

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

КОЖИНА Владислава Анатолійовича

на тему: **«Теоретичне обґрунтування розробки дезінфікуючого засобу з вмістом ензимів активнішого щодо бактерій у біоплівках та органічного забруднення»**,

подану на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Здатність до формування біоплівок у бактерій є однією зі стратегій їх виживання в навколишньому середовищі. Перебуваючи у біоплівковій формі, мікроорганізми захищені від впливу антибіотиків та інших антимікробних речовин, в тому числі дезінфікуючих засобів. На теперішній час загальноприйнятим вважається, що бактеріальні біоплівки можуть розвиватися на будь-якому матеріалі як біогенного, так і абіогенного походження. Такий спосіб існування зумовлює численні проблеми у ветеринарній практиці, оскільки мікроорганізми, які здатні до біоплівкоутворення, стають причиною розвитку хронічних інфекцій, післяопераційних ускладнень, вони проявляють підвищену стійкість до антибіотиків і дезінфікуючих речовин.

На сьогодні актуальним залишається питання пошуку ефективних та безпечних антибіоплівкоутворюючих засобів, які б перешкоджали адгезії бактерій до поверхні та/або руйнували існуючі біоплівки на різноманітних поверхнях. В останні роки у медичній та ветеринарній практиках перевага надається використанню біологічних речовин завдяки їх ефективності та безпечності для організму людини та тварини. В основу роботи здобувача покладена ідея щодо розробки дезінфікуючого засобу на основі четвертинних амонієвих сполук, похідних біогуанідину та протеолітичних і гліколітичних ензимів, активних щодо бактерій у біоплівках та органічного забруднення для застосування у клініках ветеринарної медицини, яка є доцільною і актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано в Подільському державному аграрно-технічному університеті (нині Заклад вищої освіти «Подільський державний університет») на кафедрі інфекційних та інвазійних хвороб та кафедрі ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії за ініціативною тематикою «Розробка нових антимікробних препаратів і засобів для профілактики і лікування хвороб тварин та дезінфекції у ветеринарній медицині», номер державної реєстрації 0122U200511.

Наукова новизна одержаних результатів. Здобувачем вперше науково обґрунтовано розробку нового дезінфікуючого засобу для дезінфекції, достерилізаційного очищення та стерилізації у клініках ветеринарної медицини шляхом поєднання дезінфікуючих субстанцій із класу ЧАС, похідних біогуанідину, протеолітичних та гліколітичних ензимів. Встановлено, що деззасіб «Ензидез» активний щодо біоплівкових форм бактерій та за можливого органічного навантаження. Дезінфектант проявляє бактерицидний ефект щодо музейних штамів бактерій *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* і грибів роду *Candida spp.* починаючи з 0,1 % концентрації та експозиції 15 хвилин, добре проникає в капілярну систему будівельних матеріалів (нахель), слабокорозійний відносно оцинкованої і нержавіючої сталі, проявляє мийні властивості та протеолітичну активність. На підставі токсикологічних досліджень встановлено, що деззасіб «Ензидез» є безпечний, не спричиняє подразнюючої та шкірно-резорбтивної дії, не викликає видимих змін слизової оболонки очей кроликів та вірогідних змін крові лабораторних мишей.

Розроблено режими застосування дезінфектанту в клініках ветеринарної медицини для дезінфекції, достерилізаційного очищення та стерилізації об'єктів (стіни, підлога, столи, тощо) та усіх видів виробів, інструментів та обладнання ветеринарного призначення, визначено його ефективні концентрації. Наукова новизна розробки підтверджена деклараційним патентом на корисну модель «Спосіб дезінфекції обладнання, інструментів, об'єктів ветеринарного нагляду у ветеринарній медицині», № 150859 від 05.05.2022 р. Бюл. № 18.

Практичне і теоретичне значення одержаних результатів. На підставі проведених лабораторних (мікробіологічних, фізико-хімічних, токсикологічних) та клінічних досліджень встановлено, що дезінфікуючий засіб «Ензидез» ефективний за дезінфекції, достерилізаційного очищення та стерилізації об'єктів, виробів, інструментів та обладнання у клініках ветеринарної медицини. Отримані результати щодо бактерицидної та протигрибкової дії дозволяють використовувати його для руйнування біоплівкових форм бактерій навіть за органічного забруднення, що відображено у методичних рекомендаціях «Застосування дезінфікуючого засобу «Ензидез», які затверджено на засіданні науково-методичної ради ЗВО «ПДУ», протокол №8 від 22 листопада 2022 року. На підставі результатів досліджень запропоновано ТУ У 21.2– 22769675–002:2022 на розроблений дезінфікуючий засіб «Ензидез».

