

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
"ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ІМ. І. І. МЕЧНИКОВА
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"**

ГУШИЛИК БОРИС ІВАНОВИЧ

УДК 66.017:615.28:612.089.61-036.018

**МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ РОЗРОБКИ НОВИХ
КОМПОЗИЦІЙ ДЛЯ ЕРАДИКАЦІЇ ЗБУДНИКІВ НАЙБІЛЬШ
ПОШИРЕНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ**

03.00.07 – мікробіологія



АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків – 2017

Дисертація є рукопис.

Роботу виконано в ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України"

Науковий керівник: кандидат медичних наук, старший науковий співробітник **Казмірчук Віктор Володимирович**, ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України", завідувач лабораторії протимікробних засобів

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **Мінухін Валерій Володимирович**, Харківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології;

доктор медичних наук, професор **Коваль Галина Миколаївна**, ДВНЗ "Ужгородський національний університет", завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології з курсом інфекційних хвороб.

Захист відбудеться " 29 " червня 2017 р. об 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України" за адресою: 61057, Харків, вул. Пушкінська, 14-16.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України" за адресою: 61057, Харків, вул. Пушкінська, 14-16.

Автореферат розісланий " 27 " травня 2017 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01,
кандидат медичних наук



Бруснік С. В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Кишкові інфекційні хвороби різної етіології займають друге місце за поширеністю в структурі загальної захворюваності людей після хвороб серцево-судинної системи. За даними ВООЗ у світі щорічно реєструється близько 500 млн. випадків кишкових інфекцій (Hatchette T. F. and Farina D., 2011; Андрейчин М.А., 2013; Зубленко О.В., 2015; WHO, 2017). Дана група інфекцій займає 4 місце в "рейтингу значимості" глобального тягара хвороб (GBD, 2013). Летальність від кишкових інфекцій (КІ) входить в десятку основних причин смертності в світі і щорічно сягає майже 1,5 млн. випадків. КІ до цього часу представляють велику небезпеку для здоров'я дітей, особливо раннього віку, в яких часто виникають тяжкі форми перебігу хвороби з ускладненнями (Guarino A. et al., 2008; Бехтерева М. К. та ін., 2013; Dickinson B. and Surawicz C. M., 2014; Шаджалилова М. С., 2015).

В Україні, згідно із офіційною статистичною звітністю МОЗ, в структурі загальної інфекційної захворюваності КІ посідають друге місце (після грипу і ГРВІ) із щорічною кількістю зареєстрованих випадків від 96 до 107 тис. (189-218 на 100 тис. населення). Серед хворих цієї групи діти становлять більше 70 % (Коломоєць М. Ю. і Курик О. Г., 2013; Крамарев С. А., 2013; Доан С. І. і Малиш Н. Г., 2015).

Протягом останніх десятиліть відмічається динамічна зміна етіологічної структури КІ (Чемич М. Д. та ін., 2012; Краснова Е. И. и др., 2015). При цьому, серед мікробних чинників КІ значна роль належить бактеріям родів: *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* та іншим (Анганова Е. В. та ін., 2012; Малыш Н. Г. та ін., 2013; Доан С. І. і Малиш Н. Г., 2015).

Крім того, на теперішній час доведено, що 92 % виразок дванадцятипалої кишки і близько 80 % виразок шлунку патогенетично асоціюється з наявністю бактерій *Helicobacter pylori* (Gisbert J. et al., 2008; Сміян О. І. та ін., 2011; Баранская Е.Л. и др., 2013; Malfertheiner P. et al., 2016).

Сучасний протокол надання медичної допомоги при КІ та виразковій хворобі асоційованої з *H. pylori* передбачає використання різних груп антибіотиків та хіміопрепаратів. Застосування останніх за традиційними схемами нерідко супроводжується негативною побічною дією та зниженням ефективності лікування внаслідок формування резистентності у патогенів (Guarino A. et al., 2008; Hatchette T. F. and Farina D., 2011; Бехтерева М. К. и др., 2013; Шаджалилова М. С., 2015; Циммерман Я.С., 2015).

