,75 \pm 0,25$  мм для №5 та  $17,36 \pm 0,24$  мм для №3. Для позитивного контролю ПГМБ це значення становило  $13,39 \pm 0,41$  мм. Достовірні різниці значень між зразками з ДКМ та негативним та позитивним контролем виявили для всіх п’яти зразків з ДКМ ( $p < 0,001$ ). Достовірну різницю значень виявили між зразками з ДКМ №4, №2, №1 порівняно з №3 ( $p < 0,05$ ). Значення були вищими для №4, №2, №1 порівняно з №3 у 1,07, 1,07 та 1,05 рази відповідно. Інші значення достовірно не відрізнялись. Середні значення діаметрів зон затримки росту ( $13,39 \pm 0,41$  мм) для матеріалу Suprasorb® X + PHMB (позитивний контроль) достовірно перевищували діаметр негативного контролю у 2,23 рази ( $p < 0,001$ ). Найбільш ефективним щодо *S.aureus OXR-D* показав себе зразок №1 ДКМ: ДЗЗР -  $17,22 \pm 0,04$  мм. Це значення у 2,87 рази перевищувало діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ) та у 1,32 рази середнє значення ДЗЗР позитивного контролю ( $p < 0,001$ ). Середнє значення зон затримки росту навколо зразку №1 ДКМ приблизно у 1,08 рази достовірно перевищувало значення зразків №2 ДКМ ( $p < 0,001$ ), у 1,04 рази значення

зразку №3 ДКМ ( $p < 0,01$ ) у 1,06 рази - №4 ДКМ ( $p < 0,001$ ), у 1,12 рази - №5 ДКМ ( $p < 0,001$ ; табл. 4.4).

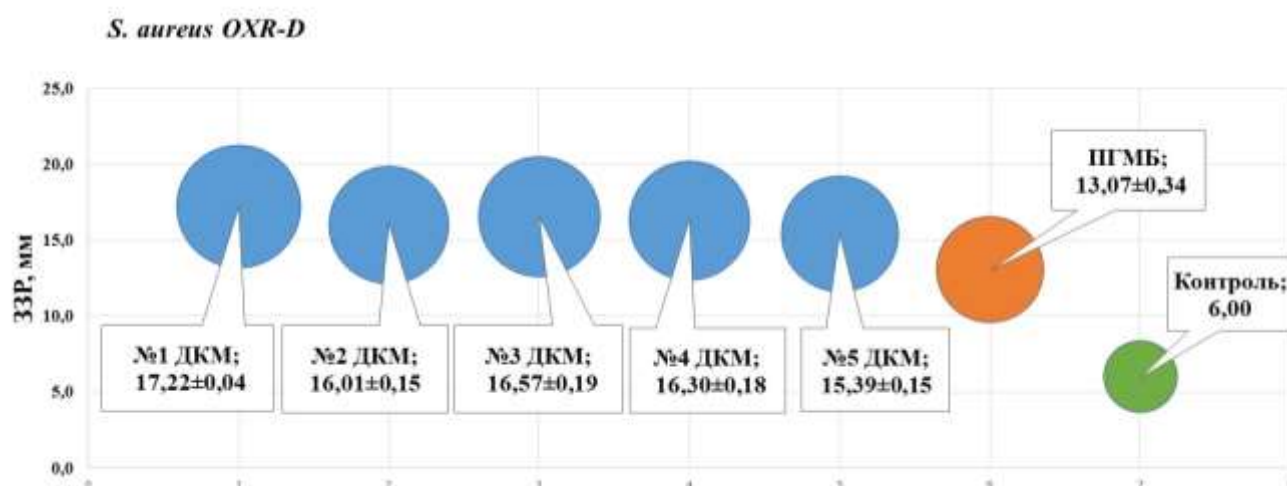
Таблиця 4.4

**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів зон затримки росту**

***S.aureus B42* під впливом антимікробних біоматеріалів**

	№1 ДКМ	№2 ДКМ	№3 ДКМ	№4 ДКМ	№5 ДКМ	ПГМБ	Контроль
№1 ДКМ		>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
№2 ДКМ	>0,05		<0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
№3 ДКМ	<0,05	<0,05		<0,05	>0,05	<0,001	<0,001
№4 ДКМ	>0,05	>0,05	<0,05		>0,05	<0,001	<0,001
№5 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05		<0,001	<0,001
ПГМБ	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
Контроль	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Шкала ефективності зразків з ДКМ щодо клінічного антибіотикорезистентного штаму *S.aureus OXR-D* виглядає таким чином: №1 ДКМ > №3 ДКМ > №4 ДКМ > №2 ДКМ > №5 ДКМ (рис. 4.6; табл. 4.5).



**Рис. 4.6.** Чутливість *S.aureus OXR-D* до антимікробних біоматеріалів (М±m).

Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов'язка Suprasorb® X + PHMB – позитивний контроль.

**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів зон затримки  
росту *S.aureus* OXR-D під впливом антимікробних біоматеріалів**

	<b>№1 ДКМ</b>	<b>№2 ДКМ</b>	<b>№3 ДКМ</b>	<b>№4 ДКМ</b>	<b>№5 ДКМ</b>	<b>ПГМБ</b>	<b>Контроль</b>
<b>№1 ДКМ</b>		<0,001	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>№2 ДКМ</b>	<0,001		>0,05	>0,05	<0,05	<0,001	<0,001
<b>№3 ДКМ</b>	<0,01	>0,05		>0,05	<0,01	<0,001	<0,001
<b>№4 ДКМ</b>	<0,001	>0,05	>0,05		<0,01	<0,001	<0,001
<b>№5 ДКМ</b>	<0,001	<0,05	<0,01	<0,01		<0,001	<0,001
<b>ПГМБ</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
<b>Контроль</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Значення ЗЗР зразків №2, №3, №4 достовірно відрізнялись від значень для №5 у 1,04 ( $p < 0,05$ ), 1,08 ( $p < 0,01$ ) та 1,06 ( $p < 0,01$ ) рази відповідно. Середні значення ДЗЗР ( $13,07 \pm 0,34$  мм) для матеріалу Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB (позитивний контроль) достовірно перевищували діаметр негативного контролю у 2,18 рази ( $p < 0,001$ ).

*Мікробіологічне дослідження антимікробної дії біоматеріалів на штами ешерихій* засвідчило, що найефективнішим щодо *E.coli* 25922 був зразок №1 ДКМ: ДЗЗР -  $22,94 \pm 0,15$  мм. Це значення у 3,82 рази перевищувало діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ) та у 1,58 рази середнє значення ДЗЗР позитивного контролю ( $p < 0,001$ ). Середнє значення зон затримки росту навколо зразку №1 ДКМ у 1,16 рази достовірно перевищувало значення зразків №2 ДКМ ( $p < 0,001$ ), у 1,15 рази значення зразку №3 ДКМ ( $p < 0,01$ ) у 1,15 рази - №4 ДКМ ( $p < 0,001$ ), у 1,17 рази - №5 ДКМ ( $p < 0,001$ ). Шкала ефективності зразків з ДКМ по відношенню до *E.coli* 25922 виглядає таким чином: №1 ДКМ > №4 ДКМ > №3 ДКМ > №2 ДКМ > №5 ДКМ (рис. 4.7; табл.4.6).

Для зразків №2, №3, №4, №5 середні значення ЗЗР становили відповідно  $19,85 \pm 0,1$  мм,  $19,88 \pm 0,35$  мм,  $20,01 \pm 0,12$  мм,  $19,62 \pm 0,34$  мм. Ці значення також достовірно відрізнялись від негативного та позитивного контролів ( $p < 0,001$ ), а між собою достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ) і були однаково ефективними. Середні



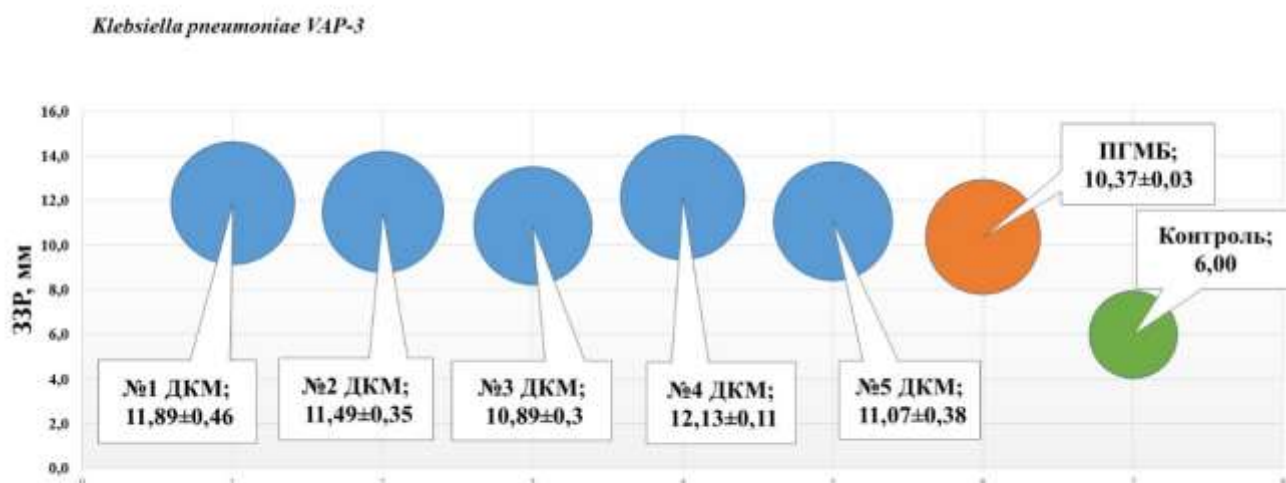




У порівнянні із позитивним контролем, їх ефективність достовірно ( $p < 0.001$ ) була вищою у 1,26, 1,24, 1,21, 1,26, 1,24 рази відповідно. Середні значення діаметрів зон затримки росту ( $10,37 \pm 0,03$  мм) для матеріалу Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB (позитивний контроль) достовірно перевищували діаметр негативного контролю у 1,73 рази ( $p < 0,001$ ).

Ранжування ефективності зразків з ДКМ щодо *K.pneumoniae F 53* виглядає наступним чином: №1 ДКМ > №4 ДКМ > №5 ДКМ > №2 ДКМ > №3 ДКМ.

У дослідженні встановлено, що найбільш ефективним щодо *K.pneumoniae VAP-3* був зразок №4 ДКМ: ДЗЗР -  $12,13 \pm 0,11$  мм. Це значення у 2,05 рази перевищувало діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ) та у 1,17 рази середнє значення ДЗЗР позитивного контролю ( $p < 0,001$ ). Середнє значення зон затримки росту навколо зразку №4 ДКМ у 1,11 рази достовірно перевищувало значення зразку №3 ДКМ ( $p < 0,01$ ), у 1,1 рази значення для зразку №5 ДКМ ( $p < 0,05$ ). Ранжування ефективності зразків з ДКМ щодо *K.pneumoniae VAP-3* визначили наступним чином: №4 ДКМ > №1 ДКМ > №2 ДКМ > №5 ДКМ > №3 ДКМ (рис. 4.9; табл. 4.8).



**Рис. 4.9.** Чутливість *K.pneumoniae VAP-3* до антимікробних біоматеріалів ( $M \pm m$ ). Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов’язка Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB – позитивний контроль.

**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів зон затримки росту  
*K.pneumoniae* VAP-3 під впливом антимікробних біоматеріалів**

	№1 ДКМ	№2 ДКМ	№3 ДКМ	№4 ДКМ	№5 ДКМ	ПГМБ	Контроль
№1 ДКМ		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,001
№2 ДКМ	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,001
№3 ДКМ	>0,05	>0,05		<0,01	>0,05	>0,05	<0,001
№4 ДКМ	>0,05	>0,05	<0,01		<0,05	<0,001	<0,001
№5 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05		>0,05	<0,001
ПГМБ	<0,05	<0,05	>0,05	<0,001	>0,05		<0,001
Контроль	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Для зразків №1, №2, №3, №5 середні значення ЗЗР становили відповідно  $11,89 \pm 0,46$  мм,  $11,49 \pm 0,35$  мм,  $10,89 \pm 0,3$  мм,  $11,07 \pm 0,38$  мм. Ці значення також достовірно відрізнялись від негативного та позитивного контролів ( $p < 0,001$ ), а між собою достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ). Середні значення діаметрів зон затримки росту ( $14,50 \pm 0,33$  мм) для матеріалу Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB (позитивний контроль) достовірно перевищували діаметр негативного контролю у 2,42 рази ( $p < 0,001$ ).

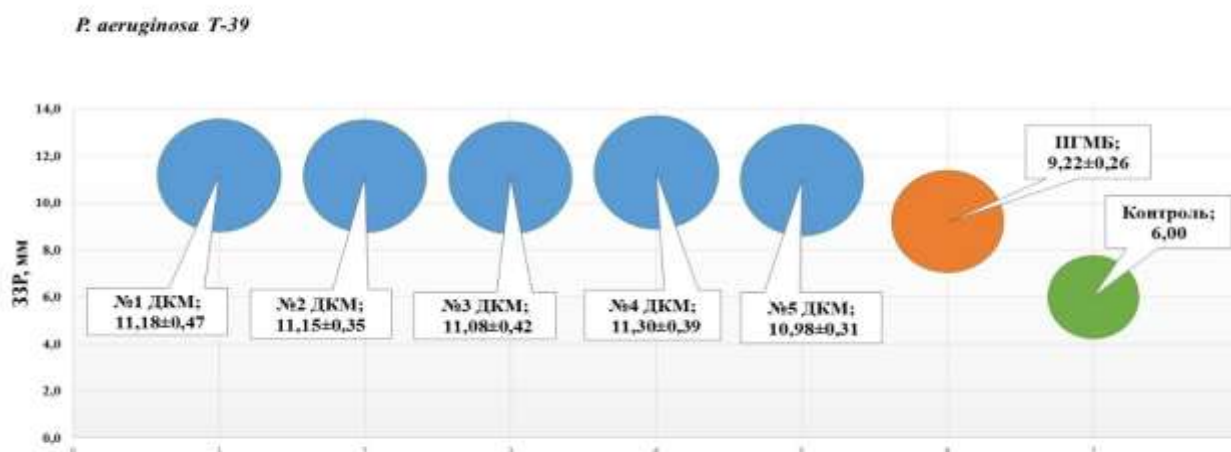
**Антимікробна дія біоматеріалів на штаму *P.aeruginosa*.** Одержані дані чутливості референтного штаму *P.aeruginosa* до тест-зразків з ДКМ показали найвищу ефективність зразка №4 ДКМ. Середнє значення ЗЗР становило  $13,21 \pm 0,11$  мм і перевищувало діаметр негативного контролю у 2,2 рази ( $p < 0,001$ ) та у 1,2 рази середнє значення ДЗЗР позитивного контролю ( $p < 0,001$ ).

Середнє значення зон затримки росту навколо зразку №4 ДКМ у 1,08 рази достовірно перевищувало значення для зразку №1 ДКМ ( $p < 0,01$ ), у 1,17 рази значення для зразку №2 ДКМ ( $p < 0,001$ ), у 1,16 рази значення для зразку №3 ДКМ ( $p < 0,001$ ), у 1,14 рази значення для зразку №5 ДКМ ( $p < 0,001$ ; (рис. 4.10; табл. 4.9).



Для зразків №1, №2, №3, №5 середні значення ЗЗР становили відповідно  $12,27 \pm 0,36$  мм,  $11,32 \pm 0,14$  мм,  $11,42 \pm 0,16$  мм,  $11,59 \pm 0,24$  мм. Ці значення також достовірно відрізнялись від негативного контролю ( $p < 0,001$ ). ЗЗР зразків №2, №3, №5 перевищували середні значення ЗЗР позитивного контролю (пов'язки Suprasorb® X + РНМВ), але достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ). Матеріал Suprasorb® X + РНМВ ефективно пригнічував ріст *P.aeruginosa* 27853: діаметр зон затримки росту в середньому складав  $10,97 \pm 0,22$  мм та у 1, 83 рази перевищував діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ). Друге місце за ефективністю посів зразок №1. Середні значення ЗЗР по відношенню до *P.aeruginosa* 27853 достовірно перевищували такі зразків №2 у 1,08 рази ( $p < 0,05$ ) та позитивного контролю – у 1,12 рази ( $p < 0,05$ ).

При вивченні чутливості клінічного штаму *P.aeruginosa* T-39 встановлено середні значення діаметрів зон затримки росту для зразків №1, №2, №3, №4, №5 відповідно  $11,18 \pm 0,47$  мм,  $11,15 \pm 0,35$  мм,  $11,08 \pm 0,4$  мм,  $11,30 \pm 0,39$  мм,  $10,98 \pm 0,31$  мм. Для позитивного контролю ПГМБ це значення становило  $9,22 \pm 0,26$  мм. Достовірні різниці значень між зразками з ДКМ та негативним ( $p < 0,001$ ) та позитивним ( $p < 0,01$ ) контролем виявили для всіх п'яти зразків з ДКМ (рис. 4.11; табл. 4. 10).



**Рис. 4.11.** Чутливість *P.aeruginosa* T-39 до антимікробних біоматеріалів ( $M \pm m$ ). Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов'язка Suprasorb® X + РНМВ – позитивний контроль.

Значення ЗЗР всіх п'яти зразків між собою достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ). Визначено наступну послідовність зразків з ДКМ за рейтингом ефективності щодо

штаму *P.aeruginosa* T-39 (від найбільш ефективного на основі середніх значень ЗЗР): №1 ДКМ > №2 ДКМ > №4 ДКМ > №3 ДКМ > №5 ДКМ.

Таблиця 4.10.

**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів зон затримки росту**

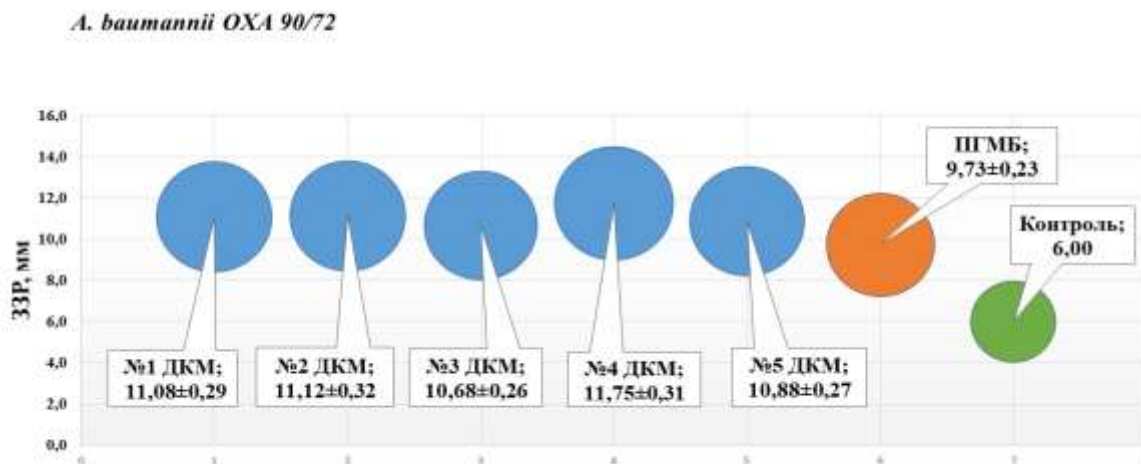
***P.aeruginosa* T-39 під впливом антимікробних біоматеріалів**

	№1 ДКМ	№2 ДКМ	№3 ДКМ	№4 ДКМ	№5 ДКМ	ПГМБ	Контроль
№1 ДКМ		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№2 ДКМ	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№3 ДКМ	>0,05	>0,05		>0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№4 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05		>0,05	<0,01	<0,001
№5 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05		<0,01	<0,001
ПГМБ	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01		<0,001
Контроль	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Матеріал Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB ефективно пригнічував ріст *P.aeruginosa* T-39: діаметр зон затримки росту у 1,54 рази перевищував діаметр негативного контролю (p < 0,001).

**Антимікробна дія біоматеріалів на штами ацинетобактерій.** Згідно даних дослідження зразки з ДКМ виявились майже рівноцінно ефективними по відношенню до *A.baumannii* OXA 90/72, оскільки їх середні значення ЗЗР достовірно не відрізнялись (p > 0,05) і становили 11,08±0,29 мм для зразку №1, 11,12±0,32 мм для №2, 10,68±0,26 мм для №3, 11,75±0,31 мм для №4, 10,88±0,27 мм для №5. Ранжування зразків з ДКМ за рейтингом ефективності на основі середніх значень ЗЗР провели у наступній послідовності: №4 ДКМ > №2 ДКМ > №1 ДКМ > №5 ДКМ > №3 ДКМ. Достовірні різниці значень між зразками з ДКМ та негативним та позитивним контролем виявили для всіх п'яти зразків з ДКМ. Кратність різниці з негативним контролем – 1,62- 1,95 рази, з позитивним контролем – 1,09-1,2 рази. Матеріал Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB ефективно пригнічував ріст *A.baumannii* OXA 90/72: діаметр

зон затримки росту в середньому складав  $9,73 \pm 0,23$  мм та у 1,62 рази перевищував діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ; рис. 4.12; табл. 4.11).



**Рис. 4.12.** Чутливість *A.baumannii* OXA 90/72 до антимікробних біоматеріалів ( $M \pm m$ ). Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов’язка Suprasorb® X + РНМВ – позитивний контроль.

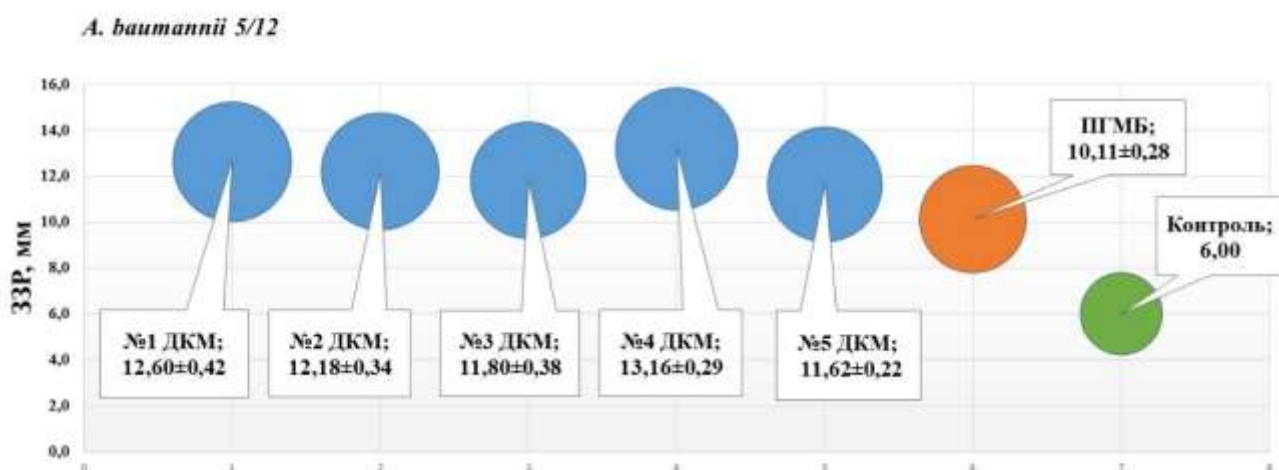
Таблиця 4.11.

**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів зон затримки росту *A.baumannii* OXA 90/72 під впливом антимікробних біоматеріалів**

	№1 ДКМ	№2 ДКМ	№3 ДКМ	№4 ДКМ	№5 ДКМ	ПГМБ	Контроль
№1 ДКМ		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№2 ДКМ	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№3 ДКМ	>0,05	>0,05		<0,05	>0,05	<0,05	<0,001
№4 ДКМ	>0,05	>0,05	<0,05		>0,05	<0,001	<0,001
№5 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05		<0,05	<0,001
ПГМБ	<0,01	<0,01	<0,05	<0,001	<0,05		<0,001
Контроль	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Як свідчать результати визначення ДЗЗР, найвище чутливість *A.baumannii* 5/12 виявили до зразка №4 -  $13,16 \pm 0,29$  мм. Ранжування зразків з ДКМ за рейтингом ефективності на основі середніх значень ЗЗР: №4 ДКМ > №1 ДКМ > №2 ДКМ > №3

ДКМ > №5 ДКМ. Достовірну різницю значень було виявлено тільки між значеннями для зразків №4 та №5 ( $p < 0,01$ ) із кратністю різниці – 1,13 рази на користь зразка №4, а також між №4 та №3 із кратністю різниці – 1,12 рази ( $p < 0,05$ ) на користь зразка №4 (рис. 4.13; табл. 4.12).



**Рис. 4.13.** Чутливість *A. baumannii* 5/12 до антимікробних біоматеріалів ( $M \pm m$ ). Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов’язка Suprasorb® X + PHMB – позитивний контроль.

Таблиця 4.12.

**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів зон затримки росту**

*A. baumannii* 5/12 під впливом антимікробних біоматеріалів

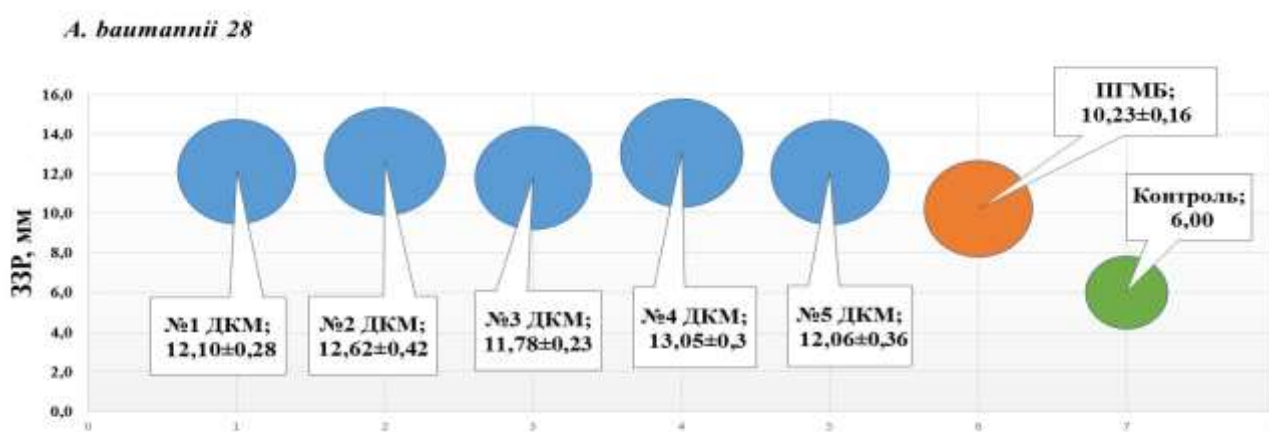
	№1 ДКМ	№2 ДКМ	№3 ДКМ	№4 ДКМ	№5 ДКМ	ПГМБ	Контроль
№1 ДКМ		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№2 ДКМ	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№3 ДКМ	>0,05	>0,05		<0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№4 ДКМ	>0,05	>0,05	<0,05		<0,01	<0,001	<0,001
№5 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01		<0,01	<0,001
ПГМБ	<0,01	<0,01	<0,01	<0,001	<0,01		<0,001
Контроль	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

ЗЗР для зразків №1, №2, №3, №5 становили відповідно 12,60±0,42 мм, 12,18±0,34 мм, 11,80±0,38 мм, 11,62±0,22 мм. Всі значення (+№4) достовірно



відрізнялись від таких у позитивного контролю та діаметру негативного контролю. Кратність різниці була в межах – 1,14-1,3 для позитивного, 1,68-2,19 – для негативного. Для матеріалу Suprasorb® X + PHMB діаметр зон затримки росту в середньому складав  $10,11 \pm 0,28$  мм та у 1,69 рази перевищував діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ).

Ранжування ефективності зразків біоматеріалів із ДКМ щодо клінічного штаму *A.baumannii* 28, починаючи від найбільш ефективного за середнім значенням ЗЗР має вигляд: №4 ДКМ > №2 ДКМ > №1 ДКМ > №5 ДКМ > №3 ДКМ (рис.4.14).



**Рис. 4.14.** Чутливість *A.baumannii* 28 до антимікробних біоматеріалів ( $M \pm m$ ). Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов’язка Suprasorb® X + PHMB – позитивний контроль.

Значення ЗЗР всіх зразків достовірно відрізнялись від позитивного та негативного контролів: кратність різниці була в межах – 1,15-1,28 разів для позитивного, 1,7-2,17 разів – для негативного контролів. Перше місце за ефективністю було визначено для зразка №4. ЗЗР в середньому становили  $13,05 \pm 0,3$  мм. Для зразків №1, №2, №3, №5 середні ЗЗР визначено відповідно  $12,10 \pm 0,28$  мм,  $12,62 \pm 0,42$  мм,  $11,78 \pm 0,23$  мм,  $12,06 \pm 0,36$  мм. Тут було встановлено схожу тенденцію, яку спостерігали для деяких штамів псевдомонад та ацинетобактерій, коли між зразками із ДКМ в основному не було виявлено достовірної різниці значень ( $p > 0,05$ ). Достовірну різницю середніх ЗЗР було визначено тільки між зразками №4 та №3 із кратністю 1,11 рази на користь №4. Матеріал Suprasorb® X + PHMB ефективно пригнічував ріст *A.baumannii* 28: діаметр зон затримки росту в середньому складав

10,23±0,16 мм та у 1,71 рази перевищував діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ) (табл. 4.13).

Таблиця 4.13.

