

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ІМ. М.І. ПИРОГОВА

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

Бебик Віра Володимирівна

УДК: 579.61:615.281/.33:616.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ РОЗРОБКИ ТА
ЗАСТОСУВАННЯ АЛЬТЕРНАТИВНИХ ЗАСОБІВ ПРОТИМІКРОБНОЇ
ДІЇ НА АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИХ ЗБУДНИКІВ
ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ**

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

спеціальність 091 Біологія

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ В. В. Бебик

Науковий керівник

Назарчук Олександр Адамович, професор кафедри мікробіології закладу
вищої освіти Вінницького національного медичного університету
ім. М.І. Пирогова, доктор медичних наук, професор

Вінниця 2025

АНОТАЦІЯ

Бебик В. В. Мікробіологічне обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії на антибіотикорезистентних збудників інфекційних ускладнень – 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, 2025.

Метою дисертаційної роботи є підвищення ефективності боротьби з антибіотикорезистентними (АР) збудниками інфекційних ускладнень шляхом мікробіологічного обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії.

Дисертаційне дослідження було проведено на культурах полірезистентних клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів *Pseudomonas aeruginosa* ($n=54$), *Acinetobacter baumannii* ($n=19$), *Escherichia coli* ($n=13$), *Enterobacter* spp. ($n=14$), *Klebsiella pneumoniae* ($n=14$) та *Staphylococcus aureus* ($n=17$), одержаних з банку живих культур мікроорганізмів бактеріологічної лабораторії кафедри мікробіології ВНМУ ім. М. І. Пирогова, які були попередньо виділені від пацієнтів з інфікованими бойовими пораненнями різної локалізації, опіками, інфекційними ускладненнями, пов’язаними з наданням медичної допомоги. Дослідження чутливості до антимікробних засобів, в т.ч. в умовах дії біофізичних та біологічних факторів, зазначених АР культур клінічних штамів мікроорганізмів було проаналізовано у порівнянні з чутливістю референтних штамів бактерій з колекції живих культур кафедри мікробіології (*P. aeruginosa* ATCC 27853; *A. baumannii* ATCC 15151 та ATCC BAA-747; *S. aureus* ATCC 29213, ATCC 25923; *E. coli* ATCC 25922, ATCC 35218; *K. pneumoniae* ATCC 700603).

У дослідженні вивчено характер чутливості до хіміотерапевтичних засобів клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, які визнані пріоритетними мікробними патогенами у спричиненні інфекційних ускладнень в сучасній медичній практиці. Серед досліджуваної вибірки клінічних штамів збудників (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae complex*, *S. aureus*) музею живих культур кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, встановлено високий рівень антимікробної резистентності. Так, ізоляти *A. baumannii* та *P. aeruginosa* продемонстрували майже повну стійкість до пеніцилінів, цефалоспоринів, фторхінолонів, аміноглікозидів та карбапенемів (резистентність 74,1–100,0%). Штами *K. pneumoniae* проявляли стійкість до більшості β-лактамів (до 100,0%), за винятком цефтазидиму/авібактаму (чутливість 64,3%). *E. coli* зберігала чутливість до фторхінолонів, аміноглікозидів та тетрациклінів, була резистентною до пеніцилінів і цефалоспоринів. *S. aureus* характеризувався резистентністю до β-лактамів (70,6%) та аміноглікозидів (64,7–76,5%). Водночас, встановлено, що ванкоміцин залишався ефективним (резистентність *S. aureus* 35,3 %). У дослідженні наведено дані щодо виявлених домінуючих фенотипових резистотипів, зокрема стійкість до всіх антибіотиків у *P. aeruginosa* (74,1%) та множинну резистентність у *K. pneumoniae*. Аналіз встановлених фенотипових резистотипів та наявних генотипів досліджуваних клінічних штамів бактерій підтвердив наявність генів резистентності (*bla*OXA, *aph*, *sul*), з сильною кореляцією між генотиповими та фенотиповими ознаками у *A. baumannii* ($r=0,87$) та *K. pneumoniae* ($r=0,61$). Одержані результати підкреслюють необхідність розробки нових антимікробних засобів та підходів для боротьби з резистентними збудниками сучасних інфекційних ускладнень.

В роботі вивчено чутливість клінічних штамів *S. aureus*, провідних грамнегативних збудників інфекційних ускладнень з фенотиповими ознаками та генотипово детермінованою множинною АР до антисептиків як альтернативних засобів з відмінним механізмом дії на бактерії. Проведені

дослідження засвідчили достовірні відмінності показників мінімальних інгібуючої (МІК) та бактерицидної (МЦК) концентрацій проти культур мікроорганізмів. За результатами проведених досліджень локальні антисептики, зокрема декаметоксин (ДМТ), хлоргексидину диглюконат (ХГД) і октенідину дигідрохлорид (ОКТ), продемонстрували високу антимікробну активність проти всіх досліджуваних видів мікроорганізмів. Доведено переваги бактеріостатичної та бактерицидної дії ДМТ, ХГД і ОКТ проти *P. aeruginosa* (МІК 16,4–22,5 мкг/мл, МЦК 72,1–102,5 мкг/мл), що перевищували ефективність полігексаніду (ПГМ) та бензалконію хлориду ($p \leq 0,01$). Для ДМТ визначено домінуючу антимікробну активність проти інших грамнегативних бактерій *A. baumannii* (15,61 мкг/мл) і МЦК (41,22 мкг/мл), *K. pneumoniae* (МІК 17,17 мкг/мл, МЦК 36,24 мкг/мл), *E. coli* та *Enterobacter spp.* (МІК 12,22–18,42 мкг/мл, МЦК 23,17–43,27 мкг/мл) з достовірною перевагою над іншими антисептиками у 1,36–8,9 рази ($p \leq 0,001$).

Доведено, що чутливість АР культур *S. aureus* була рівнозначною до ДМТ, ХГД й ОКТ (МІК 10,05–11,51 мкг/мл, МБК 18,45–23,23 мкг/мл). Встановлені достовірні відмінності показників чутливості референтних штамів всіх досліджуваних видів збудників, які мали нижчі МІК (2–13 мкг/мл) і МЦК (3–25 мкг/мл), вказують на вищу резистентність клінічних ізолятів та необхідність індивідуального підбору антисептиків. Результати проведених досліджень підтверджують перспективність застосування катіонних поверхнево-активних антисептиків, зокрема ДМТ, для боротьби з умовно-патогенними АР ацінетобактеріями, ентеробактеріями та золотистим стафілококом.

Проведені дослідження впливу біогальванічного струму (БГС) низької інтенсивності (46–60 мкА) без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa* в ізотонічному розчині натрію хлориду та м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ), дозволили встановити, що для *S. aureus* (ATCC 25923 та $n=17$ клінічних штамів) у фізіологічному розчині вихідна концентрація (2,0 одиниці оптичної

густини (ООГ), $\approx 1,6 \times 10^9$ КУО/мл) під впливом струмів достовірно знижувалася в 3–3,5 рази на 24 год (0,4 ООГ, $\approx 3,2 \times 10^8$ КУО/мл, $p \leq 0,01$) та в 4–5,5 рази на 48 год (0,2–0,3 ООГ, $\approx 1,6–2,4 \times 10^8$ КУО/мл, $p \leq 0,05$). У МПБ, де концентрація мікроорганізмів клінічних ізолятів без впливу відповідно зростала до $5,8 \pm 0,2$ ($\approx 4,64 \times 10^9$ КУО/мл) та $6,2 \pm 0,5$ ($\approx 4,96 \times 10^9$ КУО/мл), струми знижували її відповідно в 1,20 та 1,24 рази до значень $4,8 \pm 0,4$ ($\approx 3,84 \times 10^9$ КУО/мл; $p \leq 0,01$) та $5,0 \pm 0,6$ ООГ, $\approx 4,0 \times 10^9$ КУО/мл; $p \leq 0,01$).

Доведено, що під впливом струмів концентрація *A. baumannii* (АТСС 19606 та $n=19$) у фізіологічному розчині (2,0 ООГ) зменшувалася до $1,6 \pm 0,7$ ($\approx 1,28 \times 10^9$ КУО/мл) та $1,9 \pm 0,4$ ($\approx 1,52 \times 10^9$ КУО/мл) на 24–48 год відповідно ($p \leq 0,05$). В результаті дії мікроамперних БГС при культивуванні у МПБ – концентрація клітин *A. baumannii* достовірно знижувалась у 1,18 раза ($p \leq 0,05$) на лише через 48 год. Вивчення впливу БГС на суспензії *P. aeruginosa* (АТСС 27853 та $n=15$) у фізіологічному розчині, показало зниження концентрації клітин через 24 год та 48 год відповідно в 1,45 рази ($p \leq 0,01$) у випадку референтного штаму та у 1,3 ($p \leq 0,05$) і 2,38 рази ($p \leq 0,01$) відповідно при дії на клінічних штамів. В умовах МПБ концентрація *P. aeruginosa* зменшувалася в 1,36 ($p \leq 0,05$) – 1,54 рази ($p \leq 0,01$) (1,8–3,1 ООГ, $\approx 1,44–2,48 \times 10^9$ КУО/мл). Сила струму в присутності бактерій знижувалася з 45–60 мкА до 24–43 мкА за 48 год. Результати свідчать про бактеріостатичний ефект струмів низької інтенсивності, особливо виражений для *S. aureus* у фізіологічному розчині, що розширює можливості боротьби з АР інфекціями з використанням БГС.

Так, результати дослідження чутливості до антибіотиків клінічних полірезистентних штамів неферментуючих грамнегативних бактерій засвідчили статистично значущий біоелектричний ефект мікроамперних струмів, в результаті якого встановлено зниження МІК цефтазидиму щодо *A. baumannii* (у 3,38 рази; ($p \leq 0,001$)) та МІК цефтазидиму і цефепіму щодо *P. aeruginosa* (у 2,67 раза та у 3,67 раза, відповідно; $p \leq 0,001$), що вказувало на підвищення чутливості цих бакетрій.

У дослідженні впливу БГС низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на біоплівкоутворювальні властивості полірезистентних клінічних штамів *S. aureus* (n=15), *A. baumannii* (n=12) та *P. aeruginosa* (n=13) в ізотонічному розчині натрію хлориду та МПБ було встановлено, що усі штами виявляли високу здатність до біоплівкоутворення (ОГ >0,240). У фізіологічному розчині БГС достовірно знижував біоплівкоутворення: для *S. aureus* – на 33,8 %, *A. baumannii* – на 28,0 %, *P. aeruginosa* – на 16,3 %. У МПБ пригнічення було менш вираженим: *S. aureus* – на 28,3 %, *A. baumannii* – на 24,8 %, натомість для *P. aeruginosa* різниця була незначною (11,9 %). Встановлено сильніший ефект у фізіологічному розчині, що пояснюється потенційно вищим рівнем стресу для бактерій за відсутності поживних речовин, особливо для *S. aureus* та *A. baumannii*. Показано, що *P. aeruginosa* виявила меншу чутливість, що пояснюється її здатністю виживати за мінімального вмісту поживних речовин. Результати засвідчили, що біоелектричний ефект БГС, який знижує біоплівкоутворювальні властивості полірезистентних штамів, відкриваючи додаткові мішені впливу на АР штамів бактерій в боротьбі з ними.

Оскільки серед досліджуваних видів клінічні штами *P. aeruginosa* вирізнялись переважанням множинної резистентності до антибіотиків (55,6–66,7 %), а також виявляли чутливість до значно вищих концентрацій антисептиків, ніж референтний штам, в роботі було вивчено їх чутливість до фагів. Дослідженнями встановлено, що комбінована терапія антисептиками (ДМТ, ХГД, октенідин) та препаратами на основі бактеріофагів («Піофаг») має синергічний ефект, значно підвищуючи чутливість як фагорезистентних (I_s зростає в 3,6–4,7 рази), так і чутливих штамів (I_s зростає в 1,16–1,2 рази) при суббактеріостатичних концентраціях антисептиків ($p \leq 0,003$). Встановлено, біологічний засіб «Піофаг» демонстрував сильну літичну дію: 70,4% штамів були чутливими ($I_s = 0,5–1,0$), а комбінація підвищувала чутливість фагорезистентних штамів у 3,6–4,7 рази ($p \leq 0,003$). Піофаг пригнічував плівкоутворення на 22,2% ($p = 0,006$) і ріст зрілих біоплівок у 1,3 рази ($p = 0,003$),

але не руйнував сформовані плівки. Результати підтверджують перспективність комбінованої терапії антисептиками та бактеріофагами для подолання АР *P. aeruginosa*, підкреслюючи необхідність попереднього визначення чутливості штамів до бактеріофагів.

Таким чином, комбінація катіонних поверхнево-активних антисептиків, зокрема ДМТ, ХГД, ОКТ, ПГМ біогальванічного струму та бактеріофагів є перспективною альтернативною стратегією для подолання АР. Серед альтернативних засобів антисептик ДМТ вирізняється високою ефективністю, а також має достовірно синергічний ефект при застосуванні з бактеріофагами, БГС, ефективно пригнічує біоплівкоутворення, підвищує чутливість до антисиньогнійних антибіотиків клінічних штамів пріоритетних збудників інфекційних ускладнень з наділеними генотипово-детермінованими ознаками резистентності, що достовірно дозволяє підвищити антимікробну дію та боротьбу з ними.

Ключові слова: антибіотикорезистентність, антимікробні засоби, антимікробна дія, антибіотики, антисептики, антибіоплівкова активність, бактеріальна біоплівка, бактеріофаги, біоплівкоутворення, біогальванічний струм, грамнегативні неферментуючі бактерії, збудники інфекційних ускладнень, умовно-патогенні мікроорганізми, декаметоксин, катіонні поверхнево активні речовини, множинна резистентність, фенотипова антибіотикорезистентність, гени резистентності, фагорезистентність, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

SUMMARY

Bebyk V. V. Microbiological substantiation of the development and use of alternative antimicrobial agents against antibiotic-resistant pathogens of infectious complications – 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, 2025.

The aim of the dissertation is to improve the effectiveness of struggling against antibiotic-resistant (AR) pathogens by means of microbiological substantiation of the development and use of alternative antimicrobial agents. The dissertation study was performed on cultures of multidrug-resistant (MDR) clinical strains of opportunistic pathogens *Pseudomonas aeruginosa* (n=54), *Acinetobacter baumannii* (n=19), *Escherichia coli* (n=13), *Enterobacter* spp. (n=14), *Klebsiella pneumoniae* (n=14) and *Staphylococcus aureus* (n=17) obtained from the bank of live cultures of microorganisms of the Bacteriological laboratory of the Department of Microbiology of National Pirogov Memorial Medical University (NPMMU), Vinnytsya, which had been previously isolated from patients with infected combat wounds of various localizations, burns, and infectious complications associated with medical care. The study of susceptibility to antimicrobial agents, including under the influence of biophysical and biological factors, of the AR cultures of clinical strains of microorganisms was analyzed in comparison with the sensitivity of reference bacterial strains from the collection of live cultures of the Department of Microbiology (*P. aeruginosa* ATCC 27853; *A. baumannii* ATCC 15151 and ATCC BAA-747; *S. aureus* ATCC 29213, ATCC 25923; *E. coli* ATCC 25922, ATCC 35218; *K. pneumoniae* ATCC 700603).

The study investigated the nature of sensitivity to chemotherapeutic agents of clinical strains of opportunistic pathogens, which are recognized as priority microbial pathogens in causing infectious complications in modern medical practice. Among the studied sample of clinical strains of pathogens (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae* complex, *S. aureus*) of the Museum of Live Cultures of the Department of Microbiology of NPMMU, Vinnytsya, a high level of antimicrobial resistance was found. Thus, isolates of *A. baumannii* and *P. aeruginosa* demonstrated almost complete resistance to penicillins, cephalosporins, fluoroquinolones, aminoglycosides and carbapenems (resistance 74.1-100.0%). *K. pneumoniae* strains were resistant to most β -lactams (up to 100.0%), with the exception of ceftazidime/avibactam (64.3% susceptibility).

E. coli retained sensitivity to fluoroquinolones, aminoglycosides, and tetracyclines, and was resistant to penicillins and cephalosporins. *S. aureus* was characterized by resistance to β -lactams (70.6%) and aminoglycosides (64.7-76.5%). At the same time, it was found that vancomycin remained effective (*S. aureus* resistance 35.3%). The study provides data on the dominant phenotypic resistotypes identified, including resistance to all antibiotics in *P. aeruginosa* (74.1%) and multiple resistance in *K. pneumoniae*. The analysis of the established phenotypic resistotypes and available genotypes of the studied clinical bacterial strains confirmed the presence of resistance genes (*bla*OXA, *aph*, *sul*), with a strong correlation between genotypic and phenotypic features in *A. baumannii* ($r=0.87$) and *K. pneumoniae* ($r=0.61$). The results emphasize the need to develop new antimicrobial agents and approaches to combat resistant pathogens of modern infectious complications.

The sensitivity of clinical strains of *S. aureus*, the leading Gram-negative pathogens of infectious complications with phenotypic features and genotypically determined multiple AR, to antiseptics as alternative agents with different mechanisms of action on bacteria was studied. The studies have demonstrated significant differences in the minimum inhibitory (MIC) and bactericidal (MCC) concentrations against microbial cultures. According to the results of the studies, topical antiseptics, in particular decamethoxin (DMT), chlorhexidine digluconate (CHD) and octenidine dihydrochloride (OCT), demonstrated high antimicrobial activity against all the tested microorganisms. The advantages of bacteriostatic and bactericidal action of DMT, CHD and OCT against *P. aeruginosa* (MIC 16.4-22.5 $\mu\text{g/ml}$, MCC 72.1-102.5 $\mu\text{g/ml}$) were proved, which exceeded the effectiveness of polyhexanide (PHM) and benzalkonium chloride ($p \leq 0.01$). There was found predominant antimicrobial activity of DMT against another Gram-negative bacteria *A. baumannii* (MIC – 15,61 $\mu\text{g/ml}$) i MCC (41,22 $\mu\text{g/ml}$), *K. pneumoniae* (MIC 17,17 $\mu\text{g/ml}$, MCC 36,24 $\mu\text{g/ml}$), *E. coli* and *Enterobacter spp.* (MIC 12,22–18,42 $\mu\text{g/ml}$, MCC 23,17–43,27 $\mu\text{g/ml}$) with a 1,36–8,9 times significantly higher predominance in comparison with other antiseptics рази ($p \leq 0,001$).

It was proved that the susceptibility of *S. aureus* AR cultures was equivalent

to DMT, CHD and OCT (MIC 10.05-11.51 $\mu\text{g/ml}$, MIC 18.45-23.23 $\mu\text{g/ml}$). Significant differences in the susceptibility of the reference strains of all studied pathogen species, which had lower MICs (2-13 $\mu\text{g/ml}$) and MICs (3-25 $\mu\text{g/ml}$), indicated higher resistance of clinical isolates and the need for individual choice of antiseptics. The results of the study confirm the prospects of using cationic surface-active antiseptics, in particular DMT, to combat opportunistic pathogens *Acinetobacter*, *Enterobacter* and *S. aureus*. The study of the effect of low-intensity biogalvanic current (BIC) (46-60 μA) without external power sources on reference and clinical strains of *S. aureus*, *A. baumannii* and *P. aeruginosa* in isotonic sodium chloride solution and meat-peptone broth (MPB) has revealed that for *S. aureus* (ATCC 25923 and $n=17$ clinical strains) in saline, the initial concentration (2.0 optical density units (ODU), $\approx 1.6 \times 10^9$ CFU/ml) under the influence of currents significantly decreased by 3-3.5 times at 24 h (0.4 ODU, $\approx 3.2 \times 10^8$ CFU/ml, $p \leq 0.01$) and by 4-5.5 times at 48 h (0.2-0.3 ODU, ≈ 1.6 - 2.4×10^8 CFU/ml, $p \leq 0.05$). In the MPB, where the concentration of microorganisms of clinical isolates without exposure increased to 5.8 ± 0.2 ($\approx 4.64 \times 10^9$ CFU/ml) and 6.2 ± 0.5 ($\approx 4.96 \times 10^9$ CFU/ml), respectively, the currents reduced it by 1.20 and 1.24 times to 4.8 ± 0.4 ($\approx 3.84 \times 10^9$ CFU/ml; $p \leq 0.01$) and 5.0 ± 0.6 OOG, $\approx 4.0 \times 10^9$ CFU/ml; $p \leq 0.01$). It was proved that under the influence of currents, the concentration of *A. baumannii* (ATCC 19606 and $n=19$) in saline (2.0 OOG) decreased to 1.6 ± 0.7 ($\approx 1.28 \times 10^9$ CFU/ml) and 1.9 ± 0.4 ($\approx 1.52 \times 10^9$ CFU/ml) for 24-48 h, respectively ($p \leq 0.05$). As a result of the action of microamperage BGS during cultivation in MPB, the concentration of *A. baumannii* cells significantly decreased by 1.18 times ($p \leq 0.05$) after only 48 h. The study of the effect of BGS on *P. aeruginosa* suspensions (ATCC 27853 and $n=15$) in saline demonstrated a decrease in cell concentration after 24 h and 48 h, respectively, by 1.45 times ($p \leq 0.01$) in the case of the reference strain and by 1.3 ($p \leq 0.05$) and 2.38 times ($p \leq 0.01$), respectively, when exposed to clinical strains. Under MPB conditions, the concentration of *P. aeruginosa* decreased by 1.36 ($p \leq 0.05$) to 1.54 times ($p \leq 0.01$) (1.8 - 3.1 CFU, ≈ 1.44 - 2.48×10^9 CFU/mL). The current intensity in the presence of bacteria decreased from 45-60 μA to 24-43

μA within 48 hours. The results indicate the bacteriostatic effect of low-intensity currents, especially pronounced for *S. aureus* in saline, which expands the possibilities of combating AR infections using BGS. Thus, the results of the study of antibiotic susceptibility of clinical multidrug-resistant strains of non-fermenting gram-negative bacteria showed a statistically significant bioelectrical effect of microampere currents, which resulted in a decrease in the MIC of ceftazidime against *A. baumannii* (by 3.38 times; ($p \leq 0.001$)) and MIC of ceftazidime and cefepime against *P. aeruginosa* (by 2.67 times and 3.67 times, respectively; $p \leq 0.001$), which indicated an increase in the sensitivity of these bacteria.

In the study of the effect of low-intensity BGS without external power sources on the biofilm-forming properties of multidrug-resistant clinical strains of *S. aureus* (n=15), *A. baumannii* (n=12) and *P. aeruginosa* (n=13) in an isotonic solution of sodium chloride and MPB, all strains were found to demonstrate a high ability to biofilm formation (OG >0.240). In saline solution, BGS significantly reduced biofilm formation: for *S. aureus* – by 33.8 %, *A. baumannii* – by 28.0 %, *P. aeruginosa* – by 16.3 %. The inhibition was less pronounced in MPB: *S. aureus* – by 28.3%, *A. baumannii* – by 24.8%, while for *P. aeruginosa* the difference was insignificant (11.9%). The effect was found to be stronger in saline, which can be explained by the potentially higher level of stress for bacteria in the absence of nutrients, especially for *S. aureus* and *A. baumannii*. It was shown that *P. aeruginosa* showed less sensitivity, which is explained by its ability to survive with minimal nutrients. The results showed that the bioelectric effect of BGC, which reduces the biofilm-forming properties of MDR strains, opens up additional targets for the impact on AR of bacterial strains in the fight against them.

Since the clinical strains of *P. aeruginosa* were characterized by the prevalence of multidrug resistance (55.6-66.7%) among the studied species and also showed sensitivity to significantly higher concentrations of antiseptics than the reference strain, their sensitivity to phages was studied in this work. Studies have shown that combination therapy with antiseptics (DMT, CHD, OCT) and bacteriophage-based drugs (“Pyophage”) has a synergistic effect, significantly

increasing the sensitivity of both phage-resistant (I_s increases 3.6-4.7 times) and sensitive strains (" I_s " increases 1.16-1.2 times) at subbacteriostatic antiseptic concentrations ($p \leq 0.003$). There was found that the biological agent "Piofag" demonstrated a strong lytic effect: 70.4% of strains were sensitive ($I_s = 0.5-1.0$), and the combination increased the sensitivity of phage-resistant strains by 3.6-4.7 times ($p \leq 0.003$). The "Pyophage" inhibited film formation by 22.2% ($p = 0.006$) and the growth of mature biofilms by 1.3 times ($p = 0.003$), but did not destroy the formed films. The results confirm the prospects of combined therapy with antiseptics and bacteriophages to overcome *P. aeruginosa* AR, emphasizing the need to preliminarily determine the sensitivity of strains to bacteriophages.

However, the combination of cationic surface-active antiseptics, in particular DMT, CHD, OCT, PGM and biogalvanic current and bacteriophages is a promising alternative strategy for overcoming AR. Among alternative products, DMT antiseptic is highly effective and has a significant synergistic effect when used with bacteriophages, BGC, effectively inhibits biofilm formation, increases the sensitivity to antiseptic antibiotics of clinical strains of priority pathogens of infectious complications with genotypically determined resistance traits, which significantly increases the antimicrobial effect and control of infectious diseases.

Ключові слова: antibiotic resistance, antimicrobial drugs, antimicrobial effect, antibiotics, antiseptics, antibiotic biofilm activity, bacterial biofilm, bacteriophages, biofilm formation, biogalvanic current, gram-negative non-fermenting bacteria, causative agents of infectious complications, opportunistic pathogens, decamethoxin, cationic surfactants, multidrug resistance, phenotypic antibiotic resistance, resistance genes, phage resistance, *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. 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. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.932467/>.
2. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., **Bebyk, V.**, Matuschek, E., Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. *The Lancet. Infectious diseases*, 23(7), 784–786.
3. Nagaichuk V., Nazarchuk H., Bahniuk N., Chornopyschuk, R. M., Nazarchuk, O., **Bebyk, V.**, Turzhanska, O. (2023). Occurrence of *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and sensitivity to antibiotics in patients at a tertiary burn center in 2015 – 2020. *Lekarsky obzor*, 72(5), 217-223.
4. Nazarchuk, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskyi, H., **Bebyk, V.** (2023). Susceptibility to Antimicrobials of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. *Lekársky Obzor*. 72. 18-23.
5. Назарчук, О. А., **Бєбик, В. В.**, Дениско, Т. В., Назарчук, Г. Г., Пархоменко, О. Г. Вплив мікроамперного струму на клінічні штами *Acinetobacter baumannii* з ознаками множинної лікарської стійкості та прояв біоелектричного ефекту. *Вісник проблем біології і медицини*, 2025 Випуск 1, 176, 382-389. doi:10.29254/2077-4214-2025-1-176-382-389.
6. Nahaichuk, V. I., **Bebyk, V. V.**, Denysko, T. V., Chornopyschuk, R. M., Nagaichuk, V. V., Leichenko, Y. V., & Nazarchuk, O. A. (2025). Study of the effect of biogalvanic current on biofilm formation of multidrug-resistant clinical strains of opportunistic pathogens of wound infection. *Ukrainian Journal of Military Medicine*, 6 (1), 139-146. [https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.1\(6\)-139](https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.1(6)-139).
7. Назарчук, О. А., Бєбик, В. В., Дениско, Т. В., & Нагайчук, В. В. (2025). Дослідження впливу біогальванічного струму низької інтенсивності

без зовнішніх джерел живлення на полірезистентні штами *Pseudomonas aeruginosa* та їхня чутливість до антибіотиків. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 29(1), 29-34.
[https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2025-29\(1\)-04](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2025-29(1)-04)

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Nazarchuk H., Denysko T., Nazarchuk O., Bahniuk N., **Bebyk V.** 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) 2023 15-17 June, 2023, Prague, Czech Republic page 58.

9. 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.

10. Ксенчина К.В., Назарчук О.А., Дмитрієв Д.В., **Бебик В.В.** Дослідження складу та антибіотикочутливості умовно-патогенної мікробіоти ранових поверхонь у пацієнтів з обмеженими пораненнями кінцівок в ранньому періоді після травми. *Практична медицина військового часу: матеріали науково-практичної конференції*, 05-06 грудня, 2024, Київ, Харків; С. 21-22.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	19
ВСТУП.....	22
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ПРОВІДНИХ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ ТА СУЧАСНІ МОЖЛИВОСТІ БОРОТЬБИ З НИМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	34
1.1. Мікробіологічна характеристика особливостей етіології та ключових біологічних механізмів стійкості до антимікробних засобів збудників інфекційних ускладнень, пов'язаних з наданням медичної допомоги в сучасних умовах.....	34
1.2. Сучасні аспекти застосування засобів боротьби з антибіотикорезистентними збудниками інфекційних ускладнень.....	41
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	53
2.1. Характеристика досліджуваних збудників інфекційних ускладнень.....	54
2.2. Характеристика антисептичних засобів антимікробного впливу на мікроорганізми.....	62
2.3. Характеристика фізичних факторів антимікробного впливу на мікроорганізми.....	67
2.4. Характеристика біологічних факторів антимікробного впливу на мікроорганізми.....	68
2.5. Методика визначення чутливості провідних збудників інфекційних ускладнень до антибіотиків (хіміотерапевтичних препаратів).....	70
2.6. Методика визначення фенотипових резистотипів клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів та статусу множинної лікарської стійкості.....	81

2.7. Методика дослідження генотипових детермінант резистентості клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, які спричиняють інфекційні ускладнення.....	83
2.8. Методика визначення впливу антисептиків на провідні збудники інфекційних ускладнень.....	84
2.9. Методика визначення біоплівкоутворювальної здатності збудників інфекційних ускладнень (тест Крістенсена).....	85
2.10. Методика вивчення впливу фізичних чинників на провідні збудники інфекційних ускладнень.	86
2.11. Методика вивчення впливу бактеріофагів на штами <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	89
2.12. Методика вивчення впливу антисептичних засобів на літичну дію бактеріофагів та вивчення синергічного згубного впливу поверхнево-активних антисептиків і літичних бактеріофагів щодо штамів <i>P.aeruginosa</i>	94
2.13. Методика статистичної обробки результатів.....	95
 РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕНОТИПОВИХ ОЗНАК ТА ГЕНЕТИЧНИХ ДЕТЕРМІНАНТ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ПРІОРИТЕТНИХ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ.....	
3.1. Дослідження чутливості до хіміотерапевтичних засобів клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, які спричиняють інфекційні ускладнення..	97
3.2. Визначення фенотипових резистотипів клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, збудників інфекційних ускладнень. ...	105
3.3. Характеристика генотипових детермінант антибіотикорезистентості досліджуваних клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, збудників інфекційних ускладнень.....	106

РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ СУЧАСНИХ АНТИСЕПТИЧНИХ ЗАСОБІВ НА КЛІНІЧНІ ШТАМИ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ З ГЕНЕТИЧНО ДЕТЕРМІНОВАНИМИ МЕХАНІЗМАМИ ПОЛІАНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ.....	110
4.1. Вивчення чутливості клінічних штамів <i>A. baumannii</i> до антисептиків.	110
4.2. Дослідження чутливості клінічних штамів <i>P. aeruginosa</i> до антисептиків.....	112
4.3. Вивчення чутливості клінічних штамів <i>K. pneumoniae</i> до антибіотиків і антисептиків.....	115
4.4. Вивчення чутливості клінічних штамів <i>E. coli</i> до антисептиків.....	116
4.5. Вивчення чутливості клінічних штамів <i>Enterobacter spp.</i> до антисептиків.....	118
4.6. Вивчення чутливості клінічних штамів <i>S. aureus</i> до антисептиків.....	120

РОЗДІЛ 5. ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ВПЛИВУ БІОГАЛЬВАНІЧНОГО СТРУМУ ЯК АЛЬТЕРНАТИВНОГО ФІЗИЧНОГО ЗАСОБУ ДІЇ НА АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИХ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ	123
5.1. Дослідження впливу струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами <i>Staphylococcus aureus</i> .	123
5.2. Дослідження впливу струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами <i>A. baumannii</i> та їх чутливість до антибіотиків.....	126
5.3. Дослідження впливу струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами <i>P. aeruginosa</i> та їх чутливість до цефтазидиму, цефепіму.....	130
5.4. Дослідження впливу біоальванічного струму на біоплівко- утворювальні властивості полірезистентних клінічних штамів умовно- патогенних мікроорганізмів <i>S. aureus</i> , <i>A. baumannii</i> та <i>P. aeruginosa</i>	134

РОЗДІЛ 6. ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ БАКТЕРІОФАГІВ І АНТИСЕПТИКІВ ЩОДО АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИХ <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	139
6.1. Дія біологічного лікарського засобу Піофаг на планктонні і плівкові форми <i>P. aeruginosa</i>	139
6.2. Комбінована дія антисептиків і бактеріофагів на антибіотикорезистентні <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	145
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	152
ВИСНОВКИ.....	183
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	187
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ.....	189
ДОДАТКИ.....	237
Додаток А.....	237
Додаток Б.....	243
Додаток В.....	250

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ATCC – American taxonomic culture collection

CHG – chlorhexidine

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute (Інститут клінічних та лабораторних стандартів)

CRE – карбапенем-резистентні *Enterobacterales*

CRPA - карбапенем-резистентні *Pseudomonas aeruginosa*

DCM – decamethoxine

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)

I – чутливі за підвищеної експозиції антибіотика

Is – індекс чутливості

KPC – *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*

M – середнє арифметичне значення вибірки

m* – стандартне відхилення середнього результату (середня похибка середнього арифметичного)

MDR – multi-drug resistance (мультирезистентність)

MLST – мультилокусне секвенування

MRSA – метицилінрезистентний золотистий стафілокок

MSCs – Mesenchymal Stem Cells

NDM – *New Delhi metallo-β-lactamase*

OD_c – середнє значення оптичної густини негативного контролю

PHMB – polyhexanide (polyhexamethylene biguanide)

r – коефіцієнт кореляції

СПБП/BRPL – Bacterial Priority Pathogens List

OCT – Octenidine

PDR – pan-drug-resistant

R – резистентні

RND – resistance-nodulation-division

S – чутливі

XDR – extensively drug-resistant

АБР – антибіотикорезистентність

АМП / AMPs – antimicrobial peptides

аФДТ – антимікробна фотодинамічна терапія

ВНМУ – Вінницький національний медичний університет

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ГПГ – горизонтальне перенесення генів

ДДМ – диско-дифузійний метод

ДМТ – декаметоксин

ІАА – індекс активності антисептика

ІПМД – інфекції, пов'язані з наданням медичної допомоги

ЛПС – ліпополісахарид

МБЦК – мінімальна бактерицидна концентрація

МІК – мінімальна інгібуюча концентрація

МЛС – множинна лікарська стійкість

МПБ – м'ясо-пептонний бульйон

МР - мультирезистентний

МСК – мезенхімальні стовбурові клітини

МЦК – мінімальна бактерицидна концентрація

НЧ – наночастки

ОГ – оптична густина

ОКТ – октенідин

ООГ – одиниця оптичної густини

ПА – поверхнево - активні

ПАР – поверхнево - активна речовина

ПЗБ – пеніцилінзв'язуючі білки

ПЛС – пан-лікарська стійкість

ПГБ – полігексанід (полігексаметилен-бігуанід)

ТСБ – трипсин-соєвий бульйон

ХГД – хлоргексидину диглюконат

ВСТУП

Актуальність теми. Антибіотикорезистентність (АБР) є однією з найсерйозніших проблем глобального здоров'я, яка ставить під загрозу здоров'я як людей, так і тварин, а також глобальну економіку та безпеку населення світу загалом, потребує негайного реагування, постійної уваги та співпраці з боку урядів, міжнародних організацій, підприємців та державного сектору для створення інституцій і політики на всіх рівнях регулювання. Останнім часом світова спільнота зіштовхнулася з пандемією COVID-19, яка стала серйозним викликом для систем охорони здоров'я. Водночас на наших очах розгортається ще одна глобальна загроза — пандемія стійкості до протимікробних препаратів. У 2019 році антимікробна резистентність безпосередньо спричинила 1,27 мільйона смертей і стала фактором, що вплинув на загалом 4,95 мільйона летальних випадків по всьому світу. Ця невидима, але не менш небезпечна пандемія загрожує людству апокаліптичним пост-антибіотичним майбутнім [1-10].

Незважаючи на її критичну важливість, проблема стійкості до антибіотиків довгий час залишалася поза увагою. Протягом десятиліть науковці та медики наголошували на її небезпеці, починаючи ще з виступу Олександра Флемінга під час отримання Нобелівської премії у 1945 році. Лише в останні роки це питання отримало належне визнання на рівні світових лідерів, що підтвердили заяви таких організацій, як Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ), Всесвітній економічний форум, а також провідних міжнародних об'єднань G20 і G7. Спільний стратегічний міжгалузевий підхід Єдине здоров'я (One Health), який об'єднує медицину, ветеринарію та екологію для боротьби з глобальними загрозами, залучив всі зацікавлені сторони до спільної мети [11-17].

Загроза повернення у «доантибіотичну еру» стала передумовою прийняття ВООЗ у травні 2015 р. на 68-й сесії Всесвітньої асамблеї охорони здоров'я у Женеві Глобального плану дій щодо антибіотикорезистентності (Global Action

Plan On Antimicrobial Resistance). Це стало історичним рішенням, визначивши чітку міжнародну стратегію для подолання зростаючої загрози стійкості до протимікробних препаратів [13, 18-20].

У 2016 р. Генеральна Асамблея ООН вперше у своїй історії провела зустріч високого рівня, присвячену проблемі АБР. Представники 193 держав-членів ООН визнали, що поширення стійкості мікроорганізмів до антибіотиків становить потенційний ризик катастрофічних наслідків для медицини, економіки та глобальної безпеки. Кожна держава взяла на себе зобов'язання розробити та впровадити національні плани дій щодо боротьби з АБР, засновані на Глобальному плані дій ВООЗ. У 2024 р. питання антимікробної стійкості залишалося на порядку денному Генеральної Асамблеї ООН, інтегруючись у ширші дискусії щодо зміцнення глобальної системи охорони здоров'я та досягнення Цілей сталого розвитку [21-23].

Україна активно впроваджує національні стратегії для боротьби з АБР, керуючись Глобальним планом дій ВООЗ. Кабінет Міністрів України затвердив Національний план дій зі стримування стійкості до протимікробних препаратів 6 березня 2019 р., а у 2021 р. Міністерством охорони здоров'я цей план було оновлено, адаптувавши його до сучасних викликів і міжнародних рекомендацій. Крім того, у 2023 році МОЗ представило новий Національний план дій щодо протимікробної резистентності, який був обговорений на міжнародній конференції у Стокгольмі, що підкреслює глобальне значення проблеми та залученість України до її вирішення [24-27].

Світова наукова спільнота наголошує на необхідності пошуку та впровадження альтернативних стратегій та методів лікування інфекційних захворювань у відповідь на зростаючу загрозу АБР. Пошук нових методів терапії є критично необхідним для стримування поширення АБР, забезпечення ефективної терапії та захисту майбутніх поколінь від ери невиліковних інфекцій, цим істотно сприяючи досягненню Цілей сталого розвитку, пов'язаних з АМР [28-34].

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 «провідних патогенів», що несуть найбільшу загрозу для здоров'я людини, та розробка засобів боротьби з ними» (0117U006903), «Дослідження біологічних властивостей збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, та розробка засобів боротьби з ними» (0123U101070), співвиконавцем яких є здобувачка.

Мета – підвищення ефективності боротьби з антибіотикорезистентними збудниками інфекційних ускладнень шляхом мікробіологічного обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії.

Завдання дослідження:

1. Дослідити біологічні властивості, чутливість до антимікробних засобів та встановити фенотипові прояви і ключові молекулярно-генетичні детермінанти антибіотикорезистентності у клінічних штамів пріоритетних збудників інфекційних ускладнень
2. Визначити домінуючі механізми антибіотикорезистентності клінічних штамів, виділених від хворих з інфекційними ускладненнями.
3. Вивчити дію сучасних антисептичних засобів різної хімічної природи на клінічні штами мікроорганізмів з генетично детермінованими механізмами поліантибіотикорезистентності.
4. Провести мікробіологічне дослідження ефективності впливу біогальванічного мікроамперного струму як фізичного чинника на культури поліантибіотикорезистентних клінічних штамів пріоритетних грампозитивних бактерій та грамнегативних, та характер їх чутливості до антибіотиків.

5. Дослідити антимікробну дію альтернативних препаратів природного походження (бактеріофаги) на клінічні штами пріоритетних збудників інфекційних ускладнень зі сформованою антибіотикорезистентністю.

Об'єкт досліджень – антибіотикорезистентність пріоритетних збудників інфекційних ускладнень, пов'язаних з наданням медичної допомоги.

Предмет досліджень – вплив альтернативних антимікробних фармакологічних, фізичних факторів та біологічних засобів на поліантибіотикорезистентні клінічні штами мікроорганізмів.

Методи дослідження: мікробіологічні (культивування мікроорганізмів; визначення чутливості бактерій антимікробних властивостей; дослідження біологічних властивостей умовно-патогенних мікроорганізмів в т.ч. вивчення чутливості до до антибіотиків, антисептиків, дослідження впливу фізичних факторів на біологічні властивості мікроорганізмів), молекулярно-генетичний аналіз детермінат антибіотикорезистентності, визначених методом полімеразної ланцюгової реакції, спектрофотометричний аналіз біоплівкоутворюючих властивостей мікроорганізмів, статистичні (методи варіаційної статистики, визначення коефіцієнту кореляції Пірсона).

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертаційне дослідження охоплює вивчення та аналіз провідних фенотипових та генотипових особливостей прояву антибіотикорезистентності клінічних штамів пріоритетних умовно-патогенних мікроорганізмів, що спричиняють інфекційні ускладнення. На основі комплексного мікробіологічного дослідження фенотипових і генотипових детермінант антибіотикорезистентності вибірки пріоритетних умовно-патогенних збудників інфекційних ускладнень (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae complex*, *S. aureus*), які циркулюють серед пацієнтів закладів охорони здоров'я було одержано нові дані щодо взаємозв'язку фенотипових проявів антибіотикорезистентності і наявності ключових молекулярно-

генетичних детермінант. Новими є дані щодо систематизації домінуючих фенотипових резистотипів клінічних штамів *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae complex*, *S. aureus*. В межах досліджуваної вибірки зазначених умовно-патогенних мікроорганізмів вперше у домінуючих видів бактерій визначено характерні патерни стійкості до основних фармакологічних груп антибіотиків, включаючи пеніциліни, цефалоспорини, карбапенеми, фторхінолони та аміноглікозиди.

На основі результатів дослідження оновлено дані щодо високого рівня мультирезистентності серед клінічних штамів, що підтверджує необхідність розробки альтернативних протимікробних засобів в боротьбі з ними. Наведено унікальні кореляційні зв'язки між кількістю генів резистентності та фенотиповою стійкістю, які різняться за видами мікроорганізмів, зокрема встановлено наявність сильного прямого кореляційного зв'язку між кількістю генів резистентності та фенотиповою стійкістю у *A. baumannii* ($r=0,87$, $p<0,0001$), помірного у *K. pneumoniae* ($r=0,61$, $p<0,02$), та відсутність кореляції у *P. aeruginosa* ($r=-0,16$, $p<0,55$), що вказує на специфіку генетичних механізмів резистентності у провідних мікробних патогенів інфекційних ускладнень в сучасних умовах. Одержані нові дані створюють наукове підґрунтя для розробки та застосування альтернативних протимікробних засобів, спрямованих на подолання антибіотикорезистентності у збудників інфекційних ускладнень.

Новизна дисертації доповнена результатами дослідження антимікробної ефективності сучасних катіонних поверхнево-активних антисептичних засобів (декаметоксину, хлоргексидину, октенідину, полігексаніду та бензалконію хлориду) щодо клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів (*A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *S. aureus*) з генетично детермінованими механізмами поліантибіотикорезистентності. Так, новими є дані щодо порівняльної чутливості мультирезистентних клінічних штамів до антисептиків, що дозволили виявити найвищу бактеріостатичну та

бактерицидну активність декаметоксину, хлоргексидину та октенідину з мінімальними інгібуючими (МІК) та бактерицидними (МБК) концентраціями, які достовірно нижчі, ніж у полігексаніду та бензалконію хлориду ($p \leq 0,05$ – $p \leq 0,001$).

Новими є дані, які свідчать про встановлений ступінь зниження чутливості антибіотикорезистентних клінічних штамів бактерій до антисептиків у порівнянні з референтними штамами (*A. baumannii* – у 3,12–7,63 рази, *P. aeruginosa* – у 3,07–16,75 рази, *K. pneumoniae* – у 1,9–5,7 рази, *E. coli* – у 3,96–7,2 рази, *S. aureus* – у 1,9–7,44 рази, $p \leq 0,001$), що вказує на потенційний ризик адаптаційних властивостей мультирезистентних (multi-drug resistant – MDR-) штамів мікроорганізмів до антисептичних засобів. Оновлено уявлення щодо рівня антисептикорезистентності *P. aeruginosa*, який визначено як критичний, що визначає цей мікроорганізм як найпроблемніший у контексті застосування альтернативних протимікробних засобів. В роботі на основі одержаних нових даних науково доведено доцільність та високу ефективність готових лікарських форм антисептичних препаратів як альтернативи антибіотикотерапії при інфекціях, спричинених антибіотикорезистентними збудниками, незважаючи на зниження їх активності.

Одержано нові дані щодо впливу біогальванічного струму на культури MDR-штамів *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* та встановлено ефективне зниження мікробного навантаження під дією даного фізичного фактора через 24-48 год в умовах культивування в поживному середовищі та за умов підвищеного рівня стресу внаслідок відсутності поживних речовин. За таких же умов уперше встановлено, що під впливом біогальванічного мікроструму без зовнішніх джерел живлення мікроорганізми зазнають біоелектричного впливу у вигляді достовірного зниження інтенсивності біоплівкоутворення, а саме: *A. baumannii* (на 24,82 % та 28,0 % відповідно), *P. aeruginosa* (на 11,89 % та 16,31 %, відповідно), *S. aureus* (на 28,26 % та 33,8 %, відповідно), ($p < 0,05$ – $0,0001$).

В роботі вперше було досліджено особливості дії біогальванічного мікроамперного струму на мультирезистентні клінічні штами провідних мікроорганізмів, що дозволило отримати нові дані про наявність синергічного ефекту між дією мікрострумів та β -лактамами цефалоспориновими антибіотиками, що супроводжувалось підвищенням чутливості *A. baumannii* до цефтазидиму та *P. aeruginosa* до цефтазидиму і цефепіму.

Новими є дані, які розширюють уявлення про застосування препаратів на основі бактеріофагів в поєднанні з антисептичними засобами на основі катіонно-активних речовин (декаметоксин, хлоргексидину біглюконат, октенідину дигідрохлорид), так вперше встановлено нечутливість фагових часток до дії детергентів, про що свідчить здатність бактеріофагу «Піофаг» зберігати свою активність у суміші з антисептиками навіть при концентраціях останніх, які перевищують їх МІК щодо умовно-патогенних збудників інфекцій. Вперше встановлено здатність бактеріофагів достовірно пригнічувати властивість біоплівкоутворення у високо чутливих до піофагу штамів *P. aeruginosa* в 1,3 рази ($p=0,003$) та показано відсутність здатності у бактеріофагів руйнувати сформовані біоплівки.

В роботі розроблено та вперше запропоновано удосконалену авторську методику оцінювання чутливості клінічних культур *P. aeruginosa* до препаратів на основі бактеріофагів, що базується на денситометричному вимірюванні рівня загибелі конкретної популяції бактерій за визначений час культивування з подальшим розрахунком запропонованого індексу чутливості (I_s) культури збудника до бактеріофага.

В роботі вперше встановлено, що найбільш клінічно значущі MDR-штами *P. aeruginosa* мають різні рівні чутливості до полівалентного бактеріофагу, що дозволило розмежувати популяцію цих бактерій на чутливі та стійкі до фагової терапії з урахуванням внутрішньовидової варіабельності *P. aeruginosa*.

Практичне значення одержаних результатів. Встановлений у дослідженні і сильний кореляційний зв'язок між кількістю генів

резистентності та фенотиповою стійкістю у *A. baumannii*, помірний та відсутність кореляції між провідними фенотиповими резистотипами та молекулярно-генетичним детермінантами у *P. aeruginosa* формують наукове підґрунтя для розуміння потенційних видоспецифічних механізмів резистентності серед клінічних штамів пріоритетних збудників інфекційних ускладнень, що є важливим для вдосконалення протоколів інфекційного контролю, локального моніторингу антибіотикорезистентності та розробки цільових терапевтичних стратегій в закладах охорони здоров'я.

Проведені мікробіологічні дослідження дозволили отримати дані, щодо чутливості ряду пріоритетних збудників інфекційних ускладнень, а саме *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae* та *S. aureus*, які проявляли фенотипові ознаки множинної антибіотикорезистентності та мали тісні кореляційні зв'язки з наявністю у них генотипових детермінант стійкості, проте володіли чутливістю до антисептичних детергентів на основі катіоно-активних речовин (декаметоксин, октенідин, хлоргексиди, полігексанід, бензалконію хлорид), є науковим обґрунтуванням розуміння потенційної ефективності готових лікарських форм антисептичних препаратів як альтернативи антибіотикотерапії у вогнищі інфекційного процесу, спричиненого MDR штамми.

Встановлені закономірні кількісні відмінності чутливості клінічних штамів до антисептиків репрезентативно доводять необхідність урахування ступеня зниження чутливості ізолятів, які циркулюють в госпітальному середовищі, у порівнянні з відомими згубними концентраціями цих засобів щодо референтних культур мікроорганізмів і відповідно потребують застосування засобів, що забезпечать у вогнищі інфекційного процесу діючу концентрацію активної речовини в 1,9 – 16,75 разів вищу від тієї що діє на референтний штам ($p \leq 0,001$).

Встановлені закономірні кількісні відмінності у чутливості клінічних штамів до антисептиків вказують на потребу врахування зниження чутливості ізолятів, що циркулюють у госпітальному середовищі, у порівнянні з відомою

чутливістю референтних культур мікроорганізмів до цих же засобів, що є науковим обґрунтуванням застосування антисептиків із концентрацією активної речовини у вогнищі інфекції, яка перевищує необхідну для референтних штамів у представників родини *Enterobacteriaceae* – у 1,9–7,2 рази ($p \leq 0,001$), *S. aureus* (у 1,9–7,44 рази; $p \leq 0,001$), неферментуючих грамнегативних бактерій *A. baumannii* (у 3,12–7,63 рази; $p \leq 0,001$) та *P. aeruginosa* (3,07–16,75 рази; $p \leq 0,001$).

Згідно одержаних результатів дослідження впливу біогальванічного струму низької інтенсивності на антибіотикорезистентні бактерії достовірно встановлено властивість даного біофізичного чинника впливати на культури мультирезистентних штамів *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa*, знижуючи концентрацію клітин в «стресових» та умовах поживного середовища (м'ясо-пептонний бульйон), та чинити супресивний вплив на біоплівкоутворення у даних мікроорганізмів відкриває нові можливості практичного застосування мікроамперних струмів без зовнішніх джерел живлення в галузі охорони здоров'я безпосередньо в комплексі антимікробної лікувальної тактики, як альтернативного засобу дії на антибіотикорезистентні бактерії. Встановлені дані щодо зниження МІК і МЦК цефтазидиму щодо *A. baumannii*, цефтазидиму та цефепіму щодо *P. aeruginosa* під впливом дії біогальванічного мікроамперного струму без зовнішніх джерел живлення розширює уявлення про можливості підвищення чутливості стійких клінічних штамів цих пріоритетних грамнегативних неферментуючих бактерій до препаратів групи високого пріоритету (група спостереження).

На основі проведених досліджень запропонована авторська методика визначення чутливості клінічних ізолятів псевдомонад до біопрепарату на основі бактеріофагів за індексом чутливості (Is) виділеної культури *P. aeruginosa*, що базується на денситометричному вимірюванні оптичної щільності контрольного і дослідного зразків після інкубації культури збудника в поживному середовищі та розрахунку відповідного індексу літичної дії бактеріофагів щодо популяції бактерій за визначений проміжок часу їх

культивування. Це дозволяє стандартизувати і суттєво спростити оцінку ефективності препаратів на основі бактеріофагів, а також рекомендувати до застосування в лабораторній практиці.

Встановлені дані щодо різної чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa*, які мають множинну лікарську стійкість, мають важливе прогностичне і практичне значення, оскільки підтверджують необхідність попереднього тестування чутливості конкретного клінічного ізоляту до фагового препарату перед призначенням фаготерапії, а також потребу у створенні більш широких або індивідуалізованих фагових коктейлів.

Одержані дані дослідження створюють наукову основу обґрунтування доцільності комбінованого застосування антисептиків, фізичних факторів, бактеріофагів як альтернативних в т.ч. із традиційною антибіотикотерапією, що може стати ефективною стратегією боротьби з резистентними бактеріальними збудниками інфекційних ускладнень в умовах обмеженого вибору антимікробних засобів

Матеріали дисертаційного дослідження впроваджені в педагогічний процес, наукову роботу закладів вищої медичної освіти і використовуються в лекційному курсі та на практичних заняттях кафедр мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України, мікробіології ВНМУ ім. М. І. Пирогова; кафедри мікробіології, вірусології, та імунології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України; кафедри мікробіології, вірусології, імунології, епідеміології, медико-біологічної фізики та інформатики Дніпровського державного медичного університету МОЗ України; кафедри мікробіології, вірусології, імунології Полтавського державного медичного університету МОЗ України; кафедри загальної і клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології Одеського національного медичного університету МОЗ України; а також, в клінічну практику галузі охорони здоров'я, а саме лікувальну роботу

КНП «Подільський регіональний центр онкології Вінницької обласної ради»,
ТОВ «МЦ «Альтамедика» .

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням авторки. Здобувачка самостійно обрала напрям дисертаційного дослідження, виконала патентно-інформаційний пошук, проаналізувала та узагальнила дані сучасної наукової літератури за темою дисертаційного дослідження. За консультативної допомоги наукового керівника авторкою було сформульовано тему, мету і завдання дослідження, розроблено дизайн та обрано методи експериментальних мікробіологічних досліджень. Усі експериментальні дослідження, математично-статистичну обробку даних, їх аналіз, інтерпретацію та узагальнення результатів, а також формулювання висновків дисертантка виконала самостійно та оформила у вигляді рукопису всі розділи дисертації. 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 міжнародній науково-практичній конференції «Congress of the European Society of Ophthalmology (SOE)» (Прага, Чеська республіка, 2023); конференція FEMS з мікробіології «The FEMS Conference on Microbiology» (Belgrade, Serbia, 2022); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Практична медицина військового часу: матеріали науково-практичної конференції» (Київ, Харків, 2024);

Публікації. За темою дисертації опубліковано 10 наукових праць, з них 7 статей у наукових фахових виданнях, а саме 2 статті у фахових наукових виданнях МОН України категорії Б, 1 стаття у фаховому науковому виданні МОН України, яке включено до міжнародної наукометричної бази Scopus, 4 статті у міжнародних фахових виданнях, які входять до наукометричних баз даних Scopus (2 з яких належать до Q1) та 3 тез доповідей в матеріалах науково-практичних конференцій.

Обсяг та структура дисертації. Робота викладена українською мовою на 250 сторінках комп'ютерного тексту (основний текст на 169 сторінках), складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів досліджень, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаної літератури, що включає 344 найменувань (331 джерел латиницею та 13 кирилицею) та додатків. Робота ілюстрована 37 таблицями та 18 рисунками.

РОЗДІЛ 1

АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ПРОВІДНИХ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ ТА СУЧАСНІ МОЖЛИВОСТІ БОРОТЬБИ З НИМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

З появою антибіотикотерапії світ охопив масовий ентузіазм, а постійне відкриття нових класів антибіотиків додавало оптимізму, не дивлячись на дуже ранні повідомлення про розвиток стійкості до цих препаратів та терапевтичні невдачі їх застосування. На теперішній час, бактерії з множинною лікарською стійкістю (МЛС), розширеною лікарською стійкістю (РЛС) і навіть з пан-лікарською стійкістю (ПЛС) широко розповсюдились у всьому світі. Наша надмірна залежність від використання антимікробних препаратів у сільському господарстві, медицині та інших галузях призведе до постантибіотичної ери, коли генотипові детермінанти, фенотипова адаптація та інші еволюційні стратегії бактерій спричинять антимікробну резистентність [35-37].

Механізми резистентності існують для всіх сучасних антибіотиків, і небагато нових препаратів знаходяться в розробці [38]. Якщо тенденція не зміниться, очікується, що до 2050 р. 10 мільйонів людей будуть помирати щороку від інфекцій, викликаних мікроорганізмами із набутою лікарською стійкістю. Так, нагальна задача сьогодення полягає у пошуку альтернативних методів контролю та лікування, спрямованих на попередження поширення зубників бактеріальних інфекцій, з гіпервірулентними властивостями [39-40].

1.1 Мікробіологічна характеристика особливостей етіології та ключових біологічних механізмів стійкості до антимікробних засобів збудників інфекційних ускладнень, пов'язаних з наданням медичної допомоги в сучасних умовах.

Етіологія. 17 травня 2024 року ВООЗ оновила список пріоритетних бактеріальних патогенів (СПБП/BRPL, - Bacterial Priority Pathogens List), у якому представлено 15 родин стійких до антибіотиків бактерій, згрупованих у

категорії для визначення пріоритетності (критичний, високий та середній пріоритет). Помічник Генерального директора ВООЗ з антимікробної резистентності Юкіко Накатані зазначила, що від часу публікації першого списку пріоритетних бактеріальних патогенів у 2017 році проблема стійкості до протимікробних препаратів загострилася, що підриває ефективність численних антибіотиків та створює серйозну загрозу здобуткам сучасної медицини [41].

У СПБП 2024 року відбулися зміни, порівняно із таким 2017 року. Наприклад, резистентні до цефалоспоринів третього покоління *Enterobacterales* внесені до списку окремим пунктом окрім карбапенем-резистентних *Enterobacterales* у категорії критичного пріоритету, що підкреслює їх значення як загрози і тягаря, а *Pseudomonas aeruginosa*, стійка до карбапенемів (CRPA), перейшла із категорії критичного пріоритету у категорію високопріоритетних у СПБП 2024 року. Незважаючи на цей перехід, що відображає нещодавні повідомлення про зниження глобальної резистентності, інвестиції у R&D (Research and Development, сфера наукових досліджень та розвитку) та інші стратегії профілактики та контролю CRPA залишаються важливими, враховуючи її значний тягар у багатьох регіонах. До списку вперше ввели стрептококи груп А та В через нещодавню появу, розвиток і географічне поширення резистентності (і відповідних генетичних елементів) до найважливіших для лікування цих проблемних інфекцій антимікробних агентів [41, 42].

У СПБП ВООЗ 2024 до групи критичного пріоритету віднесли *Acinetobacter baumannii*, стійкі до карбапенемів (CRAB); *Enterobacterales*, стійкі до цефалоспоринів третього покоління, а також карбапенем-резистентні *Enterobacterales* (CRE); рифампіцин-резистентні *Mycobacterium tuberculosis* (RR-TB). Група високого пріоритету включає *Salmonella Typhi* та *Shigella spp.*, стійкі до фторхінолонів; ванкоміцин-резистентні *Enterococcus faecium*; карбапенем-резистентні *Pseudomonas aeruginosa* (CRPA); нечеревнотифозні сальмонели, стійкі до фторхінолонів; стійкі до цефалоспоринів третього

покоління та/або фторхінолонів *Neisseria gonorrhoeae*; *Staphylococcus aureus*, стійкі до метициліну (MRSA). Середній пріоритет надано стійким до макролідів стрептококам групи А та *Streptococcus pneumoniae*; стійким до ампіциліну *Haemophilus influenzae* та стійким до пеніциліну стрептококам групи В. СБПП є важливим глобальним інструментом, спираючись на цінність якого, людство зможе попередити перехід до постантибіотичної ери. [41].

Більшість патогенів із списку є важливими збудниками інфекцій, пов'язаних із наданням медичної допомоги (ІПМД, HCAIs - Health care-associated infections), в тому числі вірулентні штами бактерій високого ризику ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, види *Enterobacter*), відповідальні за глобальні нозокоміальні інфекції [Allemailem KS]. Бактерії викликають близько 90% ІПМД, а через нераціональне використання антибіотиків майже 20% із них виявляються з множинною лікарською стійкістю і є одними з основних ускладнень ІПМД [43-45].