Тому, на теперішній час актуальним завданням медичної науки залишається розробка нових більш ефективних та безпечних протимікробних препаратів для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу.

Як показали результати попередніх досліджень вітчизняних і зарубіжних науковців одним з перспективних напрямків вирішення зазначеного завдання є створення багатокомпонентних засобів із включенням до їх складу антибіотиків, хіміопрепаратів і допоміжних речовин природного походження

для підвищення біобезпечності та протимікробної активності (Graham D. Y. and Fischbach L., 2010; Akbar A. and Anal K. A., 2011).

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

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом наукових досліджень НАМН України в лабораторії протимікробних засобів ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України" у межах бюджетних НДР "Розробка та впровадження в медичну практику лікарських форм на основі композицій природних та синтетичних протимікробних засобів для лікування захворювань мікробного етіології" (№ держреєстрації 0102U001572), "Дослідження впливу допоміжних речовин на зростання біологічної активності антибіотиків в лікарських формах" (№ держреєстрації 0105U001116) та "Феноменологія індукції біоцидами некультурабельного стану патогенних ентеробактерій" (№ держреєстрації 0114U000241), в яких здобувачем виконано експериментальні дослідження з визначення спектру і рівнів протимікробної активності нових композицій з антибіотиками, хіміопрепаратами та допоміжними речовинами природного походження щодо музейних і клінічних штамів збудників захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу, а також вивчено швидкість формування резистентності у *H. pylori*, *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli* до найбільш перспективних протимікробних композицій.

Мета і завдання дослідження. *Мета* дисертаційної роботи - мікробіологічне обґрунтування розробки високоактивних протимікробних композицій на основі сполук напівсинтетичного, синтетичного та природного походження для підвищення ефективності лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу.

Завдання дослідження:

1. Розробити серію зразків нових протимікробних композицій із напівсинтетичними, синтетичними антибіотиками і хіміопрепаратами (пеніцилінами, цефалоспоринами, фторхінолонами, макролідами, декаметоксином, нітазолом) та допоміжними речовинами природного походження (гліцирам, пектин, кислота сорбінова, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль кукурудзяний, цукор).

2. Визначити рівень антибактерійної активності експериментальних композицій щодо клінічних штамів *H. pylori*.

3. Встановити антибактерійну та протигрибкову активність нових композицій щодо референтних тест-штамів мікроорганізмів.

4. Дослідити протимікробну дію розроблених композицій відносно збудників найбільш поширених бактерійних кишкових інфекцій.

5. Вивчити швидкість формування резистентності у *H. pylori*, *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli* до найбільш перспективної протимікробної композиції.

Об'єкт дослідження: протимікробні композиції з антибіотиками, хіміопрепаратами та допоміжними речовинами.

Предмет дослідження: протимікробна активність нових композицій із напівсинтетичними, синтетичними антибіотиками і хіміопрепаратами (пініцилінами, цефалоспаринами, макролідами, фторхінолонами,

декаметоксином, нітазолом) та допоміжними речовинами природного походження (гліцирам, пектин, кислота сорбінова, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль кукурудзяний, цукор); швидкість формування резистентності у найбільш клінічно-значущих різновидів збудників бактерійних шлунково-кишкових інфекцій (*H. pylori*, *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli*) до найбільш перспективних протимікробних композицій.

Методи дослідження: технологічні (технології виготовлення нових протимікробних композицій з антибіотиками, хіміопрепаратами та допоміжними речовинами у формі гранул), мікробіологічні (дослідження протимікробної активності зразків розроблених композицій щодо музейних та клінічних штамів збудників найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу, вивчення швидкості формування резистентності у *H. pylori*, *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli* до найбільш перспективних протимікробних композицій), математико-статистичні (обробка отриманих даних за допомогою пакету прикладних програм Microsoft Excel 2007 з оцінюванням значень протимікробної активності досліджуваних зразків нових композицій з препаратами порівняння).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше для підвищення ефективності лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу розроблено 15 зразків нових протимікробних композицій на основі антибіотиків, хіміопрепаратів та допоміжних речовин природного походження у формі водорозчинних гранул із високою біодоступністю.