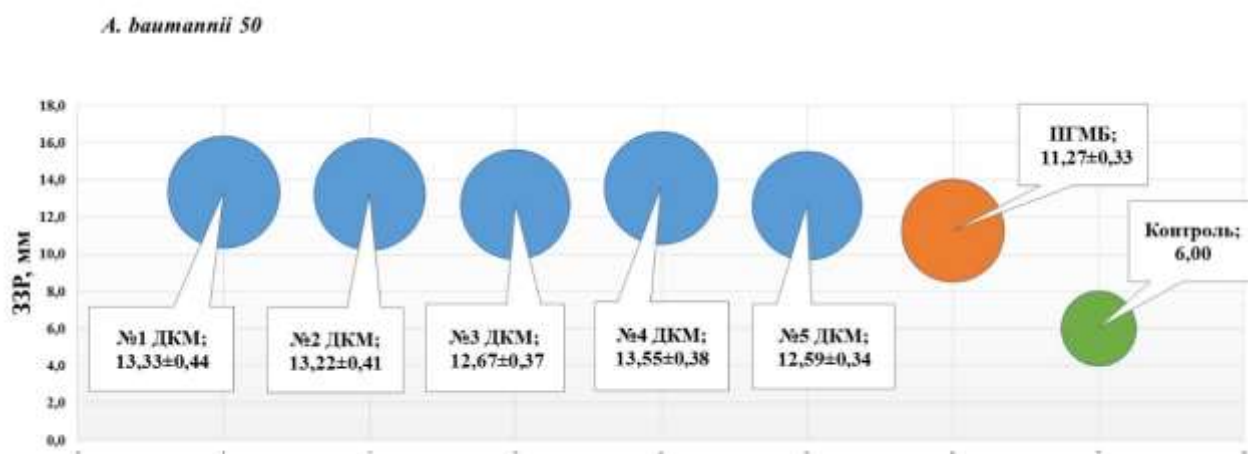
**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів зон затримки росту**

***A.baumannii* 28 під впливом антимікробних біоматеріалів**

	№1 ДКМ	№2 ДКМ	№3 ДКМ	№4 ДКМ	№5 ДКМ	ПГМБ	Контроль
№1 ДКМ		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
№2 ДКМ	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
№3 ДКМ	>0,05	>0,05		<0,05	>0,05	<0,001	<0,001
№4 ДКМ	>0,05	>0,05	<0,05		>0,05	<0,001	<0,001
№5 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05		<0,01	<0,001
ПГМБ	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01		<0,001
Контроль	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Схожу тенденцію спостерігали для штаму *A.baumannii* 50: середні значення ЗЗР зразків із ДКМ достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ). Ранжування ефективності зразків біоматеріалів із ДКМ щодо *A.baumannii* 50 представлено у вигляді шкали, починаючи від найбільш ефективного за середнім значенням ЗЗР:

№4 ДКМ > №1 ДКМ > №2 ДКМ > №3 ДКМ > №5 ДКМ (рис. 4.15).



**Рис. 4.15.** Чутливість *A.baumannii* 50 до антимікробних біоматеріалів ( $M \pm m$ ).

Зеленим показано негативний контроль. ПГМБ – пов'язка Suprasorb® X + PHMB – позитивний контроль.

Числові значення середніх діаметрів ЗЗР для зразків №1-5 відповідно становили  $13,33 \pm 0,44$  мм,  $13,22 \pm 0,41$  мм,  $12,67 \pm 0,37$  мм,  $13,55 \pm 0,38$  мм,  $12,59 \pm 0,34$  мм, достовірно відрізнялись (були ефективнішими) від середніх ЗЗР позитивного контролю та відрізнялись від діаметру (6 мм) негативного контролю, кратність різниці відповідно була в межах 1,11-1,2 рази, 2,1-2,26 рази (табл. 4.14).

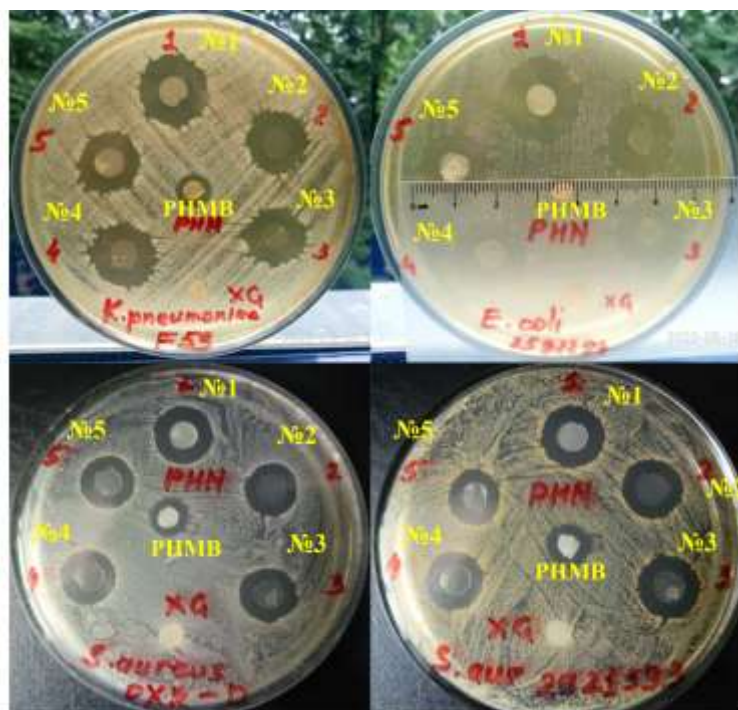
Таблиця 4.14.

**Матриця достовірностей різниці середніх значень діаметрів ЗЗР *A.baumannii* 50 під впливом антимікробних біоматеріалів**

	№1 ДКМ	№2 ДКМ	№3 ДКМ	№4 ДКМ	№5 ДКМ	ПГМБ	Контроль
№1 ДКМ		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№2 ДКМ	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,001
№3 ДКМ	>0,05	>0,05		>0,05	>0,05	<0,05	<0,001
№4 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05		>0,05	<0,01	<0,001
№5 ДКМ	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05		<0,05	<0,001
ПГМБ	<0,01	<0,01	<0,05	<0,01	<0,05		<0,001
Контроль	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Встановлено, що пов'язка Suprasorb<sup>®</sup> X + РНМВ ефективно пригнічувала ріст *A.baumannii* 50: діаметр зон затримки росту в середньому складав  $11,27 \pm 0,33$  мм та у 1,88 рази перевищував діаметр негативного контролю ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, за результатами порівняльного дослідження п'яти зразків біоматеріалів із ДКМ, було відібрано для подальших розробок та досліджень три склади, які було визначено найбільш ефективними щодо досліджених тест-штамів мікроорганізмів. Це зразки №1 (0,05% ДКМ), №2 (0,05% ДКМ) та №4 (0,1% ДКМ), які в подальшому будуть позначатись №1, №2, №3 (рис. 4.16).



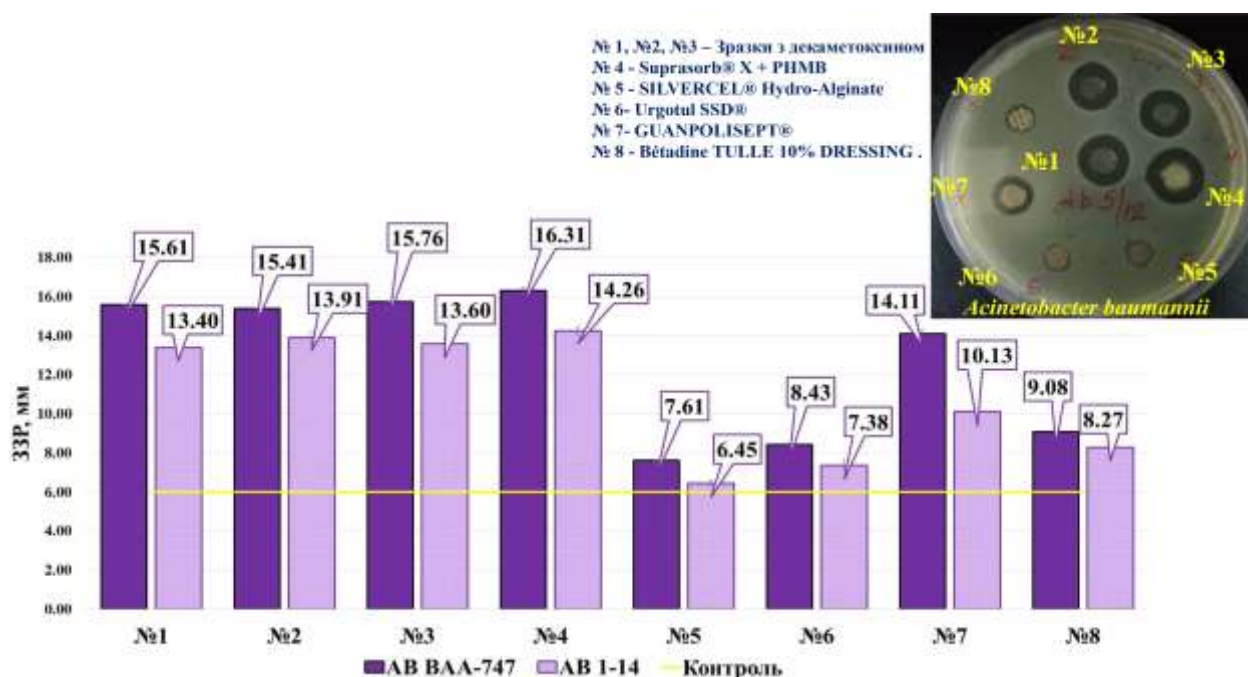
**Рис. 4.16.** Зони затримки росту навколо зразків біоматеріалів. XG (Xenograft) – негативний контроль, ПГМБ (Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB) – позитивний контроль, №1-5 – зразки біоматеріалів з ДКМ.

### **4.3. Порівняльне дослідження антимікробних властивостей розроблених біоматеріалів з декаметоксином та комерційно доступних ранових покриттів на основі антисептиків**

У дослідженні використовували наступні біоматеріали (розроблені біоматеріали з ДКМ та комерційно доступні ранові пов'язки із вмістом антисептиків), які позначали відповідними номерами: №1 Декаметоксин (0,05% ДКМ), №2 Декаметоксин (0,05% ДКМ), №3 Декаметоксин (0,1% ДКМ), №4 - Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB (Lohmann&Rauscher GmbH; USA), №5 - SILVERCEL<sup>®</sup> Hydro-Alginate (Systagenix; UK), №6- Urgotul SSD<sup>®</sup> (Urgo Medical; France), №7- GUANPOLISEPT<sup>®</sup> (RIVS; UA), №8 - Bétadine TULLE 10% DRESSING (MEDA PHARMA; France). Антибактеріальну активність ранових покриттів вивчали за допомогою методу дифузії в агар.

*Дослідження антимікробних властивостей біоматеріалів по відношенню до референтного та клінічних штамів A.baumannii.* В результаті дослідження активності біоматеріалів щодо референтного та клінічних штамів *A. baumannii* було

виявлено високі антимікробні властивості матеріалів на основі ДКМ та комерційно доступних ранових покриттів (рис. 4.17).



**Рис. 4.17.** Ефективність антимікробних біоматеріалів проти референтного (*ATCC VAA-747*) та клінічних ( $n=14$ ) штамів *Acinetobacter baumannii* -**AB** (середні значення діаметрів зон затримки росту, мм). Справа - фото ЗЗР тестованого штаму (диско-дифузійний метод). Жовта лінія - межа негативного контролю – 6 мм.

Найвищу активність щодо референтного та клінічних штамів *A.baumannii* проявили пов'язка Suprasorb® (№4), Guanpolisept®(№7) та №1-3 ДКМ зразки з ДКМ. Для референтного штаму середні ЗЗР відповідно були  $16,31 \pm 0,15$  мм (№4),  $14,11 \pm 0,21$  мм (№7),  $15,61 \pm 0,22$  мм (№1),  $15,41 \pm 0,18$  мм (№2),  $15,76 \pm 0,32$  мм (№3), а для клінічних – в середньому  $14,26 \pm 0,2$  мм (№4),  $10,13 \pm 0,27$  мм (№7),  $13,4 \pm 0,44$  мм (№1),  $13,91 \pm 0,28$  мм (№2),  $13,6 \pm 0,3$  мм (№3). Значення ЗЗР для цих біоматеріалів щодо референтних та щодо клінічних штамів відрізнялись з високою достовірністю ( $p < 0,001$ ). Кратність різниці значень між референтними та клінічними штамами – 1,14 рази для №4, 1,93 рази для №7, 1,17 рази для №1, 1,11 рази для №2, 1,16 рази для №3.

Менш ефективними проти *A.baumannii* були пов'язки №8 - Bétadine® (ЗЗР для референтного штаму –  $9,08 \pm 0,13$  мм, для клінічних –  $8,27 \pm 0,27$  мм), № 6- Urgotul® (ЗЗР для референтного штаму –  $8,43 \pm 0,14$  мм, для клінічних -  $7,38 \pm 0,28$  мм) та №5 -

Silvercel® (ЗЗР для референтного штаму –  $7,61 \pm 0,2$  мм, для клінічних –  $6,45 \pm 0,16$  мм). Кратність відношення середніх значень ЗЗР щодо референтних та клінічних штамів – 1,1 рази ( $p < 0,05$ ), 1,14 рази ( $p < 0,01$ ) та 1,18 рази ( $p < 0,001$ ) відповідно.

Рейтингова шкала ефективності біоматеріалів щодо референтного штаму *A.baumannii* ВАА-747 (від найбільш активного):

**№ 4** - Suprasorb® > **№3** ДКМ > **№ 1** ДКМ > **№2** ДКМ > **№7**- Guanpolisept® > **№8** - Bétadine® > **№ 6**- Urgotul® > **№5** - Silvercel®.

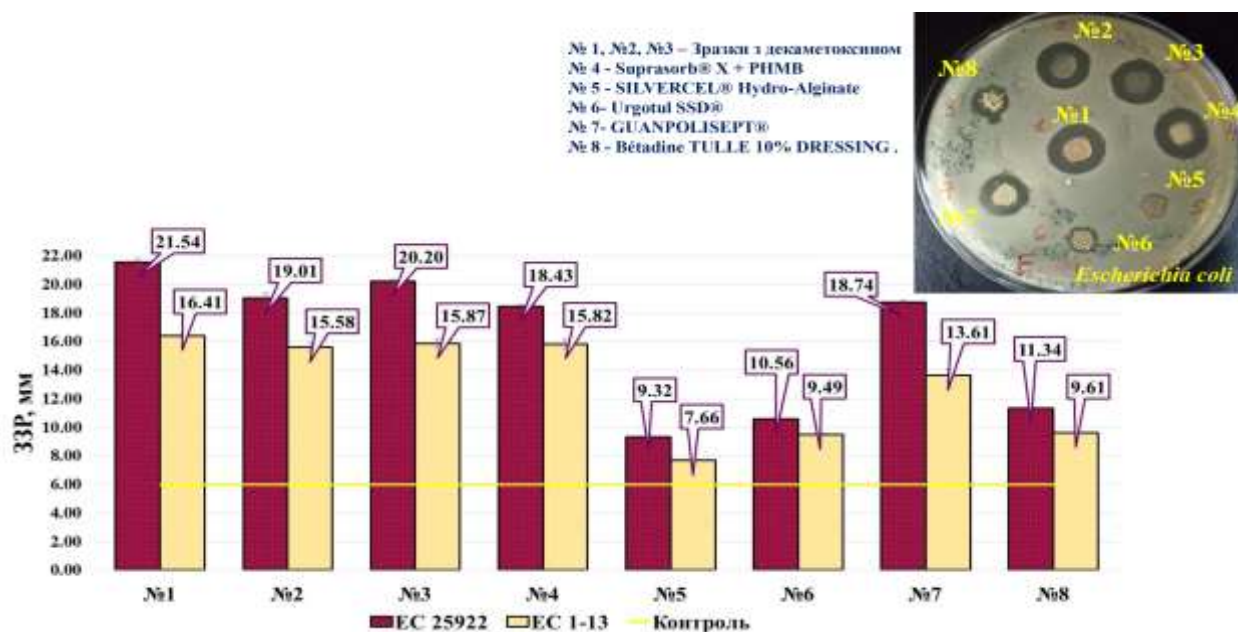
Біоматеріали за своєю ефективністю щодо клінічних штамів *A.baumannii* (на основі середніх ЗЗР) розподілились наступним чином (від найбільш ефективного):

**№ 4** - Suprasorb® > **№2** ДКМ > **№ 3** ДКМ > **№1** ДКМ > **№7**- Guanpolisept® > **№8** - Bétadine® > **№ 6**- Urgotul® > **№5** - Silvercel®

Значення ЗЗР Suprasorb® та зразків з ДКМ №1-3 щодо клінічних штамів достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ), і, таким чином, були рівноцінно ефективними. Suprasorb® діяв ефективніше, ніж Guanpolisept® у 1,41 рази ( $p < 0,001$ ), ніж Bétadine® - у 1,73 рази ( $p < 0,001$ ), ніж Urgotul® - у 1,93 рази ( $p < 0,001$ ), ніж Silvercel® - у 2,21 рази ( $p < 0,001$ ). Так як три зразки ДКМ за ефективністю були рівноцінними, порівняння буде на прикладі зразка №2 ДКМ: він діяв ефективніше, ніж Guanpolisept® у 1,37 рази ( $p < 0,001$ ), ніж Bétadine® - у 1,68 рази ( $p < 0,001$ ), ніж Urgotul® - у 1,89 рази ( $p < 0,001$ ), ніж Silvercel® - у 2,16 рази ( $p < 0,001$ ). Guanpolisept® був ефективнішим за Bétadine® у 1,23 рази ( $p < 0,001$ ), за Urgotul® - у 1,37 рази ( $p < 0,001$ ), за Silvercel® - у 1,57 рази ( $p < 0,001$ ). Біоматеріал (пов'язка) Bétadine® у 1,12 рази був більш дієвим, ніж Urgotul® ( $p < 0,05$ ) та у 1,28 рази, ніж Silvercel® ( $p < 0,001$ ).

**Дослідження антимікробних властивостей біоматеріалів щодо референтного та клінічних штамів *E.coli*.** Середні значення ЗЗР навколо досліджуваних біоматеріалів по відношенню до референтного штаму *E.coli* ATCC 25922 становили  $21,54 \pm 0,23$  мм для №1 ДКМ,  $19,01 \pm 0,33$  мм для №2 ДКМ,  $20,2 \pm 0,14$  мм для №3 ДКМ,  $18,43 \pm 0,13$  мм для № 4 - Suprasorb®,  $9,32 \pm 0,12$  мм для №5 - Silvercel®,  $10,56 \pm 0,18$  мм для № 6- Urgotul®,  $18,74 \pm 0,12$  мм для №7- Guanpolisept®,

11,34±0,24 мм для №8 - Bétadine®. Клінічні штами проявляли більшу толерантність щодо антимікробних біоматеріалів. Середні значення ЗЗР для клінічних штамів *E.coli* становили 16,41±0,16 мм для №1 ДКМ, 15,58±0,25 мм для №2 ДКМ, 15,87±0,29 мм для №3 ДКМ, 15,82±0,31 мм для № 4 - Suprasorb®, 7,66±0,27 мм для №5 - Silvercel®, 9,49±0,18 мм для № 6- Urgotul®, 13,61±0,43 мм для №7- Guanpolisept®, 9,61±0,44 мм для №8 - Bétadine® (рис. 4.18).



**Рис. 4.18.** Ефективність антимікробних біоматеріалів щодо референтного (*ATCC 25922*) та клінічних (n=13) штамів *E.coli* – ЕС (середні значення діаметрів зон затримки росту, мм). Справа - фото ЗЗР досліджуваного штаму (диско-дифузійний метод). Жовта лінія - межа негативного контролю – 6 мм.

Різниця середніх значень ЗЗР-референтного/ЗЗР-клінічних була достовірною для всіх біоматеріалів ( $p < 0,001$ ), а кратність різниці значень становила відповідно – 1,31 рази для №1, 1,22 рази для №2, 1,27 рази для №3, 1,17 рази для №4, 1,22 рази для №5, 1,11 рази для №6, 1,38 рази для №7, 1,18 рази для №8.

Рейтинг ефективності біоматеріалів щодо референтного штаму *E.coli ATCC 25922* на основі середніх значень ЗЗР (від найбільш дієвого) був таким (рис. 4.18):  
**№1 ДКМ > № 3ДКМ > №2 ДКМ >> №7- Guanpolisept® № 4 - Suprasorb® > №8 - Bétadine® > № 6- Urgotul® > №5 - Silvercel®**

Ефективність біоматеріалів щодо клінічних штамів *E.coli* на основі порівняльного аналізу середніх значень ЗЗР (від найбільш дієвого) представлена за рейтингом: №1 ДКМ > № 3ДКМ >№ 4 - Suprasorb®>№2 ДКМ> №7- Guanpolisept®> №8 - Bétadine®>№ 6- Urgotul®>№5 - Silvercel®

Найсильнішу дію на клінічні штами мікроорганізмів проявили біоматеріали з ДКМ №1-3 та № 4 - Suprasorb®. На першому місці за ефективністю був зразок із ДКМ №1. Він подіяв у 1,05 разів ефективніше зразка №2 ДКМ ( $p < 0,01$ ), у 2,14 разів ефективніше, ніж №5 - Silvercel® ( $p < 0,001$ ), у 1,73 рази краще за № 6- Urgotul® ( $p < 0,001$ ), у 1,21 рази – за №7- Guanpolisept® ( $p < 0,001$ ) та у 1,71 рази – за №8 - Bétadine® ( $p < 0,001$ ). Значення ДКМ №1, ДКМ №3 та № 4 - Suprasorb® достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ), тобто були рівноцінно ефективними.

Зразок №2 ДКМ був у 2,03 рази активнішим за №5 ( $p < 0,001$ ), у 1,64 рази – за №6 ( $p < 0,001$ ), у 1,15 рази – за №7 ( $p < 0,001$ ), у 1,62 рази – за №8 ( $p < 0,001$ ). Зразок №3 ДКМ був у 2,07 рази активнішим за №5 ( $p < 0,001$ ), у 1,67 рази – за №6 ( $p < 0,001$ ), у 1,17 рази – за №7 ( $p < 0,001$ ), у 1,65 рази – за №8 ( $p < 0,001$ ). Зразок № 4 - Suprasorb®, дуже подібно до зразку №3 ДКМ, був приблизно у 2,07 рази активнішим за №5 ( $p < 0,001$ ), у 1,67 рази – за №6 ( $p < 0,001$ ), у 1,16 рази – за №7 ( $p < 0,001$ ), у 1,65 рази – за №8 ( $p < 0,001$ ).

Середній рівень активності показав зразок №7- Guanpolisept®. Він проявив високу ефективність щодо референтного штаму *E.coli*, і за рейтингом ефективності щодо референтного штаму був би на четвертому місці. Але клінічні штами проявили більшу толерантність до цього біоматеріалу. Проте Guanpolisept® виявився ефективнішим за №5 - Silvercel® у 1,78 рази ( $p < 0,001$ ), за № 6- Urgotul® у 1,44 рази ( $p < 0,001$ ), за №8 - Bétadine® у 1,42 рази ( $p < 0,001$ ).

Наступним за активністю був біоматеріал №8 - Bétadine®. Його дія достовірно ( $p < 0,001$ ) була ефективнішою за таку №5 - Silvercel® у 1,26 рази, але значення у порівнянні із біоматеріалом № 6- Urgotul® достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ). Серед срібло-вмісних біоматеріалів більш дієвим показав себе №6- Urgotul®, у 1,24 рази переважаючи за ефективністю №5 - Silvercel® ( $p < 0,001$ ).



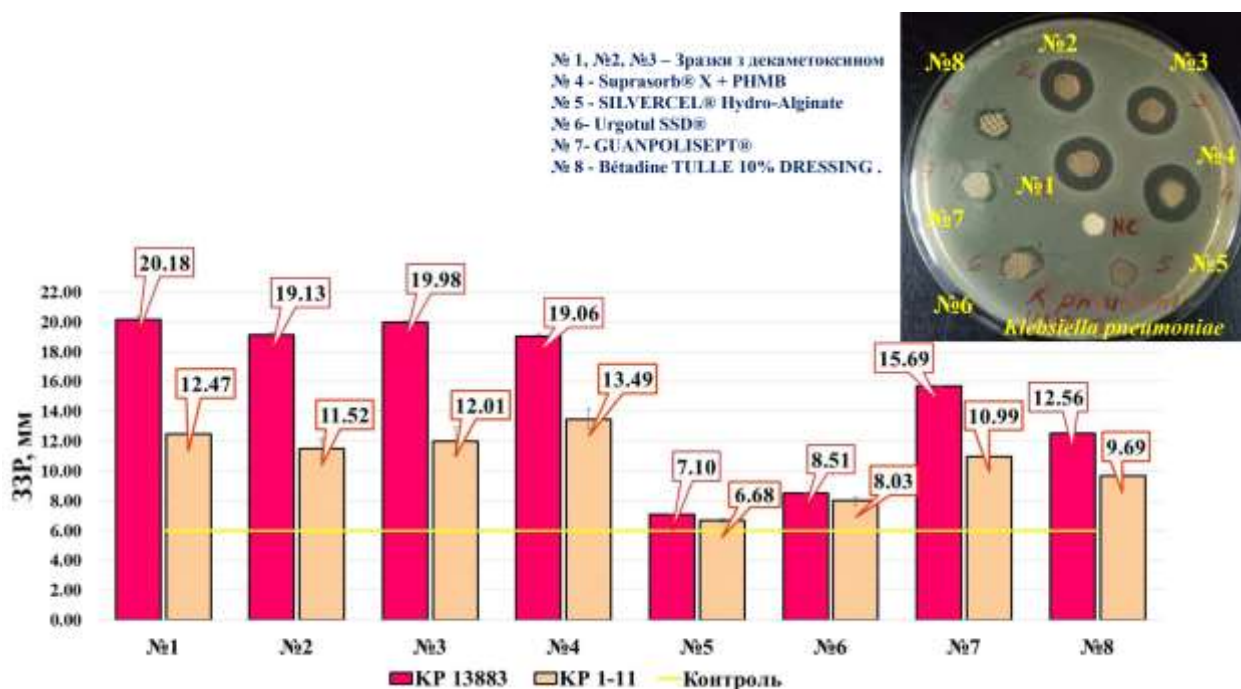
*Дослідження антимікробних властивостей біоматеріалів щодо референтного та клінічних штамів K.pneumoniae.* Референтний штам *K.pneumoniae* ATCC 700603 виявся найбільш чутливим до Suprasorb® (№4), Guanpolisept®(№7), Bétadine® (№8) та зразків з ДКМ №1-3. Серед них найбільш ефективною було визначено дію зразків з ДКМ №1 та №2 (рис. 4.19). Зони затримки росту навколо ДКМ №1 та ДКМ №2 перевищували такі навколо срібло-вмісних матеріалів (№5 та №6) у 2,34-2,84 рази ( $p < 0,001$ ). Пов'язки на основі ПГМБ Suprasorb® та Guanpolisept® були ефективніші за срібло-вмісні у 2,24-2,68 ( $p < 0,001$ ) та у 1,84-2,21 разів ( $p < 0,001$ ) відповідно. Чутливість *K.pneumoniae* ATCC 700603 до біоматеріалу із повідон-йодом була вищою, в порівнянні із чутливістю до срібло-вмісних у 1,48-1,8 рази ( $p < 0,001$ ). Діаметри зон затримки росту по відношенню до референтного штаму *K.pneumoniae* ATCC 13883 становили в середньому  $20,18 \pm 0,22$  мм для №1 ДКМ,  $19,13 \pm 0,19$  мм для №2 ДКМ,  $19,98 \pm 0,1$  мм для №3 ДКМ,  $19,06 \pm 0,18$  мм для № 4 - Suprasorb®,  $7,10 \pm 0,12$  мм для №5 - Silvercel®,  $8,51 \pm 0,14$  мм для №6- Urgotul®,  $15,69 \pm 0,21$  мм для №7- Guanpolisept®,  $12,56 \pm 0,26$  мм для №8 - Bétadine®.

Таким чином, на основі середніх ЗЗР *K.pneumoniae* ATCC 700603 встановлено наступну активність біоматеріалів (від найбільш ефективного):

**№1ДКМ > №3ДКМ > №2ДКМ > №4-Suprasorb® > №7-Guanpolisept® > №8-Bétadine® > №6-Urgotul® > №5-Silvercel®.**

Клінічні штами виявились набагато толерантнішими, але тенденція прояву чутливості *K.pneumoniae* до певних біоматеріалів прослідковувалась і у клінічних ізолятів. Найбільш активно проявили антимікробні властивості Suprasorb® та зразки з ДКМ. Діаметри ЗЗР клінічних штамів навколо біоматеріалів становили в середньому  $12,47 \pm 0,29$  мм для №1 ДКМ,  $11,52 \pm 0,39$  мм для №2 ДКМ,  $12,01 \pm 0,41$  мм для №3 ДКМ,  $13,49 \pm 0,47$  мм для № 4 - Suprasorb®,  $6,68 \pm 0,13$  мм для №5 - Silvercel®,  $8,03 \pm 0,28$  мм для № 6- Urgotul®,  $10,99 \pm 0,45$  мм для №7- Guanpolisept®,  $9,69 \pm 0,27$  мм для №8 - Bétadine®. Середні значення ЗЗР щодо референтних та клінічних штамів достовірно відрізнялись для всіх біоматеріалів ( $p < 0,001$ ), крім №6- Urgotul® ( $p > 0,05$ ). Кратність різниці ЗЗР-референтного/ЗЗР-клінічних становила 1,61 рази для №1, 1,66 рази для

№2, 1,66 рази для №3, 1,41 рази для №4, 1,06 рази для №5, 1,43 рази для №7, 1,3 рази для №8 (рис. 4.19).