Еволюція стійкості. Генетичні основи набутої резистентності. Багато видів бактерій розвинули толерантність до антибіотиків задовго до того, як люди почали масове виробництво їх для профілактики та лікування інфекційних захворювань, і власне це явище передувало людству. Основним чинником цієї тривалої еволюції механізмів резистентності є безперервна конкуренція за ресурси між мікроорганізмами. Навколишнє середовище є найбільшим джерелом і найважливішим резервуаром генів резистентності, та містить генетичні засоби їх мобілізації. Відносно нещодавнє впровадження антибіотиків як клінічних агентів радикально змінило передумови для еволюції та поширення резистентності, створивши безпрецедентний відбір, зокрема серед мікробіоти людей і домашніх тварин, а також в умовах, де антибіотики присутні в надмірній кількості. Цей тиск селекції сприяв мобілізації та горизонтальному перенесенню численних генів стійкості до антибіотиків серед багатьох видів патогенних бактерій [46-49].

Більшість генів стійкості до антибіотиків еволюціонували з генів, що виконують інші функції, внаслідок мутацій та подальшого природного добору. Нещодавні еволюційні події, відповідальні за широке поширення генів стійкості до антибіотиків серед патогенів, є в основному результатом подій передачі від предкових видів. Процес починається з нерухомого гену стійкості, що локалізується в хромосомі, і триває через кілька етапів, що ведуть до набуття стійкості патогеном. На першому етапі, нерухомому гену стійкості до антибіотиків потрібно переміститися в геномі, що досягається, наприклад, асоціацією з послідовностями вставки (insertion sequences) або шляхом формування генних касет та включенням в інтегриони.

Другим кроком є транспозиція гена в елементи, здатні до автономного переміщення між клітинами, забезпечуючи горизонтальний транспорт, такі як кон'югативні плазмідні, кон'югативні транспозони, або інтегративні кон'югативні елементи (Integrative and conjugative elements, ICEs), а також у бактеріофаги. На третьому етапі власне відбувається горизонтальний транспорт мобілізованого гена резистентності або відразу до бактерії-патогена, або через одного-декількох проміжних бактеріальних господарів. І в кінці-кінців—фізична передача бактерії, що несе ген резистентності, до мікробіоти людини, що може відбутися в будь-який момент процесу. [46, 48, 50-52]

Висока метаболічна активність і інтенсивний міжклітинний контакт (наприклад, у біоплівках) збільшують швидкість більшості кроків. Усім цим етапам, включаючи мобілізацію, наприклад, вставними послідовностями або інтегронами, збільшення кількості донорських клітин і, отже, можливостей передачі, а також швидкість горизонтального перенесення генів (ГПП) може сприяти тиск добору антибіотиками [46, 48, 51-53]

Таким чином, два різні шляхи – вертикальна еволюція (мутації, які забезпечують стійкість до антибіотиків та передаються нащадкам) і горизонтальна еволюція (отримання генів стійкості до антибіотиків від інших

бактерій через кон'югацію, трансдукцію або трансформацію) – вважаються основними механізмами розвитку набутої стійкості до антибіотиків [54-56].

Реалізація набутої резистентності. Молекулярні механізми стійкості нозокоміальних патогенів. Розуміння молекулярних механізмів, за допомогою яких бактерії протистоять дії протимікробних препаратів, є критично важливим для виявлення глобальних тенденцій резистентності, оптимізації використання наявних ліків, а також розробки нових препаратів і стратегій боротьби з резистентністю. Сучасні технологічні досягнення дозволили детально вивчити структурні особливості багатьох механізмів стійкості, зокрема складних багатокомпонентних систем відтоку, що можуть вказувати на потенційні підходи для створення інгібіторів, а також запропонували механізм дії нещодавно ідентифікованих білків порятунку рибосоми ABC-F [57].

Інактивація та модифікація препарату. Один із механізмів реалізації набутої резистентності проявляється у інактивації антибіотиків за допомогою ферментів, які розщеплюють або модифікують молекулу антибіотика. Під час ферментативної деградації (розщеплення) відбувається гідроліз функціональної групи антибіотика, що робить його неефективним. Модифікуючи антибіотики, ферменти передають різні хімічні групи молекулі антибіотика, що перешкоджає його зв'язуванню з мішенню. Прикладом інактивації антибіотиків є гідроліз β -лактамних антибіотиків за допомогою β -лактамаз. Особливе занепокоєння викликає стійкість до карбапенемів, оскільки вони є одними з найпотужніших антибіотиків, і стійкість до них, у поєднанні зі стійкістю до інших β -лактамів, може зробити цілий клас препаратів неефективним. β -лактамази розширеного спектру забезпечують резистентність до цефалоспоринів розширеного спектру дії та монобактамів. Стійкість до карбапенемів може бути зумовлена карбапенемазами або продукцією β -лактамаз розширеного спектру у поєднанні із втратою поринів. [38, 57, 58].

Зміна, модифікація та захист мішені. Якщо структура первинної мішені змінена або захищена іншими хімічними фрагментами, зв'язування антибіотика може стати неефективним, що призводить до розвитку стійкості. Підґрунтям можуть бути або мутації в гені, що кодує білок-мішень для антибіотика, або модифікація ділянки зв'язування за допомогою ферментів. Наприклад, хінолонові антибіотики перешкоджають реплікації ДНК, в'язуючись поблизу активного центру важливих ферментів топоізомераз. Заміни амінокислот у цільових білках, які знижують ефективність зв'язування антибіотика, але зберігають функціональність ферменту, забезпечують стійкість. Подібним чином знижена чутливість до β -лактамних антибіотиків може бути викликана мутаціями в генах, що кодують пеніцилінзв'язуючі білки (ПЗБ). Також було доведено, що стійкість до колістину (старого препарату, який використовують через підвищену стійкість грамнегативних патогенів) зумовлена модифікацією мішені. Колістин має складний механізм дії, але його ефективність значною мірою пов'язана з впливом на ліпополісахарид (ЛПС), що призводить до пошкодження мембрани та загибелі клітин. Резистентність може розвиватися через декорування ЛПС фрагментами, які змінюють заряд молекули, що інгібує взаємодію між препаратом і його мішенню. [38, 48, 58]. Захист мішені, як правило, передбачає фізичне об'єднання захисного білка мішені з мішенню антибіотика, таким чином звільняючи його від опосередкованого антибіотиками інгібування. Наприклад, в такий спосіб білки, що належать до сімейства АТФ-зв'язуючих касет F (ABC-F, ATP-binding cassette F), можуть викликати стійкість до макролідів, лінкозамідів, стрептограмінів. [38, 53, 57, 59, 60].

При **обході мішені** функцію білка, на який спрямований антибіотик, виконує новий білок, який антибіотик не може пригнічувати. Це робить початкову мішень зайвою, а сам антибіотик – неефективним. Найвідомішим прикладом обходу мішені є розвиток метицилін-резистентного *S.aureus* (MRSA). β -лактамні антибіотики, такі як метицилін, зв'язуються з ПЗБ і інгібують домен транспептидази, порушуючи синтез клітинної стінки.

S.aureus може набувати екзогенного ПЗБ (ПЗБ2а), який є гомологом початкової мішені, але має нижчу спорідненість до β -лактамних антибіотиків. Цей білок кодується геном *mecA*, розташованим на стафілококовій касетній хромосомі *mec* (*SCCmec*), мобільному генетичному елементі, що забезпечує стійкість до метициліну. Коли метицилін зв'язується з цим альтернативним сайтом, пригнічення синтезу клітинної стінки не відбувається, оскільки транспептидазна активність ПЗБ2а зберігається [2, 38, 57, 61, 62].

Зменшення притоку (інфлюксу) опосередковується змінами в структурі мембрани, що призводить до **зниження її проникності**. Нещодавно, зміни у структурі поринів також були ідентифіковані як важливі фактори стійкості до антибіотиків. Наприклад, стійкість до карбапенемів у *Klebsiella pneumoniae* частково опосередкована модифікацією неселективних поринів OmpK35 та OmpK36, що проявляється у значному звуженні пори. Нещодавні дослідження показали, що клінічні штами *E.coli* з множинною лікарською стійкістю містять численні мутації в білку OmpC. Ці мутації змінюють електричний заряд всередині пори, що, в свою чергу, знижує проникність антибіотиків, таких як гентаміцин, цефотаксим та імipенем. [63].

Крім запобігання проникненню ліків у клітину, бактерії можуть активно виводити їх у процесі, відомому як відтік (ефлюкс). **Ефлюксні насоси** - це трансмембранні білки, здатні транспортувати широкий спектр токсичних сполук, включаючи антибіотики, через бактеріальні мембрани енергозалежним шляхом. Усі бактерії містять кілька типів ефлюксних насосів, але вони особливо важливі для резистентності у грамнегативних бактерій, працюючи синергетично з непроникною подвійною мембраною, що робить ці патогени природно стійкими до багатьох антибіотиків. Ефлюксні транспортери поділяються на шість сімейств, причому члени сімейства RND (resistance-nodulation-division) забезпечують найбільш клінічно значущі рівні резистентності у грамнегативних бактерій. Насоси RND можуть виводити широкий спектр структурно і хімічно різноманітних антибіотиків, а їхня надекспресія сприяє розвитку МЛС у клінічних ізолятів. [38, 57].

1.2 Сучасні аспекти застосування засобів боротьби з антибіотикорезистентними збудниками інфекційних ускладнень.

Ефективність застосування антибіотиків проти невпинно зростаючого числа стійких бактеріальних патогенів у кращому випадку є сумнівною [64 García-Contreras]. Необхідні нові сполуки та нові стратегії лікування, ефективні проти патогенів, особливо тих, які викликають інфекції, пов'язані із наданням медичної допомоги та мають тенденцію набувати множинної лікарської стійкості [65, 66].

Перспективні альтернативні нетрадиційні чи неантибіотичні стратегії попередження загрози лікарської стійкості та методи лікування, такі як використання бактеріофагів, антимікробних пептидів, отриманих із стовбурових клітин (Stem Cell-Derived Antimicrobial Peptides, Stem cell-AMPs), бактеріоцинів, антимікробних ад'ювантів (інгібітори ефлюкських pomp, мембранні пермеабілізатори), CRISPR-Cas, нанобіотиків, трансплантації фекальної мікробіоти (fecal microbiota transplant, FMT) та конкурентного виключення патогенів за допомогою генетично модифікованих пробіотиків та постбіотиків слід вивчати, розробляти та впроваджувати для боротьби з інфекціями, стійкими до антибіотиків [67, 68].

Проводяться дослідження з пошуку нових специфічних мішеней у бактеріальній клітині для розробки антимікробних препаратів, наприклад, які реалізують анти-вірулентні стратегії (anti-virulence strategies). Потенційно привабливими, унікальними для бактерій мішенями є система секреції третього типу (T3SS), що являє собою молекулярний «наношприц» для доставки функціональних речовин у еукаріотичні клітини, необхідний у патогенезі багатьох грамнегативних бактерій; двокомпонентні регуляторні системи (ДКС; two-component regulatory systems, TCS), за допомогою яких бактерії адаптуються до змін у навколишньому середовищі, деякі з яких є важливими для росту клітин і їх пристосованості, тоді як інші пов'язані з індукцією вірулентності та резистентності/толерантності до ліків. У зв'язку з нестачею розробок нових антибіотиків спостерігається сплеск використання

обчислювальних та *in silico* інструментів для виявлення нових терапевтичних цілей. [67, 69, 70-72]. Деякі альтернативні стратегії описано детальніше далі.

Антимікробні пептиди, отримані зі стовбурових клітин.

Антимікробні пептиди (АМП; AMPs - antimicrobial peptides) або пептиди та білки захисту господаря (host-defense peptides and proteins) - еволюційно-консервативні, невеликі ефекторні молекули, виявлені в організмах від прокаріотів (препарати даптоміцин, колістин) до людини, виробляються всіма багатоклітинними організмами як перша лінія захисту (фактори неспецифічного захисту), є різноманітною групою ендогенних молекул, які характеризуються антимікробною та імуномодельною активністю. Ці молекули мають вибіркову активність проти широкого спектру організмів, включаючи бактерії, грибки, віруси і навіть ракові клітини [73]. Зазвичай вони являють собою катіонні пептиди з амфіфільною структурою, що дозволяє їм легко зв'язуватися та взаємодіяти з клітинними мембранами та оболонкою вірусів. Можуть діяти проти бактерій як із грамнегативним, так і грампозитивним типом клітинної стінки різними шляхами. Якщо деякі АМП атакують мембрани патогенів, то інші – їх внутрішньоклітинні органели, а також білки, метаболічні шляхи, нуклеїнові кислоти. [74-76]

Розробка терапії на основі АМП з широким спектром антибактеріальної активності може бути ефективною та потужною проти патогенів, стійких до звичайних антибіотиків, оскільки АМП демонструють переваги, діючи на множинні цілі у цитоплазматичній мембрані, а також внутрішньоклітинні цілі. До того ж, крім антибактеріальної активності, АМП проявляють непрямі позитивні ефекти, які діють комплексно із антимікробною активністю, наприклад такі біологічні функції, як стимуляція ангіогенезу, загоєння ран, антиендотоксина, хемокінова та протипухлинна активності [77, 78].

Боротьба мезенхімальних стовбурових клітин (МСК, MSCs - Mesenchymal Stem Cells) із інфекцією шляхом продукування антимікробних пептидів та їхня здатність контролювати імунну відповідь є предметом

інтенсивних досліджень у науковій спільноті. Дослідниками в тому числі обговорюються можливості поєднання МСК і АМП для створення покращених терапевтичних стратегій. Основними АМП, що виробляються цими клітинами, є β -дефензин-2, кателіцидин LL-37 та гепсидин [67, 73, 79].

Крім прямого введення АМП (синтетичних або натуральних) за допомогою інфузії ліків або МСК, дослідники працюють над можливістю посилення неспецифічного захисту (вродженого імунітету) за допомогою вітамінів (наприклад, вітамін D3) та інших речовин з метою модуляції експресії АМП ендогенними клітинами організму [80].

Ще однією багатообіцяючою технологією є використання позаклітинних везикул (ПВ; Extracellular vesicles, EVs) як інструментів доставки АМП. Інкапсульовані у везикули АМП, як альтернатива терапії на основі МСК, є готовими до ін'єкції перспективними біопрепаратами для лікування інфекційних захворювань [73, 81, 82, 83].

Але, не дивлячись на всі переваги і перспективи, клінічна та комерційна розробка АМП все ще має подолати труднощі, такі як спосіб введення, недостатня біодоступність та стабільність, потенційна токсичність та висока вартість виробництва пептидів (порівняно з дженериками АБ). Триває розробка та вдосконалення нових технологій для інженерії АМП та їх нанодоставки [78].

Бактеріофаги та фагові компоненти. Зростання числа інфекцій у людини з множинною лікарською стійкістю, виснаження ресурсів антибіотиків та нерентабельність їх розробки відновили інтерес до фаготерапії. [84-86]

Фаги та їх похідні – багатообіцяюча зброя у боротьбі із стійкими до антимікробних хіміотерапевтичних препаратів, патогенними та утворюючими біоплівки бактеріями [85, 87, 89, 90].

Бактеріофаги – це віруси, націлені на бактерії видоспецифічно, або навіть штамоспецифічно. Вони усюди, де можуть бути бактерії: від ґрунту до нашого кишківника. Специфічність фагів є базовою основою привабливості

фаготерапії як альтернативи антибіотикам, оскільки більшість антибіотиків знищує одночасно і шкідливі бактерії і мікробіом, викликаючи низку нових проблем. [39, 84, 88, 91] Природа їх специфічності походить із безперервної сумісної еволюції разом зі своїми хазяями, що висловлено у гіпотезі «Червоної Королеви» Ван Валена. Червона Королева Алісі в «Крізь дзеркало» Льюїса Керролла, пояснюючи природу Задзеркалля, сказала: Ось, бачите, треба бігти з усіх ніг, щоб залишатися на тому ж місці. Таким чином, бактерії ведуть циклічну гонку озброєнь зі своїми паразитами [35].

У західних країнах фаготерапія встигла пережити і забуття у зв'язку із впровадженням антибіотиків і ренесанс протягом останнього десятиріччя, чому сприяла загроза антимікробної резистентності, а також технологічні досягнення, які дозволяють дослідити і втілити всі її можливості. Але в повній мірі легалізувати фаготерапію не так просто через нормативні та виробничі перешкоди, а також фізіологічні особливості фагів. Наприклад, у США фаготерапію поки що схвалюють тільки для милосердного лікування [39, 90, 92, 93, 94].

Фаготерапія – це спосіб доставки вірулентних (строго літичних) фагів клінічно хворому пацієнту для швидкого знищення бактерій. Вона включає використання літичних фагів, біоінженерних фагів та очищених літичних білків фагів для лізису бактерій у місці інфекції. [88, 90, 93, 95] На відміну від строго літичних, помірні (лізогенні) фаги здатні інтегрувати свій геном, який може містити гени резистентності або токсину, в генетичний апарат клітини-господаря та існувати у якості профагу. Зрештою відбудеться ексцизія фага, він дасть потомство і лізує материнську та/або дочірні клітини, але це, відповідно до вищесказаного, малоефективний, або навіть небезпечний інструмент для фаготерапії. Помірні фаги цікаві в деяких нових розробках як генно-інженерні. Таким чином, дуже важливо забезпечити використання строго літичних фагів для фагової терапії [85, 88, 90].

Після Першого міжнародного конгресу з вірусів мікробів, що відбувся у 2010 році в Інституті Пастера у Парижі, група спеціалістів з фагів у своїй

статті представили та протиставили два підходи у розробці моделей фаготерапії - «prêt-à-porter» та «Sur-mesure».

Підхід «prêt-à-porter» (готовий до застосування) передбачає виготовлення стандартних коктейлів із фіксованим складом фагів. Такий комерційний продукт може містити близько 10 різних штамів фагів із розрахунку, що хоча б один буде ефективним проти штаму бактерії, що викликала інфекцію у пацієнта. А підхід «Sur-mesure» (на замовлення) передбачає скринінг фагів з метою виявлення специфічних саме проти певного штаму бактерій, ізольованих від пацієнта. На думку авторів, ці два підходи можуть співіснувати, але наголошують на важливості розробки підходу «sur-mesure» як більш перспективного та надійного [88, 90].

Фаготерапія обмежена такими факторами, як вузький спектр штамів-господарів, особливі фармакокінетика та фармакодинаміка *in vivo*, імуногенність (і, як наслідок – нейтралізація антитілами) та розвиток резистентності до фагів, але, в той же час, фаготерапія пов'язана з явними перевагами і узгоджується з концепцією еволюційної медицини. На даний час необхідні більш якісні клінічні дослідження, які сприятимуть широкому використанню терапії фагами проти патогенів із МЛС [89]. Хоча багато чого ще невідомо про взаємодію між фагом, бактерією та людиною-господарем, час серйозно поставитися до фагової терапії, здається, швидко наближається [93]

Серед найбільш багатообіцяючих досягнень у фаготерапії є виділення кодованих фагами літичних ферментів (наприклад, лізину), з перевагою масового виробництва з використанням рекомбінантної технології та прямої цільової дії, усуваючи можливість придбання резистентності, які функціонально подібні до антимікробного еукаріотичного ферменту лізоциму. Малоімовірно, що бактерія розвине стійкість до лізинів, оскільки лізини націлені на ділянки пептидоглікану, який життєво важливий для життєздатності бактеріальних клітин [86, 88, 93, 96]. Кожен фаг може кодувати декілька унікальних ферментів лізину та холіну, деякі з яких є

високоспецифічними, але інші можуть виявляти активність широкого спектру між штамми та навіть між видами [93, 97].

Антимікробна фотодинамічна терапія. Сплеск інтересу до фотодинамічної терапії, яка була відкрита ще понад 100 років тому, мотивований тривожним поширенням лікарської стійкості серед бактерій, яке особливо дало про себе знати у зв'язку з посиленням використання антибіотиків для боротьби з бактеріальними коінфекціями та вторинними інфекціями під час пандемії COVID-19 [98-100].

Антимікробна фотодинамічна терапія (аФДТ) — це форма фототерапії, де застосовується світло та фотосенсибілізуюча хімічна речовина разом із молекулярним киснем для викликання загибелі клітин (фототоксичність). Застосування аФДТ передбачає використання трьох компонентів: фотосенсибілізатора, джерела світла та кисню тканин. Фотохімічний процес включає збудження видимим світлом відповідної довжини хвилі молекули фотосенсибілізатора, яка переходить у перший збуджений синглетний стан, який потім може зазнати міжсистемного переходу до триплетного стану з дещо меншою енергією, але довше живучого. Довгоживучий триплетний стан далі реагує через фотохімічні шляхи типу I та/або типу II з утворенням супероксиду, гідроксильних радикалів та синглетного кисню, які можуть взаємодіяти з клітинними компонентами, включаючи ненасичені ліпіди, амінокислотні залишки та нуклеїнові кислоти. Якщо виникне достатнє окислювальне пошкодження, це призведе до загибелі клітин-мішеней, але лише в межах освітленої області, а радикали, що утворюються, мають надзвичайно короткий період напіврозпаду та реагують виключно в місцях свого виникнення, пом'якшуючи токсичність для прилеглих нормальних тканин [98, 99, 101, 102]. ФДТ демонструє ефективність проти широкого спектру мікроорганізмів, включаючи бактерії, гриби, паразитів і віруси, виявляючи ефективність проти репрезентативних представників кожної групи, включаючи стійкі до ліків штами. [99].

Враховуючи легкість використання ламп ФДТ та фотосенсибілізатора на шкірі, цей метод найбільше використовувався для лікування інфекцій шкіри та слизових оболонок, та наразі є корисним лише для лікування місцевих інфекцій, додатково сприятливо впливаючи на тканини шляхом стимуляції факторів росту та посилення імунної відповіді, покращуючи загоєння ран [103, 104]. До того ж, потенціюючий або синергічний ефект аФДТ у поєднанні з антимікробними препаратами може бути перспективним для подолання резистентності, так як спочатку аФДТ пошкоджує стінку або мембрану мікробної клітини, що дозволяє антибіотику краще проникати, а також така комбінація призводить до скорочення часу лікування та зниження дозування ліків [105, 106]. Ефективність ФДТ може бути значно підвищена шляхом включення наночасток золота, срібла, кремнезему, магнітних наночасток та ін. як ад'ювантів [107, 108].

Терапія на основі CRISPR-Cas проти патогенів, стійких до антибіотиків. Короткі паліндромні повтори, регулярно розташовані групами (CRISPR), спільно з асоційованими генами білка ендонуклеази Cas (CRISPR-associated) є РНК-керованою адаптивною імунною системою прокариотів, що забезпечує захист від вторгнення бактеріофагів, запобігає кон'югації та природній трансформації шляхом руйнування чужорідних нуклеїнових кислот, які потрапляють у клітину. Короткі послідовності з бактеріофагів або плазмід, які називаються спейсерами, вбудовуються в бактеріальний геном за допомогою ендонуклеази/інтегрази Cas, а саме у масив CRISPR. Спрямовуючі CRISPR-РНК (crRNA), які генеруються з послідовності CRISPR, і після дозрівання містять частково збережену ділянку повтору та послідовність спейсера, комплементарну цільовій ДНК, потім асоціюються із білками Cas. У цій асоціації crRNA є молекулою специфічного розпізнавання чужорідної комплементарної нуклеїнової кислоти та спрямовування нуклеази Cas до мішені під час етапу інтерференції. [109-112]

Системи CRISPR-Cas поділяються на два класи: клас I включає типи I, III та IV, а клас II складається з типів II, V та VI. У класі I кілька білків Cas

беруть участь у розпізнаванні за допомогою crRNA та розщепленні ДНК, тоді як у класі II один багатодомений білок Cas розпізнає чужорідну ДНК за допомогою дуплексу crRNA і tracrRNA (trans-activating crRNA) та розщеплює її. Остання (система CRISPR-Cas9 типу II) здійснила революцію в молекулярній біології за останнє десятиліття і використовується для редагування геному прокаріотів та еукаріотів [113-115].

Завдяки здатності системи CRISPR/Cas до специфічного націлювання та розщеплення послідовностей ДНК, що містять гени антибіотикорезистентності, її було адаптовано як інноваційний інструмент для редагування генів, спрямований на запобігання та контроль бактеріальної стійкості до антибіотиків [112].

Застосування системи CRISPR-Cas передбачає конструювання спейсерів та експресію націлених на бактеріальний геном crRNA, що дозволяє CRISPR-Cas (тобто Cas9, Cas12, Cas13 та Cas14) розщеплювати цільові послідовності, таким чином відновлюючи чутливість бактерій до антибіотиків (ресенсебілізація) або вбиваючи їх. Стратегії доставки CRISPR/Cas у бактеріальні клітини опосередковані фагом, плазмідами, везикулами та наночастинками. Однак підходи націлювання цього інструменту редагування геному на конкретні бактерії є складним завданням і все ще залишаються на дуже ранній стадії через численні перешкоди, які очікують на рішення. [112, 116-120].

Стійкість бактерій до антибіотиків в основному досягається шляхом горизонтального переносу генів (ГПГ). Цікавим є те, що система CRISPR-Cas як та, яка забезпечує імунітет бактерії, перешкоджає ГПГ і може перешкоджати передачі резистентності. Як наслідок, бактерії з функціональною системою CRISPR-Cas мають меншу ймовірність отримати чужорідну ДНК у вигляді генів резистентності. Нефункціональна система CRISPR-Cas відноситься до системи, яка не може виконувати свої нормальні біологічні функції, оскільки вона втратила їх з різних причин. CRISPR-позитивні ізоляти продемонстрували нижчу поширеність генів стійкості до

антибіотиків, що дозволяє припустити, що система CRISPR-Cas може виступати як природний бар'єр проти поширення стійкості до антибіотиків у цих бактерій [109, 117].

Терапія на основі наноантибіотиків (нанорозмірні антимікробні речовини). Нанотехнологія є багатообіцяючою терапевтичною стратегією завдяки своїй високій ефективності та терапевтичному індексу щодо мікробів. Терапевтичний ефект наноматеріалів як перспективної наноозброї для боротьби із супербактеріями значною мірою зумовлений наномасштабністю, поєднаною із багатовалентними взаємодіями та високим співвідношенням поверхні до об'єму. Дія та активність наночасток (НЧ) здебільшого залежать від їх хімічного складу, форми та розміру, і в той же час антимікробні або біомедичні властивості НЧ залежать від методів їх синтезу та умов виготовлення, таких як природа відновника, температура, концентрація та тип розчинника, а також НЧ можуть бути покриті певними речовинами. Наночастки мають унікальні фізичні (наприклад електричні, магнітні) та хімічні властивості, які відкривають широкі можливості їх різноманітних застосувань [121, 122].

НЧ класифікують на неорганічні, органічні, вуглецеві, композити та біологічні НЧ (нанобактерії, ферменти). Органічні наноматеріали, завдяки своїй біосумісності, ідеально підходять для доставки лікарських засобів, антимікробного застосування та регенерації тканин. Цей клас включає полімерні НЧ, наночастинки на основі ліпідів (зокрема ліпосоми та міцели), наноцелюлозу, нанокрохмаль. Наноматеріали на основі вуглецю включають нанотрубки, графен, нановолокна, наноточки, фулерени, наноалмази, вуглецеві кільця тощо. До неорганічних належать наночастинки металів та оксидів металів (Si, Ag, Au, Zn, Mg, Mn, Cu, Se, Al або Ti), а також квантові точки. Їх характеристики також визначаються рН, температурою, часом відновлення, концентрацією відновника та поведінкою агрегації, які впливають на антимікробну ефективність [123-125].

Багатогранні способи дії НЧ проти цільових бактерій дозволяють обходити механізми стійкості, інгібувати утворення біоплівки або інших важливих процесів, пов'язаних з їхнім вірулентним потенціалом. Наночастинки можуть проникати через клітинну стінку та мембрану бактерій і діяти, порушуючи важливі молекулярні механізми. Механізм антимікробних властивостей залежить від типу НЧ і досі до кінця не з'ясований. Деякі з відомих механізмів, які викликають загибель клітин, полягають у тому, що частинки зв'язуються з бактеріальною клітиною, погіршують проникність клітинної мембрани та блокують окисне фосфорилювання (дихання). Деякі НЧ вивільняють іони металу з поверхні НЧ (наприклад, НЧ на основі Ag і Au), або викликають окислювальний стрес шляхом утворення активних форм кисню (наприклад, НЧ на основі оксидів металів, включаючи ZnO та TiO₂) [123, 126].

Таким чином, НЧ можуть мати власну антибактеріальну активність: в цьому випадку їх називають нанобіотиками, наноантибіотиками або нанобактерицидами. Або діяти як системи доставки антибіотиків, які можуть переноситися на поверхні НЧ або всередині них, і тоді НЧ називаються наноносіями. [124, 127-130].

Синтез та модифікація НЧ призводить до реалізації різних поверхневих функціональних можливостей, що дозволяє їм кон'югувати з антитілами, лігандами та ліками, тим самим збільшуючи їх потенційне застосування в біотехнологіях, магнітному розділенні, доставці ліків і генів та молекулярній візуалізації. Вони використовуються в різноманітних терапевтичних підходах для боротьби із супербактеріями, включаючи таргетну доставку до місць зараження; системи доставки та контрольованого вивільнення, що реагують на ендогенні та екзогенні стимули; націлення на біоплівки; комбінована фізіотерапія - фототермотерапія і антибактеріальна фотодинамічна терапія [124, 128, 129, 131].

Антисептики на основі катіонних ПАР. Антисептика ран зазнала значного відродження з причини пандемічного розповсюдження полірезистентних до антибіотиків мікроорганізмів та завдяки розробці

ефективних, сумісних з тканинами антисептиків, що мають бактерицидну, а не бактеріостатичну дію та практично не викликають розвитку резистентності, так як незворотно ушкоджують бактеріальну клітину [132-135].

Серед антисептичних препаратів, поверхнево-активні речовини (ПАР), а саме катіонні ПАР (катіонні детергенти, катіонні біоциди), заслуговують на особливу увагу. Серед них сполуки четвертинного амонію, які є монокатіонними (четвертинні амонієві сполуки (ЧАС), хлорид бензалконію), бісбігуаніди з двома катіонними групами (хлоргексидин та декаметоксин) та полімерні бігуаніди, що є полікатіонними лінійними полімерами (полігексанід) [133, 134, 136-138].

Катіонні детергенти структурно подібні з антимікробними пептидами (АМП), які є факторами неспецифічного захисту (вродженого імунітету), також являють собою полікатіони, що містять позитивно заряджені амінокислоти, які зв'язуються з негативно зарядженими оболонками бактерій, зрештою викликаючи лізис клітин [139]. Клітинні стінки та мембрани бактерій мають протилежний сумарний негативний заряд, тому позитивно заряджені молекули катіонних біоцидів міцно зв'язуються з ними, інтегруючись у цитоплазматичну мембрану, що призводить до інгібування або денатурації мембранних білків та загибелі бактеріальної клітини. Крім того, завдяки своїй полярній групі, катіонні детергенти мають високу спорідненість до біополіаніонів, таких як нуклеїнові кислоти та певні білки. Завдяки вищому відсотку негативного заряду на мембранах бактеріальних клітин порівняно з клітинами ссавців, позитивний заряд катіонних біоцидів забезпечує посилену взаємодію з бактеріальною мембраною [140].

Для подолання зростаючої проблеми резистентності та беручи до уваги біоплівковий статус патогенів, актуальним також є підхід, що передбачає використання комбінації антибіотиків з альтернативними методами лікування. Комбінована терапія має значні переваги перед традиційною антибіотикотерапією, оскільки перша створює мінімальний селективний тиск на бактерії, отже, менш ймовірно викликати стійкість до ліків. У догляді за

ранами надзвичайно важливим є комплексне місцеве лікування, ключовим елементом якого є застосування катіонних біоцидів [141-146].

Глобальний ринок антисептиків і дезінфікуючих засобів, включаючи катіонні біоциди, постійно зростає і, як очікується, досягне 13,3 мільярдів доларів США до 2028 року, що майже вдвічі перевищує розмір ринку в 7,5 мільярдів доларів США у 2020 році. Катіонні біоциди, такі як ЧАС та бігуаніди, мають вирішальне значення для контролю поширення бактеріальних полірезистентних патогенів [147]. Антисептики на основі ПАР є важливими в сучасності компонентами для розробки схем комбінованої терапії ранових інфекцій, викликаних полірезистентними патогенами, в тому числі завдяки їх здатності ефективно протидіяти формуванню біоплівки та сприяти її ерадикації [133-135, 138, 148].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження присвячене науковому пошуку та обґрунтуванню потенційноможливих шляхів боротьби з антибіотикорезистентними мікроорганізмами, які визначені як провідні мікробні патогени інфекційних ускладнень, пов'язаних із наданням медичної допомоги (рис. 2.1.).

Дизайн дослідження

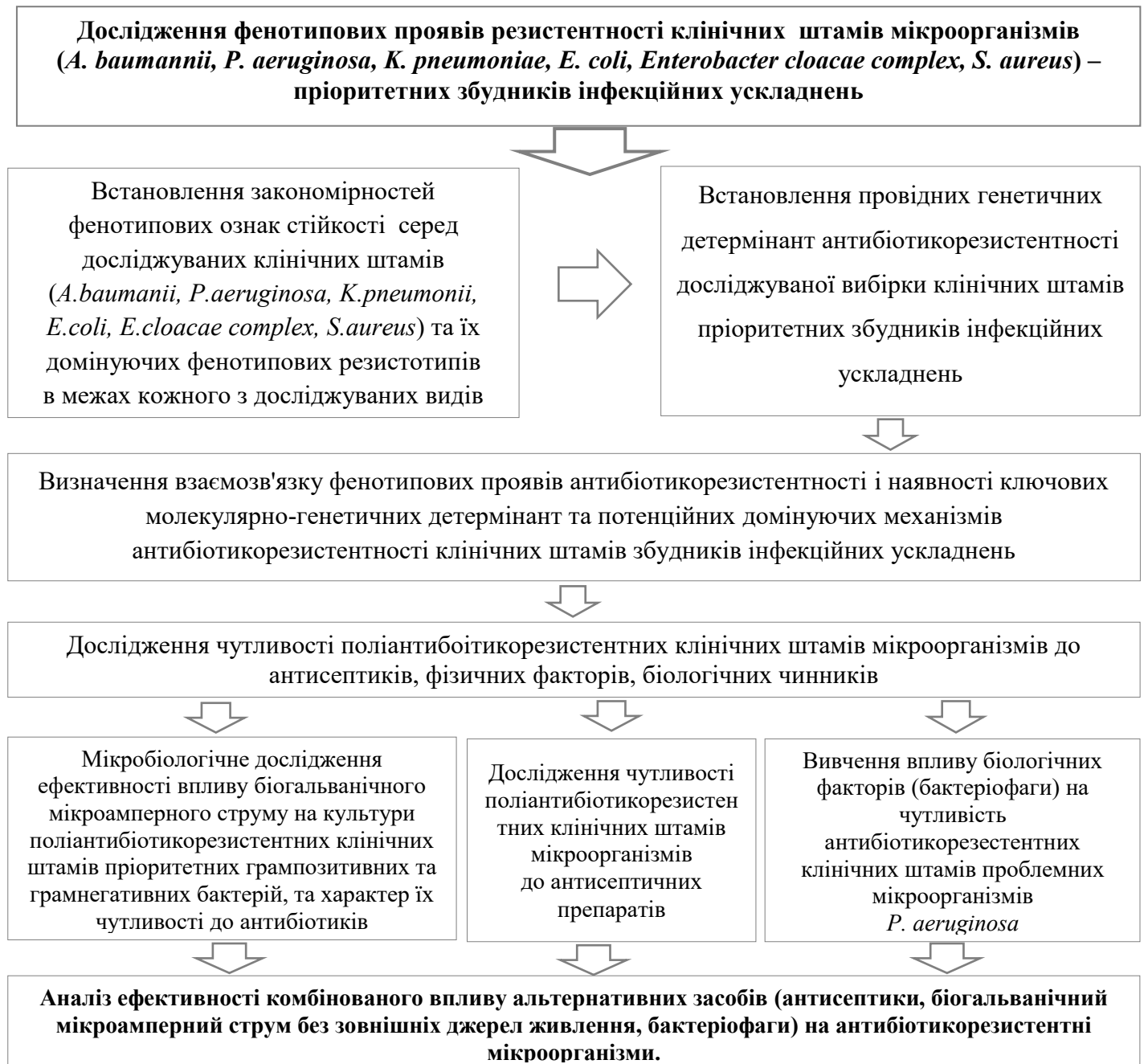


Рис. 2.1. Дизайн дисертаційного дослідження.

2.1. Характеристика досліджуваних збудників інфекційних ускладнень

У ході дослідження використовували референтні штами з колекції живих культур кафедри мікробіології ВНМУ ім. М. І. Пирогова: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, ATCC 25923; *Escherichia coli* ATCC 25922, ATCC 35218; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603; *Enterobacter cloacae* ATCC 13047; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Acinetobacter baumannii* ATCC 15151 та ATCC BAA-747 (табл. 2.1).

Окрім того, дослідження включало клінічні полірезистентні клінічні штами цих видів мікроорганізмів, одержані з банку живих культур мікроорганізмів бактеріологічної лабораторії кафедри мікробіології ВНМУ ім. М. І. Пирогова.

Клінічні штами умовно-патогенних бактерій були попередньо виділені від пацієнтів з інфікованими бойовими опіками, пораненнями різної локалізації, інфекційними ускладненнями, пов'язаними з наданням медичної допомоги. У виборі переліку культур клінічних штамів для дослідження керувалися сучасними уявленнями щодо їх вагомості у галузі охорони здоров'я.

Культивування мікроорганізмів здійснювали на поживних середовищах Мюллера-Хінтона (агар і бульйон, ТОВ “Фармактив”, Україна). Для ідентифікації бактерій використовували стандартні мікробіологічні методи, включаючи мікроскопію, вирощування на селективних середовищах, біохімічні тести (в тому числі стріп-панелі ENTERO-test 24, NEFERM-test, STAFY-test 24 виробництва Erba Mannheim, Чеська республіка), автоматизовану біохімічну ідентифікацію за допомогою VITEK 2 Compact (bioMérieux, Франція), автоматизовану ідентифікацію за допомогою MALDI-TOF мас-спектрометрії (MALDI Biotyper®, Bruker Corporation, Німеччина).

Перелік референтних штамів мікроорганізмів, використаних у дослідженнях

№	Мікроорганізм	Референтний штам	Тип/Морфологія	Властивості штаму щодо тестування біоцидів
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Грам(+) коки	Модельний чутливий штам (EUCAST 2025)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	Грам(+) коки	Модельний чутливий штам (EUCAST 2025)
2	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Грам(-) паличка	Чутливий, дикий тип (EUCAST 2025)
3	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35218	Грам(-) паличка	Продуцент β -лактамаз TEM-1, стійка до ампіциліну (EUCAST 2025)
4	<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	Грам(-) паличка	Чутливий, дикий тип (EUCAST 2025)
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Грам(-) паличка	Чутливий, дикий тип (EUCAST 2025)
6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	Грам(-) паличка	Чутливий штам
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	Грам(-) паличка	Продуцент ESBL* (SHV18) (EUCAST 2025)
8	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 15151	Грам(-) паличка	Чутливий штам
9	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC BAA-747	Грам(-) паличка	Контрольний штам, є клінічним зразком, виділеним із вушного гною

Так, *S. aureus* визнаний одним із найважливіших збудників інфекцій, пов'язаних із наданням медичної допомоги (ПМД), що становить значну загрозу для сучасної охорони здоров'я через здатність спричиняти як поверхневі, так і тяжкі системні інфекції [149]. Цей грампозитивний факультативно-анаеробний кок, який володіє численними факторами

вірулентності, зокрема адгезивними молекулами, екзотоксинами (токсин синдрому токсичного шоку TSST-1, α -гемолізін, лейкоцидин Пантона-Валентайна – PVL) та здатністю утворювати біоплівки, особливо на медичних імплантатах і катетерах, що сприяє хронізації інфекцій, [150, 151].

Особливої уваги заслуговують метицилін-резистентні штами *S. aureus* (MRSA), які є прикладом патогену з високим рівнем антимікробної резистентності, насамперед до β -лактамних антибіотиків, включаючи пеніциліни та цефалоспорини. Крім того, поширюються клони, стійкі до макролідів, фторхінолонів, аміноглікозидів, тетрациклінів і навіть глікопептидів, зокрема ванкоміцин-помірні штами (VISA) та ванкоміцин-резистентні (VRSA) [152, 153].

З епідеміологічної точки зору, *S. aureus* демонструє значну клональну варіабельність. У госпітальних умовах найбільш поширені клональні лінії MRSA включають ST239, ST5, ST22, ST8 та ST398, які характеризуються особливою здатністю до поширення та колонізації, а також тривалим виживанням у довкіллі медичних закладів [150, 154, 155]. Крім того, в останні роки зросло значення ком'юніті-асоційованих MRSA (CA-MRSA), які часто несуть гени високої вірулентності (наприклад, *lukS/F-PV*, що кодує PVL) та демонструють відмінні профілі резистентності й патогенності [156].

S. aureus внесено до списку пріоритетних патогенів BOOЗ у категорії «високий пріоритет» (High Priority Pathogens List) через високу поширеність, тяжкість клінічних проявів, ускладнене лікування резистентних форм та необхідність розробки нових протимікробних засобів. Ефективна боротьба з інфекціями, спричиненими цим мікроорганізмом, вимагає посилення антимікробного контролю, впровадження скринінгових програм, епідеміологічного нагляду за клональною структурою ізолятів та розвитку альтернативних підходів до терапії [41].

Escherichia coli є одним із провідних грамнегативних збудників інфекцій, пов'язаних із наданням медичної допомоги, включаючи інфекції сечової системи, нозокоміальні пневмонії, сепсис та інфекції післяопераційної

рани [149]. Особливе занепокоєння викликають мультирезистентні штами *E. coli*, зокрема продуценти β -лактамаз розширеного спектру (ESBL), а також карбапенемази (наприклад, NDM-1, KPC, OXA-48), які забезпечують стійкість до ключових груп β -лактамних антибіотиків, включаючи цефалоспорини 3-4 поколінь та навіть карбапенеми, які раніше вважалися останньою лінією терапії. Крім того, фіксується ко-резистентність до фторхінолонів, аміноглікозидів, тетрациклінів та сульфонамідів [157, 158, 159].

З точки зору молекулярної епідеміології, серед *E. coli* в останні роки домінують певні глобально поширені клони, що відзначаються підвищеною вірулентністю та резистентністю. Найбільш значущим є ST131, що входить до філогенетичної групи B2 і часто асоціюється з ESBL-продукцією (особливо CTX-M-15) та фторхінолонорезистентністю. Інші клони, такі як ST69, ST405, ST38 та ST1193, також відіграють важливу роль у поширенні мультирезистентних фенотипів у госпітальному середовищі [160, 161]. Враховуючи високу поширеність, частоту ускладнених клінічних випадків, обмежені терапевтичні опції та здатність до горизонтального переносу генів резистентності, *E. coli* включено до списку пріоритетних патогенів ВООЗ у категорії “високий пріоритет” [41].

Klebsiella pneumoniae є одним із найважливіших представників роду *Enterobacterales*, який відіграє ключову роль у розвитку тяжких нозокоміальних інфекцій, включаючи пневмонію, сепсис, інфекції сечовивідних шляхів, інфекції шкіри та м'яких тканин [149]. У клінічній практиці особливе занепокоєння викликають мультирезистентні штами *K. pneumoniae*, які продукують ESBL), а також карбапенемази – ферменти, що гідролізують карбапенеми, антибіотики останньої лінії. Найбільш поширеними серед них є KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*), NDM (*New Delhi metallo- β -lactamase*), OXA-48 та їх варіанти. Такі штами демонструють резистентність до більшості бета-лактамів, фторхінолонів, аміноглікозидів та інших важливих антимікробних препаратів, що значно обмежує можливості ефективної терапії [162, 163].

Молекулярна епідеміологія *K. pneumoniae* свідчить про наявність високоризикових клональних ліній, які є основними драйверами поширення резистентності у стаціонарних умовах. Серед них особливо виділяють ST258, ST512, ST147, ST11, ST307, що асоціюються з продукцією KPC, OXA-48 та NDM-ферментів. Ці клони здатні до швидкої адаптації, мають високу контагіозність та часто зберігаються в медичних закладах протягом тривалого часу, створюючи постійну загрозу виникнення спалахів [164, 165]. У зв'язку з цими властивостями, *K. pneumoniae* внесено до списку патогенів критичного пріоритету ВООЗ, що підкреслює необхідність термінової розробки нових антимікробних засобів, вдосконалення діагностичних підходів, посилення інфекційного контролю та епіднагляду за поширенням резистентних штамів [41].

Enterobacter cloacae є грамнегативною факультативно анаеробною паличкою родини Enterobacteriaceae, яка виступає важливим опортуністичним збудником ІПМД. Найчастіше клінічні штами *E. cloacae* асоціюють з нозокоміальними інфекціями сечової системи, пневмонією (включаючи вентилятор-асоційовану), сепсисом, інфекціями черевної порожнини, рановими та післяопераційними ускладненнями, особливо у пацієнтів із тяжкою супутньою патологією, імуносупресією або тривалим перебуванням у стаціонарі [149].

Серед важливих особливостей *E. cloacae* вважають високу природну та набуту антибіотикорезистентність, зокрема за рахунок індукованої продукції β -лактамази класу AmpC, яка гідролізує пеніциліни, цефалоспорини 1–3 поколінь та інгібіторо захищені β -лактами. Під тиском антибіотикотерапії можлива гіперпродукція AmpC, що зумовлює клінічну неефективність бета-лактамів, навіть при початковій чутливості. Додаткову стійкість забезпечують механізми, пов'язані з ефлюксними насосами, модифікацією мішеней, зменшеною проникністю зовнішньої мембрани, а також наявністю плазмідних генів, що кодують ESBL (наприклад, CTX-M) або карбапенемази (KPC, NDM, OXA-48) [166, 167].

У структурі епідеміологічного нагляду важливу роль відіграє клональна диференціація *E. cloacae*. За допомогою мультилокусного секвенування (MLST) виділено низку клінічно значущих клональних ліній, зокрема ST78, ST114, ST171, які часто асоціюються з продукцією β ESBL або карбапенемаз, а також із госпітальними спалахами в різних країнах. Ці клони демонструють здатність до тривалої персистенції, колонізації пацієнтів та забруднення госпітального середовища [168, 169].

Високий рівень антибіотикорезистентності, здатність до горизонтального переносу генів та зростаюча частота виявлення клінічних ізолятів *E. cloacae* визначили їх приналежність до пріоритетних патогенів ВООЗ категорії “високий пріоритет”. Це стало підставою для включення клінічних штамів даного виду бактерій до дослідження [41].

Acinetobacter baumannii є грамнегативним аеробною бактерією, що належить до комплексу *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* та є одним із найнебезпечніших збудників ППМД. У клінічній практиці *A. baumannii* асоціюється з нозокоміальними пневмоніями (зокрема вентилятор-асоційованими), бактеріємією, сепсисом, інфекціями шкіри, м'яких тканин, сечової системи та післяопераційними рановими ускладненнями, особливо у пацієнтів у відділеннях інтенсивної терапії, політравми, термічних уражень [149].

Ключовою особливістю цього патогену є його висока здатність до виживання в несприятливих умовах (включно з поверхнями в лікарнях) та швидке набуття множинної антибіотикорезистентності. *A. baumannii* продукує широкий спектр β -лактамаз, зокрема клас D (наприклад, OXA-23, OXA-24/40, OXA-58), які гідролізують карбапенеми – основну групу антибіотиків для лікування тяжких грамнегативних інфекцій. Крім того, часто спостерігається резистентність до аміноглікозидів, фторхінолонів, тетрациклінів та навіть колістину, що зумовлює класифікацію багатьох штамів як XDR (extensively drug-resistant, екстенсивно резистентні, з розширеною резистентністю) або PDR (pan-drug-resistant, з повною резистентністю – панрезистентні) [170].

Молекулярно-епідеміологічні дослідження ідентифікували наявність глобальних клональних ліній *A. baumannii*, які є рушіями розповсюдження мультирезистентності в медичних закладах. Найбільш поширені та клінічно значущі – GC1 (Global Clone 1) і GC2 (Global Clone 2), які включають штами, здатні продукувати ОХА-тип карбапенемази, зокрема ОХА-23, та зберігати стійкість до більшості доступних антимікробних препаратів. Вони часто мають додаткові механізми захисту, зокрема ефлюксні насоси, модифікацію поринів та ферменти, що інактивують антибіотики, що ще більше ускладнює лікування [171-174].

У 2017 р. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) включила *A. baumannii*, резистентний до карбапенемів, до категорії патогенів критичного пріоритету через його загрозливу клінічну значущість, частоту тяжких ускладнень та стрімке поширення у стаціонарних умовах. Цей факт підкреслює актуальність розробки нових антимікробних препаратів та стратегій контролю інфекцій для обмеження його поширення в медичних установах [41].

Pseudomonas aeruginosa – грамнегативна, облігатно аеробна, рухома бактерія з роду *Pseudomonas*, яка є одним із провідних збудників ІПМД, що часто вражає ослаблених пацієнтів у відділеннях інтенсивної терапії, зумовлюючи пневмонію (включаючи вентилятор-асоційовану), сепсис, інфекції сечових шляхів, шкіри, ран, опікових поверхонь, катетер-асоційовані та післяопераційні інфекції [149].

P. aeruginosa характеризується значним біологічним потенціалом до виживання в несприятливих умовах (зокрема в умовах лікарняного середовища), здатністю до формування біоплівки, а також широким спектром факторів вірулентності (екзотоксин А, протеази, еластази, піоціанін, системи секреції тощо), що забезпечують колонізацію та ушкодження тканин [175-177].

Умовно-патогенні мікроорганізми володіють різним потенціалом до біоплівкопродукції в залежності дві види (табл. 2.2) [178-181].

Характеристика здатності до біоплівкоутворення найбільш поширених збудників інфекційних ускладнень [178-181]

Мікроорганізм	Здатність до біоплівкоутворення	Коментар
<i>Escherichia coli</i>	Висока у патогенних штамів (особливо UPEC, EHEC)	Формує біоплівки на слизових оболонках та катетерах
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Висока	Часто формує стійкі біоплівки на поверхнях, зокрема в дихальних шляхах
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Дуже висока	Один із найвідоміших біоплівкоутворювачів; ключовий фактор хронічних інфекцій
<i>Enterobacter cloacae</i>	Помірна–висока	Може формувати біоплівки на медичних імплантах та в сечових шляхах
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Висока	Стійкі біоплівки на абіотичних поверхнях, пов'язані з госпітальними інфекціями
<i>Staphylococcus aureus</i>	Висока (особливо метицилінрезистентні штами, MRSA)	Формує біоплівки на ранах, катетерах, ендопротезах

Найбільшу загрозу становлять мультирезистентні та екстенсивно резистентні (XDR) штами *P. aeruginosa*, які проявляють стійкість до кількох

класів антибіотиків, включно з β -лактамами (цефалоспоринами, карбапенемами), фторхінолонами, аміноглікозидами та поліміксинами. Основними механізмами резистентності є продукція β -лактамаз (AmpC, VIM, IMP, NDM), зниження проникності клітинної стінки (мутації порину OprD), активація ефлюкських насосів (переважно MexAB-OprM), а також горизонтальний переніс генів резистентності через плазміди, інтегрони та транспозони [182-185].

Епідеміологічно значущими є міжнародні клональні лінії (high-risk clones, клони високого ризику), які поширюються у медичних закладах та асоціюються зі стійкістю до карбапенемів і інших антибіотиків. Найчастіше описуваними є ST235, ST111, ST175, ST244, які часто продукують метало- β -лактамази (наприклад, VIM або IMP) та демонструють здатність до довготривалого персистування в умовах лікарняного середовища [186, 187].

Зважаючи на велику клінічну значущість, високий рівень резистентності та обмежені терапевтичні опції, *P.aeruginosa*, резистентна до карбапенемів, включена до списку пріоритетних патогенів категорії “високий пріоритет”. Її поширення вимагає впровадження ефективних стратегій інфекційного контролю, оптимізації антибіотикотерапії та розробки нових протимікробних засобів та стратегій [41].

2.2. Характеристика антисептичних засобів антимікробного впливу на мікроорганізми.

У дослідженні вивчали антимікробні властивості ряду сучасних антисептичних засобів як альтернативних хіміотерапевтичним препаратам, що рекомендовані до застосування в медичній практиці (табл. 2.3).

Декаметоксин [1,10-декандіаміній, N,N,N',N'-тетраметил-N,N-бис((2-метил-5-(1-метилетил)циклогексил)метил)-, дихлорид]– антисептик з групи поверхнево-активних речовин (ПАР), похідне четвертинного азоту. Декаметоксин – дрібнокристалічний порошок білого кольору, добре

розчинний у воді та спирті. Емпірична формула сполуки: $C_{38}H_{74}Cl_2N_2O_4$. Молекулярна маса – 693,92 (рис. 2.2) [188].

Таблиця 2.3

**Фізико-хімічні властивості досліджуваних антисептичних засобів
антимікробного впливу на мікроорганізми**

Назва речовини	Хімічна формула / структура	Молекулярна маса	Розчин ність у воді	рН робочого розчину
Декаметоксин Decamethoxine DCM ДМТ	$C_{38}H_{74}Cl_2N_2O_4$	~693,9 г/моль	Добра	6,5–7,5
Хлоргексидину диглюконат Chlorhexidine digluconate CHG ХГД	$C_{34}H_{54}Cl_2N_{10}O_{14}$	~897,8 г/моль Базова речовина — 505,45 г/моль	Добра	5,5–7,0
Октенідину дигідрохлорид Octenidine dihydrochloride ОСТ ОКТ	$C_{36}H_{62}Cl_2N_4$	~623,8 г/моль	Обмеже на	5,0–7,0
Полігексаметил ен-бігуанід Polyhexamethyle ne biguanide PHMB ПГМБ	$C_7H_{18}N_4$ - формула однієї мономерної одиниці (полімер)	~1200–8000 г/моль Мономер- ≈ 206 г/моль	Висока	5,5–7,0
Бензалконію хлорид Benzalkonium chloride ВАС БХ	$C_6H_5CH_2N(CH_3)_2R^+Cl^-$	~340–400 г/моль	Добра	6,0–8,0

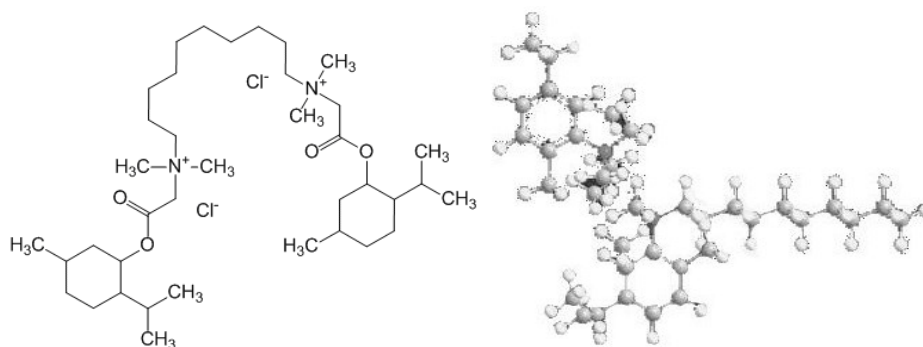


Рис. 2.2. Хімічна формула декаметоксину

В дослідженні використовували 0,1% розчин, який готували шляхом розчинення 100 мг субстанції декаметоксину в 100 мл стерильної води очищеної [189-191].

Бензалконіум хлорид [алкілбензилдиметиламонію хлорид] - антисептик з групи ЧАС, відноситься до катіонних ПАР. Хімічна формула $[C_6H_5CH_2N(CH_3)_2R]Cl$, де R є сумішшю алкілів, включаючи всі або деякі з груп, що починаються з н- C_8H_{17} , та іншими вищими гомологами н- $C_{12}H_{25}$, н- $C_{14}H_{29}$, н- $C_{16}H_{33}$, які й формують основну частку. Середня молекулярна маса сполуки- 360 [192].

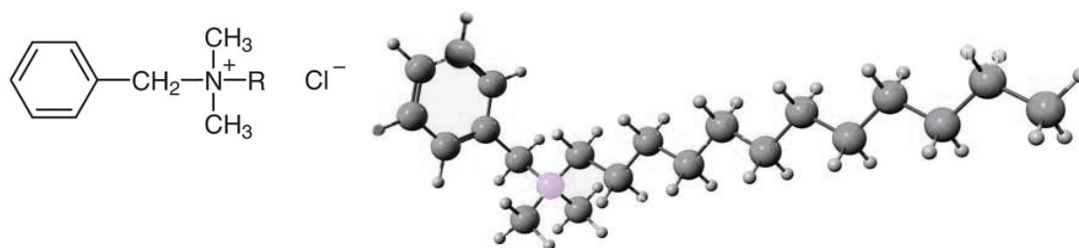


Рис. 2.3. Хімічна формула бензалконіум хлориду

Бензалконій хлорид – дрібно-пластівцевий порошок кремового кольору, легко розчинний у воді, спирті, ацетоні. Як антимікробна складова входить до лікарських засобів (краплі в ніс, вушні краплі, мазі) в концентрації 0,01-0,02 %, використовується як сперматоцид у вагінальних супозиторіях. В роботі використовували 50 % розчин бензалконіуму хлориду (виробництво

Китай). Для виготовлення 0,5 % робочого розчину готували розведення 1:10 в стерильній воді очищеній [193].

Октенідину дигідрохлорид [N, N' - (декан-1,10-дильді-1 (4Н) - піридил-4-іліден) біс (октиламмоній) дихлорид] – є похідним катіонного ПАР та біс- (дигідропіридиніл) - декану. Хімічна формула: $C_{36}H_{64}Cl_2N_4$; молекулярна маса 623,8. Октенідину дигідрохлорид – білий дрібнокристалічний порошок, добре розчинний у воді [194].

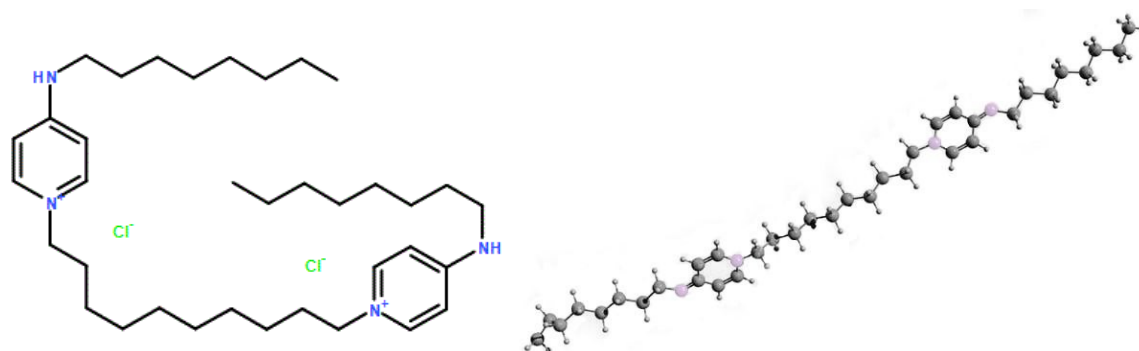


Рис. 2.4. Хімічна формула октенідину дигідрохлориду.

Для вивчення чутливості клінічних штамів бактерій в роботі використовували лікарський засіб Октенісепт, що містить 0,1 г октенідину дигідрохлориду і 2 г феноксіетанолу в 100 мл води (виробництво Німеччина) [196].

Хлоргексидин [N,N''-біс (4-Хлорфеніл)-3,12-дііміно-2,4,11,13-тетраазатетрадекандиімідамід] – поверхнево-активна сполука, катіонний детергент класу бігуанидів. Емпірична формула хлоргексидину: $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$. Молекулярна маса – 505,446. Хлоргексидин – білий кристалічний порошок, який погано розчиняється у воді та спиртах, тому для отримання антисептичних лікарських засобів використовують хлоргексидин диглюконат [197, 198].