Мікробіологічно обґрунтовано ефективність нової композиції № 5 для ерадикації *H. pylori* асоційованого із виразковою хворобою шлунку та дванадцятипалої кишки, яка містить компоненти у такому співвідношенні за масовими частками (мас. %): амоксицилін 8,33; нітазол 2,50; декаметоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100. Запропонована композиція у порівнянні із комерційним препаратом "HELICOCIN®" (виробництва фірми "Biochemie GmbH", Австрія) характеризується достатньо високим рівнем протигелікобактерної активності завдяки поєднаній дії компонентів, що дозволяє суттєво зменшити концентрацію кожного із включених до її складу антимікробних засобів та забезпечити захист слизової оболонки шлунково-кишкового тракту і знизити вірогідність виникнення негативних побічних ефектів завдяки присутності допоміжних речовин природного походження.

Встановлено високу протимікробну активність стосовно музейних і клінічних штамів збудників кишкових інфекцій нових композицій №№ 1-15, до складу яких входили антибіотики ампіцилін, амоксицилін, цефалексин, норфлуксацин, кларитроміцин у поєднанні із хіміопрепаратами нітазолом, декаметоксином та допоміжними речовинами. Найбільш перспективною визначено композицією № 11, що містить компоненти у такому співвідношенні (мас. %): норфлуксацин 6,67; нітазол 2,50; декаметоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100.

Вперше доведено, що у *H. pylori*, *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli* до дії зазначених композицій резистентність формується повільно.

Практичне значення одержаних результатів. Для лікування виразкової хвороби шлунку та дванадцятипалої кишки, асоційованих з *H. pylori*, розроблено комбінований засіб, в якому за рахунок синергійної дії антимікробних препаратів (амоксацилін, нітазол, декамтоксин) та включення комплексу допоміжних речовин природного походження (гліцирам, пектин, кислота сорбінова, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль кукурудзяний, цукор), що в перспективі дозволить підвищити ефективність ерадикаційної терапії та забезпечити захист слизової оболонки (патент України на корисну модель № 92250). Створено нову несекретну технологію "Засіб для лікування виразкової хвороби шлунку та дванадцятипалої кишки, асоційованих з *Helicobacter pylori*" (№ держреєстрації 0615U000083). Видано методичні рекомендації "Методи розрахунку інтегральних показників протимікробної активності антибактеріальних лікарських засобів" (Київ, 2015) та інформаційний лист № 65 МОЗ України "Метод інтегрального оцінювання протимікробної активності препаратів" (Київ, 2015), в яких описано вдосконалений метод оцінки протимікробної активності препаратів. Видано галузеве нововведення "Засіб для лікування виразкової хвороби шлунку (ВХШ) та дванадцятипалої кишки (ДПК), асоційованих з *Helicobacter pylori*" (Київ, 2016, Вип. 41). Узагальнені результати досліджень протимікробної активності багатокомпонентних лікарських композицій, рекомендації щодо підвищення ефективності лікування захворювань шлунково-кишкового тракту мікробного генезу використовуються в навчальних програмах вищих медичних закладів та закладів післядипломної освіти МОЗ України: ДЗ "Дніпропетровська медична академія МОЗ України" (акт впровадження від 27.04.2017 р.), Івано-Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 05.06.2017 р.), Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 04.07.2016 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто було визначено мету і об'єкт дослідження, розроблено нові протимікробні композиції на основі антибіотиків, хіміопрепаратів та допоміжних речовин природного походження. Сплановано та виконано експериментальні дослідження щодо мікробіологічного обґрунтування їх ефективності відносно референтних та клінічних штамів мікроорганізмів. Визначено найбільш перспективні композиції з антибактерійною дією, а також досліджено динаміку набуття резистентності у клінічних тест-штамів збудників найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту. Персональний внесок автора у всіх опублікованих із співавторами працях наводиться за текстом дисертації та в авторефераті у списку наукових робіт.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень та положення дисертації були представлені і обговорені на наукових форумах: XV з'їзді мікробіологів, епідеміологів та паразитологів України "Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності" (Харків, 2011 р.), науково-практичній конференції "Довкілля і