**Рис. 4.19.** Ефективність антимікробних біоматеріалів проти референтного (*ATCC 700603*) та клінічних ( $n=11$ ) штамів *K.pneumoniae* – *KP* (середні значення діаметрів зон затримки росту, мм). Справа - фото ЗЗР досліджуваного штаму (дискодифузійний метод). Жовта лінія - межа негативного контролю – 6 мм.

Рейтинг ефективності біоматеріалів щодо клінічних штамів *K.pneumoniae* на основі середніх значень ЗЗР (від найбільш дієвого) був таким:

**№4** - Suprasorb® > **№1** ДКМ > **№3** ЗДКМ > **№2** ДКМ > **№7**- Guanpolisept® > **№8** - Bétadine® > **№6**- Urgotul® > **№5** - Silvercel®

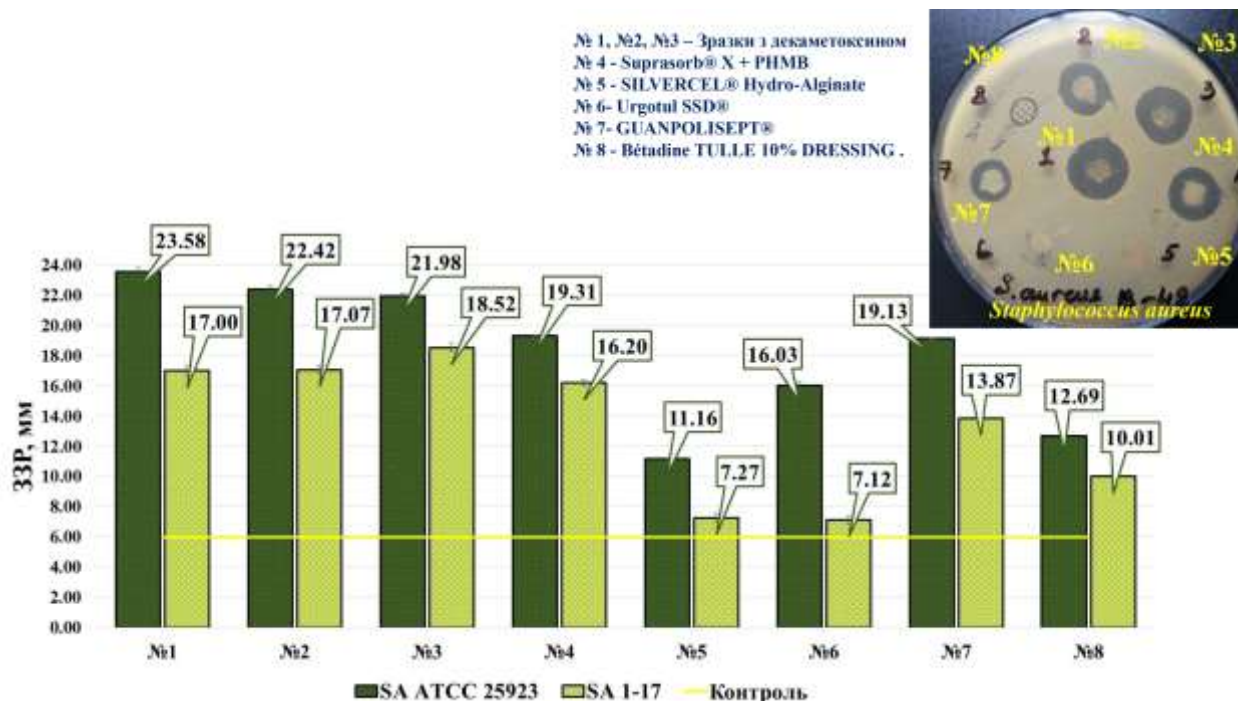
Найбільш активним біоматеріалом на основі даних ЗЗР було визначено біоматеріал №4 - Suprasorb®, але його середні значення ЗЗР достовірно не відрізнялись від таких у біоматеріалів на основі ДКМ №1, №2 та №3 ( $p > 0,05$ ), тому їх ефективність слід вважати рівноцінною. Suprasorb® у 1,23 рази був ефективнішим за Guanpolisept® ( $p < 0,05$ ), у 1,39 рази - за Bétadine® ( $p < 0,001$ ), у 1,68 рази - за Urgotul® ( $p < 0,001$ ), у 2,02 рази - за Silvercel® ( $p < 0,001$ ). Біоматеріал №1 ДКМ у 1,29 рази був ефективнішим за Bétadine® ( $p < 0,01$ ), у 1,55 рази - за Urgotul® ( $p < 0,001$ ), у 1,87 рази - за Silvercel® ( $p < 0,001$ ). Біоматеріал №2 ДКМ у 1,19 рази був

ефективнішим за Bétadine® ( $p < 0,05$ ), у 1,44 рази - за Urgotul® ( $p < 0,001$ ), у 1,73 рази - за Silvercel® ( $p < 0,001$ ). Біоматеріал №3 ДКМ у 1,24 рази був ефективнішим за Bétadine® ( $p < 0,05$ ), у 1,5 рази - за Urgotul® ( $p < 0,001$ ), у 1,8 рази - за Silvercel® ( $p < 0,001$ ). Середні значення ЗЗР для №7- Guanpolisept® та №8 - Bétadine® достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ). Guanpolisept® проявив вищу активність, ніж №6- Urgotul® у 1,37 рази ( $p < 0,001$ ) та ніж №5 - Silvercel® - у 1,65 рази ( $p < 0,001$ ). Активність біоматеріалу Bétadine® була вищою за таку № 6- Urgotul® у 1,21 рази ( $p < 0,001$ ) та №5 - Silvercel® у 1,45 рази ( $p < 0,001$ ). Серед срібло-вмісних біоматеріалів більш дієвим був №6- Urgotul®, у 1,2 рази переважаючи за ефективністю №5 - Silvercel® ( $p < 0,001$ ).

**Дослідження антимікробних властивостей біоматеріалів по відношенню до референтного та клінічних штамів *S.aureus*.** Було виявлено високі антимікробні властивості матеріалів на основі ДКМ та комерційно доступних ранових покриттів проти стафілококів.

По відношенню до *S.aureus* ATCC 25923 встановлено значно вищу антимікробну активність дослідних зразків біоматеріалів з ДКМ у порівнянні з срібло- та йод-вмісними антимікробними рановими покриттями в 1,97-2,11 та 1,73-1,86 рази відповідно. Подібною антимікробною активністю щодо референтного штаму золотистого стафілокока володіли усі дослідні зразки з ДКМ та ранові покриття Suprasorb® (19,31±0,17 мм), Guanpolisept® (19,13±0,12 мм), які містили в складі антисептик ПГМБ. Щодо референтного штаму *S.aureus* ATCC 25923, середні значення ЗЗР становили 23,58±0,26 мм, 22,42±0,19 мм та 21,98±0,18 мм для біоматеріалів з ДКМ №1, №2 та №3 відповідно, 19,31±0,17 мм для № 4 - Suprasorb®, 11,16±0,11 мм для №5 - Silvercel®, 16,03±0,25 мм для №6- Urgotul®, 19,13±0,12 мм для №7- Guanpolisept®, 12,69±0,1мм для №8 - Bétadine®. Так, за антимікробною ефективністю (на основі середніх ЗЗР) щодо *S.aureus* ATCC 25923 встановлено наступну активність біоматеріалів (від найбільш ефективного): №1ДКМ > №2ДКМ > №3ДКМ > №4-Suprasorb® > №7-Guanpolisept® > №6-Urgotul® > №8-Bétadine® > №5-Silvercel®. Що стосується клінічних ізолятів *S.aureus*, середні значення ЗЗР становили 17,00±0,33 мм, 17,07±0,28 мм та 18,52±0,27 мм для біоматеріалів з ДКМ

№1, №2 та №3 відповідно,  $16,2 \pm 0,23$  мм для №4 - Suprasorb®,  $7,27 \pm 0,27$  мм для №5 - Silvercel®,  $7,12 \pm 0,28$  мм для №6- Urgotul®,  $13,87 \pm 0,18$  мм для №7- Guanpolisept®,  $10,01 \pm 0,14$  мм для №8 - Bétadine® (рис. 4.20).



**Рис. 4.20.** Ефективність антимікробних біоматеріалів проти референтного (ATCC 25923) та клінічних (n=17) штамів *S.aureus* - SA (Середні значення діаметрів зон затримки росту, мм). Справа - фото ЗЗР тестованого штаму (диско-дифузійний метод). Жовта лінія - межа негативного контролю – 6 мм.

Середні значення ЗЗР щодо референтних та клінічних штамів достовірно відрізнялись для всіх біоматеріалів ( $p < 0,001$ ). Кратність різниці ЗЗР-референтного/ЗЗР-клінічних становила 1,39 рази для №1, 1,31 рази для №2, 1,19 рази для №3, 1,19 рази для №4, 1,54 рази для №5, 2,25 рази для №6, 1,38 рази для №7, 1,27 рази для №8.

Ранжування ефективності антимікробних біоматеріалів на основі антисептиків з подальшим порівняльним аналізом представлено за рейтингом ефективності щодо клінічних штамів *S.aureus* на основі середніх значень ЗЗР (від найбільш дієвого): №3 ДКМ > №2 ДКМ > №1 ДКМ > №4 - Suprasorb® > №7- Guanpolisept® > №8 - Bétadine® > №5 - Silvercel® > №6- Urgotul®

Найвищу антистафілококову активність було виявлено для біоматеріалу з ДКМ №3. Середні ЗЗР клінічних штамів *S.aureus* навколо цього зразку достовірно були більшими, на відміну від №2 ДКМ у 1,09 рази ( $p < 0.001$ ), від №1 ДКМ у 1.1 рази ( $p < 0.01$ ), від №4 - Suprasorb® у 1,14 рази ( $p < 0,001$ ), від №5 - Silvercel® у 2,55 рази ( $p < 0,001$ ), від №6- Urgotul® у 2,6 рази ( $p < 0,001$ ), №7- Guanpolisept® у 1,34 рази, від №8 - Bétadine® у 1,85 рази ( $p < 0,001$ ).

Наступним за ефективністю був зразок з ДКМ №2. Середні значення діаметрів ЗЗР клінічних штамів *S.aureus* навколо цього зразку достовірно були більшими на відміну від №4 - Suprasorb® у 1,05 рази ( $p < 0,05$ ), від №5 - Silvercel® у 2,35 рази ( $p < 0,001$ ), від №6- Urgotul® у 2,4 рази ( $p < 0,001$ ), №7- Guanpolisept® у 1,23 рази, від №8 - Bétadine® у 1,71 рази ( $p < 0,001$ ). Зразок №1 ДКМ був у 2,34 рази ефективнішим за №5 - Silvercel® ( $p < 0,001$ ), у 2,4 рази за №6- Urgotul® ( $p < 0,001$ ), у 1,23 рази за №7- Guanpolisept® ( $p < 0,001$ ), у 1,7 рази за №8 - Bétadine® ( $p < 0,001$ ).

Антистафілококова дія біоматеріалу Suprasorb® у 2,23 рази перевищувала таку Silvercel®, у 2,28 рази - Urgotul®, у 1,17 рази - Guanpolisept®, у 1,62 рази - Bétadine®. Різниця значень була достовірною ( $p < 0,001$ ). Guanpolisept® достовірно ( $p < 0,001$ ) був ефективнішим за Silvercel® у 1,91 рази, за Urgotul® – у 1,95 рази, за Bétadine® - у 1,39 рази. Bétadine® достовірно ( $p < 0,001$ ) був активнішим щодо клінічних штамів *S.aureus* ніж Silvercel® у 1,38 рази, ніж Urgotul® – у 1,41 рази. Значення для Silvercel® та Urgotul® достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ).

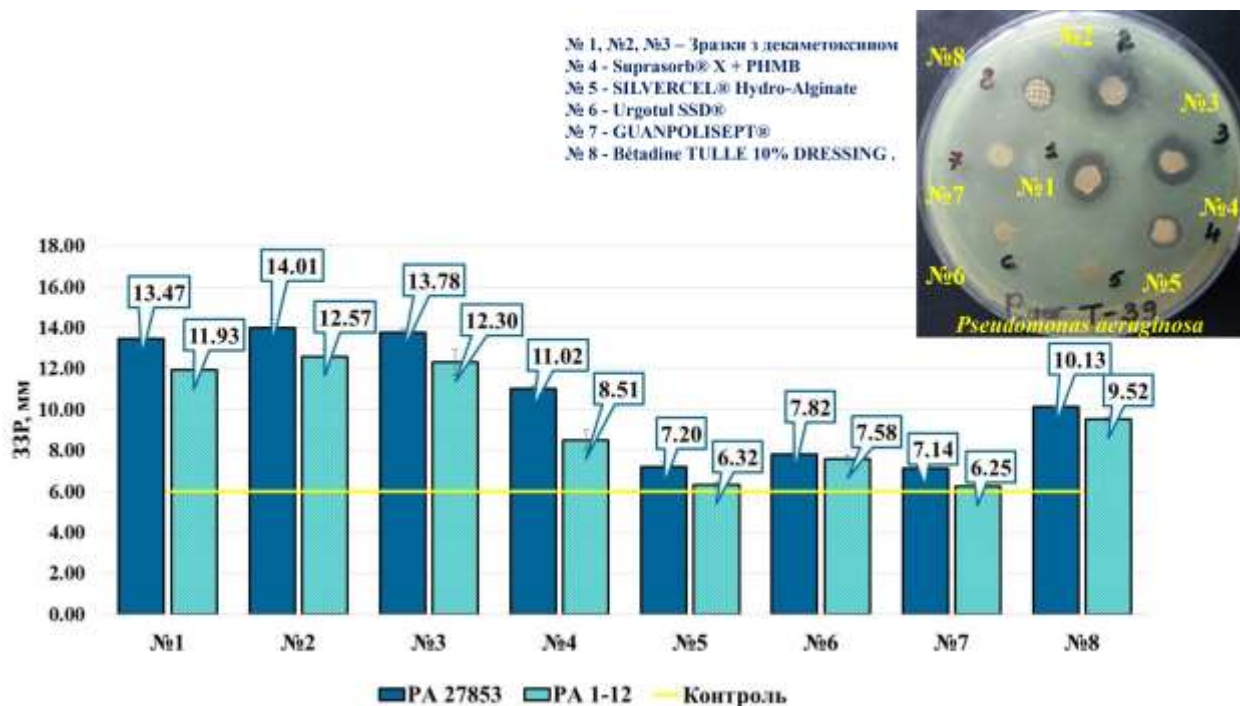
Таким чином найвищою антистафілококовою активністю володіли біоматеріали на основі ДКМ №1, №2, №3, Suprasorb®, Guanpolisept® та Bétadine®.

**Дослідження антимікробних властивостей біоматеріалів щодо референтного та клінічних штамів *P.aeruginosa*.** Найменші зони затримки росту спостерігали для *P.aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* є найбільш стійким до антимікробних препаратів рановим патогеном. Референтні штами володіють природною, а клінічні – природною та набутою резистентністю до біоцидів [194-196].

Зразки із ДКМ №1-3 виявилися найбільш ефективними щодо референтних та клінічних штамів *P.aeruginosa*, їх середні значення ЗЗР між собою достовірно не

відрізнялись ( $p > 0,05$ ), і ефективність була рівноцінною, а достовірності різниці значень з іншими біоматеріалами були однаково високими ( $p < 0,001$ ).

Діаметри зон затримки росту по відношенню до референтного штаму *P.aeruginosa* ATCC 27853 становили в середньому  $13,47 \pm 0,28$  мм для №1 ДКМ,  $14,01 \pm 0,36$  мм для №2 ДКМ,  $13,78 \pm 0,19$  мм для №3 ДКМ,  $11,02 \pm 0,18$  мм для №4 - Suprasorb®,  $7,2 \pm 0,25$  мм для №5-Silvercel®,  $7,82 \pm 0,29$  мм для №6-Urgotul®,  $7,14 \pm 0,32$  мм для №7-Guanpolisept®,  $10,13 \pm 0,08$  мм для №8-Bétadine® (рис. 4.21).



**Рис. 4.21.** Ефективність антимікробних біоматеріалів проти референтного (ATCC 27853) та клінічних ( $n=12$ ) штамів *P.aeruginosa* -РА (Середні значення діаметрів зон затримки росту, мм). Справа - фото ЗЗР тестованого штаму (диско-дифузійний метод). Жовта лінія - межа негативного контролю – 6 мм.

Біоматеріали за своєю ефективністю щодо референтного штаму *P.aeruginosa* ATCC 27853 (на основі середніх ЗЗР) розподілились наступним чином (від найбільш ефективного): №2 ДКМ №3 ДКМ > №1 ДКМ > №4-Suprasorb® > №8-Bétadine® > №6- Urgotul® > №5-Silvercel® > №7-Guanpolisept®.

Клінічні штами *P.aeruginosa* були більш толерантними до антимікробних біоматеріалів: діаметри ЗЗР становили в середньому  $11,93 \pm 0,38$  мм для №1 ДКМ,  $12,57 \pm 0,35$  мм для №2 ДКМ,  $12,3 \pm 0,44$  мм для №3 ДКМ,  $8,51 \pm 0,47$  мм для №4-

Suprasorb®, 6,32±0,11 мм для №5-Silvercel®, 7,58±0,19 мм для № 6- Urgotul®, 6,25±0,11 мм для №7- Guanpolisept®, 9,52±0,14 мм для №8 - Bétadine®. Середні значення ЗЗР щодо референтних та клінічних штамів достовірно відрізнялись для всіх біоматеріалів, крім №6- Urgotul® ( $p > 0,05$ ). Кратність різниці ЗЗР-референтного/ЗЗР-клінічних становила 1,13 рази для №1 ( $p < 0,01$ ), 1,11 рази для №2 ( $p < 0,01$ ), 1,12 рази для №3 ( $p < 0,05$ ), 1,3 рази для №4 ( $p < 0,001$ ), 1,14 рази для №5 ( $p < 0,01$ ), 1,14 рази для №7 ( $p < 0,05$ ), 1,06 рази для №8 ( $p < 0,001$ ).

Як видно із наведених даних, кратність різниці значень ЗЗР-референтного/ЗЗР-клінічних штамів *P.aeruginosa* та достовірність різниці були не настільки високими, як для інших видів мікроорганізмів, оскільки дикий тип *P.aeruginosa* (референтний штам) теж володіє достатньо високою стійкістю.

Ранжування біоматеріалів за рейтингом ефективності щодо клінічних штамів *P.aeruginosa* на основі середніх значень ЗЗР (від найбільш дієвого):

**№2ДКМ > №3 ДКМ > №1 ДКМ > №8-Bétadine® > №4-Suprasorb® > №6-Urgotul® > №5-Silvercel® > №7-Guanpolisept®**

Щодо клінічних штамів *P.aeruginosa* найефективнішими були біоматеріали із ДКМ №1, №2 та №3 та Bétadine®.

Значення середніх діаметрів ЗЗР для трьох зразків з ДКМ (№1, №2 та №3 ДКМ) достовірно між собою не відрізнялись ( $p > 0,05$ ) та достовірності різниці значень з іншими біоматеріалами були однаково високими ( $p < 0,001$ ). Таким чином, три зразки з ДКМ були рівноцінно ефективними, тому порівняльний аналіз представлено на прикладі зразку №2ДКМ. Цей біоматеріал у 1,48 рази був ефективнішим за №4-Suprasorb® ( $p < 0,001$ ), у 1,99 рази був ефективнішим за Silvercel® ( $p < 0,001$ ), у 1,66 рази - за Urgotul® ( $p < 0,001$ ), у 2,01 рази - за Guanpolisept® ( $p < 0,001$ ), у 1,32 рази - за Bétadine® ( $p < 0,001$ ).

Наступним за ефективністю було визначено біоматеріал №8-Bétadine®. Середні діаметри ЗЗР по відношенню до клінічних штамів *P.aeruginosa* для Bétadine® достовірно відрізнялись від таких для Suprasorb® у 1.12 рази ( $p < 0.05$ ), для Silvercel у 1.51 рази ( $p < 0.001$ ), для Urgotul® у 1.26 рази ( $p < 0.001$ ), для Guanpolisept® у 1.52 рази ( $p < 0.001$ ). Suprasorb® у 1.35 рази був ефективнішим за Silvercel® ( $p < 0.001$ ), у

1.36 рази - за Guanpolisept® ( $p < 0.001$ ). Значення ЗЗР для Suprasorb® від Urgotul® достовірно не відрізнялись ( $p > 0.05$ ). Urgotul® у 1.2 рази був ефективнішим за Silvercel® ( $p < 0.001$ ), у 1.21 рази - за Guanpolisept® ( $p < 0.001$ ). Деякі клінічні штами *P.aeruginosa* були повністю резистентними до Silvercel® та Guanpolisept®.

Таким чином, референтний та клінічні штами *P.aeruginosa* були найбільш чутливими до антимікробних біоматеріалів на основі ДКМ, а також до біоматеріалу Bétadine®.

#### **Висновки до розділу 4**

На етапі скринінгу було доведено високі протимікробні властивості досліджуваних зразків антимікробних біоматеріалів на основі альгінату кальцію, полівінілового спирту та ДКМ. Композиція не поступається протимікробній дії розчину ДКМ щодо всіх штамів мікроорганізмів. Оптимально ефективними концентраціями ДКМ у складі зразків біоматеріалів були 0.04% та 0.06%. Для подальших розробок та порівняльного дослідження до складу біоматеріалів включили ДКМ у концентрації 0.05%, 0.06% та 0.1%

Порівняльні дослідження протимікробних властивостей розроблених біоматеріалів та комерційно доступних антимікробних пов'язок виявили високі антимікробні властивості нових біоматеріалів на основі ДКМ проти референтних та клінічних штамів цільових мікроорганізмів, що є провідними патогенами ран та опіків.

Референтні та клінічні штами *A. baumannii* проявляють найбільшу чутливість до зразків з ДКМ (№1-3 ДКМ), а також до біоматеріалів Suprasorb® X + PHMB та Guanpolisept® на основі ПГМБ. Найсильнішу дію на референтні та клінічні штами *E.coli* проявляють біоматеріали з ДКМ №1-3, Suprasorb® X + PHMB та Guanpolisept®.

По відношенню до референтного та клінічних штамів *K.pneumoniae* найефективнішими було визначено біоматеріали із ДКМ №1, №2 та №3, Suprasorb®, Guanpolisept® та Bétadine®. Найвищою антистафілококовою активністю володіють біоматеріали на основі ДКМ №1, №2, №3, Suprasorb®, Guanpolisept® та Bétadine®.



Референтні та клінічні штами *P.aeruginosa* є найбільш чутливими до біоматеріалів із ДКМ №1, №2 та №3 та Vétadine®. Дослідні зразки біоматеріалів з ДКМ та ПГМБ-вмісні ранові пов'язки виявляють сильніший антимікробний ефект у порівнянні з срібло- та йод-вмісними антимікробними рановими покриттями.

Результати порівняльного дослідження біоматеріалів методом дискової дифузії свідчать про те, що зразки із різною концентрацією активної речовини (0,5% - 0,1%) є рівноцінно ефективними.

Результати досліджень представлені в даному розділі викладені в публікаціях [217-221].

## РОЗДІЛ 5

### ДОСЛІДЖЕННЯ КІНЕТИКИ ВИВІЛЬНЕННЯ ДЕКАМЕТОКСИНУ З РОЗРОБЛЕНИХ БІОМАТЕРІАЛІВ

Кінцевою метою наших досліджень є розробка нової ранової пов'язки на основі полівінілового спирту та альгінату кальцію, здатної забезпечити захист та контрольоване вивільнення антисептика, як альтернативу існуючим методам лікування. І для цього було створено різні композиції, з яких сім мали відповідні механічні та антимікробні властивості та були використані для дослідження кінетики вивільнення біоактивного компонента. Оцінка кінетики вивільнення активних речовин із лікарських систем відіграє важливу роль у прогнозуванні та управлінні як ефективністю, так і безпекою. Кінетика - це більше, ніж наукова мета; це - важливий параметр якості всіх видів лікарських засобів [222].

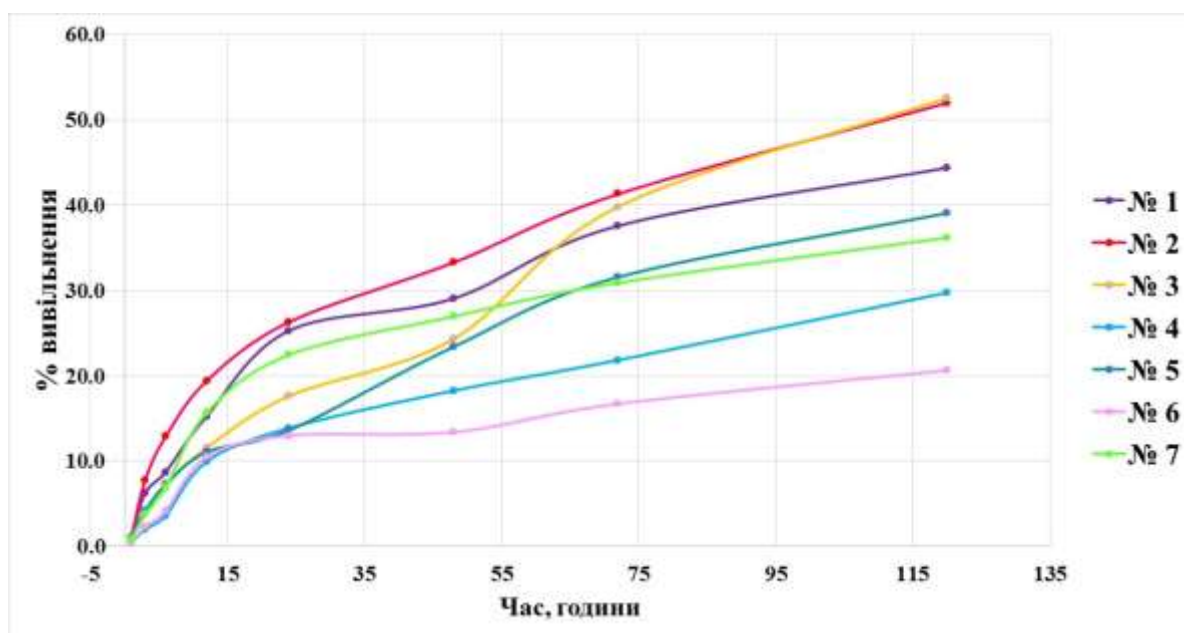
Таким чином, кінетику вивільнення ДКМ з еозином досліджували на семи зразках полімерних біоматеріалів. Зразок №1 є композитним полімерним біоматеріалом, що містить синтетичний (полівініловий спирт - ПВС) та природний (альгінат кальцію - Ca-Alg) полімери та ДКМ у концентрації 0,05%. Зразок №2 - гомополімер, що містить Ca-Alg та ДКМ у концентрації 0,05%. Зразок №3 – синтетичний гомополімерний біоматеріал на основі ПВС + ДКМ 0,05%. Зразок №4 – композит із Ca-Alg, ПВС, ДКМ 0,1% та ЕДТА. Зразок №5 – композит із Ca-Alg, ПВС, ДКМ 0,05% та ЕДТА. Зразок №6 – гомополімер Ca-Alg + ДКМ 0,1%. Зразок №7 - гомополімер Ca-Alg + ДКМ 0,06%.

У таблиці 5.1 вказано відсотки вивільнення ДКМ з досліджуваних біоматеріалів №1-7 та його кумулятивна концентрація, що створюється у водному середовищі за певний час. Відбір проб та фотокolorиметричне вимірювання в них концентрації ДКМ (еозину) проводили на 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 120 год. Кінетику вивільнення еозину із біоматеріалів із ДКМ у відсотках від включеного еозину відтворено на рис. 5.1.

Таблиця 5.1.

**Відсоток вивільнення декаметоксину з досліджуваних біоматеріалів та його кумулятивна концентрація  
(С, мкг/мл), що створюється у водному середовищі за певний час**

Зразок біоматеріалу/ вміст ДКМ	Час спостереження, год															
	1		3		6		12		24		48		72		120	
	%	С, мкг/мл	%	С, мкг/мл	%	С, мкг/мл	%	С, мкг/мл	%	С, мкг/мл	%	С, мкг/мл	%	С, мкг/мл	%	С, мкг/мл
<b>№1 ДКМ 0,05%</b>	0,91	4,64 ±0,23	6,22	31,52 ±0,73	8,71	44,13 ±0,88	15,25	77,32 ±0,92	25,28	128,14 ±1,68	29,05	147,23 ±2,05	37,56	190,39 ±2,81	44,36	224,86 ±3,88
<b>№2 ДКМ 0,05%</b>	1,07	5,43 ±1,28	7,77	39,44 ±5,73	12,89	65,42 ±7,62	19,42	98,52 ±10,73	26,3	133,46 ±11,45	33,29	168,92 ±12,3	41,31	209,62 ±14,7	51,99	263,82 ±15,75
<b>№3 ДКМ 0,05%</b>	0,98	4,91 ±1,07	4,09	20,54 ±2,37	7,37	37,03 ±3,0	11,58	58,2 ±4,38	17,62	88,54 ±6,61	24,29	122,04 ±8,94	39,76	199,73 ±14,83	52,47	263,61 ±19,47
<b>№4 ДКМ 0,1%</b>	0,49	4,61 ±1,07	2,01	19,94 ±2,72	3,62	35,87 ±3,98	9,95	98,78 ±10,49	13,86	137,54 ±14,51	18,23	180,89 ±15,51	21,81	216,37 ±9,30	29,69	294,62 ±6,92
<b>№5 ДКМ 0,05%</b>	1,06	5,51 ±1,07	4,15	21,64 ±2,06	7,2	37,54 ±2,6	11,08	57,79 ±4,51	13,61	70,98 ±5,15	23,41	122,04 ±8,94	31,57	164,63 ±12,0	39,09	203,82 ±13,97
<b>№6 ДКМ 0,1%</b>	0,11	5,06 ±1,03	2,28	22,38 ±3,5	4,19	41,06 ±2,42	10,51	103,0 ±3,36	12,97	127,08 ±4,25	13,37	131,04 ±2,63	16,68	163,4 ±4,02	20,59	201,75 ±5,02
<b>№7 ДКМ 0,06%</b>	0,88	4,68 ±1,15	3,8	20,14 ±2,59	6,96	36,86 ±3,14	15,73	83,38 ±5,02	22,49	119,18 ±7,77	26,99	143,01 ±8,25	30,92	163,82 ±8,75	36,21	191,88 ±6,68



**Рис. 5.1.** Кінетика вивільнення еозину із біоматеріалів із ДКМ у відсотках від включеного еозину.

Профіль вивільнення ДКМ із зразка №1 (композит) вказував на більш швидке вивільнення протягом перших 24 годин (25% вмісту ДКМ у зразку вивільнилося протягом цього часу).