Ступінь обґрунтованості та достовірності досліджень, проведених здобувачем, підтверджується достатнім обсягом досліджуваного матеріалу.

Дисертаційна робота виконана на сучасному науковому рівні, що дало змогу зробити аргументовані висновки та запропонувати практичні рекомендації. Новизну, теоретичну та практичну значимість роботи обумовлює адекватний методичний підхід, застосування сучасних методів обробки інформації. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, та їх достовірність мають високий академічний рівень.

Автором застосовані релевантні методи дослідження: токсикологічні, фармакологічні, мікробіологічні, біохімічні, статистичні, які обумовили отримання обґрунтованих наукових положень, висновків і практичних рекомендацій.

Ступінь обґрунтованості наукових положень є достатнім враховуючи, що його підґрунтям стали результати вивчення наукових джерел, проведення мультифакторних досліджень та відповідному аналізу їх результатів.

Рукопис дисертаційної роботи написаний відповідно до вимог, які регулюють написання дисертацій, має відповідну структуру.

Дисертаційна робота представлена за класичною структурою, викладена на 178 сторінках друкованого тексту. Основні розділи дисертації представлені у вигляді анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, власних досліджень, аналізу і узагальнення отриманих результатів, висновків, бібліографії та додатків. Дисертаційна робота має достатньо ілюстрованого матеріалу для пояснення і візуалізації отриманих результатів.

Анотація складається зі стислого переказу основних пунктів дисертаційного дослідження, в анотації українською та англійською мовами висвітлено зміст та основні результати дослідження, зазначено елементи наукової новизни та практичного значення, ключові слова.

У **вступі** описано актуальність досліджуваної проблеми, вказано зв'язок з іншими дослідницькими темами, сформульовано мету і задачі дослідження, наведено публікації, в яких викладено результати дослідження з вказанням вкладу здобувача.

Огляд літератури написаний кваліфіковано. Складається з основних фактів, які є підґрунтям досліджуваної проблеми, описано поточний стан досліджень на основі аналізу статей інших дослідницьких груп та подано інформацію про сучасні методологічні підходи розв'язання поставленої наукової задачі.

У розділі **«Вибір напрямів досліджень, матеріали та методи досліджень»** автор вичерпно викладає та обґрунтовує методику і дизайн досліджень, методи статистичної обробки результатів досліджень. Дано

детальний опис і обґрунтування використаних моделей та експериментальних груп тварин. Описані сучасні методи дослідження, які були використані здобувачем.

У розділі 3 **«Результати власних досліджень»**, який містить вісім підрозділів, описано власне результати проведених експериментальних досліджень.

Так, у підрозділі 3.1 описано підбір дезінфікуючих субстанцій для створення дезінфікуючого засобу з мийним ефектом для застосування у клініках ветеринарної медицини та інших об'єктах ветеринарного нагляду, що є основою для проведення подальших досліджень.

В основу підрозділу 3.2 «Розробка регламенту виробництва комплексного дезінфектанту «Ензидез»» лягли дослідження власне зі створення нового дезінфікуючого засобу «Ензидез», проведено визначення його мінімальної бактерицидної концентрації, фенольного коефіцієнту та білкового індексу.

Підрозділи 3.3 «Дослідження бактерицидних властивостей дезінфікуючого засобу «Ензидез»» та 3.4 «Вплив дезінфікуючого засобу «Ензидез» на тест-об'єкти, контаміновані мікроорганізмами» містять результати з визначення бактерицидних властивостей «Ензидезу» різних концентрацій щодо тест-культур, нанесених на тест-об'єкти у лабораторних та виробничих умовах.

У підрозділі 3.5 визначено власне активність дезінфікуючого засобу «Ензидез» щодо бактерій у біоплівках та описано його ефективність при застосуванні за різних експозицій.

Оцінка дезінфікуючого засобу «Ензидез» за фізико-хімічними показниками та його токсикологічні властивості описані у підрозділах 3.6 та 3.7. Визначено, що розчини Ензидезу до 1,0 % концентрації є нетоксичними, безпечними та суттєво не порушують метаболічні процеси в організмі дослідних тварин.