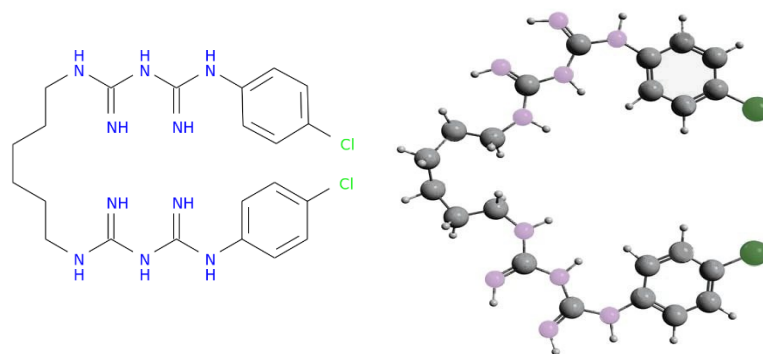


Рис. 2.5. Хімічна формула хлоргексидину диглюконату (ХД)

Для антисептичної та дезінфекційної обробки застосовують лікарські форми ХД. Для антисептичної обробки ран, інстиляцій в порожнини тіла використовують 0,05 %, 0,1 % водні розчини, 0,25 % і 0,5 % водно-спиртові розчини використовують для обробки неушкодженої шкіри або як дезінфікуючий засіб. ХД також входить до складу комплексних антимікробних лікарських засобів. Для вивчення антимікробної дії ХД використовували 20% водний розчин (серійний препарат виробництва Польщі), з якого готували робочий 0,2% розчин шляхом додавання 10 мл препарату до 90 мл стерильної води очищеної (розведення 1:10) [197, 199].

Полігексанід (полігексаметиленбігуанід; поліамідопропілбігуанід) [N,N'''-1,6-гександиілбіс(N'-ціаногуанідин) гексаметилендіамін полімерний гідрохлорид] – водорозчинний полімер, який містить п'ять атомів азоту в кожній повторювальній структурній одиниці. Це білий кристалічний порошок без запаху, який добре розчиняється у воді. Хімічна формула полігексаніду $(C_7H_{15}N_3)_n(HCl)$ [200].

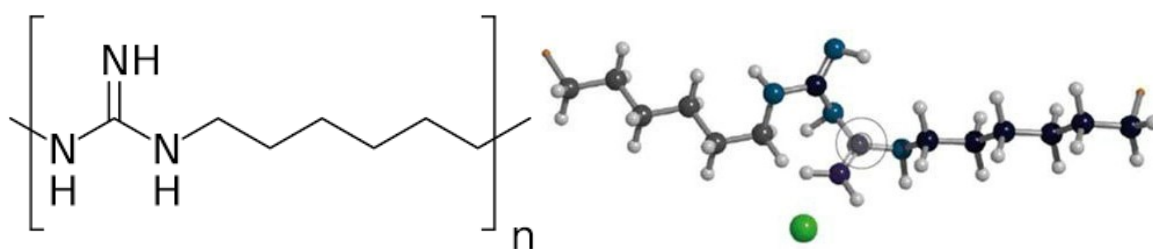


Рис. 2.6. Хімічна формула повторювального структурного елементу полігексаніду

Полігексанід має поверхнево-активний антимікробний механізм дії, володіє антисептичними і дезінфікуючими властивостями. Для визначення антимікробної дії в дослідженні використовували лікарський засіб Пронтосан – розчин для іригації ран виробництва Німеччини. Пронтосан містить полігексанід 0,1 %, бетаїн 0,1 % та воду очищену [200, 201].

2.3. Характеристика фізичних факторів антимікробного впливу на мікроорганізми.

У дослідженні як фізичний чинник впливу на мікроорганізми застосовували струм низької інтенсивності мікроамперного діапазону (біогальванічний струм), що виникав у результаті електрохімічної взаємодії електродної пари без використання зовнішнього джерела живлення. Біогальванічний струм забезпечувався шляхом створення потенціальної різниці між електродом-донором (цинковим або алюмінієвим) та електродом-акцептором (мідним або срібним), зануреними у рідке живильне середовище або фізіологічний розчин (провідне середовище), у якому знаходились бактеріальні культури.

Електродна система та умови впливу. Для генерації струму використовували замкнену електродну систему, що складалася з двох електродів, з'єднаних провідником першого роду через мікроамперметр, який одночасно виконував функцію вимірювального елемента. В експериментальних умовах сила струму у фізіологічному розчині становила 46–50 мкА, а в м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) – 54–60 мкА, при напрузі 0,02–0,04 В. У кожену пробірку з 15 мл суспензії бактерій занурювали стерильні електроди, забезпечуючи контакт у межах міжелектродного простору. Контрольна група включала аналогічні зразки без підключення до електродної системи (інтактне середовище) [202-204].

Основні характеристики біогальванічного струму

Параметр	Характеристика
Тип струму	Постійний мікроамперний (без зовнішнього джерела живлення)
Діапазон сили струму	10–100 мкА (найчастіше 46–60 мкА)
Напруга	0,02–0,1 В (зазвичай 0,02–0,04 В)
Джерело струму	Гальванічна пара з різнорідних металів (Zn/Cu, Al/Ag тощо)
Середовище	Ізотонічний розчин NaCl або поживні середовища (МПБ тощо)
Механізм дії на мікроорганізми	Електрохімічна дестабілізація мембрани, порушення іонного балансу, оксидативний стрес
Біологічні ефекти	Бактеріостатична/бактерицидна дія, зниження біоплівкоутворення
Перевага	Відсутність потреби у зовнішньому живленні, фізіологічна безпечність

2.4. Характеристика біологічних факторів антимікробного впливу на мікроорганізми

Для дослідження альтернативних антибіотикам та хіміотерапевтичним засобам використовували лікаський засіб на основі полівалентного бактеріофагу. **Піофаг бактеріофаг полівалентний** – антибактеріальний засіб виробництва «НЕОПРОБІОКЕАР-УКРАЇНА» для НЕО ПРОБІО КЕАР ІНК., Канада, (надалі піофаг); 1 мл препарату містив специфічні бактеріофаги у концентрації не менше 1×10^5 фагових часток до таких видів мікроорганізмів: *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*. Розчин Піофаг бактеріофаг полівалентний застосовують в лікуванні і профілактиці гнійно-запальних і

кишкових захворювань, спричинених чутливими до Піофагу видами бактерій шляхом промивання порожнин, зрошення ран, прийому всередину, тощо.



Рис. 2.7. Препарат Піофаг бактеріофаг полівалентний

Таблиця 2.5

Характеристики препарату Піофаг бактеріофаг полівалентний	
Параметр	Характеристика
Тип препарату	Бактеріофаг (антибактеріальний засіб)
Склад	Бактеріофаги проти <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Proteus spp.</i>
Форма випуску	Розчин для перорального, місцевого, ректального застосування
Колір/вигляд	Прозорий, допускається жовтуватий відтінок
Показання	Гнійно-запальні, кишкові, уrogenітальні інфекції; профілактика інфекцій
Протипоказання	Індивідуальна чутливість до компонентів
Застосування	Місцево, перорально, ректально (клізми)
Дозування	Індивідуально, тривалість — 7–20 днів
Умови зберігання	+2...+8 °C, не допускати заморожування
Фармакологічна група	Інші антибактеріальні засоби (АТХ: J01XX)
Особливості	Не впливає на нормальну мікрофлору, застосовується при резистентності до АБ

2.5. Методика визначення чутливості провідних збудників інфекційних ускладнень до антибіотиків (хіміотерапевтичних препаратів)

Усі досліджувані культури клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів оцінювали на предмет їх чутливості до хіміотерапевтичних засобів. Для оцінки антимікробної чутливості штамів провідних збудників інфекційних ускладнень використовували метод дискової дифузії відповідно до чинних рекомендацій Європейського комітету з тестування антимікробної чутливості (EUCAST), версії 11.0-15.0 (2021-2025) [205-207].

Для тестування використовували середовище Мюллер-Хінтона (Mueller-Hinton agar, МНА; ТОВ “Фармактив”, Україна). Бактеріальну суспензію готували з 18–24-годинної культури на поживному агарі, стандартизуючи її до 0,5 одиниць за шкалою МакФарланда ($\sim 1 \times 10^8$ КУО/мл). Відібраний інокулюм рівномірно засівали на поверхню МНА за допомогою стерильного тампона [205-207].

Після висихання поверхні розміщували диски з антимікробними препаратами (ТОВ “Фармактив”, Україна), відповідними для кожного збудника (табл 2.7-2.11). Після інкубації при температурі 35 ± 1 °C протягом 18 ± 2 годин вимірювали діаметри зон затримки росту навколо дисків в міліметрах.

Результати інтерпретували згідно з клінічними граничними значеннями (breakpoints), визначеними EUCAST (табл 2.7 - 2.11) [205-207]. У разі наявності зони технічної невизначеності (ATU) або сумнівних результатів, для підтвердження використовували метод визначення мінімальної інгібуючої (пригнічувальної) концентрації (МІК). Контроль якості забезпечували використанням референтних штамів згідно з вимогами EUCAST.

Референтні значення діаметрів зон інгібування для *A. baumannii* (метод дискової дифузії)

Антибіотик	S ≥ (мм)	R < (мм)	Примітки
Іміпенем	23	18	-
Меропенем	21	16	-
Гентаміцин	17	17	-
Амікацин	18	16	-
Тобраміцин	17	17	-
Ципрофлоксацин	21	21	-
Левовфлоксацин	21	19	-
Цефідерокол (30 мкг)	17	17	Зона технічної невизначеності (ATU) 15–16 мм; при результатах у цьому діапазоні рекомендується підтвердження методом МІК.
Піперацилін/тазобактам (30/6 мкг)	20	17	Зона технічної невизначеності (ATU) 17–19 мм.
Тетрациклін (30 мкг)	19	14	-
Триметоприм/сульфаметоксазол (1.25/23.75 мкг)	16	11	-
Цефтазидим (10 мкг)	18	14	-
Ампіцилін/сульбактам (10/10 мкг)	16	13	-
Колістин	—	—	Метод диско-дифузії непридатний; слід використовувати лише метод серійних розведень в бульйоні.

Примітка. *S ≥ (мм) - діаметр зони інгібування, що вказує на чутливість штаму до антибіотика; R < (мм): діаметр зони інгібування, що вказує на резистентність штаму до антибіотика; ATU (Area of Technical Uncertainty) - зона технічної невизначеності -результати в цьому діапазоні потребують додаткового підтвердження; Колістин: через ненадійність методу диско-дифузії для цього антибіотика, EUCAST рекомендує використовувати лише метод серійних розведень в бульйоні для визначення чутливості.

**Референтні значення діаметрів зон інгібування культур *P. aeruginosa*
(метод дискової дифузії)**

Антибіотик	S ≥ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Піперацилін/тазобактам (30/6 мкг)	20	17	18– 19	-
Цефтазидим (10 мкг)	18	14	15– 17	-
Цефепім (30 мкг)	18	14	15– 17	-
Цефазолін	–	–	–	Природна резистентність
Цефтазидим/авібактам (10/4 мкг)	20	17	18– 19	Рекомендується при підозрі на β- лактамазопродуценти класу D
Іміпенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Меропенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Амікацин (30 мкг)	17	13	14– 16	-
Гентаміцин (10 мкг)	16	12	13– 15	-
Тобраміцин (10 мкг)	16	12	13– 15	-
Ципрофлоксацин (5 мкг)	25	19	20– 24	-
Левовфлоксацин (5 мкг)	25	19	20– 24	-
Цефідерокол (30 мкг)	22	18	19– 21	-

Примітка. *Цефтазидим/авібактам активний проти деяких резистентних штамів, особливо з ОХА-β-лактамазами; ATU (Area of Technical Uncertainty - зона технічної невизначеності) - діапазон, у якому точна інтерпретація потребує додаткового тестування (наприклад, визначення МІК).

**Референтні значення діаметрів зон інгібування культур *K. pneumoniae*
(метод дискової дифузії)**

Антибіотик	S ≥ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Піперацилін/тазобактам (30/6 мкг)	20	17	18–19	-
Цефтазидим (10 мкг)	18	14	15–17	-
Цефепім (30 мкг)	18	14	15–17	-
Цефазолін	–	–	–	Природна резистентність
Цефтазидим/авібактам (10/4 мкг)	20	17	18–19	Рекомендується при підозрі на β-лактамазопродуценти класу D
Іміпенем (10 мкг)	20	14	15–19	-
Меропенем (10 мкг)	20	14	15–19	-
Амікацин (30 мкг)	17	13	14–16	-
Гентаміцин (10 мкг)	16	12	13–15	-
Тобраміцин (10 мкг)	16	12	13–15	-
Ципрофлоксацин (5 мкг)	25	19	20–24	-
Левовфлоксацин (5 мкг)	25	19	20–24	-
Цефідерокол (30 мкг)	22	18	19–21	-
Тетрациклін (30 мкг)	19	13	14–18	-
Триметоприм/сульфаметоксазол (1.25/23.75 мкг)	16	11	12–15	Застосовується для тестування резистентних штамів
Цефотаксим (30 мкг)	18	14	15–17	-
Ампіцилін/сульбактам (10/10 мкг)	17	12	13–16	-

Антибіотик	S $\geq$ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Нітрофурантоїн (300 мкг)	18	14	15–17	-
Моксифлоксацин (5 мкг)	23	19	20–22	-
Ертапенем (10 мкг)	20	14	15–19	-
Цефтріаксон (30 мкг)	23	17	18–22	-
Азтреонам (30 мкг)	18	14	15–17	-
Ампіцилін (10 мкг)	19	13	14–18	Для тестування штамів, які можуть мати β -лактамази.

Примітка. *S $\geq$ (мм) - діаметр зони інгібування, що вказує на чутливість штаму до антибіотика; R < (мм): діаметр зони інгібування, що вказує на резистентність штаму до антибіотика; ATU (Area of Technical Uncertainty) - зона технічної невизначеності -результати в цьому діапазоні потребують додаткового підтвердження; Колістин: через ненадійність методу диско-дифузії для цього антибіотика, EUCAST рекомендує використовувати лише метод серійних розведень в бульйоні для визначення чутливості.

Таблиця 2.9

Референтні значення діаметрів зон інгібування культур *E. coli*

(метод дискової дифузії)

Антибіотик	S $\geq$ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Піперацилін/тазобактам (30/6 мкг)	20	17	18–19	-
Цефтазидим (10 мкг)	18	14	15–17	-
Цефепім (30 мкг)	18	14	15–17	-
Цефазолін	—	—	—	Природна резистентність

Антибіотик	S ≥ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Іміпенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Меропенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Амікацин (30 мкг)	17	13	14– 16	-
Гентаміцин (10 мкг)	16	12	13– 15	-
Тобраміцин (10 мкг)	16	12	13– 15	-
Ципрофлоксацин (5 мкг)	25	19	20– 24	-
Левовфлоксацин (5 мкг)	25	19	20– 24	-
Цефідерокол (30 мкг)	22	18	19– 21	ATU: технічна невизначеність
Тетрациклін (30 мкг)	19	13	14– 18	-
Триметоприм/сульфаметоксазол (1.25/23.75 мкг)	16	11	12– 15	Застосовується для тестування резистентних штамів
Цефотаксим (30 мкг)	18	14	15– 17	-
Ампіцилін/сульбактам (10/10 мкг)	17	12	13– 16	-
Тигециклін (15 мкг)	18	14	15– 17	-
Нітрофурантоїн (300 мкг)	18	14	15– 17	-
Моксифлоксацин (5 мкг)	23	19	20– 22	-
Ертапенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Цефтріаксон (30 мкг)	23	17	18– 22	-

Антибіотик	$S \geq$ (мм)	$R <$ (мм)	ATU (мм)	Примітки
Ампіцилін (10 мкг)	19	13	14–18	Зазначено для тестування штамів, які можуть мати β -лактамази.
Цефокситин (30 мкг)	18	14	15–17	Може бути використаний для виявлення резистентних штамів, які продукують ампліфіковані β -лактамази

Примітка. * $S \geq$ (мм) - діаметр зони інгібування, що вказує на чутливість штаму до антибіотика; $R <$ (мм): діаметр зони інгібування, що вказує на резистентність штаму до антибіотика; ATU (Area of Technical Uncertainty) - зона технічної невизначеності -результати в цьому діапазоні потребують додаткового підтвердження; Колістин: через ненадійність методу диско-дифузії для цього антибіотика, EUCAST рекомендує використовувати лише метод серійних розведень в бульйоні для визначення чутливості.

Таблиця 2.10

Референтні значення діаметрів зон інгібування екльтур *E. cloacae* (метод дискової дифузії)

Антибіотик	$S \geq$ (мм)	$R <$ (мм)	ATU (мм)	Примітки
Піперацилін/тазобактам (30/6 мкг)	20	17	18–19	-
Цефтазидим (10 мкг)	18	14	15–17	-
Цефепім (30 мкг)	18	14	15–17	-
Цефазолін	—	—	—	Природна резистентність

Антибіотик	S ≥ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Іміпенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Меропенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Амікацин (30 мкг)	17	13	14– 16	-
Гентаміцин (10 мкг)	16	12	13– 15	-
Тобраміцин (10 мкг)	16	12	13– 15	-
Ципрофлоксацин (5 мкг)	25	19	20– 24	-
Левовфлоксацин (5 мкг)	25	19	20– 24	-
Цефідерокол (30 мкг)	22	18	19– 21	-
Тетрациклін (30 мкг)	19	13	14– 18	-
Триметоприм/сульфаметоксазол (1.25/23.75 мкг)	16	11	12– 15	Застосовується для тестування резистентних штамів
Цефотаксим (30 мкг)	18	14	15– 17	-
Ампіцилін/сульбактам (10/10 мкг)	17	12	13– 16	-
Тигециклін (15 мкг)	18	14	15– 17	-
Нітрофурантоїн (300 мкг)	18	14	15– 17	-
Моксифлоксацин (5 мкг)	23	19	20– 22	-
Ертапенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Цефтріаксон (30 мкг)	23	17	18– 22	-

Антибіотик	S $\geq$ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Азтреонам (30 мкг)	18	14	15–17	-
Ампіцилін (10 мкг)	19	13	14–18	Зазначено для тестування штамів, які можуть мати β -лактамази.
Цефокситин (30 мкг)	18	14	15–17	Може бути використаний для виявлення резистентних штамів, які продукують ампліфіковані β -лактамази

Примітка. *S $\geq$ (мм) - діаметр зони інгібування, що вказує на чутливість штаму до антибіотика; R < (мм): діаметр зони інгібування, що вказує на резистентність штаму до антибіотика; ATU (Area of Technical Uncertainty) - зона технічної невизначеності -результати в цьому діапазоні потребують додаткового підтвердження; Колістин: через ненадійність методу диско-дифузії для цього антибіотика, EUCAST рекомендує використовувати лише метод серійних розведень в бульйоні для визначення чутливості.

Таблиця 2.11

**Референтні значення діаметрів зон інгібування культур *S. aureus*
(метод дискової дифузії)**

Антибіотик	S $\geq$ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Піперацилін/тазобактам (30/6 мкг)	20	17	18–19	-
Цефтазидим (10 мкг)	18	14	15–17	-
Цефепім (30 мкг)	18	14	15–17	-
Цефазолін	—	—	—	Природна резистентність

Антибіотик	S ≥ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Іміпенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Меропенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Амікацин (30 мкг)	17	13	14– 16	-
Гентаміцин (10 мкг)	16	12	13– 15	-
Тобраміцин (10 мкг)	16	12	13– 15	-
Ципрофлоксацин (5 мкг)	25	19	20– 24	-
Левовфлоксацин (5 мкг)	25	19	20– 24	-
Цефідерокол (30 мкг)	22	18	19– 21	-
Тетрациклін (30 мкг)	19	13	14– 18	-
Триметоприм/сульфаметоксазол (1.25/23.75 мкг)	16	11	12– 15	Застосовується для тестування резистентних штамів
Цефотаксим (30 мкг)	18	14	15– 17	-
Ампіцилін/сульбактам (10/10 мкг)	17	12	13– 16	-
Тигециклін (15 мкг)	18	14	15– 17	-
Нітрофурантоїн (300 мкг)	18	14	15– 17	-
Моксифлоксацин (5 мкг)	23	19	20– 22	-
Ертапенем (10 мкг)	20	14	15– 19	-
Цефтріаксон (30 мкг)	23	17	18– 22	-

Антибіотик	S $\geq$ (мм)	R < (мм)	ATU (мм)	Примітки
Азтреонам (30 мкг)	18	14	15–17	-
Ампіцилін (10 мкг)	19	13	14–18	Застосовується для тестування штамів, які можуть мати β -лактамази.
Цефокситин (30 мкг)	18	14	15–17	Може бути використаний для виявлення резистентних штамів, які продукують ампліфіковані β -лактамази

Примітка. *S $\geq$ (мм) - діаметр зони інгібування, що вказує на чутливість штаму до антибіотика; R < (мм): діаметр зони інгібування, що вказує на резистентність штаму до антибіотика; ATU (Area of Technical Uncertainty) - зона технічної невизначеності -результати в цьому діапазоні потребують додаткового підтвердження; Колістин: через ненадійність методу диско-дифузії для цього антибіотика, EUCAST рекомендує використовувати лише метод серійних розведень в бульйоні для визначення чутливості.

Для визначення чутливості до антибіотиків штамів патогенних мікроорганізмів у разі отримання результатів у зоні технічної невизначеності (ATU) використовували метод серійних розведень (макрометод), для точного визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) антибіотика за рекомендаціями Інституту клінічних і лабораторних стандартів (CLSI, США, 2022) та Європейського комітету з тестування антимікробної чутливості [205, 208].

Всі антибіотики розводили у стерильному фізіологічному розчині з відомими концентраціями. Для кожного антибіотика готували серії розведень, починаючи з максимальної концентрації і поступово зменшуючи до

мінімальних значень відповідно до рекомендованих порогових значень. Серії розведень виконували шляхом дворазового розведення антибіотика в стерильних тестових пробірках або 96-лункових планшетах, щоб отримати кінцеві концентрації. Для кожної концентрації антибіотика готували не менше 5–6 ступенів розведень.

Кожну пробу серії розведень інокулювали бактеріальною суспензією, яка підготовлена таким чином, щоб її концентрація складала $1-2 \times 10^5$ КУО/мл. Після інокуляції проби інкубували при температурі 37°C протягом 18–24 годин. Після інкубації оцінювали ріст бактерій у кожному з розведених розчинів. Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) визначали як найменшу концентрацію антибіотика, при якій не спостерігали видимий ріст бактерій. Для контролю якості тесту використовували позитивні та негативні контролю, а також стандартні контрольні штами бактерій, чутливі та резистентні до певних антибіотиків. Результати тестування інтерпретували відповідно до встановлених критеріїв чутливості, резистентності або помірної чутливості до антибіотиків.

2.6. Методика визначення фенотипових резистотипів клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів та статусу множинної лікарської стійкості

Для більш детальної характеристики залучених у дослідження клінічних штамів бактерій було проведено визначення їх резистотипів – профілю чутливості/резистентності мікроорганізму до різних груп антибіотиків, який описували у вигляді переліку антибіотиків/груп, до яких штам виявив резистентність. Також робили висновок про тип фенотипу, який відповідав статусу множинної лікарської стійкості. Для оцінки профілю резистентності виділених клінічних штамів використовували класифікацію лікарської стійкості відповідно до міжнародно визнаних критеріїв, запропонованих спільною робочою групою ECDC та CDC [209].

Статус МЛС визначали як резистентність або проміжна чутливість щонайменше до одного антибіотика у трьох або більше класах антимікробних засобів, що мають активність щодо певного збудника. Інтерпретацію чутливості проводили відповідно до порогових значень EUCAST. Оцінку статусу здійснювали на основі результатів диско-дифузійного методу (ДДМ) або методу визначення МІК (для колістину – обов’язково подвійні розведення в бульйоні), залежно від специфіки антибіотика.

Для *S. aureus* до аналізу включали такі класи хіміотерапевтичних засобів: бета-лактамі антибіотики (пеніциліни – бензилпеніцилін, метицилін; цефалоспорины – цефтріаксон, цефотаксим, цефазолін, цефтазидим; карбапенеми – меропенем, іміпенем), макроліди (еритроміцин, кларитроміцин, азитроміцин), аміноглікозиди (гентаміцин, амікацин, тобраміцин), фторхінолони (ципрофлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин), поліміксини (колістин), лінкозаміди (кліндаміцин), глікопептиди (ванкоміцин, тейкопланін), ліпопептиди (даптоміцин), тетрациклінові антибіотики (тетрациклін, доксициклін), сульфонаміди (триметоприм/сульфаметоксазол),

Для представників родини *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*) з метою встановлення фенотипу стійкості оцінювали чутливість до представників щонайменше 8–12 класів антибактеріальних препаратів, рекомендованих для ентеробактерій, а саме: пеніциліни з інгібіторами β -лактамаз (амоксацилін/клавуланат, піперацилін/тазобактам), цефалоспорины 3–4 покоління (цефотаксим, цефтріаксон, цефепім), карбапенеми (меропенем, іміпенем), монобактами (азтреонам), фторхінолони (ципрофлоксацин, левофлоксацин), аміноглікозиди (гентаміцин, амікацин, тобраміцин), сульфонаміди (триметоприм/сульфаметоксазол), феніколи (хлорамфенікол), тетрацикліни (доксициклін, тетрациклін), поліміксини (колістин), фосфонові кислоти похідні (фосфоміцин), макроліди (для *E. coli* не є клінічно релевантними, але іноді включаються до розширених панелей).

Для *P. aeruginosa* до аналізу включали: антипсевдомонадні пеніциліни $\pm$ інгібітори β -лактамаз (піперацилін, піперацилін/тазобактам),

цефалоспорины антипсевдомонадні (цефтазидим, цефепім), карбапенеми (іміпенем, меропенем), монобактами (азтреонам), фторхінолони (ципрофлоксацин, левофлоксацин), аміноглікозиди (гентаміцин, амікацин, тобраміцин), поліміксини (колістин).

Для *A. baumannii* до аналізу включали такі класи препаратів як от: карбапенеми (меропенем, іміпенем), аміноглікозиди (гентаміцин, амікацин, тобраміцин), фторхінолони (ципрофлоксацин, левофлоксацин), поліміксини (колістин), тетрациклінові антибіотики (тетрациклін, доксициклін), сульфонаміди (триметоприм/сульфаметоксазол), β -лактами/інгібітори β -лактамаз (піперацилін/тазобактам, ампіцилін/сульбактам), Цефалоспорины (цефтазидим).

2.7. Методика дослідження генотипових детермінант резистентності клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, які спричиняють інфекційні ускладнення

Для характеристики властивостей клінічних штамів мікрорганізмів, використаних для дослідження, проведено аналіз попередньо визначеного генотипу за допомогою повного геномного секвенування клінічних штамів пріоритетних збудників інфекційних ускладнень, що пройшли молекулярно-генетичне дослідження у Військовому інституті досліджень ім. Волтера Ріда, США та були надані кафедри в рамках наукової співпраці.

Для молекулярної характеристики, зокрема аналізу генів антимікробної резистентності, клінічно значущих пріоритетних збудників інфекційних ускладнень, виділених від пацієнтів, були відібрані штами бактерій, які за профілем антибіотикорезистентності були визначені як полірезистентні. Проведено комплексний аналіз наявних даних репозитарію про кожну з культур з банку живих культур бактеріологічної лабораторії ВНМУ ім. М. І. Пирогова. Геномна ДНК, виділена з чистих культур обраних клінічних штамів бактерій (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *A. baumannii*, *S. aureus*), була попередньо вивчена за допомогою повного геномного секвенування (Whole Genome Sequencing, WGS) із використанням

технології секвенування наступного покоління (Next-Generation Sequencing, NGS) на платформі Appliedbio systems / life technologies (SOLiD system) Illumina NextSeq та внесені до бази GenBank® у Національному центрі біотехнології та інформації (National Center for Biotechnology Information (NCBI) [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>]).

Для аналізу взаємозв'язку між генетичною та фенотиповою резистентністю умовно-патогенних мікроорганізмів проводили статистичну оцінку кореляції між кількістю виявлених генів резистентності (за результатами NGS-аналізу) та кількістю антибіотиків, до яких ізоляти проявляли клінічно значущу стійкість (згідно з критеріями EUCAST/CLSI). Для статистичного аналізу використовували коефіцієнт кореляції Пірсона (r).

2.8. Методика визначення впливу антисептиків на провідні збудники інфекційних ускладнень

Визначення МІК, МБЦК та індексів антимікробної активності антисептиків (ІАА). Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) та мінімальні бактерицидні концентрації (МБЦК) антисептичних засобів визначали із застосуванням стандартного макрометоду подвійних серійних розведень у бульйоні Мюллера-Хінтона (виробник – ТОВ «Фармактив», Україна), відповідно до рекомендацій Інституту клінічних і лабораторних стандартів (CLSI, США) та чинних нормативних документів України [208, 210, 211].

Мікробіологічні дослідження виконували в умовах акредитованої науково-дослідної бактеріологічної лабораторії кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (Свідоцтво про технічну компетентність №115/21). Для проведення тестування використовували як референтні, так і клінічні штами мікроорганізмів з ознаками множинної лікарської стійкості (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *A. baumannii*, *S. aureus*).

Перед проведенням дослідження бактеріальні культури ресуспендували у фізіологічному розчині до щільності 0,5 за шкалою

МакФарланда. Антисептики розводили послідовно вдвічі, починаючи з робочих концентрацій. У кожную пробірку вносили по 0,1 мл бактеріальної суспензії, після чого інкубували при температурі 37 °С протягом 24 годин.

МІК визначалася як найнижча концентрація антисептика, що повністю пригнічувала видимий бактеріальний ріст. Для встановлення МБЦК із вмісту пробірок, де не було виявлено росту, проводили висів на агар Мюллера-Хінтона; мінімальна бактерицидна концентрація відповідала найнижчій концентрації, за якої ріст мікроорганізмів не спостерігався.

2.9. Методика визначення біоплівкоутворювальної здатності збудників інфекційних ускладнень (тест Крістенсена)

Біоплівкоутворювальну активність ізолятів визначали за допомогою модифікованого методу Крістенсена з використанням 96-лункових полістиренових мікропланшетів. Метод ґрунтується на здатності бактерій адгезувати до поверхні лунок та продукувати позаклітинний полімерний матрикс, який забарвлюється кристалфіолетом.

У дослідженнях застосовували добову планктонну бактеріальну культуру, ресуспендовану у 200 мкл триптон-соевого бульйону (TSB; EMD Millipore, США), з додаванням 1% глюкози та інкубували при 37 °С протягом 24 год у лунках мікропланшета (USA Scientific, Inc). Щільність бактеріальної суспензії становила $1,5 \times 10^8$ КУО/мл, що еквівалентно 0,5 стандарту за шкалою McFarland. Як негативний контроль використовували лунки, заповнені лише поживним середовищем без бактеріального інокуляту (TSB; EMD Millipore, США). Після інкубації вміст лунок акуратно видаляли, а самі лунки тричі промивали фосфатно-сольовим буфером (PBS; Sigma, USA; cat. no. P-3813) для видалення неадгезованих клітин. Залишки біоплівки фіксували 96% етанолом (15 хв), після чого висушували на повітрі та забарвлювали 0,1% розчином кристалфіолету - 15 хв (Merck, Німеччина).

Надлишок барвника змивали водою, після чого лунки знову висушували. Для кількісної оцінки біоплівки барвник екстрагували з лунок 95% етанолом (220 мкл у кожній лунці), і оптичну густину (OD) зчитували за

допомогою мікропланшетного рідера при довжині хвилі 620 нм (STAT FAX®4300; Нідерланди). Інтенсивність забарвлення вмісту лунок корелює зі здатністю мікроорганізмів формувати біоплівку, а рівень біоплівкоутворення кількісно оцінювали за значенням оптичної густини.

Порогове значення оптичної щільності (OD_c – середнє значення оптичної густини негативного контролю), що вказувало на наявність біоплівки, розраховували як суму середнього арифметичного значення для негативного контролю та потрібного стандартного відхилення ($OD_c = \bar{x} + 3\sigma$). У ролі негативного контролю використовували лунки, заповнені лише неінокульованим поживним середовищем. Інтерпретацію результатів здійснювали за наступними критеріями: при $OD < 0,120$ здатність до біоплівкоутворення вважалась низькою, при OD в межах $0,121–0,239$ – середньою, а при $OD > 0,240$ – високою [190, 212-214].

2.10.Методика вивчення впливу фізичних чинників на провідні збудники інфекційних ускладнень

У дослідженні було використано як референтні, так і клінічні полірезистентні штами умовно-патогенних мікроорганізмів *S. aureus* (n=17), *A. baumannii* (n=19) та *P. aeruginosa* (n=15). Для вирощування культур застосовували м'ясо-пептонний агар та бульйон виробництва ТОВ “Фармактив” (Україна). У клінічних ізолятах, отриманих від пацієнтів, досліджено біологічні характеристики та підтверджено статус поліантибіотикорезистентності.

Методика вивчення впливу біогальванічного струму на планктонні форми збудників інфекційних ускладнень (на концентрацію мікробних тіл)

Дослідження впливу біогальванічного (мікроамперного) без зовнішніх джерел на мікроорганізми проводили з використанням добових культур музейних та клінічних штамів бактерій у середовищі ізотонічного розчину натрію хлориду та м'ясо-пептонного бульйону (МПБ).

Концентрацію мікроорганізмів стандартизували спектрофотометрично за допомогою денситометра Densi-La-Meter II («Erba Lachema s.r.o.», Чехія), попередньо відкаліброваного для точного визначення клітинної концентрації за оптичною густиною (ОГ); одна одиниця ОГ₆₀₀ відповідала приблизно 8×10^8 КУО/мл [215]. Початкову концентрацію для референтних і клінічних штамів *A. baumannii* (n=19) та *S. aureus* (n=17) встановлювали на рівні 2,0 одиниць ОГ (ООГ), а для *P. aeruginosa* (n=15) - 1,0 ООГ.

Зависи мікроорганізмів по 15 мл поміщали в пробірки з електродною системою, що включала донор і акцептор електронів, з'єднаних між собою через провідник першого роду і вимірювальний прилад (рис. 2.8). Сила струму становила 46–50 мкА у фізіологічному розчині та 54–60 мкА в м'ясо-пептонному бульйоні, при напрузі в межах 0,02–0,04 В. У контрольній групі використовували суспензії мікроорганізмів без дії мікроструму. Через 24 і 48 год інкубації при температурі 37 °С оцінювали силу струму в міжелектродному просторі та спектрофотометрично визначали концентрацію мікробних клітин.

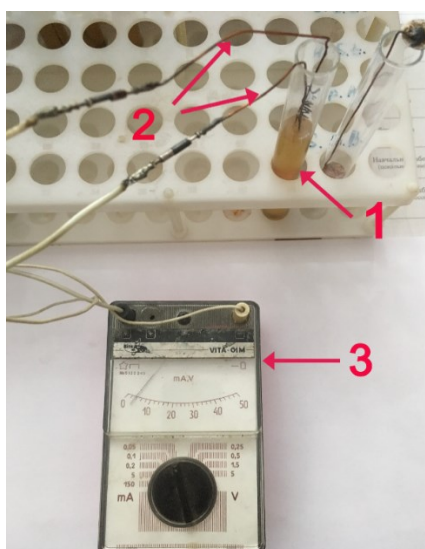


Рис.2.8. Вимірювання сили струму у суспензії досліджуваних мікроорганізмів в МПБ після їх культивування під впливом струму низької інтенсивності: 1 - завис культур досліджуваних мікроорганізмів у МПБ, 2 - електроди (донор і акцептор електронів), 3 - вимірювальний пристрій.

Методика вивчення впливу біогальванічного струму на чутливість до антибіотиків планктонних форм збудників інфекційних ускладнень.

Додатково проводили дослідження зміни чутливості неферментуючих мікроорганізмів, що піддавались впливу мікроамперного струму, з кожної серії пробірок до антибіотиків цефтазидину та цефепіму вищеописаним методом серійних розведень. Для цього готували стандартизовану бактеріальну суспензію з концентрацією $4,0 \times 10^8$ КУО/мл, що відповідала 0,5 одиниці за шкалою McFarland. Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) та мінімальні бактерицидні концентрації (МБЦК) визначали методом серійних розведень відповідно до рекомендацій EUCAST, як для контрольних зразків без впливу фізичного чинника, так і після його застосування.

Методика вивчення впливу біогальванічного струму на біоплівкоутворення полірезистентних клінічних штамів збудників інфекційних ускладнень.

У дослідженні використовували клінічні полірезистентні штами умовно-патогенних мікроорганізмів *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa*, з підтвердженим статусом множинної лікарської стійкості. Усі досліджувані штами (початкова концентрація клітин становила приблизно $1,6 \times 10^9$ КУО/мл) протягом 48 год інкубували в ізотонічному розчині натрію хлориду та МПБ під впливом струму низької інтенсивності, що генерувався без зовнішнього джерела живлення. Після експозиції оцінювали біоплівкоутворюючі властивості мікроорганізмів і порівнювали їх з контрольною групою, де бактерії перебували у фізіологічному розчині та МПБ без дії біогальванічного струму протягом 24 год. Сила струму у фізіологічному розчині становила 46–50 мкА, а в МПБ – 54–60 мкА при напрузі 0,02–0,04 В. Контрольні зразки містили суспензії бактерій, на які не впливали мікроструми.

Для оцінки здатності до утворення біоплівок, зависи штамів бактерій після експозиції мікроамперного струму в ізотонічному розчині центрифугували при 3000 об/хв протягом 30 хв, після чого готували стандартизовану суспензію у МПБ з концентрацією $1,5 \times 10^8$ КУО/мл (що

відповідала 0,5 за шкалою McFarland). Біоплівкоутворення визначали за методом Крістенсена (описано вище): мікроорганізми культивували в 96-лункових планшетах (USA Scientific, Inc), після чого оптичну густину (ОГ) барвника, екстрагованого з фіксованих біоплівок етанолом, вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі 620 нм (STAT FAX®4300, Нідерланди) [212, 213].

2.11. Методика вивчення впливу бактеріофагів на штам *Pseudomonas aeruginosa*.

Методика вивчення впливу бактеріофагів на штам *P. aeruginosa* у планктонній формі (на концентрацію мікробних тіл). Визначали чутливість ізольованих штамів *P. aeruginosa* до лікарського засобу «Піофаг бактеріофаг полівалентний» згідно спрощеної оригінальної методики з вирахуванням індексу чутливості виділеної культури до бактеріофагу. Із культур клінічних штамів *P. aeruginosa*, вирощених на ТСА протягом 18-20 год при температурі $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, готували суспензію бактерій в концентрації $1,5\times 10^8$ КУО/мл, що відповідала 0,5 од за МакФарландом в ізотонічному стерильному розчині натрію хлориду.

Мутність суспензії доводили до необхідної концентрації на денситометрі Densi-La-Meter. Для дослідження по 200 мкл готової бактеріальної суспензії вносили у стерильні пластмасові пробірки діаметром 16 мм, які містили 2 мл стерильного м'ясо-пептонного бульйону (МПБ). Пробірки інкубували в термостаті протягом 2 год для досягнення логарифмічної фази росту, потім вносили 200 мкл фагового коктейлю Піофаг в дослідну пробірку. Водночас в контрольну пробірку вносили 200 мкл стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію.

Дослід супроводжували контролем середовища (2 мл МПБ), який інкубували одночасно з контролем росту і дослідною пробіркою протягом 18 год при температурі $36\pm 1^{\circ}\text{C}$. Після інкубації вимірювали густину суспензії в дослідній культурі, культивованій в присутності 10^4 фагових часток з

врахуванням розведення (D_f); контрольної культури (D_k) і поживного середовища (D_c) в одиницях за МакФарландом. Оцінку чутливості клінічних ізолятів до біопрепарату Піофаг проводили після вирахування індексу чутливості до бактеріофагу (I_s) за формулою:

$$I_s = (D_k - D_f)/(D_k - D_c), \text{ де}$$

D_k - густина бактеріальної суспензії в контрольній пробірці, в Од за МакФарландом;

D_f - густина бактеріальної суспензії в середовищі, що містив бактеріофаг, в Од за МакФарландом;

D_c - густина стерильного поживного середовища, в Од за МакФарландом.

Даний показник, як демонструє формула, дозволяв оцінити, яка частка бактеріальної суспензії руйнувалась бактеріофагом після 18 год культивування в порівнянні з контролем. На підставі величини індексу чутливості дослідні клінічні ізоляти *P. aeruginosa* розподіляли на групи:

- 1) високо чутливі- $0,8 \leq I_s \leq 0,99$;
- 2) чутливі - $0,5 \leq I_s \leq 0,79$;
- 3) помірно-стійкі - $0,3 \leq I_s \leq 0,49$
- 4) стійкі $0,01 \leq I_s \leq 0,29$.

Методика вивчення впливу бактеріофагів на плівкоутворення штамів *P. aeruginosa* (на незрілу біоплівку). Вивчення біологічної ефективності бактеріофагів щодо плівкових форм мікроорганізмів проводили за допомогою спектрофотометричного методу згідно стандартної методики, запропонованої Kovacs C. J. та ін. (2024), з деякими модифікаціями [216].

Для визначення впливу бактеріофагів на плівкоутворення добові культури клінічних штамів псевдомонад суспендували в стерильному ізотонічному розчині, доводили концентрацію бактерій у суспензії до $1,5 \times 10^8$ КУО/мл, що відповідала 0,5 Од за МакФарландом, контролюючи густину на

денситометрі. Виготовлену суспензію у кількості 1 мл додавали до 9 мл стерильного трипсин-соєвого бульйону (ТСБ), ретельно перемішували.

Експеримент виконували в контрольних і дослідних планшетах паралельно: виготовлену бактеріальну суспензію у поживному середовищі вносили по 200 мкл у лунки полістеролового планшету (дослідні лунки). Для кожного із штамів засівали таким чином два ряди по 8 лунок (16 повторів); контрольний ряд інокулювали поживним середовищем без мікроорганізмів (негативний контроль). Контрольні планшети для виміру інтенсивності плівкоутворення відібраних для дослідження штамів (позитивний контроль) одразу поміщали в термостат для інкубації на 26 год. Дослідні планшети інкубували в термостаті при температурі $36,5 \pm 1^\circ\text{C}$ впродовж 2 год, а потім в кожен з дослідних лунок з мікроорганізмами вносили по 20 мкл фагового біопрепарату і інкубували у вологій камері при температурі $36,5 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 24 год. Таким чином, загальний час інкубації становив 26 год, з яких фаг діяв на бактерії протягом 24 год в дослідних лунках.

Після інкубації лунки і дослідного, і контрольного планшету тричі відмивали дистильованою водою, планшети підсушували у термостаті протягом 15 хв. Фіксацію утворених плівок здійснювали 96° етиловим спиртом, який вносили у лунки на 15 хв. Після фіксації спирт видаляли із лунок і фарбували утворені бактеріальні плівки 1 % розчином кристалічного фіолетового шляхом внесення фарби в кожен з дослідних і контрольних лунок (експозиція 15 хв). Після експозиції фарбу виливали, а лунки ретельно промивали дистильованою водою, висушували впродовж 6 год в термостаті.

Для елюції фарби з бактеріальної плівки на останньому етапі дослідів в кожен лунку вносили по 200 мкл 96° етилового спирту і проводили виміри оптичної густини (OD) на аналізаторі GBGChroMate 4300 (AwarenessTechnology, Inc., USA) при довжині хвилі 630 нм. Отримані середні результати оптичної густини ($M \pm s$) в дослідних лунках (вплив бактеріофагу на плівкоутворення), в контрольних позитивних лунках (контроль плівкоутворення без дії фагу) і контрольних негативних лунках (відсутність

мікроорганізмів) порівнювали для виявлення спроможності бактеріофагу впливати на процес плівкоутворення. Відхилення в показниках оптичної густини в дослідних в порівнянні з відповідними значеннями в контрольних лунках (позитивний і негативний контроль) виражали у відсотках.

Для валідації результатів досліду, які виконувались в різних планшетах також використовували визначення показника плівкоутворення в дослідних лунках і лунках з позитивним контролем в порівнянні з негативним контролем. Для цього вираховували пороговий критерій плівкоутворення, який дорівнював сумі середнього значення оптичної густини в негативному контролі (OD_k) і потрібного стандартного відхилення від середнього значення ($3 \times Sdk$). Коефіцієнт плівкоутворення підраховували за формулою:

$$R_n = OD_n / OD_k + 3 \times Sdk, \text{ де}$$

OD_n - середня оптична густина в дослідному ряду чи в ряду з позитивним контролем;

OD_k - середня оптична густина в ряду з негативним контролем;

Sdk - стандартне відхилення від середнього значення показника оптичної густини в негативному контролі [217].

Методика вивчення впливу бактеріофагів на зрілу біоплівку штамів *P. aeruginosa*. Дослідження дії фагового біопрепарату Піофаг на зрілі плівки, утворені клінічними штамами *P. aeruginosa*, здійснювали за допомогою спектрофотометричного дослідження за методикою, наведеною вище, однак з певними відмінностями. Для утворення біоплівки в дослідних планшетах (1) проводили інкубацію бактеріальних суспензій в ТСБ, які вносили по 200 мкл в кожен лунку дослідних рядів двох полістеролових планшетів (по 2 ряди на кожен з дослідних штамів), протягом 30 год при температурі $36,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Два рядки в кожному з планшетів інокулювали стерильним поживним середовищем (негативний контроль).

Після утворення плівки через 30 год інкубації в першому планшеті вміст лунок видаляли, тричі промивали стерильною дистильованою водою, і

вносили поживне середовище з препаратом Піофаг (співвідношення 1:10) в два ряди дослідних лунок. Лунки негативного контролю також відмивали, але заповнювали стерильним поживним середовищем. Паралельно для визначення інтенсивності плівкоутворення відібраних штамів псевдомонад (позитивний контроль 1) здійснювали внесення бактеріальної суспензії в поживному середовищі аналогічно до дослідного планшету, однак через 30 год дослід зупиняли, тричі відмивали лунки, фіксували плівки і проводили їх фарбування з наступною елюцією фарби, як описано вище і вимірювали оптичну густину (2).

Ще один планшет (позитивний контроль 2) засівали бактеріальними суспензіями, інкубували в термостаті протягом 30 год, відмивали лунки аналогічно до дослідного планшету і заповнювали поживним середовищем без бактеріофагу (3). Надалі дослідний (1) і контрольний планшет (позитивний контроль 2) планшети витримували в термостаті протягом ще 24 год, промивали, підсушували, фарбували попередньо зафіксовану біоплівку і, після вимивання фарби 96° етанолом, вимірювали оптичну густину OD) на аналізаторі GBGChroMate 4300 (AwarenessTechnology, Inc., USA) при довжині хвилі 630 нм. Вираховували середні значення OD ($M \pm s$) в дослідних лунках, в лунках з позитивним контролем 1 і позитивним контролем 2, контрольних негативних лунках.

Показники оптичної густини в позитивному контролі 1 демонстрували стан біоплівки через 30 год інкубації на момент внесення бактеріофагу в лунки, в той час як показники оптичної густини позитивного контролю 2 свідчили про стан біоплівки на момент закінчення експерименту (через 54 год). Обидва контролі використовувались для порівняння з даними оптичної густини в дослідних лунках для визначення ефекту впливу фагового коктейлю в біопрепараті піофаг на утворену біоплівку. Оцінку впливу бактеріофагу на утворену біоплівку визначали, вираховуючи середні значення оптичної густини в дослідних рядах, рядах позитивного контролю 1 і 2, негативного контролю. Надалі визначали коефіцієнт плівкоутворення в дослідних і

позитивних контролях для кожного із штамів, як зазначено вище, з врахуванням середніх значень оптичної густини негативного контролю.

2.12. Методика вивчення впливу антисептичних засобів на літичну дію бактеріофагів та вивчення синергічного згубного впливу поверхнево-активних антисептиків і літичних бактеріофагів щодо штамів *P. aeruginosa*

Для визначення можливого впливу антисептичних засобів на літичну дію бактеріальних вірусів, які входили до вмісту полівалентного фагового препарату Піофаг, додавали препарат 1 мл біопрепарату Піофаг до 1 мл розчину антисептика в певній концентрації (1000 мкг/мл, 500 мкг/мл, 250 мкг/мл, 125 мкг/мл, 62,5 мкг/мл, 31,3 мкг/мл, 15,6 мкг/мл), витримували 5 хв при кімнатній температурі. В даній суміші концентрація фагових часток становила $0,5 \times 10^5$, а концентрація антисептика в 2 рази менше за вихідну. Паралельно готували контрольну суміш, в якій замість фагового коктейлю використовували стерильну воду очищену. Надалі 0,5 мл суміші фагу і антисептика в певній концентрації додавали до 2 мл ТСБ, які інокулювали 0,2 мл суспензії добової культури високочутливого штаму *P. aeruginosa* (індекс чутливості (Is) перевищував 0,95) в концентрації $1,5 \times 10^8$ КУО/мл і інкубували в термостаті протягом 18 год.

Контрольне дослідження виконували аналогічно з розчином антисептика. По закінченню інкубації враховували результати для визначення МІК антисептика в контролі та досліді. Дослід здійснювали в трьох повторах і супроводжували контролями росту культури (0,2 мл бактеріального завису додавали до 2,5 мл поживного середовища), контролем поживного середовища, контролем дії фагу. Контроль дії фагу виконували за методикою визначення чутливості планктонних форм бактерій до піофагу, яка наведена вище. Висновок про відсутність пригнічуючого впливу антисептика на бактеріофаги робили, якщо МІК в контрольному дослідженні з певною концентрацією антисептика (без додавання фагу) перевищувала відповідний

показник дії суміші фагу і антисептику в 4 рази та більше, що свідчило про збереження літичної дії фагу після контакту з антисептиком.

Вивчення чутливості клінічних ізолятів синьогнійної палички до антисептиків здійснювали методом серійних розведень в рідкому поживному середовищі згідно загальноприйнятої методики. Порівняльну оцінку антипсевдомонадної активності антисептиків виконували на підставі отриманих значень мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) і мінімальної бактерицидної концентрації (МЦК) [210].

Для виявлення синергічного згубного впливу поверхнево-активних антисептиків і літичних бактеріофагів на клінічні ізоляти готували рідкі поживні середовища, які містили суббактеріостатичні (25% від МІК) концентрації антисептика для дослідного штаму і повторно досліджували літичну дію фагу згідно оригінальної методики наведеної вище з визначенням індексу літичної дії фагу. Дослід супроводжувався декількома контролями: контроль середовища, контроль росту культури в присутності суббактеріостатичної концентрації антисептика (субМІК, мкг/мл), контроль росту мікробної популяції в присутності фагу в інтактному середовищі. Отримані дані брали до уваги, якщо густина контролю культури в присутності субМІК антисептиків знаходився в межах $\pm 15\%$ від густини контролю без додавання антисептика. Отриманні значення I_s порівнювали з вихідними даними індексу чутливості для кожного штаму з метою визначення впливу неактивних концентрацій антисептика на літичну дію фага.

2.13. Методика статистичної обробки результатів

Статистична обробка результатів здійснювали з використанням програми Microsoft Excel 2010 за допомогою методів варіаційної статистики. Визначали середнє значення отриманих результатів параметричних даних, стандартне квадратичне відхилення ($M \pm s$), а також визначали частоту непараметричних ознак, яка зустрічається в дослідній групі. Окремі вибірки перевіряли на нормальність розподілу ($F_{(x)}$), визначення достовірності

результатів різних груп здійснювали за допомогою функцій FTEST, TTEST і визначення критерію Стюдента. Порівняння результатів, отриманих для декількох вибірок проводили з врахуванням поправки Бонфероні в залежності від кількості вибірок для порівняння. Достовірно відмінними результатами вважали при рівні значущості $p \leq 0,05$ з врахуванням поправки, високу достовірність різниці отриманих даних для різних груп встановлювали на підставі отриманого рівня значущості $p \leq 0,01$ (10).

Для оцінки взаємозв'язку між кількістю виявлених генів антибіотикорезистентності (культур клінічних штамів, визначених за допомогою секвенування нового покоління) та кількістю антибіотиків, до яких клінічні ізоляти мікроорганізмів виявили фенотипову стійкість (відповідно до критеріїв EUCAST/CLSI), використовували коефіцієнт кореляції Пірсона (r).

Перед проведенням кореляційного аналізу перевіряли відповідність обох змінних (кількість генів та кількість активних антибіотиків) нормальному розподілу за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. У разі підтвердження нормальності, розрахунок проводили за формулою Пірсона:

$$r = \Sigma[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})] / \sqrt{[\Sigma(x_i - \bar{x})^2 * \Sigma(y_i - \bar{y})^2]}, \quad \text{де:}$$

- x_i – кількість генів резистентності у штамі,
- y_i – кількість антибіотиків, до яких штам проявляє резистентність,
- $\bar{x}$ та $\bar{y}$ – середні значення відповідно по x та y .

Кореляцію вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Інтерпретація значень коефіцієнта Пірсона:

- 0–0,3 — слабкий зв'язок;
- 0,3–0,7 — помірний зв'язок;
- 0,7–1,0 — сильний зв'язок.

Для візуалізації результатів будували графіки розсіювання [218].

РОЗДІЛ 3

ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕНОТИПОВИХ ОЗНАК ТА ГЕНЕТИЧНИХ
ДЕТЕРМІНАНТ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ПРІОРИТЕТНИХ
УМОВНО-ПАТОГЕННИХ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ

В даному розділі наведено результати дослідження чутливості умовно-патогенних мікроорганізмів до антибіотиків, характеристику основних фенотипових резистотипів досліджуваних клінічних штамів провідних збудників інфекційних ускладнень та результати аналізу взаємозв'язків досліджуваної вибірки бактерій з їх генотиповими детермінантами антибіотикорезистентності. Усі клінічні штами досліджуваних видів пріоритетних збудників інфекційних ускладнень підлягали попередньому вивченню їх чутливості до ХТЗ для формування цілісного уявлення про характеристику фенотипових проявів їх антибіотикорезистентності та визначення взаємозв'язку з наявністю у них відповідних генотипових детермінант антибіотикорезистентності [219-221].

**3.1. Дослідження чутливості до хіміотерапевтичних засобів
клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, які спричиняють
інфекційні ускладнення**

В результаті дослідження встановлено, що ізоляти *Acinetobacter* spp., які виділяли за умов інфекційних ускладнень, володіли високим рівнем антимікробної резистентності до основних фармакологічних груп антибіотиків (рис. 3.1) [221-223].

Відповідно до чинних рекомендацій EUCAST недоцільно тестувати ізоляти даного роду до пеніцилінів, враховуючи їх майже тотальну втрату чутливості до цієї групи препаратів. Навіть захищені форми пеніцилінів не проявляли високої ефективності щодо псевдомонад. Нами не було виявлено жодного клінічного штаму *A. baumannii*, який зберігав чутливість до

піперациліну/тазобактаму, а частка чутливих ацінетобактерій до ампіциліну/сульбактаму складала 5,3 %.

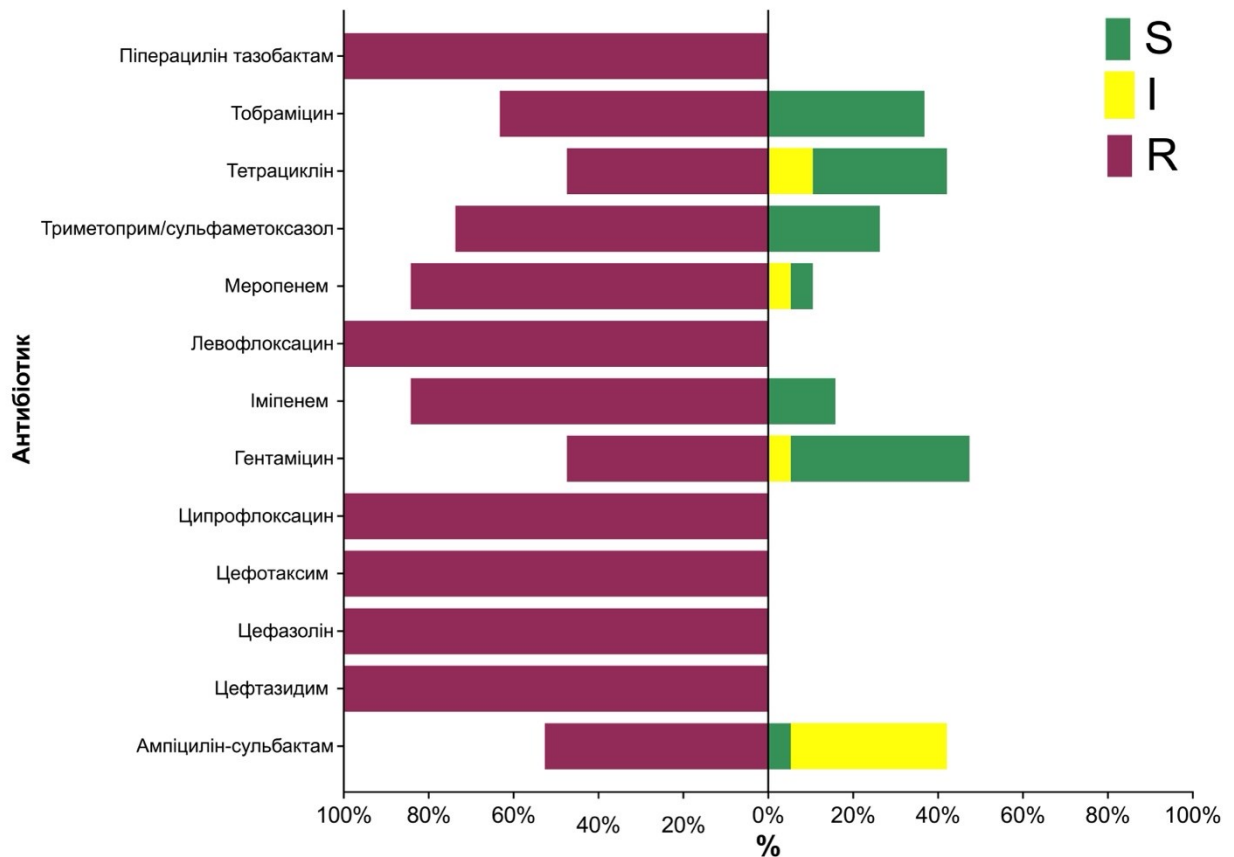


Рис. 3.1 Чутливість клінічних штамів *A. baumannii* (n=19) до антибіотиків; R – резистентні, I – чутливі за підвищеної експозиції антибіотика, S – чутливі.

Подібну тенденцію прослідковували в результаті визначення чутливості *Acinetobacter* spp. до цефалоспоринів. Рівень стійкості ізолятів цього роду до цефтазидиму, цефазоліну та цефотаксиму сягав 100,0 %, підтверджуючи тотальну резистентність до цефалоспоринів різних (I-III) поколінь. Поряд з цим, клінічні штами *A. baumannii* виявилися у 100,0% випадків стійкими до фторхінолонів II-III покоління (ципрофлоксацин та левофлоксацин).

Встановлено, що збудники інфекційних ускладнень роду *Acinetobacter* проявляли фенотипові ознаки резистентності до гентаміцину та тобраміцину з частотою 47,4 % та 63,2 % відповідно. Поряд з цим, 36,8 % та 47,4 % клінічних

ізолятів *A. baumannii* були чутливими до аміноглікозидів III та II покоління відповідно, при чому 5,3 % з них були віднесені до категорії чутливих за підвищеної експозиції гентаміцину. В результаті дослідження виявлено рівень резистентності ізолятів *A. baumannii* до карбапенемів в межах 84,2 %. При цьому, 15,8 % досліджуваних штамів цього роду зберігали чутливість до іміпенему та лише 10,5 % - до меропенему. Варто зауважити, що ще 5,3 % ацінетобактерій залишалися стійкими до меропенему за підвищеної його експозиції.

Встановлено високий рівень резистентності клінічних ізолятів *A. baumannii* до триметропиму/сульфаметоксазолу, частка яких складала 73,7 % на противагу 26,3 % штамів, що зберігали чутливість до даного антибіотика. Частки чутливих та резистентних штамів ацінетобактерій до тетрацикліну розділилися майже порівну: 42,1 % та 47,4 % відповідно, при чому 10,5 % досліджуваних бактерій роду виявилися чутливими за підвищеної експозиції тетрацикліну.