Швидке вивільнення активної речовини протягом короткого часу відоме як «вибухове вивільнення» («burst release»). Це явище є небажаним, оскільки бурхливе вивільнення цільових препаратів може призвести до побічних ефектів [223]. Однак концентрація ДКМ, яка створювалась за цей період була невеликою ( $128,14 \pm 1,68$  мкг/мл - 0,013%), але в той же час достатньою для лікування інфекційних ускладнень, викликаних всіма протестованими нами МЛС мікроорганізмами (Розділ 3, таблиці 3.1, 3.4., 3.7, 3.10, 3.13). За цей проміжок часу концентрація активної речовини зростала поступово. Через одну годину вивільнилось 0,91% засобу і концентрація становила  $4,64 \pm 0,23$  мкл/мл. Станом на третю годину - 6,22%,  $31,52 \pm 0,73$  мкг/мл; на шосту годину – 8,71%,  $44,13 \pm 0,88$  мкг/мл; на 12 годину – 15,25%,  $77,32 \pm 0,92$  мкг/мл. За час спостереження (120 год) загалом вивільнилось 44,36% засобу і концентрація становила  $224,86 \pm 3,88$  мкг/мл.

Оцінка кінетики вивільнення ДКМ із зразка №2 (гомополімер Са-Alg ) показала, що більшість антимікробного компоненту вивільнювалась протягом 24

годин – 26,3% від вмісту у біоматеріали, що відповідало концентрації  $133,46 \pm 11,45$  мкг/мл (табл. 5.1, рис. 5.1). Таким чином за цей час створюється достатня концентрація для забезпечення цидного ефекту на всі МЛС штами досліджених ранових патогенів, в тому числі МЛС *P.aeruginosa*. За першу годину вивільнилось 1,07% ДКМ ( $5,43 \pm 1,28$  мкг/мл), протягом трьох годин – 7,77% ( $39,44 \pm 5,73$  мкг/мл), забезпечуючи цидну концентрацію для МЛС штамів *E.coli*, *K.pneumoniae* *S.aureus* та *A.baumannii*. Станом на шосту годину вивільнилось 12,89% ( $65,42 \pm 7,62$  мкг/мл), на 12 годину – 19,42% ( $98,52 \pm 10,73$ ). Загалом за 120 годин із зразка №2 вивільнилось 51,99% антисептика, і кумулятивна концентрація становила  $263,82 \pm 15,75$  мкг/мл.

З кінетичних даних (табл. 5.1, рис. 5.1), отриманих під час випробувань вивільнення антисептика із зразка №3 (гомополімер на основі ПВС), зрозуміло, що антисептична речовина із матриці зразка №3 вивільняється більш поступово і рівномірно, і кумулятивна концентрація засобу станом на третю, шосту, дванадцяту, двадцять четверту та сорок восьму годину є значно меншою, за кумулятивні концентрації зразків №1 та №2 у відповідні години. Станом на першу годину відсоток вивільнення і концентрація були еквівалентними зі зразками №1 та №2 – 0,98%,  $4,91 \pm 1,07$  мкг/мл. На третю годину кумулятивну концентрацію визначили майже в 2 рази меншу за концентрацію для зразка №2 у відповідній точці: відсоток вивільнення становив 4,09%, а концентрація -  $20,54 \pm 2,37$  мкг/мл. На 6, 12, 24, 48 години відсоток вивільнення і концентрації (мкг/мл) відповідно становили 7,37%/37,03±3,0; 11,58%/58,2±4,38; 17,62%/88,54±6,61; 24,29%/122,04±8,94, і були у 1,77, 1,69, 1,51, 1,38 рази меншими за концентрації у відповідних точках для зразка №2. На 72 та 120 годину концентрації для зразка №3 та №2 приблизно вирівнялися і становили для зразка №3 -  $199,73 \pm 14,83$  мкг/мл (72 год) та  $263,61 \pm 19,47$  мкг/мл (120 год). Загалом, за час дослідження, із зразка №3 вивільнилося 52,47% еозину/ДКМ. Концентрація, достатня для цидної дії на МЛС штами *P.aeruginosa* створюється між 24 та 48 годинами.

Зразки №4 та №6 містили концентрацію ДКМ 0,1%. Зразок №4 - композит ПВС + Са-Alg + ЕДТА; зразок №6 - гомополімер Са-Alg.

Протягом доби, в точках 1, 3, 6, 12 та 24 години для зразків №4 та №6 було виявлено схожу тенденцію вивільнення ДКМ (еозину). З 3-ї до 12-ї години спостерігали найбільшу швидкість вивільнення. Для зразка №4 в точках часу 1, 3, 6, 12 та 24 години відсоткове значення вивільнення визначили 0,49%, 2,01%, 3,62%, 9,95%, 13,86%, а значення концентрацій становили  $4,61 \pm 1,07$  мкг/мл,  $19,94 \pm 2,72$  мкг/мл,  $35,87 \pm 3,98$  мкг/мл,  $98,78 \pm 10,49$  мкг/мл,  $137,54 \pm 14,51$  мкг/мл відповідно. Крок наростання концентрації в ці точки часу був 4,33, 1,8, 2,75, 1,39 рази. Для зразка №6 в точках часу 1, 3, 6, 12 та 24 відсоткове значення вивільнення визначили 0,11%, 2,28%, 4,19 %, 10,51%, 12,97%, а значення концентрацій були  $5,06 \pm 1,03$  мкг/мл,  $22,38 \pm 3,5$  мкг/мл,  $41,06 \pm 2,42$  мкг/мл,  $103,0 \pm 3,36$  мкг/мл,  $127,08 \pm 4,25$  мкг/мл відповідно. Крок наростання концентрації в ці точки часу – 4,04, 1,83, 2,56, 1,21 рази. На 48, 72 та 120 годину відсоток вивільнення для зразка №4 був більшим, ніж для зразка №6 і становив 18,23%, 21,81% та 29,69% (відповідні концентрації – 180,89 мкг/мл, 216,37 мкг/мл та 294,62 мкг/мл), а для зразка №6 було визначено величину 13,37%, 16,68% та 20,59% відповідно (концентрації –  $131,04 \pm 2,63$  мкг/мл,  $163,4 \pm 4,02$  мкг/мл,  $201,75 \pm 5,02$  мкг/мл). Таким чином, концентрації ДКМ, вивільнені до точок часу 48, 72 та 120 годин зразком №4, були вищими у 1,38, 1,32 та 1,46 рази відповідно. Для обох цих зразків характерно створення концентрації, достатньої для цидного ефекту на штами *A.baumannii*, до шостої години вивільнення.

Зразки №5 та №7 містили ДКМ у концентрації 0,05% та 0,06% відповідно. Зразок №5 – композит із синтетичного та природного полімерів ПВС та Са-Alg з додатковим компонентом ЕДТА. Зразок №7 – гомополімер Са-Alg.

У перші три часові точки (1, 3 та 6 год) зразок №5 створював трохи вищу концентрацію ДКМ в процесі вивільнення (5,51 мкг/мл, 21,64 мкг/мл та 37,54 мкг/мл), в порівнянні зі зразком №7 (4,68 мкг/мл, 20,14 мкг/мл та 36,84 мкг/мл). Починаючи з точки 12 годин, навпаки, концентрації були вищими для зразка №7. В точках часу 12, 24, 48, 72 та 120 годин концентрації антисептика, які створював зразок №5 визначили рівними  $57,79 \pm 4,51$  мкг/мл,  $70,98 \pm 5,15$  мкг/мл,  $122,04 \pm 8,94$  мкг/мл,  $164,63 \pm 12,0$  мкг/мл та  $203,82 \pm 13,97$  мкг/мл відповідно, а зразок №7 -  $83,38 \pm 5,02$

мкг/мл,  $119,18 \pm 7,77$  мкг/мл,  $143,01 \pm 8,25$  мкг/мл,  $163,82 \pm 8,75$  мкг/мл та  $191,88 \pm 6,68$  мкг/мл відповідно.

Зразки №5 та №7 рівнозначно, до точки часу 6 годин, створювали бактерицидну концентрацію для МЛС штамів *A.baumannii*. Бактерицидну концентрацію для *P.aeruginosa* зразок №5 створював часом на 48 годину, тоді як зразок №7 – на 24 годину (як мінімум на добу раніше).

Аналізуючи кінетичні дані всіх семи зразків, отримані під час випробувань, слід зазначити, що вивільнення лікарського засобу залежало від часу і не залежало від концентрації лікарського засобу або варіанту композиції матриці. Із двох зразків із високим вмістом ДКМ – 0,1% (№4 та №6), тільки для зразка №4 були характерні більш високі концентрації вивільненого засобу на пізніх етапах дослідження (починаючи з другої доби), в порівнянні з іншими зразками.

Порівнюючи профілі вивільнення всіх семи зразків в часових точках (таблиця 5.1), видно, що на першу годину дослідження профілі є рівнозначними: концентрації коливались в межах від  $4,61 \pm 1,07$  до  $5,51 \pm 1,07$  мкг/мл. До того ж, слід зазначити, що не спостерігали «вибухового вивільнення» діючої речовини, що завжди важливо досягнути у розробці систем контрольованого вивільнення. На третю годину дослідження, більш високі концентрації засобу було вивільнено зразками №1 ( $31,52 \pm 0,73$  мкг/мл) та №2 ( $39,44 \pm 5,73$  мкг/мл). Для всіх інших зразків концентрації були рівнозначними і коливались від  $19,94 \pm 2,72$  до  $22,38 \pm 3,5$  мкг/мл. На шосту годину дослідження найвищу вивільнену кумулятивну концентрацію ДКМ (еозину) було визначено для зразка №2 ( $65,42 \pm 7,62$  мкг/мл), для інших зразків значення визначали у межах від  $35,87 \pm 3,98$  до  $44,13 \pm 0,88$  мкг/мл. На 12 годину найвищі концентрації вимірювали для зразків №2, №4, №6, №7 – від  $83,38 \pm 5,02$  до  $103,0 \pm 3,36$  мкг/мл; на 24 годину - для зразків №1, №2, №4, №6, №7; на 48 годину - для зразків №1, №2, №4, №7; на 72 годину - для зразків №1, №2, №3, №4; на 120 годину - для зразків №2, №3, №4.

Матеріалознавство постійно надихається вимогами передових біомедичних проблем. Тканинна інженерія, зокрема, вимагає «розумніших» систем, здатних забезпечувати контрольоване вивільнення лікарських речовин [224]. Антисептики як терапевтичні засоби для місцевого лікування викликають все більший інтерес задля

зменшення використання антибіотиків і сприяння ефективному лікуванню інфекцій, викликаних резистентними штамми. Важливою потребою у розробці та застосуванні антимікробних біоматеріалів у формі ранових пов'язок є тривале вивільнення антисептичних сполук для лікування інфекцій, пов'язаних із наданням медичної допомоги [225].

### **Висновки до розділу 5**

Згідно одержаних результатів, розроблені композиції антимікробних біоматеріалів можна використовувати для пролонгованої доставки ДКМ. Профілі вивільнення зразків підтверджують механізм тривалого та контрольованого вивільнення ДКМ із полімерної матриці без «вибухового вивільнення». Із усіх біоматеріалів ДКМ вивільняється у концентрації, достатній для бактерицидного ефекту на МЛС штамми більшості ранових патогенів від 3-ї до 12-ї години, для МЛС штамів *P.aeruginosa* – від 12-ї до 48-ї год.

Результати досліджень представлені в даному розділі викладені в публікаціях [219, 220].



## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Інфекція є поширеним ускладненням при лікуванні ран різного характеру, особливо тих, що важко загоюються. Лікування гострих і хронічних ран із критичною колонізацією, ускладнених мікробними біоплівками залишається серйозною проблемою, яка з кожним роком стає все більш загрозливою у зв'язку із глобальною проблемою антибіотикорезистентності [17, 18].

Спрямовані зусилля вчених щодо підвищення якості та тривалості життя пацієнтів у всьому світі окреслюють потребу пошуку нових стратегій лікування для досягнення швидкого загоєння ран [20, 21]. Розробка нових вдосконалених матеріалів з поліпшеними властивостями стає надзвичайно важливою у широкому діапазоні застосувань. А особливо затребуваними є антимікробні властивості біоматеріалів [42, 49-51].

Для ефективного загоєння ран завжди існувала потреба у відповідному матеріалі, який покривав би рану, запобігаючи інфекції [20]. На теперішній час розробка біоматеріалів для профілактики і лікування інфекційних ускладнень та прискорення загоєння ран є актуальною гострою потребою в галузі охорони здоров'я [22, 66].

Найпростішим способом заміни бар'єрної функції неушкодженої шкіри є накладення пов'язки [17]. Перспективні біоактивні чи лікувальні ранові пов'язки з антимікробними властивостями виготовляють на основі біоматеріалів (природних або синтетичних матеріалів, створених для взаємодії з біологічними системами) з інтегрованими біоактивними молекулами (біоцидами) для досягнення контрольованого антибактеріального лікування [18, 21, 31].

У боротьбі з рановою інфекцією на теперішній час перевагу надають застосуванню антисептиків, оскільки для них характерний неспецифічний механізм дії, мікробоцидний ефект, невисокий рівень алергізації, здатність впливати на мікроорганізми не залежно від їх метаболічного статусу. Серед перспективних – поверхнево активні антисептики, антимікробна активність яких обумовлена

незворотним пошкодженням мембрани, блокуванням негативних зарядів поверхні бактеріальної клітини [25, 68].

Відповідно до поставленої мети в роботі вирішували наступні завдання: оцінити ефективність 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; розробити ефективний склад та технологію виготовлення антимікробних біоматеріалів на основі біополімерів та четвертинних амонієвих сполук; провести первинний мікробіологічний скринінг протимікробної активності розроблених засобів щодо референтних та клінічних штамів мікроорганізмів; дослідити та порівняти антимікробну активність 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; вивчити кінетичні профілі вивільнення біоактивного компонента (протимікробної речовини) із розроблених зразків полімерних біоматеріалів для оцінки тривалого контрольованого вивільнення антисептичних сполук із полімерної матриці.

Для вивчення та порівняльного аналізу антимікробної активності було використано антисептики на основі ДКМ, ХГ, МРМ, ОКТ, ПГМБ та повідон-йоду; розроблені біоматеріали з ДКМ та комерційно доступні ранові пов'язки із вмістом антисептиків Suprasorb<sup>®</sup> X + PHMB, SILVERCEL<sup>®</sup> Hydro-Alginate, Urgotul SSD<sup>®</sup>, GUANPOLISEPT<sup>®</sup> та Bétadine TULLE 10% DRESSING.

Зразки біоматеріалів із ДКМ виготовляли із альгінату кальцію, полівінілового спирту (PVA) та антисептика ДКМ методом сольвентного лиття (методом лиття із розчинника) [52]. Зразки, відібрані після двох етапів первинного скринінгу, містили ДКМ у концентрації 0,05%, альгінат кальцію, полівініловий спирт; склад досліджуваних зразків:

№1 - 0,05% ДКМ + PVA + альгінат кальцію; №2 - 0,05% ДКМ + альгінат кальцію; №3 0,05% ДКМ + PVA + альгінат кальцію + ЕДТА.

Чутливість ранових патогенів до сучасних антисептиків та антимікробних біоматеріалів визначали використовуючи референтні штами *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* ATCC 700603, *A.baumannii* BAA-747, *P.aeruginosa* ATCC 27853 та клінічні МЛС ізоляти цих видів мікроорганізмів, які було отримано від пацієнтів з інфікованими опіками та осколковими пораненнями різної локалізації в результаті бойової травми.

Тестування, порівняння (із визначенням достовірності різниці значень) та оцінку ефективності сучасних біоцидів щодо клінічних МЛС та референтних штамів мікроорганізмів у планктонній формі проводили із застосуванням стандартного макрометоду подвійних серійних розведень, реєструючи значення МІК та МБЦК, з інтерпретацією даних у вигляді диференційованого бактеріостатичного та бактерицидного індексу активності антисептика (БС ІАА та БЦ ІАА).

На першому етапі дослідження дії антисептиків на планктонні форми клінічних МЛС штамів *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii* та *P.aeruginosa* було виявлено достатньо високу ефективність *in vitro* сучасних антисептичних засобів.

Значення МІК антисептиків завжди були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації. Безумовно, МБЦК для всіх мікробіцидів були вищими, ніж їхні відповідні МІК, але співвідношення МБЦК/ МІК було завжди менше 4, що вказує на те, що засоби проявляють переважно бактерицидні властивості.

Найвищу активність щодо клінічних штамів *A.baumannii* серед досліджуваних антисептичних препаратів встановили для ДКМ, ДСу та ОКТ, про що свідчили їх бактеріостатичні та бактерицидні концентрації: середні значення 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. Бактерицидна дія ДКМ на ацинетобактерії перевищувала таку ХГ у 3,21 рази і ця різниця мала високе значення достовірності ( $p < 0,001$ ). ДКМ виявив біоцидні властивості, що достовірно перевищували бактерицидну дію МРМ у 1,77 рази ( $p < 0,001$ ) та ПГМБ у 1.89 рази ( $p < 0,01$ ).

Аналогічну тенденцію виявили щодо клінічних штамів *E.coli*. Найвищу антимікробну активність серед досліджуваних антисептиків із групи ЧАС проявили ДКМ, ДС та ОКТ. Їх мінімальні інгібуючі та мінімальні бактерицидні концентрації були найнижчими: МІК становили відповідно  $7,19 \pm 0,53$  мкг/мл;  $7,83 \pm 0,49$  мкг/мл і  $12,42 \pm 0,67$  мкг/мл; МБЦК  $-11,30 \pm 0,76$  мкг/мл;  $12,25 \pm 0,88$  мкг/мл та  $22,49 \pm 2,08$  мкг/мл.

Бактеріостатична дія ДКМ щодо клінічних штамів кишкової палички достовірно перевищувала таку МРМ у 2,71 рази, ХГ – у 3,17 рази, ОКТ – у 1,65 рази, ПГМБ – у 3,17 рази, а бактерицидна активність - у 2,91 рази, 2,92 рази, 1,91 рази та 4,04 рази відповідно. Достовірність різниці значень завжди була високою ( $p < 0,001$ ).

Щодо клінічних МЛС штамів *K.pneumoniae*, мінімальні інгібуючі концентрації були найнижчими для ДКМ та ДС. Ефективне пригнічення росту *K.pneumoniae* спостерігалось при застосуванні ДКМ (0,1 % і 0,02 %) у концентраціях  $9,6 \pm 0,75$  мкг/мл і  $10,34 \pm 0,85$  мкг/мл відповідно. Бактеріостатична дія ДКМ щодо клінічних штамів *K.pneumoniae* вірогідно перевищувала таку інших антисептиків-сурфактантів у 1,53— у 2,24 рази (достовірність різниці була від  $p < 0,05$  до  $p < 0,001$ ). Бактерицидні властивості ДКМ та ДС визначали за наявності концентрацій  $20,61 \pm 1,49$  мкг/мл та  $21,15 \pm 1,15$  мкг/мл. Бактерицидна активність ДКМ достовірно перевищувала таку ХГ у 1,99 рази ( $p < 0,001$ ), ПГМБ – у 1,87 рази ( $p < 0,05$ ).

Найвищі значення мінімальної бактерицидної концентрації встановлено для ХГ та ПГМБ ( $41,47 \pm 3,54$  мкг/мл та  $39,06 \pm 8,33$  мкг/мл відповідно), що вдвічі перевищує їх бактеріостатичну концентрацію.

Штами *S.aureus* виявились найбільш чутливими серед інших досліджуваних ранових патогенів. Всі антисептики проявили високу антистафілокову активність, а серед них ДКМ та ДС виявили найсильніший ефект. Середні значення бактеріостатичних концентрацій для ДКМ та ДС становили  $7,12 \pm 1,05$  мкг/мл та  $7,66 \pm 0,6$  мкг/мл.

ДКМ та ДС ефективніше інгібували ріст МЛС штамів *S.aureus*, ніж ХГ у 1,48 та 1,38 рази відповідно, але достовірної різниці не було виявлено ( $p > 0,05$ ). У той же час, ДКМ інгібував ріст МЛС штамів *S.aureus* активніше, ніж МРМ у 1,62 рази

( $p < 0,05$ ), у 1,62 рази активніше за ОКТ ( $p < 0,001$ ), у 1,69 рази активніше за ПГМБ ( $p < 0,05$ ). Цидна дія ДКМ достовірно перевищувала таку ХГ у 1,65 рази ( $p < 0,01$ ), МРМ - у 1,98 рази ( $p < 0,001$ ), ОКТ – у 1,89 рази ( $p < 0,001$ ), ПГМБ – у 1,92 рази ( $p < 0,001$ ).

Аналізуючи та характеризуючи значення МІК та МБЦК проти клінічних МЛС штамів *P.aeruginosa* слід зазначити, що такі антисептики із групи детергентів як ДКМ (0,1 % та 0,02 %) та ПГМБ (0,1 %) продемонстрували найвищу антимікробну активність. Бактеріостатичні концентрації цих антисептиків були відповідно  $63,24 \pm 5,24$  мкг/мл та  $68,68 \pm 4,2$  мкг/мл, а бактерицидні -  $107,89 \pm 5,85$  мкг/мл та  $103,2 \pm 12,88$  мкг/мл.

Порівняння даних та визначення достовірності їх різниці показало, що ПГМБ у 1,37 рази ефективніше пригнічував ріст *P.aeruginosa*, ніж МРМ ( $p < 0,001$ ). ДКМ інгібував ріст МЛС штамів *P.aeruginosa* у 1,49 активніше, ніж МРМ ( $p < 0,001$ ), у 1,51 разів активніше, ніж ХГ ( $p < 0,05$ ), у 1,34 рази за ОКТ ( $p < 0,05$ ). Цидна дія ПГМБ у 1,59 разів перевищувала таку ХГ ( $p < 0,01$ ) та у 1,51 рази ОКТ ( $p < 0,05$ ). Бактерицидні концентрації ДКМ у 1,8 рази меншими, ніж у ХГ ( $p < 0,001$ ) та у 1,44 рази меншими, ніж у ОКТ ( $p < 0,01$ ).

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). Оцінити ефективність, доцільність застосування препарату, порівняти між собою антисептики дає можливість індекс активності антисептика. Концентрація антисептика має бути не меншою, ніж 4 МІК. Ми інтерпретували результати, використовуючи диференційний показник ІАА, роблячи акцент саме на цидну активність антисептика (Kramer, A).

Показники БС ІАА та БЦ ІАА антисептиків проти *A.baumannii* були найвищими у ДКМ 0,1%, ОКТ та повідон-йоду 10%; проти *E.coli* - у антисептиків ПГМБ 0,1%, ОКТ 0,1% та ДКМ 0,1%; щодо *K.pneumoniae* – у ДКМ 0,1%, ОКТ 0,1% та ПГМБ 0,1%; щодо *S.aureus* - для повідон-йоду 10%, ДКМ 0,1%, ОКТ 0,1%, ХГ 0,5% ПГМБ 0,1%; проти *P.aeruginosa* – у повідон-йоду 10%, ДКМ 0,1%, ОКТ 0,1%, ПГМБ 0,1%.

На основі аналізу показників ІАА встановлено недостатню ефективність концентрації вихідного розчину препарату МРМ (0,01%) щодо профілактики і лікування інфекційних ускладнень, спричинених МЛС штамми *A.baumannii*, оскільки показники ІАА МРМ проти ацінетобактерій не перевищували допустимий поріг цього показника («4»), що особливо помітно при диференціюванні показника за бактеріостатичним і бактерицидним ефектами (БС ІАА = 3,8; БЦ ІАА = 1,9).

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 %, що ставить під сумнів доцільність застосування цього антисептика у такій концентрації. Показник БС ІАА повідон-йоду 1,0 % наближався до порогового значення і становив 5,6, а значення БЦ ІАА було за допустимим порогом і становило 3,9.

Ефективність повідон-йоду 1% проти мультирезистентної *E.coli* та МЛС *K.pneumoniae* була визнана недостатньою, оскільки БС ІАА та БЦ ІАА були нижчими за порогове значення (обидва < 4). При проведенні порівняльного аналізу антисептиків за диференційованим показником ІАА встановлено, що доцільність використання повідон-йоду в концентрації 2% щодо МЛС *K.pneumoniae*, а також МРМ в концентрації 0,01 % проти МЛС *E.coli* викликає сумнів, оскільки БС ІАА перевищують порогове значення, а БЦ ІАА – ні. Такі концентрації препаратів можуть створити умови для селекції стійких штамів. А також, концентрації МРМ 0,01% недостатньо для застосування проти МЛС штамів *P.aeruginosa*: обидва розраховані показники були нижчими за пороговий рівень.

Рівень цидної активності антисептиків також було оцінено за допомогою коефіцієнта співвідношення бактерицидного і бактеріостатичного ІАА. Найвищі показники (що свідчило про більш цидну активність) проти *A.baumannii* та *E.coli* було визначено для повідон-йоду (0,70 та 0,83). Серед антисептиків ЧАС найвищу бактерицидну дію проти *E.coli* мав ДКМ: відношення БЦ до БС ІАА становило 0,7. Щодо МЛС *K.pneumoniae* найбільші показники визначено для повідон-йоду та ОКТ (0,69 та 0,73), щодо МЛС штамів *P.aeruginosa* – у ПГМБ (0,88). Найбільш висока цидна активність по відношенню до *S.aureus* була характерна для ДС (0,6).

Результати нашого дослідження свідчать про високу ефективність сучасних антисептиків проти МЛС штамів актуальних ранових патогенів. Значення МІК антисептиків завжди були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації. Безумовно, МБЦК для всіх мікробіцидів були вищими, ніж їхні відповідні МІК, але співвідношення МБЦК/ МІК було менше 4, що вказує на те, що засоби проявляють переважно бактерицидні властивості [154, 155].

Результати нашого дослідження не заперечують результатів інших країн. López-Rojas et al. показали бактерицидну активність ПГМБ проти всіх високоризикових клонів нозокоміальних збудників із множинною лікарською стійкістю при значно нижчих концентраціях і тривалості активності, ніж комерційно використовувані [226].

У нещодавніх дослідженнях Barrigah-Benissan і колег значення МІК для ПГМБ, повідон-йоду та ostenidine також завжди були нижчими, ніж початкові комерційні концентрації [227]. Grzegorz Krasowski з колегами визначили бактерицидні концентрації ПГМБ та ОКТ при розведенні в декілька десятків разів нижче порогу робочого розчину [97]. Так само раніше Rafael López-Rojas з колегами виявили високу активність ПГМБ проти всіх високоризикових клонів мультирезистентних нозокоміальних патогенів за значно нижчих концентрацій, ніж вихідні [226].

R. Alvarez-Marin та ін. підкреслюють, що ОКТ може бути надзвичайно корисним для ліквідації нових високорезистентних грамнегативних патогенів, пов'язаних із внутрішньолікарняними інфекціями [228]. Антисептика ран для профілактики та лікування інфекцій шкіри та м'яких тканин є перспективною і дає можливість контролювати інфекційний процес у рані за рахунок використання високоефективних протимікробних засобів, сумісних з рановою поверхнею, здатних протидіяти поширеним збудникам із множинною лікарською стійкістю [71].

Однак, через збільшення поширеності детермінант резистентності, багато дослідників повідомляють про зниження чутливості до всіх біоцидів [19].

Наприклад, з'являється все більше повідомлень про стійкість мікробів до ХГ серед клінічно значущих грамнегативних видів бактерій [183, 229]. Є дані про зниження чутливості *E.coli* до ХГ [230, 231].

Нажаль, бактеріальна резистентність часто пов'язана з надмірним використанням антисептика та його широким додаванням до різних засобів особистої гігієни та засобів для чищення. Хлоргексидин диглюконат є широко використовуваним катіонним антисептиком у медицині, основним лікарським засобом, визнаним Всесвітньою організацією охорони здоров'я та внесеним до списку 300 препаратів, які найчастіше призначаються у США станом на 2020 рік [229].

В той же час, пандемія глобальної коронавірусної хвороби (COVID-19), спричиненої SARS-CoV-2, призвела до значного зростання неконтрольованого використання дезінфікуючих засобів, у тому числі ЧАС. Присутність суб-інгібіторних концентрацій ЧАС на різних поверхнях у поєднанні з їх широким використанням збільшує швидкість селекції резистентних бактерій, що, у свою чергу, може призвести до зниження ефективності сучасних антисептиків і дезінфектантів [120, 183, 232, 233].

