

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор

Харківського національного
медичного університету,

д. мед. н., професор

Карустник В. А.



» 2021 р.

Витяг

з протоколу № 1

засідання фахового семінару

(структурний підрозділ – кафедра дитячих інфекційних хвороб)

Харківського національного медичного університету щодо проведення
попередньої експертизи з оцінювання наукової новизни, теоретичного та

практичного значення результатів дисертаційної роботи аспіранта
кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова

**ХНМУ Бурова Андрія Миколайовича «Експериментальне
обґрунтування використання полікомпонентного гелю з нізином для
профілактики та терапії ранової інфекції»,**

**що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії (PhD)
за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Мікробіологія»
(медичні науки)**

26 квітня 2021 р.

м. Харків

Голова фахового семінару: завідувач кафедри дитячих інфекційних
хвороб, доктор медичних наук, професор Кузнєцов Сергій Володимирович.

Рецензент: професор кафедри дитячих інфекційних хвороб, доктор
медичних наук, професор Козько Володимир Миколайович.

Рецензент: доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології
ім. проф. Д. П. Гриньова, кандидат медичних наук, доцентка Коцар Олена
Василівна.

Присутні: завідувач кафедри дитячих інфекційних хвороб д. мед. н., професор Кузнєцов С. В.; професор кафедри дитячих інфекційних хвороб, д. мед. н., професор Козько В. М, доцентка кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова, к. мед. н., доцентка Коцар О. В., доцентка кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова, к. мед. н., доцентка Мозгова Ю. А., доцентка кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова, к. мед. н., Вовк О. О.

Усього присутніх: 5 членів фахового семінару із попередньої експертизи дисертаційних робіт.

Порядок денний: Попередня експертиза роботи очного аспіранта кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова ХНМУ Бутова А. М. на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Мікробіологія» (медичні науки) на тему: «Експериментальне обґрунтування використання полікомпонентного гелю з нізином для профілактики та терапії ранової інфекції».

Тема дисертації затверджена на засіданні вченої ради ХНМУ (протокол № 10 від 19.10.2017 року).

Науковий керівник: доктор медичних наук, професорка, завідувачка кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова Мішина Марина Митрофанівна.

Термін виконання роботи: 01.09.2017 – 31.08.2021 рр.

Рецензенти:

1. Професор кафедри дитячих інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету, доктор медичних наук, професор Козько В. М.
2. Доцентка кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова Харківського національного медичного університету, кандидат медичних наук, доцентка Коцар О. В.

Із запитаннями до дисертанта звернулися та в обговоренні результатів роботи виступили: професор кафедри дитячих інфекційних хвороб, доктор медичних наук, професор Козько В. М., доцентка кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова Коцар О. В., доцентка кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова Мозгова Ю.А., доцентка кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова Вовк О.О.

На підставі доповіді Бузова А.М., відповідей на запитання, виступів рецензентів та дискусії одностайно ухвалили такий висновок:

Актуальність дисертаційного дослідження

Неправильне та несвоєчасне лікування ран після хірургічних утручань може спричинити тяжкі наслідки для організму через можливе виникнення гнійно-запальних ускладнень внаслідок мікробної контамінації. У зв'язку з цим дуже важливо підібрати протимікробний лікарський засіб, застосування якого прискорює загоєння рани та дозволяє запобігти негативним наслідкам для організму. Сьогодні розроблено багато різних видів та форм лікарських препаратів, які активно застосовуються при лікуванні запальних пошкоджень. При цьому традиційні препарати разом з перевагами мають низку суттєвих недоліків. Так, основним недоліком антибіотиків є втрата активності по мірі набуття резистентності до них хвороботворних бактерій.

Застосування антисептичних препаратів також не є абсолютною

панацеєю через їх доволі жорсткий вплив на ділянку ранової поверхні. Перевага антисептиків полягає в неможливості набуття перед ними резистентності до них у мікроорганізмів, проте ці препарати можуть піддаватись контамінації при довготривалому використанні з однієї ємності.