В ході дослідження виявлено високий рівень антимікробної резистентності збудників інфекційних ускладнень роду *Pseudomonas* (рис. 3.2) [219-221]. Враховуючи той факт, що на сьогодні EUCAST рекомендує серед пеніцилінів визначати чутливість псевдомонад виключно до піперациліну, в результаті дослідження встановлено розвиток резистентності до нього у 92,6 % клінічних ізолятів *P. aeruginosa*. Подібний результат був зафіксований при визначенні чутливості *Pseudomonas* spp. до цефалоспоринів. Усі (100,0 %) досліджувані клінічні ізоляти демонстрували фенотипові ознаки стійкості до цефазоліну, 92,6 % – до цефтазидиму та цефепіму. Варто зауважити, що захищений цефалоспорин цефтазидим/авібактам проявляв кращу ефективність щодо *P. aeruginosa*, частка резистентних до нього штамів складала 74,1 %, в той час як частка чутливих – 25,9 %, що було найвищим результатом, зафіксованим в ході дослідження чутливості *Pseudomonas* spp.

Карбапенеми демонстрували ефективність, подібну з іншими β-лактамами. Так, частка клінічних штамів *P. aeruginosa* резистентних до

іміпенему складала 100,0 %, до меропенему – 74,1 %, при тому, що абсолютно чутливими та чутливими за підвищеної експозиції останнього виявилось лише 7,4 % та 18,5 % ізолятів відповідно.

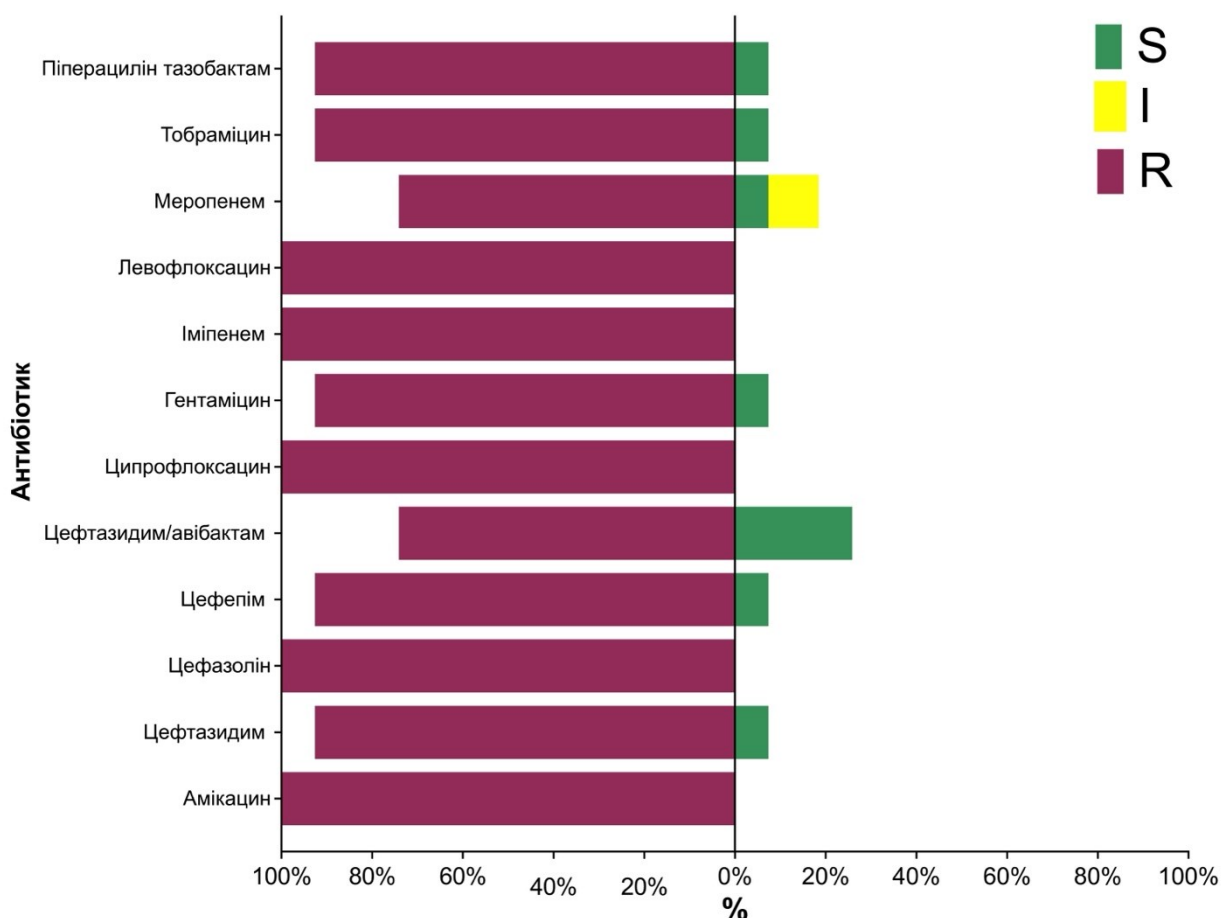


Рис. 3.2 Чутливість клінічних штамів *P. aeruginosa* (n=54) до антибіотиків; R – резистентні, I – чутливі за підвищеної експозиції антибіотика, S – чутливі.

Збудники інфекційних ускладнень роду *Pseudomonas* демонстрували повну резистентність до фторхінолонів, оскільки в ході дослідження не було виявлено жодного клінічного штаму чутливого до ципрофлоксацину та левофлоксацину. Більше того, досліджувані ізоляти *P. aeruginosa* проявляли високу стійкість до аміноглікозидів. В результаті дослідження виявлено 100,0 % резистентність псевдомонад до амікацину, та 92,6 % - до гентаміцину та тобраміцину.

Встановлено, що досліджувані збудники інфекційних ускладнень, які належали до роду *Klebsiella*, проявляли фенотипові ознаки майже повної резистентності до пеніцилінів та цефалоспоринів (рис. 3.3) [219, 223].

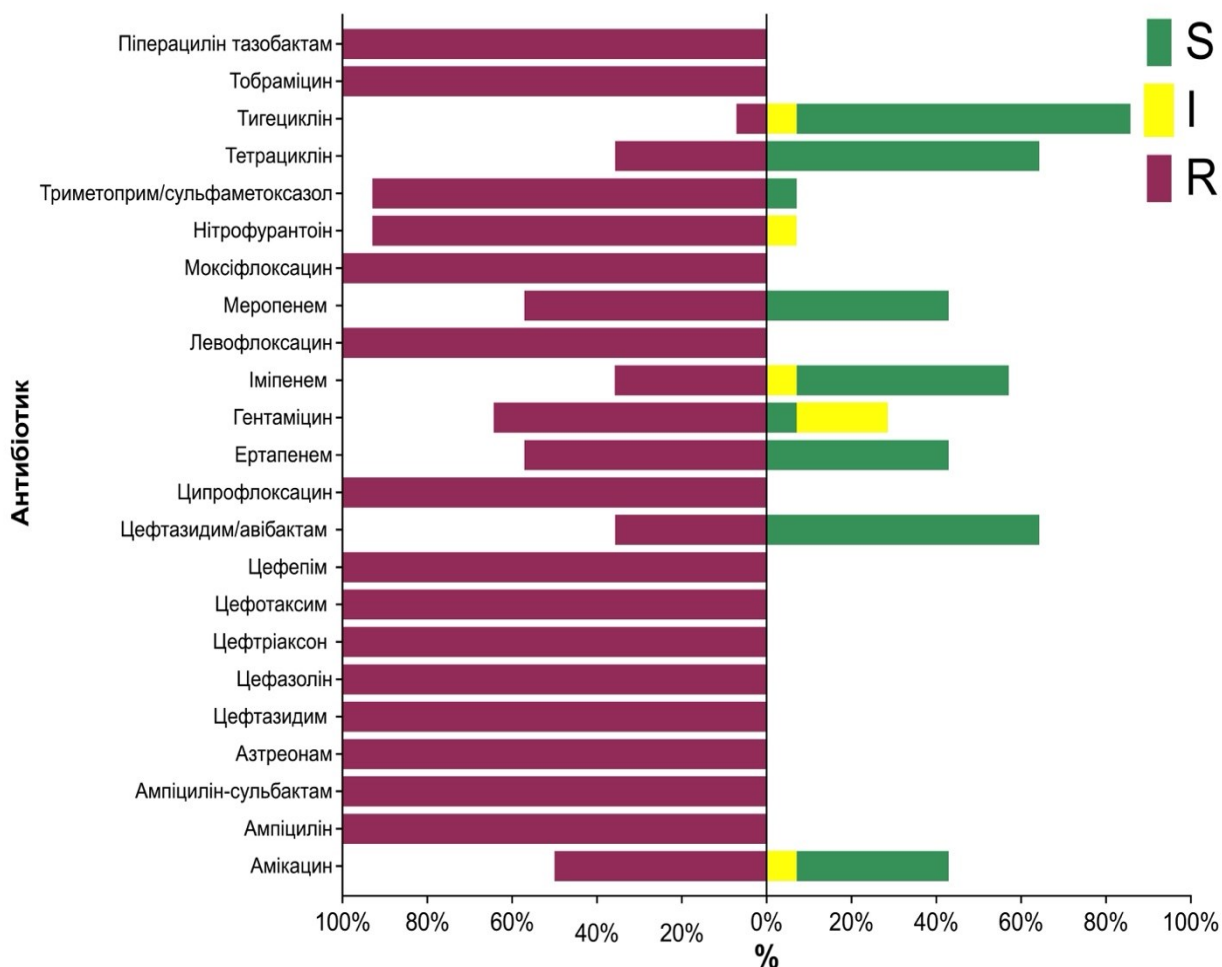


Рис. 3.3 Чутливість клінічних штамів *K. pneumoniae* (n=14) до антибіотиків; R – резистентні, I – чутливі за підвищеної експозиції антибіотика, S – чутливі.

В ході дослідження виявили стійкість до ампіциліну, цефтазидиму, цефазоліну, цефтріаксону, цефотаксиму, цефепіму, а також захищених форм піперациліну та ампіциліну у 100,0 % клінічних штамів *K. pneumoniae*. Варто зауважити, що резистентність досліджуваних ізолятів цього виду до цефтазидиму/авібактаму становила 35,7 % з часткою чутливих штамів 64,3 %, що було найвищим результатом серед чутливості до усіх β -лактамів. Крім того, було виявлено абсолютну стійкість *Klebsiella* spp. до монобактамів та

фторхінолонів, рівень резистентності досліджуваних штамів роду до азтреонаму, ципрофлоксацину, левофлоксацину та моксіфлоксацину сягав 100,0 %.

В результаті дослідження виявлено дещо кращу ефективність карбапенемів, оскільки рівень фенотипової стійкості *Klebsiella* spp. до ертапенему та меропенему встановлено на рівні 57,1 %. Поряд з цим, частка стійких представників цього роду до іміпенему складала 35,8 %, при чому більше половини досліджуваних штамів (57,1 %) зберігали до нього чутливість.

Серед аміноглікозидів найгіршу ефективність щодо *K. pneumoniae* демонстрував тобраміцин з часткою резистентних до нього клінічних штамів 100,0 %. На противагу цьому, рівень стійкості клебсієл до амікацину та гентаміцину складав 50,0 % та 64,3 % відповідно. Проте, враховуючи відсоток ізолятів, що виявилися чутливими за підвищеної експозиції аміноглікозидів, частка чутливих *K. pneumoniae* до амікацину (42,9 %) була вищою порівняно з часткою чутливих штамів до гентаміцину (7,1 %).

Результатами дослідження доведено найвищу ефективність тетрациклінів щодо *K. pneumoniae*. Частки резистентних ізолятів даного виду до тетрацикліну та тигецикліну були найнижчими і знаходилися в межах 35,7 % та 7,1 % відповідно. Майже подібні результати демонстрували ніфурантоїн та триметоприм/сульфаметоксазол, резистентність до яких серед *Klebsiella* spp. складала 92,9 %.

Встановлено повну резистентність досліджуваних клінічних штамів *E. coli* до усіх пеніцилінів та цефалоспоринів, серед яких ампіцилін, ампіцилін/сульбактам, цефтазидим, цефазолін, цефокситин, цефепім, піперацилін/тазобактам. Виключення складав лише цефтазидим/авібактам, до якого проявляли чутливість усі ізоляти кишкової палички, виділені від пацієнтів з інфекційними ускладненнями.

На противагу цьому, клінічні штами *E. coli* у 100,0 % випадків були чутливими до фторхінолонів, ертапенему, амікацину, гентаміцину,

тобраміцину нітрофурантоїну, триметприму/сульфаметоксазолу, тетрацикліну, тигецикліну. Варто зауважити, що усі досліджувані ізоляти кишкової палички були віднесені до чутливих за підвищеної експозиції імipенему та меропенему.

Представники *E. cloacae complex* проявляли фенотипові ознаки повної резистентності до усіх β -лактамних антибіотиків, включаючи захищені форми, фторхінолонів, нітрофурантоїну та тобраміцину. При цьому усі досліджувані ізоляти роду були чутливими до амікацину, гентаміцину, триметприму/сульфаметоксазолу та тетрациклінів.

В результаті дослідження встановлено чутливість клінічних ізолятів *S. aureus* до пеніцилінів як незахищених так і захищених форм майже на одному рівні (рис. 3.4).

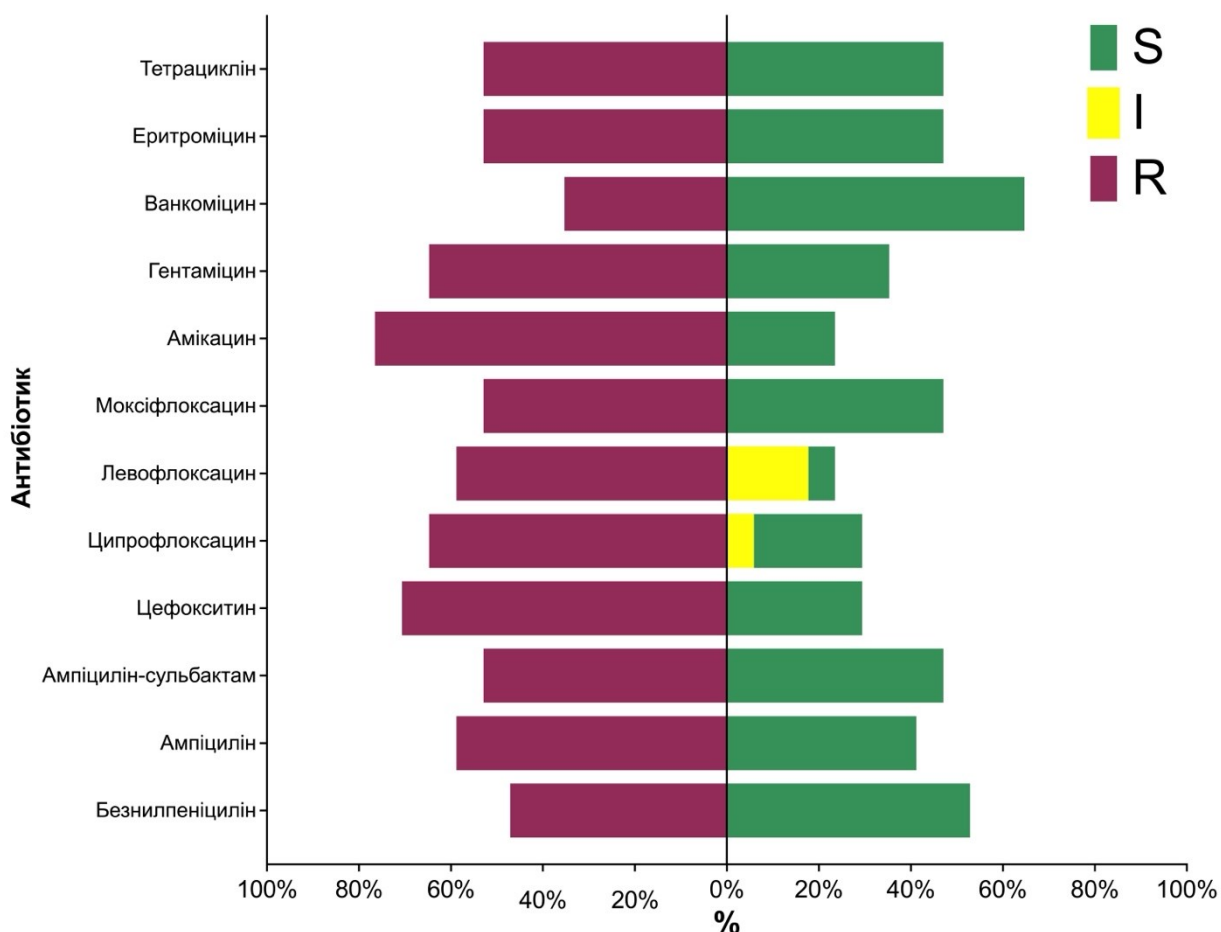


Рис. 3.4 Чутливість клінічних штамів *S. aureus* (n=17) до антибіотиків; R – резистентні, I – чутливі за підвищеної експозиції антибіотика, S – чутливі.

Так, частки резистентних стафілококів до бензилпеніциліну та ампіциліну склали 47,1 % та 58,8 % відповідно, в той час як стійкими до ампіциліну/сульбактему виявилися 52,9 % досліджуваних штамів. Згідно рекомендацій EUCAST чутливість *S. aureus* до усіх цефалоспоринів та карбапенемів визначали за скринінговим тестом з цефокситином, згідно якого 70,6 % досліджуваних ізолятів виду володіли фенотиповими ознаками резистентності до антибіотиків цих груп.

Серед фторхінолонів клінічні штами золотистого стафілокока найчастіше (64,7 %) проявляли стійкість до ципрофлоксацину, при тому, що частка чутливих до нього штамів складала 29,4 %. Їх резистентність до левофлоксацину та моксіфлоксацину була майже на одному рівні: 58,8 % та 52,9 % відповідно. Однак, враховуючи відсутність штамів, що були віднесені до категорії чутливих за підвищеної експозиції моксіфлоксацину, частота виявлення чутливих *S. aureus* до нього була найвищою серед усіх досліджуваних фторхінолонів (47,1 %).

Результатами дослідження доведено високий рівень резистентності клінічних штамів *S. aureus* до аміноглікозидів. Стійкими до амікацину та гентаміцину були 76,5 % та 64,7 % досліджуваних представників даного виду відповідно. Варто зауважити, що найвищу ефективність щодо штамів золотистого стафілококу демонстрував ванкоміцин, частка резистентних збудників до якого становила 35,3 %, що було найнижчим результатом, отриманим в ході дослідження. Комітетом EUCAST зазначено, що за чутливістю до еритроміцину доцільно встановлювати чутливість стафілококів до усіх макролідів. В результаті встановлено, що 52,9 % клінічних ізолятів *S. aureus* проявляли ознаки стійкості до еритроміцину і, відповідно, до усіх антибіотиків даної групи. Подібний результат демонстрував тетрациклін, стійкими до нього виявилось 52,9 % досліджуваних штамів золотистого стафілококу.

3.2. Визначення фенотипових резистотипів клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, збудників інфекційних ускладнень

Враховуючи високий рівень антимікробної резистентності серед збудників інфекційних ускладнень, очевидним став пошук закономірностей фенотипових ознак стійкості серед досліджуваних мікроорганізмів. В результаті аналізу отриманих результатів виявлено два основних фенотипових резистотипи досліджуваної вибірки клінічних штамів *A. baumannii*, що викликали інфекційні ускладнення:

- 1) резистентні до усіх пеніцилінів, цефалоспоринів та фторхінолонів (52,6 %);
- 2) резистентні до усіх цефалоспоринів, фторхінолонів, карбапенемів та аміноглікозидів (47,4 %).

Встановлено, що серед збудників інфекційних ускладнень *P. aeruginosa*, зустрічався один домінуючий фенотиповий резистотип, для якого характерним була стійкість до усіх антибіотиків (74,1 %).

Враховуючи дещо вищу чутливість клінічних ізолятів *K. pneumoniae* до антибіотиків, порівняно з неферментуючими грамнегативними бактеріями, виявлено більшу гетерогенність фенотипових ознак резистентності клібсіел з переважанням двох основних резистотипів:

- 1) резистентні до усіх пеніцилінів, незахищених цефалоспоринів, фторхінолонів та аміноглікозидів (50,0 %);
- 2) резистентні до усіх антибіотиків за виключенням тетрациклінів (35,7 %).

Не зважаючи на невелику кількість досліджуваних клінічних штамів *E. coli* та *E. cloacae complex*, в ході дослідження чітко прослідковувалися спільні фенотипові ознаки резистентності, що дало можливість визначити по одному домінантному резистотипу для кожного виду:

- 1) резистентні до усіх пеніцилінів та незахищених цефалоспоринів *E. coli* (100,0 %);

2) резистентності до усіх β -лактамних антибіотиків, фторхінолонів, нітрофурантоїну та тобраміцину *E. cloacae complex*.

В результаті аналізу закономірностей чутливості клінічних штамів *S. aureus* до антибіотиків встановлено два домінуючих фенотипових резистотипи:

1) резистентні до усіх β -лактамних антибіотиків, фторхінолонів та аміноглікозидів (41,2 %);

2) резистентні до усіх β -лактамних антибіотиків, аміноглікозидів та макролідів (23,5 %)

3.3. Характеристика генотипових детермінант антибіотикорезистентності досліджуваних клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, збудників інфекційних ускладнень

В результаті аналізу генотипів досліджуваних штамів мікроорганізмів встановлено, що представники *Acinetobacter* spp. в своєму геномі містили від 9 до 19 генів ($12,5 \pm 3,7$), які відповідали за розвиток антимікробної резистентності. Усі досліджувані ізоляти роду (100,0 %) володіли генами *abaF* та *ant(3)-IIa*, що відповідали за стійкість до фосфоміцину та аміноглікозидів відповідно. До того ж аміноглікозидну генотипову резистентність обумовлювали виявлені у 84,2 % *aph(3)-VIa* та у 47,4 % *armA* гени.

Найчастіше в складі резистому клінічних штамів *A. baumannii* виявляли гени резистентності до хлорамфеніколу – *catA1* (84,2 %) та β -лактамів: *blaOXA72* (84,2 %), *blaOXA23* (42,1 %), *blaADC-152* (42,1 %). Для 73,7 % ізолятів даного роду була характерною наявність генів стійкості до сульфаніламідів (*sul1*, *sul2*), в той час як набір генів, що обумовлювали макролідну резистентність – *mph(E)* та *msr(E)* та стійкість до тетрациклінів (*tet(B)*), зустрічали серед 47,4 % ацінетобактерій.

Варто зауважити, що серед резистомів *Acinetobacter* spp. не виявлено генів резистентності до фторхінолонів, що підтверджувало факт відсутності генних детермінант даного виду стійкості у досліджуваних клінічних ізолятів.

Встановлено достовірний прямий високий кореляційний зв'язок між фенотиповими та генотиповими ознаками резистентності *A. baumannii* (рис. 3.5). Тобто, зі збільшенням кількості генів резистентності ацінетобактерій зростала кількість антибіотиків, до яких досліджувані штами фенотипово виявляли резистентність (r Пірсона = 0,87, $p < 0,0001$).

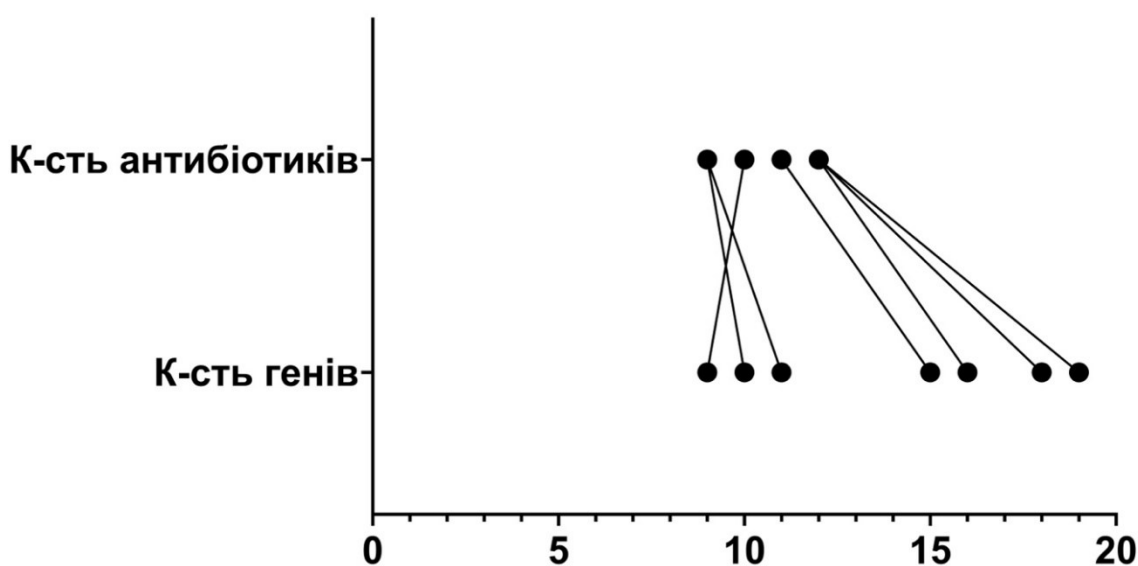


Рис. 3.5. Кореляційний зв'язок між кількістю генів резистентності та кількістю антибіотиків, до яких фенотипово проявляли стійкість *A. baumannii* ($n=19$).

За результатами дослідження представники роду *Pseudomonas* містили в своєму геномі в середньому $14,4 \pm 3,6$ генів резистентності. Найчастіше в складі резистому псевдомонад визначали гени, що відповідали за стійкість до аміноглікозидів: *aph(3)-IIIb* (100,0 %), *ant(2)-Ia* (47,1 %), *aph(3)-Ia* (48,1 %), *aph(6)-Id* (48,1 %) та *aadA11* (37,0 %).

Встановлено, що *P. aeruginosa* часто були носіями генів, які обумовлювали резистентність до β -лактамів. Найпоширенішими серед них були *blaOXA488* (68,5 %), *blaIMP1* (48,1 %), *blaOXA10* (48,1 %), *blaPDC-12*

(48,1 %). Крім того, усі штами даного виду володіли генами резистентності до хлорамфеніколу (*catB7*) та сульфаніламідів (*sul1*). На противагу ізолятам ацінетобактерій, 70,4 % представників роду *Pseudomonas* включали гени резистентності до фторхінолонів (*qnrVC1*, *crpP*) та у 37,0 % випадків – до макролідів (*mph(F)*, *mph(E)*, *mph(C)*).

В результаті кореляційного аналізу встановлено слабку обернену залежність між кількістю генів резистентності та фенотиповими ознаками антимікробної стійкості клінічних штамів *P. aeruginosa* (рис. 3.5). Тобто, імовірно зі збільшенням генів резистентності могла зменшуватися кількість антибіотиків, до яких псевдомонади виявляли стійкість (r Пірсона = -0,16, $p < 0,55$), проте результати не мали достовірної значущості, що вказувало на відсутність залежності між досліджуваними показниками.

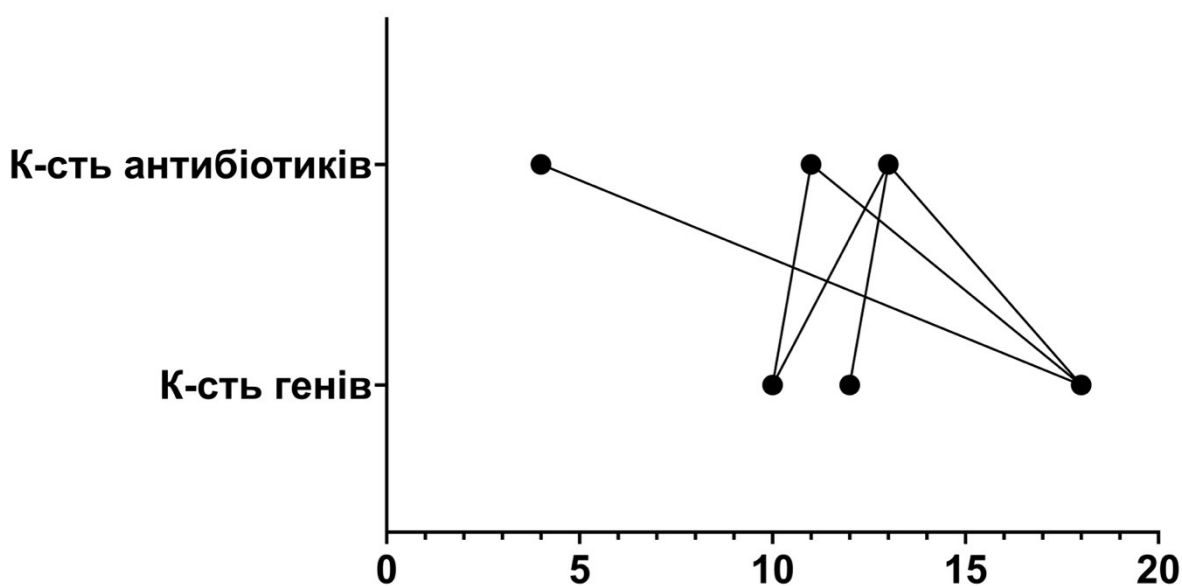


Рис. 3.5 Кореляційний зв'язок між кількістю генів резистентності та кількістю антибіотиків, до яких фенотипово проявляли стійкість *P. aeruginosa* (n=54).

В результаті дослідження виявлено, що клінічні штами *K. pneumoniae* загалом містили найбільшу кількість генів резистентності ($20 \pm 5,0$). Найбільшу кількість серед них складали гени, що забезпечують стійкість до β -лактамних антибіотиків: *blaTEM-1* (100,0 %), *blaSHV-38* (57,1 %), *blaNDM-1* (42,9 %),

blaOXA1 (35,7 %). Аміноглікозидну стійкість обумовлювала наявність великої низки генів, найчисленнішими з яких були *aph(3)-Ia* (57,1 %), *armA* (50,0 %), *aph(3)-VI* (42,9 %). Також, зі 100,0 % частотою виявляли гени стійкості до сульфаніламідів (*sul1*), фосфоміцину (*fosA*), фторхінолонів (*oqxA*).

Встановлено достовірний помірний кореляційний зв'язок між кількістю генів резистентності та фенотиповими ознаками стійкості до антибіотиків клінічних штамів *K. pneumoniae* (рис. 3.6).

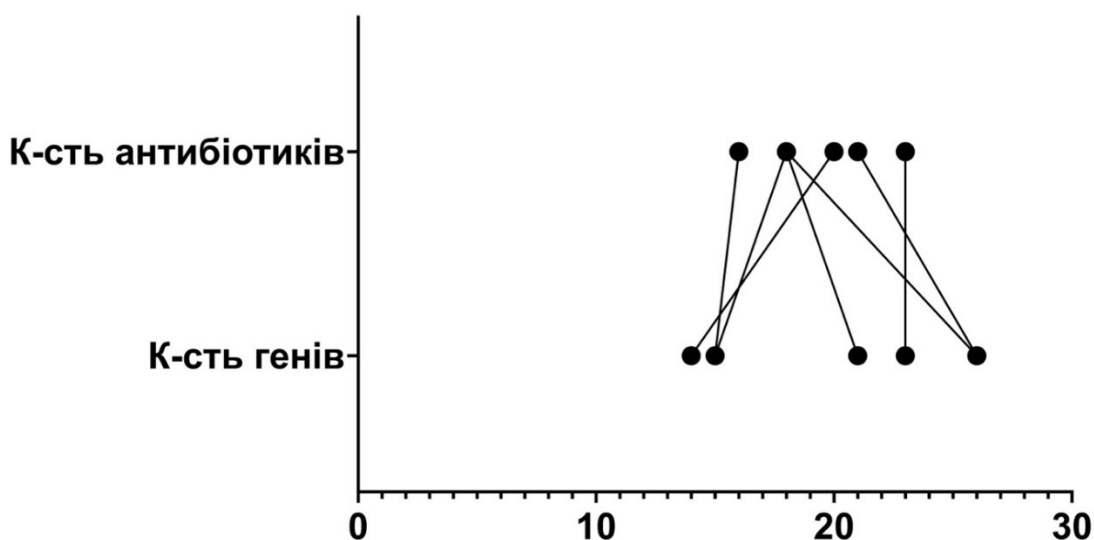


Рис. 3.6 Кореляційний зв'язок між кількістю генів резистентності та кількістю антибіотиків, до яких фенотипово проявляли стійкість *K. pneumoniae* (n=14).

Коефіцієнт кореляції (r Пірсона = 0,61, $p < 0,02$) вказував на те, що зі збільшенням генів стійкості в резистомі клебсієл достовірно збільшувалася кількість антибіотиків, до яких вони фенотипово виявляли ознаки резистентності.

За отриманими нами даними можна стверджувати, що клінічні ізоляти *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae* слід віднести до MDR бактерій, які будуть уникати ефекту емпіричної антибіотикотерапії. Отже, проблема пошуку альтернативних заходів антипсевдомонадної терапії є нагальною потребою сьогодення.

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ СУЧАСНИХ АНТИСЕПТИЧНИХ ЗАСОБІВ НА
КЛІНІЧНІ ШТАМИ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ З
ГЕНЕТИЧНО ДЕТЕРМІНОВАНИМИ МЕХАНІЗМАМИ
ПОЛІАНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

Отримані результати вивчення антибіотикочутливості, що характеризують високий рівень фенотипової стійкості та наявність кореляційного зв'язку з потенційним носійством відповідних генетичних детермінант резистентності до хіміотерапевтичних препаратів серед клінічних штамів *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, які мають вагомe клінічне значення, обґрунтовують необхідність пошуку дієвих антимікробних засобів з відмінним від антибіотиків механізмом дії.

Одним із шляхів вирішення проблеми антибіотикорезистентності є комбінований вплив локальних антисептичних препаратів і системних антибіотиків на збудників гнійно-запальних ускладнень. Катіонні поверхнево-активні речовини мають достатньо високу активність щодо грампозитивних та грамнегативних, в т.ч. неферментуючих, бактерій. Так, у даному розділі наведено результати дослідження антимікробної ефективності сучасних поверхневоактивних антисептичних засобів як альтернативних щодо клінічних полірезистентних штамів зазначених видів мікроорганізмів, які асоціюються з інфекційними ускладненнями та визнані пріоритетними в загальній структурі відомих збудників.

4.1. Вивчення чутливості клінічних штамів *A. baumannii* до антисептиків

В результаті визначення чутливості до антисептиків неферментуючих грамнегативних бактерій *A. baumannii*, виявлено найкращі властивості пригнічення росту культур клінічних штамів у декаметоксину, хлоргексидину та октенідину. МІК відповідно становили $15,61 \pm 1,43$ мкг/мл, $21,27 \pm 1,66$

мкг/мл та $18,64 \pm 2,40$ мкг/мл. Інгібуюча здатність декаметоксину достовірно перевищувала таку хлоргексидину у 1,36 рази ($p \leq 0,05$), полігексаніду – у 3,0 ($p \leq 0,001$), бензалконію хлориду – у 5,71 рази ($p \leq 0,001$). Щодо октенідину не було виявлено достовірної різниці значень ($p > 0,05$) (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Чутливість клінічних ізолятів *A. baumannii* до антисептиків (n=19)

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика ($M \pm s$, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	$15,61 \pm 1,43^{2,4,5}$	$41,22 \pm 5,39^{2,3,4,5}$
Бензалконій хлорид	$89,06 \pm 5,31^{1,2,3,5}$	$160,94 \pm 19,75^{1,2,3,5}$
Хлоргексидину біглюконат	$21,27 \pm 1,66^{1,4,5}$	$68,36 \pm 8,42^{1,4,5}$
Октенідину дигідрохлорид	$18,64 \pm 2,40^{4,5}$	$84,38 \pm 6,15^{1,4}$
Полігексанід	$46,87 \pm 2,85^4$	$92,97 \pm 5,19^{1,2,4}$

Примітка. Статистично достовірні відмінності значень у порівнянні з відповідним значенням для декаметоксину¹; хлоргексидину²; октенідину³; бензалконію хлориду⁴; полігексаніду⁵ ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$).

Серед досліджуваних антисептиків, концентрації декаметоксину були найменшими (в середньому $36,24 \pm 3,90$ мкг/мл) для забезпечення бактерицидного ефекту. Встановлено, що МЦК декаметоксину були достовірно менші МЦК хлоргексидину у 1,66 рази ($p \leq 0,01$), октенідину – у 1,97 рази ($p \leq 0,001$), полігексаніду – у 2,26 рази ($p \leq 0,001$), бензалконію хлориду – 3,9 рази ($p \leq 0,001$). Хлоргексидин проявляв цидну дію за концентрацій в середньому $68,36 \pm 8,42$ мкг/мл, що достовірно були меншими, ніж для полігексаніду та бензалконію хлориду у 1,36 ($p \leq 0,0$) та 3,9 рази ($p \leq$

0,001) відповідно, але достовірно не відрізнялись від концентрацій октенідину ($p>0,05$).

Показники чутливості референтного штаму *A. baumannii* ATCC 15151 до антисептиків, засвідчили відмінності у порівнянні з чутливістю клінічних штамів даного виду бактерій, що характеризувалось необхідністю застосування помітно вищих концентрацій антисептиків для забезпечення бактеріостатичного та бактерицидного ефекту в 3,12-7,63 раза ($p\leq 0,001$). Так, середні МІК щодо референтного штаму складали 6-11 мкг/мл, а МЦК – 13-22 мкг/мл (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Чутливість референтного штаму *A. baumannii* ATCC 15151 до антисептиків

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика ($M\pm s$, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	6,24 $\pm$ 0,64	12,48 $\pm$ 1,27
Бензалконій хлорид	10,92 $\pm$ 1,27	21,09 $\pm$ 2,86
Хлоргексидину біглюконат	10,92 $\pm$ 1,27	21,88 $\pm$ 2,55
Октенідину дигідрохлорид	6,24 $\pm$ 0,64	13,26 $\pm$ 1,19
Полігексанід	6,24 $\pm$ 0,64	21,86 $\pm$ 3,83

4.2. Дослідження чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa* до антисептиків

У дослідженні визначена чутливість клінічних штамів *P. aeruginosa* до п'яти поверхнево-активних антисептиків, які широко використовуються для місцевої терапії ранових інфекцій: похідних четвертинного азоту

(декаметоксину, бензалконію хлориду), а також октенідину дігідрохлориду, хлоргексидину біглюконату і полігексаніду (табл.4.3).

Таблиця 4.3

Чутливість клінічних ізолятів *P. aeruginosa* до антисептиків (n=54)

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика (M $\pm$ s, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	22,52 $\pm$ 2,83 ^{4,5}	73,74 $\pm$ 15,06 ^{4,5}
Бензалконій хлорид	145,7 $\pm$ 32,1 ^{1,2,3}	418,75 $\pm$ 78,89 ^{1,3}
Хлоргексидину біглюконат	22,5 $\pm$ 2,36 ^{4,5}	72,09 $\pm$ 2,06 ⁵
Октенідину дигідрохлорид	16,4 $\pm$ 2,43 ^{4,5}	102,5 $\pm$ 10,75 ^{4,5}
Полігексанід	65,0 $\pm$ 5,08 ^{1,2,3}	192,5 $\pm$ 27,70 ^{1,2,3}

Примітка. Статистично достовірні відмінності значень в порівнянні з відповідним значенням для декаметоксину ¹; хлоргексидину ²; октенідину ³; бензалконію хлориду ⁴; полігексаніду ⁵ (p $\leq$ 0,01).

Встановлено, що найкращою антипсевдомонадною активністю володіли декаметоксин, хлоргексидину біглюконат, октенідину гідрохлорид, які пригнічували розмноження бактерій за мінімальних концентрацій 22,52 $\pm$ 2,83 мкг/мл, 22,5 $\pm$ 2,36 мкг/мл і 16,4 $\pm$ 2,43 мкг/мл, відповідно. Мінімальні згубні щодо псевдомонад концентрації зазначених антисептиків знаходились в межах від 72,09 $\pm$ 2,06 мкг/мл (МЦК хлоргексидину) до 102,5 $\pm$ 10,75 мкг/мл (МЦК октенідину). Слід зазначити, що достовірної різниці антимікробної дії декаметоксину, хлоргексидину і октенідину щодо псевдомонад нами не встановлено, однак статистично достовірно ці антисептики демонстрували кращу антимікробну активність в порівнянні з полігексанідом і бензалконієм

хлоридом ($p \leq 0,01$). Антисептики декаметоксин, хлоргексидин і октенідін чинили бактеріостатичну дію при концентраціях менших за концентрацію полігексаніду і бензалконію хлориду в 2,9-4 рази й в 6,5-8,9 рази, відповідно. Встановлено, що загибель псевдомонад спостерігалась при мінімальних концентраціях $192,5 \pm 27,70$ мкг/мл і $418,75 \pm 78,89$ мкг/мл полігексаніду і бензалконію хлориду, відповідно, що достовірно перевищувало відповідні показники декаметоксину, хлоргексидину і октенідину в 1,9-2,7 рази та 4,1-5,8 рази ($p \leq 0,01$), відповідно.

Проте дані МІК та МЦК клінічних штамів *P. aeruginosa* доводять їх високі адаптаційні властивості і до антисептичних препаратів у поіврнянні з встановленими показниками чутливості референтного штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 до антисептиків у 3,07 – 16,75 раза. (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Чутливість референтного штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 до антисептиків

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика ($M \pm s$, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	$10,92 \pm 1,27$	$21,88 \pm 2,55$
Бензалконій хлорид	$12,48 \pm 1,27$	$25,0 \pm 2,55$
Хлоргексидину біглюконат	$11,7 \pm 1,3$	$23,44 \pm 2,6$
Октенідину дигідрохлорид	$11,7 \pm 1,3$	$21,88 \pm 2,55$
Полігексанід	$11,7 \pm 1,3$	$23,44 \pm 2,6$

Середні МІК приблизно дорівнювали 11-12 мкг/мл, МЦК – 22-25 мкг/мл.

4.3. Вивчення чутливості клінічних штамів *K. pneumoniae* до антибіотиків і антисептиків

Клінічні штами *K. pneumoniae* були найбільш чутливі до декаметоксину, хлоргексидину, октенідину, полігексаніду. Інгібування росту відбувалось за концентрацій $17,17 \pm 1,75$ мкг/мл, $25,83 \pm 2,59$ мкг/мл, $20,42 \pm 3,25$ мкг/мл та $26,14 \pm 4,81$ мкг/мл відповідно. Достовірно відрізнялись значення середніх концентрацій декаметоксину та хлоргексидину ($p \leq 0,01$). Найвищих концентрацій потребувало застосування бензалконію хлориду – в середньому $63,70 \pm 6,25$ мкг/мл з достовірною різницею у 2,33-3,17 рази із концентраціями інших антисептиків ($p \leq 0,001$) (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Чутливість клінічних штамів *K. pneumoniae* до антисептиків (n=14)

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика ($M \pm s$, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	$17,17 \pm 1,75^{2,4}$	$36,24 \pm 3,90^{1,2,4}$
Бензалконій хлорид	$63,70 \pm 6,25^{1,2,3,5}$	$120,19 \pm 18,32^{1,2,3,5}$
Хлоргексидину біглюконат	$25,83 \pm 2,59^{1,4}$	$46,88 \pm 3,13^{1,4}$
Октенідину дигідрохлорид	$20,42 \pm 3,25^4$	$40,86 \pm 3,58^4$
Полігексанід	$26,14 \pm 4,81^4$	$51,68 \pm 7,68^4$

Примітка. Статистично достовірні відмінності значень в порівнянні з відповідним значенням для декаметоксину ¹; хлоргексидину ²; октенідину ³; бензалконію хлориду ⁴; полігексаніду ⁵ ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$).

Найкращі мікробіцидні властивості також було зареєстровано під дією декаметоксину, хлоргексидину, октенідину, полігексаніду. Середні значення МЦК становили $36,24 \pm 3,90$ мкг/мл, $46,88 \pm 3,13$ мкг/мл, $40,86 \pm 3,58$ мкг/мл,

51,68±7,68 мкг/мл відповідно. Достовірну різницю також виявлено між значеннями для декаметоксину та хлоргексидину ($p \leq 0,05$). Бензалконій хлорид проявляв цидну дію за середніх концентрацій 120,19±18,32 мкг/мл, що достовірно перевищували середні концентрації декаметоксину у 3,32 рази ($p \leq 0,001$), хлоргексидину – у 2,56 рази ($p \leq 0,001$), октенідину – у 2,94 рази ($p \leq 0,001$), полігексаниду – у 2,33 рази ($p \leq 0,01$).

Доведено, що стійкість клінічних штамів до антисептичних засобів була в 1,9 – 5,7 раза вище у поівнянні з референтним штамом клебсієл (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

**Чутливість референтного штаму *K. pneumoniae* ATCC 13883 до
антисептиків**

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика ($M \pm s$, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	5,85±0,65	11,7±1,3
Бензалконій хлорид	12,48±1,27	21,09±2,86
Хлоргексидину біглюконат	10,92±1,27	25,0±2,55
Октенідину дигідрохлорид	6,24±0,64	11,7±1,3
Полігексанид	12,48±1,27	23,44±2,6

Показники чутливості референтного штаму *K. pneumoniae* ATCC 13883 до антисептиків, а саме середні значення МІК та МЦК визначали в межах 6-13 мкг/мл та 12-25 мкг/мл відповідно.

4.4. Вивчення чутливості клінічних штамів *E. coli* до антисептиків

Встановлено, що октенідин та декаметоксин найкраще інгібували ріст клінічних штамів *E. coli* за середніх концентрацій 15,73±1,05 мкг/мл та 12,22±1,93 мкг/мл відповідно (табл. 4.7).

Чутливість клінічних ізолятів *E. coli* до антисептиків (n=13)

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика (M±s, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	12,22±1,93 ^{2,4,5}	23,17±2,74 ^{2,4,5}
Бензалконій хлорид	25,84±2,20 ^{1,3}	55,06±5,91 ^{1,2,3}
Хлоргексидину біглюконат	20,90±1,30 ^{1,3}	42,12±2,22 ^{1,3,4}
Октенідину дигідрохлорид	15,73±1,05 ^{2,4,5}	28,69±2,44 ^{2,4,5}
Полігексанід	21,73±2,70 ^{1,3}	49,93±5,79 ^{1,3}

Примітка. Статистично достовірні відмінності значень в порівнянні з відповідним значенням для декаметоксину ¹; хлоргексидину ²; октенідину ³; бензалконію хлориду ⁴; полігексаніду ⁵ (p≤0,05; p≤ 0,01; p≤0,001).

Значення достовірно відрізнялись у 1,33 - 1,64 рази (p≤0,05 – p≤0,001) та у 1,7 – 2,11 рази (p≤0,01 – p≤0,001) відповідно. В той же час бензалконій хлорид, хлоргексидин та полігексанід теж діяли бактеріостатично за достатньо низьких концентрацій – в середньому 25,84±2,20 мкг/мл, 20,90±1,30 мкг/мл та 21,73±2,70 мкг/мл відповідно, які достовірно не відрізнялись між собою (p>0,05). Аналогічну тенденцію антисептики проявляли у цидній активності щодо клінічних штамів кишкової палички. Середні концентрації октенідину та декаметоксину достовірно були нижчими у 1,47 – 1,92 рази (p≤0,01 – p≤0,001) та 1,82 – 2,38 рази (p≤0,01 – p≤0,001) відповідно та в середньому становили 28,69±2,44 мкг/мл та 23,17±2,74 мкг/мл і достовірно між собою не відрізнялись. Середні МЦК хлоргексидину визначили 42,12±2,22 мкг/мл, які

достовірно були ефективнішими таких бензалконію хлориду у 1,31 рази ($p \leq 0,05$).

Варто відзначити, що бактерицидні властивості антисептиків щодо клінічних штамів кишкових паличок реєстрували при МЦК, які суттєво переважали цидні концентрації щодо референтного штаму *E. coli* (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

Чутливість референтного штаму *E. coli* ATCC 25922 до антисептиків

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика ($M \pm s$, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	$2,93 \pm 0,33$	$5,85 \pm 0,65$
Бензалконій хлорид	$3,12 \pm 0,32$	$11,7 \pm 1,3$
Хлоргексидину біглюконат	$2,73 \pm 0,32$	$5,85 \pm 0,65$
Октенідину дигідрохлорид	$2,93 \pm 0,33$	$6,24 \pm 0,64$
Полігексанід	$3,12 \pm 0,32$	$12,48 \pm 1,27$

Так, бактеріостатичні властивості антисептиків щодо референтного штаму *E. coli* ATCC 25922 реєстрували в межах 3 мкг/мл антисептичних засобів. Водночас показники згубної дії антисептичних засобів на *E. coli* ATCC 25922 були в 3,9 – 7,2 раза меншими, ніж у випадку клінічних штамів *E. coli*. Середні значення МЦК антисептиків щодо *E. coli* ATCC 25922 були в межах 6-12 мкг/мл.

4.5. Вивчення чутливості клінічних штамів *Enterobacter spp.* до антисептиків

Встановлено найкращі бактеріостатичні та бактерицидні властивості щодо клінічних штамів *Enterobacter spp* для декаметоксину. Середні МІК

становили $18,42 \pm 1,56$ мкг/мл та достовірно відрізнялись у 1,26-1,99 рази ($p \leq 0,05$ – $p \leq 0,001$) від значень МІК, виявлених для інших досліджуваних антисептиків, крім октенідину (табл.4.9).

Таблиця 4.9

Чутливість клінічних ізолятів *Enterobacter spp.* до антисептиків (n=14)

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика ($M \pm s$, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	$18,42 \pm 1,56^{2,4,5}$	$40,00 \pm 3,26^{2,4}$
Бензалконій хлорид	$36,66 \pm 3,09^{1,3}$	$77,52 \pm 8,24^{1,2,3,5}$
Хлоргексидину біглюконат	$28,84 \pm 2,41^1$	$49,28 \pm 3,09^{1,4}$
Октенідину дигідрохлорид	$23,27 \pm 3,58^4$	$43,27 \pm 3,71^4$
Полігексанид	$29,44 \pm 4,51^1$	$52,28 \pm 8,98^4$

Примітка. Статистично достовірні відмінності значень в порівнянні з відповідним значенням для декаметоксину ¹; хлоргексидину ²; октенідину ³; бензалконію хлориду ⁴; полігексаниду ⁵ ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$).

Бактеріостатичні властивості октенідину достовірно були вищими за такі бензалконію хлориду у 1,58 рази ($p \leq 0,01$). Середні МЦК декаметоксину дорівнювали $40,00 \pm 3,26$ мкг/мл, достовірно були нижчими від значень для хлоргексидину ($49,28 \pm 3,09$ мкг/мл) та бензалконію хлориду ($77,52 \pm 8,24$ мкг/мл) у 1,23 ($p \leq 0,05$) та 1,94 ($p \leq 0,001$) рази відповідно. Середні МЦК октенідину, хлоргексидину та полігексаниду становили $43,27 \pm 3,71$ мкг/мл, $49,28 \pm 3,09$ мкг/мл та $52,28 \pm 8,98$ мкг/мл відповідно, достовірно відрізнялись від таких бензалконію хлориду у 1,48-1,79 рази ($p \leq 0,05$ – $p \leq 0,001$).

4.6. Вивчення чутливості клінічних штамів *S. aureus* до антисептиків

Декаметоксин, хлоргексидин, октенідин та полігексанід рівнозначно ефективно пригнічували ріст клінічних штамів золотистого стафілококу за середніх концентрацій $10,05 \pm 1,13$ мкг/мл, $10,56 \pm 1,62$ мкг/мл, $11,51 \pm 0,62$ мкг/мл та $12,01 \pm 1,80$ мкг/мл відповідно. Бактеріостатичні концентрації бензалконію хлориду дорівнювали в середньому $22,63 \pm 2,95$ мкг/мл та були у 1,88-2,25 рази вищими ($p \leq 0,01$ – $p \leq 0,001$) в порівнянні із такими вже зазначених антисептиків (табл. 4.10).

Таблиця 4.10

Чутливість клінічних ізолятів *S. aureus* до антисептиків (n=17)

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика ($M \pm s$, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	$10,05 \pm 1,13^4$	$18,45 \pm 1,74^{3,4}$
Бензалконій хлорид	$22,63 \pm 2,95^{1,2,3,5}$	$36,65 \pm 3,49^{1,2,3,5}$
Хлоргексидину біглюконат	$10,56 \pm 1,62^4$	$20,33 \pm 2,53^4$
Октенідину дигідрохлорид	$11,51 \pm 0,62^4$	$23,23 \pm 1,39^{1,4}$
Полігексанід	$12,01 \pm 1,80^4$	$23,64 \pm 2,33^4$

Бактерицидні концентрації хлоргексидину та декаметоксину були найнижчими ($20,33 \pm 2,53$ мкг/мл та $18,45 \pm 1,74$ мкг/мл). Так, МЦК декаметоксину достовірно відрізнялись від МЦК октенідину у 1,26 рази ($p \leq 0,05$) та бензалконію хлориду у 1,99 рази ($p \leq 0,001$). МЦК хлоргексидину, октенідину та полігексаніду між собою достовірно не відрізнялись, але

достовірно були нижчими за МЦК бензалконію хлориду у 1,8 рази ($p \leq 0,001$), 1,58 рази ($p \leq 0,001$) та 1,55 рази ($p \leq 0,01$) відповідно.

Встановлено, що забезпечення цидної антистафілокової активності щодо клінічних штамів потребувало вищих концентрацій усіх досліджуваних антисептичних засобів у порівнянні з МЦК щодо рефернтного штаму *S. aureus* ATCC 25923 (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Чутливість рефернтного штаму *S. aureus* ATCC 25923 до антисептиків

Назва антисептика	Середні концентрації антисептика ($M \pm s$, мкг/мл)	
	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК)	Мінімальна бактерицидна концентрація (МЦК)
Декаметоксин	$1,46 \pm 0,16$	$2,93 \pm 0,33$
Бензалконій хлорид	$1,56 \pm 0,16$	$11,7 \pm 1,3$
Хлоргексидину біглюконат	$1,37 \pm 0,16$	$2,93 \pm 0,33$
Октенідину дигідрохлорид	$1,46 \pm 0,16$	$3,12 \pm 0,32$
Полігексанід	$2,73 \pm 0,32$	$12,48 \pm 1,27$

Діапазон середніх значень МІК (2-3 мкг/мл) рефернтного штаму *S. aureus* ATCC 25923 також свідчив про суттєву різницю його чутливості проти клінічних штамів золотистого стафілокока. Аналогічну тенденцію відмічали і при визначенні бактерицидних властивостей антисептиків. Встановлено, що МЦК щодо *S. aureus* ATCC 25923 коливались від 3-12 мкг/мл в залежності від антисептика, що в 1,9 – 7,44 раза було менше, ніж у випадку клінічних штамів.

Таким чином, одержані результати демонструють ефективну антимікробну дію катіоно-активних антисептичних засобів на клінічні штами

A. baumannii, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, так і *S. aureus* в межах концентрацій, які містяться в готових лікарських формах антисептичних препаратів, водночас засвідчують наявність помітної стійкості клінічних штамів антибіотикорезистентних як грамнегативних бактерій *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, так і *S. aureus* до антисептиків у порівнянні з референтними штамми бактерій, про що свідчить різниця МІК та МЦК бензалконію хлориду, декаметоксину, октенідину, полігексаніду та хлоргексидину, що перевищувала значення відповідних концентрацій щодо референтних штамів досліджуваних мікроорганізмів (*A. baumannii* – в 3,12-7,63 рази, $p \leq 0,001$; *P. aeruginosa* – в 3,07 – 16,75 рази, $p \leq 0,001$; *K. pneumoniae* – 1,9 – 5,7 рази, $p \leq 0,001$; *E. coli* – 3,96 – 7,2 рази, $p \leq 0,001$) так і *S. aureus* (в 1,9 – 7,44 рази, $p \leq 0,001$). Особливе занепокоєння викликає зростання значень ефективних мікробіцидних концентрацій антисептиків щодо клінічних штамів *P. aeruginosa*, які проявляли чутливість до високих значень антисептичних препаратів.

Результати даного розділу опубліковані у наступних наукових працях [138, 221, 222, 224].

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ВПЛИВУ БІОГАЛЬВАНІЧНОГО
СТРУМУ ЯК АЛЬТЕРНАТИВНОГО ФІЗИЧНОГО ЗАСОБУ ДІЇ НА
АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИХ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ ЗБУДНИКІВ
ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ

Впродовж останніх десятиліть в біомедичній практиці боротьба з умовно-патогенними мікроорганізмами, які спричиняють інфекційні ускладнення, як правило, базується на широкому застосуванні хімічних засобів антимікробної дії (антибіотики, ХТЗ, антисептики, та ін.). Проте, формування бактеріями стійкості до антимікробних препаратів обмежує їх лікувальні властивості. В таких умовах зростає необхідність пошуку альтернативних засобів впливу на мікроорганізми, серед яких перспективним є використання фізичних факторів, як от – електричного струму, а саме безпечного для макроорганізму біогальванічного струму. В даному розділі наведено результати вивчення антибактеріальної дії мікроамперного біоструму без зовнішніх джерел живлення на умовно-патогенні грампозитивні бактерії *S. aureus* та грамнегативних збудників *A. baumannii* та *P. aeruginosa* з МЛС, а також впливу цього фізичного чинника на чутливість бактерій до цефалоспоринових антибіотиків.

5.1. Дослідження впливу струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *Staphylococcus aureus*.

У дослідженні провели спектрофотометричне визначення концентрації клітин *S. aureus* за значеннями оптичної густини, з урахуванням, що згідно калібрування, одна одиниця $ОГ_{590}$ дорівнювала 8×10^8 КУО/мл [215]. Визначили показники сили струму у міжелектродному просторі пробірок з ізотонічним розчином натрію хлориду та концентрації мікробних тіл

референтних та клінічних штамів досліджуваних мікроорганізмів через 24, 48 год перебування в термостаті (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Вплив струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтний та клінічні штами *S. aureus* в умовах ізотонічного розчину

Штами мікроорганізмів		Вихідні показники		24 год		48 год	
		Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Інтактне середовище	2,0	-	1,2±0,1	-	1,1±0,4	-
	Струми низької інтенсивності		46-50	0,4±0,2*	37-41	0,2±0,2*	26-30
<i>S. aureus</i> (n=17)	Інтактне середовище	2,0	-	1,4±0,2	-	1,2±0,2	-
	Струми низької інтенсивності		46-50	0,4±0,1**	38-41	0,3±0,1**	28-31

Примітки:

* – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,05$)

** – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,01$)

Встановлено, що у контрольній пробірці (ізотонічний розчин хлориду) натрію, сила струму залишалась сталою, коливаючись в діапазоні 45-50 мкА. Водночас у пробірках із зависом штамів досліджуваних бактерій сила струму зменшувалася і на 24 годину становила 36-41 мкА, а на 48 годину зменшувалась до 24-31 мкА.

Вихідна концентрація мікроорганізмів становила 2,0 ООГ, що відповідало $\approx 1.6 \times 10^9$ КУО/мл. У фізіологічному розчині концентрація клітин

референтного штаму *S. aureus* ATCC 25923 без впливу фізичного фактору вже на 24 год зменшувалась майже у двічі і становила $1,2 \pm 0,1$ ООГ, що відповідало приблизно $9,6 \times 10^8$ КУО/мл, а на 48 год – $1,1 \pm 0,4$ ООГ ($\approx 8,8 \times 10^8$ КУО/мл). Встановлено, що показники ОГ за умови впливу струму на *S. aureus* ATCC 25923 становили $0,4 \pm 0,2$ ООГ ($\approx 3,2 \times 10^8$ КУО/мл) на 24 год та $0,2 \pm 0,2$ ООГ ($1,6 \times 10^8$ КУО/мл) на 48 год, і у 3 та 5,5 рази відповідно достовірно ($p \leq 0,05$) були нижчими за показники без дії струму.