Відомо, що значення МІК і МБЦК антисептиків відрізняються і збільшуються в присутності мультирезистентних ізолятів. Ми відбирали штами із фенотипом МЛС, і значення МІК та МБЦК для досліджуваних антисептиків були вищими, ніж вони були в попередніх дослідженнях. Таку ж тенденцію, наприклад, було прослідковано авторами Gupta, P. та ін щодо МЛС *P.aeruginosa* та повідон-йоду [234]. Vásquez, Daniel з колегами також визначили високі МІК та МБЦК хлогексидину по відношенню до багатьох позалікарняних та лікарняних ізолятів *P.aeruginosa* [235]

Досі планктонні форми *A.baumannii* виявляли лише слабку адаптивну реакцію або взагалі не реагували на ХГ, ОКТ, ПГМБ, повідон-йод [236]. Qi, L Leshem et al. продемонстрували знижену сприйнятливість грамнегативних бактерій, включаючи *A. baumannii*, до ХГ, але водночас підкреслили, що жоден із цих ізолятів не виявився толерантним до ХГ на основі їх значень МІК [237]. Інше дослідження показало ефективність ХГ та повідон-йоду проти 81 ізоляту *A. baumannii*, однак 18,51%



ізолятів були стійкими до повідон-йоду, розведеного на одну третину [239]. Дослідження Tomasz M. Karpiński характеризують ОКТ як дуже ефективний препарат проти клінічних ранових ізолятів та референтних штамів *P.aeruginosa* [116]. Але для їх вибірки ізолятів значення МІК для ОКТ та ПГМБ не відрізнялись від попередніх досліджень [116, 226, 227, 239].

Stephen Vuxser повідомляє про підвищення стійкості *K.pneumoniae* до ХГ приблизно в 2,8 рази за 50 років [240]. Vock L. J. та інші виявили, що не всі препарати ХГ вбивають МІС *K.pneumoniae* після рекомендованого часу впливу. Активність, особливо проти штамів, адаптованих до ХГ, залежить від додаткових інгредієнтів [241]. Високі значення МІК повідон-йод, срібла та наночасток срібла зареєстровані для ізолятів *K.pneumoniae* [19, 185].

В той же час Schlett, C. D. з колегами, у контексті кластерного рандомізованого контрольованого дослідження на рівні громади (community-based), під час якого понад 10 000 солдатів отримували ХГ, не виявили зв'язку між тривалим використанням ХГ та поширеністю резистентних до ХГ ізолятів MRSA. Загалом поширеність резистентності до ХГ протягом 2-річного періоду була низькою, і виділення резистентних ізолятів не збільшувалося з часом [242]. Ruben Barreto та ін. нещодавно повідомили, що порівняно з ХГ, ПГМБ і ОКТ, повідон-йод має ширший антимікробний спектр проти грамнегативних бактерій, але в той же час було зазначено, що ХГ виявився ефективним проти MDR штамів *E.coli* [243, 244].

Тим не менш, Schlett, C. D. з колегами наголошують, оскільки інфекції шкіри та м'яких тканин, викликані MRSA, продовжують спричиняти захворюваність у суспільстві, а ХГ продовжує залишатися невід'ємним компонентом стратегій профілактики у багатьох країнах, необхідний нагляд за набутою резистентністю, особливо в умовах високого ризику [242].

В той же час проти антибіотиків у бактерій існує більше детермінант резистентності, ніж проти антисептиків та дезінфікуючих засобів, і експресія генів при дії протимікробних препаратів не є хорошим предиктором цих детермінант резистентності [245]. Антисептики діють на безліч мішеней, всередині та на поверхні бактеріальної клітини на відміну від антибіотиків [72, 97].

Регулярний моніторинг чутливості МЛС штамів ранових патогенів у різних формах існування до місцевих біоцидів, розширення спектру регламентованих ефективних антисептичних препаратів, є необхідними для їх розумного раціонального використання сьогодні та збереження їх ефективності в майбутньому.

Таким чином, наші дослідження і дослідження колег із інших країн показують, що антисептики, включно з тестованими в цьому дослідженні, ефективні проти планктонних бактерій. Однак патогенні бактерії в основному знаходяться в біоплівках, оскільки це їхній природний стан [246]. Отже ліквідація біоплівки має значення з терапевтичних точок зору та для контролю інфекції [4]. Ефективний антисептик, який використовується для лікування колонізованих/інфікованих хронічних ран, повинен проявляти властивості проти біоплівки [97, 245].

Отже, на наступному етапі дослідження ставилося завдання перевірити профілактичну дію препаратів щодо незрілих бактеріальних біоплівок, для яких у процесі утворення біоплівки додавали суббактеріостатичні концентрації антисептиків.

Європейська асоціація лікування ран (EWMA) представила та рекомендувала стратегію TIMERS для боротьби з рановими інфекціями, пов'язаними з біоплівками. Аббревіатура TIMERS включає такі елементи, як Т – дебридмент тканин, І – контроль інфекції та запалення, М – баланс вологи, Е – краї, стимуляція епітелізації, R – відновлення тканини та регенерація та S – соціальні фактори, що впливають на загоєння [247]. Місцеві антибіотики вважаються недоцільними або неефективними для боротьби з рановою бактеріальною біоплівкою. Антисептики, залежно від конкретної рани/інфекції, часто використовуються в поєднанні з обробкою рани (Т – дебридмент тканин) і антимікробними пов'язками (стовп І – контроль інфекції та запалення) [97, 247].

Бактеріальна біоплівка є важливим потенційним фактором вірулентності, що сприяє інвазії та персистенції патогенів, що було описано в багатьох дослідженнях [123]. Однак рутинні клінічні мікробіологічні дослідження спрямовані лише на планктонні мікробні форми, не беручи до уваги можливість утворення біоплівки.

Таким чином, оцінка можливостей утворення біоплівки та вивчення впливу антисептиків на її формування є важливим етапом мікробіологічних досліджень.

Антисептики ЧАС і галоген-вмісний антисептик повідон-йод, демонстрували різний вплив на стадію формування біоплівки МЛС штамми *A. baumannii*. Раніше було встановлено, що ХГ і ОКТ мають найбільшу ефективність проти зрілих біоплівок клінічних мультирезистентних мікроорганізмів [98]. Також Гжегож Красовський та ін. повідомили про високу *in vitro* активність ПГМБ та ОКТ проти біоплівки, утвореної рановими збудниками [97]. Ми досліджували вплив антисептиків на незрілі біоплівки з метою запобігання її утворенню. Наше дослідження також підтверджує, що ХГ мав найвищу антибіоплівкову активність проти МЛС клінічних ізолятів *A. baumannii*.

За наявності суббактеріостатичних концентрацій ХГ біоплівкоутворювальні властивості наших клінічних штамів мали невелику, але позитивну кореляцію з їх чутливістю до цього антисептика ( $r=0,15$ ). Через значне пригнічення утворення біоплівки та позитивну кореляцію цієї властивості з чутливістю ізолятів *A. baumannii* до цього антисептика, ХГ слід розглядати як ефективний антибіоплівковий засіб. Суббактеріостатичні концентрації ДКМ значно пригнічували утворення біоплівки. Ця властивість обернено корелювала з чутливістю штамів до ДКМ ( $r = - 0,76$ ). Таким чином, антибіоплівковий ефект залежить від концентрації зазначеного антисептика. Аналізуючи отримані результати, можна стверджувати, що бактеріостатичні та більш високі концентрації ДКМ можуть забезпечити надійний захист від біоплівок.

Суббактеріостатичні концентрації ОКТ, ПГМБ, МРМ та повідон-йоду показали низький антибіоплівкоутворюючий ефект щодо штамів *A. baumannii*, і різниця відносно контролю не була статистично значущою. Виражена негативна кореляція між біоплівкоутворюючими властивостями *A. baumannii* у присутності суббактеріостатичних концентрацій згаданих антисептиків та їх чутливістю до них вказує на залежність цих властивостей від концентрації антисептика, а не від підвищеної чутливості окремого штаму. Правильність нашої інтерпретації підтверджується дослідженнями Loose та ін., де ОКТ і ПГМБ перешкоджали утворенню біоплівок у *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Proteus mirabilis*

залежно від концентрації антисептика [248]. Крім того, 0,25% (w/w) повідон-йоду повністю ерадикувала біоплівки всіх мультирезистентних мікроорганізмів [249]. Звідси випливає, що використання цих антисептиків у концентраціях, нижчих за МІК, може призвести до стимуляції захисних механізмів бактерій у вигляді утворення біоплівки, що потребує подальших досліджень.

Виходячи із даних літератури [250], вищий ризик утворення біоплівки тісно пов'язаний із МЛС штамами *A.baumannii*, ніж із чутливими, оскільки здатність утворювати біоплівки є важливим фактором резистентності. Водночас, зв'язок між утворенням біоплівки антибіотикорезистентними клінічними штамами бактерій та їх чутливістю до антисептиків досі чітко не встановлено [231, 251-253]. У наших дослідженнях подібну тенденцію було виявлено для клінічних штамів *A.baumannii*. Виявлено статистично негативну кореляцію між чутливістю до антисептиків досліджуваних антибіотикорезистентних клінічних штамів та їх здатністю до біоплівкоутворення за наявності суб-МІК досліджуваних антисептиків (за винятком ХГ).

Наше дослідження показало, що суббактеріостатичні концентрації ХГ, ДКМ, МРМ, ОКТ, ПГМБ та повідон-йоду пригнічують утворення біоплівок *K.pneumoniae*, але ДКМ, ПГМБ та повідон-йод виявляють найбільш виражений ефект. За наявності суб-МІК концентрацій ДКМ біоплівкоутворювальні властивості клінічних штамів *K.pneumoniae* мали помірну, але позитивну кореляцію з їх чутливістю до цього антисептика (коефіцієнт кореляції  $r=0,5$ ). Через значне пригнічення утворення біоплівки та позитивну кореляцію цієї властивості з чутливістю МЛС штамів *K.pneumoniae* до цього антисептика, ДКМ слід розглядати як ефективний антибіоплівковий засіб. Для ХГ, ПГМБ та повідон-йоду коефіцієнти кореляції приймали негативне значення. Найсильнішу залежність інгібування утворення біоплівки штамами *K.pneumoniae* від концентрації активної речовини засобу було виявлено для ХГ:  $r= - 0,32$ .

ОКТ, ХГ та ДКМ у суб-МІК концентраціях продемонстрували найефективніший інгібуючий вплив на формування біоплівки штамами *S.aureus*: ОКТ

- на 4,7% ( $p < 0,001$ ), ХГ – на 4,6%, а ДКМ на 5,0% ( $p < 0,001$ ) пригнічували біоплівкоутворення.

ХГ, ДКМ і ПГМБ мають високу активність проти утворення біоплівки клінічними ізолятами МЛС *E.coli*. У присутності суббактеріостатичних концентрацій ХГ біоплівкоутворювальні властивості штамів *E.coli* позитивно корелювали з їх чутливістю ( $r=0,49$ ). За наявності суббактеріостатичних концентрацій ПГМБ біоплівкоутворювальні властивості досліджуваних нами клінічних штамів мали меншу, але позитивну кореляцію з їх чутливістю до цього антисептика ( $r=0,11$ ).

ХГ і ПГМБ слід вважати найефективнішими антибіоплівковими агентами через значне пригнічення утворення біоплівки ізолятами *E.coli* та позитивну кореляцію з їх чутливістю до антисептиків.

ДКМ у суббактеріостатичних концентраціях найбільш ефективно пригнічував утворення біоплівки, і кореляція була негативною ( $r=-0,67$ ), що свідчить про те, що здатність ефективно пригнічувати утворення біоплівки залежить від певної концентрації препарату, а не від підвищеної чутливості певного штаму до антисептика. Таким чином, ДКМ і ОКТ здатні запобігати утворенню біоплівки штамми *E.coli* залежно від концентрації.

Раніше Loose, M. та інші повідомляли, що антисептики, що містять біоциди ПГМБ і ОКТ, були найбільш ефективними проти *E.coli*. Крім того, визначення активності проти біоплівки продемонструвало, що Prontosan® (ПГМБ), а також Octenisept® (ОКТ) здатні запобігати утворенню біоплівок *E.coli* залежно від концентрації [248].

Той факт, що повідон-йод також дуже ефективний для знищення біоплівок грамнегативних бактерій, нещодавно повідомили Ruben Barreto та інші [243].

З іншого боку, суббактеріостатичні концентрації повідон-йоду та МРМ стимулювали утворення біоплівки клінічними ізолятами. Таким чином, застосування цих антисептиків у концентраціях нижче МК може призводити до стимуляції захисних механізмів бактерій у вигляді утворення біоплівки. Багато дослідників приходять до висновку, що здатність утворювати біоплівки є ключовим фактором

патогенності, наявність якого сприяє успішній і стабільній колонізації місця рани незалежно від фенотипу МЛС [98].

Щоб обмежити розповсюдження стійких до антибіотиків штамів, необхідно ідентифікувати мікроорганізми та визначити закономірності чутливості до антимікробних препаратів. Ці важливі аспекти часто недооцінюються [73].

Наші дослідження дії антисептиків на незрілу біоплівку *P.aeruginosa*, тобто їх ефективності щодо пригнічення формування біоплівки показали, що всі антисептики мають високий рівень інгібуючої здатності. ОКТ в суб-МІК концентраціях продемонстрував найсильніший вплив на незрілу біоплівку. Наступними за шкалою ефективності були ДКМ, ПГМБ, ХГ та повідон-йод.

Було виявлено негативну кореляцію між здатністю МЛС штамів *P.aeruginosa* формувати біоплівки в присутності суббактеріостатичних концентрацій антисептиків та чутливістю цих ізолятів до антисептиків. Таким чином, для тестованих антисептиків із групи детергентів та галоген-вмісних сполук, властивість пригнічувати формування біоплівки залежала саме від концентрації антисептика, а не від чутливості до них ізолятів *P.aeruginosa*.

Чутливість до впливу антисептиків культур, що знаходяться в зрілих біоплівках, була значно нижчою. Ефективний вплив на сформовану біоплівку потребує значно більших концентрацій антисептиків. Значно простіше пригнічувати або попереджувати її формування. Тестовані концентрації антисептиків не руйнували сформовану біоплівку більш ніж на 42,4%. Здатність антисептиків до ерадикації біоплівки залежала від концентрації: найефективнішими являлися найвищі тестовані концентрації, що дорівнювали половині концентрації готового комерційного продукту. Прослідковуючи тенденцію дії ОКТ у різних концентраціях на різні стадії формування біоплівки, слід відзначити його найвищу активність проти біоплівки *P.aeruginosa*. Але, в цілому, слід зазначити, що всі тестовані антисептики є ефективними проти біоплівки *P.aeruginosa*.

Дані поки що не є однозначними з приводу, чи корелює фенотип МЛС з біоплівкоутворюючими властивостями [4]. Деякі дослідники відзначають підвищену здатність до утворення біоплівки МЛС штамми *P.aeruginosa* [147]. В будь-якому

випадку, біоплівка – важливий фактор вірулентності *P.aeruginosa*, основна форма його існування, яка захищає від шкідливого впливу факторів навколишнього середовища, в тому числі біоцидів, а також сприяє зберіганню та розповсюдженню МЛС штамів [1, 254]. Це не було метою нашого дослідження, але слід зазначити, що протестовані нами МЛС штами *P.aeruginosa* характеризувались високою біоплівкоутворюючою здатністю. Те саме спостерігали Rossi Gonçalves I. з колегами, Vakht, M. з колегами. [255, 256 ].

Behzadi, P. з колегами відзначають, що дійсно, сильні продуценти біоплівки більш поширені серед клінічних ізолятів, але МЛС статус або резистентність до окремих антибіотиків не передбачає підвищеної здатності до утворення біоплівки [4]. Такий відбір є логічним, оскільки біоплівкоутворюючі штами краще виживають та мають більше шансів отримати детермінанти набутої резистентності. Але, скоріше всього, це не є генетично зчеплені ознаки.

Наші результати успішної ефективності антисептиків в боротьбі із біоплівкою підтверджуються дослідженнями вчених із інших країн. Junka A з колегами теж відзначають високу активність ОКТ та повідон-йоду щодо біоплівок нозокоміальних штамів *P.aeruginosa* [257]. Отримані результати Grzegorz Krasowski та колег теж свідчать про високу антибіоплівкову активність антисептиків на основі ПГМБ та ОКТ. Дослідники зазначають, що антисептики на основі ПГМБ або ОКТ дуже корисні для лікування біоплівки [97].

Gryson, L з колегами нещодавно вивчали антибіоплівкову активність повідон-йоду та полігексаніду і повідомляють, що повідон-йод та ПГМБ продемонстрували стійку активність проти біоплівок *in vitro*, а повідон-йод призводив до повної ерадикації біоплівки *P.aeruginosa* 3- та 5-денної зрілості (за  $\leq 0,5$  год) [258].

Також є важливі досягнення у розробці стратегій лікування інфекцій, викликаних синьогнійною паличкою, застосування комбінованої терапії. Elodie Lefebvre з колегами застосовували комбінацію ПГМБ, ЕДТА та протеаз у низьких концентраціях, що дало синергетичний ефект, який призводив до повної ерадикації щільних біоплівок *P.aeruginosa* [259].

Ciecholewska-Juško D дослідили феномен підвищення активності антисептика на основі ОКТ дигідрохлориду проти біоплівок *P.aeruginosa* за наявності обертового магнітного поля двох частот 5 та 50 Гц. Автори відзначили те, що комбінація обертового магнітного поля і ОКТ може бути особливо перспективною для знищення біоплівок, розташованих у таких областях, як ранові кишені, де фізичні перешкоди обмежують антисептичну активність [260].

*P.aeruginosa* володіє природною стійкістю до багатьох класів ліків, здатністю формувати біоплівки і, що найбільш важливо, здатністю швидко набувати стійкість після проведеного лікування. Одним із очевидних прикрих наслідків підвищеної резистентності до протимікробних препаратів є те, що бактерії часто лікують при концентрації нижче їх мінімальної інгібуючої концентрації [200].

Наприклад, щодо біоцидів взагалі, Daniel Vázquez з колегами зауважують, що в лікарнях, де циркулюють штами *P.aeruginosa* і *A.baumannii* з високою лікарською стійкістю, необхідно переглянути нові склади в протоколах очищення та дезінфекції. Також Rasha Gharieb з колегами повідомляють, що карбапенем-резистентний *P.aeruginosa* (CRPA) на інтенсивних тваринницьких фермах є серйозною проблемою, яка загрожує здоров'ю тварин і людей і підвищує ризик зараження *P.aeruginosa* в суспільстві, тому життєво важливо контролювати поширення CRPA шляхом обмеження використання антибіотиків і застосування належних протоколів очищення та дезінфекції на тваринницьких фермах [261, 262].

Регулярний моніторинг чутливості, розробка нових терапевтичних стратегій проти мультирезистентних *P.aeruginosa*, корекція вихідних концентрацій антисептиків з поправкою на полірезистентні штами і біоплівковий статус збудників є актуальними і важливими. Необхідно завжди зважати на потенційну присутність такого стійкого патогена, як *P.aeruginosa*. Лікувати, запобігати розповсюдженню, слідуючи стратегії «Єдине здоров'я». У всьому світі існує потреба в нових стратегіях лікування та досягнення якнайшвидшого загоєння ран, мінімізуючи дискомфорт пацієнта та появу рубців [263].

Бактерії із фенотипом множинної лікарської стійкості (MDR) стали серйозною загрозою в клініці. Виникнення множинної лікарської стійкості у бактерій стало



одним із найстрашніших викликів цього століття: зростає поширеність інфекцій, які важко лікувати, відповідні терапевтичні альтернативи відсутні [1, 2, 3].

Стратегія застосування антимікробних препаратів впливає з необхідності протидії резистентним мікроорганізмам і вимагає розумного застосування доступних антимікробних засобів і підходів до лікування для запобігання поширенню резистентності [76]. З іншого боку, місцеве застосування антибіотиків вважається недоцільним або неефективним у боротьбі з рановою біоплівкою [97]. Так як ефективне лікування ран сьогодні залежить від неантибіотичних протимікробних засобів, вчені покладають надії на використання антисептиків для лікування пацієнтів з рановими інфекціями, що дозволить замінити, доповнити (у разі глибоких ранових інфекцій) або посилити (потенціювати) дію антибіотиків для запобігання поширенню антибіотикорезистентних штамів [73].

Але не тільки активність лікарської сполуки, але і спосіб доставки впливає на численні фактори, які сприяють терапевтичній ефективності [28]. Тому, особливої уваги заслуговують активні ранові пов'язки на основі біоматеріалів, виготовлених із біосумісних полімерів з додаванням ефективних протимікробних сполук [64].

Полімер альгінат, завдяки сприятливим властивостям, як біосумісність і легкість гелеутворення, на сьогоднішній день став особливо привабливим для розробки біоматеріалів [140]. Полівініловий спирт (ПВС, PVA), при виготовленні композитних біоматеріалів, проявляє синергізм з додатковими функціональними компонентами, включаючи альгінат, у покращенні загоєння ран та покращуючи фізико-хімічні властивості біоматеріалів [138, 263].

Різні форми біоматеріалів (плівки, гідрогелі, піни та ін) з інтегрованими антимікробними препаратами було розроблено для посилення антибактеріального ефекту і для забезпечення контрольованого вивільнення активної сполуки [18].

Розробка та впровадження біоматеріалів у формі біоактивних, чи лікувальних ранових пов'язок з інтегрованими біоактивними молекулами (антисептиками) для досягнення контрольованого антибактеріального лікування є актуальною і перспективною. Зразки біоматеріалів із ДКМ виготовляли із альгінату кальцію, полівінілового спирту та антисептика ДКМ методом сольвентного лиття (методом

лиття із розчинника). Антибактеріальну активність розроблених біоматеріалів та комерційних ранових покриттів вивчали за допомогою загальноприйнятого методу дискової дифузії (Kirby-Bauer тест) з реєстрацією та порівнянням діаметрів зон затримки росту (ЗЗР).

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 ДКМ. Розроблені біоматеріали не поступалися 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 виявлялись найбільш активними.

Щодо *S.aureus* ATCC 25923 встановлено значно вищу антимікробну активність дослідних зразків біоматеріалів з ДКМ у порівнянні з срібло- та йод-вмісними антимікробними рановими покриттями в 1,97-2,11 та 1,73-1,86 рази відповідно. Подібною антимікробною активністю щодо референтного штаму золотистого стафілокока володіли усі дослідні зразки з ДКМ та ранові покриття Suprasorb® (19,31±0,17 мм), Guanpolisept® (19,13±0,12 мм), які містили в складі антисептик ПГМБ. Найвищою активністю проти клінічних штамів стафілококу володів біоматеріал з ДКМ №3, ЗЗР клінічних штамів *S.aureus* навколо якого достовірно були більшими за такі срібло- та йод-вмісних покриттів у 1,85-2,6 рази ( $p < 0,001$ ).

Найсильнішу дію на референтний та клінічні штами *E.coli* проявили біоматеріали з ДКМ №1-3 та №4 - Suprasorb®. Наприклад, ефективність зразка ДКМ 1 проти клінічних МЛС штамів *E.coli* була у 1,7-2,14 разів вищою за пов'язки зі сріблом та йодофорами ( $p < 0,001$ ).

Референтний штам *K.pneumoniae* ATCC 700603 виявся найбільш чутливим до Suprasorb®, Guanpolisept®, Bétadine® та зразків з ДКМ №1-3. Серед них найбільш ефективною було визначено дію зразків з ДКМ №1 та №2. Зони затримки росту навколо ДКМ №1 та ДКМ №2 перевищували такі навколо срібло-вмісних матеріалів у 2,34-2,84 рази ( $p < 0,001$ ). Клінічні штами виявились набагато толерантнішими, але

тенденція прояву чутливості *K.pneumoniae* до певних біоматеріалів прослідковувалась і у клінічних штамів. Найбільш активно проявили антимікробні властивості Suprasorb® та зразки з ДКМ.

В результаті вивчення активності біоматеріалів щодо референтних та клінічних штамів *A.baumannii* було виявлено схожі паттерни: найбільш ефективними були біоматеріали на основі ДКМ та ПГМБ. ЗЗР навколо ДКМ-вмісних зразків були більшими у 1,81-2,16 рази у порівнянні із срібло-вмісними ( $p < 0,001$ ) та у 1,62-1,68 рази в порівнянні із пов'язкою з повідон-йодом ( $p < 0,001$ ).

Зразки із ДКМ №1-3 виявилися найбільш ефективними щодо референтних та клінічних штамів *P.aeruginosa*, їх середні значення ЗЗР між собою достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ), і ефективність була рівноцінною, а достовірності різниці значень з іншими біоматеріалами були однаково високими ( $p < 0,001$ ). Наприклад, зразок №2ДКМ по відношенню до клінічних штамів *P.aeruginosa* у 1,48 рази був ефективнішим за №4-Suprasorb® ( $p < 0,001$ ), у 1,99 рази був ефективнішим за Silvercel® ( $p < 0,001$ ), у 1,66 рази - за Urgotul® ( $p < 0,001$ ), у 2,01 рази - за Guanpolisept® ( $p < 0,001$ ), у 1,32 рази - за Bétadine® ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, в результаті досліджень було виявлено високі антимікробні властивості комерційних біоматеріалів на основі антисептиків та нових антимікробних біоматеріалів на основі ДКМ, полівінілового спирту та альгінату кальцію.

Guíomar, A. J. з колегами теж повідомляють про високу антибактеріальну активність розроблених ними та контрольних комерційних (Suprasorb®) ПГМБ-вивільняючих мембран проти *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *S.aureus*, *E.coli* та *P.aeruginosa* на основі тесту дискової дифузії. Автори теж зазначають, що *P.aeruginosa* був тим видом бактерій, який найчастіше чинив опір антибактеріальній активності розроблених авторами біоматеріалів на основі ПГМБ та комерційних аналогів. У одному із масштабних досліджень, біоматеріали, завантажені 0,1% ПГМБ (polyhexamethylene biguanide, полігексаметилен-бігуанід), продемонстрували антибактеріальну активність, що перевищувала активність комерційного ранового покриття на основі срібла, але іноді поступалися еквівалентним мембранам,

завантаженим антисептиками ОКТ та повідон-йодом [17]. Garcia, L. V. зі співавторами виявили хороші антимікробні властивості казеїнових гідрогелевих пов'язок на основі ПГМБ або препарату Octiset® проти *S.aureus* та *P.aeruginosa*, а деякі зразки із ПГМБ виявились більш ефективними [264].

Слід зазначити, що срібло-вмісні біоматеріали були менш ефективними щодо сучасних ранових патогенів, ніж ЧАС-вмісні біоматеріали. Наші дані підтверджуються даними колег із інших країн. Eberlein, T з колегами виявили, що пов'язка із ПГМБ значно швидше та краще видаляє бактеріальне навантаження у пацієнтів з локально інфікованими чи критично колонізованими ранами, ніж пов'язки зі сріблом [265].

Stuermer, E. K та ін вивчали антибіоплівкову активність антимікробних пов'язок, в тому числі срібло-вмісних та ПГМБ-вмісних. Автори зазначають, що ранові пов'язки, що містять срібло, не виявляли бактеріостатичної чи бактерицидної активності у моделі біоплівки *P.aeruginosa*, тоді як пов'язка із ПГМБ продемонструвала значний інгібуючий ефект [266]. Dydak K, та ін. також виявили, що пов'язки, хемосорбовані ПГМБ або повідон-йодом забезпечують рівноцінну або навіть вищу антибіоплівкову активність, ніж пов'язки з вмістом молекул срібла [123]. Важливо, що ЧАС антисептики, наприклад ПГМБ, краще загоює рани, ніж срібло та повідон-йод, оскільки не пригнічує процес реепітелізації та інгібує протеолітичні ферменти. З цієї причини антисептики ЧАС мають переваги у при лікуванні уражень епітелію [25].

Матеріалознавство постійно надихається вимогами передових біомедичних проблем. Тканинна інженерія, зокрема, вимагає розумніших систем, здатних забезпечувати контрольоване вивільнення лікарських речовин [224]. Антисептики як терапевтичний засіб для місцевого лікування викликають все більший інтерес задля зменшення використання антибіотиків і сприяння ефективному лікуванню інфекцій, викликаних резистентними штамми. Важливою потребою у розробці та застосуванні антимікробних біоматеріалів у формі ранових пов'язок є тривале вивільнення антисептичних сполук для лікування інфекцій, пов'язаних із наданням медичної допомоги [225].

З огляду на це, важливою задачею було дослідження кінетики вивільнення ДКМ із розроблених біоматеріалів. Аналізуючи кінетичні дані всіх семи зразків, отримані під час випробувань, слід зазначити, що вивільнення лікарського засобу залежало від часу і не залежало від концентрації лікарського засобу або варіанту композиції матриці.

Із двох зразків із високим вмістом ДКМ – 0,1% (№4 та №6), тільки для зразка №4 були характерні більш високі концентрації вивільненого засобу на пізніх етапах досліджу (починаючи з другої доби), в порівнянні з іншими зразками. На першу годину досліджу профілі вивільнення ДКМ із зразків біоматеріалів були рівнозначними: концентрації коливались від  $4,61 \pm 1,07$  до  $5,51 \pm 1,07$  мкг/мл. До того ж, слід зазначити, що не було «вибухового вивільнення», що завжди важливо досягнути у розробці систем контрольованого вивільнення. Оцінка кінетики вивільнення ДКМ із зразків показала, що протягом 24 годин створювалась достатня концентрація для забезпечення цидного ефекту на всі МЛС штами досліджених ранових патогенів, в тому числі МЛС *P.aeruginosa*.

Будь-яке антимікробне лікування має бути ефективним, але не спричиняти подальшого розвитку резистентності. Rippon, M. G з колегами підкреслюють необхідність розробки нових, вдосконалених або альтернативних методів лікування, які не погіршуватимуть ситуацію. Вчені наголошують, що деякі антисептики належать до цієї категорії, і, зокрема, ЧАС-антисептики, які мають певні характеристики, які роблять їх ідеальним в боротьбі з антибіотикорезистентними збудниками при лікуванні ран [76].

## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального науково-практичного завдання щодо підвищення ефективності методів профілактики та лікування ранових інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, на основі результатів дослідження і оцінки ефективності сучасних антисептичних засобів, шляхом мікробіологічного обґрунтування оптимального вибору антибактеріальних препаратів з урахуванням антибіотикорезистентності сучасних збудників інфекційних ускладнень для розробки антимікробних біоматеріалів як депо-систем з контрольованим вивільненням активної речовини. Досліджено дію сучасних антисептиків на штами ранових патогенів з ознаками множинної лікарської стійкості у планктонній та біоплівковій формі, оцінено їх активність та цидну дію. Розроблено нові антимікробні біоматеріали на основі альгінату кальцію, полівінілового спирту та ДКМ з перспективою застосування у формі ранового покриття. Оцінено антимікробні властивості нових біоматеріалів шляхом дослідження та порівняння ефективності сучасних комерційно доступних ранових покриттів та розроблених засобів. Доведено, що нові антимікробні біоматеріали здатні підтримувати контрольоване вивільнення активної речовини та забезпечувати її достатню локальну концентрацію.

1. Референтні та клінічні полірезистентні штами сучасних ранових патогенів у планктонній формі *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii* та *P.aeruginosa* є чутливими до антисептичних препаратів на основі ЧАС та йодофорів. Всі засоби проявляють переважно бактерицидні властивості, про що свідчить коефіцієнт співвідношення МБцК/ МІК менший 4-х. ДКМ та ДС характеризуються високими показниками антимікробної ефективності. ДКМ та ДС проявляють найсильнішу дію проти МЛС *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*; ДКМ, ДС та ОКТ є найефективнішими проти МЛС *A.baumannii*.

2. Аналіз показників ІАА виявив недостатню ефективність повідон-йоду у рекомендованій концентрації 1% проти мультирезистентної *E.coli* та МЛС *K.pneumoniae*, а також концентрації вихідного розчину препарату МРМ (0.01%)

недостатньо для профілактики і лікування інфекційних ускладнень, спричинених МЛС штамми *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 МРМ в концентрації 0,01 % проти МЛС *E.coli* (БС ІАА=5,7; БЦ ІАА=3,3), що ставить під сумнів доцільність застосування цих антисептиків у такій концентрації.

3. ДКМ, ПГМБ та повідон-йод виявляють найбільш виражений ефект пригнічення утворення біоплівок МЛС штамми *K.pneumoniae*. Через значне пригнічення утворення біоплівки та позитивну кореляцію ( $r=0,5$ ) цієї властивості з чутливістю МЛС штамів *K.pneumoniae* до ДКМ, його слід розглядати як ефективний антибіоплівковий засіб. ОКТ, ХГ та ДКМ у суб-МІК концентраціях демонструють найефективніший інгібуючий вплив на формування біоплівки штамми *S.aureus*. ХГ, ДКМ і ПГМБ мають високу активність проти утворення біоплівки клінічними ізолятами МЛС *E.coli*. У присутності суббактеріостатичних концентрацій ХГ та ПГМБ біоплівкоутворювальні властивості штамів *E.coli* позитивно корелюють з їх чутливістю ( $r=0,49$  та  $r=0,11$  відповідно). ДКМ у суббактеріостатичних концентраціях найбільш ефективно пригнічує утворення біоплівки, і кореляція є негативною ( $r=-0,67$ ), що свідчить про те, що здатність ефективно пригнічувати утворення біоплівки залежить від концентрації препарату. Суббактеріостатичні концентрації ДКМ значно пригнічують утворення біоплівки *A.baumannii*. Ця властивість обернено корелює з чутливістю штамів до ДКМ ( $r= - 0,76$ ). Антибіоплівкова активність ХГ позитивно корелює з чутливістю *A.baumannii* до цього антисептика ( $r=0,15$ ). Всі тестовані антисептики є ефективними проти біоплівки *P.aeruginosa*. ОКТ в суб-МІК концентраціях демонструє найсильніший вплив на незрілу біоплівку *P.aeruginosa*. Здатність МЛС штамів *P.aeruginosa* формувати біоплівки в присутності суббактеріостатичних концентрацій антисептиків та чутливість цих ізолятів до антисептиків характеризуються негативною кореляцією. Чутливість до впливу

антисептиків культур, що знаходяться в зрілих біоплівках, є значно нижчою. Тестовані концентрації антисептиків не руйнують сформовану біоплівку більш ніж на 42,4 %.

4. Зразки біоматеріалів із ДКМ виготовляли із альгінату кальцію, полівінілового спирту та антисептика ДКМ методом сольвентного лиття (методом лиття із розчинника). На етапі скринінгу було доведено високі протимікробні властивості досліджуваних зразків антимікробних біоматеріалів на основі альгінату кальцію, полівінілового спирту та ДКМ. Композиція не поступається протимікробній дії розчину ДКМ щодо всіх штамів мікроорганізмів. Оптимально ефективними концентраціями ДКМ у складі зразків біоматеріалів були 0,04% та 0,06%. Для подальших розробок та порівняльного дослідження до складу біоматеріалів включили ДКМ у концентрації 0,05%, 0,06% та 0.1%.

5. 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 ДКМ (0,05 – 0,1 %). Розроблені біоматеріали не поступаються сучасним ефективним рановим покриттям на основі катіонних детергентів та срібло-вмісним покриттям, активно пригнічують ріст референтних та клінічних штамів *K.pneumoniae*, *A. baumannii*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* та *E.coli*, часто демонструють найкращий ефект. Найвищою антистафілококовою активністю володіють біоматеріали на основі 0,05 – 0,1 % ДКМ, альгінату кальцію та полівінілового спирту, а також Suprasorb<sup>®</sup>, Guanpolisept<sup>®</sup> та Bétadine<sup>®</sup>. Найвищою активністю проти клінічних штамів стафілококу володіє біоматеріал з 0,05 % ДКМ, 33Р клінічних штамів *S.aureus* навколо якого достовірно є більшими за такі срібло- та йод-вмісних покриттів у 1,85-2,6 рази ( $p < 0,001$ ). Найсильнішу дію на референтний та клінічні штами *E.coli* проявляють біоматеріали з ДКМ (0,05 – 0,1 %) та Suprasorb<sup>®</sup>. Ефективність зразка ДКМ №1 проти клінічних МЛС штамів *E.coli* є у 1,7-2,14 разів вищою за пов'язки зі сріблом та йодофорами ( $p < 0,001$ ). Клінічні штами *K.pneumoniae* найбільш чутливі до Suprasorb<sup>®</sup> та зразків з ДКМ. Найбільш ефективними були біоматеріали на основі ДКМ та ПГМБ. 33Р референтних та клінічних штамів *A.baumannii* навколо ДКМ-



вмісних зразків перевищують у 1,81-2,16 рази ЗЗР навколо срібло-вмісних ( $p < 0,001$ ) та у 1,62-1,68 рази навколо пов'язок з йодофорами ( $p < 0,001$ ). Зразки із ДКМ (0,05 – 0,1 %) є найбільш ефективними щодо референтних та клінічних штамів *P.aeruginosa*, їх ефективність є рівноцінною, а достовірності різниці значень з іншими біоматеріалами однаково високі ( $p < 0,001$ ). Срібло-вмісні біоматеріали менш ефективні щодо сучасних ранових патогенів, ніж ЧАС-вмісні біоматеріали.

6. Біоматеріали всіх тестованих композицій здатні підтримувати контрольоване вивільнення лікарської речовини (ДКМ) протягом 120 год. Оцінка кінетики вивільнення ДКМ свідчить про те, що протягом 24 год створюється достатня концентрація для забезпечення цидного ефекту на всі МЛС штами досліджених ранових патогенів, в тому числі МЛС *P. aeruginosa*.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., Dhama, K., Ripon, M. K. H., Gajdács, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, M. J., & Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of infection and public health*, 14(12), 1750–1766. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>
2. Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., Nisar, M. A., Alvi, R. F., Aslam, M. A., Qamar, M. U., Salamat, M. K. F., & Baloch, Z. (2018). Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and drug resistance*, 11, 1645–1658. <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>
3. Nathan, C., & Cars, O. (2014). Antibiotic resistance--problems, progress, and prospects. *The New England journal of medicine*, 371(19), 1761–1763. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1408040>
4. Behzadi, P., Gajdács, M., Pallós, P., Ónodi, B., Stájer, A., Matusovits, D., Kárpáti, K., Burián, K., Battah, B., Ferrari, M., Doria, C., Caggiari, G., Khusro, A., Zanetti, S., & Donadu, M. G. (2022). Relationship between Biofilm-Formation, Phenotypic Virulence Factors and Antibiotic Resistance in Environmental *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 11(9), 1015. <https://doi.org/10.3390/pathogens11091015>
5. Global Antibiotic Research and Development Partnership (GARDP): GARDP and CARB-X welcome renewed commitment by G7 leaders to address antimicrobial resistance. [(accessed on 12 July 2022)]. Available online: <http://www.gardp.org/news-resources/gardp-and-carb-x-welcome-renewed-commitment-by-g7-leaders-to-address-antimicrobial-resistance/>
6. JPIAMR – Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance. (n.d.). Retrieved April 22, 2024, from <https://www.jpiamr.eu>
7. CDC. (2019). One Health. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/onehealth/index.html>

8. Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and molecular biology reviews* : MMBR, 74(3), 417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
9. Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(18), 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
10. Hernando-Amado, S., Coque, T. M., Baquero, F., & Martínez, J. L. (2019). Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nature microbiology*, 4(9), 1432–1442. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0503-9>
11. Aslam, B., Khurshid, M., Arshad, M. I., Muzammil, S., Rasool, M., Yasmeen, N., Shah, T., Chaudhry, T. H., Rasool, M. H., Shahid, A., Xueshan, X., & Baloch, Z. (2021). Antibiotic Resistance: One Health One World Outlook. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 771510. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.771510>
12. Samreen, Ahmad, I., Malak, H. A., & Abulreesh, H. H. (2021). Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health. *Journal of global antimicrobial resistance*, 27, 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.08.001>
13. Abd El-Ghany W. A. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* infection of avian origin: Zoonosis and one health implications. *Veterinary world*, 14(8), 2155–2159. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2155-2159>
14. Hoekstra, M.J.; Westgate, S.J.; Mueller, S. Povidone-iodine ointment demonstrates in vitro efficacy against biofilm formation. *Int. Wound J.* 2017, 14, 172–179.
15. Centers for Disease Control and Prevention. (2019). Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS in the UNITED STATES. <https://doi.org/10.15620/cdc:82532>
16. Dissemond, J., Gerber, V., Lobmann, R., Kramer, A., Mastronicola, D., Senneville, E., Moisan, C., Edwards-Jones, V., Mahoney, K., Junka, A., Bartoszewicz, M., Verdú-Soriano, J., & Strohal, R. (2020). Therapeutic index for local infections score (TILI):

a new diagnostic tool. *Journal of wound care*, 29(12), 720–726.  
<https://doi.org/10.12968/jowc.2020.29.12.720>

17. Guiomar, A. J., & Urbano, A. M. (2022). Polyhexanide-Releasing Membranes for Antimicrobial Wound Dressings: A Critical Review. *Membranes*, 12(12), 1281.  
<https://doi.org/10.3390/membranes12121281>

18. Liang, Y., Liang, Y., Zhang, H., & Guo, B. (2022). Antibacterial biomaterials for skin wound dressing. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 17(3), 353–384.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2022.01.001>

19. Maillard, J. Y., Kampf, G., & Cooper, R. (2021). Antimicrobial stewardship of antiseptics that are pertinent to wounds: the need for a united approach. *JAC-antimicrobial resistance*, 3(1), dlab027. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab027>

20. Boateng, J., & Catanzano, O. (2015). Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing—A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104(11), 3653–3680. <https://doi.org/10.1002/jps.24610>

21. Da Silva, J., Leal, E. C., Carvalho, E., & Silva, E. A. (2023). Innovative Functional Biomaterials as Therapeutic Wound Dressings for Chronic Diabetic Foot Ulcers. *International journal of molecular sciences*, 24(12), 9900.  
<https://doi.org/10.3390/ijms24129900>

22. Yu, R., Zhang, H., & Guo, B. (2021). Conductive Biomaterials as Bioactive Wound Dressing for Wound Healing and Skin Tissue Engineering. *Nano-micro letters*, 14(1), 1. <https://doi.org/10.1007/s40820-021-00751-y>

23. Guo, B., Dong, R., Liang, Y., & Li, M. (2021). Haemostatic materials for wound healing applications. *Nature reviews. Chemistry*, 5(11), 773–791.  
<https://doi.org/10.1038/s41570-021-00323-z>

24. Alves, P. J., Gryson, L., Hajjar, J., Lepelletier, D., Reners, M., Rodríguez Salazar, J., & Simon, A. (2023). Role of antiseptics in the prevention and treatment of infections in nursing homes. *The Journal of hospital infection*, 131, 58–69.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2022.09.021>

25. Babalska, Z. Ł., Korbecka-Paczkowska, M., & Karpiński, T. M. (2021). Wound Antiseptics and European Guidelines for Antiseptic Application in Wound Treatment. *Pharmaceuticals*, 14(12), 1253. <https://doi.org/10.3390/ph14121253>
26. Кондратюк, В. М. (2017). Антимікробна дія антисептичних препаратів на клінічні штами мікроорганізмів, що контамінують бойові поранення кінцівок. *Проблеми військової охорони здоров'я*, 47, 277–284. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/prvozd\\_2017\\_47\\_34](http://nbuv.gov.ua/UJRN/prvozd_2017_47_34)
27. Assadian, O. (2016). Octenidine dihydrochloride: chemical characteristics and antimicrobial properties. *Journal of Wound Care*, 25(Sup3), S3–S6. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.sup3.s3>
28. Fenton, O. S., Olafson, K. N., Pillai, P. S., Mitchell, M. J., & Langer, R. (2018). Advances in Biomaterials for Drug Delivery. *Advanced materials* (Deerfield Beach, Fla.), e1705328. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/adma.201705328>
29. Martí, M., Frígols, B., & Serrano-Aroca, A. (2018). Antimicrobial Characterization of Advanced Materials for Bioengineering Applications. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (138), 57710. <https://doi.org/10.3791/57710>
30. Da Silva, J., Leal, E. C., Carvalho, E., & Silva, E. A. (2023). Innovative Functional Biomaterials as Therapeutic Wound Dressings for Chronic Diabetic Foot Ulcers. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 9900. <https://doi.org/10.3390/ijms24129900>
31. Simões, D., Miguel, S. P., Ribeiro, M. P., Coutinho, P., Mendonça, A. G., & Correia, I. J. (2018). Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 127, 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.02.022>
32. Jeong, W. Y., Kwon, M., Choi, H. E., & Kim, K. S. (2021). Recent advances in transdermal drug delivery systems: a review. *Biomaterials research*, 25(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s40824-021-00226-6>
33. Prete, S., Dattilo, M., Patitucci, F., Pezzi, G., Parisi, O. I., & Puoci, F. (2023). Natural and Synthetic Polymeric Biomaterials for Application in Wound

Management. Journal of Functional Biomaterials, 14(9), 455.  
<https://doi.org/10.3390/jfb14090455>

34. Oleksy, M., Dynarowicz, K., & Aebisher, D. (2023). Advances in Biodegradable Polymers and Biomaterials for Medical Applications—A Review. *Molecules*, 28(17), 6213. <https://doi.org/10.3390/molecules28176213>

35. Birajdar, M. S., Joo, H., Koh, W.-G., & Park, H. (2021). Natural bio-based monomers for biomedical applications: a review. *Biomaterials Research*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s40824-021-00208-8>

36. Mazzoni, E., Iaquinta, M. R., Lanzillotti, C., Mazziotta, C., Maritati, M., Montesi, M., Sprio, S., Tampieri, A., Tognon, M., & Martini, F. (2021). Bioactive Materials for Soft Tissue Repair. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.613787>

37. Chelu, M., & Musuc, A. M. (2023). Advanced Biomedical Applications of Multifunctional Natural and Synthetic Biomaterials. *Processes*, 11(9), 2696. <https://doi.org/10.3390/pr11092696>

38. Valentine, K. P., & Viacheslav, K. M. (2017). Bacterial flora of combat wounds from eastern Ukraine and time-specified changes of bacterial recovery during treatment in Ukrainian military hospital. *BMC Research Notes*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2481-4>

39. David Franklyn Williams. (1987). *Definitions in Biomaterials*. Elsevier Publishing Company.

40. Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E., & Leong, K. W. (2001). Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. *Composites Science and Technology*, 61(9), 1189–1224. [https://doi.org/10.1016/s0266-3538\(00\)00241-4](https://doi.org/10.1016/s0266-3538(00)00241-4)

41. Vert, M., Doi, Y., Hellwich, K.-H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., Rinaudo, M., & Schué, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84(2), 377–410. <https://doi.org/10.1351/pac-rec-10-12-04>

42. Pahlevanzadeh, F., Setayeshmehr, M., Bakhsheshi-Rad, H. R., Emadi, R., Kharaziha, M., Poursamar, S. A., Ismail, A. F., Sharif, S., Chen, X., & Berto, F. (2022). A

Review on Antibacterial Biomaterials in Biomedical Applications: From Materials Perspective to Bioprinting Design. *Polymers*, 14(11), 2238. <https://doi.org/10.3390/polym14112238>

43. Bhat, S., & Kumar, A. (2013). Biomaterials and bioengineering tomorrow's healthcare. *Biomater*, 3(3), e24717. <https://doi.org/10.4161/biom.24717>

44. Zhang, X., & Williams, D. (2019). *Definitions of Biomaterials for the Twenty-First Century*. Elsevier.

45. Hodge, J. G., Zamierowski, D. S., Robinson, J. L., & Mellott, A. J. (2022). Evaluating polymeric biomaterials to improve next generation wound dressing design. *Biomaterials Research*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s40824-022-00291-5>

46. Zhang, K., Mikos, A. G., Reis, R. L., & Zhang, X. (2022). Translation of biomaterials from bench to clinic. *Bioactive materials*, 18, 337–338. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.02.005>

47. Behera, A. (2021). Biomaterials. *Advanced Materials*, 439–467. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-80359-9\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-030-80359-9_13)

48. Jurak, M., Wiącek, A. E., Ładniak, A., Przykaza, K., & Szafran, K. (2021). What affects the biocompatibility of polymers? *Advances in Colloid and Interface Science*, 294, 102451. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102451>

49. Bienek, D. R., Tutak, W., & Skrtic, D. (2017). Bioactive Polymeric Materials for Tissue Repair. *Journal of functional biomaterials*, 8(1), 4. <https://doi.org/10.3390/jfb8010004>

50. Aramwit, P. (2016). Introduction to biomaterials for wound healing. *Wound Healing Biomaterials*, 3–38. <https://doi.org/10.1016/b978-1-78242-456-7.00001-5>

51. Nour, S., Baheiraei, N., Imani, R., Khodaei, M., Alizadeh, A., Rabiee, N., & Moazzeni, S. M. (2019). A review of accelerated wound healing approaches: biomaterial-assisted tissue remodeling. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 30(10), 120. <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6319-6>

52. Joyce, K., Fabra, G. T., Bozkurt, Y., & Pandit, A. (2021). Bioactive potential of natural biomaterials: identification, retention and assessment of biological

- properties. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 1–28. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00512-8>
53. Dahman, Y. (2019). *Biomaterials Science and Technology: Fundamentals and Developments*. CRC Press. ISBN 0429878346, 9780429878343
54. Miron, A., Calin Giurcaneanu, Mara Mădălina Mihai, Beiu, C., Vlad Mihai Voiculescu, Popescu, M., Soare, E., & Liliana Gabriela Popa. (2023). Antimicrobial Biomaterials for Chronic Wound Care. *Pharmaceutics*, 15(6), 1606–1606. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061606>
55. Al-Shalawi, F. D., Mohamed Ariff, A. H., Jung, D.-W., Mohd Ariffin, M. K. A., Seng Kim, C. L., Brabazon, D., & Al-Osaimi, M. O. (2023). Biomaterials as Implants in the Orthopedic Field for Regenerative Medicine: Metal versus Synthetic Polymers. *Polymers*, 15(12), 2601. <https://doi.org/10.3390/polym15122601>
56. Su, J., Li, J., Liang, J., Zhang, K., & Li, J. (2021). Hydrogel Preparation Methods and Biomaterials for Wound Dressing. *Life*, 11(10), 1016. <https://doi.org/10.3390/life11101016>
57. Won Fen Wong, Kuan Ping Ang, Sethi, G., & Chung Yeng Looi. (2023). Recent Advancement of Medical Patch for Transdermal Drug Delivery. *Medicina (Kaunas)*, 59(4), 778–778. <https://doi.org/10.3390/medicina59040778>
58. Hardenia, A., Maheshwari, N., Hardenia, S. S., Dwivedi, S. K., Maheshwari, R., & Tekade, R. K. (2019). Scientific Rationale for Designing Controlled Drug Delivery Systems. *Basic Fundamentals of Drug Delivery*, 1–28. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817909-3.00001-7>
59. Grammatikopoulou, M. G., Gkiouras, K., Dardiotis, E., Zafiriou, E., Tsigalou, C., & Bogdanos, D. P. (2021). Peeking into the future: Transdermal patches for the delivery of micronutrient supplements. *Metabolism Open*, 11, 100109. <https://doi.org/10.1016/j.metop.2021.100109>
60. Catanzano, O., & Boateng, J. (2020). Local Delivery of Growth Factors Using Wound Dressings. *Therapeutic Dressings and Wound Healing Applications*, 291–314. <https://doi.org/10.1002/9781119433316.ch13>



61. Vivcharenko, V., Trzaskowska, M., & Przekora, A. (2023). Wound Dressing Modifications for Accelerated Healing of Infected Wounds. *International journal of molecular sciences*, 24(8), 7193. <https://doi.org/10.3390/ijms24087193>
62. Whittam, A. J., Maan, Z. N., Duscher, D., Wong, V. W., Barrera, J. A., Januszyk, M., & Gurtner, G. C. (2016). Challenges and Opportunities in Drug Delivery for Wound Healing. *Advances in wound care*, 5(2), 79–88. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0600>
63. Park, J. W., Hwang, S. R., & Yoon, I. S. (2017). Advanced Growth Factor Delivery Systems in Wound Management and Skin Regeneration. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(8), 1259. <https://doi.org/10.3390/molecules22081259>
64. Moeini, A., Pedram, P., Makvandi, P., Malinconico, M., & Gomez d'Ayala, G. (2020). Wound healing and antimicrobial effect of active secondary metabolites in chitosan-based wound dressings: A review. *Carbohydrate polymers*, 233, 115839. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115839>
65. Mandla, S., Davenport Huyer, L., & Radisic, M. (2018). Review: Multimodal bioactive material approaches for wound healing. *APL bioengineering*, 2(2), 021503. <https://doi.org/10.1063/1.5026773>
66. Doderò, A., Scarfi, S., Pozzolini, M., Vicini, S., Alloisio, M., & Castellano, M. (2020). Alginate-Based Electrospun Membranes Containing ZnO Nanoparticles as Potential Wound Healing Patches: Biological, Mechanical, and Physicochemical Characterization. *ACS applied materials & interfaces*, 12(3), 3371–3381. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b17597>
67. Mir, M., Ali, M. N., Barakullah, A., Gulzar, A., Arshad, M., Fatima, S., & Asad, M. (2018). Synthetic polymeric biomaterials for wound healing: a review. *Progress in Biomaterials*, 7(1), 1–21. <https://doi.org/10.1007/s40204-018-0083-4>
68. Falk, N. A. (2019). Surfactants as Antimicrobials: A Brief Overview of Microbial Interfacial Chemistry and Surfactant Antimicrobial Activity. *Journal of Surfactants and Detergents*, 22(5). <https://doi.org/10.1002/jsde.12293>
69. Maillard, J. Y., Bloomfield, S. F., Courvalin, P., Essack, S. Y., Gandra, S., Gerba, C. P., Rubino, J. R., & Scott, E. A. (2020). Reducing antibiotic prescribing and

addressing the global problem of antibiotic resistance by targeted hygiene in the home and everyday life settings: A position paper. *American journal of infection control*, 48(9), 1090–1099. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2020.04.011>

70. Gilbert, P., & Moore, L. E. (2005). Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of applied microbiology*, 99(4), 703–715. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x>

71. Kramer, A., Dissemmond, J., Kim, S., Willy, C., Mayer, D., Papke, R., Tuchmann, F., & Assadian, O. (2018). Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. *Skin pharmacology and physiology*, 31(1), 28–58. <https://doi.org/10.1159/000481545>

72. Assadian, O. (2016). Octenidine dihydrochloride: chemical characteristics and antimicrobial properties. *Journal of Wound Care*, 25(Sup3), S3–S6. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.sup3.s3>

73. Puca, V., Marulli, R. Z., Grande, R., Vitale, I., Niro, A., Molinaro, G., Prezioso, S., Muraro, R., & Di Giovanni, P. (2021). Microbial Species Isolated from Infected Wounds and Antimicrobial Resistance Analysis: Data Emerging from a Three-Years Retrospective Study. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 10(10), 1162. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10101162>

74. Guan, H., Dong, W., Lu, Y., Jiang, M., Zhang, D., Aobuliximu, Y., Dong, J., Niu, Y., Liu, Y., Guan, B., Tang, J., & Lu, S. (2021). Distribution and Antibiotic Resistance Patterns of Pathogenic Bacteria in Patients With Chronic Cutaneous Wounds in China. *Frontiers in Medicine*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.609584>

75. Worsley, A., Vassileva, K., Tsui, J., Song, W., & Good, L. (2019). Polyhexamethylene Biguanide:Polyurethane Blend Nanofibrous Membranes for Wound Infection Control. *Polymers*, 11(5), 915. <https://doi.org/10.3390/polym11050915>

76. Rippon, M. G., Rogers, A. A., & Ousey, K. (2023). Polyhexamethylene biguanide and its antimicrobial role in wound healing: a narrative review. *Journal of wound care*, 32(1), 5–20. <https://doi.org/10.12968/jowc.2023.32.1.5>

77. Ramasamy, S., Muthusamy, S., Nagarajan, S., Nath, A. V., Savarimuthu, J. S., Jayaprakash, J., & Gurunadhan, R. M. (2022). Fabrication of collagen with polyhexamethylene biguanide: A potential scaffold for infected wounds. *Journal of*

biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials, 110(3), 535–546. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34933>

78. Rodrigues, A. M., Silva, S. Y. S., Oliveira, M. N., de Oliveira, G. C. A., Novais, A. L. F., de Paula, G. F., Souza, D. N., Belo, E. A., Gester, R., & Andrade-Filho, T. (2021). Prediction of electronic and vibrational properties of poly (hexamethylene biguanide) hydrochloride: A combined theoretical and experimental investigation. *Journal of Molecular Structure*, 1246, 131176. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131176>

79. Dabiri, G., Damstetter, E., & Phillips, T. (2016). Choosing a Wound Dressing Based on Common Wound Characteristics. *Advances in Wound Care*, 5(1), 32–41. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0586>

80. Mayet, N., Choonara, Y. E., Kumar, P., Tomar, L. K., Tyagi, C., Du Toit, L. C., & Pillay, V. (2014). A comprehensive review of advanced biopolymeric wound healing systems. *Journal of pharmaceutical sciences*, 103(8), 2211–2230. <https://doi.org/10.1002/jps.24068>

81. Mogoşanu, G. D., & Grumezescu, A. M. (2014). Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *International journal of pharmaceutics*, 463(2), 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.12.015>

82. Murilo Santos Pacheco, Gustavo Eiji Kano, de, L., Patricia Santos Lopes, & Agostini, M. (2020). Silk fibroin/chitosan/alginate multilayer membranes as a system for controlled drug release in wound healing. 152, 803–811. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.140>

83. Brumberg, V., Astrelina, T., Malivanova, T., & Samoilov, A. (2021). Modern Wound Dressings: Hydrogel Dressings. *Biomedicines*, 9(9), 1235. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9091235>

84. Alven, S., Nqoro, X., & Aderibigbe, B. A. (2020). Polymer-Based Materials Loaded with Curcumin for Wound Healing Applications. *Polymers*, 12(10), 2286. <https://doi.org/10.3390/polym12102286>

85. Weller, C. D., Team, V., & Sussman, G. (2020). First-Line Interactive Wound Dressing Update: A Comprehensive Review of the Evidence. *Frontiers in pharmacology*, 11, 155. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00155>

86. Przekora, A. (2020). A Concise Review on Tissue Engineered Artificial Skin Grafts for Chronic Wound Treatment: Can We Reconstruct Functional Skin Tissue In Vitro? *Cells*, 9(7), 1622. <https://doi.org/10.3390/cells9071622>
87. Borbolla-Jiménez, F. V., Peña-Corona, S. I., Farah, S. J., Jiménez-Valdés, M. T., Pineda-Pérez, E., Romero-Montero, A., Del Prado-Audelo, M. L., Bernal-Chávez, S. A., Magaña, J. J., & Leyva-Gómez, G. (2023). Films for Wound Healing Fabricated Using a Solvent Casting Technique. *Pharmaceutics*, 15(7), 1914. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071914>
88. Kamińska, M. S., Cybulska, A. M., Skonieczna-Żydecka, K., Augustyniuk, K., Grochans, E., & Karakiewicz, B. (2020). Effectiveness of Hydrocolloid Dressings for Treating Pressure Ulcers in Adult Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(21), 7881. <https://doi.org/10.3390/ijerph17217881>
89. Bashir, S., Hina, M., Iqbal, J., Rajpar, A. H., Mujtaba, M. A., Alghamdi, N. A., Wageh, S., Ramesh, K., & Ramesh, S. (2020). Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications. *Polymers*, 12(11), 2702. <https://doi.org/10.3390/polym12112702>
90. Morello, G., Polini, A., Scalera, F., Rizzo, R., Gigli, G., & Gervaso, F. (2021). Preparation and Characterization of Salt-Mediated Injectable Thermosensitive Chitosan/Pectin Hydrogels for Cell Embedding and Culturing. *Polymers*, 13(16), 2674–2674. <https://doi.org/10.3390/polym13162674>
91. Gan, J.-E., & Chin, C.-Y. (2021). Formulation and characterisation of alginate hydrocolloid film dressing loaded with gallic acid for potential chronic wound healing. *F1000Research*, 10, 451. <https://doi.org/10.12688/f1000research.52528.1>
92. Aderibigbe, B. A. (2022). Hybrid-Based Wound Dressings: Combination of Synthetic and Biopolymers. *Polymers*, 14(18), 3806. <https://doi.org/10.3390/polym14183806>
93. Villota, I., Calvo, P. C., Campo, O. I., Villarreal-Gómez, L. J., & Fonthal, F. (2022). Manufacturing of a Transdermal Patch in 3D Printing. *Micromachines*, 13(12), 2190. <https://doi.org/10.3390/mi13122190>