Упродовж останніх років з'явилося багато публікацій про антисептичну дію бактеріоцинів. Їх здатність знешкоджувати хвороботворні мікроорганізми застосовується переважно у харчовій промисловості, проте в практичній хірургії вже давно чекають фармацевтичні препарати для ефективного лікування запальних ран.

У цьому плані найбільш придатним представником бактеріоцинів є нізин, що є безпечним пептидом з визнаним потенціалом для клінічного використання. Продовж двох десятиріч застосування нізину набуло значного поширення в біомедицині. Дослідження показали, що нізин може запобігати зростанню стійких до ліків штамів бактерій, таких як метицилін-резистентний *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococci* та *Clostridium difficile*. Було показано, що нізин має анти мікробну активність щодо як грампозитивних, так і грамнегативних патогенів.

Приготування таких ліків можливе шляхом з'єднання протимікробної дії нізину, розчиненого в об'ємі гелевої основи. Як таку можна використовувати гелеутворювачі на поліетиленоксидній основі з молекулярною вагою 400 або 1500 дальтон, карбоксиметилцелюлози (КМЦ) або карбополу. Їх перевагами є низька токсичність, відсутність алергічних реакцій, водневий показник рН відповідає шкірному, можливість тривалого застосування без істотних побічних явищ, багатогранність фармакологічних властивостей, благотворна дія на організм в цілому та швидке засвоєння. Гель швидко розподіляється, практично миттєво підсихає і добре тримається на шкірі, утворюючи тонку плівку, але при цьому не закупорює пори. До того ж мазеві композиції мають пролонговану дію, проте повне вивільнення активної речовини.

Проте відомості щодо впливу композицій полікомпонентних гелів з нізином на контаміновані мікроорганізмами рани відсутні. Створення ефективних схем використання комплексного протимікробного впливу на інфіковану рану потребує більш глибокого вивчення на експериментальних моделях *in vivo*.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана відповідно з плановою тематикою науково-дослідної роботи кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова ХНМУ: (№ держреєстрації № 0118U000930 – 2017–2019 рр.); «Експериментальне обґрунтування застосування комплексу протимікробних засобів на підставі визначення особливостей мікробіологічних властивостей збудників гнійно-запальних захворювань» (№ держреєстрації: 0120U102569 КПКВК 2301020 – прикладна, 2020 – 2024 рр.).

Наукові положення, розроблені особисто дисертантом, та їх новизна

Уперше експериментально доведений позитивний протимікробний вплив бактеріоцину нізину проти *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa* в умовах *in vitro*.

Доповнено наукові дані щодо застосування мазей з протимікробними властивостями, а саме - за допомогою дослідів *in vivo* показано, що для лікування контамінованих відкритих ран найбільш ефективним способом доставки нізину в осередок інфікування є його нанесення на поверхню рани у вигляді м'якої лікарської форми.

Набули подальшого розвитку наукові положення щодо вдосконалення методів створення основ для антибактеріального гелю на підставі проведених реологічних, структурно-механічних та фізико-хімічних досліджень, які показали, що для створення м'яких лікарських форм з активною речовиною нізином найбільш придатними є гідрофобні гелеві композиції на основі

карбополу.

Вперше визначені оптимальні параметри та розроблено технологію приготування антибактеріального гелю для лікування інфікованих ран на основі карбомеру карбополу з активною речовиною у вигляді бактеріоцину нізину.

На основі поглибленого вивчення протимікробних гелів показано позитивний вплив додавання до складу розробленої антимікробної композиції комерційного НПЗ «Диклофенак», шляхом зменшення запального процесу в рані.