Концентрація клітин клінічних штамів *S. aureus* у фізіологічному розчині без впливу струму на 24 год зменшилась від 2,0 ООГ ($\approx 1,6 \times 10^9$ КУО/мл) до $1,4 \pm 0,2$ ($\approx 1,12 \times 10^9$ КУО/мл), а на 48 – до $1,2 \pm 0,2$ ООГ ($\approx 9,6 \times 10^8$ КУО/мл). Під впливом струмів низької інтенсивності на клінічні штами стафілококу значення ООГ достовірно ($p \leq 0,01$) зменшувались в порівнянні з показниками без дії струмів у 3,5 рази на 24 год та у 4 рази на 48 год та становили відповідно $0,4 \pm 0,1$ ООГ ($\approx 3,2 \times 10^8$ КУО/мл) та $0,3 \pm 0,1$ ООГ ($\approx 2,4 \times 10^8$ КУО/мл).

Встановлено, що у МПБ без впливу фізичного фактору концентрація клітин референтного та клінічних штамів *S. aureus* зростала: на 24 год значення ОГГ референтного та клінічних штамів визначили відповідно $5,5 \pm 0,4$ ($\approx 4,4 \times 10^9$ КУО/мл) та $5,8 \pm 0,2$ ($\approx 4,64 \times 10^9$ КУО/мл), а на 48 год – $6,1 \pm 0,6$ ($\approx 4,88 \times 10^9$ КУО/мл) та $6,2 \pm 0,5$ ($\approx 4,96 \times 10^9$ КУО/мл). В результаті дії струмів низької інтенсивності на референтний штам *S. aureus* ATCC 25923, кількість клітин на 24 год та на 48 год достовірно ($p \leq 0,01$) була меншою (у 1,2 та 1,3 рази відповідно) за кількість клітин у пробірках, які не зазнали впливу струму і була визначена відповідно $4,6 \pm 0,7$ ОГГ ($\approx 3,68 \times 10^9$ КУО/мл) та $4,7 \pm 0,3$ ОГГ ($\approx 3,76 \times 10^9$ КУО/мл). Кількість клітин клінічних штамів після дії струмів достовірно ($p \leq 0,05$) була меншою у 1,21 рази на 24 год спостереження і становила $4,8 \pm 0,4$ ($\approx 3,84 \times 10^9$ КУО/мл). На 48 год спостереження кількість клітин зменшилась у 1,24 рази ($5,0 \pm 0,6$ ООГ, $\approx 4,0 \times 10^9$ КУО/мл), і значення достовірно відрізнялось від того, що визначили в контролі ($p \leq 0,01$) (табл. 5.2).

Вплив струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *S. aureus* в умовах м'ясо-пептонного бульйону

Штами мікроорганізмів		Вихідні показники		24 год		48 год	
		Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Інтактне середовище	2,0	-	5,5±0,4	-	6,1±0,6	-
	Струми низької інтенсивності		54-60	4,6±0,7**	48-52	4,7±0,3**	38-44
<i>S. aureus</i> (n=17)	Інтактне середовище	2,0	-	5,8±0,2	49-52	6,2±0,5	-
	Струми низької інтенсивності		54-60	4,8±0,4*		5,0±0,6**	39-43

Примітки:

* – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,05$)

** – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,01$)

5.2. Дослідження впливу струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *A. baumannii* та їх чутливість до антибіотиків

Вихідну концентрацію клітин референтного та клінічних штамів *A. baumannii* також стандартизували до 2.0 ($\approx 1.6 \times 10^9$ КУО/мл). У фізіологічному розчині концентрація клітин референтного та клінічних штамів, які не зазнавали дії струмів низької інтенсивності зменшувалась на 24 год до $1,6 \pm 0,4$ ($\approx 1,28 \times 10^9$) та $1,6 \pm 0,7$ ($\approx 1,28 \times 10^9$ КУО/мл) відповідно, а на

48 год – до $1,7 \pm 0,3$ ($\approx 1,36 \times 10^9$ КУО/мл) та $1,9 \pm 0,4$ ($\approx 1,52 \times 10^9$ КУО/мл) відповідно (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Вплив струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *A. baumannii* в умовах ізотонічного розчину

Штами мікроорганізмів		Вихідні показники		24 год		48 год	
		Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА
<i>A. baumannii</i> ATCC 15151	Інтактне середовище	2,0	-	$1,6 \pm 0,4$	-	$1,7 \pm 0,3$	-
	Струми низької інтенсивності		46-50	$0,9 \pm 0,6^*$	36-40	$1,1 \pm 0,2^*$	24-30
<i>A. baumannii</i> (n=19)	Інтактне середовище	2,0	-	$1,6 \pm 0,7$	-	$1,9 \pm 0,4$	-
	Струми низької інтенсивності		46-50	$1,1 \pm 0,5$	38-40	$1,2 \pm 0,2^*$	27-31

Примітки:

* – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,05$)

** – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,01$).

Показники ООГ після дії струмів на референтний штам *A. baumannii* ATCC 15151 достовірно ($p \leq 0,05$) відрізнялись від значень без впливу струму у 1,7 та 1,55 рази на 24 та 48 год відповідно і було визначено $0,9 \pm 0,6$ ($\approx 7,2 \times 10^8$ КУО/мл) та $1,1 \pm 0,2$ відповідно ($\approx 8,8 \times 10^8$ КУО/мл). Дія струмів на клінічні штами не дала достовірного зменшення концентрації клітин на 24 год, проте на 48 год значення ООГ становило $1,2 \pm 0,2$ ($\approx 9,6 \times 10^8$ КУО/мл) і достовірно

($p \leq 0,05$) було меншим за таке без дії струму (ООГ=1,9±0,4, $\approx 1,52 \times 10^9$ КУО/мл) на цей час спостереження.

В умовах МПБ концентрація клітин референтного та клінічних штамів *A. baumannii* у пробірках без дії фізичного фактору зростала і на 24 год були визначені показники ООГ 6,3±0,5 ($\approx 5,04 \times 10^9$ КУО/мл) та 6,6±0,2 ($\approx 5,28 \times 10^9$ КУО/мл) відповідно, а на 48 год – 6,5±0,7 ($\approx 5,2 \times 10^9$ КУО/мл) та 6,7±0,7 ($\approx 5,36 \times 10^9$ КУО/мл) відповідно (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Вплив струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *A. baumannii* в умовах м'ясо-пептонного бульйону

Штами мікроорганізмів		Вихідні показники		24 год		48 год	
		Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА
<i>A. baumannii</i> ATCC 15151	Інтактне середовище	2,0	-	6,3±0,5	-	6,5±0,7	-
	Струми низької інтенсивності		54-60	5,9±0,3	44-48	5,8±0,4*	30-40
<i>A. baumannii</i> (n=19)	Інтактне середовище	2,0	-	6,6±0,2	-	6,7±0,7	-
	Струми низької інтенсивності		54-60	6,2±0,6	43-47	5,7±0,4*	31-39

Примітки:

* – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,05$)

** – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,01$)

Під дією струмів концентрація клітин клінічних штамів *A. baumannii* у МПБ на 24 год зменшилась (ООГ=6,2±0,6, $\approx 4,96 \times 10^9$ КУО/мл), але достовірної різниці не було визначено. Проте на 48 год було визначено достовірне зменшення кількості клітин клінічних штамів (ООГ=5,7±0,4, $\approx 4,56 \times 10^9$ КУО/мл) у 1,18 рази ($p \leq 0,05$) щодо необроблених суспензій *A. baumannii*.

В результаті дослідження встановлено статистично значущий біоелектричний ефект після попередньої дії мікроамперних струмів на антибіотикорезистентні штами *A. baumannii*, який проявлявся у послабленні резистентності бактерій до цефтазидиму (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

**Чутливість до цефтазидиму полірезистентних штамів
A. baumannii (n=19) після дії струму низької інтенсивності без зовнішніх
джерел живлення в процесі культивування**

Цефтазидим			
МІК без дії струму (контроль), мкг/мл	МІК після дії струму, мкг/мл	МБЦК без дії струму (контроль), мкг/мл	МБЦК після дії струму, мкг/мл
541,67±160,29	135,42±40,07*	1166,67±278,89	291,67±69,72*

Примітка. * – Достовірна різниця між показниками, визначеними без попереднього впливу струму та після дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,001$).

Без попереднього впливу струму встановлено високі показники чутливості (МІК та МБЦК) до антибіотиків клінічних полірезистентних MDR-штамів ацинетобактерій. Так, визначили, що значення МІК цефтазидиму щодо

A. baumannii складали в середньому $541,67 \pm 160,29$ мкг/мл, МБЦК – $1166,67 \pm 278,89$ мкг/мл. В результаті обробки струмом стійкість досліджуваних штамів знизилась приблизно у 4 рази. Середні МІК цефтазидиму достовірно ($p \leq 0,001$) зменшилися приблизно у 3,38 рази і дорівнювали $135,42 \pm 40,07$ мкг/мл, а МБЦК – у 4,18 рази і становили в середньому $291,67 \pm 69,72$ мкг/мл.

5.3. Дослідження впливу струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *P. aeruginosa* та їх чутливість до цефтазидиму, цефепіму

В дослідженні встановлено, що в умовах ізотонічного розчину без дії струмів низької інтенсивності концентрація клітин *P. aeruginosa* не зменшувалась, а навпаки зростала, що пов'язано із його фізіологічними можливостями виживати і розмножуватись навіть за залишкових кількостей поживних речовин (табл. 5.6) [225].

Показники ООГ для референтного та клінічних штамів на 24 год визначили $1,6 \pm 0,1$ ООГ та $1,6 \pm 0,5$ ООГ відповідно, що приблизно відповідало кількості КУО $1,28 \times 10^9$. В умовах дії струмів надосадові суспензії референтного штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 достовірно містили меншу концентрацію клітин у 1,45 рази на 24 год ($p \leq 0,01$) спостереження та у 2,4 рази - через 48 год ($p \leq 0,001$). ООГ було визначено $1,1 \pm 0,3$ ООГ ($\approx 8,8 \times 10^8$ КУО/мл) та $1,2 \pm 0,3$ ООГ ($\approx 9,6 \times 10^8$ КУО/мл) відповідно.

В результаті впливу струмів на суспензії клінічних штамів *P. aeruginosa* значення ООГ визначили $1,2 \pm 0,4$ ООГ ($\approx 9,6 \times 10^8$ КУО/мл) на 24 год та $1,3 \pm 0,4$ ООГ ($\approx 1,04 \times 10^9$ КУО/мл) на 48 год. Показники, отримані через добу та через дві доби спостереження достовірно у 1,3 ($p \leq 0,05$) та 2,38 рази ($p \leq 0,01$) відповідно відрізнялись від таких без дії струмів.

**Вплив струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на
референтні та клінічні штами *P. aeruginosa* в умовах ізотонічного
розчину**

Штами мікроорганізмів		Вихідні показники		24 год		48 год	
		Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Інтактне середовище	1,0	-	1,6±0,1	-	2,4±0,5	-
	Струми низької інтенсивності		46-50	1,1±0,3**	36-41	1,2±0,3***	24-30
<i>P. aeruginosa</i> (n=15)	Інтактне середовище	1,0	-	1,6±0,5	-	2,7±0,7	-
	Струми низької інтенсивності		46-50	1,2±0,4*	38-41	1,3±0,4**	27-31

Примітки:

* – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,05$)

** – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,01$)

*** – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,001$)

В умовах м'ясо-пептонного бульйону інкубовані суспензії референтного та клінічних штамів *P. aeruginosa* без впливу фізичного фактору виявили значний приріст концентрації на 24 та 48 год: показники ООГ становили відповідно 2,7±0,4 ООГ ($\approx 2,16 \times 10^9$ КУО/мл) та 4,3±0,5 ООГ ($\approx 3,44 \times 10^9$ КУО/мл), 3,0±0,2 ООГ ($\approx 2,4 \times 10^9$ КУО/мл) та 4,4±0,6 ООГ ($\approx 3,52 \times 10^9$ КУО/мл) (табл. 5.7).

Вплив струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *P. aeruginosa* в умовах м'ясо-пептонного бульйону

Штами мікроорганізмів		Вихідні показники		24 год		48 год	
		Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Інтактне середовище	1,0	-	2,7±0,4	-	4,3±0,5	-
	Струм низької інтенсивності		54-60	1,8±0,5*	30-36	2,8±0,6**	28-32
<i>P. aeruginosa</i> (n=15)	Інтактне середовище	1,0	-	3,0±0,2	-	4,4±0,6	-
	Струм низької інтенсивності		54-60	2,2±0,2*	31-37	3,1±0,4*	27-31

Примітки:

* – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,05$)

** – Достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,01$).

За дії струмів на референтний штам *P. aeruginosa* ATCC 27853 на 24 та 48 год було визначено достовірне зменшення кількості клітин в суспензіях у 1,5 ($p \leq 0,05$) та 1,54 ($p \leq 0,01$) рази відповідно, а концентрації клітин *P. aeruginosa* ATCC 27853 визначено $1,8 \pm 0,5$ ООГ ($\approx 1,44 \times 10^9$ КУО/мл) та $2,8 \pm 0,6$ ООГ ($\approx 2,24 \times 10^9$ КУО/мл).

Дія струму на клінічні штами у МПБ призвела до достовірного зменшення концентрації клітин *P. aeruginosa* у 1,36 ($p \leq 0,05$) та 1,42 ($p \leq 0,05$)

рази на 24 та 48 годину відповідно, а концентрації становили $2,2 \pm 0,2$ ООГ ($\approx 1,76 \times 10^9$ КУО/мл) та $3,1 \pm 0,4$ ООГ ($\approx 2,48 \times 10^9$ КУО/мл).

В результаті визначення чутливості до антибіотиків клінічних полірезистентних штамів псевдомонад без попереднього впливу струму та після його дії встановлено для полірезистентних штамів *P. aeruginosa* високі концентрації МІК та МБЦК (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

**Чутливість до цефтазидиму, цефепіму полірезистентних штамів
P. aeruginosa (n=15) після дії струму низької інтенсивності без зовнішніх
джерел живлення в процесі культивування**

Цефтазидим			
МІК без дії струму (контроль), мкг/мл	МІК після дії струму, мкг/мл	МБЦК без дії струму (контроль), мкг/мл	МБЦК після дії струму, мкг/мл
156,25±31,25	67,71±18,78*	479,17±122,55	182,29±70,53*
Цефепім			
187,5±68,47	52,08±16,96*	520,83±159,48	119,79±41,47*

Примітка. * – Достовірна різниця між показниками, визначеними без попереднього впливу струму та після дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ($p \leq 0,001$)

Встановлено, що вихідна (без попереднього впливу струму) чутливість клінічних поліантибіотикорезистентних штамів псевдомонад визначалась при МІК цефтазидиму в середньому $156,25 \pm 31,25$ мкг/мл, МБЦК - $479,17 \pm 122,55$ мкг/мл. Для цефепіму значення МІК та МБЦК становили $187,5 \pm 68,47$ мкг/мл та $520,83 \pm 159,48$ мкг/мл. Після дії біогальванічним струмом спостерігали зниження стійкості досліджуваних штамів у 2-4 рази. Так, середні МІК цефтазидиму достовірно ($p \leq 0,001$) зменшились приблизно у 2,67 рази і

дорівнювали $67,71 \pm 18,78$ мкг/мл, а МБцК – у 3,33 рази і становили в середньому $182,29 \pm 70,53$ мкг/мл. Середні МІК цефепіму достовірно ($p \leq 0,001$) зменшились у 3,67 рази і дорівнювали $52,08 \pm 16,96$ мкг/мл, а МБцК – у 4,67 рази і становили в середньому $119,79 \pm 41,47$ мкг/мл.

5.4. Дослідження впливу біогальванічного струму на біоплівкоутворювальні властивості полірезистентних клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa*

Бактерії, наділені властивістю до формування біоплівок, проявляють підвищену стійкість до традиційних антимікробних засобів, що забезпечується захисними властивостями матриксу та зміненому метаболізму. Ці фактори суттєво знижують їхню чутливість до антибіотиків. Так, вченими встановлено, що для знищення зрілої біоплівки потрібна концентрація антибіотика, яка в сотні разів перевищує ту, що достатня для знищення такої ж кількості бактерій у планктонному стані [226, 227]. Тому, альтернативні антимікробні стратегії, що уникають механізмів стійкості у бактерій, в тому числі протидіють такому фактору фенотипової резистентності бактерій, як біоплівкоутворення, є невідкладними.

Клінічні штами досліджуваних видів мікроорганізмів продемонстрували здатність до формування біоплівок, яку визначили як високу, оскільки показники оптичної щільності перевищували 0,240 одиниць. В результаті нашого дослідження було встановлено, що біоелектричний ефект, спричинений біогальванічним струмом без зовнішніх джерел живлення, також проявлявся у зниженні біоплівкоутворюючих властивостей бактерій. Клінічні штами *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa* впродовж 24 год знаходилися в ізотонічному розчині натрію хлориду або МПБ під дією струму низької інтенсивності, після чого було перевірено їх біоплівкоутворюючі властивості в порівнянні із бактеріями, які знаходились цей час в інтактному (без впливу гальванічного струму) середовищі (фізіологічний розчин або МПБ) [228].

Біоплівкоутворювальні властивості визначали за показниками спектрофотометричного вимірювання оптичної густини екстрагованого етанолом із фіксованих біоплівок барвника та інтерпретували дані у вигляді відсоткового значення пригнічення біоплівкоутворення у порівнянні із контролем (табл. 5.9; рис. 5.1).

Таблиця 5.9

Рівень біоплівкоутворення полірезистентних штамів *S. aureus*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* після дії струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення

Вид мікро-організму	Ізотонічний розчин		МПБ	
	Контроль рівня біоплівоутворюючих властивостей	Біоплівкоутворення після дії струмів низької інтенсивності	Контроль рівня біоплівоутворюючих властивостей	Біоплівкоутворення після дії струмів низької інтенсивності
<i>S.aureus</i> (n=15)	0,304±0,020	0,203±0,006*	0,311±0,019	0,223±0,008*
<i>A.baumannii</i> (n=12)	0,286±0,021	0,206±0,013** *	0,317±0,019	0,238±0,010**
<i>P.aeruginosa</i> (n=13)	0,435±0,027	0,364±0,020**	0,491±0,026	0,433±0,022

Примітки:

* Достовірна різниця значень ($p \leq 0,001$) між показниками, отриманими в інтактному середовищі та після дії струму низької інтенсивності

** Достовірна різниця значень ($p \leq 0,01$) між показниками, отриманими в інтактному середовищі та після дії струму низької інтенсивності

*** Достовірна різниця значень ($p \leq 0,05$) між показниками, отриманими в інтактному середовищі та після дії струму низької інтенсивності

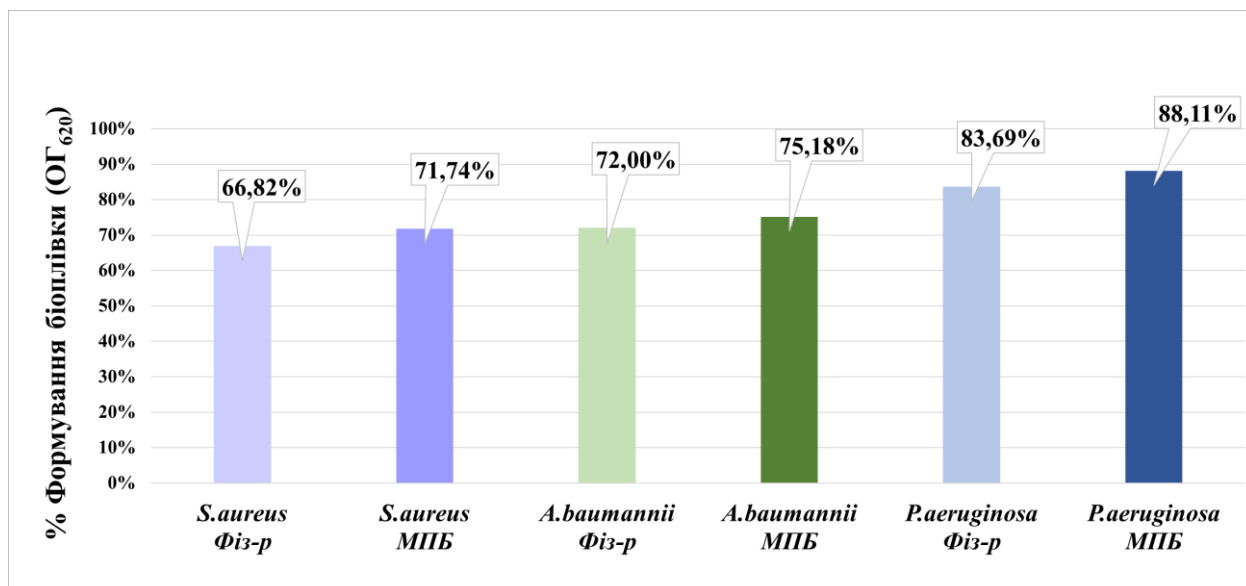


Рис. 5.1. Відсотковий показник дії струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на біоплівкоутворення клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів *S.aureus*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*.

Встановлено, що під впливом струму низької інтенсивності в ізотонічному розчині показники, які характеризують здатність до біоплівкоутворення клінічних штамів *S.aureus*, *A.baumannii* та *P.aeruginosa* були статистично достовірно нижчими у 1,2-1,52 раза і становили $0,203 \pm 0,006$ ($p < 0,0001$), $0,206 \pm 0,013$ ($p = 0,05$) та $0,364 \pm 0,020$ ($p < 0,05$) ООГ відповідно, у порівнянні з цими ж культурами із середовища без попереднього впливу біогальванічного струму ($0,304 \pm 0,020$ ООГ, $0,286 \pm 0,021$ ООГ, $0,435 \pm 0,027$ ООГ відповідно).

Відсоткові показники дії струмів низької інтенсивності у фізіологічному розчині без зовнішніх джерел живлення на біоплівкоутворення полірезистентних штамів *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa* на противагу інтактних контрольних культур становили 66,82 %, 72,00 % та 83,69 %. Таким чином, пригнічення біоплівкоутворювальних властивостей відбувалось на 33,8 %, 28,0 % та 16,31 % відповідно.

Після дії зазначеного фізичного чинника на мікроорганізми у МПБ, здатність клінічних штамів бактерій до біоплівкоутворення також

знижувалась у порівнянні із культурами цих мікроорганізмів, які не зазнавали дії струму. Для *S.aureus*, *A.baumannii* було виявлено достовірну різницю у 1,33 ($p < 0,0001$) та 1,39 рази ($p = 0,01$), а значення ОГ після впливу струму низької інтенсивності становили відповідно $0,223 \pm 0,008$ та $0,238 \pm 0,010$ відносно контролю (без попереднього впливу струму) із значеннями ОГ $0,311 \pm 0,019$ та $0,317 \pm 0,019$ відповідно. Для культур *P.aeruginosa* не було виявлено достовірної різниці показників біоплівкоутворюючих властивостей.

Середні значення оптичної густини становили $0,491 \pm 0,026$ ООГ (в нормі), $0,433 \pm 0,022$ ООГ – після дії фізичного чинника. Відсоткові показники ефективності впливу струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на біоплівкоутворювальні властивості полірезистентних штамів *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa* у МПБ проти інтактної контрольної культури становили 71,74 %, 75,18 % та 88,11 %, і таким чином встановлено, що пригнічення біоплівкоутворювальних властивостей зазначених умовно-патогенних мікроорганізмів відбувалось на 28,26 %, 24,82 % та 11,89 % відповідно.

Порівняльний аналіз біоплівкоутворюючих властивостей штамів після дії струму у фізіологічному розчині та МПБ, засвідчив, що біоплівкоутворення штамів, які зазнавали впливу струму низької інтенсивності і фізіологічному розчині, було нижчим. Що пояснюється вищим рівнем стресу для мікроорганізмів за умов відсутності поживних речовин [229]. Встановлено, що в результаті дії біоструму штамами *P. aeruginosa*, які перебували у фізіологічному розчині або МПБ, у подальшому суттєво не відрізнялись за властивістю до біоплівкоутворення, про що свідчила відсутність достовірної різниці значень ОГ. Такі особливості що можна пояснити природною здатністю даного мікроорганізму рости і розмножуватись за мінімального вмісту поживних речовин, що не є для нього настільки стресовим фактором [225].

Таким чином, при перебуванні культури поліантибіотикорезистентних клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів *S. aureus*, *A. baumannii*

та *P. aeruginosa* в умовах середовища під дією біогальванічного струму без зовнішніх джерел живлення, зазнають біоелектричного впливу, що супроводжується пригніченням їх здатності до біоплівкоутворення, незалежно від наявності нутрітивних речовин для культивування чи перебування мікроорганізмів у стресових умовах фізіологічного розчину.

Результати даного розділу опубліковані у наступних наукових працях [228, 230, 231].

РОЗДІЛ 6

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ БАКТЕРІОФАГІВ І
АНТИСЕПТИКІВ ЩОДО АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИХ
*PSEUDOMONAS AERUGINOSA***6.1. Дія біологічного лікарського засобу на основі бактеріофагів
Піофаг на планктонні і плівкові форми *P. aeruginosa***

В умовах зростання кількості MDR-бактерій в етіологічній структурі опортуністичних інфекцій все більшого значення набувають альтернативні засоби антимікробної терапії, направлені на подолання антибіотикорезистентності. Пошук методів боротьби повертає науковців до давно відомих природних знищувачів бактерій – бактеріофагів., які спроможні руйнувати бактеріальні клітини. Їх широке використання в минулому обмежувалось високою специфічністю вірусів бактерій, які інфікували тільки певні фаготипи в межах виду, здатність взаємодіяти з бактеріальною клітиною, не спричиняючи її загибель, що призводило до суперечливих висновків про їх ефективність. Однак ретельне вивчення природи взаємодії чутливих бактерій і вірулентних бактеріофагів, їх широке розповсюдження в природі, простота виділення з будь-яких природних матеріалів призвело до «буму фаготерапії», який спостерігається впродовж останнього десятиліття.

На ринку фармацевтичних засобів з'явилися лікарські засоби, які містять так звані фагові коктейлі, що складаються із бактеріофагів з різною специфічністю в межах виду, а також комбіновані засоби, які містять бактеріофаги різної видової специфічності. До таких препаратів відносять біологічно-активний лікарський засіб «Піофаг бактеріофаг полівалентний» вітчизняного виробництва, який містить антипсевдомонадний фаговий коктейль. Нам було цікаво вивчити чутливість виділених клінічних штамів *P. aeruginosa* до даного засобу для прогнозування ефективності його застосування в практиці лікування псевдомонадних інфекцій.

Для вивчення чутливості планктонних форм *P. aeruginosa* нами була використана оригінальна методика, яка передбачала визначення ефекту взаємодії засобу піофаг і бактеріальної штамової популяції в логарифмічну і стаціонарну фази росту, що призводить до зміни щільності популяції в порівнянні з контрольним ростом культури в залежності від чутливості штаму до фагового коктейлю і способу взаємодії бактеріофагів з конкретним клінічним ізолятом. Для стандартизації отриманих результатів ми визначали індекс літичної дії фагу, який демонстрував яка частка бактеріальної популяції знищувалась за конкретний період (18 -20 год) інкубації планктонних форм бактерій і полівалентного фагу.

Слід зазначити, що запропонований нами метод визначення чутливості не потребує дороговартісної апаратури і може здійснюватись в будь-якій бактеріологічній лабораторії, яка має денситиметр, за допомогою якого вимірюється оптична щільність контрольного і дослідного зразків і розраховується індекс чутливості або індекс літичної дії для кожного із штамів після вимірювання оптичної густини по закінченню інкубації дослідної і контрольної суспензії, а також стерильного поживного середовища, в якому розмножувались мікроорганізми за формулою наведеною в розділі 2. Штами бактерій, для яких взаємодія піофагу з культурою мікроорганізмів характеризувалась індексом чутливості (I_s) від 0,8 до 1,0, визначались нами як високо чутливі; для чутливих до піофагу штамів I_s знаходився в межах від 0,5 до 0,79. Якщо I_s клінічного ізоляту був менше 0,5, але більше 0,3, то ми відносили такі штами до помірно-стійких. Стіькі до піофагу клінічні штами *P. aeruginosa* мали індекс чутливості від 0,01 до 0,29. Відповідно до отриманих результатів 24 штами (44,4% від загальної кількості) мали високу чутливість до біологічно-активного засобу піофаг: середнє значення індексу чутливості бактерій в групі становив $0,95 \pm 0,007$. Встановлено, що в групі чутливих ізолятів, яка складалась із 14 штамів (25,9%) індекс літичної дії фагу становив в середньому $0,65 \pm 0,024$, отже загалом чутливих до піофагу штамів було виявлено в обсязі 38 штамів або 70,4% від загальної кількості (табл. 6.1).

Чутливість планктонних форм клінічних штамів *P. aeruginosa* (n=54) до піофагу

Категорія чутливості	Кількість штамів (n)	Середнє значення індексу чутливості (Is) в групі (M±Sd)
Високо чутливі	24	0,95±0,007*
Чутливі	14	0,65±0,024*
Помірно стійкі	3	0,34±0,020*
Стійкі	13	0,098±0,026*

Примітка. * - статистично достовірні відмінності між показниками в групах ($p \leq 0,01$).

Досить низький середній індекс чутливості був встановлений в групі стійких до піофагу ізолятів ($0,098 \pm 0,026$), що свідчило про відсутність літичного ефекту біопрепарату на 13 штамів виділених *P. aeruginosa* (24,1% від загальної кількості). Тільки три штами за нашими результатами були віднесені до помірно-стійких із середнім значенням Is $0,34 \pm 0,020$, тобто показник чутливості наближався практично до найменших визначених для даної категорії значень. Отже, загальна частка стійких до піофагу клінічних штамів *P. aeruginosa* в нашому дослідженні становила 29,6% від загальної кількості досліджених штамів.

В умовах *in vivo* збудники опортуністичних інфекцій досить швидко утворюють біоплівки, які дозволяють бактеріальним патогенам уникати дії антибактеріальних засобів як за рахунок знаходження в товщі матриксу біоплівки, так і внаслідок перебування в низькій метаболічній активності. Для вивчення дії піофагу на плівкові форми псевдомонад нами було проведено дослідження процесу плівкоутворення в присутності фагового коктейлю і визначення дії полівалентного бактеріофагу на зрілу плівку.

Визначення впливу бактеріофагу на плівкоутворення проводили на клінічних штамів з різним індексом чутливості. З врахуванням різної

спроможності штамів утворювати плівку, яку характеризує коефіцієнт плівкоутворення (R), та з метою валідації отриманих результатів оптичної густини в позитивному, негативному контролі і дослідних лунках з бактеріофагом, для кожного із дослідних штамів вираховували середній коефіцієнт плівкоутворення в позитивному контролі (Rc) і досліді (Re) як відношення показників оптичної густини до порогового значення, яке визначали як суму середньої оптичної густини і потрібного значення середнього квадратичного відхилення в негативному контролі, як зазначено в розділі 2. Загалом було досліджено 12 штамів, які розділили на три групи по 4 штами в кожній в залежності від чутливості до піофагу (високо-чутливі, чутливі, стійкі) на підставі визначеного індексу чутливості для планктонних форм. Отримані результати вивчення впливу піофагу на процес плівкоутворення клінічними штамами псевдомонад в залежності від рівня їх чутливості до бактеріофагу демонструє табл.6.2; рис.4.1.

Таблиця 6.2

Вплив піофагу на плівкоутворення клінічними штамами

P. aeruginosa (n=12)

Чутливість планктонних форм до піофагу	Is	Індекс плівкоутворення (R) (M±Sd)		Інтенсивність плівкоутворення в присутності піофагу в порівнянні з контролем (%)
		Rc	Re	
Високо чутливі (n=4)	0,93-1,0	1,31±0,07	1,02±0,02*	77,8%
Чутливі (n=4)	0,65-0,78	1,42±0,11	1,27±0,08	89,4%
Стійкі (n=4)	0,01-0,3	1,22±0,08	1,23±0,08	100,1%

Примітка. *- статистично достовірні відмінності в порівнянні з контрольним показником в групі (p=0,006)

Слід зазначити, що дослідні клінічні штами після 26 год інкубації були визначені як слабкі продуценти плівки, що доводять контрольні значення

індексу плівкоутворення (R_c), які знаходились в межах від $1,22 \pm 0,08$ до $1,42 \pm 0,11$. Згідно отриманих результатів піофаг затримував процес плівкоутворення високо чутливих і чутливих до бактеріофагу клінічних штамів синьогнійної палички на 22,2 % і 10,6%, відповідно, однак статистично достовірна різниця значень індексу плівкоутворення в присутності бактеріофагу була виявлена тільки у високо чутливих до фагового коктейлю бактерій ($p=0,006$).

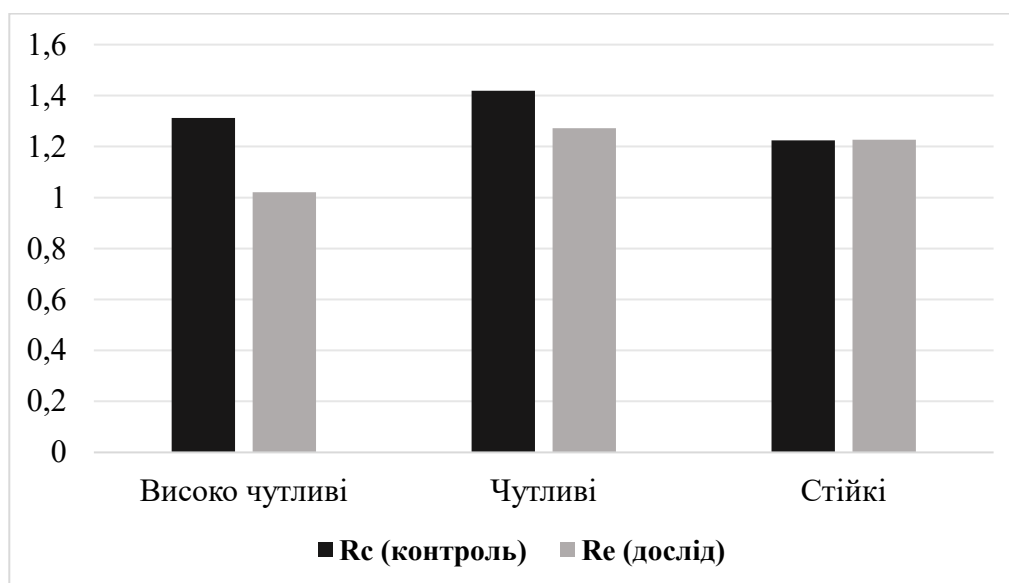


Рис. 6.1. Плівкоутворення в присутності піофагу в порівнянні з контролем в залежності від чутливості планктонних форм *P. aeruginosa*.

Згідно визначеного коефіцієнту плівкоутворення у високо чутливих бактерій в присутності лізуючих бактеріофагів ($1,02 \pm 0,02$) спостерігали максимально наближені до негативного контролю значення оптичної густини в дослідних лунках, що свідчило практично про відсутність плівкоутворення. Цікаво, що в групі стійких до піофагу псевдомонад середній індекс плівкоутворення в досліді незначно перевищував відповідний середній показник контролю (100,1%).

З врахуванням встановленого достовірного факту пригнічення плівкоутворення у високо чутливих до піофагу штамів синьогнійної палички нами було проведено вивчення спроможності бактеріофагу руйнувати

утворену бактеріями плівку. Дослідження проводили на 10 штаммах *P. aeruginosa*, для яких індекс чутливості до піофагу знаходився в межах від 0,85 до 1,0. Плівку вирощували протягом 36 год і зупиняли дослід для визначення коефіцієнту плівкоутворення (позитивний контроль 1, Rc1). Паралельно в іншому планшеті дослід продовжували: після промивання лунок планшету в дослідні ряди з біоплівкою вносили поживне середовище з бактеріофагом, а контрольні лунки з утвореною плівкою наповнювали поживним середовищем і продовжували інкубацію в термостаті ще 24 год. Коефіцієнти плівкоутворення Rc 2 (позитивний контроль 2) і Re (вплив бактеріофагу в досліді) розраховували згідно порогового показника на підставі середніх значень оптичної густини в негативному контролі (табл. 6.3).

Таблиця 6.3.

**Дія піофагу на зрілі плівки, утворені фагочутливими штамми
P. aeruginosa (n=10)**

Індекс плівкоутворення (R) (M±Sd)			Інтенсивність плівкоутворення в присутності піофагу в порівнянні з позитивним контролем 2 (%))
Контроль		Дія фагу (Re)	
Через 36 год (Rc1)	Через 50 год (Rc2)		
1,25±0,03	1,65±0,04	1,31±0,02*	

Примітка. * - статистично достовірні відмінності результатів в порівнянні з контрольним показником через 50 год ($p=0,003$).

Встановлено, що в процесі контакту бактеріофагів із утвореними псевдомонадами біоплівками відбувається зупинка їх формування, що доводить достовірне зменшення показника плівкоутворення в 1,3 рази після додавання бактеріофагу в порівнянні з контрольним значенням через 50 год ($p=0,003$). На підставі даних індексу плівкоутворення на рівні 1,25 $\pm$ 0,03 (позитивний контроль 1) після 36 год інкубації відібрані чутливі до піофагу клінічні ізоляти *P. aeruginosa* були визначені як слабкі продуценти біоплівки.

Слід зазначити, що статистично достовірної різниці між контрольним показником плівкоутворення через 36 год ($1,25 \pm 0,03$) та відповідним значенням показника формування плівки після додавання бактеріофагу та подовження культивування на 24 год ($1,31 \pm 0,02$) не встановлено, отже бактеріофаги не призводять до руйнування сформованої плівки за даний період часу.

Отже, нами встановлено, що біологічний лікувальний засіб «Піофаг бактеріофаг полівалентний», який містить вірулентні псевдомонадні бактеріофаги, демонструє сильну літичну дію на клінічні MDR-штами *P. aeruginosa*: 70,4 % виділених штамів руйнувались піофагом в обсязі більше 50% бактеріальної популяції в процесі культивування протягом 18-20 год. Близько третини дослідних штамів синьо гнійної палички залишаються стійкими до фагового коктейлю препарату піофаг, що може бути обумовлено абсолютною резистентністю бактерій до дії фагів, присутніх у засобі, або відносною стійкістю штамів, пов'язаною з їх лізогенізацією.

Отримані результати доводять необхідність обов'язкового визначення чутливості клінічних штамів до препаратів, що містять бактеріофаги, перед прийняттям рішення про доцільність їх використання в якості альтернативних засобів антимікробної терапії. Доведено, що чутливі до вірусів бактерії уповільнюють процес формування плівки на 22,2 %, а ріст вже сформованих бактеріальних плівок зупиняється в процесі взаємодії з бактеріофагами. Отримані результати підтверджують ефективність фагового коктейлю препарату «Піофаг» щодо локальних антибіотикорезистентних штамів псевдомонад і дозволяють рекомендувати його як альтернативний засіб антипсевдомонадної терапії.

6.2. Комбінована дія антисептиків і бактеріофагів на антибіотикорезистентні *Pseudomonas aeruginosa*

В інструкціях, наданих виробниками бактеріофагів, зазначається, що при їх локальному застосуванні не слід змішувати препарат з іншими

лікарськими засобами. Перш за все, локальна терапія гнійно-запальних захворювань здійснюється антисептичними засобами, які мають згубний вплив не тільки на бактеріальний збудник інфекції, але й на віруси. Однак, віруси бактерій є безоболонковими вірусами, які не чутливі до дії антисептиків-детергентів. Також численні наукові дослідження свідчать про синергічний антимікробний вплив бактеріофагів і антибіотиків, які порушують синтез клітинної стінки. Враховуючи вище наведене, нам було цікаво дослідити вплив антисептиків з поверхнево-активним механізмом протимікробної дії на біологічну активність лікувального засобу “Піофаг”.

Для цього нами були відібрані 5 клінічних штамів *P. aeruginosa* (номери реєстрації в музеї культур В20; 144; В 114/135; 282383; 293), які демонстрували високу чутливість до піофагу, що доводили індекси чутливості (Is) даних ізолятів. У всіх штамів Is становив 0,95 і більше, середній індекс чутливості в групі дорівнював $0,97 \pm 0,007$. Для визначення впливу антисептиків нами були виготовлені робочі розчини антисептиків різної концентрації (від 1000 мкг/мл до 15,6 мкг/мл), в які вносили піофаг в рівній кількості до об'єму розчину і витримували 5 хвилин при кімнатній температурі. Дану суміш надалі додавали до поживного середовища (0,5 мл суміші до 2 мл ТСБ), в які інокулювали завис добової культури псевдомонад, з метою визначення мінімальних інгібуючих концентрацій антисептика (МІК) у суміші з бактеріофагом.

Паралельно виконували контрольне дослідження активності антисептиків з врахуванням розведень без додавання фагу. Концентрація антисептичних засобів в розчинах для визначення мінімальної інгібуючої концентрації становила таким чином як в досліді, так і в контролі від 100 мкг/мл до 1,56 мкг/мл. Концентрація фагових часток в дослідних пробірках становила 10^4 в 1 мл. Дослід супроводжували контролями росту культури, контролем дії фагу, контролем стерильності поживного середовища. Отримані результати МІК антисептиків в контрольному дослідженні і досліді наведені в табл. 6.4.

**Антипсевдомонадна дія антисептиків і піофагу
(кількість штамів *P. aeruginosa* n=5)**

Назва антисептика	МІК антисептика в контролі (мкл/мл; M±s)	МІК антисептика в досліді (мкл/мл; M±s)	Кратність відмінності
Декаметоксин	30,0±8,48	1,56±0*	19,23
Хлоргексидину диглюконат	40,0±6,12	1,56±0*	25,64
Бензалконію хлорид	80,0±12,5	1,56±0*	51,3
Полігексанід	100,0±0	1,56±0*	64,1
Октенідин	25±0	1,56±0*	16,02

Примітка. * - ріст відсутній в останній пробірці дослідного ряду

Як демонструють отримані нами результати видимих ознак росту ми не спостерігали в поживних середовищах, які містили суміш антисептика та бактеріофагу. В контрольних поживних середовищах з різною концентрацією антисептика наявність росту дозволила визначити МІК антисептиків згідно загальноприйнятим критеріям дослідження чутливості бактерій методом розведень. Таким чином, відсутність росту в досліді при концентраціях антисептичних засобів менших за встановлену МІК в контролі, пояснюється літичною дією піофагу, який не зазнав згубного впливу протимікробної речовини протягом 5 хв контакту.

З врахуванням отриманих результатів нам було цікаво дослідити, чи мають поверхнево-активні антисептики і бактеріофаги синергічний згубний вплив на клінічні штами синьогнійної палички. З цією метою літичну дію фагу визначали в умовах культивування в середовищі, яке містило 25 % бактеріостатичної концентрації антисептика щодо конкретного штаму *P. aeruginosa*. Дослідження проводили на фагорезистентних штаммах і чутливих до піофагу клінічних ізолятах синьогнійної палички.

Для виключення сумарної ефекту антипсевдомонадних засобів і валідації отриманих результатів дослід супроводжувався контролюми визначення оптичної щільності (в одиницях за МакФарландом) бактеріальних суспензій, вирощених в присутності суббактеріостатичних концентрацій (субМІК) антисептиків, в порівнянні з контролем культури (табл. 6.5).

Таблиця 6.5

**Оптична щільність бактеріальних культур *P. aeruginosa* в присутності суббактеріостатичних концентрацій антисептиків
($M \pm s$, Од за МакФарландом)**

Характеристика поживного середовища	Фагорезистентні штами (n=8)	Фагочутливі штами (n=7)
Контроль (ТСБ)	7,44 $\pm$ 0,19	7,07 $\pm$ 0,14 (-5%)
ТСБ з субМІК декаметоксину	6,79 $\pm$ 0,22	6,49 $\pm$ 0,20(-4,4%)
ТСБ з субМІК бензалконію хлориду	6,95 $\pm$ 0,20	6,54 $\pm$ 0,22 (-6%)
ТСБ з субМІК хлоргексидину біглюконату	6,81 $\pm$ 0,25	6,64 $\pm$ 0,13(-2,5%)
ТСБ з субМІК октенідину дигідрохлориду	6,73 $\pm$ 0,24	6,6 $\pm$ 0,17 (-2%)
ТСБ з субМІК полігексаніду	6,85 $\pm$ 0,17	6,46 $\pm$ 0,26(-5,7%)

Як свідчать отримані результати виміру контрольних показників, суббактеріостатичні концентрації антисептичних засобів не призводили до значущого пригнічення росту бактеріальних популяцій, що демонструє зменшення середніх значень оптичної щільності в межах 2-6% від контрольного показника. Таким чином, суббактеріостатичні концентрації антисептиків не чинили вираженої дії на розмноження бактеріальних популяцій.

Синергічний вплив поверхнево-активних антисептиків (хімічний фактор лізису) і піофагу (біологічний літичний фактор) визначали на резистентних ($I_s=0,15\pm0,05$) та чутливих ($I_s=0,69\pm0,03$) до дії піофагу штаммах. Всього було досліджено 8 стійких і 7 чутливих до бактеріофагу клінічних ізолятів *P. aeruginosa* (табл.6.6.).

Таблиця 6.6

Літична дія фагу на клінічні ізоляти *P. aeruginosa* в присутності суббактеріостатичних концентрацій поверхнево-активних антисептиків

Антипсевдомонадний фактор(и)	Індекс чутливості (I_s) ($M\pm s$)	
	Фагорезистентні <i>P. aeruginosa</i> (n=8)	Чутливі до фагу <i>P. aeruginosa</i> (n=7)
Піофаг	$0,15\pm0,05$	$0,69\pm0,03$
Піофаг в присутності субМІК декаметоксину	$0,70\pm0,09^*$	$0,87\pm0,05^*$
Піофаг в присутності субМІК бензалконію хлориду	$0,25\pm0,05$	$0,75\pm0,04$
Піофаг в присутності субМІК хлоргексидину	$0,54\pm0,09^*$	$0,80\pm0,02^*$
Піофаг в присутності субМІК октенідину дигідрохлориду	$0,64\pm0,12^*$	$0,86\pm0,03^*$
Піофаг в присутності субМІК полігексаніду	$0,28\pm0,05$	$0,76\pm0,04$

Примітка. * - висока достовірність різниці результату в порівнянні з відповідним показником дії піофагу без антисептиків ($p\leq 0,003$).

Як демонструють отримані результати, в присутності 25% мінімальної бактеріостатичної концентрації декаметоксину, хлоргексидину біглюконату, октенідину дигідрохлориду спостерігали достовірне посилення літичної дії піофагу ($p\leq 0,01$), про що свідчило значне зростання індексу чутливості. Так, в групі резистентних до фагового коктейлю псевдомонад ($I_s=0,15\pm0,05$) індекс

чутливості зростав в 3,6 , 4,3 і 4,7 рази в присутності неінгібуючих ріст популяції концентрацій хлоргексидину, октенідину і декаметоксину, відповідно (статистично доведена достовірність різниці результатів, $p \leq 0,003$).

Також доведено, що ефективність піофагу щодо чутливих штамів *P. aeruginosa* зростала в присутності декаметоксину і октенідину в 1,2 рази, а суббактеріостатичні концентрації хлоргексидину підвищували чутливість псевдомонад в 1,16 разів. За нашими результатами, чутливість синьогнійної палички до піофагу також підвищувась в присутності суббактеріостатичних концентрацій антисептиків бензалконію хлориду і полігексаніду, однак статистично достовірної різниці між отриманими даними встановлено не було. Слід зазначити, що в процесі вивчення синергізму поверхнево-активних антисептиків і піофагу ми спостерігали зміни у розподілі штамів за чутливістю до бактеріофагу у дослідній групі (рис.6.2).

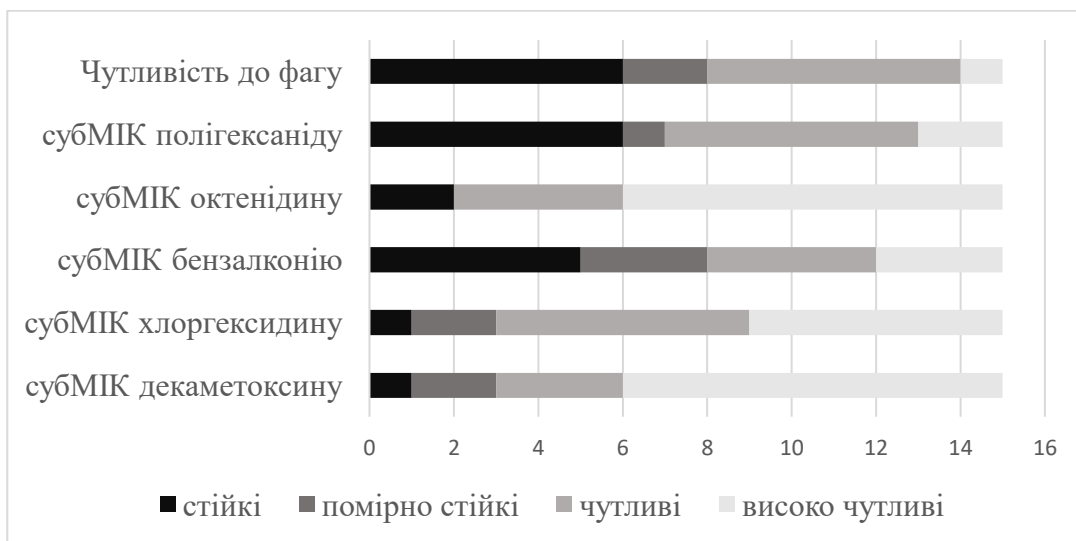


Рис.6.2. Чутливість клінічних штамів *P. aeruginosa* до піофагу в присутності суббактеріостатичних концентрацій поверхнево-активних антисептиків (n=15).

За визначеною на підставі даних Іс чутливістю до піофагу досліджувані штами були поділені на стійкі (6 ізолятів), помірно стійкі (2 ізоляти), чутливі (6 ізолятів) і високо чутливі (1 штам). При дії піофагу в середовищі з субМІК декаметоксину і октенідину кількість високо чутливих штамів зросла до 9, а кількість резистентних зменшилась до 1 та 2 клінічних ізолятів, відповідно.

Зміну категорії чутливості псевдомонад до полівалентного бактеріофагу також спостерігали в умовах дослідження активності піофагу в присутності інших антисептиків. Так, кількість високо чутливих штамів збільшувалась до 6 при дослідженні фагочутливості культур в середовищі з субМІК хлоргексидину біглюконату, 2 і 3 штамів – з полігексанідом і бензалконієм хлоридом, відповідно. Кількість стійких до бактеріофагу штамів псевдомонад зменшувалась до 1 штаму при дії піофагу і субінгібуючих концентрацій хлоргексидину, однак при тестуванні чутливості клінічних ізолятів до піофагу в середовищах з полігексанідом і бензалконієм кількість стійких штамів не змінювалась або незначно зменшувалась.

На підставі отриманих результатів можна стверджувати, що поверхнево-активні антисептики декаметоксин, хлоргексидин, октенідин підвищують чутливість псевдомонад до піофагу, сприяючи його літичній дії, що свідчить про синергічний антипсевдомонадний ефект хімічних і біологічних руйнуючих бактерій засобів. Даний вплив спостерігався як при дослідженні чутливих, так і при дослідженні стійких до піофагу псевдомонад за винятком 1-2 штамів, що може свідчити про різні типи встановленої резистентності. Відносна резистентність внаслідок лізогенізації популяції може бути зменшена при комбінованому впливу літичних факторів, в той час як абсолютна резистентність штаму до фагового коктейлю залишається незмінною.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

З урахуванням зростання актуальності проблеми, пов'язаної з різким поширенням антимікробної стійкості серед мікроорганізмів, як біологічних об'єктів, які становлять загрозу в галузі охорони здоров'я суть нашого дисертаційного дослідження полягала у вирішенні науково-практичної задачі щодо пошуку потенційних засобів впливу на поліантибіотикорезистентні бактерії та мікробіологічному обґрунтуванні ефективності їх застосування як альтернативних антимікробних засобів задля підвищення ефективності боротьби з проблемними збудниками інфекційних ускладнень, визнаними ВООЗ як пріоритетними.

Реалізація основної мети роботи полягала у розв'язанні ряду завдань першочерговими з яких було дослідити біологічні властивості та чутливість до антимікробних засобів пріоритетних збудників інфекційних ускладнень. Так, на першому етапі дослідження визначили фенотипову чутливість до антибіотиків (ХТЗ) клінічних штамів таких важливих у клініці умовно-патогенних мікроорганізмів, які спричиняють інфекційні ускладнення, як *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*.

Отримані результати продемонстрували критично високий рівень резистентності клінічних штамів *A. baumannii* до більшості антибактеріальних засобів. Відсутність у досліджуваній вибірці чутливих штамів до піперациліну/тазобактаму та лише поодинокі випадки чутливості до ампіциліну/сульбактаму (6,7 %) свідчили про тотальну втрату клінічної ефективності пеніцилінів, навіть у захищених комбінаціях.

Останні дослідження у світі також свідчать про високу стійкість клінічних штамів *A. baumannii* до комбінацій антибіотиків піперацилін/тазобактам та ампіцилін/сульбактам. Повну стійкість до піперациліну/тазобактаму зафіксовано у дослідженні науковців з Литви 2021–2022 років, в якому порівнювали дані з 2016–2017 роками, де рівень стійкості становив 97,7%, а рівень стійкості до ампіциліну/сульбактаму зріс до 93,2%

порівняно з 80% у 2016–2017 роках [232]. У дослідженні вчених з Китаю 98% мультирезистентних ізолятів *A. baumannii* були стійкими до піперациліну/тазобактаму, та всі ізоляти *A. baumannii* були стійкими до ампіциліну/сульбактаму. Аналогічно спостерігали абсолютну резистентність до цефтазидиму, цефазоліну та цефотаксиму, що підкреслює неефективність цефалоспоринів I–III поколінь щодо *A. baumannii* [233].

Останні дослідження вчених з інших країн підтверджують високий рівень резистентності клінічних штамів *A. baumannii* до цефалоспоринів, зокрема до цефазоліну, цефотаксиму та цефтазидиму. Наприклад, у багатьох регіонах світу спостерігається високий рівень резистентності *A. baumannii* до цефтазидиму. Наприклад, у Китаї у 2023 р. встановлено, що 77,4 % ізолятів були резистентними до нього [234]. У дослідженні, проведеному в Саудівській Аравії, повідомляється, що рівень резистентності *A. baumannii* до цефотаксиму досягав 100% у 2018, 2019, 2021 та 2022 роках [235]. У дослідженні 2022 р., проведеному в опіковому госпіталі в Іраку, всі ізоляти *A. baumannii* (n=27) були резистентними до цефазоліну (100%). У дослідженні науковців з Хорватії (2024 р.), всі ізоляти *A. baumannii* (n=38), отримані з відділення інтенсивної терапії, були резистентними (100%) до цефтазидиму [236].

Встановлено, що фторхінолони також були неефективними проти досліджуваних нами патогенів, про що свідчить 100 % резистентність до ципрофлоксацину та левофлоксацину. Подібна повна резистентність відображає глобальну тенденцію зниження ефективності фторхінолонів через мутації в генах *gyrA/parC* та активну роботу ефлюксних насосів [237, 238]. Що перегукується з сучасними тенденціями підвищення стійкості *A. baumannii* до фторхінолонів [239]. Наприклад у дослідженні, проведеному в Північно-Західному Китаї, ізоляти *A. baumannii* були резистентними до ципрофлоксацину (98 %) та до левофлоксацину (92 %) [233]. У багатопрофільному госпіталі у Вроцлаві (Польща) рівень резистентності до ципрофлоксацину досяг 100% у 2022 р., тоді як для левофлоксацину склав лише 63 % [240].

Попри це, за нашими даними, аміноглікозиди зберігають певну активність. Зокрема, 40,0 % та 46,7 % штамів залишалися чутливими до амікацину та гентаміцину відповідно, а 6,6 % з них – за умов підвищеної експозиції. Це дозволяє розглядати аміноглікозиди як потенційний компонент комбінованої терапії, однак потребує ретельного дозування. Хоча у різних країнах спостерігаються різні тенденції. Наприклад, дослідження в університетській лікарні у Греції, виявило рівень резистентності до гентаміцину та тобраміцину станом на 2022 р. – 91,1% та 94,1% відповідно [241].

За нашими даними рівень резистентності до карбапенемів є вкрай тривожним і становить 86,6 %. Лише 13,3 % та 6,6 % штамів залишалися чутливими до іміпенему та меропенему відповідно. Додаткові 6,6 % бактерій виявляли проміжну чутливість до меропенему за підвищеної експозиції. Такі показники свідчать про поширення карбапенемаз (зокрема ОХА-типу), що істотно обмежує терапевтичні можливості [242]. Резистентність до триметоприму/сульфаметоксазолу (73,3 %) та тетрацикліну (46,7 %) виявилася нижчою, однак клінічна доцільність їх застосування залишається дискусійною через нестабільну чутливість.

Сучасні дослідження у світі свідчать про тривожне зростання резистентності клінічних штамів *A. baumannii* до карбапенемів, зокрема до іміпенему та меропенему, що корелює з нашими результатами. Так, у ретроспективному дослідженні в центральному Китаї (2012–2021 рр.), дослідники повідомляють про зростання рівня резистентності *A. baumannii* до іміпенему з 55,07% (2012 р.) до 78,67% (2021 р.), а до меропенему – з 57,25 % до 79,62 % відповідно [243]. Резистентність *A. baumannii* до триметроприму/сульфаметоксазолу варіює залежно від регіону та конкретного штаму. У деяких випадках триметропим/сульфаметоксазол може бути ефективним варіантом лікування для чутливих штамів [244].

Аналіз одержаних нами результатів свідчить про надзвичайно високий рівень антимікробної резистентності клінічних ізолятів *P. aeruginosa*,

виділених від пацієнтів з інфекційними ускладненнями. У контексті сучасних рекомендацій EUCAST, які передбачають тестування псевдомонад лише до окремих представників бета-лактамів (піперациліну), виявлена 94,1% резистентність до піперациліну є критичною та свідчить про суттєве зниження ефективності пеніцилінів у лікуванні інфекцій, викликаних *P. aeruginosa*.

Наукові публікації різних країн також підтверджують високу резистентність клінічних штамів *P. aeruginosa* до піперациліну. *Nilofar Saeli* та співавтори у 2024 р. у дослідженні 96 аміноглікозидорезистентних штамів *P. aeruginosa* виявили більшість з них стійких до піперациліну (88,5 %) [245]. Інші дослідники виявили, що серед 95 ізолятів *P. aeruginosa*, виділених в опікових центрах від пацієнтів та з навколишнього середовища, 72,6 % були резистентні до піперациліну (2023 р.) [246]. Цефалоспорини, включаючи цефтазидим та цефепім, виявились переважно неефективними (94,1–100,0 %). Навіть захищена форма – цефтазидим/авібактам – продемонструвала обмежену активність: лише 23,5 % ізолятів були чутливими, що, однак, стало найкращим показником серед усіх досліджених β -лактамів.

У багатьох регіонах спостерігається зниження чутливості *P. aeruginosa* до цефтазидиму та цефепіму. Наприклад, у дослідженні 2024 науковців із Саудівській Аравії рівень чутливості становив лише 41,6% та 40% відповідно [247]. У багатьох країнах цефтазидим-авібактам (ЦА) демонструє вищу активність проти *P. aeruginosa*. Наприклад, у багатьох країнах рівень чутливості до ЦА перевищує 60 %, що робить його важливим варіантом у лікуванні інфекцій, спричинених цим патогеном. У дослідженні, проведеному в рамках програми ATLAS, було проаналізовано 29 746 ізолятів *P. aeruginosa*. Загальна чутливість до ЦА становила 90,9 %. Серед MDR та XDR ізолятів чутливість до ЦА була нижчою, але залишалася значною — до 60,7% [248].

Критично низька чутливість псевдомонад до карбапенемів (іміпенем – 100% резистентності; меропенем – 76,5 %) підтверджує виснаження ефективного терапевтичного арсеналу проти цих збудників. Навіть за умов підвищеної експозиції меропенему лише 17,6 % штамів були віднесені до

умовно чутливих, що свідчить про погіршення клінічного прогнозу. Нещодавні дослідження (2023-2025 рр.) свідчать про високий рівень резистентності клінічних штамів *P. aeruginosa* до карбапенемів у різних регіонах світу. У дослідженні, проведеному в північному Китаї, 98,6 % ізолятів *P. aeruginosa* були стійкими до іміпенему, а 78,9 % – до меропенему [249]. У національному дослідженні в Японії виявлено, що *P. aeruginosa* були резистентними до іміпенему (96,1 %) та до меропенему (100 %) [250]. Повна резистентність до фторхінолонів (ципрофлоксацин, левофлоксацин) узгоджується з даними світових досліджень, що вказують на швидке поширення механізмів мультирезистентності серед псевдомонад [251].