94. Pillai, M. M., Dandia, H., Checker, R., Rokade, S., Sharma, D., & Tayalia, P. (2022). Novel combination of bioactive agents in bilayered dermal patches provides superior wound healing. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 40, 102495. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2021.102495>
95. Price, L. B., Liu, C. M., Melendez, J. H., Frankel, Y. M., Engelthaler, D., Aziz, M., Bowers, J., Rattray, R., Ravel, J., Kingsley, C., Keim, P. S., Lazarus, G. S., & Zenilman, J. M. (2009). Community Analysis of Chronic Wound Bacteria Using 16S rRNA Gene-Based Pyrosequencing: Impact of Diabetes and Antibiotics on Chronic Wound Microbiota. *PLoS ONE*, 4(7), e6462. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006462>
96. Kalan, L., Loesche, M., Hodkinson, B. P., Heilmann, K., Ruthel, G., Gardner, S. E., & Grice, E. A. (2016). Redefining the Chronic-Wound Microbiome: Fungal Communities Are Prevalent, Dynamic, and Associated with Delayed Healing. *MBio*, 7(5). <https://doi.org/10.1128/mbio.01058-16>
97. Krasowski, G., Junka, A., Paleczny, J., Czajkowska, J., Makomaska-Szaroszyk, E., Chodaczek, G., Majkowski, M., Migdał, P., Fijałkowski, K., Kowalska-Krochmal, B., & Bartoszewicz, M. (2021). In Vitro Evaluation of Polihexanide, Octenidine and NaClO/HClO-Based Antiseptics against Biofilm Formed by Wound Pathogens. *Membranes*, 11(1), 62. <https://doi.org/10.3390/membranes11010062>
98. Di Domenico, E., Farulla, I., Prignano, G., Gallo, M., Vespaziani, M., Cavallo, I., Sperduti, I., Pontone, M., Bordignon, V., Cilli, L., De Santis, A., Di Salvo, F., Pimpinelli, F., Lesnoni La Parola, I., Toma, L., & Ensoli, F. (2017). Biofilm is a Major Virulence Determinant in Bacterial Colonization of Chronic Skin Ulcers Independently from the Multidrug Resistant Phenotype. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(5), 1077. <https://doi.org/10.3390/ijms18051077>
99. James, G. A., Swogger, E., Wolcott, R., Pulcini, E.d, Secor, P., Sestrich, J., Costerton, J. W., & Stewart, P. S. (2008). Biofilms in chronic wounds. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 16(1), 37–44. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00321.x>

100. Black, C. E., & Costerton, J. W. (2010). Current concepts regarding the effect of wound microbial ecology and biofilms on wound healing. *The Surgical clinics of North America*, 90(6), 1147–1160. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2010.08.009>

101. Hale, S. J. M., Wagner Mackenzie, B., Lux, C. A., Biswas, K., Kim, R., & Douglas, R. G. (2022). Topical Antibiofilm Agents With Potential Utility in the Treatment of Chronic Rhinosinusitis: A Narrative Review. *Frontiers in pharmacology*, 13, 840323. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.840323>

102. Davis, S. C., Harding, A., Gil, J., Parajon, F., Valdes, J., Solis, M., & Higa, A. (2017). Effectiveness of a polyhexanide irrigation solution on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms in a porcine wound model. *International wound journal*, 14(6), 937–944. <https://doi.org/10.1111/iwj.12734>

103. Палій, В. Г., Назарчук, О. А., Палій, Д. В., & Яковець, К. І. (2017). Обґрунтування медичного застосування антимікробних засобів, що містять декаметоксин®. *Буковинський медичний вісник*, 21, № 1, 100–105. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv\\_2017\\_21\\_1\\_23](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2017_21_1_23)

104. Палій, Г. К., Назарчук, О. А., Гончар, О. О., Коваленко, І. В., & Яцула, О. В. (2016). Дослідження фізико-хімічних, протимікробних властивостей лікарського препарату Декаметоксин®”. *Медична та клінічна хімія*, 18, № 1, 36–44. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Medkh\\_2016\\_18\\_1\\_7](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Medkh_2016_18_1_7)

105. Палій, Г. К., Назарчук, О. А., Бобир, В. В., Гончар, О. О., Гридіна, Т. Л., Палій, Д. В., Коваленко, І. В., & Буркот, В. М. (2015). ESTIMATION OF ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL QUALITIES OF MODERN ANTISEPTICS. *Mikrobiologîa i Biotehnologîa*, 0(4(32)), 67–74. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2015.4\(32\).57465](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2015.4(32).57465)

106. Палій, Г. К., Ковальчук, В. П., Деркач, Н. М., & Палій, Д. В. (2010). Обґрунтування ефективності антисептичного препарату Декасан в лікуванні хворих на гнійно-запальні захворювання. *Український хіміотерапевтичний журнал*, 1-2, 78–82. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/infch\\_2010\\_1-2\\_20](http://nbuv.gov.ua/UJRN/infch_2010_1-2_20)

107. Палій, Г. К., Назарчук, О. А., Фаустова, М. О., Палій, В. Г., Яцула, О. В., Палій, Г. К., Назарчук, А. А., Фаустова, М. А., Палій, В. Г., Яцула, О. В., Paliy, G. K.,

Nazarchuk, A. A., Faustova, M. O., Paliy, V. G., & Yatsula, O. V. (2016). Дослідження ефективності антимікробних препаратів у пацієнтів із запальними захворюваннями порожнини рота. Repository.pdmu.edu.ua.

<http://repository.pdmu.edu.ua/handle/123456789/4104>

108. Фаустова, М. О., & Назарчук, О. А. (2018). Вплив сучасних антисептичних засобів на формування біоплівки грамнегативними збудниками інфекційно-запальних імплантаційних ускладнень. Актуальні проблеми сучасної медицини, 18, Вип. 1, 200–204. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/apsm\\_2018\\_18\\_1\\_46](http://nbuv.gov.ua/UJRN/apsm_2018_18_1_46)

109. Decamethoxinum. Декаметоксин (порошок, субстанція) перереєстровано в Україні безстроково. Реєстраційне посвідчення на лікарський засіб № UA/12180/01/01 ; Державну перереєстрацію затверджено наказом МОЗ України від 29.03.2017 р. № 341. (Термін дії посвідчення необмежено).

110. Paliy, H. K., Nazarchuk, O. A., Honchar, O. O., Kovalenko, I. V., & Yatsula, O. V. (2016). The research of physical and chemical, antimicrobial qualities of “Decamethoxin®” remedy. *Medical and Clinical Chemistry*, 1. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2016.v0.i1.6181>

111. Береза, Б. М., Гончар, О. О., Зарицький, О. М. (2016). До питання фізико-хімічної, мікробіологічної характеристики антисептиків декаметоксину, декасану, МРМ. *Вісник морфології*, 22 (2), 36–9.

112. Гончар О. О., Назарчук О. А., Палій Д. В. (2016). Вивчення антимікробних властивостей лікарських антисептичних препаратів, що містять декаметоксин. *Український біофармацевтичний журнал*, 1, 74-7.

113. Декасан® / Державний реєстр лікарських засобів МОЗ України ; Реєстраційне посвідчення № UA/5364/01/01 від 22.12.2016 р.; Наказ № 1391.

114. Paliy, G. K., Kravets, V. P., & Kvoal'chuk, V. P. (1991). Effektivnost' sterilizatsii shovnykh materialov dekametoksinom [Effectiveness of sterilizing suture materials with decamethoxine]. *Klinicheskaia khirurgiia*, (1), 39–40.

115. Kwaśniewska, D., Chen, Y. L., & Wiczorek, D. (2020). Biological Activity of Quaternary Ammonium Salts and Their Derivatives. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 9(6), 459. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060459>

116. Karpiński, T. Efficacy of Octenidine Against *Pseudomonas Aeruginosa* Strains. *European Journal of Biological Research* 2019, 9, 135-140.
117. Malanovic, N., Ön, A., Pabst, G., Zellner, A., & Lohner, K. (2020). Octenidine: Novel insights into the detailed killing mechanism of Gram-negative bacteria at a cellular and molecular level. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(5), 106146. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106146>
118. Nermina Malanovic, Buttress, J. A., Djenana Vejzovic, Ayse Ön, Piller, P., Kolb, D., Lohner, K., & Strahl, H. (2022). Disruption of the Cytoplasmic Membrane Structure and Barrier Function Underlies the Potent Antiseptic Activity of Octenidine in Gram-Positive Bacteria. 88(10). <https://doi.org/10.1128/aem.00180-22>
119. Djenana Vejzovic, Azra Iftic, Ayse Ön, Semeraro, E. F., & Nermina Malanovic. (2022). Octenidine's Efficacy: A Matter of Interpretation or the Influence of Experimental Setups? 11(11), 1665–1665. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111665>
120. Shepherd, M. J., Moore, G., Wand, M. E., Sutton, J. M., & Bock, L. J. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* adapts to octenidine in the laboratory and a simulated clinical setting, leading to increased tolerance to chlorhexidine and other biocides. *Journal of Hospital Infection*, 100(3), e23–e29. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2018.03.037>
121. Becker, S. L., Berger, F. K., Feldner, S. K., Karliova, I., Haber, M., Mellmann, A., Schäfers, H.-J., & Gärtner, B. (2018). Outbreak of *Burkholderia cepacia* complex infections associated with contaminated octenidine mouthwash solution, Germany, August to September 2018. *Eurosurveillance*, 23(42). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2018.23.42.1800540>
122. Lachapelle, J.-M. (2014). A comparison of the irritant and allergenic properties of antiseptics. *European Journal of Dermatology*, 24(1), 3–9. <https://doi.org/10.1684/ejd.2013.2198>
123. Dydak, K., Junka, A., Dydak, A., Brożyna, M., Paleczny, J., Fijalkowski, K., Kubiela, G., Aniołek, O., & Bartoszewicz, M. (2021). In Vitro Efficacy of Bacterial Cellulose Dressings Chemisorbed with Antiseptics against Biofilm Formed by Pathogens Isolated from Chronic Wounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8), 3996. <https://doi.org/10.3390/ijms22083996>



124. De Paula, G. F., Netto, G. I., & Mattoso, L. H. C. (2011). Physical and Chemical Characterization of Poly(hexamethylene biguanide) Hydrochloride. *Polymers*, 3(2), 928–941. <https://doi.org/10.3390/polym3020928>
125. Niro, A., Pignatelli, F., Fallico, M., Sborgia, A., Fedele Passidomo, Samuele Gigliola, Nacucchi, A., Giancarlo Sborgia, Boscia, G., Alessio, G., Boscia, F., Addabbo, G., Reibaldi, M., & Avitabile, T. (2022). Polyhexamethylene biguanide hydrochloride (PHMB)-properties and application of an antiseptic agent. A narrative review. *European Journal of Ophthalmology*, 33(2), 655–666. <https://doi.org/10.1177/11206721221124684>
126. Chindera, K., Mahato, M., Kumar Sharma, A., Horsley, H., Kloc-Muniak, K., Kamaruzzaman, N. F., Kumar, S., McFarlane, A., Stach, J., Bentin, T., & Good, L. (2016). The antimicrobial polymer PHMB enters cells and selectively condenses bacterial chromosomes. *Scientific Reports*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep23121>
127. Kaehn, K. (2010). Polihexanide: A Safe and Highly Effective Biocide. *Skin Pharmacology and Physiology*, 23(1), 7–16. <https://doi.org/10.1159/000318237>
128. Müller, G., Koburger, T., & Kramer, A. (2013). Interaction of polyhexamethylene biguanide hydrochloride (PHMB) with phosphatidylcholine containing o/w emulsion and consequences for microbicidal efficacy and cytotoxicity. *Chemico-biological interactions*, 201(1-3), 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2013.01.001>
129. Kampf, G. (2018). Chlorhexidine Digluconate. In: *Antiseptic Stewardship*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-98785-9\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-98785-9_13)
130. Poppolo Deus, F., & Ouanounou, A. (2022). Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *International Dental Journal*, 72(3). <https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.01.005>
131. Cieplik, F., Jakubovics, N. S., Buchalla, W., Maisch, T., Hellwig, E., & Al-Ahmad, A. (2019). Resistance Toward Chlorhexidine in Oral Bacteria - Is There Cause for Concern?. *Frontiers in microbiology*, 10, 587. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00587>
132. Williamson, D. A., Carter, G. P., & Howden, B. P. (2017). Current and Emerging Topical Antibacterials and Antiseptics: Agents, Action, and Resistance Patterns. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(3), 827–860. <https://doi.org/10.1128/CMR.00112-16>

133. Osmanov, A., Farooq, Z., Richardson, M. D., & Denning, D. W. (2020). The antiseptic Miramistin: a review of its comparative in vitro and clinical activity. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(4), 399–417. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa012>
134. Nazarchuk, O., Cheresniuk, I., Nazarchuk, G., & Palii, D. (2019). Current antiseptics: a study on their antimicrobial activity and toxic effects on the corneal epithelium. *Oftalmologicheskii Zhurnal*, 80(3), 26–31. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh201932631>
135. Lepelletier, D., Maillard, J. Y., Pozzetto, B., & Simon, A. (2020). Povidone Iodine: Properties, Mechanisms of Action, and Role in Infection Control and *Staphylococcus aureus* Decolonization. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(9). <https://doi.org/10.1128/AAC.00682-20>
136. Lachapelle, J.-M., Castel, O., Casado, A. F., Leroy, B., Micali, G., Tennstedt, D., & Lambert, J. (2013). Antiseptics in the era of bacterial resistance: a focus on povidone iodine. *Clinical Practice*, 10(5), 579–592. <https://doi.org/10.2217/cpr.13.50>
137. Bigliardi, P. L., Alsagoff, S. A. L., El-Kafrawi, H. Y., Pyon, J.-K., Wa, C. T. C., & Villa, M. A. (2017). Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices. *International Journal of Surgery*, 44, 260–268. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2017.06.073>
138. Parham, S., Kharazi, A. Z., Bakhsheshi-Rad, H. R., Kharaziha, M., Ismail, A. F., Sharif, S., Razzaghi, M., RamaKrishna, S., & Berto, F. (2022). Antimicrobial Synthetic and Natural Polymeric Nanofibers as Wound Dressing: A Review. *Advanced Engineering Materials*, 24(6), 2101460. <https://doi.org/10.1002/adem.202101460>
139. Froelich, A., Jakubowska, E., Wojtyłko, M., Jadach, B., Gackowski, M., Piotr Gadziński, Napierała, O., Yulia Ravliv, & Tomasz Osmałek. (2023). Alginate-Based Materials Loaded with Nanoparticles in Wound Healing. *Pharmaceutics*, 15(4), 1142–1142. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15041142>
140. Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106–126. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>

141. Minh Nguyen, H., Le, T. T. N., Thanh Nguyen, A., Le, H. N. T., & Tan Pham, T. (2023). Biomedical materials for wound dressing: recent advances and applications. *RSC Advances*, 13(8), 5509–5528. <https://doi.org/10.1039/D2RA07673J>
142. Bienias, R., Feulner, M., Hergenröder, S., Schrammel, H., Spreitzer, L., Elzbieta Szkiler, Zielinski, A., & Roes, C. (2023). A Real-world Study of a Calcium Alginate Dressing for Various Wound Etiologies on Clinical Performance, Usability, and Safety. *Wounds*, 35(2), 26–31. <https://doi.org/10.25270/wnds/22057>
143. Gray, D. (2009). Silvercel™ Non-Adherent dressing: taking the pain out of antimicrobial use. *Semantic Scholar*. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:73806409>
144. Carsin, H., Wasserman, D., Pannier, M., Dumas, R., & Bohbot, S. A. (2004). A silver sulphadiazine-impregnated lipidocolloid wound dressing to treat second-degree burns. *Journal of Wound Care*, 13(4), 145–148. <https://doi.org/10.12968/jowc.2004.13.4.26600>
145. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method. (2023). [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Disk\\_test\\_documents/2023\\_manuals/Manual\\_v\\_11.0\\_EUCAST\\_Disk\\_Test\\_2023.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2023_manuals/Manual_v_11.0_EUCAST_Disk_Test_2023.pdf)
146. Matuschek, E., Longshaw, C., Takemura, M., Yamano, Y., & Kahlmeter, G. (2022). Cefiderocol: EUCAST criteria for disc diffusion and broth microdilution for antimicrobial susceptibility testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac080>
147. Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>

148. Treangen, T. J., Maybank, R. A., Enke, S., Friss, M. B., Diviak, L. F., Karaolis, D. K. R., Koren, S., Ondov, B., Phillippy, A. M., Bergman, N. H., & Rosovitz, M. J. (2014). Complete Genome Sequence of the Quality Control Strain *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 25923. *Genome Announcements*, 2(6).

<https://doi.org/10.1128/genomea.01110-14>

149. Ministry of Health of Ukraine. (2007). Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів" [About the statement of methodical instructions "Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs"]. Наказ міністерства охорони здоров'я України № 167 – The order of the Ministry of Health of Ukraine № 167. Access mode: <http://www.moz.gov.ua>

150. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. In: *CLSI Supplement M100*. 30th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.

151. Standardization IOf. ISO 20776-2: Clinical Laboratory Testing and in vitro Diagnostic Test Systems. Susceptibility Testing of Infectious Agents and Evaluation of Performance of Antimicrobial Susceptibility Test Devices Part 2. Switzerland: International Organization for Standardization Geneva; 2021.

152. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. In: *CLSI Supplement M100*. 32th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2022.

153. Denysko TV, Nazarchuk OA, Gruzevskyi 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/>

154. Levison M. E. (2004). Pharmacodynamics of antimicrobial drugs. *Infectious disease clinics of North America*, 18(3), 451–vii. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2004.04.012>

155. Knapp, L., Amézquita, A., McClure, P., Stewart, S., & Maillard, J. Y. (2015). Development of a protocol for predicting bacterial resistance to microbicides. *Applied and environmental microbiology*, 81(8), 2652–2659. <https://doi.org/10.1128/AEM.03843-14>
156. Betchen, M., Giovinco, H. M., Curry, M., Luu, J., Fraimow, H., Carabetta, V. J., & Nahra, R. (2022). Evaluating the Effectiveness of Hospital Antiseptics on Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Understanding the Relationship between Microbicide and Antibiotic Resistance. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 11(5), 614. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050614>
157. Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ et al. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*. 22; 6: 996-1006.
158. Diriba K, Kassa T, Alemu Y, Bekele S. (2020, Mar 18). In Vitro Biofilm Formation and Antibiotic Susceptibility Patterns of Bacteria from Suspected External Eye Infected Patients Attending Ophthalmology Clinic, Southwest Ethiopia. *Int J Microbiol*. 2020: 8472395. doi: 10.1155/2020/8472395. PMID: 32318110; PMCID: PMC7155758.
159. Kida, D., Konopka, T., Kamil Jurczyszyn, & Karolewicz, B. (2023). Technological Aspects and Evaluation Methods for Polymer Matrices as Dental Drug Carriers. *Biomedicines*, 11(5), 1274–1274. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11051274>
160. Romero-Montero, A., Labra-Vázquez, P., Del Valle, L. J., Puiggali, J., García-Arazola, R., Montiel, C., & Gimeno, M. (2020). Development of an antimicrobial and antioxidant hydrogel/nano-electrospun wound dressing. *RSC advances*, 10(51), 30508–30518. <https://doi.org/10.1039/d0ra05935h>
161. Giske CG, Turnidge J, Cantón R, Kahlmeter G. Update from the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Humphries RM, editor. *Journal of Clinical Microbiology*. 2022 Mar 16;60(3).
162. Жебентяєв О.І. Спектрофотометричні визначення декаметоксину з еозином // Вісті вищих навчальних закладів Видання Іванівського державного хіміко-технологічного університету Хімія та хімічна технологія. – 1984. – Т. 27, Вип. 4. – С. 412-414].

163. Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta poloniae pharmaceutica*, 67(3), 217–223.
164. Conzatti, G., Faucon, D., Castel, M., Ayadi, F., Cavalie, S., & Tourrette, A. (2017). Alginate/chitosan polyelectrolyte complexes: A comparative study of the influence of the drying step on physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 172, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.023>
165. Гур'янов, В. Г., Лях, Ю. Є., Парій, В. Д., Короткий, О. В., Чалий, О. В., Чалий, К. О., & Цехмістер, Я. В. (2018). Посібник з біостатистики. Аналіз результатів медичних досліджень у пакеті EZR (R–statistics). In [ir.librarynmu.com](http://ir.librarynmu.com). <http://ir.librarynmu.com/handle/123456789/7398>
166. Talebi Bezmin Abadi, A., Rizvanov, A. A., Haertlé, T., & Blatt, N. L. (2019). World Health Organization Report: Current Crisis of Antibiotic Resistance. *BioNanoScience*, 9(4), 778–788. <https://doi.org/10.1007/s12668-019-00658-4>
167. Gheorghe, I., Barbu, I. C., Surleac, M., Sârbu, I., Popa, L. I., Paraschiv, S., Feng, Y., Lazăr, V., Chifiriuc, M. C., Oțelea, D., & Zhiyong, Z. (2021). Subtypes, resistance and virulence platforms in extended-drug resistant *Acinetobacter baumannii* Romanian isolates. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92590-5>
168. Słoczyńska, A., Wand, M. E., Tyski, S., & Laudy, A. E. (2021). Analysis of blaCHDL Genes and Insertion Sequences Related to Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Clinical Strains Isolated in Warsaw, Poland. *International journal of molecular sciences*, 22(5), 2486. <https://doi.org/10.3390/ijms22052486>
169. Pimentel, C., Le, C., Tuttobene, M. R., Subils, T., Martinez, J., Sieira, R., Papp-Wallace, K. M., Keppetipola, N., Bonomo, R. A., Actis, L. A., Tolmasky, M. E., & Ramirez, M. S. (2021). Human Pleural Fluid and Human Serum Albumin Modulate the Behavior of a Hypervirulent and Multidrug-Resistant (MDR) *Acinetobacter baumannii* Representative Strain. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 10(4), 471. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040471>

170. Park, J., Kim, M., Shin, B., Kang, M., Yang, J., Lee, T. K., & Park, W. (2021). A novel decoy strategy for polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii*. *eLife*, 10, e66988. <https://doi.org/10.7554/eLife.66988>
171. Ibrahim, S., Al-Saryi, N., Al-Kadmy, I. M. S., & Aziz, S. N. (2021). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals. *Molecular biology reports*, 48(10), 6987–6998. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06690-6>
172. Lin, F., Yu, B., Wang, Q., Yuan, M., & Ling, B. (2021). Combination inhibition activity of chlorhexidine and antibiotics on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in vitro. *BMC infectious diseases*, 21(1), 266. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-05963-6>
173. Braz, V. S., Melchior, K., & Moreira, C. G. (2020). *Escherichia coli* as a Multifaceted Pathogenic and Versatile Bacterium. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 548492. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.548492>
174. Wilcox, M. H., & Dryden, M. (2021). Update on the epidemiology of healthcare-acquired bacterial infections: focus on complicated skin and skin structure infections. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 76(Suppl 4), iv2–iv8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab350>
175. Khan, H. A., Baig, F. K., & Mehboob, R. (2017). Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 478–482. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.019>
176. Roy, S., Ahmed, M. U., Uddin, B. M. M., Ratan, Z. A., Rajawat, M., Mehta, V., & Zaman, S. B. (2017). Evaluation of antibiotic susceptibility in wound infections: A pilot study from Bangladesh. *F1000Research*, 6, 2103. <https://doi.org/10.12688/f1000research.12887.1>
177. Tian, X., Sun, S., Jia, X., Zou, H., Li, S., & Zhang, L. (2018). Epidemiology of and risk factors for infection with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: results of a double case-control study. *Infection and drug resistance*, 11, 1339–1346. <https://doi.org/10.2147/IDR.S173456>
178. Weintrob, A. C., Murray, C. K., Xu, J., Krauss, M., Bradley, W., Warkentien, T. E., Lloyd, B. A., & Tribble, D. R. (2018). Early Infections Complicating the Care of

Combat Casualties from Iraq and Afghanistan. *Surgical infections*, 19(3), 286–297. <https://doi.org/10.1089/sur.2017.240>

179. Rodríguez-Villodres, Á., Martín-Gandul, C., Peñalva, G., Guisado-Gil, A. B., Crespo-Rivas, J. C., Pachón-Ibáñez, M. E., Lepe, J. A., & Cisneros, J. M. (2021). Prevalence and Risk Factors for Multidrug-Resistant Organisms Colonization in Long-Term Care Facilities Around the World: A Review. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(6), 680. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060680>

180. Pallavali, R. R., Degati, V. L., Lomada, D., Reddy, M. C., & Durbaka, V. (2017). Isolation and in vitro evaluation of bacteriophages against MDR-bacterial isolates from septic wound infections. *PloS one*, 12(7), e0179245. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179245>

181. Sahli, Z. T., Bizri, A. R., & Abu-Sittah, G. S. (2016). Microbiology and risk factors associated with war-related wound infections in the Middle East. *Epidemiology and infection*, 144(13), 2848–2857. <https://doi.org/10.1017/S0950268816000431>

182. Majumder, M. A. A., Rahman, S., Cohall, D., Bharatha, A., Singh, K., Haque, M., & Gittens-St Hilaire, M. (2020). Antimicrobial Stewardship: Fighting Antimicrobial Resistance and Protecting Global Public Health. *Infection and drug resistance*, 13, 4713–4738. <https://doi.org/10.2147/IDR.S290835>

183. Wand, M. E., Bock, L. J., Bonney, L. C., & Sutton, J. M. (2016). Mechanisms of Increased Resistance to Chlorhexidine and Cross-Resistance to Colistin following Exposure of *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates to Chlorhexidine. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(1), e01162-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.01162-16>

184. Oliveira, R., Castro, J., Silva, S., Oliveira, H., Saavedra, M. J., Azevedo, N. F., & Almeida, C. (2022). Exploring the Antibiotic Resistance Profile of Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Portugal. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(11), 1613. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111613>

185. Elkrewi, E., Randall, C. P., Ooi, N., Cottell, J. L., & O'Neill, A. J. (2017). Cryptic silver resistance is prevalent and readily activated in certain Gram-negative pathogens. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 72(11), 3043–3046. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx258>



186. Ejaz, M., Syed, M. A., Jackson, C. R., Sharif, M., & Faryal, R. (2023). Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Non-Susceptible to Vancomycin in South Asia. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 12(6), 972. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12060972>
187. Reich, P. J., Boyle, M. G., Hogan, P. G., Johnson, A. J., Wallace, M. A., Elward, A. M., Warner, B. B., Burnham, C. A., & Fritz, S. A. (2016). Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in the neonatal intensive care unit: an infection prevention and patient safety challenge. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 22(7), 645.e1–645.e6458. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.04.013>
188. Chmielowiec-Korzeniowska, A., Tymczyna, L., Wlazło, Ł., Nowakowicz-Dębek, B., & Trawińska, B. (2020). *Staphylococcus aureus* carriage state in healthy adult population and phenotypic and genotypic properties of isolated strains. *Postepy dermatologii i alergologii*, 37(2), 184–189. <https://doi.org/10.5114/ada.2020.94837>
189. Linz, M. S., Mattappallil, A., Finkel, D., & Parker, D. (2023). Clinical Impact of *Staphylococcus aureus* Skin and Soft Tissue Infections. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 12(3), 557. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030557>
190. Esposito, S., Blasi, F., Curtis, N., Kaplan, S., Lazzarotto, T., Meschiari, M., Mussini, C., Peghin, M., Rodrigo, C., Vena, A., Principi, N., & Bassetti, M. (2023). New Antibiotics for *Staphylococcus aureus* Infection: An Update from the World Association of Infectious Diseases and Immunological Disorders (WAidid) and the Italian Society of Anti-Infective Therapy (SITA). *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 12(4), 742. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040742>
191. Upreti, N., Rayamajhee, B., Sherchan, S. P., Choudhari, M. K., & Banjara, M. R. (2018). Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, multidrug resistant and extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing gram negative bacilli causing wound infections at a tertiary care hospital of Nepal. *Antimicrobial resistance and infection control*, 7, 121. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0408-z>

192. Tefera, S., Awoke, T., & Mekonnen, D. (2021). Methicillin and Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus* and Associated Factors from Surgical Ward Inpatients at Debre Markos Referral Hospital, Northwest Ethiopia. *Infection and drug resistance*, 14, 3053–3062. <https://doi.org/10.2147/IDR.S324042>
193. Almeida, G. C., dos Santos, M. M., Lima, N. G., Cidral, T. A., Melo, M. C., & Lima, K. C. (2014). Prevalence and factors associated with wound colonization by *Staphylococcus* spp. and *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients in inland northeastern Brazil: a cross-sectional study. *BMC infectious diseases*, 14, 328. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-328>
194. Sathe, N., Beech, P., Croft, L., Suphioglu, C., Kapat, A., & Athan, E. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: Infections and novel approaches to treatment “Knowing the enemy” the threat of *Pseudomonas aeruginosa* and exploring novel approaches to treatment. *Infectious Medicine*, 2(3). <https://doi.org/10.1016/j.imj.2023.05.003>
195. Moradali, M. F., Ghods, S., & Rehm, B. H. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 39. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00039>
196. Sanya, D. R. A., Onésime, D., Vizzarro, G., & Jacquier, N. (2023). Recent advances in therapeutic targets identification and development of treatment strategies towards *Pseudomonas aeruginosa* infections. *BMC microbiology*, 23(1), 86. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02832-x>
197. Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37(1), 177–192. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
198. Diggle, S. P., & Whiteley, M. (2020). Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (Reading, England)*, 166(1), 30–33. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000860>
199. Liao, C., Huang, X., Wang, Q., Yao, D., & Lu, W. (2022). Virulence Factors of *Pseudomonas Aeruginosa* and Antivirulence Strategies to Combat Its Drug

- Resistance. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 926758. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.926758>
200. Nolan, C., & Behrends, V. (2021). Sub-Inhibitory Antibiotic Exposure and Virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(11), 1393. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111393>
201. Ruffin, M., & Brochiero, E. (2019). Repair Process Impairment by *Pseudomonas aeruginosa* in Epithelial Tissues: Major Features and Potential Therapeutic Avenues. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 182. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00182>
202. Mende, K., Akers, K. S., Tyner, S. D., Bennett, J. W., Simons, M. P., Blyth, D. M., Li, P., Stewart, L., & Tribble, D. R. (2022). Multidrug-Resistant and Virulent Organisms Trauma Infections: Trauma Infectious Disease Outcomes Study Initiative. *Military medicine*, 187(Suppl 2), 42–51. <https://doi.org/10.1093/milmed/usab131>
203. Mareş, C., Petca, R. C., Petca, A., Popescu, R. I., & Jinga, V. (2022). Does the COVID Pandemic Modify the Antibiotic Resistance of Uropathogens in Female Patients? A New Storm?. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(3), 376. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030376>
204. Theuretzbacher, U., Bush, K., Harbarth, S., Paul, M., Rex, J. H., Tacconelli, E., & Thwaites, G. E. (2020). Critical analysis of antibacterial agents in clinical development. *Nature reviews. Microbiology*, 18(5), 286–298. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0340-0>
205. Liew, S. M., Rajasekaram, G., Puthucheary, S. A., & Chua, K. H. (2019). Antimicrobial susceptibility and virulence genes of clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *PeerJ*, 7, e6217. <https://doi.org/10.7717/peerj.6217>
206. Denysko TV, Nazarchuk OA, Gruzevskyi 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/>

207. Nazarchuk O., Denysko T., Dmytriiev D., Chornopyshchuk N., Hruzevskyi O., Burkot V., Nazarchuk H., Ksenchyna K. In vitro evaluation of antimicrobial and antibiofilm 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>

208. 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 *Lekarskyi Obzor*, 73(1):8-14, ISSN 04574214

209. Miranda, S. W., Asfahl, K. L., Dandekar, A. A., & Greenberg, E. P. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing. *Advances in experimental medicine and biology*, 1386, 95–115. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-08491-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-031-08491-1_4)

210. Назарчук О.А., Дениско Т.В., Грузевський О.А., Чорнопищук Р.М., Багнюк Н.А. 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.