здоров'я" (Тернопіль, 2012 р.), міжнародній науковій конференції "Стратегія і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями" (Харків, 2012 р.), всеукраїнській науково-практичній конференції "Довкілля і здоров'я" (Тернопіль, 2013 р.), "XIII з'їзді товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського" (Ялта, 2013 р.), науково-практичній конференції "Наукові засади боротьби з інфекційними хворобами в Україні" (Київ, 2014 р.), науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів "Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація)" (Харків, 2017 р.), міжрегіональній науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій пам'яті проф. Ю. В. Белоусова "Інновації в дитячій гастроентерології та нутріціології в практиці дитячого та сімейного лікаря" (Харків, 2017 р.).

Публікації. Результати дисертації опубліковано в 29 наукових роботах (5 - одноосібно), серед них 13 статей (11 – у наукових фахових журналах України, 2 – у міжнародних виданнях, 5 – включено до міжнародних наукометричних баз), 2 патенти України на корисну модель, 1 методичні рекомендації, 1 інформаційний лист, 12 тез доповідей на наукових міжнародних конгресах, з'їздах, конференціях.

Структура дисертації. Робота викладена на 145 сторінках тексту комп'ютерного набору і складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій і списку літератури. Робота містить 15 таблиць та 9 рисунків. Список літератури включає 185 посилань, серед них 47 кирилицею та 138 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури. Інфекційні хвороби шлунково-кишкового тракту (ІХШКТ) різної етіології за поширеністю посідають друге місце в структурі загальної захворюваності після хвороб серцево-судинної системи. Летальність від цих інфекцій входить в десятку основних причин смертності в світі і щорічно сягає близько 1,5 млн. випадків. Епідемічна ситуація залишається особливо напруженою в країнах з низьким соціально-економічним рівнем. ІХШКТ до цього часу представляють велику небезпеку для здоров'я дітей, особливо раннього віку. Щодня у світі від діарейних інфекцій гине понад 5 тисяч дітей, серед яких 80% складають діти перших 2 років життя.

В Україні, згідно із офіційною статистичною звітністю МОЗ щорічна кількість зареєстрованих випадків ІХШКТ коливається від 96 до 107 тис. (189-218 на 100 тис. населення). Серед хворих цієї групи діти становлять більше 70 %. Діареї у дітей є одним з найбільш частих приводів для звернення батьків за медичною допомогою і причиною їх тимчасової непрацездатності, що призводить до значних соціальних та економічних затрат суспільства.

Значна роль в етіології ІХШКТ належить бактеріальним агентам: сальмонелам, шигелам, ешеріхіям, хеліко- та кампілобактеріям, представникам умовно-патогенної мікрофлори (стафілококам, протеем, клебсіелам та ін.).

Тому розробка та впровадження в медичну практику нових протимікробних засобів для лікування кишкових інфекцій бактерійного генезу та виразкової хвороби шлунку і 12-палої кишки, асоційованої з *H pylori* продовжує залишатися однією з найактуальніших проблем сучасної медицини.

Матеріали і методи досліджень. У роботі використовувалися 11 референс-штамів мікроорганізмів (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Enterococcus faecalis* NCTC 6783, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Shigella flexneri* ATCC 9199, *Vibrio cholerae* ATCC 39315, *Candida albicans* ATCC 885-653), які були отримані з Музею мікроорганізмів ДУ "Інститут мікробіології й імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України" та 39 клінічних штамів бактерій 14 різних таксономічних груп, у тому числі: 12 – *H. pylori*, 5 - *S. enterica*, 3 - *S. flexneri*, 3 - *S. sonnei*, 5 - *E. coli*, 2 - *Klebsiella pneumoniae*, 2 - *S. aureus* та по 1 ізоляту *Enterobacter aerogenes*, *P. vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Yersinia enterocolitica*, *Serratia marcescens*, *B. subtilis* із колекції лабораторії протимікробних засобів.