Окремо варто відзначити високу стійкість до аміноглікозидів: усі ізоляти були резистентними до амікацину, а також 94,1% – до гентаміцину та тобраміцину. Така ситуація значно ускладнює вибір ефективної емпіричної терапії та потребує застосування комбінованих підходів до лікування, включаючи можливе використання колістину або нових антибіотиків, зокрема цефідероколу. Актуальні дані з нещодавніх досліджень також підтверджують високий рівень резистентності клінічних штамів *P. aeruginosa* до аміноглікозидів у різних регіонах світу. У дослідженні, проведеному в Єгипті, виявлено, що 94,3 % ізолятів *P. aeruginosa* були резистентними до одного або більше аміноглікозидів. Усі мультирезистентні та екстензивно резистентні ізоляти виявили резистентність до принаймні одного аміноглікозиду [252].

Отримані результати вказують на надзвичайно високий рівень АБР серед клінічних штамів *K. pneumoniae*. Повна резистентність до усіх досліджених пеніцилінів і цефалоспоринів, включно із захищеними (ампіцилін/сульбактам, піперацилін/тазобактам), є підтвердженням глибокого порушення ефективності класичних β -лактамів щодо *Klebsiella spp.* Попри це, комбінація цефтазидиму з авібактамом продемонструвала відносно вищу активність (64,3 % чутливих штамів).

Наші дані підтверджуються результатами досліджень в інших країнах. Наприклад, проведене дослідження у Польщі (2017-2021 рр.) показало, що

серед штамів *K. pneumoniae*, які продукують β -лактамази розширеного спектра (ESBL), рівень резистентності до цефалоспоринов другого, третього та четвертого поколінь становив 95–100 % [253]. Важливий факт встановлення 100 % резистентності досліджуваних штамів до монобактаму (азтреонам) та фторхінолонів (ципрофлоксацин, левофлоксацин, моксіфлоксацин). Подібні дані свідчать про поширення у клінічному середовищі стійких до кількох класів антибіотиків генотипів, зокрема ST258, які асоціюються з високою летальністю інфекцій [251, 254].

Висока резистентність ізолятів *K. pneumoniae* до монобактамів підтверджується дослідниками із Китаю (2023): всі дослідженні 109 штамів, отриманих з різних клінічних зразків, були резистентні до азтреонаму [255]. Актуальність наших даних високої резистентності *K. pneumoniae* до фторхінолонів підтверджується, наприклад, дослідженням ізолятів *K. pneumoniae*, отриманих з гемокультур пацієнтів у Польщі (2023 рік), 81,4% штамів були резистентні до ципрофлоксацину [256].

Серед карбапенемів іміпенем залишався найефективнішим: до нього зберігали чутливість 57,1 % штамів. Однак більше половини ізолятів виявляли фенотипові ознаки стійкості до ертапенему і меропенему, що може свідчити про набуття метало- β -лактамаз або OXA-карбапенемаз, типових для *Klebsiella spp.* [257, 258]. Аналіз даних щодо аміноглікозидів виявив повну резистентність до тобраміцину (100 %), значну частку резистентності до гентаміцину (64,3 %) і помірну до амікацину (50,0 %) [259, 260].

Дані публікацій свідчать про зростаючу проблему резистентності *K. pneumoniae* до карбапенемів у різних регіонах світу, хоча вони ще залишаються досить ефективними, що спостерігалось і в нашому дослідженні [110]. Наприклад, дослідники з Румунії проаналізували, що резистентність до іміпенему та меропенему зросла з 25,4% (2018 р.) до 54,5% (2023 р.) [261].

Найвищу активність продемонстрували тетрациклінові антибіотики, зокрема тигециклін, до якого зберігали чутливість 92,9 % штамів, що вказує на перспективність його в лікуванні тяжких інфекцій, спричинених

мультирезистентними *Klebsiella spp.*, особливо в умовах відсутності альтернатив. Значна частка стійких штамів до триметоприму/сульфаметоксазолу (92,9 %) та ніфурантоїну (92,9 %) ще раз підкреслює обмеженість пероральних варіантів антибіотикотерапії інфекцій. Наші результати підтверджуються результатами, отриманими в інших країнах, наприклад у Китаї дослідження профілів резистентності клінічних штамів *K. pneumoniae* у 2019-2021 рр. виявило 100 % чутливість до тетрациклінів [262]. Водночас, у дослідженнях, проведених у 2023 та 2025 роках, наголошується на появі резистентних до тетрациклінів штамів [263, 264].

Результати нашого дослідження свідчать про тривожну картину АБР клінічних штамів *E. coli*, особливо щодо β -лактамних антибіотиків. Повна резистентність до всіх пеніцилінів та цефалоспоринів, включно з інгібіторозахищеними комбінаціями, такими як ампіцилін/сульбактам та піперацилін/тазобактам, підкреслює гостру проблему втрачених терапевтичних опцій. Водночас, збережена висока чутливість до цефтазидим/авібактаму свідчить про його потенціал як ефективної альтернативи при боротьбі з мультирезистентними штамми *E. coli*.

З іншого боку, результати демонструють, що фторхінолони, аміноглікозиди (амікацин, гентаміцин, тобраміцин), а також нітрофурантоїн, триметоприм/сульфаметоксазол, тетрацикліни та тигециклін залишаються ефективними, адже усі досліджувані ізоляти *E. coli* проявляли 100 % до них чутливість. Важливо відзначити, що до карбапенемів іміпенему та меропенему чутливість була присутня при підвищеній експозиції, що вказує на можливість їх обережного використання в клінічній практиці.

Отримані дані узгоджуються з сучасними тенденціями, за якими *E. coli* часто демонструє високий рівень резистентності до β -лактамних антибіотиків, що пов'язано з поширенням ESBL та інших механізмів резистентності [265, 266]. Проте, збереження чутливості до цефтазидим/авібактаму та інших груп антибіотиків відкриває перспективи для оптимізації терапії.

Актуальні дослідження із інших регіонів світу свідчать про значну резистентність клінічних штамів *E. coli* до пеніцилінів та цефалоспоринів. Згідно з рядом досліджень, рівень резистентності *E. coli* до ампіциліну становив 99 %, що вказує на майже повну неефективність цього антибіотика проти досліджених штамів [267]. Іншими дослідниками виявлено, що 100% штамів *E. coli*, які продукують розширеноспектрні ESBL, були резистентними до ампіциліну та піперациліну, цефотаксиму та цефтріаксону [268].

У нашому дослідженні також виявлено повну резистентність клінічних штамів *E. cloacae* complex до широкого спектру β -лактамних антибіотиків, включаючи інгібіторозахищені комбінації, а також до фторхінолонів, нітрофурантоїну та тобраміцину. Ці дані свідчать про високий рівень антибіотикорезистентності в даній групі бактерій. Повна резистентність до β -лактамів може бути пов'язана з активним виробництвом β -лактамаз, включно з ентеробактерними карбапенемазами та іншими ферментами, що руйнують антибіотики цього класу. Водночас позитивним є збереження чутливості до амікацину, гентаміцину, триметоприму/сульфаметоксазолу та тетрациклінів, що відкриває можливості для використання цих препаратів у лікуванні.

Дослідниками із інших країн виявлено, що штам *E. cloacae* демонструють високу резистентність до ертапенему, меропенему та іміпенему. Зокрема, встановлено, що в Шаньдуні, Китай, 100 % штамів були резистентні до ертапенему, а більшість із них також були резистентні до меропенему та іміпенему [269]. Інше дослідження виявило, що 100 % штамів *E. cloacae* були резистентні до ампіциліну та амоксициліну/клавуланової кислоти, що підкреслює серйозність ситуації [270].

Як зауважують Kristina Černiauskienė та співавтори, зростаюча кількість доказів свідчить про втрату критично важливих антимікробних препаратів у всьому світі та підкреслює необхідність захисту наявних антибіотиків та розробки нових [232].

Проведений аналіз фенотипових проявів чутливості досліджуваних клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, які спричиняють

інфекційні ускладнення дозволив визначити провідні фенотипові резистотипи. Отримані результати дослідження свідчать про високий рівень фенотипової резистентності. Найбільш критична ситуація спостерігалася серед штамів *A. baumannii*, для яких визначено два основні резистотипи з мульти- (резистентні до усіх пеніцилінів, цефалоспоринів та фторхінолонів - 53,3 %) та панрезистентним профілем (резистентні до усіх цефалоспоринів, фторхінолонів, карбапенемів та аміноглікозидів - 46,7 %). Зокрема, майже половина ізолятів (46,7 %) була стійкою до карбапенемів та аміноглікозидів, що значно ускладнює вибір ефективної терапії.

Подібна ситуація з високим рівнем резистентності була характерна для штамів *P. aeruginosa*, серед яких 76,5 % ізолятів проявили повну стійкість до всіх досліджених антибактеріальних препаратів. Такі дані підтверджують зростання клінічно значущих штамів PDR, які є серйозною загрозою в умовах стаціонарів інтенсивної терапії [271].

Водночас, для *K. pneumoniae* спостерігали більшу гетерогенність резистентних фенотипів, що свідчить про активні процеси горизонтального перенесення генів резистентності та адаптацію до антибіотиків різних класів. Встановлення двох основних резистотипів дозволяє охарактеризувати типові профілі стійкості: від резистентності до кількох основних груп антибіотиків до форм майже тотальної стійкості за винятком тетрациклінів.

У ході проведеного дослідження всі клінічні ізоляти *E. coli* продемонстрували фенотипову резистентність до пеніцилінів та незахищених цефалоспоринів, що дозволило виокремити один домінантний резистотип для даного виду. Така повна резистентність (100,0 %) до двох основних груп β -лактамних антибіотиків свідчить про поширеність відповідних механізмів стійкості, найімовірніше, пов'язаних із продукцією ESBL або ж хромосомних пеніциліназ.

Цей фенотип має важливе клінічне значення, оскільки пеніциліни та цефалоспорини традиційно розглядалися як препарати першої лінії для лікування інфекцій, спричинених *E. coli*, особливо в урологічній та

абдомінальній практиці. Отримані дані підтверджують зростаючу необхідність перегляду емпіричних схем лікування інфекцій, з обов'язковим урахуванням локальних даних резистентності.

Отримані результати узгоджуються з даними досліджень, проведених в Україні та за кордоном. Так, згідно з результатами дослідження АУРА (2020 р), в Україні спостерігається критична ситуація з антибіотикорезистентністю *E. coli*, зокрема, резистентність до карбапенемів досягла 8,5% [272]. Подібні показники реєструють і в країнах ЄС: за даними European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net, 2023), середній рівень резистентності *E. coli* до цефотаксиму та ампіциліну досягав 60 %, особливо у країнах Південної та Східної Європи [273].

У результаті проведеного дослідження встановлено домінантний фенотип резистентності серед клінічних штамів *E. cloacae* complex, що характеризувався повною стійкістю до всіх β -лактамних антибіотиків, фторхінолонів, нітрофурантоїну та тобраміцину. Такий широкий спектр резистентності свідчить про наявність множинних механізмів АБР, зокрема продукції індукованих або конститутивних хромосомних β -лактамаз класу AmpC, активних ефлукс-систем, мутацій у мішенях дії фторхінолонів, а також можливого наявного плазмідного механізму стійкості до аміноглікозидів та нітрофуранів [274-276].

Отримані результати узгоджуються з даними міжнародних досліджень, які вказують на зростання клінічної значущості *E. cloacae* complex як збудника важких госпітальних інфекцій, зокрема у відділеннях інтенсивної терапії. За даними ECDC (2022), резистентність штамів *E. cloacae* complex до цефалоспоринів третього покоління в країнах Європи варіює в межах 40–60 %, а до фторхінолонів і аміноглікозидів — 30–50 %, що свідчить про поширення мультирезистентних ізолятів [277].

Загалом, результати дослідження підтверджують наявність тривожних тенденцій щодо поширення множинної та панрезистентності серед клінічно значущих грамнегативних збудників.

Також було проведено дослідження генотипових детермінант резистентності клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, які спричиняють інфекційні ускладнення. Результати дослідження резистентності клінічних ізолятів *Acinetobacter spp.*, асоційованих з інфекційними ускладненнями, підтверджують надзвичайну генетичну пластичність цього роду бактерій у контексті набуття та реалізації механізмів антимікробної резистентності. Встановлена наявність широкого спектра генів, відповідальних за стійкість до різних класів антибіотиків (у середньому $12,5 \pm 3,7$ гена на ізолят), свідчить про комплексний характер адаптації *A. baumannii* антибіотиків.

Особливо показовим є 100 % виявлення генів *abaF* (кодує ефлюксну помпу) і *ant(3'')-IIa*, що асоціюються зі стійкістю до фосфоміцину та аміноглікозидів відповідно. Це свідчить про уніфіковану присутність базових механізмів резистентності у геномі досліджених штамів та високу селективну перевагу цих детермінант у клінічних умовах. Додатковими механізмами аміноглікозидної резистентності були гени *aph(3')-VIa* (80 %) та *armA* (46,7 %), що є маркерами високорівневої плазмід-опосередкованої резистентності, потенційно здатної до горизонтального перенесення [278, 279].

Особливо тривожним є виявлення високої частоти β -лактамазних генів, зокрема *blaOXA-72* (80 %) і *blaOXA-23* (40 %), які відповідають за карбапенемазну активність. Ці результати корелюють із глобальними тенденціями щодо поширення OXA-типу карбапенемаз серед *A. baumannii*, що асоціюються з епідемічними кластерами [280, 281]. Крім того, у 40 % ізолятів було виявлено *blaADC-152*, що відповідає за резистентність до цефалоспоринів [282].

Наявність хлорамфенікол-ацетилтрансферазного гена *catA1* у 80 % штамів підтверджує участь старих механізмів стійкості навіть до антибіотиків, які наразі рідко застосовуються, що свідчить про спадкову фіксацію відповідних генів у популяції [283]. Наявність значного відсотка штамів, що містять гени резистентності до тетрациклінів (*tet(B)* – 46,7%), макролідів

(*mph(E)*, *msr(E)* – 46,7%), а також аміноглікозидів (*aph(3'')-VIa* – 80%, *armA* – 46,7%) свідчить про здатність ацінетобактерій до накопичення множинних механізмів стійкості, що значно ускладнює вибір емпіричної терапії.

Цікавою є відсутність виявлених генетичних детермінант стійкості до фторхінолонів, попри клінічно зафіксовану фенотипову резистентність до них у ряді випадків. Це може свідчити про участь неklasичних або хромосомних механізмів стійкості, зокрема мутацій у генах *gyrA* та *parC*, або ж про надекспресію неспецифічних еффлюкс-систем, які не ідентифікувалися у досліджуваній панелі генів [284].

Ключовим висновком є встановлення сильного позитивного кореляційного зв'язку між кількістю виявлених генів резистентності та фенотиповою резистентністю штамів ($r = 0,87$; $p < 0,0001$). Це свідчить про прямий вплив генетичних детермінант на прояв фенотипової резистентності *A. baumannii* і підкреслює доцільність рутинного впровадження молекулярно-генетичних методів діагностики для прогнозування антимікробної резистентності.

Дослідження геномних детермінант антимікробної резистентності *P. aeruginosa*, ізольованих від пацієнтів з інфекційними ускладненнями, підтвердило полігенний характер стійкості цього патогену, що є типовим для неферментуючих грамнегативних бактерій. У середньому в геномі одного ізолята було ідентифіковано $14,4 \pm 3,6$ гена резистентності, що узгоджується з даними літератури, які свідчать про широке генетичне різноманіття у популяції *P. aeruginosa* [285].

Встановлено високу поширеність генів, пов'язаних із стійкістю до аміноглікозидів, з абсолютним домінуванням *aph(3')-IIIb* (100 %), а також значною частотою *ant(2'')-Ia*, *aph(3')-Ia*, *aph(6)-Id* та *aadA11* (по 35–47 %). Це свідчить про активне накопичення мобільних генетичних елементів, відповідальних за модифікацію аміноглікозидних молекул, що є ключовим механізмом зниження ефективності цього класу антибіотиків у лікуванні псевдомонадних інфекцій [286].

Ізоляти *P. aeruginosa* також були носіями множинних β -лактамазних генів, включно з *blaOXA-488* (64,7 %), *blaIMP-1* (47,1 %) та *blaPDC-12* (47,1 %). Виявлення метало- β -лактамази *blaIMP-1* є особливо клінічно значущим, оскільки такі ферменти забезпечують високу резистентність до карбапенемів, і часто пов'язані з міжвидовою передачею через інтегриони [287].

Усі штами досліджуваної когорти виявилися носіями *catB7* (резистентність до хлорамфеніколу) та *sulI* (сульфаніламід), що свідчить про наявність спільного резистентного ядра у клінічних ізолятах. Значний відсоток штамів мав також гени фторхінолонорезистентності (*qnrVC1*, *crpP*) — 70,6 %. Виявлення генів макролідної резистентності у 41,2 % ізолятів (особливо *mph(E)* і *mph(C)*) підтверджує широку генетичну адаптацію цього виду до різних груп антибіотиків, навіть до тих, що не є основними у його терапії [288].

Неочікуваним є результат кореляційного аналізу, згідно з яким спостерігали слабку обернену залежність між кількістю генів резистентності та кількістю антибіотиків, до яких штами були фенотипово стійкими ($r = -0,16$; $p > 0,05$). Це може свідчити про потенційний вплив на фенотипову експресію резистентності не лише наявних генів, а й їх транскрипційна активність, епігенетичні механізми, функціонування систем еффлоксу та поринові мутації, що не враховувалися в межах цього аналізу. Іншим гіпотетичним поясненням є функціональна неактивність окремих генів або відсутність умов для їх експресії *in vitro* [289].

Таким чином, дані нашого дослідження підтверджують складність мікробіологічної характеристики антимікробної резистентності *P. aeruginosa*, особливо враховуючи обмежену прогностичну силу одного лише геномного аналізу. Це підкреслює важливість поєднання фенотипового тестування з молекулярними методами для отримання достовірної інформації про реальний клінічний профіль резистентності при епідеміологічному нагляді.

У дослідженні встановлено, що клінічні штами *K. pneumoniae*, асоційовані з інфекційними ускладненнями, мали найбільшу кількість генів резистентності серед усіх досліджених видів – у середньому $20 \pm 5,0$ гена на

ізолят. Така генетична насиченість свідчить про високий рівень геномної пластичності та значний потенціал до накопичення мобільних генетичних елементів, зокрема плазмід, транспозонів і інтегронів, які кодують механізми антимікробної стійкості.

Найбільшою мірою представлені гени, що кодують β -лактамази широкого спектру дії – *blaTEM-1* (100,0 %), *blaSHV-38* (57,1 %), а також карбапенемази *blaNDM-1* (42,9 %) і *blaOXA-1* (35,7 %). Це узгоджується з глобальними даними про широке поширення в клінічних умовах генів β -лактамною резистентності, зокрема NDM-1, як одного з головних маркерів мультирезистентності *K. pneumoniae*. Наявність NDM-1 зумовлює високу стійкість до карбапенемів – антибіотиків резерву, що критично ускладнює вибір ефективної терапії [290].

Суттєвим є також виявлення значної кількості генів, які забезпечують стійкість до аміноглікозидів, серед яких найчастішими були *aph(3')-Ia* (57,1 %), *armA* (50,0 %) та *aph(3')-VI* (42,9 %) [291].

Окрім того, усі ізоляти були носіями *sulI*, *fosA* та *oqxA*, що обумовлює стійкість до сульфаніламідів, фосфоміцину та фторхінолонів відповідно. Наявність *oqxA* свідчить про активну експресію систем ефлюксу, що знижує внутрішньоклітинні концентрації різних антимікробних засобів, включаючи фторхінолони та деякі β -лактами [292].

Проведений кореляційний аналіз показав помірний, але статистично значущий прямий зв'язок між кількістю генів резистентності та кількістю антибіотиків, до яких ізоляти виявляли фенотипову стійкість ($r = 0,61$, $p < 0,02$). Це дозволяє припустити, що зростання генетичного резистомного навантаження в *K. pneumoniae* безпосередньо пов'язане з розширенням спектру антимікробної стійкості на фенотиповому рівні. Узагальнюючи, отримані дані можна стверджувати про надзвичайно високий рівень генотипової та фенотипової резистентності клінічних штамів *K. pneumoniae*, що підкреслює їх ключову роль у структурі нозокоміальних патогенів.

З урахуванням встановлених фенотипо-генотипових характеристик АБР наступним важливим етапом наших досліджень було вивчення чутливості клінічних штамів важливих нозокоміальних патогенів до сучасних антисептиків як перспективної альтернативи антибіотикам у боротьбі із антибіотикорезистентними штамми. Отримані результати свідчать про високу антипсевдомонадну ефективність деяких сучасних ПА антисептиків, що мають потенціал для місцевої терапії інфекцій, спричинених *P. aeruginosa*. Зокрема, декаметоксин, хлоргексидину біглюконат та октенідину гідрохлорид продемонстрували виражену антимікробну дію при суттєво нижчих концентраціях порівняно з скоротити.

Варто підкреслити, що статистично достовірна перевага цих трьох антисептиків над полігексанідом і бензалконієм хлоридом спостерігалась як за показниками МІК, так і МЦК ($p \leq 0,01$). Так, декаметоксин, хлоргексидин і октенідин пригнічували ріст *P. aeruginosa* при концентраціях у 2,9–4 рази нижчих, ніж полігексанід, та в 6,5–8,9 разів нижчих, ніж бензалконію хлорид. Бактерицидна дія цих засобів також була суттєво ефективнішою: загибель псевдомонад під дією полігексаніду та бензалконію хлориду наставала при значно вищих концентраціях ($192,5 \pm 27,70$ та $418,75 \pm 78,89$ мкг/мл відповідно), що в 1,9–2,7 та 4,1–5,8 разів перевищувало МЦК більш активних препаратів ($p \leq 0,01$).

Результати дослідження чутливості клінічних штамів *A. baumannii* до сучасних ПА антисептиків дозволили виокремити декаметоксин як найбільш ефективний засіб серед протестованих препаратів. Він продемонстрував найнижчі значення як мінімальної інгібуючої концентрації (МІК), так і мінімальної цидної концентрації (МЦК), що вказує на його потужну антимікробну дію проти *A. baumannii*, одного з провідних збудників нозокоміальних інфекцій, відомого високою АБР. Наприклад, його середня МЦК становила $36,24 \pm 3,90$ мкг/мл, що достовірно нижче, ніж у хлоргексидину (у 1,66 рази; $p \leq 0,01$), октенідину (у 1,97 рази; $p \leq 0,001$), полігексаніду (у 2,26 рази; $p \leq 0,001$) та бензалконію хлориду (у 3,9 рази; $p \leq 0,001$). Висока активність

хлоргексидину та октенідину також підтверджує їхню ефективність, проте їхні показники виявилися дещо нижчими за ефективністю. Полігексанід і бензалконію хлорид, хоча й проявляли антимікробну дію, поступалися за потужністю впливу усім іншим протестованим антисептикам ($p \leq 0,001$).

Результати дослідження чутливості клінічних ізолятів *K. pneumoniae* до сучасних антисептичних засобів засвідчили високу ефективність декаметоксину, хлоргексидину, октенідину та полігексаніду, що виявляли як інгібуючу, так і цидну дію при порівняно низьких концентраціях. Узагальнюючи отримані дані, можна стверджувати, що декаметоксин є найбільш ефективним серед досліджуваних антисептиків за обома критеріями антимікробної активності – інгібуючою і бактерицидною дією. Хлоргексидин і октенідин також демонстрували високу активність, що дозволяє рекомендувати їх для боротьби з клінічними штамами *K. pneumoniae*. У той же час, бензалконію хлорид слід вважати менш ефективним для лікування інфекцій, спричинених клебсієлами через значно вищі необхідні концентрації для досягнення цидного ефекту. Так, МЦК бензалконію достовірно перевищували показники декаметоксину в 3,32 рази, хлоргексидину – в 2,56 рази, октенідину – в 2,94 рази, а полігексаніду – в 2,33 рази ($p \leq 0,001-0,01$).

Проведене дослідження чутливості клінічних штамів *E. coli* до п'яти поширених антисептиків виявило перевагу октенідину та декаметоксину як за бактеріостатичною, так і за бактерицидною активністю. Отримані значення достовірно відрізнялись від таких для інших антисептиків у 1,33–2,11 рази ($p \leq 0,05-0,001$), що підтверджує їх вищу ефективність у гальмуванні росту *E. coli*. Схожу тенденцію спостерігали і при оцінці бактерицидної дії антисептиків. Бактерицидна дія ДМТ та ОКТ достовірно перевищувала таку в інших антисептиків у 1,47–2,38 рази ($p \leq 0,01-0,001$), але при цьому між собою їх активність не мала достовірної різниці ($p > 0,05$).

Результати дослідження показали, що серед п'яти досліджуваних антисептичних засобів найвищу антимікробну інгібуючу та цидну активність щодо клінічних штамів *Enterobacter spp.* продемонстрував декаметоксин. Його

середні значення МІК були статистично достовірно нижчими у 1,26–1,99 рази порівняно з іншими антисептиками ($p \leq 0,05$ – $p \leq 0,001$), за винятком октенідину, для якого різниця не була достовірною. Октенідин також показав достатні бактеріостатичні властивості, зокрема його ефективність достовірно перевищувала таку бензалконію хлориду у 1,58 рази ($p \leq 0,01$). Це дозволяє розглядати ОКТ як перспективний антисептик для контролю *Enterobacter spp.*, хоча він дещо поступається ДМТ. Октенідин, хлоргексидин і полігексанід продемонстрували схожі МІК, які були достовірно нижчими за показники бензалконію хлориду у 1,48–1,79 рази ($p \leq 0,05$ – $p \leq 0,001$), що підтверджує загальну нижчу ефективність останнього порівняно з рештою антисептиків.

У ході дослідження встановлено високу чутливість клінічних штамів *S. aureus* до широкого спектру сучасних антисептичних засобів. Зокрема, декаметоксин, хлоргексидин, октенідин та полігексанід продемонстрували подібну бактеріостатичну активність: значення МІК для них коливалися в межах 10,05–12,01 мкг/мл, без статистично достовірної різниці між цими препаратами ($p > 0,05$). Це свідчить про високий рівень ефективності зазначених антисептиків проти *S. aureus*, незалежно від належності до різних хімічних груп.

Водночас бензалконію хлорид продемонстрував істотно нижчу бактеріостатичну дію: середні МІК становили $22,63 \pm 2,95$ мкг/мл, що достовірно перевищувало значення для інших антисептиків у 1,88–2,25 рази ($p \leq 0,01$ – $p \leq 0,001$). Найвищі бактерицидні антистафілококові властивості були зафіксовані для декаметоксину та хлоргексидину. Так, МІК декаметоксину щодо *S. aureus* достовірно відрізнялись від октенідину у 1,26 рази ($p \leq 0,05$) та від бензалконію хлориду – у 1,99 рази ($p \leq 0,001$), вказуючи на його перевагу за цидною активністю.

Узагальнюючи результати, можна зробити висновок, що декаметоксин і хлоргексидин залишаються найбільш ефективними антисептиками проти *S. aureus* як у бактеріостатичному, так і в бактерицидному аспектах.

На основі отриманих результатів можна узагальнити, що антисептики, зокрема декаметоксин, хлоргексидин, октенідин та полігексанід володіють високою антимікробною активністю проти широкого спектра клінічно значущих полірезистентних збудників інфекційних ускладнень, включаючи неферментуючі грамнегативні бактерії (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*), ентеробактерії (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter spp.*) та грампозитивні коки (*S. aureus*). Найбільш ефективними з точки зору як бактеріостатичної, так і бактерицидної дії виявились декаметоксин, октенідин та хлоргексидин, які забезпечували пригнічення росту та знищення мікроорганізмів у значно нижчих концентраціях, ніж бензалконію хлорид. Особливо варто відзначити ефективність ДМТ, що стабільно демонстрував найнижчі МІК та МЦК серед усіх протестованих антисептиків, незалежно від виду патогену. Ці дані підтверджують доцільність і перспективність застосування зазначених антисептичних засобів у профілактиці та лікуванні інфекцій, асоційованих із медичним втручанням, особливо у випадках, коли антибіотикотерапія обмежена через полірезистентність збудників.

Наші дослідження підтверджуються результатами, отриманими іншими дослідниками. Наприклад, октенідин дигідрохлорид демонструє високу бактерицидну активність проти широкого спектра нозокоміальних патогенів. Згідно з дослідженням *Kathrin Schedler* та співавторів октенідин у концентраціях 0,05–0,1 % забезпечував бактерицидний ефект вже після 30–60 с експозиції навіть у присутності органічного навантаження. Також, автори наголошують, що полігексанід потребує триваліших експозицій та концентрацій, ніж октенідин [293]. Згідно з дослідженням, опублікованим у журналі *Wounds UK*, октенідин у концентраціях 0,05–0,1% проявляє мікробіцидну активність протягом 1 хв проти тестованих бактерій і грибів, включаючи *S. aureus*, *P. aeruginosa* та *C. albicans* [294].

Антимікробна резистентність сьогодні є однією з найгостріших загроз для глобального здоров'я. За оцінками ВООЗ, втрата ефективності антибіотиків може стати реальністю вже найближчими десятиліттями, що

потребує термінового пошуку альтернативних стратегій боротьби з бактеріальними інфекціями [295- 298]. У цьому контексті методи фізичного впливу, зокрема електрична стимуляція, набувають дедалі більшого значення завдяки своїй екологічній безпеці, відсутності селективного тиску на мікробіоту та можливості подолання існуючих механізмів резистентності. В нашому дослідженні було проведене вивчення дії на умовно-патогенні мікроорганізми біогальванічного мікроамперного струму без зовнішніх джерел живлення, який за даними медикобіологічних досліджень відомий своїми лікувальними властивостями та здатністю підвищувати антимікробний ефект на деякі види бактерій.

Отримані результати підтверджують ефективність дії електричних струмів низької інтенсивності як фізичного чинника, здатного значно знижувати життєздатність клітин *S. aureus* як референтного, так і клінічних полірезистентних штамів, залежно від умов середовища та часу експозиції.

У дослідженні доведено, що у фізіологічному розчині без додаткових поживних речовин життєздатність клітин знижувалась природним чином упродовж 48 год, однак під дією електричного струму це зниження відбувалося значно інтенсивніше. Так, оптична густина референтного штаму зменшувалась через 48 год дії струму – у 5,5 разів порівняно з контролем ($p \leq 0,05$). Клінічні штами *S. aureus* також продемонстрували чутливість до дії струму: на 24 та 48 год ОГ зменшувалась у 3,5 та 4 рази відповідно ($p \leq 0,01$). Ці зміни корелюють зі зниженням сили струму у пробірках із бактеріальними суспензіями, що може бути опосередковано пов'язане з адсорбцією іонів або змінами електропровідності внаслідок руйнування клітин.

У поживному середовищі (МПБ), за наявності умов для активного росту бактерій, дія струмів виявилась менш вираженою, проте статистично значущою. Доведено, що навіть за сприятливих умов з достатнім поживним забезпеченням, під впливом біогальванічного електричного струму спостерігається пригнічення розмноження референтного та клінічних штамів

S. aureus у 1,2 ($p \leq 0,01$) і 1,21 ($p \leq 0,05$) рази через 24 год та у 1,3 і 1,24 рази через 48 год ($p \leq 0,01$).

Результати дослідження продемонстрували, що вплив струмів низької інтенсивності на *A. baumannii* викликає помірне, але статистично значуще зменшення життєздатності клітин, яке залежить від штаму, середовища та тривалості експозиції. Експозиція тривала 24–48 год і призводила до загибелі бактерій, їх агрегації та утворення осаду, що вказувало на зменшення кількості життєздатних клітин. Такий ефект, ймовірно, пов'язаний з незворотною електропорацією – процесом, що супроводжується порушенням цілісності клітинної мембрани під дією електричного струму, і широко використовується при сильніших струмах короткої тривалості, зокрема для знезараження питної води та рідких харчових продуктів [299-301].

У фізіологічному розчині, що не містить поживних речовин, концентрація клітин у контролі змінювалася незначно: на 48 год спостерігалось лише незначне зростання ООГ у референтного штаму з $1,6 \pm 0,4$ до $1,7 \pm 0,3$, а у клінічних штамів – з $1,6 \pm 0,7$ до $1,9 \pm 0,4$, що свідчить про стабільне збереження життєздатності за відсутності фізичного впливу.

Під дією електричного струму референтний штам *A. baumannii* продемонстрував достовірне зменшення концентрації життєздатних клітин як на 24 год (у 1,7 рази; $p \leq 0,05$), так і на 48 год (у 1,55 рази; $p \leq 0,05$) порівняно з відповідними контрольними значеннями. У випадку клінічних штамів суттєвих змін на 24 год не спостерігали, проте через 48 год дія струму призвела до достовірного зниження ООГ у 1,6 рази ($p \leq 0,05$). Це свідчить про більш поступову, але реальну чутливість клінічних ізолятів до електричної дії, яка проявляється лише після подовженої експозиції.

У середовищі МПБ, яке забезпечує сприятливі умови для активного росту, референтні та клінічні штами демонстрували приріст біомаси впродовж усього періоду спостереження. Вплив струму у цих умовах був менш вираженим. На 24 год спостерігали незначне, недостовірне зниження клітинної маси клінічних штамів, тоді як на 48 год було зафіксовано

достовірне зменшення концентрації клітин у 1,18 рази ($p \leq 0,05$). Хоча відносне зниження менш значне порівняно з результатами у фізіологічному розчині, воно вказує на наявність бактеріостатичного ефекту навіть за умов достатнього живлення.

У ході експериментів було встановлено виражений цидний ефект мікроамперного струму проти клінічно значущих штамів *A. baumannii*, що характеризуються МЛС, що робить цей метод перспективним для медичного застосування. Подібні результати отримано й у дослідженні вчених, які вивчали вплив струмів силою 1–10 мА (при напрузі 0,5 В) на чутливі та резистентні штами *A. baumannii*. Автори виявили, що найбільш ефективним режимом для зниження кількості як резистентних, так і чутливих штамів був струм силою 5 мА з тривалістю експозиції 30 хв [302].

Загалом, ефективність електричного впливу на *A. baumannii* виявилась нижчою, ніж у випадку *S. aureus*, що може бути зумовлено видовими особливостями зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій, їх природною стійкістю до фізичних стресорів та здатністю до адаптації. При цьому чутливість клінічних штамів була нижчою на ранніх етапах, але проявлялась на пізніших термінах експозиції. Це підтверджує важливість тривалості дії при розробці потенційних фізичних антимікробних підходів.

Подальший напрям дослідження був спрямований на вивчення потенціалу поєднання фізичного фактора – мікроамперного електричного струму – з антимікробними препаратами для модулювання чутливості до антибіотиків у полірезистентних штамів *A. baumannii*. З огляду на зростання поширеності мультирезистентних ізолятів, особливо в умовах госпітального середовища, пошук підходів до підвищення ефективності традиційної антибіотикотерапії є надзвичайно актуальним.

Отримані результати продемонстрували виражений біоелектричний ефект, що проявлявся у значному зниженні мікробної резистентності до цефтазидиму після попередньої дії струму низької інтенсивності. Вихідні значення МІК та МБК для цефтазидиму були високими, проте попередня

експозиція бактерій до мікроамперного струму призвела до достовірного зниження МІК у 3,38 рази та МБК – у 4,18 рази ($p \leq 0,001$). Цей ефект можна трактувати як потенціювання дії антибіотика за рахунок фізичного попереднього впливу, що відкриває перспективи комбінованої терапії інфекцій, спричинених МЛС штамами. Імовірні механізми цього явища включають електрофорез, іонофорез та електропорез, які сприяють подоланню бар'єрів клітинної оболонки бактерій, а також проникненню антибіотика через біоплівку [303].

Ці дані узгоджуються з сучасними уявленнями про здатність фізичних чинників змінювати чутливість бактерій до антибіотиків і підтверджують, що електричний струм може бути ефективним модулюючим агентом у складі комбінованих стратегій проти полірезистентних патогенів.

Так, дослідники описали успішну інактивацію резистентних штамів *E. coli* методом електропорації за допомогою електричних полів напруженістю 5, 10, 15 і 20 кВ/см. Автори підтверджують синергічну дію електропорації та антибіотиків щодо резистентних мікроорганізмів. Крім того, зазначено, що ефект зберігався впродовж щонайменше 24 год після впливу, що дозволило подовжити період вразливості бактерій [299].

Результати дослідження показали, що *P. aeruginosa*, як референтні, так і клінічні штами, зберігали здатність до виживання і навіть до певного приросту концентрації клітин у фізіологічному розчині без дії зовнішніх чинників. Це узгоджується з відомими літературними даними щодо високої життєздатності псевдомонад у несприятливих умовах завдяки використанню залишкових поживних речовин та розвиненим механізмам адаптації [304-305]. Натомість дія мікроамперних струмів сприяла зниженню життєздатності псевдомонад, що проявлялося у достовірному зменшенні концентрації клітин у надосадових суспензіях, як для *P. aeruginosa* ATCC 27853 (у 1,45 рази на 24 год ($p \leq 0,01$) та у 2,4 рази на 48 год ($p \leq 0,001$)), так і для клінічних штамів, де ефект був менш вираженим, але статистично значущим (у 1,3 рази на 24 год

($p \leq 0,05$) та у 2,38 рази на 48 год ($p \leq 0,01$). Така закономірність свідчила про накопичення ефекту при тривалішій експозиції.

У МПБ всі штами, незважаючи на наявність поживних речовин та високий біосинтетичний потенціал *P. aeruginosa*, біоелектричний струм виявив супресивну дію на ріст бактерій. Так, у випадку референтного штаму було зафіксовано зменшення кількості клітин у 1,5 ($p \leq 0,05$) та 1,54 ($p \leq 0,01$) рази відповідно на 24 та 48 год. Для клінічних штамів ефект був подібним – зниження у 1,36 та 1,42 рази відповідно (обидва $p \leq 0,05$).

Таким чином, отримані дані свідчать про універсальність супресивного впливу мікроамперних струмів на життєздатність *P. aeruginosa* як в умовах дефіциту поживних речовин, так і при сприятливому середовищі для росту. Хоча ефект менш виражений у поживному середовищі, його наявність навіть за інтенсивного росту є важливим підтвердженням потенціалу струмів як допоміжного антибактеріального чинника.

Узагальнюючи, можна стверджувати, що використання струмів низької інтенсивності є перспективним напрямом для додаткового контролю росту *P. aeruginosa*, особливо у випадках, коли патоген демонструє високу стійкість до традиційної антимікробної терапії. Так, результати дослідження продемонстрували достовірне зниження резистентності клінічних полірезистентних штамів *P. aeruginosa* до β -лактамних антибіотиків після попереднього впливу мікрострумів. Після дії мікроамперного струму відзначалося суттєве зниження показників МІК та МБК цефтазидиму та цефепіму щодо штамів псевдомонад, які попередньо мали ознаки антибіотикорезистентності. Так, середнє значення МІК цефтазидиму знизилось у 2,67 рази ($p \leq 0,001$), а МБцК – у 3,33 рази. Для цефепіму ефект був ще більш вираженим: МІК зменшилась у 3,67 рази ($p \leq 0,001$), а МБцК – у 4,67 рази.

Таким чином, комбіноване застосування фізичних факторів із традиційними антибіотиками може стати ефективною стратегією подолання резистентності у клінічній практиці, особливо в умовах обмеженого вибору

антимікробних засобів. Цей підхід варто розглядати як перспективний напрям для подальших досліджень, включаючи вивчення ефективності щодо інших класів антибіотиків, біоплівкових форм існування бактерій.

Здатність до утворення біоплівок забезпечує додатковий рівень захисту бактерій від дії антимікробних агентів і факторів імунної відповіді. Особливо це актуально для полірезистентних штамів *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa*, які широко асоціюються з інфекційними ускладненнями в умовах стаціонарів і становлять серйозну загрозу для глобального здоров'я [306-309]. Це обумовлює необхідність пошуку альтернативних терапевтичних безпечних з екологічної точки зору антибактеріальних технологій, здатних обходити механізми бактеріальної резистентності та забезпечувати ефективне лікування [2]. За останні роки все більший інтерес наукової спільноти привертає застосування електричної стимуляції для боротьби з бактеріальними інфекціями [310, 311]. Біоелектричний ефект, за якого електричний струм впливає на ріст і життєздатність бактерій або підсилює дію біоцидів, розглядають як нову стратегію проти резистентних мікроорганізмів. Струм здатен порушувати мембранний потенціал, збільшувати проникність клітин та спричиняти утворення токсичних для бактерій форм кисню [312].

Результати нашого дослідження підтвердили, що попередній вплив біогальванічного струму низької інтенсивності на полірезистентні клінічні штами *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa* знижує їх здатність до формування біоплівок. Це явище спостерігали як після дії струму у поживному середовищі, так і після дії струму в умовах ізотонічного розчину натрію хлориду. При цьому, більш виражене пригнічення біоплівкоутворення фіксували саме у культур, які перебували у фізіологічному розчині, що, ймовірно, пов'язано з підвищеним рівнем стресу внаслідок відсутності поживних речовин. Такий стрес знижує здатність бактерій до відновлення та утворення біоплівок після дії фізичного чинника [313].

Після 24-годинного впливу струму в ізотонічному розчині натрію хлориду було зафіксовано статистично достовірне зниження інтенсивності

біоплівкоутворення: для *S. aureus* — на 33,8 %, *A. baumannii* — на 28,0 %, *P. aeruginosa* — на 16,31 % ($p < 0,05$ – $0,0001$). Подібна тенденція простежувалась і в умовах м'ясо-пептонного бульйону, хоча ступінь інгібування був дещо меншим: 28,26 %, 24,82 % та 11,89 % відповідно. Варто зазначити, що для *P. aeruginosa* в живильному середовищі зміни не були статистично значущими, що, ймовірно, пов'язано з більш високою базовою стійкістю цієї бактерії до стресових факторів або здатністю ефективно компенсувати електричний вплив шляхом активації захисних механізмів [215, 314].

Таким чином, отримані результати свідчать, що біогальванічні струми низької інтенсивності здатні ефективно інгібувати біоплівкоутворення навіть у високорезистентних бактеріальних ізолятів, що відкриває нові можливості для комплексного антимікробного підходу, який включатиме фізичні чинники як доповнення до класичної антимікробної терапії. Такі ефекти без залучення зовнішніх джерел енергії є перспективними з погляду практичного використання в клінічних умовах, зокрема для попередження або зменшення біоплівок на поверхнях медичних імплантів, катетерів або перев'язувальних матеріалів.

Наші висновки узгоджуються з результатами інших досліджень. Так, дослідники показали, що електричний струм малої сили (1–10 мА), застосований до біоплівок *S. aureus* на зубних імплантатах (титан, цирконій), знижував адгезію бактерій, сприяв їх відокремленню та руйнував бактеріальні клітини. Автори підкреслюють, що низькоінтенсивна електрична стимуляція здатна ефективно зменшувати кількість бактерій і біоплівок [315].

Крім того, доведено, що електричний струм може підсилювати дію антисептиків проти біоплівок. Наприклад, відомі дані про те, що поєднання електричного струму з хлоргексидином підвищує його ефективність щодо біоплівок *E. faecalis* у системі іригації корневих каналів [316].

Окремим напрямом є розробка електроактивних матеріалів, які активуються електричними стимулами, зокрема для створення антимікробних покриттів для ран. Такі матеріали можуть ефективно руйнувати захисні

структури біоплівки і знищувати бактерії з множинною стійкістю до антибіотиків. Це відкриває нові можливості для створення безпечних та екологічно орієнтованих підходів до профілактики та лікування інфекцій [317, 318].

Останніми роками спостерігається зростання зацікавленості до фізичних методів впливу на резистентні мікроорганізми як перспективної альтернативи традиційній антибіотикотерапії. Зокрема, досліджується можливість використання електричного струму та електромагнітних полів для знезараження питної води [319], очищення стічних вод лікарень [320] і побутових каналізаційних стоків [321], обробки морської води [322, 323], харчових продуктів [311], а також для руйнування бактеріальних біоплівок [324].

Електрифіковані процеси становлять собою фізичну альтернативу інактивації патогенів, яка вирізняється низькою вартістю реалізації та відсутністю залежності від хімічних реагентів. Варто зазначити, що електростимуляційні методи (постійний та змінний струми низької інтенсивності) демонструють виражену бактерицидну або бактеріостатичну дію. Додатково в низці досліджень зафіксовано позитивний вплив слабких електричних струмів на процеси загоєння ран за рахунок пригнічення росту патогенних бактерій, пов'язаних із хронічними ураженнями шкіри [311].

Хоча початкові дослідження здебільшого зосереджувалися на впливі високих рівнів напруги та струму, сучасні роботи підтверджують, що навіть низькі значення електричного впливу здатні ефективно знищувати мікроорганізми та руйнувати біоплівки [318, 325, 326].

Традиційний підхід до боротьби з бактеріальними інфекціями, заснований на використанні антибіотиків, більше не гарантує належного захисту, особливо у разі збудників із МЛС. Водночас відомі підходи із застосуванням біологічних чинників впливу на бактерії. У цьому контексті фаготерапія – застосування бактеріофагів для таргетного знищення

бактеріальних клітин – знову привертає увагу наукової спільноти як перспективна альтернатива або доповнення до антибіотикотерапії [327].

Результати нашого дослідження демонструють перспективність застосування препарату «Піофаг бактеріофаг полівалентний» для боротьби з клінічно значущими штамами *P. aeruginosa*. Використана нами методика, що враховує фазу росту бактерій та передбачає визначення індексу літичної дії, дозволила якісно оцінити ефективність «фагового коктейлю» (суміші бактеріофагів).

Отримані дані свідчать про те, що антипсевдомонадний компонент препарату виявляє виражену літичну активність щодо досліджених клінічних ізолятів *P. aeruginosa*. Це підтверджує наявність фагоспецифічної дії, що варіюється залежно від фенотипових особливостей окремих штамів та вказує на його високий потенціал полівалентного препарату «Піофаг» у боротьбі з псевдомонадами.

Загальна частка штамів *P. aeruginosa*, що продемонстрували чутливість до «Піофагу» (високу та помірну), становила 70,4%, що можна вважати достатньо високим рівнем фагочутливості серед клінічних ізолятів. Найбільш виражений літичний ефект був зафіксований у групі високочутливих штамів, для яких середній індекс чутливості склав $0,95 \pm 0,007$. Це вказує на значне зниження щільності бактеріальної популяції після впливу фагів і свідчить про потенційну ефективність препарату при лікуванні інфекцій, спричинених такими ізолятами. Індикація штамів із середнім рівнем чутливості (індекс $0,65 \pm 0,024$) також підтверджує ефективність фаготерапії у більшості випадків, хоча ймовірність залишкової бактеріальної життєздатності в таких умовах є вищою. Ці результати узгоджуються з концепцією комбінованого або повторного застосування фагів для досягнення повної ерадикації збудника [328-330].

Водночас виявлення 29,6% стійких або помірно-стійких до «Піофагу» штамів свідчить про обмеження у застосуванні цього біопрепарату як універсального засобу. Зокрема, для стійких ізолятів середній індекс

чутливості становив лише $0,098 \pm 0,026$, що фактично означає відсутність ефективного фаголізу [331].

Окремої уваги заслуговує категорія помірно-стійких штамів, частка яких була незначною (3 ізоляти), однак значення їх індексу чутливості ($0,34 \pm 0,020$) наближалось до межі, що розділяє цю групу зі стійкими штамами. Це вказує на потенційний ризик швидкого формування повної стійкості при неадекватному застосуванні фаготерапії або за відсутності комплексного підходу до лікування [332].

Таким чином, результати дослідження підтверджують доцільність включення полівалентного бактеріофагу як додаткового або альтернативного засобу до існуючих схем лікування полірезистентних псевдомонадних інфекцій. Поряд із цим, для ефективної реалізації потенціалу фаготерапії необхідно також застосовувати персоніфікований підхід із обов'язковим попереднім тестуванням чутливості ізоляту до конкретного фагового препарату.

Дані наших досліджень перекликаються із сучасними дослідження науковців світу. Згідно яких відомо, що фагові коктейлі, які включають кілька лізогенних бактеріофагів, здатні ефективно лізувати полірезистентні штами *P. aeruginosa* [333].

Результати проведених досліджень засвідчили важливість оцінки впливу фаготерапії не лише на планктонні, але й на плівкові форми *P. aeruginosa*, з огляду на ключову роль біоплівок у патогенезі хронічних інфекцій та їх стійкості до антибактеріальної терапії [334, 335].

Як відомо, в умовах *in vivo* *P. aeruginosa* швидко утворює біоплівки, що значною мірою знижує ефективність антимікробних засобів через зменшену метаболічну активність бактерій та фізичний бар'єр, створений матриксом біоплівки [336-338].

На першому етапі (який передбачав дослідження процесу плівкоутворення в присутності фагового коктейлю) було встановлено, що полівалентний бактеріофаг «Піофаг» здатен затримувати процес

плівкоутворення клінічними ізолятами *P. aeruginosa* залежно від їх чутливості до препарату, який найбільш помітний серед високо чутливих штамів, що підтверджувалося статистично достовірним зменшенням індексу плівкоутворення ($p=0,006$) на 22,2% у порівнянні з контролем. У групі чутливих штамів також спостерігали зниження плівкоутворення (на 10,6 %), однак без статистичної достовірності. Водночас ізоляти, стійкі до піофагу, не лише не демонстрували зниження плівкоутворення, а іноді мали навіть підвищене значення індексу (до 100,1 % відносно контролю), що свідчить про повну несприйнятливість біоплівкових форм до впливу фагу в таких випадках.

Дослідження ефективності фагових коктейлів проти незрілих біоплівок *P. aeruginosa* демонструють перспективні результати як в умовах *in vitro*, так і в експериментальних моделях. Зокрема, у дослідженні, опублікованому в журналі *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, було показано, що попередня обробка катетерів фаговим коктейлем зменшила щільність біоплівки на 99,9 % через 48 год інкубації порівняно з необробленими зразками ($p < 0,001$) [339].

З цих позицій важливим аспектом дослідження стало вивчення впливу фагового коктейлю на вже сформовану біоплівку. Встановлено, що взаємодія бактеріофагів з раніше сформованими біоплівками *P. aeruginosa* призводить до призупинення подальшого їх розвитку. Це підтверджується статистично достовірним зниженням індексу плівкоутворення у 1,3 раза порівняно з контрольними значеннями після 50 год інкубації ($p=0,003$). Таким чином, отримані дані свідчать про високу ефективність піофагу в профілактиці формування біоплівки чутливими до нього штамми *P. aeruginosa*, але обмежену дію щодо руйнування вже зрілих біоплівкових структур. Це підкреслює необхідність раннього застосування фаготерапії або комбінованого підходу, що поєднує фаги з іншими засобами, здатними порушити матрикс біоплівки, наприклад, з муколітичними речовинами або розчинниками [340, 341]. Подальші дослідження мають бути спрямовані на створення композицій, здатних ефективно проникати у біоплівку та руйнувати

її матрикс, а також на оцінку динаміки комбінованого лікування в умовах *in vivo*.

Отримані результати дослідження комбінованої дії антисептиків і бактеріофагів демонструють, що ПА антисептики, зокрема декаметоксин, хлоргексидину біглюконат та октенідину дигідрохлорид, не лише не інактивують бактеріофаги при короткотривалому (до 5 хв) контакті, але й потенційно посилюють їхню літичну активність проти клінічних ізолятів *P. aeruginosa*. Це особливо важливо у контексті клінічного використання бактеріофагів разом із антисептичними засобами, що є важливою частиною місцевої терапії гнійно-запальних уражень, спричинених мультирезистентними штамами бактерій.

Дані свідчать про те, що бактеріофаг «Піофаг» зберігає свою активність у суміші з антисептиками навіть при концентраціях останніх, що перевищують визначені МІК, що підтверджує нечутливість фагових часток до дії детергентів. Крім того, ефективність літичної дії фагу в умовах сумісного застосування з антисептиками (декаметоксин, хлоргексидину біглюконат, октенідину дигідрохлорид) підтверджується і в експерименті з використанням 25 % від встановленої МІК, де бактеріостатична дія антисептика була мінімальною, однак індекс чутливості до фагу достовірно зростав ($p \leq 0,01$).

Синергічний ефект виявлено як у чутливих до фагу ізолятах, так і у фагорезистентних штаммах, де індекс чутливості зростав у 3,6–4,7 рази залежно від антисептика ($p \leq 0,003$). Це особливо важливо в клінічному контексті, адже відкриває перспективу зменшення кількості фагорезистентних штамів при одночасному застосуванні суббактеріостатичних доз антисептиків. Зафіксовано зміну розподілу чутливості штамів: кількість високо чутливих ізолятів до фагу зростала, тоді як кількість резистентних – зменшувалась. Така динаміка може вказувати на модифікацію фенотипової чутливості бактерій до фагу під впливом суб-МІК доз антисептиків.

Варто відзначити, що не всі антисептики демонстрували статистично значущий синергічний ефект. Так, бензалконію хлорид і полігексанід лише

незначно змінювали чутливість бактерій до фагу, і ці зміни не досягли статистичної значущості. Це може бути пов'язано з менш вираженим механізмом порушення цілісності клітинної стінки (зовнішньої мембрани) або іншими особливостями взаємодії з фагами.

Таким чином, отримані дані підтверджують можливість і доцільність комбінованого застосування бактеріофагів і деяких антисептиків у клінічній практиці, що дозволяє підвищити ефективність антимікробної терапії, зменшити ймовірність збереження фагорезистентних штамів та потенційно розширити коло ефективного фаготерапевтичного впливу.

Наукові дослідження підтверджують, що поєднання бактеріофагів із антисептичними засобами може мати синергічний антимікробний ефект, зокрема щодо *P. aeruginosa*. Це відкриває нові перспективи для лікування інфекцій, спричинених МР штамми цього збудника. Хоча більшість досліджень зосереджуються на комбінації бактеріофагів з антибіотиками [342, 343], деякі дослідження також розглядають взаємодію фагів з іншими антимікробними агентами, включаючи антисептики.

У дослідженні *Liu et al.* (2023) було виявлено, що поєднання бактеріофага vB3530 з субінгібуючими концентраціями ХГД значно підвищує ефективність знищення ХГД-резистентних штамів *P. aeruginosa*. Комбінація цих агентів не лише зменшувала кількість життєздатних бактеріальних клітин, але й обмежувала появу нових резистентних штамів до обох агентів. Крім того, така комбінація ефективно знижувала бактеріальне навантаження на поверхнях медичних пристроїв, що свідчить про потенціал використання фагів як доповнення до традиційних дезінфекційних засобів [344].

ВИСНОВКИ

Дисертаційне дослідження містить результати наукового мікробіологічного обґрунтування вирішення актуальної наукової задачі з розробки та доцільності застосування альтернативних засобів протимікробної дії для підвищення ефективності боротьби з умовно-патогенними антибіотикорезистентними пріоритетними збудниками інфекційних ускладнень в сучасних умовах.

1. Дослідження властивостей провідних мікробних патогенів, які спричиняють інфекційні ускладнення, підтвердило високий рівень антибіотикорезистентності серед клінічних штамів мікроорганізмів, які виявляли фенотипову стійкість до більшості основних фармакологічних груп антибіотиків (47,4–100,0%), зокрема пеніцилінів (*P. aeruginosa* – 92,6 %; *E. coli* та *E. cloacae complex* – 100 %, *S. aureus* – 47,1-52,9 %) цефалоспоринів (*P. aeruginosa* – 74,1-92,6 %; *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli* та *E. cloacae complex* – 100 %, *S. aureus* – до 70,6 %), карбапенемів (*A. baumannii* – до 84,2 %; *P. aeruginosa* – 74,1-100 %; *K. pneumoniae* 35,8 - 57,1 %), фторхінолонів (*A. baumannii* та *P. aeruginosa* – 100 %; *S. aureus* – 52,9-64,7 %) та аміноглікозидів (*A. baumannii* – 47,4 -63,2 %; *P. aeruginosa* – 57,1-92,6 %, *S. aureus* – 64,7-76,5 %), що корелює з наявністю генів резистентності, таких як *blaOXA*, *aph*, *sul1* (*r* Пірсона = 0,61–0,87, $p < 0,02$ –0,0001). Одержані дані засвідчують наявність у досліджуваній вибірці клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів домінуючих фенотипових резистотипів, а саме: для *A. baumannii* – резистентність до пеніцилінів, цефалоспоринів і фторхінолонів (52,6 %) та до цефалоспоринів, фторхінолонів, карбапенемів і аміноглікозидів (47,4 %); для *P. aeruginosa* – панрезистентність (74,1, %); для *K. pneumoniae* – резистентність до пеніцилінів, незахищених цефалоспоринів фторхінолонів і аміноглікозидів (50 %) та до всіх антибіотиків, окрім тетрациклінів (35,7 %); для *E. coli* – резистентність допеніцилінів і незахищених цефалоспоринів (100 %); для *E. cloacae complex* – стійкість до

всіх β -лактамів, фторхінолонів, нітрофурантоїну і тобраміцину; для *S. aureus* – резистентність до β -лактамів, фторхінолонів, аміноглікозидів (41,2 %) та до β -лактамів, аміноглікозидів і макролідів (23,55 %), що загалом свідчить про значну гетерогенність фенотипових проявів резистентності та відповідно потенційну вкрай низьку ефективність емпіричної антибіотикотерапії інфекцій, спричинених цими збудниками.

2. Аналіз генотипів досліджуваної вибірки клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів засвідчив наявність ключових молекулярно-генетичних детермінант антибіотикорезистентності, зокрема в *A. baumannii* встановлено наявність 9–19 генів резистентності (в середньому $12,5 \pm 3,7$), зокрема *abaF* і *ant(3)-IIa* (100%), *aph(3)-VIa* (84,2%), *blaOXA72* (84,2%), *catA1* (84,2%), *sul1/sul2* (73,7%), що мають сильний кореляційний зв'язок між кількістю генів і фенотиповою стійкістю ($r=0,87$, $p<0,0001$), вказуючи на домінування β -лактамаз (OXA-типу) та ефлюксних механізмів; наявність у *K. pneumoniae* найбільшої кількості генів резистентності ($20 \pm 5,0$) (*blaTEM-1*, *sul1*, *fosA*, *oqx4* (100%), *blaSHV-38* (57,1%), з їх помірною кореляцією ($r=0,61$, $p<0,02$) з фенотиповими резистотипами підкреслює роль β -лактамаз (TEM, SHV, NDM) і плазмідно-опосередкованої передачі резистентності; *E. coli* та *E. cloacae complex* демонструють стійкість через β -лактамази та ефлюксні механізми; у штамів *S. aureus* переважають гени, що обумовлюють стійкість до β -лактамів і аміноглікозидів. Водночас відсутність у клінічних штамів *P. aeruginosa* кореляції між визначеними генами ($14,4 \pm 3,6$), включаючи *aph(3)-IIb* (100%), *blaOXA488* (68,5%), *qnrVC1/crpP* (70,4 %), *catB7* і *sul1* (100%), та фенотиповою стійкістю вказує на складність механізмів резистентності. Це загалом визначає високий рівень множинної стійкості серед клінічних штамів умовно даних збудників, що посилює необхідність пошуку альтернативних підходів для боротьби з ними.