Підрозділ 3.8 «Виробничі дослідження дезінфікуючого засобу «Ензидез» у клініках ветеринарної медицини» містить результати щодо ефективності різних концентрацій деззасобу «Ензидез» за дезінфекції різних об'єктів та знезараження виробів, інструментів, обладнання ветеринарного призначення у клініках ветеринарної медицини.

Опис отриманих власних результатів підсумовується в розділі 4 **«Аналіз і узагальнення результатів дослідження»**, в якому автор дискутує і порівнює отримані дані з наявними концепціями і гіпотезами, що стосуються розробки та застосування дезінфікуючих засобів з мийним

ефектом, які активно видаляють органічні забруднення та впливають на біоплівкові форми бактерій. Розділ написаний чітко і кваліфіковано.

Висновки логічно витікають з результатів і їх узагальнення сформульовані коротко, містять вичерпну і найбільш суттєву інформацію, отриману в процесі дослідження.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях. За матеріалами дисертації опубліковано 7 друкованих наукових праць, із них 6 статей у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у закордонному виданні, яке входить у науково-метричну базу Scopus, 4 праці - у матеріалах конференцій, отримано деклараційний патент на корисну модель, розроблено і затверджено технічні умови України на дезінфікуючий засіб «Ензидез» та методичні рекомендації. Положення дисертації були обговорені й схвалені на міжнародних, національних наукових і науково-практичних конференціях.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації. Наукова робота виконана на достатньо високому рівні, містить наукову новизну та має практичну цінність, проте доцільно було б вказати на окремі дискусійні положення, вказати зауваження та побажання:

1. Конкретизуйте, яким характеристикам повинен відповідати сучасний дезінфікуючий засіб?

2. Яким спектром бактерицидної дії володіє алкілдиметилбензил-аммоній хлорид та полігексаметиленбігуанідин гідрохлорид?

3. У роботі чітко описано органолептичні та фізико-хімічні показники розробленого засобу, проте не зазначена інформація щодо терміну та умов його зберігання та транспортування.

4. Диференціюйте поняття «дезінфекція» та «стерилізація».

5. Чи проводили Ви дослідження складу мікрофлори до початку стерилізації? Якщо проводили, які результати отримали?

6. Чи проводили Ви визначення впливу дезінфікуючого засобу «Ензидез» на культури у складі однієї біоплівки різних мікробних асоціацій?

7. Який механізм формування бактеріями біоплівок та їх руйнування протимікробними засобами?

8. Яка економічна ефективність застосування розробленого Вами засобу «Ензидез»? Чи проводили Ви такі дослідження?

9. Загальноприйнятим вважається, що у мікроорганізмів з часом розвивається стійкість до антимікробних засобів. Чи вивчали Ви розвиток резистентності у мікрофлори за тривалого застосування засобу «Ензидез»?

10. Ваші дослідження описують безпечність засобу «Ензидез» у лабораторних умовах. Чи визначали Ви вплив засобу на організм тварин у виробничих умовах?

11. Засіб «Ензидез» призначений для дезінфекції, достерилізаційного очищення та стерилізації у клініках ветеринарної медицини. Чи можливо даний дезінфектант застосовувати для обробки інших об'єктів?

12. Чи існують аналогічні засоби дезінфекції на сьогодні і які суттєві переваги розробленого дезінфектанту «Ензидез» та чи передбачена реєстрація розробленого дезінфікуючого засобу на території України?

Дані зауваження мають рекомендаційний характер, направлений на самовдосконалення і розвиток власних компетенцій дисертанта. Вказані дискусійні положення та побажання відображають власну наукову позицію опонента і не знижують загальної позитивної оцінки роботи.

Загальний висновок. Аналіз дисертації та наукових праць, опублікованих за темою дозволяє зробити висновок, що дисертаційна робота Кожина Владислава Анатолійовича на тему: «Теоретичне обґрунтування розробки дезінфікуючого засобу з вмістом ензимів активного щодо бактерій у біоплівках та органічного забруднення» є цілісною науковою працею, яка вирішує актуальну експериментальну задачу. За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, достатньою повнотою викладення матеріалів в опублікованих працях, оформленням робота повністю відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12.01.2017 року № 40, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 03 лютого 2017 року за № 155/30023, постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р. № 44, а її автор Кожин Владислав Анатолійович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент

**Виконуючий обов'язки директора
Національного наукового центру
«Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини»,
доктор ветеринарних наук, професор**



Анатолій ПАЛІЙ

Підпис А. П. Палія засвідчую:
Вчений секретар ННЦ «ІЕКВМ»,
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник



Лариса КОВАЛЕНКО

06 лютого 2024 року