211. Багнюк Н. А., Левченко Б. М., Дениско Т. В. 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.

212. Denysko T., Nazarchuk O., Bahniuk N., Hruzevskyi O., Bebyk V., Chornopyshchuk R. 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

213. 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.

214. Halyna Nazarchuk, Tetyana Denysko, Oleksandr Gruzevsky. 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>

215. Halyna Nazarchuk, Tetyana Denysko, Roman Chornopyshchuk. 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>

216. H. Nazarchuk, T. Denysko, O. Nazarchuk, N. Bahniuk, V. Bebyk. 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 [https://www.professionalabstracts.com/soe2023/eBook/epaper/SOE2023\\_Abstract\\_E-Book.pdf](https://www.professionalabstracts.com/soe2023/eBook/epaper/SOE2023_Abstract_E-Book.pdf)

217. Nazarchuk A. A., Denisko T. V., Voloshchuk N. I., Nazarchuk H. H. The study of antimicrobial properties of film materials based on biopolymers and antiseptics// Biomedical and biosocial anthropology. - 2020. - № 39. - С.29-34. DOI: <https://doi.org/10.31393/bba39-2020-05>

218. Назарчук О. А., Грузевський О. А., Дениско Т. В., Кагляк М.Д. 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», 2021. P. 211–214. DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-038-4-59>.

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

220. 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

221. 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>

222. Mircioiu, C., Voicu, V., Anuta, V., Tudose, A., Celia, C., Paolino, D., Fresta, M., Sandulovici, R., & Mircioiu, I. (2019). Mathematical Modeling of Release Kinetics from Supramolecular Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics*, 11(3), 140. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11030140>

223. Bahadoran, M., Shamloo, A., & Nokoorani, Y. D. (2020). Development of a polyvinyl alcohol/sodium alginate hydrogel-based scaffold incorporating bFGF-encapsulated microspheres for accelerated wound healing. *Scientific reports*, 10(1), 7342. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64480-9>

224. Sonogo, J. M., Flórez-Castillo, J. M., & Jobbágy, M. (2018). Highly Structured Polyvinyl Alcohol Porous Carriers: Tuning Inherent Stability and Release Kinetics in Water. *ACS omega*, 3(2), 2390–2395. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01961>

225. Maraldi, M., Lisi, M., Moretti, G., Sponchioni, M., & Moscatelli, D. (2021). Health care-associated infections: Controlled delivery of cationic antiseptics from polymeric excipients. *International journal of pharmaceutics*, 607, 120956. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120956>

226. López-Rojas, R., Fernández-Cuenca, F., Serrano-Rocha, L., & Pascual, Á. (2017). In vitro activity of a polyhexanide-betaine solution against high-risk clones of multidrug-resistant nosocomial pathogens. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica*, 35(1), 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.02.008>
227. Barrigah-Benissan, K., Ory, J., Dunyach-Remy, C., Pouget, C., Lavigne, J. P., & Sotto, A. (2022). Antibiofilm Properties of Antiseptic Agents Used on *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Diabetic Foot Ulcers. *International journal of molecular sciences*, 23(19), 11270. <https://doi.org/10.3390/ijms231911270>
228. Alvarez-Marin, R., Aires-de-Sousa, M., Nordmann, P., Kieffer, N., & Poirel, L. (2017). Antimicrobial activity of octenidine against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 36(12), 2379–2383. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3070-0>
229. Gregorchuk, B., Reimer, S. L., Slipski, C. J., Milner, K. A., Hiebert, S. L., Beniac, D. R., Booth, T. F., Zhanel, G. G., & Bay, D. C. (2022). Applying fluorescent dye assays to discriminate *Escherichia coli* chlorhexidine resistance phenotypes from porin and *mlaA* deletions and efflux pumps. *Scientific reports*, 12(1), 12149. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15775-6>
230. Royer, G., Ortiz de la Rosa, J. M., Vuillemin, X., Lacombe, B., Chau, F., Clermont, O., Mercier-Darty, M., Decousser, J. W., Ricard, J. D., Nordmann, P., Denamur, E., & Poirel, L. (2022). Reduced Chlorhexidine Susceptibility Is Associated with Tetracycline Resistance *tet* Genes in Clinical Isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 66(3), e0197221. <https://doi.org/10.1128/AAC.01972-21>
231. Haque, M., Sartelli, M., McKimm, J., & Abu Bakar, M. (2018). Health care-associated infections - an overview. *Infection and drug resistance*, 11, 2321–2333. <https://doi.org/10.2147/IDR.S177247>
232. Mahoney, A. R., Safaee, M. M., Wuest, W. M., & Furst, A. L. (2021). The silent pandemic: Emergent antibiotic resistances following the global response to SARS-CoV-2. *iScience*, 24(4), 102304. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102304>

233. Hardy, K., Sunnucks, K., Gil, H., Shabir, S., Trampari, E., Hawkey, P., & Webber, M. (2018). Increased Usage of Antiseptics Is Associated with Reduced Susceptibility in Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*. *mBio*, 9(3), e00894-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.00894-18>
234. Gupta, P., Bhatia, M., Gupta, P., & Omar, B. J. (2018). Emerging Biocide Resistance among Multidrug-Resistant Bacteria: Myth or Reality? A Pilot Study. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 10(2), 96–101. [https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS\\_24\\_18](https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_24_18)
235. Vásquez, Daniel & Libreros-Zúñiga, Gerardo & Crespo, Maria. (2017). Effects of biocide exposure on *P. Aeruginosa*, *E. coli* and *A. Baumannii* complex isolates from hospital and household environments. *Infectio*. 21. 243-250. 10.22354/in.v21i4.687.
236. Qi, L., Li, H., Zhang, C., Liang, B., Li, J., Wang, L., Du, X., Liu, X., Qiu, S., & Song, H. (2016). Relationship between Antibiotic Resistance, Biofilm Formation, and Biofilm-Specific Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in microbiology*, 7, 483. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00483>
237. Leshem, T., Gilron, S., Azrad, M., & Peretz, A. (2022). Characterization of reduced susceptibility to chlorhexidine among Gram-negative bacteria. *Microbes and infection*, 24(2), 104891. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2021.104891>
238. Lanjri, Sanae & Uwingabiye, Jean & Frikh, Med & Abdellatifi, Lina & Kasouati, Jalal & Maleb, Adil & Bait, Abdelouahed & Lemnouer, Abdelhay & Elouennass, Mostafa. (2017). In vitro evaluation of the susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolates to antiseptics and disinfectants: Comparison between clinical and environmental isolates. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 6. 10.1186/s13756-017-0195-y.
239. Koburger, T., Hübner, N. O., Braun, M., Siebert, J., & Kramer, A. (2010). Standardized comparison of antiseptic efficacy of triclosan, PVP-iodine, octenidine dihydrochloride, polyhexanide and chlorhexidine digluconate. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(8), 1712–1719. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq212>
240. Buxser S. (2021). Has resistance to chlorhexidine increased among clinically-relevant bacteria? A systematic review of time course and subpopulation data. *PloS one*, 16(8), e0256336. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256336>



241. Bock, L. J., Wand, M. E., & Sutton, J. M. (2016). Varying activity of chlorhexidine-based disinfectants against *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates and adapted strains. *The Journal of hospital infection*, 93(1), 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.12.019>

242. Schlett, C. D., Millar, E. V., Crawford, K. B., Cui, T., Lanier, J. B., Tribble, D. R., & Ellis, M. W. (2014). Prevalence of chlorhexidine-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* following prolonged exposure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(8), 4404–4410. <https://doi.org/10.1128/AAC.02419-14>

243. Barreto, R., Barrois, B., Lambert, J., Malhotra-Kumar, S., Santos-Fernandes, V., & Monstrey, S. (2020). Addressing the challenges in antisepsis: focus on povidone iodine. *International journal of antimicrobial agents*, 56(3), 106064. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106064>

244. Alves, P. J., Barreto, R. T., Barrois, B. M., Gryson, L. G., Meaume, S., & Monstrey, S. J. (2021). Update on the role of antiseptics in the management of chronic wounds with critical colonisation and/or biofilm. *International wound journal*, 18(3), 342–358. <https://doi.org/10.1111/iwj.13537>

245. Schultz, G., Bjarnsholt, T., James, G. A., Leaper, D. J., McBain, A. J., Malone, M., Stoodley, P., Swanson, T., Tachi, M., Wolcott, R. D., & Global Wound Biofilm Expert Panel (2017). Consensus guidelines for the identification and treatment of biofilms in chronic nonhealing wounds. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 25(5), 744–757. <https://doi.org/10.1111/wrr.12590>

246. Günther, F., Blessing, B., Dapunt, U., Mischnik, A., & Mutters, N. T. (2021). Ability of chlorhexidine, octenidine, polyhexanide and chloroxylenol to inhibit metabolism of biofilm-forming clinical multidrug-resistant organisms. *Journal of infection prevention*, 22(1), 12–18. <https://doi.org/10.1177/1757177420963829>

247. Atkin, L., & Tettelbach, W. (2019). TIMERS: expanding wound care beyond the focus of the wound. *British journal of nursing (Mark Allen Publishing)*, 28(20), S34–S37. <https://doi.org/10.12968/bjon.2019.28.20.S34>

248. Loose, M., Naber, K. G., Purcell, L., Wirth, M. P., & Wagenlehner, F. M. E. (2021). Anti-Biofilm Effect of Octenidine and Polyhexanide on Uropathogenic Biofilm-Producing Bacteria. *Urologia internationalis*, 105(3-4), 278–284. <https://doi.org/10.1159/000512370>

249. Capriotti K., Pelletier J., Barone S., Capriotti J. (2018). Efficacy of Dilute Povidone-Iodine against Multi-Drug Resistant Bacterial Biofilms, Fungal Biofilms and Fungal Spores. *Clin. Res. Dermatol. Open Access* 5, 1–5. 10.15226/2378-1726/5/1/00174

250. Qi, L., Li, H., Zhang, C., Liang, B., Li, J., Wang, L., Du, X., Liu, X., Qiu, S., & Song, H. (2016). Relationship between Antibiotic Resistance, Biofilm Formation, and Biofilm-Specific Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in microbiology*, 7, 483. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00483>

251. Hall CW, Mah T-F. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Lett Rev.* 2017;41(3):276–301.

252. Babapour E, Haddadi A, Mirnejad R, Angaji S-A, Amirmozafari N. Biofilm formation in clinical isolates of nosocomial *Acinetobacter baumannii* and its relationship with multidrug resistance. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2016;6(6):528–533.

253. Bardbari AM, Arabestani MR, Karami M, Keramat F, Alikhani MY, Bagheri KP. Correlation between ability of biofilm formation with their responsible genes and MDR patterns in clinical and environmental *Acinetobacter baumannii* isolates. *Microb Pathog.* 2017;108:122–128.

254. Yin, W., Wang, Y., Liu, L., & He, J. (2019). Biofilms: The Microbial "Protective Clothing" in Extreme Environments. *International journal of molecular sciences*, 20(14), 3423. <https://doi.org/10.3390/ijms20143423>

255. Rossi Gonçalves, I., Dantas, R. C. C., Ferreira, M. L., Batistão, D. W. D. F., Gontijo-Filho, P. P., & Ribas, R. M. (2017). Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: association with virulence genes and biofilm formation. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 48(2), 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.11.004>

256. Bakht, M., Alizadeh, S. A., Rahimi, S., Kazemzadeh Anari, R., Rostamani, M., Javadi, A., Peymani, A., Marashi, S. M. A., & Nikkhahi, F. (2022). Phenotype and genetic determination of resistance to common disinfectants among biofilm-producing and non-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains from clinical specimens in Iran. *BMC microbiology*, 22(1), 124. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02524-y>
257. Junka, A., Bartoszewicz, M., Smutnicka, D., Secewicz, A., & Szymczyk, P. (2014). Efficacy of antiseptics containing povidone-iodine, octenidine dihydrochloride and ethacridine lactate against biofilm formed by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* measured with the novel biofilm-oriented antiseptics test. *International wound journal*, 11(6), 730–734. <https://doi.org/10.1111/iwj.12057>
258. Gryson, L., Meaume, S., Feldkaemper, I., & Favalli, F. (2023). Anti-biofilm Activity of Povidone-Iodine and Polyhexamethylene Biguanide: Evidence from In Vitro Tests. *Current microbiology*, 80(5), 161. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03257-5>
259. Lefebvre, E., Vighetto, C., Di Martino, P., Larreta Garde, V., & Seyer, D. (2016). Synergistic antibiofilm efficacy of various commercial antiseptics, enzymes and EDTA: a study of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* biofilms. *International journal of antimicrobial agents*, 48(2), 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.05.008>
260. Ciecholewska-Juśko, D., Żywicka, A., Junka, A., Woroszyło, M., Wardach, M., Chodaczek, G., Szymczyk-Ziółkowska, P., Migdał, P., & Fijałkowski, K. (2022). The effects of rotating magnetic field and antiseptic on in vitro pathogenic biofilm and its milieu. *Scientific reports*, 12(1), 8836. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12840-y>
261. Daniel Felipe Vásquez-Giraldo, Gerardo Andrés Libreros-Zúñiga, & Pilar, del. (2017). Effects of biocide exposure on *P. Aeruginosa*, *E. coli* and *A. Baumannii* complex isolates from hospital and household environments. *Infectio*, 21(4). <https://doi.org/10.22354/in.v21i4.687>
262. Gharieb, R., Saad, M., Khedr, M., El Gohary, A., & Ibrahim, H. (2022). Occurrence, virulence, carbapenem resistance, susceptibility to disinfectants and public health hazard of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from animals, humans and environment

in intensive farms. *Journal of applied microbiology*, 132(1), 256–267.  
<https://doi.org/10.1111/jam.15191>

263. Prete, S., Dattilo, M., Patitucci, F., Pezzi, G., Parisi, O. I., & Puoci, F. (2023). Natural and Synthetic Polymeric Biomaterials for Application in Wound Management. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(9), 455.  
<https://doi.org/10.3390/jfb14090455>

264. Garcia, L. V., Silva, D., Costa, M. M., Armés, H., Salema-Oom, M., Saramago, B., & Serro, A. P. (2023). Antiseptic-Loaded Casein Hydrogels for Wound Dressings. *Pharmaceutics*, 15(2), 334. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020334>

265. Eberlein, T., Haemmerle, G., Signer, M.R., Gruber Moesenbacher, U., Traber, J., Mittlboeck, M., Abel, M., & Strohal, R. (2012). Comparison of PHMB-containing dressing and silver dressings in patients with critically colonised or locally infected wounds. *Journal of wound care*, 21 1, 12, 14-6, 18-20.

266. Stuermer, E. K., Plattfaut, I., Dietrich, M., Brill, F., Kampe, A., Wiencke, V., Ulatowski, A., Geffken, M., Rembe, J. D., Naumova, E. A., Debus, S. E., & Smeets, R. (2021). In vitro Activity of Antimicrobial Wound Dressings on *P. aeruginosa* Wound Biofilm. *Frontiers in microbiology*, 12, 664030. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.664030>

## ДОДАТКИ

## Додаток А

## Список публікацій здобувача

**НАУКОВІ ПРАЦІ, У ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ  
РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. **Denysko, T. V.**, Nazarchuk, O. A., Gruzevskyi, O., Bahniuk, N. A., Dmytriiev, D. V., Chornopyschuk, R. M., & Bebyk, V. V. (2022). *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of antiseptics against clinical *Acinetobacter baumannii* strains isolated from combat wounds. *Frontiers in microbiology*, 13, 932467. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.932467>

2. Nazarchuk O., **Denysko T.**, Dmytriiev D., Chornopyschuk N., Hruzevskyi 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. (Nazarchuk O. – розробка наукової ідеї дослідження, консультування під час проведення експериментальної частини роботи, участь в аналізі одержаних даних; Denysko T. – особисто проводила мікробіологічні дослідження, оцінку результатів, та підготовку матеріалу до друку, пошук та аналіз літературних джерел за темою роботи; Dmytriiev D. – планування та участь в організації проекту дослідження, участь у зборі частини біоматеріалу від пацієнтів для мікробіологічного дослідження, брав участь у критичному рецензуванні рукопису статті перед публікацією; Chornopyschuk N. – участь у підготовці матеріалів статті до друку та листування під час рецензування статті редакцією журналу, Hruzevskyi O. планування та розробка дизайну дослідження, Burkot V. – участь у зборі частини біоматеріалу від пацієнтів для мікробіологічного дослідження, допомога у проведенні експерименту з вивчення біоплівкоутворення клінічними штамами мікроорганізмів; Nazarchuk H. – участь у зборі частини біоматеріалу від пацієнтів для мікробіологічного дослідження, редагування

рукопису, підготовка англомовного варіанту статті згідно вимог редакції журналу, Ksenchyna K. – участь у зборі частини біоматеріалу від пацієнтів для мікробіологічного дослідження, участь у мікробіологічному дослідженні чутливості частини культур бактерій, виділених від хворих, статистична обробка одержаних результатів досліджень)

3. **Denysko, T.**, Nazarchuk, O. (2023). Evaluation of antimicrobial activity of biomaterials based on alginate and decametoxin against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *ScienceRise: Biological Science*, 4 (37), 11–18. doi: <http://doi.org/10.15587/2519-8025.2023.298594>. (Denysko T. – особисто проводила дослідження, оцінку результатів, та підготовку матеріалу до друку, пошук та аналіз літературних джерел за темою роботи; Nazarchuk O. – розробка наукової ідеї, дизайну дослідження, консультування під час проведення експериментальної частини роботи, рецензування рукопису статті).

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](https://doi.org/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

6. Nazarchuk A. A., **Denysko 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. DOI: <https://doi.org/10.31393/bba39-2020-05>

**Апробація результатів дисертації:**

10. International scientific and practical conference «Medicine and health care in modern society: topical issues and current aspects»: Conference proceedings, (Lublin, Republic of Poland, 26-27 of February, 2021) – публікація тез.
11. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Довкілля і здоров'я», присвячена 35-ій річниці Чорнобильської катастрофи, (м. Тернопіль, 22-24 квітня 2021) – публікація тез.
12. Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині: науково-практична міжнародна дистанційна конференція (м. Харків, 26 березня, 2021) – публікація тез.
13. The 1<sup>st</sup> FEMS Belgrade Conference on Microbiology in collaboration with Serbian Society for Microbiology, (Serbia, Belgrade, from 30 June to 2 July, 2022) – стендова доповідь, публікація тез.
14. П'ятий національний форум імунологів, алергологів, мікробіологів та спеціалістів клінічної медицини (м. Харків, 24-25 травня, 2023). – публікація тез.
15. ASM Microbe: World Microbe Forum (USA, Texas, Houston, 15-19 June, 2023) – усна доповідь (онлайн формат), публікація тез.
16. 6<sup>th</sup> International Conference on Prevention & Infection Control (ICPIC 2021), (Switzerland, Geneva, 14-17 September, 2021) – стендова доповідь.
17. 7<sup>th</sup> International Conference on Prevention & Infection Control (ICPIC 2023). (Switzerland, Geneva, 12-15 September, 2023) – стендова доповідь, публікація тез.
18. Congress of the European Society of Ophthalmology (SOE) (Czech Republic, Prague, 15-17 June, 2023) – усна доповідь, публікація тез.

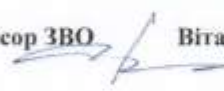
## Додаток Б


## АКТИ ВПРОВАДЖЕНЬ



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва наукової розробки, яка впроваджується:** Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів.
2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.  
*Розробник:* Дениско Тетяна Валеріївна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Denysko TV, Nazarchuk OA, Gruzevskiy O, Bahniuk NA, Dmytriyev 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
  2. Nazarchuk A. A., Denisko T. V., Voloshchuk N. I., Nazarchuk H. H. The study of antimicrobial properties of film materials based on biopolymers and antiseptics// Biomedical and biosocial anthropology. - 2020. - № 39. - С.29-34. DOI: <https://doi.org/10.31393/bba39-2020-05>
  3. Назарчук О. А., Грузевський О. А., Дениско Т. В., Кагляк М.Д. 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», 2021. P.211–214. DOI: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-038-4-59>.
  4. H. Nazarchuk, T. Denysko, O. Gruzevsky. Activity of modern antiseptic agents against immature biofilms of multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from combat wounds// Antimicrobial Resistance & Infection Control 2023, 12 (Suppl 1):81 <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01276-2>
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Заклад вищої освіти Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, кафедра мікробіології та паразитології з основами імунології (протокол засідання № 9 від 05.12. 2023 р.).
5. **Результати застосування** пропозиції за період з вересня 2023 по теперішній час. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри мікробіології на практичних заняттях.
6. **Ефективність впровадження:** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі забезпечує поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо активності сучасних антисептиків проти полірезистентних збудників інфекційних ускладнень ран та опіків в планктонній та у формі біоплівки, а також можливості розробки ефективних антимікробних біоматеріалів на основі антисептиків.

Відповідальний за впровадження: д.мед.н., професор ЗВО  Віталій БОБІР

Голова комісії: завідувач кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України, академік НАН та НАМН України, д.мед.н., професор 

Володимир ШИРОБОКОВ





### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва наукової розробки, яка впроваджується:** Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів.
2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.  
**Розробник:** Дениско Тетяна Валеріївна.
3. **Джерела інформації:**
  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
  2. Nazarchuk A. A., **Denisko T. V.**, Voloshchuk N. I., Nazarchuk H. H. The study of antimicrobial properties of film materials based on biopolymers and antiseptics// *Biomedical and biosocial anthropology.* - 2020. - № 39. - С.29-34. DOI: <https://doi.org/10.31393/bba39-2020-05>
  3. Назарчук О. А., Грузевський О. А., **Дениско Т. В.**, Кагляк М.Д. 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», 2021, P.211–214. DOI*<https://doi.org/10.30525/978-9934-26-038-4-59>.
  4. H. Nazarchuk, **T. Denysko**, O. Gruzevsky. Activity of modern antiseptic agents against immature biofilms of multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from combat wounds// *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2023, 12 (Suppl 1):81 <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01276-2>
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Заклад вищої освіти Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, кафедра мікробіології, вірусології та імунології (протокол засідання № від 30 жовтня 2023 р.).
5. **Результати застосування** пропозиції за період з вересня 2023 по теперішній час. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри мікробіології на практичних заняттях.
6. **Ефективність впровадження:** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі забезпечує поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо активності сучасних антисептиків проти полірезистентних збудників інфекційних ускладнень ран та опіків в планктонній та у формі біоплівки, а також можливості розробки ефективних антимікробних біоматеріалів на основі антисептиків.

Відповідальний за впровадження: к.мед.н., доцент ЗВО  **Ірина БОБК**

Завідувач кафедри мікробіології ЗВО  
 Вінницький національний медичний  
 університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України,  
 д.мед.н., професор

 **Валентин КОВАЛЬЧУК**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Дніпровського державного  
медичного університету  
МОЗ України  
д.мед.н., проф.



Олександр ГУДАРЬЯН  
«22» 09 2023 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва наукової розробки, яка впроваджується:** Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів.
- Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.  
**Розробник:** Дениско Тетяна Валеріївна.
- Джерела інформації:**
  - Denysko TV, Nazarchuk OA, Gruzevskiy O, Bahniuk NA, Dmytriiiev 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
  - Nazarchuk A. A., **Denisko T. V.**, Voloshchuk N. I., Nazarchuk H. H. The study of antimicrobial properties of film materials based on biopolymers and antiseptics// *Biomedical and biosocial anthropology.* - 2020. - № 39. - С.29-34. DOI: <https://doi.org/10.31393/bba39-2020-05>
  - Назарчук О. А., Грузевський О. А., **Дениско Т. В.**, Кагляк М.Д. 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», 2021. P.211–214. DOI*<https://doi.org/10.30525/978-9934-26-038-4-59>.
  - H. Nazarchuk, **T. Denysko**, O. Gruzevsky. Activity of modern antiseptic agents against immature biofilms of multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from combat wounds// *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2023, 12 (Suppl 1):81 <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01276-2>
- Базова установа, яка проводить впровадження:** Дніпровський державний медичний університет, кафедра мікробіології, вірусології, імунології, епідеміології, медико-біологічної фізики та інформатики (протокол засідання № 2 від 20 вересня 2023 р.).
- Результати застосування пропозиції за період з вересня 2023 по теперішній час.** Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри мікробіології на практичних заняттях.
- Ефективність впровадження:** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі забезпечує поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо активності сучасних антисептиків проти полірезистентних збудників інфекційних ускладнень ран, опіків у планктонній формі та у формі біоплівки, а також можливості розробки ефективних антимікробних біоматеріалів на їх основі.  
**Зауваження та пропозиції:** немає.  
**Голова комісії:**  
завідувач кафедри мікробіології,  
вірусології, імунології, епідеміології,  
медико-біологічної фізики та інформатики  
Дніпровського державного медичного  
університету МОЗ України  
доктор медичних наук, професор

Дмитро СТЕПАНСЬКИЙ



1. **Назва наукової розробки, яка впроваджується:** Мікробіологічне обґрунтування розробки антимікробних біоматеріалів.
2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.  
**Розробник:** Дениско Тетяна Валеріївна.
3. **Джерела інформації:**
  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
  2. Nazarchuk A. A., Denisko T. V., Voloshchuk N. I., Nazarchuk H. H. The study of antimicrobial properties of film materials based on biopolymers and antiseptics// *Biomedical and biosocial anthropology.* - 2020. - № 39. - С.29-34. DOI: <https://doi.org/10.31393/bba39-2020-05>
  3. Назарчук О. А., Грузевський О. А., Дениско Т. В., Кагляр М.Д. 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», 2021. P.211–214. DOI<https://doi.org/10.30525/978-9934-26-038-4-59>.*
  4. H. Nazarchuk, T. Denysko, O. Gruzevsky. Activity of modern antiseptic agents against immature biofilms of multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from combat wounds// *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2023, 12 (Suppl 1):81 <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01276-2>
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Заклад вищої освіти Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України, кафедра мікробіології (протокол засідання № 2 від 2 // 2023 р.).
5. **Результати застосування пропозиції за період з вересня 2023 по теперішній час.** Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри мікробіології на практичних заняттях.
6. **Ефективність впровадження:** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі забезпечує поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо активності сучасних антисептиків проти полірезистентних збудників інфекційних ускладнень ран та опіків в планктонній та у формі біоплівки, а також можливості розробки ефективних антимікробних біоматеріалів на основі антисептиків.

Голова комісії: завідувач кафедри мікробіології,  
 вірусології та імунології  
 Івано-Франківського національного  
 медичного університету МОЗ України,  
 д.мед.н., професор

Роман КУЩИК