3. Дослідження показало, що катіонні поверхнево-активні антисептики, зокрема декаметоксин, хлоргексидин та октенідин, ефективно пригнічують ріст *A. baumannii* (МІК ($15,61 \pm 1,43$) – ($21,27 \pm 1,66$) мкг/мл),

P. aeruginosa (МІК $(16,4 \pm 2,43)$ – $(22,52 \pm 2,83)$ мкг/мл), *K. pneumoniae* (МІК $(17,17 \pm 1,75)$ – $(25,83 \pm 2,59)$ мкг/мл), *E. coli* (МІК $(12,22 \pm 1,93)$ – $(20,9 \pm 1,3)$ мкг/мл), *E. cloacae* (МІК $(18,42 \pm 1,56)$ – $(23,27 \pm 3,58)$ мкг/мл), *S. aureus* (МІК $(10,05 \pm 1,13)$ – $(11,51 \pm 0,62)$ мкг/мл) і чинять бактерицидну дію на полірезистентні клінічні штами цих збудників при застосуванні МЦК у межах $(18,45 \pm 1,74)$ – $(84,38 \pm 6,15)$ мкг/мл щодо *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *S. aureus* і щодо *P. aeruginosa* до $(102,5 \pm 10,75)$ мкг/мл що значно нижче за концентрації бензалконію хлориду та полігексаніду ($p \leq 0,05$ – $0,001$). Декаметоксин виявився достовірно найефективнішим, забезпечуючи найвищий бактерицидний ефект щодо штамів *A. baumannii* (МЦК $41,22 \pm 5,39$ мкг/мл), *K. pneumoniae* (МЦК $36,24 \pm 3,90$ мкг/мл) перевищуючи хлоргексидин та октенідин у 1,23–3,9 рази ($p \leq 0,05$ – $0,001$). Водночас, в порівнянні з референтними штамами бактерій, клінічні проявляють значно вищу стійкість до антисептиків, на що вказують в 1,9–16,75 рази вищі показники МІК та МЦК антисептиків щодо останніх ($p \leq 0,001$), що свідчить про наявність адаптаційних властивостей культур мікробних патогенів, особливо штамів *P. aeruginosa*, які асоціюють з інфекційними ускладненнями.

4. Згідно дослідження біогальванічний струм низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ефективно знижує кількісні показники мікробного навантаження при культивуванні антибіотикорезистентних штамів *S. aureus* та *A. baumannii* в ізотонічному розчині (в 3–5,5 та 1,55–1,7 рази відповідно, $p \leq 0,05$ – $0,01$) і сприяє частковому зменшенню цього ж показника в м'ясо-пептонному бульйоні (в 1,18–1,3 рази, $p \leq 0,05$ – $0,01$); забезпечує значне зниження концентрації клітин референтного та клінічних штамів *P. aeruginosa* в ізотонічному розчині та м'ясо-пептонному бульйоні, зменшуючи їх кількість у 1,3–2,4 рази ($p \leq 0,05$ – $0,001$). Застосування даного фізичного чинника ефективно пригнічує біоплівкоутворювальні властивості *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa*, знижуючи їх на 16–34 % в ізотонічному розчині та на 11–28 % у МПБ ($p \leq 0,05$ – $0,0001$), що свідчить про

доцільність застосування біогальванічного струму як альтернативного антимікробного чинника в боротьбі зі збудниками інфекційних ускладнень.

5. Під впливом біогальванічного струму на умовно-патогенні неферментуючі грамнегативні бактерії *A. baumannii* та *P. aeruginosa*, які спричиняють інфекційні ускладнення, зокрема їх клінічні штами, наділені стійкістю до цефалоспоринових антибіотиків, забезпечується зниження МІК та МЦК цефтазидиму щодо культур *A. baumannii* у 3,38–4,18 рази ($p \leq 0,001$), МІК і МЦК цефтазидиму та цефепіму щодо *P. aeruginosa* – у 2–4 рази ($p \leq 0,001$), що підтверджує перспективність використання біогальванічного струму як альтернативного підходу до подолання антибіотикорезистентності умовно-патогенних мікроорганізмів.

6. Використання біофакторів впливу на полірезистентних пріоритетних збудників інфекційних ускладнень, а саме полівалентних бактеріофагів забезпечує ефективне знищення 70,4 % клінічних мультиантибіотикорезистентних штамів *P. aeruginosa*, внаслідок високої літичної активності ($I_s=0,65-0,95$, $p \leq 0,01$) та здатності до пригнічення біоплівкоутворення на 22,2 % у високо чутливих штамів ($p=0,006$), водночас з відсутністю здатності руйнувати сформовані біоплівки ($p > 0,05$). Комбінація піофагу з суббактеріостатичними концентраціями антисептиків (декаметоксин, хлоргексидин, октенідин) сприяє синергічному підвищенню чутливості навіть фагорезистентних штамів у 3,6–4,7 рази ($p \leq 0,003$), зменшуючи кількість резистентних ізолятів до 1–2, що в свою чергу переконливо свідчить про ефективність комбінованих стратегій із використанням бактеріофагів в боротьбі з антибіотикорезистентними клінічними штамми *P. aeruginosa*.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. З урахуванням встановлених фенотипо-генотипових характеристик антибіотикорезистентності пріоритетних на сьогодні збудників інфекційних ускладнень, що свідчать про високий рівень фенотипової резистентності умовно-патогенних мікроорганізмів *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *S. aureus*, зокрема наявність характерних патернів, які формують для кожного виду домінантні фенотипові резистотипи, які корелюють з наявністю в клінічних штамів генів резистентності удосконалення ефективних стратегій антимікробної терапії та епідеміологічного моніторингу має передбачати впровадження систематичного фенотипового типування резистентності та запровадження рутинного використання молекулярно-генетичних методів діагностики для прогнозування антимікробної резистентності і своєчасного коригування терапевтичних стратегій, враховуючи складність механізмів стійкості. Такі підходи можуть слугувати підґрунтям для розробки локальних алгоритмів емпіричної антибіотикотерапії та посилення антимікробного нагляду.

2. Антисептики декаметоксин, хлоргексидин, октенідин та полігексанід, які володіють високою антимікробною активністю проти широкого спектру клінічно значущих полірезистентних збудників інфекційних ускладнень, включаючи неферментуючі грамнегативні бактерії (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*), ентеробактерії (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter spp.*) та грампозитивні коки (*S. aureus*) рекомендовані до застосування як альтернативні у профілактиці та лікуванні інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, з доступністю локального введення в потенційні вхідні ворота інфекції.

3. В умовах обмеженого вибору антимікробних засобів для підвищення ефективності боротьби з поліантибіотикорезистентними збудниками інфекційних ускладнень *S. aureus*, *A. baumannii* та *P. aeruginosa* в комплексі антимікробних підходів доцільно використовувати біогальванічний

мікроамперний струм без зовнішніх джерел живлення, який забезпечує через 24-48 год впливу достовірне зниження мікробного навантаження, пригнічення біоплівкоутворення даних мікроорганізмів, а також забезпечує синергічний ефект β -лактамних антибіотиків цефтазидиму та цефпіму на ацінетобактерії та псевдомонади, підвищуючи їх чутливість у 2-4 рази ($p \leq 0,001$).

4. З урахуванням доведеної антисиньогнійної активності засобів на основі полівалентних бактеріофагів ($I_s=0,65-0,95$, $p \leq 0,01$) доцільним є застосування бактеріофагів та їх комбінації з антисептиками як альтернативних засобів боротьби проти клінічних MDR-штамів *P. aeruginosa*, що дозволяє забезпечити безпосередньо літичну дію на фагочуливі бактерії, пригнічення біоплівкоутворення мікроорганізмами не менш, ніж на 22,2 % ($p=0,006$), а їх комбінація з суббактеріостатичними концентраціями антисептиків (декаметоксин, хлоргексидин, октенідин) забезпечує синергічну дію і підвищує чутливість фагорезистентних штамів у 3,6–4,7 рази ($p \leq 0,003$), зменшуючи кількість резистентних ізолятів, а отже і протимікробну ефективність.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ferraz, M. P. (2024). Antimicrobial Resistance: The Impact from and on Society According to One Health Approach. *Societies*, 14(9), 187. <https://doi.org/10.3390/soc14090187>
2. Salam, M. A., Al-Amin, M. Y., Salam, M. T., Pawar, J. S., Akhter, N., Rabaan, A. A., & Alqumber, M. A. A. (2023). Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, 11(13), 1946. <https://doi.org/10.3390/healthcare11131946>
3. Cameron, A., Esiovwa, R., Connolly, J., Hursthouse, A., & Henriquez, F. (2022). Antimicrobial Resistance as a Global Health Threat: The Need to Learn Lessons from the COVID-19 Pandemic. *Global Policy*, 13(2), 179–192. <https://doi.org/10.1111/1758-5899.13049>
4. Rabi, M. (2024). The global (health) governance of antimicrobial resistance. *Globalizations*, 1–21. <https://doi.org/10.1080/14747731.2024.2375455>
5. Aslam, B., Asghar, R., Muzammil, S., Shafique, M., Siddique, A. B., Khurshid, M., Ijaz, M., Rasool, M. H., Chaudhry, T. H., Aamir, A., & Baloch, Z. (2024). AMR and Sustainable Development Goals: at a crossroads. *Globalization and health*, 20(1), 73. <https://doi.org/10.1186/s12992-024-01046-8>
6. Sirota, M., & Juanchich, M. (2024). Seeing an apocalyptic post-antibiotic future lowers antibiotics expectations and requests. *Communications Medicine*, 4(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s43856-024-00567-y>
7. Tang, K. W. K., Millar, B. C., & Moore, J. E. (2023). Antimicrobial Resistance (AMR). *British journal of biomedical science*, 80, 11387. <https://doi.org/10.3389/bjbs.2023.11387>
8. Kim, C., Holm, M., Frost, I., Mateusz Hasso-Agopsowicz, & Abbas, K. (2023). Global and regional burden of attributable and associated bacterial antimicrobial resistance avertable by vaccination: modelling study. *BMJ Global Health*, 8(7), e011341–e011341. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2022-011341>

9. WHO. (2023, November 21). Antimicrobial Resistance. World Health Organization; World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
10. Ponzo, E., De Gaetano, S., Midiri, A., Mancuso, G., Giovanna, P., Giuliana, D., Zummo, S., & Biondo, C. (2024). The Antimicrobial Resistance Pandemic Is Here: Implementation Challenges and the Need for the One Health Approach. *Hygiene*, 4(3), 297-316. <https://doi.org/10.3390/hygiene4030024>
11. Nathan C. Kunkel Lecture: Fundamental immunodeficiency and its correction. *J Exp Med*. 2017 Aug 7;214(8):2175-2191. doi: 10.1084/jem.20170637. Epub 2017 Jul 12. PMID: 28701368; PMCID: PMC5551579.
12. Wall S. (2019). Prevention of antibiotic resistance - an epidemiological scoping review to identify research categories and knowledge gaps. *Global health action*, 12(1), 1756191. <https://doi.org/10.1080/16549716.2020.1756191>
13. Wernli, D., Harbarth, S., Levrat, N., & Pittet, D. (2022). A 'whole of United Nations approach' to tackle antimicrobial resistance? A mapping of the mandate and activities of international organisations. *BMJ global health*, 7(5), e008181. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2021-008181>
14. Velazquez-Meza, M. E., Galarde-López, M., Carrillo-Quiróz, B., & Alpuche-Aranda, C. M. (2022). Antimicrobial resistance: One Health approach. *Veterinary world*, 15(3), 743–749. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.743-749>
15. McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology spectrum*, 6(2), 10.1128/microbiolspec.arba-0009-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>
16. Franklin AM, Weller DL, Durso LM, Bagley M, Davis BC, Frye JG, Grim CJ, Ibekwe AM, Jahne MA, Keely SP, Kraft AL, McConn BR, Mitchell RM, Ottesen AR, Sharma M, Strain EA, Tadesse DA, Tate H, Wells JE, Williams CF, Cook KL, Kabera C, McDermott PF and Garland JL (2024) A one health approach for monitoring antimicrobial resistance: developing a national freshwater pilot effort. *Front. Water*. 6:1359109. doi: 10.3389/frwa.2024.1359109

17. Musicha, P., Morse, T., Cocker, D., Mugisha, L., Jewell, C. P., & Feasey, N. A. (2024). Time to define One Health approaches to tackling antimicrobial resistance. *Nature Communications*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-024-53057-z>
18. World Health Organization. (2016). Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. [Www.who.int. https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763](https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763)
19. Willemsen, A., Reid, S., & Assefa, Y. (2022). A review of national action plans on antimicrobial resistance: strengths and weaknesses. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13756-022-01130-x>
20. Karnwal A, Jassim AY, Mohammed AA, Al-Tawaha ARMS, Selvaraj M and Malik T (2025) Addressing the global challenge of bacterial drug resistance: insights, strategies, and future directions. *Front. Microbiol.* 16:1517772. doi: 10.3389/fmicb.2025.1517772
21. Keenan, K., Silva Corrêa, J., Sringernyuang, L., Nayiga, S., & Chandler, C. I. R. (2025). The social burden of antimicrobial resistance: what is it, how can we measure it, and why does it matter?. *JAC-antimicrobial resistance*, 7(2), dlac208. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlac208>
22. PRESS RELEASE: High-Level Meeting on Antimicrobial Resistance. (2016, September 21). General Assembly of the United Nations. <https://www.un.org/pga/71/2016/09/21/press-release-hl-meeting-on-antimicrobial-resistance/>
23. UNDP. (2024). Sustainable Development Goals. United Nations Development Programme; United Nations. <https://www.undp.org/sustainable-development-goals>
24. Україна схвалила план заходів для боротьби з антибіотикорезистентністю | Центр громадського здоров'я. (2019). Phc.org.ua. <https://phc.org.ua/news/ukraine-skhalila-plan-zakhodiv-dlya-borotbi-z-antibiotikorezistentnistyu>

25. Устінов О.В. (2019). Національний план боротьби з антибіотикорезистентністю: що зміниться. Національний план боротьби з антибіотикорезистентністю: що зміниться | Український Медичний Часопис; UMJ. <https://umj.com.ua/uk/novyna-139163-natsionalnij-plan-borotbi-z-antibiotikorezistentnistyu-shho-zminitsya>
26. Kitsoft. (2019). Кабінет Міністрів України - Уряд затвердив Національний план дій боротьби зі стійкістю до протимікробних препаратів. Kmu.gov.ua. <https://www.kmu.gov.ua/news/uryad-zatverdiv-nacionalnij-plan-dij-borotbi-zi-stijkistyu-do-protimikrobnih-preparativ>
27. Устінов О.В. (2022, February 10). Розроблено зміни до плану боротьби з антибіотикорезистентністю. Розроблено зміни до плану боротьби з антибіотикорезистентністю | Український Медичний Часопис; UMJ. <https://umj.com.ua/uk/novyna-227523-rozrobleno-zmini-do-planu-borotbi-z-antibiotikorezistentnistyu>
28. Singha B, Singh V and Soni V (2024) Alternative therapeutics to control antimicrobial resistance: a general perspective. *Front. Drug Discov.* 4:1385460. doi: 10.3389/fddsv.2024.1385460
29. Berger, I., & Loewy, Z. G. (2024). Antimicrobial Resistance and Novel Alternative Approaches to Conventional Antibiotics. *Bacteria*, 3(3), 171-182. <https://doi.org/10.3390/bacteria3030012>
30. Ruiz-Pérez, R., Antonio Martín Newman-Portela, & Miguel Angel Ruiz-Fresneda. (2024). Emerging global trends in next-generation alternatives to classic antibiotics for combatting multidrug-resistant bacteria. *Journal of Cleaner Production*, 143895–143895. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.143895>
31. Gondil, V. S. (2025). Drug-Resistant Bacterial Infections and Alternative Therapies. *Biomedicines*, 13 (2), 457. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13020457>
32. Gani, Z., Kumar, A., Raje, M., & Raje, C. I. (2025). Antimicrobial peptides: An alternative strategy to combat antimicrobial resistance. *Drug Discovery Today*, 30(2), 104305. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2025.104305>

33. La Guidara, C., Adamo, R., Sala, C., & Micoli, F. (2024). Vaccines and Monoclonal Antibodies as Alternative Strategies to Antibiotics to Fight Antimicrobial Resistance. *International journal of molecular sciences*, 25(10), 5487. <https://doi.org/10.3390/ijms25105487>
34. Bognár, B., Spohn, R., & Lázár, V. (2024). Drug combinations targeting antibiotic resistance. *Npj Antimicrobials and Resistance*, 2(1). <https://doi.org/10.1038/s44259-024-00047-2>
35. Huang, Z., Zhang, Z., Tong, J., Malakar, P. K., Chen, L., Liu, H., Pan, Y., & Zhao, Y. (2021). Phages and their lysins: Toolkits in the battle against foodborne pathogens in the postantibiotic era. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 20(4), 3319–3343. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12757>
36. Zia, S., & Alkheraije, K. A. (2023). Recent trends in the use of bacteriophages as replacement of antimicrobials against food-animal pathogens. *Frontiers in veterinary science*, 10, 1162465. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1162465>
37. Almenara-Blasco M, Pérez-Laguna V, Navarro-Bielsa A, Gracia-Cazaña T and Gilaberte Y (2024) Antimicrobial photodynamic therapy for dermatological infections: current insights and future prospects. *Front. Photobiol.* 2:1294511. doi: 10.3389/fphbi.2024.1294511
38. Blair, J., Webber, M., Baylay, A. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* 13, 42–51 (2015). <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
39. Madeline Barron, Ph.D. is the Science Communications Specialist at ASM. She obtained her Ph.D. from the University of Michigan in the Department of Microbiology and Immunology. <https://asm.org/articles/2022/august/phage-therapy-past,-present-and-future>
40. García-Contreras, R., Martínez-Vázquez, M., González-Pedrajo, B., & Castillo-Juárez, I. (2022). Editorial: Alternatives to Combat Bacterial Infections. *Frontiers in microbiology*, 13, 909866. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.909866>

41. WHO. (2024). WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>
42. Gergova R, Boyanov V, Muhtarova A, Alexandrova A. A Review of the Impact of Streptococcal Infections and Antimicrobial Resistance on Human Health. *Antibiotics*. 2024; 13(4):360. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13040360>
43. Szabó S, Feier B, Capatina D, Tertis M, Cristea C, Popa A. An Overview of Healthcare Associated Infections and Their Detection Methods Caused by Pathogen Bacteria in Romania and Europe. *J Clin Med*. 2022 Jun 4;11(11):3204. doi: 10.3390/jcm11113204. PMID: 35683591; PMCID: PMC9181229.
44. Abban MK, Ayerakwa EA, Mosi L, Isawumi A. The burden of hospital acquired infections and antimicrobial resistance. *Heliyon*. 2023 Oct 2;9(10):e20561. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e20561. PMID: 37818001; PMCID: PMC10560788.
45. Sartelli, M., Marini, C. P., McNelis, J., Coccolini, F., Rizzo, C., Labricciosa, F. M., & Petrone, P. (2024). Preventing and Controlling Healthcare-Associated Infections: The First Principle of Every Antimicrobial Stewardship Program in Hospital Settings. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 13(9), 896. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090896>
46. Larsson, D. G. J., & Flach, C.-F. (2021). Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>
47. 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>
48. Iskandar, K., Murugaiyan, J., Hammoudi Halat, D., Hage, S. E., Chibabhai, V., Adukkadukkam, S., Roques, C., Molinier, L., Salameh, P., & Van Dongen, M. (2022). Antibiotic Discovery and Resistance: The Chase and the Race. *Antibiotics*, 11(2), 182. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020182>

49. Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., & Larsson, D. G. J. (2017). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(1). <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>
50. Kumar, V., Yasmeen, N., Pandey, A., Ahmad Chaudhary, A., Alawam, A. S., Ahmad Rudayni, H., Islam, A., Lakhawat, S. S., Sharma, P. K., & Shahid, M. (2023). Antibiotic adjuvants: synergistic tool to combat multi-drug resistant pathogens. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 13, 1293633. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1293633>
51. Shepherd, M. J., Fu, T., Harrington, N. E., Kottara, A., Cagney, K., Chalmers, J. D., Paterson, S., Fothergill, J. L., & Brockhurst, M. A. (2024). Ecological and evolutionary mechanisms driving within-patient emergence of antimicrobial resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01041-1>
52. Bhat BA, Mir RA, Qadri H, Dhiman R, Almilaibary A, Alkhanani M and Mir MA (2023) Integrins in the development of antimicrobial resistance: critical review and perspectives. *Front. Microbiol.* 14:1231938. doi: 10.3389/fmicb.2023.1231938
53. Muhammad Jawad Zai, Cheesman, M. J., & Cock, I. E. (2024). Targeted Antimicrobial Therapies: A Solution to Overcoming Antimicrobial Resistance in Humans. *BioMed*, 4(3), 318–337. <https://doi.org/10.3390/biomed4030026>
54. Belay WY, Getachew M, Tegegne BA, Teffera ZH, Dagne A, Zeleke TK, Abebe RB, Gedif AA, Fenta A, Yirdaw G, Tilahun A and Aschale Y (2024) Mechanism of antibacterial resistance, strategies and next-generation antimicrobials to contain antimicrobial resistance: a review. *Front. Pharmacol.* 15:1444781. doi: 10.3389/fphar.2024.1444781
55. Villa, T.G.; Feijoo-Siota, L.; Sánchez-Pérez, A.; Rama, J.R.; Sieiro, C. Horizontal gene transfer in bacteria, an overview of the mechanisms involved.

In Horizontal Gene Transfer; Villa, T., Viñas, M., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2019; pp. 3–76

56. Muteeb, G., Rehman, T., Shahwan, M., & Aatif, M. (2023). Origin of Antibiotics and Antibiotic Resistance, and Their Impacts on Drug Development: A Narrative Review. *Pharmaceuticals*, 16(11), 1615–1615. <https://doi.org/10.3390/ph16111615>

57. Darby, E. M., Trampari, E., Siasat, P., Gaya, M. S., Alav, I., Webber, M. A., & Blair, J. M. A. (2022). Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance Revisited. *Nature Reviews Microbiology*, 21(5), 280–295. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00820-y>

58. Liu, Y., Li, R., Xiao, X., & Wang, Z. (2018). Molecules that Inhibit Bacterial Resistance Enzymes. *Molecules* (Basel, Switzerland), 24(1), 43. <https://doi.org/10.3390/molecules24010043>

59. Gauba, A., & Rahman, K. M. (2023). Evaluation of Antibiotic Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 12(11), 1590. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111590>

60. Murina, V., Kasari, M., Hauryliuk, V., & Atkinson, G. C. (2018). Antibiotic resistance ABCF proteins reset the peptidyl transferase centre of the ribosome to counter translational arrest. *Nucleic acids research*, 46(7), 3753–3763. <https://doi.org/10.1093/nar/gky050>

61. Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 33(3), 300–305. https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15

62. Kakoullis, L., Papachristodoulou, E., Chra, P., & Panos, G. (2021). Mechanisms of Antibiotic Resistance in Important Gram-Positive and Gram-Negative Pathogens and Novel Antibiotic Solutions. *Antibiotics*, 10(4), 415. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040415>

63. Ghai, I. (2023). A Barrier to Entry: Examining the Bacterial Outer Membrane and Antibiotic Resistance. *Applied Sciences*, 13(7), 4238. <https://doi.org/10.3390/app13074238>

64. García-Contreras, R., Martínez-Vázquez, M., González-Pedrajo, B., & Castillo-Juárez, I. (2022). Editorial: Alternatives to Combat Bacterial Infections. *Frontiers in microbiology*, 13, 909866. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.909866>

65. Rima, M., Rima, M., Fajloun, Z., Sabatier, J.-M., Bechinger, B., & Naas, T. (2021). Antimicrobial Peptides: A Potent Alternative to Antibiotics. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(9), 1095. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091095>

66. Chahine, E. B., Dougherty, J. A., Thornby, K. A., & Guirguis, E. H. (2022). Antibiotic Approvals in the Last Decade: Are We Keeping Up With Resistance?. *The Annals of pharmacotherapy*, 56(4), 441–462. <https://doi.org/10.1177/10600280211031390>

67. Kumar M, Sarma DK, Shubham S, Kumawat M, Verma V, Nina PB, Devraj JP, Kumar S, Singh B and Tiwari RR (2021) Futuristic Non-antibiotic Therapies to Combat Antibiotic Resistance: A Review. *Front. Microbiol.* 12:609459. doi: 10.3389/fmicb.2021.609459

68. Kumar, V., Yasmeen, N., Pandey, A., Ahmad Chaudhary, A., Alawam, A. S., Ahmad Rudayni, H., Islam, A., Lakhawat, S. S., Sharma, P. K., & Shahid, M. (2023). Antibiotic adjuvants: synergistic tool to combat multi-drug resistant pathogens. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 13, 1293633. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1293633>

69. Hirakawa, H., Kurushima, J., Hashimoto, Y., & Tomita, H. (2020). Progress Overview of Bacterial Two-Component Regulatory Systems as Potential Targets for Antimicrobial Chemotherapy. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(10), E635. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100635>

70. McShan, A. C., & De Guzman, R. N. (2015). The bacterial type III secretion system as a target for developing new antibiotics. *Chemical biology & drug design*, 85(1), 30–42. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12422>
71. Pérez-Palacios, P., Rodríguez-Ochoa, J. L., Velázquez-Escudero, A., Rodríguez-Baño, J., Rodríguez-Martínez, J. M., Pascual, Á., & Docobo-Pérez, F. (2024). Implications of two-component systems EnvZ/OmpR and BaeS/BaeR in in vitro temocillin resistance in *Escherichia coli*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 79(3), 641–647. <https://doi.org/10.1093/jac/dkae021>
72. Blasey N, Rehrmann D, Riebisch AK and Mühlen S (2023) Targeting bacterial pathogenesis by inhibiting virulence-associated Type III and Type IV secretion systems. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 12:1065561. doi: 10.3389/fcimb.2022.1065561
73. Alcayaga-Miranda, F., Cuenca, J., & Khoury, M. (2017). Antimicrobial Activity of Mesenchymal Stem Cells: Current Status and New Perspectives of Antimicrobial Peptide-Based Therapies. *Frontiers in immunology*, 8, 339. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00339>
74. Satchanska, G., Davidova, S., & Gergova, A. (2024). Diversity and Mechanisms of Action of Plant, Animal, and Human Antimicrobial Peptides. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 13(3), 202. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13030202>
75. Ahmed, A., Siman-Tov, G., Hall, G., Bhalla, N., & Narayanan, A. (2019). Human Antimicrobial Peptides as Therapeutics for Viral Infections. *Viruses*, 11(8), 704. <https://doi.org/10.3390/v11080704>
76. Chinemerem Nwobodo, D., Ugwu, M. C., Oliseloke Anie, C., Al-Ouqaili, M. T. S., Chinedu Ikem, J., Victor Chigozie, U., & Saki, M. (2022). Antibiotic resistance: The challenges and some emerging strategies for tackling a global menace. *Journal of clinical laboratory analysis*, 36(9), e24655. <https://doi.org/10.1002/jcla.24655>
77. Yarbrough, V. L., Winkle, S., & Herbst-Kralovetz, M. M. (2015). Antimicrobial peptides in the female reproductive tract: a critical component of the

mucosal immune barrier with physiological and clinical implications. *Human reproduction update*, 21(3), 353–377. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmu065>

78. Parchebafi, A., Tamanaee, F., Ehteram, H., Ahmad, E., Nikzad, H., & Haddad Kashani, H. (2022). The dual interaction of antimicrobial peptides on bacteria and cancer cells; mechanism of action and therapeutic strategies of nanostructures. *Microbial cell factories*, 21(1), 118. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01848-8>

79. Silva-Carvalho, A. É., Cardoso, M. H., Alencar-Silva, T., Bogéa, G. M. R., Carvalho, J. L., Franco, O. L., & Saldanha-Araujo, F. (2022). Dissecting the relationship between antimicrobial peptides and mesenchymal stem cells. *Pharmacology & therapeutics*, 233, 108021. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.108021>

80. Andersson, D. I., Hughes, D., & Kubicek-Sutherland, J. Z. (2016). Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, 26, 43–57. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2016.04.002>

81. Brakhage, A. A., Zimmermann, A. K., Rivieccio, F., Visser, C., & Blango, M. G. (2021). Host-derived extracellular vesicles for antimicrobial defense. *microLife*, 2, uqab003. <https://doi.org/10.1093/femsml/uqab003>

82. Lőrincz, Á. M., Bartos, B., Szombath, D., Szeifert, V., Timár, C. I., Turiák, L., Drahos, L., Kittel, Á., Veres, D. S., Kolonics, F., Mócsai, A., & Ligeti, E. (2019). Role of Mac-1 integrin in generation of extracellular vesicles with antibacterial capacity from neutrophilic granulocytes. *Journal of extracellular vesicles*, 9(1), 1698889. <https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1698889>

83. García-Martínez, M., Vázquez-Flores, L., Álvarez-Jiménez, V. D., Castañeda-Casimiro, J., Ibáñez-Hernández, M., Sánchez-Torres, L. E., Barrios-Payán, J., Mata-Espinosa, D., Estrada-Parra, S., Chacón-Salinas, R., Serafín-López, J., Wong-Baeza, I., Hernández-Pando, R., & Estrada-García, I. (2019). Extracellular vesicles released by J774A.1 macrophages reduce the bacterial load in macrophages

and in an experimental mouse model of tuberculosis. *International journal of nanomedicine*, 14, 6707–6719. <https://doi.org/10.2147/IJN.S203507>

84. Manohar P, Loh B, Athira S, Nachimuthu R, Hua X, Welburn SC and Leptihn S (2020) Secondary Bacterial Infections During Pulmonary Viral Disease: Phage Therapeutics as Alternatives to Antibiotics? *Front. Microbiol.* 11:1434. doi: 10.3389/fmicb.2020.01434

85. Bhargava, K., Nath, G., Bhargava, A., Aseri, G. K., & Jain, N. (2021). Phage therapeutics: from promises to practices and prospectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(24), 9047–9067. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11695-z>

86. Gupta, P., Singhal, L., Gupta, V. (2023). Reminiscing Phages in the Era of Superbugs. In: Sobti, R., Kuhad, R.C., Lal, R., Rishi, P. (eds) *Role of Microbes in Sustainable Development*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-3126-2_24

87. Ranveer, S. A., Dasriya, V., Ahmad, M. F., Dhillon, H. S., Samtiya, M., Shama, E., Anand, T., Dhewa, T., Chaudhary, V., Chaudhary, P., Behare, P., Ram, C., Puniya, D. V., Khedkar, G. D., Raposo, A., Han, H., & Puniya, A. K. (2024). Positive and negative aspects of bacteriophages and their immense role in the food chain. *Npj Science of Food*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00245-8>

88. Hibstu, Z., Belew, H., Akelew, Y., & Mengist, H. M. (2022). Phage Therapy: A Different Approach to Fight Bacterial Infections. *Biologics : targets & therapy*, 16, 173–186. <https://doi.org/10.2147/BTT.S381237>

89. Guo, Zhimin, et al. "Mini Review Advantages and Limitations of Lytic Phages Compared With Chemical Antibiotics to Combat Bacterial Infections." *Heliyon*, vol. 10, no. 14, 2024, pp. e34849.

90. Brives, C., & Pourraz, J. (2020). Phage therapy as a potential solution in the fight against AMR: obstacles and possible futures. *Palgrave Communications*, 6(1), 1–11. <https://doi.org/10.1057/s41599-020-0478-4>

91. Baral B (2023) Phages against killer superbugs: An enticing strategy against antibiotics-resistant pathogens. *Front. Pharmacol.* 14:1036051. doi: 10.3389/fphar.2023.1036051
92. Zalewska-Piątek B. (2023). Phage Therapy-Challenges, Opportunities and Future Prospects. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland), 16(12), 1638. <https://doi.org/10.3390/ph16121638>
93. Lin, D. M., Koskella, B., & Lin, H. C. (2017). Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics*, 8(3), 162–173. <https://doi.org/10.4292/wjgpt.v8.i3.162>
94. Barron, M. (2022). Phage therapy: past, present and future. Washington, DC: American Society for Microbiology.
95. Loc-Carrillo, C., & Abedon, S. T. (2011). Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage*, 1(2), 111–114. <https://doi.org/10.4161/bact.1.2.14590>
96. Roach, D. R., & Donovan, D. M. (2015). Antimicrobial bacteriophage-derived proteins and therapeutic applications. *Bacteriophage*, 5(3), e1062590. <https://doi.org/10.1080/21597081.2015.1062590>
97. Oliveira, H., Vilas Boas, D., Mesnage, S., Kluskens, L. D., Lavigne, R., Sillankorva, S., Secundo, F., & Azeredo, J. (2016). Structural and Enzymatic Characterization of ABgp46, a Novel Phage Endolysin with Broad Anti-Gram-Negative Bacterial Activity. *Frontiers in microbiology*, 7, 208. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00208>
98. Kharkwal GB, Sharma SK, Huang YY, Dai T, Hamblin MR. Photodynamic therapy for infections: clinical applications. *Lasers Surg Med.* 2011 Sep;43(7):755-67. doi: 10.1002/lsm.21080. PMID: 22057503; PMCID: PMC3449167.
99. Almenara-Blasco M, Pérez-Laguna V, Navarro-Bielsa A, Gracia-Cazaña T and Gilaberte Y (2024) Antimicrobial photodynamic therapy for dermatological infections: current insights and future prospects. *Front. Photobiol.* 2:1294511. doi: 10.3389/fphbi.2024.1294511

100. Kovacevic A, Smith DRM, Rahbé E, Novelli S, Henriot P, Varon E, Cohen R, Levy C, Temime L, Opatowski L. Exploring factors shaping antibiotic resistance patterns in *Streptococcus pneumoniae* during the 2020 COVID-19 pandemic. *Elife*. 2024 Mar 7;13:e85701. doi: 10.7554/eLife.85701. PMID: 38451256; PMCID: PMC10923560.

101. Allamyradov, Y., Yosef, ben, Annamuradov, B., Ateyeh, M., Street, C., Whipple, H., & Er, A. O. (2024). Photodynamic Therapy Review: Past, Present, Future, Opportunities and Challenges. *Photochem*, 4(4), 434–461. <https://doi.org/10.3390/photochem4040027>

102. Jiang, J., Lv, X., Cheng, H., Yang, D., Xu, W., Hu, Y., Song, Y., & Zeng, G. (2024). Type I photodynamic antimicrobial therapy: Principles, progress, and future perspectives. *Acta biomaterialia*, 177, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2024.02.005>

103. Pérez, M., Robres, P., Moreno, B., Bolea, R., Verde, M. T., Pérez-Laguna, V., et al. (2021). Comparison of antibacterial activity and wound healing in a superficial abrasion mouse model of staphylococcus aureus skin infection using photodynamic therapy based on Methylene Blue or mupirocin or both. *Front. Med. (Lausanne)* 8, 673408. doi:10.3389/fmed.2021.673408

104. Casu C, Orrù G. Potential of photodynamic therapy in the management of infectious oral diseases. *World J Exp Med*. 2024 Mar 20;14(1):84284. doi: 10.5493/wjem.v14.i1.84284. PMID: 38590303; PMCID: PMC10999068.

105. Pérez-Laguna V , Gilaberte Y , Millán-Lou MI , Agut M , Nonell S , Rezusta A , Hamblin MR . A combination of photodynamic therapy and antimicrobial compounds to treat skin and mucosal infections: a systematic review. *Photochem Photobiol Sci*. 2019 May 15;18(5):1020-1029. doi: 10.1039/c8pp00534f. PMID: 30821303; PMCID: PMC6520109.

106. Pérez-Laguna V, García-Luque I, Ballesta S, Rezusta A, Gilaberte Y. Photodynamic Therapy Combined with Antibiotics or Antifungals against Microorganisms That Cause Skin and Soft Tissue Infections: A Planktonic and

Biofilm Approach to Overcome Resistances. *Pharmaceuticals*. 2021; 14(7):603. <https://doi.org/10.3390/ph14070603>

107. Allamyradov Y, ben Yosef J, Annamuradov B, Ateyeh M, Street C, Whipple H, Er AO. Photodynamic Therapy Review: Past, Present, Future, Opportunities and Challenges. *Photochem*. 2024; 4(4):434-461. <https://doi.org/10.3390/photochem4040027>

108. Karimi, M., Homayoonfal, M., Zahedifar, M. et al. Development of a novel nanoformulation based on aloe vera-derived carbon quantum dot and chromium-doped alumina nanoparticle (Al₂O₃:Cr@Cdot NPs): evaluating the anticancer and antimicrobial activities of nanoparticles in photodynamic therapy. *Cancer Nano* 15, 26 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12645-024-00260-8>

109. Costache C, Colosi I, Toc DA, Daian K, Damacus D, Botan A, Toc A, Pana AG, Panaitescu P, Neculicioiu V, Schiopu P, Iordache D, Butiuc-Keul A. CRISPR-Cas System, Antimicrobial Resistance, and Enterococcus Genus-A Complicated Relationship. *Biomedicines*. 2024 Jul 22;12(7):1625. doi: 10.3390/biomedicines12071625. PMID: 39062198; PMCID: PMC11274382.

110. Li, J., Wu, S., Zhang, K., Sun, X., Lin, W., Wang, C., & Lin, S. (2024). Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat/CRISPR-Associated Protein and Its Utility All at Sea: Status, Challenges, and Prospects. *Microorganisms*, 12(1), 118. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010118>

111. Newsom S, Parameshwaran HP, Martin L and Rajan R (2021) The CRISPR-Cas Mechanism for Adaptive Immunity and Alternate Bacterial Functions Fuels Diverse Biotechnologies. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 10:619763. doi: 10.3389/fcimb.2020.619763

112. Tao, S., Chen, H., Li, N., & Liang, W. (2022). The Application of the CRISPR-Cas System in Antibiotic Resistance. *Infection and drug resistance*, 15, 4155–4168. <https://doi.org/10.2147/IDR.S370869>

113. Chaudhuri, A., Halder, K. & Datta, A. Classification of CRISPR/Cas system and its application in tomato breeding. *Theor Appl Genet* 135, 367–387 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03984-y>
114. Koonin, E. V., & Makarova, K. S. (2019). Origins and evolution of CRISPR-Cas systems. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 374(1772), 20180087. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0087>
115. Tang, Y., Fu, Y. Class 2 CRISPR/Cas: an expanding biotechnology toolbox for and beyond genome editing. *Cell Biosci* 8, 59 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13578-018-0255-x>
116. Allemailem KS. Recent Advances in Understanding the Molecular Mechanisms of Multidrug Resistance and Novel Approaches of CRISPR/Cas9-Based Genome-Editing to Combat This Health Emergency. *Int J Nanomedicine*. 2024 Feb 7;19:1125-1143. doi: 10.2147/IJN.S453566. PMID: 38344439; PMCID: PMC10859101.
117. Huang, Y. Y., Zhang, X. Y., Zhu, P., & Ji, L. (2022). Development of clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated technology for potential clinical applications. *World journal of clinical cases*, 10(18), 5934–5945. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v10.i18.5934>
118. Kim, J. S., Cho, D. H., Park, M., Chung, W. J., Shin, D., Ko, K. S., & Kweon, D. H. (2016). CRISPR/Cas9-Mediated Re-Sensitization of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Harboring Extended-Spectrum β -Lactamases. *Journal of microbiology and biotechnology*, 26(2), 394–401. <https://doi.org/10.4014/jmb.1508.08080>
119. Hillary, V. E., & Ceasar, S. A. (2023). A Review on the Mechanism and Applications of CRISPR/Cas9/Cas12/Cas13/Cas14 Proteins Utilized for Genome Engineering. *Molecular biotechnology*, 65(3), 311–325. <https://doi.org/10.1007/s12033-022-00567-0>

120. Wu, Y., Battalapalli, D., Hakeem, M.J. et al. Engineered CRISPR-Cas systems for the detection and control of antibiotic-resistant infections. *J Nanobiotechnol* 19, 401 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01132-8>
121. Abdal Dayem, A., Hossain, M. K., Lee, S. B., Kim, K., Saha, S. K., Yang, G. M., Choi, H. Y., & Cho, S. G. (2017). The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 120. <https://doi.org/10.3390/ijms18010120>
122. Mba, I. E., & Nweze, E. I. (2021). Nanoparticles as therapeutic options for treating multidrug-resistant bacteria: research progress, challenges, and prospects. *World journal of microbiology & biotechnology*, 37(6), 108. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03070-x>
123. Chakraborty N, Jha D, Roy I, Kumar P, Gaurav SS, Marimuthu K, Ng OT, Lakshminarayanan R, Verma NK, Gautam HK. Nanobiotics against antimicrobial resistance: harnessing the power of nanoscale materials and technologies. *J Nanobiotechnology*. 2022 Aug 12;20(1):375. doi: 10.1186/s12951-022-01573-9. PMID: 35953826; PMCID: PMC9371964.
124. Abdal Dayem, A., Hossain, M. K., Lee, S. B., Kim, K., Saha, S. K., Yang, G. M., Choi, H. Y., & Cho, S. G. (2017). The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 120. <https://doi.org/10.3390/ijms18010120>
125. Mamun, M. M., Sorinolu, A. J., Munir, M., & Vejerano, E. P. (2021). Nanoantibiotics: Functions and Properties at the Nanoscale to Combat Antibiotic Resistance. *Frontiers in chemistry*, 9, 687660. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.687660>
126. Ozdal, M., & Gurkok, S. (2022). Recent advances in nanoparticles as antibacterial agent. *ADMET & DMPK*, 10(2), 115–129. <https://doi.org/10.5599/admet.1172>
127. Khan RT, Sharma V, Khan SS and Rasool S (2024) Prevention and potential remedies for antibiotic resistance: current research and future prospects. *Front. Microbiol.* 15:1455759. doi: 10.3389/fmicb.2024.1455759

128. Himanshu, Mukherjee R, Vidic J, Leal E, da Costa AC, Prudencio CR, Raj VS, Chang CM, Pandey RP. Nanobiotics and the One Health Approach: Boosting the Fight against Antimicrobial Resistance at the Nanoscale. *Biomolecules*. 2023 Jul 28;13(8):1182. doi: 10.3390/biom13081182. PMID: 37627247; PMCID: PMC10452580.

129. Li M, Liu Y, Gong Y, Yan X, Wang L, Zheng W, Ai H, Zhao Y. Recent advances in nanoantibiotics against multidrug-resistant bacteria. *Nanoscale Adv*. 2023 Oct 5;5(23):6278-6317. doi: 10.1039/d3na00530e. PMID: 38024316; PMCID: PMC10662204.

130. Ioannou P, Baliou S, Samonis G. Nanotechnology in the Diagnosis and Treatment of Antibiotic-Resistant Infections. *Antibiotics*. 2024; 13(2):121. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13020121>

131. Ly P-D, Ly K-N, Phan H-L, Nguyen HHT, Duong V-A and Nguyen HV (2024) Recent advances in surface decoration of nanoparticles in drug delivery. *Front. Nanotechnol*. 6:1456939. doi: 10.3389/fnano.2024.1456939

132. Kramer, A., Dissemond, 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>

133. 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 <https://med-expert.com.ua/journals/wp-content/uploads/2023/11/04.pdf>

134. 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

135. 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

136. 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>

137. 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>

138. 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/>

139. 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>

140. Budetić, M., Jozanović, M., Pukleš, I. & Samardžić, M. (2024). Review of potentiometric determination of cationic surfactants. *Reviews in Analytical Chemistry*, 43(1), 20230078. <https://doi.org/10.1515/revac-2023-0078>

141. 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>

142. Goldberg, J. B., Crisan, C. V., & Luu, J. M. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* Antivirulence Strategies: Targeting the Type III Secretion System. *Advances in experimental medicine and biology*, 1386, 257–280. https://doi.org/10.1007/978-3-031-08491-1_9
143. Babalska, Z. Ł., Korbecka-Paczowska, 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>
144. Murray, J. L., Kwon, T., Marcotte, E. M., & Whiteley, M. (2015). Intrinsic Antimicrobial Resistance Determinants in the Superbug *Pseudomonas aeruginosa*. *mBio*, 6(6), e01603–e1615. <https://doi.org/10.1128/mBio.01603-15>
145. 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>
146. 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>
147. Pereira AP, Antunes P, Peixe L, Freitas AR and Novais C (2024) Current insights into the effects of cationic biocides exposure on *Enterococcus* spp.. *Front. Microbiol.* 15:1392018. doi: 10.3389/fmicb.2024.1392018
148. 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>
149. Abban, M. K., Ayerakwa, E. A., Mosi, L., & Isawumi, A. (2023). The burden of hospital acquired infections and antimicrobial resistance. *Heliyon*, 9(10), e20561. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e20561>

150. Hou, Z., Liu, L., Wei, J., & Xu, B. (2023). Progress in the Prevalence, Classification and Drug Resistance Mechanisms of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection and drug resistance*, 16, 3271–3292. <https://doi.org/10.2147/IDR.S412308>
151. Touaitia, R., Mairi, A., Ibrahim, N. A., Basher, N. S., Idres, T., & Touati, A. (2025). *Staphylococcus aureus*: A Review of the Pathogenesis and Virulence Mechanisms. *Antibiotics*, 14(5), 470. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050470>
152. Mlynarczyk-Bonikowska, B., Kowalewski, C., Krolak-Ulinska, A., & Marusza, W. (2022). Molecular Mechanisms of Drug Resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8088. <https://doi.org/10.3390/ijms23158088>
153. McGuinness, W. A., Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2017). Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*^[SEP]. *The Yale journal of biology and medicine*, 90(2), 269–281.
154. Chen, H., Yin, Y., van Dorp, L., Shaw, L. P., Gao, H., Acman, M., Yuan, J., Chen, F., Sun, S., Wang, X., Li, S., Zhang, Y., Farrer, R. A., Wang, H., & Balloux, F. (2021). Drivers of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) lineage replacement in China. *Genome Medicine*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13073-021-00992-x>
155. Manara, S., Pasolli, E., Dolce, D., Ravenni, N., Campana, S., Armanini, F., Asnicar, F., Mengoni, A., Galli, L., Montagnani, C., Venturini, E., Rota-Stabelli, O., Grandi, G., Taccetti, G., & Segata, N. (2018). Whole-genome epidemiology, characterisation, and phylogenetic reconstruction of *Staphylococcus aureus* strains in a paediatric hospital. *Genome Medicine*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13073-018-0593-7>
156. El-Baghdady, K. Z., El-Borhamy, M. I., & Abd El-Ghafar, H. A. (2020). Prevalence of resistance and toxin genes in community-acquired and hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Iranian journal of basic medical sciences*, 23(10), 1251–1260. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.40260.9534>

157. Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia Coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
158. Nasrollahian, S., Graham, J. P., & Mehrdad Halaji. (2024). A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *E. coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1387497>
159. Hamid Solgi, Shoeib Nematzadeh, Giske, C. G., Farzad Badmasti, Westerlund, F., Yii Lih Lin, Goyal, G., Vajihe Sadat Nikbin, Amir Hesam Nemati, & Fereshteh Shahcheraghi. (2020). Molecular Epidemiology of OXA-48 and NDM-1 Producing Enterobacterales Species at a University Hospital in Tehran, Iran, Between 2015 and 2016. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00936>
160. Hojabri, Z., Darabi, N., Arab, M., Saffari, F., & Pajand, O. (2019). Clonal diversity, virulence genes content and subclone status of *Escherichia coli* sequence type 131: comparative analysis of *E. coli* ST131 and non-ST131 isolates from Iran. *BMC Microbiology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1493-8>
161. Zhao, Q., Shen, Y., Chen, G., Luo, Y., Cui, S., & Tian, Y. (2021). Prevalence and Molecular Characterization of Fluoroquinolone-Resistant *Escherichia coli* in Healthy Children. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 743390. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.743390>
162. Lazar, D. S., Nica, M., Dascalu, A., Oprisan, C., Albu, O., Codreanu, D. R., Kosa, A. G., Popescu, C. P., & Florescu, S. A. (2024). Carbapenem-Resistant NDM and OXA-48-like Producing *K. pneumoniae*: From Menacing Superbug to a Mundane Bacteria; A Retrospective Study in a Romanian Tertiary Hospital. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 13(5), 435. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13050435>
163. Han, R., Shi, Q., Wu, S., Yin, D., Peng, M., Dong, D., Zheng, Y., Guo, Y., Zhang, R., & Hu, F. (2020). Dissemination of Carbapenemases (KPC, NDM,

OXA-48, IMP, and VIM) Among Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolated From Adult and Children Patients in China. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00314>

164. Peirano, G., Chen, L., Kreiswirth, B. N., & Pitout, J. D. D. (2020). Emerging Antimicrobial-Resistant High-Risk *Klebsiella pneumoniae* Clones ST307 and ST147. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(10), e01148-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.01148-20>

165. Tryfinopoulou, K., Linkevicius, M., Pappa, O., Alm, E., Karadimas, K., Svartström, O., Polemis, M., Mellou, K., Maragkos, A., Brolund, A., Fröding, I., David, S., Vatopoulos, A., Palm, D., Monnet, D. L., Zaoutis, T., Kohlenberg, A., Greek CCRE study group, & Members of the Greek CCRE study group (2023). Emergence and persistent spread of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* high-risk clones in Greek hospitals, 2013 to 2022. *Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 28(47), 2300571. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2023.28.47.2300571>

166. Tamma, P. D., Doi, Y., Bonomo, R. A., Johnson, J. K., Simner, P. J., & Antibacterial Resistance Leadership Group (2019). A Primer on AmpC β -Lactamases: Necessary Knowledge for an Increasingly Multidrug-resistant World. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 69(8), 1446–1455. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz173>

167. Boyd, S. E., Holmes, A., Peck, R., Livermore, D. M., & Hope, W. W. (2022). OXA-48-Like β -Lactamases: Global Epidemiology, Treatment Options, and Development Pipeline. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(8). <https://doi.org/10.1128/aac.00216-22>

168. Harada, S., Aoki, K., Daisuke Ohkushi, Okamoto, K., Kazumi Takehana, Tomomi Akatsuchi, Ida, K., Shoji, D., Ishii, Y., Doi, Y., Moriya, K., & Hayama, B. (2021). Institutional outbreak involving multiple clades of IMP-producing *Enterobacter cloacae* complex sequence type 78 at a cancer center in Tokyo,

Japan. BMC Infectious Diseases (Online), 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-021-05952-9>

169. Gomez-Simmonds, A., Annavaiahala, M. K., Wang, Z., Macesic, N., Hu, Y., Giddins, M. J., O'Malley, A., Toussaint, N. C., Whittier, S., Torres, V. J., & Uhlemann, A. C. (2018). Genomic and Geographic Context for the Evolution of High-Risk Carbapenem-Resistant *Enterobacter cloacae* Complex Clones ST171 and ST78. *mBio*, 9(3), e00542-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.00542-18>

170. Ramirez, M. S., Bonomo, R. A., & Tolmasky, M. E. (2020). Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a Yet More Dangerous Menace. *Biomolecules*, 10(5), 720. <https://doi.org/10.3390/biom10050720>

171. Hamidian, M., Hawkey, J., Wick, R., Holt, K. E., & Hall, R. M. (2019). Evolution of a clade of *Acinetobacter baumannii* global clone 1, lineage 1 via acquisition of carbapenem- and aminoglycoside-resistance genes and dispersion of ISAbal. *Microbial genomics*, 5(1), e000242. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000242>

172. Liepa, R., Mann, R., Osman, M., Hamze, M., Gunawan, C., & Hamidian, M. (2021). Cl415, a carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolate containing four AbaR4 and a new variant of AbGRI2, represents a novel global clone 2 strain. *the Journal of Antimicrobial Chemotherapy/Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(2), 345–350. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab399>

173. Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. D., & Tragiannidis, A. (2021). *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 10(3), 373. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030373>

174. Hamed, S. M., Elkhatib, W. F., Brangsch, H., Gesraha, A. S., Moustafa, S., Khater, D. F., Pletz, M. W., Sprague, L. D., Neubauer, H., & Wareth, G. (2023). *Acinetobacter baumannii* Global Clone-Specific Resistomes Explored in Clinical Isolates Recovered from Egypt. *Antibiotics*, 12(7), 1149. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071149>

175. Sauvage, S., & Hardouin, J. (2020). Exoproteomics for Better Understanding *Pseudomonas aeruginosa* Virulence. *Toxins*, 12(9), 571. <https://doi.org/10.3390/toxins12090571>
176. Jurado-Martín, I., Sainz-Mejías, M., & McClean, S. (2021). *Pseudomonas aeruginosa*: An Audacious Pathogen with an Adaptable Arsenal of Virulence Factors. *International journal of molecular sciences*, 22(6), 3128. <https://doi.org/10.3390/ijms22063128>
177. Tuon, F. F., Dantas, L. R., Suss, P. H., & Tasca Ribeiro, V. S. (2022). Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm: A Review. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 11(3), 300. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030300>
178. Ramos-Vivas, J., Chapartegui-González, I., Fernández-Martínez, M., González-Rico, C., Fortún, J., Escudero, R., Marco, F., Linares, L., Montejo, M., Aranzamendi, M., Muñoz, P., Valerio, M., Aguado, J. M., Resino, E., Ahufinger, I. G., Vega, A. P., Martínez-Martínez, L., & Fariñas, M. C. (2019). Biofilm formation by multidrug resistant Enterobacteriaceae strains isolated from solid organ transplant recipients. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45060-y>.
179. Yadav, S., Pawar, S., & Patil, S. (2025). Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation Using Silver Nanoparticles. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.77848>
180. Kasperski, T., Dorota Romaniszyn, Estera Jachowicz-Matczak, Pomorska-Wesołowska, M., Wójkowska-Mach, J., & Agnieszka Chmielarczyk. (2023). Extensive Drug Resistance of Strong Biofilm-Producing *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Infections and Colonization Hospitalized Patients in Southern Poland. *Pathogens*, 12(8), 975–975. <https://doi.org/10.3390/pathogens12080975>
181. Tuon, F. F., Suss, P. H., Telles, J. P., Dantas, L. R., Borges, N. H., & Ribeiro, V. S. T. (2023). Antimicrobial Treatment of *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Antibiotics*, 12(1), 87. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010087> .
182. López-Argüello, S., Montaner, M., Oliver, A., & Moya, B. (2021). Molecular Basis of AmpC β -Lactamase Induction by Avibactam in *Pseudomonas*

aeruginosa: PBP Occupancy, Live Cell Binding Dynamics and Impact on Resistant Clinical Isolates Harboring PDC-X Variants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3051. <https://doi.org/10.3390/ijms22063051>

183. Torrens, G., Hernández, S. B., Ayala, J. A., Moya, B., Juan, C., Cava, F., & Oliver, A. (2019). Regulation of AmpC-Driven β -Lactam Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Different Pathways, Different Signaling. *MSystems*, 4(6). <https://doi.org/10.1128/msystems.00524-19>

184. Hatami, H., Motamedi, S., Talebi, G., & Hakemi-Vala, M. (2025). Investigating the validity of mCIM and sCIM phenotypic methods in screening *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing IMP, VIM, and NDM metallo-beta-lactamases isolated from burn wounds. *The Journal of Antibiotics*. <https://doi.org/10.1038/s41429-025-00806-x>

185. Ayoub Moubareck, C., Hammoudi Halat, D., Akkawi, C., Nabi, A., AlSharhan, M. A., AlDeesi, Z. O., Peters, C. C., Celiloglu, H., & Karam Sarkis, D. (2019). Role of outer membrane permeability, efflux mechanism, and carbapenemases in carbapenem-nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* from Dubai hospitals: Results of the first cross-sectional survey. *International Journal of Infectious Diseases*, 84, 143–150. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.04.027>

186. del Barrio-Tofiño, E., López-Causapé, C., & Oliver, A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones and their association with horizontally-acquired β -lactamases: 2020 update. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(6), 106196. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106196>

187. Cholley, P., Thouverez, M., Hocquet, D., van der Mee-Marquet, N., Talon, D., & Bertrand, X. (2011). Most multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from hospitals in eastern France belong to a few clonal types. *Journal of clinical microbiology*, 49(7), 2578–2583. <https://doi.org/10.1128/JCM.00102-11>

188. PubChem Compound Summary for CID 162290, Decamethoxine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Decamethoxine>. Accessed Jan. 5, 2024.

189. Paliy G.K., Nazarchuk O.A., Kulakov O.I., Paliy V.G., Nazarchuk S.A., Paliy D.V., Kordon Y.V., Gonchar O.O. Substantiation of antimicrobial dressings use in surgery. *Med. Perspekt.* 2014;19:152–158. doi: 10.26641/2307-0404.2014.2.28501.
190. 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. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.932467/>
191. Kovalchuk, V., Voronkina, A., Binnewerg, B., Schubert, M., Muzychka, L., Wysokowski, M., Tsurkan, M. V., Bechmann, N., Petrenko, I., Fursov, A., Martinovic, R., Ivanenko, V. N., Fromont, J., Smolii, O. B., Joseph, Y., Giovine, M., Erpenbeck, D., Gelinsky, M., Springer, A., Guan, K., Ehrlich, H. (2019). Naturally Drug-Loaded Chitin: Isolation and Applications. *Marine drugs*, 17(10), 574. <https://doi.org/10.3390/md17100574>
192. Sigma Aldrich. (2025). NMR Chemical Shifts of Impurities. Merck, 1(1). <https://www.sigmaaldrich.com/MX/en/technical-documents/technical-article/genomics/cloning-and-expression/blue-white-screening>
193. Contraception formulations - Novo Nordisk Pharmatech. (2025, February 21). Novo Nordisk Pharmatech. https://novonordiskpharmatech.com/bkc-application/contraception-formulations/?utm_source=chatgpt.com
194. Octenidine dihydrochloride | 70775-75-6. (2024). ChemicalBook. https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB7879838.htm?utm_source=chatgpt.com
195. PubChem. (2025). Octenidine Hydrochloride. Nih.gov; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Octenidine-Hydrochloride>
196. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 51166, Octenidine hydrochloride. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Octenidine-hydrochloride>. Accessed Jan. 5, 2024.

197. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 9552079, Chlorhexidine.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorhexidine>. Accessed Jan. 5, 2024
198. Feng, X., Farajtabar, A., Lin, H., Chen, G., He, Y., Li, X., & Zhao, H. (2019). Equilibrium solubility, solvent effect and preferential solvation of chlorhexidine in aqueous co-solvent solutions of (methanol, ethanol, N,N-dimethylformamide and 1,4-dioxane). *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 129, 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2018.09.008>
199. Chlorhexidine: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online. (2018). Drugbank.com; DrugBank.
https://go.drugbank.com/drugs/DB00878?utm_source=chatgpt.com
200. 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>
201. Розчин для іригації ран Пронтосан (Prontosan) 350 мл. (2021). Wwww.add.ua. <https://www.add.ua/ua/prontosan-rastvor-dlya-irrigacii-ran-350-ml.html>
202. Krishnamurthi, V. R., Rogers, A., Peifer, J., Niyonshuti, I. I., Chen, J., & Wang, Y. (2020). Microampere Electric Current Causes Bacterial Membrane Damage and Two-Way Leakage in a Short Period of Time. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(16). <https://doi.org/10.1128/aem.01015-20>
203. Shawki, M. M., El-Shall, H. S., Moustafa, M. E., Kamal, Elsheredy, A. G., & Eltarahony, M. M. (2024). Revealing detrimental effects of various DC electrical energy conditions on different multidrug resistant bacteria: a comprehensive study. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-66063-4>
204. Vaishampayan, A., & Grohmann, E. (2021). Antimicrobials Functioning through ROS-Mediated Mechanisms: Current Insights. *Microorganisms*, 10(1), 61. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010061>

205. EUCAST. (2025). Methodology for antimicrobial susceptibility testing. Retrieved May 25, 2025, from <https://www.eucast.org/methodology/>
206. EUCAST. (2025). Clinical breakpoints – version 15.0. Retrieved May 25, 2025, from https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
207. EUCAST. (2022). Clinical breakpoints – version 12.0. Retrieved May 25, 2025, from https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
208. 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.
209. Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., ... & 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*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
210. 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>
211. 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.
212. 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.
213. 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.

214. Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Djukic, S., Cirkovic, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 115(8), 891–899. doi:10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x

215. Wacogne, B., Belinger Podevin, M., Vaccari, N., Koubevi, C., Codjiová, C., Gutierrez, E., Davoine, L., Robert-Nicoud, M., Rouleau, A., & Frelet-Barrand, A. (2024). Concentration vs. Optical Density of ESKAPEE Bacteria: A Method to Determine the Optimum Measurement Wavelength. *Sensors*, 24(24), 8160. <https://doi.org/10.3390/s24248160>

216. Kovacs, C. J. Rapp, E. M., Rankin, W. R., McKenzie, S. M., Brasko, B. K., Hebert, K. E., Bachert, B. A., Kick, A. R., Burpo, F. J., & Barnhill, J. C. (2024). Combinations of Bacteriophage Are Efficacious against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and Enhance Sensitivity to Carbapenem Antibiotics. *Viruses*, 16(7), 1000. <https://doi.org/10.3390/v16071000>

217. Pokhrel S, Boonmee N, Tulyaprawat O, Pharkjaksu S, Thaipisutikul I, Chairatana P, Ngamskulrungroj P, Mitrpant C. Assessment of Biofilm Formation by *Candida albicans* Strains Isolated from Hemocultures and Their Role in Pathogenesis in the Zebrafish Model. *Journal of Fungi*. 2022; 8(10):1014. <https://doi.org/10.3390/jof8101014>

218. 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/handle/123456789/7398>

219. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., Bebyk, V., Matuschek, E., Riesbeck,

K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. *The Lancet. Infectious diseases*, 23(7), 784–786

220. Nagaichuk V., Nazarchuk H., Bahniuk N., Chornopyschuk, R. M., Nazarchuk, O., Bebyk, V., Turzhanska, O. (2023). Occurrence of *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and sensitivity to antibiotics in patients at a tertiary burn center in 2015 – 2020. *Lekarsky obzor*, 72(5), 217-223

221. Nazarchuk, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskyi, H., Bebyk, V. (2023). Susceptibility to Antimicrobials of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. *Lekársky Obzor*. 72. 18-23

222. Nazarchuk H., Denysko T., Nazarchuk O., Bahniuk N., Bebyk V. 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) 2023 15-17 June, 2023, Prague, Czech Republic page 58

223. Ксенчина К.В., Назарчук О.А., Дмитрієв Д.В., Бебик В.В. Дослідження складу та антибіотикочутливості умовно-патогенної мікробіоти ранових поверхонь у пацієнтів з обмеженими пораненнями кінцівок в ранньому періоді після травми. Практична медицина військового часу: матеріали науково-практичної конференції, 05-06 грудня, 2024, Київ, Харків; С. 21-22

224. 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.

225. 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>

226. Caubet, R., Pedarros-Caubet, F., Chu, M., Freye, E., de Belém Rodrigues, M., Moreau, J. M., & Ellison, W. J. (2004). A radio frequency electric current enhances antibiotic efficacy against bacterial biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(12), 4662–4664. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.12.4662-4664.2004>

227. Shree, P., Singh, C.K., Sodhi, K.K., Surya, J.N., & Singh, D.K. (2023). Biofilms: Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics. *Medicine in Microecology*.

228. Nahaichuk, V. I., Bebyk, V. V., Denysko, T. V., Chornopyschuk, R. M., Nagaichuk, V. V., Leichenko, Y. V., & Nazarchuk, O. A. (2025). Study of the effect of biogalvanic current on biofilm formation of multidrug-resistant clinical strains of opportunistic pathogens of wound infection. *Ukrainian Journal of Military Medicine*, 6 (1), 139-146. [https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.1\(6\)-139](https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.1(6)-139)

229. Kovalchuk, V. P., Nazarchuk, O. A., Burkot, V. M., Fomina, N. S., Prokopchuk, Z. M., & Dobrovanov, O. (2021). Biofilm forming activity of non-fermenting Gram-negative bacteria. *Wiadomosci lekarskie* (Warsaw, Poland : 1960), 74(2), 252–256.

230. Назарчук, О.А., Бебик, В.В., Дениско, Т.В., Назарчук, Г.Г., Пархоменко, О.Г. (2025). Вплив мікроамперного струму на клінічні штами *Acinetobacter baumannii* з ознаками множинної лікарської стійкості та прояв біоелектричного ефекту. *Вісник проблем біології і медицини*, Випуск 1(176), 382-389.

231. Nazarchuk, O.A., Bebyk, V.V., Denysko, T.V., & Nagaichuk, V.V. (2025). Study of the Effect of Low-Intensity Currents Without External Power Sources on Planktonic Cells of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains and Their Susceptibility to Antibiotics. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 29(1), 29-34.

232. Černiauskiėnė, K., Dambrauskienė, A., & Vitkauskienė, A. (2023). Associations between β -Lactamase Types of *Acinetobacter baumannii* and

Antimicrobial Resistance. *Medicina*, 59(8), 1386.
<https://doi.org/10.3390/medicina59081386>

233. Hu, M., Sun, H., Xu, Y., & Xu, X. (2024). Antimicrobial susceptibility and genetic characteristics of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Northwest China. *Frontiers in microbiology*, 15, 1293725.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1293725>

234. Liu, L., Liu, B., Li, L., Li, Y., Zhou, X., & Li, Q. (2025). Impact of Antimicrobial Stewardship and Infection Prevention and Control Programmes on Antibiotic Usage and *A. baumannii* resistance: A 2016-2023 Multicentre Prospective Study. *Infection and drug resistance*, 18, 679–692.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S505133>

235. Alharbi, O., Al-Said, H. M., Ashgar, S. S., Jalal, N. A., Faidah, H., Momenah, A. M., Johargy, A. K., Bantun, F., Qashqari, F. S., Faidah, O. H., Bukhari, M. A., & Ibrahim, K. (2025). Prevalence and Antibigram Pattern of *Acinetobacter baumannii* from 2013 to 2023 in a Tertiary Care Hospital in the Western Region of Saudi Arabia. *Antibiotics*, 14(3), 274.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics14030274>

236. Bandić Pavlović, D., Pospišil, M., Nađ, M., Vrbanović Mijatović, V., Luxner, J., Zarfel, G., Grisold, A., Tonković, D., Dobrić, M., & Bedenić, B. (2024). Multidrug-Resistant Bacteria in Surgical Intensive Care Units: Antibiotic Susceptibility and β -Lactamase Characterization. *Pathogens*, 13(5), 411.
<https://doi.org/10.3390/pathogens13050411>

237. Zaki, M. E. S., Abou ElKheir, N., & Mofreh, M. (2018). Molecular Study of Quinolone Resistance Determining Regions of *gyrA* Gene and *parC* Genes in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* Resistant to Fluoroquinolone. *The open microbiology journal*, 12, 116–122.
<https://doi.org/10.2174/1874285801812010116>

238. Nogbou, N. D., Nkawane, G. M., Ntshane, K., Wairuri, C. K., Phofa, D. T., Mokgokong, K. K., Ramashia, M., Nchabeleng, M., Obi, L. C., & Musyoki, A. M. (2021). Efflux Pump Activity and Mutations Driving Multidrug Resistance

in *Acinetobacter baumannii* at a Tertiary Hospital in Pretoria, South Africa. *International journal of microbiology*, 2021, 9923816. <https://doi.org/10.1155/2021/9923816>

239. Aboelenin, A. M., El-Mowafy, M., Saleh, N. M., Shaaban, M. I., & Barwa, R. (2024). Ciprofloxacin- and levofloxacin-loaded nanoparticles efficiently suppressed fluoroquinolone resistance and biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *Scientific reports*, 14(1), 3125. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-53441-1>

240. Mączyńska, B., Jama-Kmiecik, A., Sarowska, J., Woronowicz, K., Choroszy-Król, I., Piątek, D., & Frej-Mądrzak, M. (2023). Changes in Antibiotic Resistance of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates in a Multi-Profile Hospital in Years 2017-2022 in Wrocław, Poland. *Journal of clinical medicine*, 12(15), 5020. <https://doi.org/10.3390/jcm12155020>

241. Spiliopoulou, A., Giannopoulou, I., Assimakopoulos, S. F., Jelastopulu, E., Bartzavali, C., Marangos, M., Paliogianni, F., & Kolonitsiou, F. (2023). Laboratory Surveillance of *Acinetobacter* spp. Bloodstream Infections in a Tertiary University Hospital during a 9-Year Period. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(11), 503. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8110503>

242. Centers for Disease Control and Prevention. (n.d.). *Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii (CRAB): An urgent public health threat*. Antibiotic Resistance & Patient Safety Portal. Retrieved May 17, 2025, from <https://arpsp.cdc.gov/story/cra-urgent-public-health-threat>

243. Shi, T., & Xie, L. (2023). Distribution and antimicrobial resistance analysis of gram-negative bacilli isolated from a tertiary hospital in Central China: a 10-year retrospective study from 2012 to 2021. *Frontiers in microbiology*, 14, 1297528. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1297528>

244. Raz-Pasteur, A., Liron, Y., Amir-Ronen, R., Abdelgani, S., Ohanyan, A., Geffen, Y., & Paul, M. (2019). Trimethoprim-sulfamethoxazole vs. colistin or ampicillin-sulbactam for the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter*

baumannii: A retrospective matched cohort study. *Journal of global antimicrobial resistance*, 17, 168–172. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.12.001>

245. Saeli, N., Saghar Jafari-Ramedani, Rashid Ramazanzadeh, Nazari, M., Amirhossein Sahebkar, & Khademi, F. (2024). Prevalence and mechanisms of aminoglycoside resistance among drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Iran. *BMC Infectious Diseases*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09585-6>

246. Alkhulaifi, Z. M., & Mohammed, K. A. (2023). Prevalence and molecular analysis of antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical and environmental specimens in Basra, Iraq. *Iranian journal of microbiology*, 15(1), 45–54. <https://doi.org/10.18502/ijm.v15i1.11917>

247. Thabit AK, Alghamdi AM, Miaji MY, Alharbi FS, Jawah AF, Alturki F, Hosin N, Bazuqamah M, Almutairi MS, Alhamed H, Elhendawy A, Atallah D, Humadi AA, Alfifi KA, Alfadel K, Eljaaly K and Elfaky MA the Saudi AntiMicrobial Surveillance (SAMS) study group (2024) Antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* in Saudi Arabia: a national antimicrobial resistance surveillance study. *Front. Public Health*. 12:1436648. doi: 10.3389/fpubh.2024.1436648

248. Kiratisin, P., Kempf, M., Stone, G., & Utt, E. (2023). Ceftazidime-avibactam and comparators against *Pseudomonas aeruginosa* isolates collected globally and in each geographical region between 2017-2020. *Journal of global antimicrobial resistance*, 34, 113–118. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.06.005>

249. Zhao L, Pu J, Liu Y, Cai H, Han M, Yu Y and Tang J (2025) High prevalence of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and identification of a novel VIM-type metallo- β -lactamase, VIM-92, in clinical isolates from northern China. *Front. Microbiol*. 16:1543509. doi: 10.3389/fmicb.2025.1543509

250. Yano, H., Hayashi, W., Kawakami, S., Aoki, S., Anzai, E., Zuo, H., Kitamura, N., Hirabayashi, A., Kajihara, T., Kayama, S., Sugawara, Y., Yahara, K., & Sugai, M. (2024). Nationwide genome surveillance of carbapenem-

resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Japan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 68(5). <https://doi.org/10.1128/aac.01669-23>

251. Centers for Disease Control and Prevention. (2023). Antibiotic resistance threats in the United States, 2022 (CDC Report No. CS332416-B). <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/123839>

252. Abdelaziz, M. A., Abeer M. Abd El-Aziz, Mohamed, & Rasha Barwa. (2024). Characterization and genetic analysis of extensively drug-resistant hospital acquired *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *BMC Microbiology*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03321-5>

253. Mączyńska, B., Frej-Mądrzak, M., Sarowska, J., Woronowicz, K., Choroszy-Król, I., & Jama-Kmiecik, A. (2023). Evolution of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates in a Multi-Profile Hospital over 5 Years (2017-2021). *Journal of clinical medicine*, 12(6), 2414. <https://doi.org/10.3390/jcm12062414>

254. World Health Organization. (2024). WHO bacterial priority pathogens list, 2024 update. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>

255. Wei, X., Li, Q., He, Y., et al. (2023). Molecular characteristics and antimicrobial resistance profiles of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates at a tertiary hospital in Nanning, China. *BMC Microbiology*, 23, 318. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03038-x>

256. Sękowska, A., Bogiel, T., Gospodarek-Komkowska, E., & Kwiecińska-Piróg, J. (2023). Virulence analysis and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolates from hospitalised patients in Poland. *Archives of Microbiology*, 205(3), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03319-6> *Research*, 15(4), 2661–2672. <https://doi.org/10.3390/microbiolres15040176>

257. Jelić, M., Tkalec, S., Vranić-Ladavac, M., Jelić, D., & Močibob, L. (2023). High prevalence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Croatian hospital: Phenotypic and genotypic characterization. *Frontiers in Microbiology*, 14, Article 11596078. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.11596078>

258. Centers for Disease Control and Prevention. (2020). *Antibiotic resistance threats in the United States, 2019*. In: Carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE). National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551704/>

259. Zhou, Y., Zhang, Y., & Wang, Y. (2022). Therapeutic drug monitoring of amikacin: quantification in plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and work experience of clinical pharmacists. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 8899631. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.8899631>

260. Silva, R. M., Oliveira, M. S., & Costa, S. F. (2021). Amikacin for the treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections: clinical efficacy and toxicity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(12), e01321-21. <https://doi.org/10.1128/AAC.01321-21>

261. Hogeia, E., Muntean, A.-C., Plavitu, O., Fratutu, A., Bogdan, I. G., Bratosin, F., Oancea, C.-I., Susa, S.-R., Porav-Hodade, D., Bica, M.-C., & Blidisel, A. (2024). Six-Year Epidemiologic Analysis of Antibiotic Resistance Patterns of *Klebsiella pneumoniae* Infections in a Tertiary Healthcare Center in Western Romania. *Microbiology*

262. Jiang, W., Chen, Y., Lai, M., Ji, Y., Lin, S., Shao, J., & Chen, X. (2025). Comprehensive genomic epidemiology and antimicrobial resistance profiles of clinical *Klebsiella pneumoniae* species complex isolates from a tertiary hospital in Wenzhou, China (2019–2021). *BMC Genomics*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-025-11509-w>

263. Yang Y, He R, Wu Y, Qin M, Chen J, Feng Y, Zhao R, Xu L, Guo X, Tian G-B, Dai M, Yan B and Qin L-N (2023) Characterization of two multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* harboring tigecycline-resistant gene tet(X4) in China. *Front. Microbiol.* 14:1130708. doi: 10.3389/fmicb.2023.1130708

264. Wang J, Xia C, Xia Z and Shen J (2025) Disruption of zinc homeostasis reverses tigecycline resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 15:1458945. doi: 10.3389/fcimb.2025.1458945

265. Husna, A., Rahman, M. M., Badruzzaman, A. T. M., Sikder, M. H., Islam, M. R., Rahman, M. T., Alam, J., & Ashour, H. M. (2023). Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. *Biomedicines*, 11(11), 2937. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11112937>
266. Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M., & Kamal, M. A. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi journal of biological sciences*, 22(1), 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.002>
267. Ghotaslou, R., Baghbani, S., Ghotaslou, P., Mirmahdavi, S., & Ebrahimzadeh Leylabadlo, H. (2023). Molecular epidemiology of antibiotic-resistant *Escherichia coli* among clinical samples isolated in Azerbaijan, Iran. *Iranian journal of microbiology*, 15(3), 383–391. <https://doi.org/10.18502/ijm.v15i3.12898>
268. Tu, B., Zhang, Y., Bi, J., Xu, Z., Shi, L., Zhang, X., Zhao, P., Zhang, D., Yang, G., & Qin, E. (2020). Microbiological Characteristics and Antibiotic Sensitivity in Patients with Nosocomial Spontaneous Bacterial Peritonitis Caused by *Escherichia coli*: A Multicenter Study. *Infectious Microbes & Diseases*, 2(4), 167–172. <https://doi.org/10.1097/im9.0000000000000035>
269. Hu, S., Xie, W., Cheng, Q., Zhang, X., Dong, X., Jing, H., & Wang, J. (2023). Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* complex in a tertiary hospital in Shandong, China. *BMC Microbiology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02913-x>
270. Ayman Elbehiry, Mansor Al Shoaibi, Alzahrani, H., Ibrahim, M., Moussa, I., Feras Alzaben, Alsubki, R. A., Hemeg, H. A., Dakheel Almutairi, Saleh Althobaiti, Fawaz Alanazi, Alotaibi, S. A., Hamoud Almutairi, Alzahrani, A., & Akram Abu-Okail. (2024). *Enterobacter cloacae* from urinary tract infections: frequency, protein analysis, and antimicrobial resistance. *AMB Express*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-024-01675-7>
271. Mohsen Almakrami, Salmen, M., Yahya Ahmad Aldashel, Mesfer Hussain Alyami, Nasser Alquraishah, AlZureea, M., & Jafar Almakrami. (2024).

Prevalence of multidrug-, extensively drug-, and pandrug-resistant bacteria in clinical isolates from King Khaled Hospital, Najran, Saudi Arabia. Deleted Journal, 1(1). <https://doi.org/10.1007/s44337-024-00094-8>

272. Стан антибіотикорезистентності в Україні: результати дослідження АУРА. (2021). Health-Ua.com. https://health-ua.com/inf_zabolevaniya/antibiotikorezistentnist/63909-stan-antibiotikorezistentnost-v-ukran-rezultati-doslidzhennya-aura-chastina-2?utm

273. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2022. Stockholm: ECDC; 2023.

274. Annavajhala, M. K., Gomez-Simmonds, A., & Uhlemann, A. C. (2019). Multidrug-Resistant Enterobacter cloacae Complex Emerging as a Global, Diversifying Threat. Frontiers in microbiology, 10, 44. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00044>

275. Davin-Regli, A., Lavigne, J.-P., & Pagès, J.-M. (2019). Enterobacter spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. Clinical Microbiology Reviews, 32(4). <https://doi.org/10.1128/cmr.00002-19>

276. Sakalauskienė, G. V., Malcienė, L., Stankevičius, E., & Radzevičienė, A. (2025). Unseen Enemy: Mechanisms of Multidrug Antimicrobial Resistance in Gram-Negative ESKAPE Pathogens. Antibiotics (Basel, Switzerland), 14(1), 63. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14010063>

277. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual epidemiological report for 2022. (2023, November 17). European Centre for Disease Prevention and Control. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2022?utm>

278. Swe Swe-Han, K., Pillay, M., & Pillay, M. (2019). Amikacin-resistant Acinetobacter species mediated by the aphA6 gene associated with clinical outcome at an academic complex hospital in KwaZulu-Natal Province, South Africa. South

African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde, 110(1), 49–54.
<https://doi.org/10.7196/SAMJ.2019.v110i1.14045>

279. ELsheredy, A., Yousif, Z., Elghazzawi, E., Elmenshawy, A., & Ghazal, A. (2021). Prevalence of Genes Encoding Aminoglycoside-Modifying Enzymes and *armA* among *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates in Alexandria, Egypt. *Infectious disorders drug targets*, 21(8), e300821191828.
<https://doi.org/10.2174/1871526521666210225113041>

280. Chen, Y., Yang, Y., Liu, L., Qiu, G., Han, X., Tian, S., Zhao, J., Chen, F., Grundmann, H., Li, H., Sun, J., & Han, L. (2018). High prevalence and clonal dissemination of OXA-72-producing *Acinetobacter baumannii* in a Chinese hospital: a cross sectional study. *BMC infectious diseases*, 18(1), 491.
<https://doi.org/10.1186/s12879-018-3359-3>

281. Levy-Blitchtein, S., Roca, I., Plasencia-Rebata, S., Vicente-Taboada, W., Velásquez-Pomar, J., Muñoz, L., Moreno-Morales, J., Pons, M. J., del Valle-Mendoza, J., & Vila, J. (2018). Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* international clones II and III in Lima, Peru. *Emerging Microbes & Infections*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0127-9>

282. Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. D., & Tragiannidis, A. (2021). *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 10(3), 373. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030373>

283. Liu, F., Zhu, Y., Yi, Y., Lu, N., Zhu, B., & Hu, Y. (2014). Comparative genomic analysis of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates reveals extensive genomic variation and diverse antibiotic resistance determinants. *BMC Genomics*, 15(1), 1163. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-1163>

284. Martínez-Trejo, A., Ruiz-Ruiz, J. M., Gonzalez-Avila, L. U., Saldaña-Padilla, A., Hernández-Cortez, C., Loyola-Cruz, M. A., Bello-López, J. M., & Castro-Escarpulli, G. (2022). Evasion of Antimicrobial Activity in *Acinetobacter baumannii* by Target Site Modifications: An Effective Resistance

Mechanism. International journal of molecular sciences, 23(12), 6582.

<https://doi.org/10.3390/ijms23126582>

285. Dettman, J. R., Rodrigue, N., Aaron, S. D., & Kassen, R. (2013). Evolutionary genomics of epidemic and nonepidemic strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(52), 21065–21070. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307862110>

286. Zeng, L., & Jin, S. (2003). aph(3')-IIb, a Gene Encoding an Aminoglycoside-Modifying Enzyme, Is under the Positive Control of Surrogate Regulator HpaA. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(12), 3867–3876. <https://doi.org/10.1128/aac.47.12.3867-3876.2003>

287. Yadav, S. A., Pawar, S. K., Datkhile, K. D., Mohite, S. T., Patil, S. R., & More, A. L. (2024). Phenotypic and Genotypic Characterization of AmpC Beta-Lactamase in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* Findings From a Tertiary Care Hospital. *Cureus*, 16(7), e65185. <https://doi.org/10.7759/cureus.65185>

288. Chen, Q., Lu, W., Zhou, D., Zheng, G., Liu, H., Qian, C., Zhou, W., Lu, J., Ni, L., Bao, Q., Li, A., Xu, T., & Xu, H. (2020). Characterization of Two Macrolide Resistance-Related Genes in Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. *Polish journal of microbiology*, 69(3), 349–356. <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-038>

289. Reinhart, K., Bauer, M., Riedemann, N. C., & Hartog, C. S. (2012). New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. *Clinical microbiology reviews*, 25(4), 609–634. <https://doi.org/10.1128/CMR.00016-12>

290. Abbasi, E., & Ghaznavi-Rad, E. (2023). High frequency of NDM-1 and OXA-48 carbapenemase genes among *Klebsiella pneumoniae* isolates in central Iran. *BMC microbiology*, 23(1), 98. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02840-x>

291. Rashvand, P., Peymani, A., Mohammadi, M., Karami, A. A., Samimi, R., Hajian, S., Porasgari, D., & Habibollah-Pourzereshki, N. (2021). Molecular survey of aminoglycoside-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from tertiary hospitals in Qazvin, Iran. *New microbes and new infections*, 42, 100883. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2021.100883>

292. Amereh, F., Arabestani, M. R., Hosseini, S. M., & Shokoohizadeh, L. (2023). Association of qnr Genes and OqxAB Efflux Pump in Fluoroquinolone-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains. *International journal of microbiology*, 2023, 9199108. <https://doi.org/10.1155/2023/9199108>
293. Schedler, K., Assadian, O., Brautferger, U., Müller, G., Koburger, T., Classen, S., & Kramer, A. (2017). Proposed phase 2/ step 2 in-vitro test on basis of EN 14561 for standardised testing of the wound antiseptics PVP-iodine, chlorhexidine digluconate, polihexanide and octenidine dihydrochloride. *BMC Infectious Diseases*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2220-4>
294. Babalska, Z. Ł., Korbecka-Paczkowska, M., & Karpiński, T. M. (2021). Wound Antiseptics and European Guidelines for Antiseptic Application in Wound Treatment. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland), 14(12), 1253. <https://doi.org/10.3390/ph14121253>
295. Chaurasia AK, Thorat ND, Tandon A, Kim JH, Park SH, Kim KK. Coupling of radiofrequency with magnetic nanoparticles treatment as an alternative physical antibacterial strategy against multiple drug resistant bacteria. *Scientific Reports*. 2016 Sep;6(1). Available from: <https://doi.org/10.1038/srep33662>
296. Abd FH, Abbar AH. Treatment of hospital wastewater by anodic oxidation using a new approach made by combining rotation with pulsed electric current on Cu-SnO₂-Sb₂O₅ rotating cylinder anode. *Heliyon*. 2025 Jan 1;11(2):e42069–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42069>
297. Deng Y. Making Waves: Principles for the Design of Sustainable Household Water Treatment. *Water Research*. 2021 Apr;117:151. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117151>
298. Kim YW, Lee J, Han SK, Koo BS, Park T, Park HM, et al. A Non-Electrolysis Bioelectric Effect for Gingivitis and Hygiene Contamination Biofilm Removal. *Applied Microbiology*. 2023 Jun 30;3(3):675–86. Available from: <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3030046>

299. Saša Haberl Meglič, Dejan Slokar, Damijan Miklavčič. Inactivation of antibiotic-resistant bacteria *Escherichia coli* by electroporation. *Frontiers in Microbiology*. 2024 Jan 25;15. doi: 10.3389/fmicb.2024.1347000
300. Zhou J, Hung YC, Xie X. Making waves: Pathogen inactivation by electric field treatment: From liquid food to drinking water. *Water Research*. 2021 Dec;207:117817. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117817>
301. Garner AL. Pulsed electric field inactivation of microorganisms: from fundamental biophysics to synergistic treatments. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019 Aug 7;103(19):7917–29. doi: 10.1007/s00253-019-10067-y
302. Putri NL, Koendhori EB, Susilo I, Tambunan BA. The effect of low-electrical voltage as a method to eradicate *Acinetobacter baumannii* bacteria. *Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2023 Dec 10;3(2):41–4. Available from: <https://doi.org/10.51559/jcmid.v3i2.20>
303. Del Pozo JL, Rouse MS, Patel R. Bioelectric Effect and Bacterial Biofilms. a Systematic Review. *The International Journal of Artificial Organs*. 2008 Sep;31(9):786–95. Available from: <https://doi.org/10.1177/039139880803100906>
304. Favero, M. S., Carson, L. A., Bond, W. W., & Petersen, N. J. (1971). *Pseudomonas aeruginosa*: Growth in Distilled Water from Hospitals. *Science*, 173(3999), 836–838. <http://www.jstor.org/stable/1732137>
305. 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>
306. Cella, E., Giovanetti, M., Benedetti, F., Scarpa, F., Johnston, C., Borsetti, A., Ceccarelli, G., Azarian, T., Zella, D., & Ciccozzi, M. (2023). Joining Forces against Antibiotic Resistance: The One Health Solution. *Pathogens*, 12(9), 1074. <https://doi.org/10.3390/pathogens12091074>
307. Paidalwar, A. A. & Khedikar, I. P. Overview of water disinfection by UV technology: A review. *Int. J. Sci. Technol. Eng*. 2(9), 213–219 (2016).

308. Qin, S., Xiao, W., Zhou, C. et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Sig Transduct Target Ther* 7, 199 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>
309. Abd, F. H., & Abbar, A. H. (2025). Treatment of hospital wastewater by anodic oxidation using a new approach made by combining rotation with pulsed electric current on Cu-SnO₂–Sb₂O₅ rotating cylinder anode. *Heliyon*, 11(2), e42069–e42069. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42069>
310. Schwartz, B., Klamer, K., Zimmerman, J., Kale-Pradhan, P. B., & Bhargava, A. (2024). Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Clinical Settings: A Review of Resistance Mechanisms and Treatment Strategies. *Pathogens*, 13(11), 975. <https://doi.org/10.3390/pathogens13110975>
311. Shawki, M.M., El-Shall, H.S., Moustafa, M.E. et al. Revealing detrimental effects of various DC electrical energy conditions on different multidrug resistant bacteria: a comprehensive study. *Sci Rep* 14, 17046 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-66063-4>
312. Tabak, Y. P., Merchant, S., Ye, G., Vankeepuram, L., Gupta, V., Kurtz, S. G., & Puzniak, L. A. (2019). Incremental clinical and economic burden of suspected respiratory infections due to multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the United States. *The Journal of hospital infection*, 103(2), 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.06.005>
313. Tang J, Zheng H, Cai J, Liu J, Wang Y and Deng J (2023) Research progress of electrochemical oxidation and self-action of electric field for medical wastewater treatment. *Front. Microbiol.* 13:1083974. doi: 10.3389/fmicb.2022.1083974
314. Vasileva, E., Parvanova-Mancheva, T., Beschkov, V., Alexieva, Z., Gerginova, M., & Peneva, N. (2021). Effects of Constant Electric Field on Biodegradation of Phenol by Free and Immobilized Cells of *Bradyrhizobium japonicum* 273. *ChemEngineering*, 5(4), 75. <https://doi.org/10.3390/chemengineering5040075>

315. Minkiewicz-Zochniak, A., Strom, K., Jarzynka, S., Iwańczyk, B., Koryszewska-Bagińska, A., & Olędzka, G. (2021). Effect of Low Amperage Electric Current on Staphylococcus Aureus-Strategy for Combating Bacterial Biofilms Formation on Dental Implants in Cystic Fibrosis Patients, In Vitro Study. Materials (Basel, Switzerland), 14(20), 6117. <https://doi.org/10.3390/ma14206117>
316. Froughreyhani, M., Salemmilani, A., Mozafari, A., & Hosein-Soroush, M. (2018). Effect of electric currents on antibacterial effect of chlorhexidine against Entrococcus faecalis biofilm: An in vitro study. Journal of clinical and experimental dentistry, 10(12), e1223–e1229. <https://doi.org/10.4317/jced.55369>
317. Li, J., Feng, Y., Chen, W., Zhang, S., Ma, J., Chen, S., Liu, S., Cao, C., & Zhang, Y. (2023). Electroactive materials: Innovative antibacterial platforms for biomedical applications. Progress in Materials Science, 132, 101045. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2022.101045>
318. Нагайчук В. В. (2010). Вплив біогальванізації на культуру *E. coli* та гемолітичного стафілококу. Вісник морфології, № 16(3), С. 716-720
319. Deng, Y. (2021). Making Waves: Principles for the Design of Sustainable Household Water Treatment. Water Research, 117151. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117151>
320. Abd, F. H., & Abbar, A. H. (2025). Treatment of hospital wastewater by anodic oxidation using a new approach made by combining rotation with pulsed electric current on Cu-SnO₂–Sb₂O₅ rotating cylinder anode. Heliyon, 11(2), e42069–e42069. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42069>
321. Hoseini, S. A. , Amiri Kojuri, S. and Hashemi karuei, S. M. (2016). Effects of Electrical Current on Fungal and Bacterial Removal from Water. *Journal of Water and Wastewater; Ab va Fazilab (in persian)*, 27(3), 20-25.
322. Ayoub, G. M., R. Zayyat, & Naji, N. (2018). Electric current induced bacterial inactivation in seawater: effects of various operating conditions. International Journal of Environmental Science and Technology, 16(8), 4749–4760. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2109-9>

323. Zayyat M, A. G., R., & Naji, N. (2022). Electric current induced bacterial inactivation in seawater: effects of various operating conditions. Balamand.edu.lb. <https://doi.org/17351472>
324. Kim, Y. W., Lee, J., Han, S. K., Koo, B.-S., Park, T., Park, H. M., & Lee, B. (2023). A Non-Electrolysis Bioelectric Effect for Gingivitis and Hygiene Contamination Biofilm Removal. *Applied Microbiology*, 3(3), 675-686. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3030046>
325. Chavez-Manini, C. A., Reza-López, S. A., Arzate-Quintana, C., Quiñonez-Flores, C. M., María Alejandra Favila-Pérez, Camarillo-Cisneros, J., & Castillo-González, A. R. (2024). Effect of electric current in viability, biofilm formation and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: A systematic review. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 52, 100735–100735. <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2024.100735>
326. Krishnamurthi, V. R., Rogers, A., Peifer, J., Niyonshuti, I. I., Chen, J., & Wang, Y. (2020). Microampere Electric Current Causes Bacterial Membrane Damage and Two-Way Leakage in a Short Period of Time. *Applied and environmental microbiology*, 86(16), e01015-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.01015-20>
327. Anastassopoulou, C., Feros, S., Petsimeri, A., Gioula, G., & Tsakris, A. (2024). Phage-Based Therapy in Combination with Antibiotics: A Promising Alternative against Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 13(10), 896. <https://doi.org/10.3390/pathogens13100896>
328. Wong, C. W. Y., & Wang, S. (2022). Efficacy of Repeated Applications of Bacteriophages on *Salmonella enterica*-Infected Alfalfa Sprouts during Germination. *Pathogens*, 11(10), 1156. <https://doi.org/10.3390/pathogens11101156>
329. Zhao, M., Li, H., Gan, D., Wang, M., Deng, H., & Yang, Q. E. (2024). Antibacterial effect of phage cocktails and phage-antibiotic synergy against pathogenic *Klebsiella pneumoniae*. *MSystems*. <https://doi.org/10.1128/msystems.00607-24>

330. Tanji, Y., Shimada, T., Fukudomi, H., Miyanaga, K., Nakai, Y., & Unno, H. (2005). Therapeutic use of phage cocktail for controlling *Escherichia coli* O157:H7 in gastrointestinal tract of mice. *Journal of bioscience and bioengineering*, 100(3), 280–287. <https://doi.org/10.1263/jbb.100.280>
331. Forti, F., Roach, D. R., Cafora, M., Pasini, M. E., Horner, D. S., Fiscarelli, E. V., Rossitto, M., Cariani, L., Briani, F., Debarbieux, L., & Ghisotti, D. (2018). Design of a Broad-Range Bacteriophage Cocktail That Reduces *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms and Treats Acute Infections in Two Animal Models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(6). <https://doi.org/10.1128/AAC.02573-17>
332. Oechslin, F. (2018). Resistance Development to Bacteriophages Occurring during Bacteriophage Therapy. *Viruses*, 10(7), 351. <https://doi.org/10.3390/v10070351>
333. Kovacs, C. J., Rapp, E. M., Rankin, W. R., McKenzie, S. M., Brasko, B. K., Hebert, K. E., Bachert, B. A., Kick, A. R., Burpo, F. J., & Barnhill, J. C. (2024). Combinations of Bacteriophage Are Efficacious against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and Enhance Sensitivity to Carbapenem Antibiotics. *Viruses*, 16(7), 1000. <https://doi.org/10.3390/v16071000>
334. Uruén, C., Chopo-Escuin, G., Tommassen, J., Mainar-Jaime, R. C., & Arenas, J. (2020). Biofilms as Promoters of Bacterial Antibiotic Resistance and Tolerance. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 10(1), 3. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010003>
335. Bowler, P., Murphy, C., & Wolcott, R. (2020). Biofilm exacerbates antibiotic resistance: Is this a current oversight in antimicrobial stewardship? *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00830-6>
336. Maurice, N. M., Bedi, B., & Sadikot, R. T. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Host Response and Clinical Implications in Lung Infections. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 58(4), 428–439. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2017-0321TR>
337. Li, P., Yin, R., Cheng, J., & Lin, J. (2023). Bacterial Biofilm Formation on Biomaterials and Approaches to Its Treatment and Prevention. *International*

journal of molecular sciences, 24(14), 11680.
<https://doi.org/10.3390/ijms241411680>

338. Tuon, F. F., Dantas, L. R., Suss, P. H., & Tasca Ribeiro, V. S. (2022). Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm: A Review. *Pathogens*, 11(3), 300. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030300>

339. Fu, W., Forster, T., Mayer, O., Curtin, J. J., Lehman, S. M., & Donlan, R. M. (2010). Bacteriophage Cocktail for the Prevention of Biofilm Formation by *Pseudomonas aeruginosa* on Catheters in an In Vitro Model System. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1), 397–404. <https://doi.org/10.1128/AAC.00669-09>

340. Sui, B., Li, X., Li, N., Tao, Y., Wang, L., Xu, Y., Hou, Y., Hu, B., & Tan, D. (2025). Synergistic action of mucoactive drugs and phages against *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiology Spectrum*. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01601-24>

341. Liu, S., Lu, H., Zhang, S., Shi, Y., & Chen, Q. (2022). Phages against Pathogenic Bacterial Biofilms and Biofilm-Based Infections: A Review. *Pharmaceutics*, 14(2), 427. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020427>

342. Santamaría-Corral, G., Senhaji-Kacha, A., Broncano-Lavado, A., Esteban, J., & García-Quintanilla, M. (2023). Bacteriophage-Antibiotic Combination Therapy against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1089. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071089>

343. Manohar, P., Loh, B., Nachimuthu, R., & Leptihn, S. (2024). Phage-antibiotic combinations to control *Pseudomonas aeruginosa*–*Candida* two-species biofilms. *Scientific Reports*, 14(1), 9354. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59444-2>

344. Liu, Y., Zhao, Y., Qian, C., Huang, Z., Feng, L., Chen, L., Yao, Z., Xu, C., Ye, J., & Zhou, T. (2023). Study of Combined Effect of Bacteriophage vB3530 and Chlorhexidine on the Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02976-w>.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

НАУКОВІ ПРАЦІ, У ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Denysko, T.V., Nazarchuk, O.A., Gruzevskiy, 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(4), 932467. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.932467>. (*Denysko, T.V.* – брала участь в огляді наукової літератури за темою дослідження, участь у розробці плану дослідження, дослідженні антимікробної дії антисептиків щодо частини клінічних штамів, провела серію дослідів з вивчення впливу антисептиків на незрілу біоплівку та інтерпретацію результатів та написала відповідні фрагменти рукопису, брала участь у підготовці та оформленні рукопису статті до друку. *Nazarchuk O.A.* – участь в розробці концепції і плану дослідження, виділення чистих культур мікроорганізмів, наукове керівництво реалізацією мікробіологічних досліджень та погодженні до друку. *Gruzevskiy O.* – участь в розробці дизайну та плану дослідження, участь в аналізі даних дослідження та редагуванні рукопису. *Bahniuk N.A.* – брала участь в розробці плану дослідження, проведення досліджень протимікробної активності антисептиків щодо частини клінічних штамів, участь в аналізі даних, підготовці матеріалів фрагменту рукопису статті. *Dmytriiev D.V.* – розробка дизайну та плану дослідження, участь в аналізі даних дослідження, корекції і редагуванні рукопису статті та погодженні до друку. *Chornopyschuk R.M.* – забезпечення організації та проведення забору біоматеріалу від пацієнтів для мікробіологічного дослідження, редагування рукопису та погодження до друку).
2. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., **Bebyk, V.**, Matuschek, E.,

- Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. *The Lancet. Infectious diseases*, 23(7), 784–786. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00291-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00291-8). (Ljungquist O. – участь в керівництві дослідженням, аналіз та візуалізація даних, первинна обробка одержаних даних, підготовка рукопису; Nazarchuk O. – концепція основної ідеї наукового дослідження, попередній збір та підготовка клінічних мікробних ізолятів, рецензування рукопису статті; Kahlmeter G. - фіналізація дизайну дослідження, критичне рецензування рукопису статті; Andrews V. – критичне рецензування, обробка даних та участь в проведенні їх аналізу та візуалізації, здійснено редагування тексту; Koithan T. – виконано лабораторні дослідження другого етапу дослідження та підготовлено культури до ідентифікації методом MULDI-Toff, здійснено редагування тесту рукопису; Wasserstrom L. – брав участь у критичному рецензуванні; Dmytriiev D. – здійснено попередній збір та підготовку клінічних ізолятів, виконано подальшу лабораторну роботу, здійснено критичне редагування рукопису; Fomina N. – попередній збір та підготовка клінічних ізолятів до дослідження; Matuschek E. – ідея дослідження, остаточна розробка дизайну дослідження, консультування, аналіз та візуалізація даних, критичний перегляд; Riesbeck K. – участь в розробці концепції, дизайну дослідження, адміністрування ряду досліджень; участь в аналізі даних та первинній підготовці рукопису).
3. Nagaichuk, V., Nazarchuk, H., Bahniuk, N., Chornopyschuk, R.M., Nazarchuk, O., **Bebyk, V.**, Turzhanska, O. (2023). Occurrence of *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and sensitivity to antibiotics in patients at a tertiary burn center in 2015 – 2020. *Lekarsky obzor*, 72(5), 217-223. (Nagaichuk V. – брав участь в погодженні концепції дослідження, організації дослідження, забору біоматеріалу від пацієнтів з опіками; Nazarchuk H. – брала участь в редагуванні, перекладі англійською мовою та підготовці статті до подачі в редакцію журналу; Bahniuk N. – брала участь у проведенні ряду мікробіологічних досліджень, проводила оцінку результатів та підготувала матеріал до друку; Chornopyschuk R. M. – участь в заборі матеріалу від пацієнтів для

- мікробіологічного дослідження, участь в редагуванні рукопису статті; *Nazarchuk O.* – розробка концепції дослідження, консультування та участь в аналізі результатів дослідження, редагуванні рукопису; *Turzhanska O.* – проведення математичної обробки даних та статичного аналізу результатів дослідження).
4. Nazarchuk, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskyi, H., **Bebyk, V.** (2023). Susceptibility to Antimicrobials of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. *Lekársky Obzor.* 72, 18-23. (*Nazarchuk O.* – участь у розробці основної концепції дослідження, керівництво дослідженням, аналіз одержаних даних, редагування та погодження статті до подачі її до друку; *Nagaichuk V.* – участь в розробці концепції дослідження, забір матеріалу для дослідження, аналіз результатів дослідження та участь в редагуванні тексту рукопису статті; *Bahniuk N.* – брала участь у дослідженні чутливості до антибіотиків ряду клінічних штамів *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, підготувала матеріал до подачі статті до друку; *Nazarchuk H.* – переклад статті англійською, участь в редагуванні тесту рукопису; *Rymsha O.* – брала участь в аналізі одержаних результатів та редагуванні рукопису статті перед подачею до редакції; *Dobrovanov O.* – участь в редакційній підготовці статті до друку в журналі; *Tulchynskyi H.* – участь у заборі матеріалу від пацієнтів для мікробіологічного дослідження).
 5. Назарчук, О.А., **Бєбик, В.В.**, Дениско, Т.В., Назарчук, Г.Г., Пархоменко, О.Г. (2025). Вплив мікроамперного струму на клінічні штами *Acinetobacter baumannii* з ознаками множинної лікарської стійкості та прояв біоелектричного ефекту. *Вісник проблем біології і медицини*, Випуск 1(176), 382-389. (*Назарчук О.А.* – розробка наукової концепції, участь в розробці дизайну дослідження та наукове керівництво дослідженням, редагування рукопису статті; *Дениско Т.В.* – участь в аналізі даних досліджень, редагування рукопису та підготовка статті до друку; *Назарчук Г.Г.* – виділення культур

від пацієнтів, редагування та оформлення статті до друку; *Пархоменко О.Г.* – збір культур клінічних штамів мікроорганізмів, виділення їх від пацієнтів, брав участь у валідазації та аналізі результатів досліджень).

6. Nahaichuk, V.I., **Bebyk, V.V.**, Denysko, T.V., Chornopryshchuk, R.M., Nagaichuk, V.V., Leichenko, Y.V., Nazarchuk, O.A. (2025). Study of the effect of biogalvanic current on biofilm formation of multidrug-resistant clinical strains of opportunistic pathogens of wound infection. *Ukrainian Journal of Military Medicine*, 6(1), 139-146. (*Nahaichuk V.I.* – концепція та дизайн дослідження, редагування статті, остаточне затвердження статті; *Denysko T.V.* – участь в аналізі результатів мікробіологічних досліджень впливу біогальванічного струму на бактерії, участь в підготовці огляду літератури за темою статті, участь в написанні статті та подачі до друку; *Chornopryshchuk R.M.* – участь в аналізі одержаних результатів та редагуванні рукопису статті; *Nagaichuk V.V.* – участь в зборі даних дослідження, редагуванні та корекції рукопису статті; *Leichenko Y.V.* – участь в аналізі та інтерпретації одержаних даних та редагуванні рукопису статті; *Nazarchuk O.A.* – участь в розробці концепції наукового дослідження, дизайну, аналізі та інтерпретації результатів дослідження, редагуванні рукопису статті та остаточному затвердженні статті до друку).
7. Nazarchuk, O.A., **Bebyk, V.V.**, Denysko, T.V., & Nagaichuk, V.V. (2025). Study of the Effect of Low-Intensity Currents Without External Power Sources on Planktonic Cells of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains and Their Susceptibility to Antibiotics. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 29(1), 29-34. (*Nazarchuk O.A.* – участь в розробці дизайну дослідження, аналізі та інтерпретації одержаних даних, редагування рукопису статті; *Denysko T.V.* – участь в розробці дизайну дослідження, участь в аналізі даних та проведенні статистичної обробки цифрових даних, підготовка статті до подачі в редакцію журналу; *Nagaichuk V.V.* – участь в розробці дизайну дослідження та консультування щодо вивчення впливу біогальванічного струму без зовнішніх джерел живлення на мікроорганізми).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Nazarchuk H., Denysko T., Nazarchuk O., Bahniuk N., **Bebyk V.** 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) 2023 15-17 June, 2023, Prague, Czech Republic page 58. (*Nazarchuk H.* – виділення клінічних штамів мікроорганізмів від пацієнтів, участь в аналізі одержаних результатів, подання тез до друку; *Denysko T.* – участь в аналізі результатів, *Nazarchuk O.* – участь в аналізі результатів мікробіологічних досліджень, редагуванні тексту тез доповідей; *Bahniuk N.* – участь в мікробіологічних дослідженнях з виділення чистої культури мікроорганізмів та їх чутливості до ряду антисептиків).
9. 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. (*Denysko T.* – участь в мікробіологічних дослідженнях, аналізі результатів, подання тез до друку; *Nazarchuk O.* – участь в аналізі результатів мікробіологічних досліджень, редагуванні тексту тез доповідей; *Bahniuk N.* – виділення клінічних штамів мікроорганізмів від пацієнтів, участь в аналізі одержаних результатів; *Hruzevskyi O.* – редагування тез доповідей).
10. Ксенчина К.В., Назарчук О.А., Дмитрієв Д.В., **Бебик В.В.** Дослідження складу та антибіотикочутливості умовно-патогенної мікробіоти ранових поверхонь у пацієнтів з обмеженими пораненнями кінцівок в ранньому періоді після травми. Практична медицина військового часу: матеріали науково-практичної конференції, 05-06 грудня, 2024, Київ, Харків; С. 21-22. (*Ксенчина К.В.* – виділення від пацієнтів біоматеріалу та мікробіологічна ідентифікація ряду клінічних штамів мікроорганізмів, *Назарчук О. А.* – участь в розробці дизайну дослідження, аналізі результатів та редагування тез доповідей, *Дмитрієв Д. В.* – участь в розробці дизайну, редагування тез).

Апробація результатів дисертації:

1. Congress of the European Society of Ophthalmology (SOE) 2023, (Prague, Czech Republic, 15-17 June, 2023). – публікація тез.
2. «The FEMS Conference on Microbiology» (Belgrade, Serbia, 2022). – публікація тез.
3. Науково-практична конференція «Практична медицина військового часу», (м. Київ, м. Харків, 05-06 грудня, 2024). – публікація тез.

Додаток Б

АКТИ ВПРОВАДЖЕНЬ



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів наукових досліджень

1. **Назва наукової розробки, яка впроваджується:** Мікробіологічне обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії на антибіотикорезистентних збудників інфекційних ускладнень.
2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Розробник: Бебик Віра Володимирівна.
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. Nagaichuk V., Nazarchuk H., Bahniuk N., Chornopyschuk, R. M., Nazarchuk, O., Bebyk, V., Turzhanska, O. (2023). Occurrence of A. baumannii, P. aeruginosa and sensitivity to antibiotics in patients at a tertiary burn center in 2015 – 2020. *Lekarsky obzor*, 72(5), 217-223.
 3. Nazarchuk, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskiy, H., Bebyk, V. (2023). Susceptibility to Antimicrobials of Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. *Lekarsky Obzor*. 72. 18-23.
 4. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., Bebyk, V., Matuschek, E., & Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. *The Lancet. Infectious diseases*, 23(7), 784–786. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00291-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00291-8).
3. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Заклад вищої освіти Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, кафедра мікробіології та паразитології з основами імунології.
4. **Термін впровадження:** 2025 р.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології, в матеріали лекцій та практичних занять, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
6. **Ефективність впровадження:** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі забезпечує розширення уявлень та поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо антибіотикорезистентності серед провідних збудників інфекційних ускладнень та активності сучасних засобів протимікробної дії стосовно полірезистентних умовно-патогенних мікроорганізмів.

Відповідальний за впровадження:
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



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
закладу вищої освіти

Одеський національний медичний університет
(ОНМедУ) МОЗ України, професор

Світлана КОТЮЖИНСЬКА

2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва наукової розробки, яка впроваджується: Мікробіологічне обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії на антибіотикорезистентних збудників інфекційних ускладнень.
2. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Розробник: Бебик Віра Володимирівна.
3. Джерела інформації:
 1. 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.
 2. Nazarchuk, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskiy, H., Bebyk, V. (2023). Susceptibility to Antimicrobials of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. *LekárskyObzor.* 72. 18-23.
 3. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., Bebyk, V., Matuschek, E., & Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. *The Lancet. Infectious diseases*, 23(7), 784–786. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00291-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00291-8).
 4. Вплив мікроамперного струму на клінічні штами *Acinetobacter baumannii* з ознаками множинної лікарської стійкості та прояв біоелектричного ефекту. Вісник проблем біології і медицини», 2025 Випуск 1, 176, 382-389. doi: <https://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2025-1-176-382-389>.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: Заклад вищої освіти Одеський Національний медичний університет (ОНМедУ) МОЗ України, кафедра загальної і клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології (протокол засідання № 11 від 19. 03. 2025 р.).
5. Результати застосування пропозиції за період з березня 2025. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри загальної і клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології на практичних заняттях.
6. Ефективність впровадження: Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі забезпечує розширення уявлень та поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо антибіотикорезистентності серед провідних збудників інфекційних ускладнень та активності сучасних засобів протимікробної дії на полірезистентних умовно-патогенних мікроорганізмів.

Відповідальний за впровадження:
д.мед.н., професор ЗВО

Олександр ГРУЗЕВСЬКИЙ

Завідувач кафедри загальної і клінічної
епідеміології та біобезпеки з курсом
мікробіології та вірусології
ЗВО Одеський національний медичний
університет (ОНМедУ) МОЗ України,
д.мед.н., професор

Микола ГОЛУБЯТНИКОВ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи закладу вищої освіти Полтавський державний медичний університет МОЗ України, професор

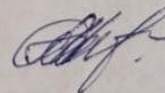
Валентин ДВОРНИК
2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва наукової розробки, яка впроваджується:** Мікробіологічне обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії на антибіотикорезистентних збудників інфекційних ускладнень.
- Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 21018 м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Розробник: Бебик Віра Володимирівна.
- Джерела інформації:**
 - 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.
 - Nazarchuk, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskiy, H., Bebyk, V. (2023). Susceptibility to Antimicrobials of Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. Lekársky Obzor. 72. 18-23.
 - Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., Bebyk, V., Matuschek, E., & Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. The Lancet. Infectious diseases, 23(7), 784–786. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00291-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00291-8).
 - Вплив мікроамперного струму на клінічні штами Acinetobacter baumannii з ознаками множинної лікарської стійкості та прояв біоелектричного ефекту. Вісник проблем біології і медицини», 2025 Випуск 1, 176, 382-389. doi: <https://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2025-1-176-382-389>.
- Базова установа, яка проводить впровадження:** Заклад вищої освіти Полтавський державний медичний університет МОЗ України, кафедра мікробіології (протокол засідання №15 від 19 березня 2025 р.).
- Результати застосування** пропозиції за період з березня 2025. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри мікробіології на практичних заняттях.
- Ефективність впровадження:** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі забезпечує розширення уявлень та поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо антибіотикорезистентності серед провідних збудників інфекційних ускладнень та активності сучасних засобів протимікробної дії на полірезистентних умовно-патогенних мікроорганізмів.

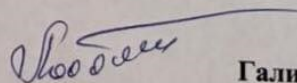
Відповідальний за впровадження:

к.мед.н., доцент ЗВО



Марія ФАУСТОВА

Завідувач кафедри мікробіології ЗВО
Полтавський державний медичний
університет МОЗ України,
д.мед.н., професор



Галина ЛОБАНЬ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України

д.мед.н., професор  Аркадій ШУЛЬГАЙ

2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів наукових досліджень

1. Назва пропозиції: Мікробіологічне обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії на антибіотикорезистентних збудників інфекційних ускладнень.

2. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; 21018 м. Вінниця-18, вул. Пирогова, 56.

Розробник: Бебик Віра Володимирівна

3. Джерело 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, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskiy, H., Bebyk, V. (2023). Susceptibility to Antimicrobials of Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. Lekársky Obzor. 72. 18-23.
3. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., Bebyk, V., Matuschek, E., & Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. The Lancet. Infectious diseases, 23(7), 784–786. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)0029ф](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)0029ф).

4. Де впроваджено. Впроваджено в навчальний процес на лекціях, практичних заняттях на кафедрі мікробіології, вірусології, та імунології

5. Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (протокол засідання № 2 від 15.01. 2025 р.).

5. Ефективність впровадження: Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі забезпечує розширення уявлень та поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо антибіотикорезистентності серед провідних збудників інфекційних ускладнень та активності сучасних засобів протимікробної дії на полірезистентних умовно-патогенних мікроорганізмів.

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри мікробіології, вірусології

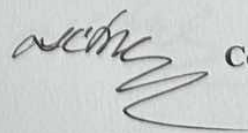
та імунології Тернопільського

національного медичного університету

імені І.Я. Горбачевського

Міністерства охорони здоров'я України

доктор медичних наук, професор



Сергій КЛИМНЮК



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ Результатів наукових досліджень

1. **Назва пропозиції:** Мікробіологічне обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії на антибіотикорезистентних збудників інфекційних ускладнень.
2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; 21018 м. Вінниця-18, вул. Пирогова, 56.
Розробник: Бебик Віра Володимирівна
3. **Джерело інформації:**
 1. 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.
 2. Nazarchuk, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskyi, H., Bebyk, V. (2023). Susceptibility to Antimicrobials of Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. Lekársky Obzor. 72. 18-23.
 3. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., Bebyk, V., Matuschek, E., & Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. The Lancet. Infectious diseases, 23(7), 784–786. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00291-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00291-8).
 4. Вплив мікроамперного струму на клінічні штами Acinetobacter baumannii з ознаками множинної лікарської стійкості та прояв біоелектричного ефекту. Вісник проблем біології і медицини», 2025 Випуск 1, 176, 382-389. doi: <https://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2025-1-176-382-389>.
4. **Де впроваджено:** КНП "Подільський регіональний центр онкології Вінницької обласної Ради".
5. **Ефективність впровадження:** відповідно до запропонованої інформації щодо потенційних етіологічно значущих збудників інфекційних ускладнень, пов'язаних з наданням медичної допомоги, та даних щодо їх чутливості до антибіотиків, антисептиків розширено уявлення, поглиблено знання медичного персоналу щодо покращення підходів до профілактики інфекційних ускладнень, спричинених поліантибіотикорезистентними мікроорганізмами та удосконалення лікування пацієнтів з використанням альтернативних підходів в комплексній програмі антимікробної терапії.

Відповідальний за впровадження:

Медичний директор

**КНП "Подільський регіональний
центр онкології Вінницької обласної Ради,
д.мед.н., професор**

Дмитро ДМИТРИЄВ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший проректор
Дніпровського державного
медичного університету
д.мед.н., професор
Ігор ШПОНЬКА
«02» 04 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва наукової розробки, яка впроваджується: Мікробіологічне обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії на антибіотикорезистентних збудників інфекційних ускладнень.
2. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Розробник: Бебик Віра Володимирівна
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, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskiy, H., Bebyk, V. (2023). Susceptibility to Antimicrobials of Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. Lekársky Obzor. 72. 18-23.
 3. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., Bebyk, V., Matuschek, E., & Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. The Lancet. Infectious diseases, 23(7), 784–786. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00291-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00291-8).
 4. Вплив мікроамперного струму на клінічні штами Acinetobacter baumannii з ознаками множинної лікарської стійкості та прояв біоелектричного ефекту. Вісник проблем біології і медицини», 2025 Випуск 1, 176, 382-389. doi: <https://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2025-1-176-382-389>.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: Дніпровський державний медичний університет МОЗ України, кафедра мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології (протокол засідання № від 02 04 2025 р.).
5. Результати застосування пропозиції за період з березня 2025. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри мікробіології на практичних заняттях.
6. Ефективність впровадження: Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі забезпечує розширення уявлень та поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо антибіотикорезистентності серед провідних збудників інфекційних ускладнень та активності сучасних засобів протимікробної дії на полірезистентних умовно-патогенних мікроорганізмів.

Голова комісії:

В.О. завідувача кафедри мікробіології, вірусології,
імунології, епідеміології та медико-біологічної
фізики й інформатики ДДМУ

к. м.н., доцент

Члени комісії:

к.біол.н., доцент

к.біол.н., викладач

Ірина КОШОВА

Світлана ЄГОРОВА

Ірина ЖЕРНОСЕКОВА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
ТОВ «МЦ «Альтамедика»Богдан ШЕВНЯ
« 08 » 04 2025 р.АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
Результатів наукових досліджень

1. Назва пропозиції: Мікробіологічне обґрунтування розробки та застосування альтернативних засобів протимікробної дії на антибіотикорезистентних збудників інфекційних ускладнень.

1. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Розробник: Бебик Віра Володимирівна.

2. Джерело 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, O., Nagaichuk, V., Bahniuk, N., Nazarchuk, H., Rymsha, O., Dobrovanov, O., Tulchynskiy, H., Bebyk, V. (2023). Susceptibility to Antimicrobials of Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa Clinical Strains and Their blaVIM Variants in ICU of Regional Burn Centre. Lekársky Obzor. 72. 18-23.
3. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., Bebyk, V., Matuschek, E., & Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. The Lancet. Infectious diseases, 23(7), 784–786. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00291-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00291-8).
4. Вплив мікроамперного струму на клінічні штами Acinetobacter baumannii з ознаками множинної лікарської стійкості та прояв біоелектричного ефекту. Вісник проблем біології і медицини», 2025 Випуск 1, 176, 382-389. doi: <https://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2025-1-176-382-389>.

3. Де введено: ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ «МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР «АЛЬТАМЕДИКА»

Україна, 21018, м. Вінниця, вул. Марії Литвиненко - Вольгемут, буд. 40

4. Ефективність впровадження: відповідно до запропонованої інформації щодо потенційних етіологічно значущих збудників інфекційних ускладнень, пов'язаних з наданням медичної допомоги, та даних щодо їх чутливості до антибіотиків, антисептиків розширено уявлення, поглиблено знання медичного персоналу щодо покращення підходів до профілактики інфекційних ускладнень, спричинених поліантибіотикорезистентними мікроорганізмами та удосконалення лікування пацієнтів з використанням альтернативних підходів в комплексній програмі антимікробної терапії.

Відповідальний за впровадження:
Заступник медичного директора
ТОВ МЦ «Альтамедика»

Марина АДАМЧУК

Додаток В

ПОДЯКИ

Висловлюємо щирю вдячність д.мед.н. професору Валентину Ковальчуку завідувачу кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова та її співробітникам за допомогу у проведенні всебічних мікробіологічних експериментальних досліджень та всебічну підтримку у формуванні мене, як науковця.

Висловлюємо подяку професору Крістіану Рісбеку, професору кафедри клінічної мікробіології, трансляційної медицини, медичного факультету Лундського університету (*Clinical Microbiology, Department of Translational Medicine, Faculty of Medicine, Lund University*; Мальме, Швеція) та клінічній мікробіологічній лабораторії (*Clinical Microbiology, Laboratory Medicine*; Лунд, Швеція), за допомогу в проведенні мікробіологічних досліджень з ідентифікації клінічних штамів пріоритетних умовно-патогенних мікроорганізмів мас-спектрометричним методом на обладнанні MALDI-ToF (Bruker), а також консультативну допомогу в інтерпретації результатів.

Висловлюємо подяку співробітникам Інституті досліджень центру ВолтераРіда (США) за допомогу у проведенні молекулярно-генетичних досліджень з визначення генетичних детермінант резистентності грамнегативних мікроорганізмів з банку живих культур кафедри мікробіології ВНМУ ім. М. І. Пирогова в рамках наукової співпраці та любязно надані для аналізу результати з репозитарію генного секвенування бактерій.

Висловлюємо вдячність д.мед.н., професору Василю Нагайчуку та д.мед.н., доценту Роману Чорнопищуку за співпрацю та консультативну допомогу в дослідженнях впливу біогальванічного струму на умовно-патогенні мікроорганізми.

Висловлюю подяку своєму науковому керівнику, д.мед.н., професору Олександр Назарчуку, за участь у формуванні мене, як науковця, та за всебічну підтримку під час написання рукопису дисертації.