Уперше експериментально на підставі проведених дослідів *in vivo* доведено ефективність застосування розробленої гелевої композиції в процесі лікування запальних ран; показано пригнічення розвитку хвороботворних *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa*, сформовано тимчасову полімерну захисну оболонку поверхні шкіри полікомпонентним гелем з антимікробною дією, що сприяє попередженню інфікування, зумовлює прискорення регенеративних процесів, зменшення кількості рубцюватої тканини та прискорює епітелізацію рани, що скорочує терміни лікування хворих у стаціонарах та знижує показники ліжко-днів.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, які захищаються

У дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано та вирішено актуальне наукове завдання – досліджений протимікробного впливу природного антибіотика нізину на клінічні штами *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* та *Escherichia coli*. Експериментально створено лікарській препарат у вигляді м'якої лікарської форми, який містить нізин в як протимікробний агент та карбопол, що виконує роль гелевої основи. Доведено ефект пригнічення хвороботворної мікрофлори в експериментах *in vitro* та *in vivo*. Сприятливий вплив розробленої фармацевтичної композиції

доведено мікробіологічними, біохімічними та морфологічними дослідженнями.

Наукове та практичне значення одержаних результатів

Застосування розробленого полікомпонентного гелю на основі нізину при лікуванні інфікованих ран призводить до пригнічення етіологічних чинників запального процесу, відновлення показників місцевого імунітету, нормалізації місцевого гомеостазу, адсорбції продуктів мікробного та тканинного розпаду, підсушування, забезпечення активації обмінних процесів в тканинах, стимуляції репаративних процесів. Сукупність даних чинників забезпечує скорочення термінів лікування, зниження числа інвалідизації й летальності, а також прискорення реабілітації та скорочення перебування хворого в стаціонарі. Можливе перспективне використання полікомпонентного гелю на основі нізину для лікування інших відкритих та операційних ран.

Результати дисертації впроваджено в наукову роботу кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова Харківського національного медичного університету

Особистий внесок здобувача

Дисертаном самостійно проаналізовано наукову літературу за темою дисертаційної роботи, проведено патентно-інформаційний пошук, визначено мету й завдання дослідження, обґрунтовано та сформульовано основні висновки роботи. У співавторстві з науковим керівником д. мед. н., професоркою Мішиною М. М. та к.т.н. Векшиним В.О. проведено експериментальні дослідження щодо впливу нізину на хвороботворні мікроорганізми *in vitro*. У співавторстві з д.фарм.н ст.н.с Мартиновим А.В. виготовлено лікувальний гель на основі карбополу із активною речовиною у вигляді нізину. У співавторстві з к.мед.н, доцентом Наумовою О.В. змодельовано запальну рану *in vivo* та проведено експериментальні

дослідження умов її загоєння з визначенням морфологічних змін тканини осередку запалення. У співавторстві з к.б.н. Абрамовою Л.П. проведені біохімічні дослідження з визначення показників нітросидергичного обміну та цитокінового балансу. Самостійно визначено оптимальну концентрацію нізину у складі лікувального гелю; написано розділи дисертації та сформульовано висновки.

Використання результатів роботи

Результати дисертації впроваджено в наукову роботу кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова Харківського національного медичного університету.

Повнота викладу матеріалів дисертації в публікаціях

Видання, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Mishyna Maryna, Burov Andrey, Vekshin Vitaliy, Grabovetskaya Evgeniya. Antibacterial effect of nisin *in vitro*. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020; №10. С. 332-338.

Особистий внесок здобувача - проведені дослідження антибактеріального впливу нізину в експерименті in vitro.

2. Mishyna M., Vekshin V., Burov A., Grabovetskaya E. Investigation of physico-chemical characteristics of carboxymethylcellulose colloidal carriers for medical preparations. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021; №1(11). С. 202-218.

Особистий внесок здобувача - проведені дослідження приготування розчинів карбоксиметилцелюлози та визначення їх властивостей.

3. Mishyna Marina, Burov Andrey, Vekshin Vitaliy, Grabovetskaya Evgeniya. Evaluation of antimicrobial activity of some compounds for purulent wounds treatment. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021; №3(11). С. 34-41.

Особистий внесок здобувача - проведено визначення оптимальної концентрації нізину.

4. Мішина М.М, Буров А.М, Векшин В.О. Дослідження фізико-хімічних властивостей полімерних геливих носіїв лікарських препаратів на основі карбоксиметилцелюлози. VII Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасний рух науки» (Дніпро, 2019); Ст 1189-1193

Особистий внесок здобувача - проведено визначення оптимальної концентрації карбоксиметилцелюлози.

5. Мішина М.М, Буров А.М, Векшин В.О. Application of carboxymethylcellulose as a carrier of medical preparations for the burn wounds treatment. Міжнародній конференції «International Scientific Interdisciplinary Conference (ISIC) (Харків, 2019); ст 14-15

Особистий внесок здобувача - проведено дослідження гелевих носіїв зі стабілізаторами .

6. Мішина М.М, Буров А.М, Векшин В.О. Дослідження фізико-хімічних показників колоїдних носіїв лікарських препаратів на основі карбоксиметилцелюлози. Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю присвяченій 90-річчю акад. А.Я. Циганенка «Актуальні питання сучасної мікробіології та імунології» (Харків, 2019); 57-61 ст

Особистий внесок здобувача – проведено дослідження фізико-хімічних властивостей карбоксиметилцелюлози

7. Мішина М.М, Буров А.М, Векшин В.О. Розробка медичного препарата на основі карбоксиметилцелюлози для лікування опікових ран. Міжвузівській конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 2020). ст 30-31

Особистий внесок здобувача - проведено дослідження фізико-хімічних властивостей та термінів зберігання.

Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертаційного дослідження.

Наукове дослідження очного аспіранта Бузова А.М. на тему: «Експериментальне обґрунтування використання полікомпонентного гелю з нізином для профілактики та терапії ранової інфекції», комісією з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету визнано таким, що лабораторні та інструментальні методи досліджень є загальноприйнятими

. Мета та завдання дисертації є науково обґрунтованими, використані методи дослідження є безпечними. Індивідуальні ризики відсутні. Лабораторних тваринам було нанесено фізичну травму, також існує ймовірність розвитку психологічної травми та інвалідизації. Потенційними вигодами є розроблення нового полікомпонентного лікарського засобу для лікування інфікованих ран. Експерименти на людині не проводились.

Ухвалили: ЕК не заперечує проти подання до офіційного захисту дисертаційної роботи на здобуття наукового ступеня доктора філософії (PhD) очної аспіранта кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова ХНМУ Бузова Андрія Миколайовича на тему: «Експериментальне обґрунтування використання полікомпонентного гелю з нізином для профілактики та терапії ранової інфекції» та вважає, що описані в дисертаційній роботі методи дослідження використовувалися відповідно до національних "Загальних етичних принципів досліджень на тваринах" (Україна, 2001), які узгоджені з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 18.03.1986р.), а також Хельсинкської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000рр.), статутом Української асоціації з біоетики та нормам GLP (1992р.). Було використано мінімально допустиму для статистичної обробки та отримання достовірних результатів загальноприйнятую кількість тварин (по 10 на групу), а також мінімально достатню для досягнення мети і вирішення

завдань дослідження кількість експериментальних груп (протокол №4 засідання комісії з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету від 07.04.2021 року).

Оцінка мови та стилю дисертації

Дисертація викладена українською мовою, написана грамотно, професійно, легко сприймається. Матеріал викладено послідовно, логічно, висновки відповідають меті та завданням роботи, що свідчить про кваліфікаційну фахову підготовку автора.

Відповідність змісту дисертації спеціальності, за якою вона подається до захисту

Дисертацію присвячено вивченню особливостей процесу формування бактеріальних біоплівки збудниками пієлонефритів у дітей залежно від змін показників факторів неспецифічної резистентності організму.

Дисертаційне дослідження за даною тематикою відповідає науковим напрямкам:

2.1 Вивчення біологічних властивостей патогенних мікробів під час гострого, хронічного інфекційного процесу та персистенції в організмі хворих і бактеріоносіїв, умовно-патогенних мікроорганізмів і їхній вплив на органному, клітинному та молекулярному рівнях;

2.5 Антибіотики. Пробіотики. Класифікація. Технологія та методи аналізу антибіотиків. Перспективи розвитку антибіотиків. Антисептика й антисептичні препарати. Класифікація. Мікробіологічні, фармакологічні та технологічні основи вивчення, методи фізико-хімічного, мікробіологічного аналізу. Застосування антисептичних препаратів. Дезінфектанти. Властивості та принципи застосування дезінфектантів;

2.6 Розширення вивчення механізмів дії антимікробних препаратів на мікробну клітину, шляхів попередження формування стійкості в бактерій до антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів і факторів генетичного контролю

цих процесів – паспорта спеціальності 222 «Медицина», спеціалізація «Мікробіологія», що відповідає паспорту спеціальності 03.00.07 – мікробіологія (медичні науки) згідно з Таблицею відповідності Переліку наукових спеціальностей (Перелік 2011) та Переліку галузей знань і спеціальностей, за якими здійснюється підготовка здобувачів вищої освіти (Перелік 2015), затвердженого Міністерством освіти і науки України 06 листопада 2015 року № 1151 (у редакції наказу Міністерства освіти і науки України від 12 квітня 2016 року № 419).

Рекомендація дисертації до захисту

Ураховуючи актуальність та новизну отриманих автором даних, теоретичне й прикладне значення дисертації, особисті ділові й моральні якості дисертанта, беручи до уваги його вміння узагальнювати матеріали досліджень та його наукову сумлінність одностайно ухвалено рішення: робота очного аспіранта кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова Харківського національного медичного університету Бурова Андрія Миколайовича за темою: «Експериментальне обґрунтування використання полікомпонентного гелю з нізином для профілактики та терапії ранової інфекції» на здобуття наукового ступеня доктора філософії (PhD) за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Мікробіологія» (медичні науки) є закінченою науковою роботою, у якій вирішується актуальне завдання – створення нового антимікробного препарату на гелевій основі для лікування інфікованих ран.

Теоретично обґрунтовано та вирішено актуальне наукове завдання – досліджений протимікробний вплив природного антибіотика нізину на клінічні штами *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* та *Escherichia coli*. Експериментально створено лікарській препарат у вигляді м'якої лікарської форми, який містить нізин як протимікробний агент та карбопол, що виконує роль гелевої основи. Доведено ефект пригнічення хвороботворної мікрофлори в експериментах *in vitro* та *in vivo*. Сприятливий

хвороботворної мікрофлори в експериментах *in vitro* та *in vivo*. Сприятливий вплив розробленої фармацевтичної композиції доведено мікробіологічними, біохімічними та морфологічними дослідженнями.

За актуальністю, науковою новизною, методичним рівнем виконання роботи, практичним значенням, кількістю публікацій, рівнем впровадження, дисертаційна робота Бузова Андрія Миколайовича: «Експериментальне обґрунтування використання полікомпонентного гелю з нізином для профілактики та терапії ранової інфекції» є закінченим науковим дослідженням, що відповідає вимогам (Наказу МОН України №40 від 12.01.2017» із змінами №759 від 31.05.2019); Постанови Кабінету Міністрів України №167 від 6.03.2019 із змінами №979 від 21.10.2020 й може бути рекомендована до офіційного захисту.

Результати голосування: за – 5 голосів, проти – 0 , утрималося – 0.

Голова фахового семінару:

завідувач кафедри дитячих інфекційних хвороб,
д.мед.н., професор



С.В. Кузнєцов

Рецензент:

професор кафедри дитячих інфекційних хвороб,
д.мед.н., професор



В.М. Козько

Рецензент:

доцентка кафедри мікробіології,
вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова,
к.мед.н., доцент



О.В. Коцар