Середовища, які використовувались для мікробіологічних досліджень (Лурія-Бертані, Колумбія, Сабуро, Ендо та вісмут-сульфіт агару, Лурія-Бертані, Колумбія і Мюллера-Хінтона бульйони) готувалися згідно загальноствановленим правилам та рекомендаціям виробників.

Мікроаерофільні умови культивування створювали у мікроанаеростатах за допомогою газогенеруючих пакетів Generator GENbox microaer ("BioMerieux", Франція).

У якості активних речовин з протимікробною дією використовували ампіцилін, амоксицилін, цефалексин, кларитроміцин, норфлоксацин, декаметоксин, нітазол, а в якості допоміжних речовин - гліцирам, пектин, кислоту сорбінову, мікрокристалічну целюлозу, крохмаль кукурудзяний, цукор.

Дослідження чутливості проводили згідно наказу МОЗ України № 167 від 05.04.2007 "Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів" диско-дифузійним методом та методом дифузії в агар (метод "колодязів"). Ступінь протимікробної активності визначали за діаметрами зон затримки росту мікробів, що утворюються в агарових середовищах на чашках Петрі. Діаметр зони з повною відсутністю видимого росту виміряли з точністю до 1,0 мм з урахуванням діаметру "колодязя".

Дослідження швидкості формування резистентності у збудників бактерійних шлунково-кишкових інфекцій до нових протимікробних композицій проводили *in vitro*, методом послідовних багаторазових пасажів тест-культур на поживних середовищах в присутності поступово зростаючих суббактеріостатичних концентрацій досліджуваних композицій і препаратів порівняння. Дослідження здійснювали стандартним методом двократних серійних розведень у бульйонах Колумбія та Мюллера-Хінтона впродовж тридцяти тижнів, що відповідало терміну відтворення 30 пасажів. Густина мікробної суспензії відповідала стандарту мутності 0,5 за Мак-Фарландом. Усі мікробіологічні дослідження проводили у п'яти повторях.

Статистичне опрацювання даних проводили з використанням Microsoft Excel 2007 і його додаткового компоненту "Пакет аналізу". При оцінюванні значень протимікробної активності досліджуваних композицій і препаратів порівняння застосовували двохвибірковий t-тест. Рівень відмінностей вважали статистично значимим при $p < 0,05$.

Результати власних досліджень та їх обговорення. У *третьому розділі* наведено узагальнену схему алгоритму технологічного виготовлення нових протимікробних композицій та склад 15 експериментальних їх зразків, розроблених на основі напівсинтетичних, синтетичних антибіотиків і хіміопрепаратів (пеніцилінами, цефалоспоринами, фторхінолонами, макролідами, декаметоксином, нітазолом) та допоміжними речовинами природного походження (гліцирама, пектина, кислоти сорбінової, мікрокристалічної целюлози, крохмалю кукурудзяного, цукру). Експериментальні зразки лікарських композицій були виготовлені за технологією вологого гранулювання (рис. 1).



Рис. 1. Схема алгоритму технологічного виготовлення гранул нових протимікробних композицій.

Склад 15 розроблених протимікробних композицій з антибіотиками, хіміопрепаратами та допоміжними речовинами наведено у табл. 1.

Таким чином, вперше розроблено 15 зразків нових протимікробних композицій, що містять в якості активних речовин зазначеної дії напівсинтетичні і синтетичні антибіотики (ампіцилін, амоксицилін, цефалексин, норфлуксацин, кларитроміцин) та хіміопрепарати (нітазол, декаметоксин) в різних концентраціях, а також включають допоміжні речовини природного походження (гліцирам, пектин, кислота сорбінова, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль кукурудзяний, цукор), якісний та кількісний вміст яких в композиціях був постійним. Виготовлення композицій у формі гранул забезпечує високу водорозчинність і біодоступність компонентів з протимікробною дією та захист слизової оболонки шлунково-кишкового тракту завдяки присутності в них допоміжних речовин природного походження.

У четвертому розділі визначено протимікробну дію експериментальних зразків розроблених композицій № 1, 4, 5, 6, 13 щодо 12 клінічних штамів *H. pylori* та порівняно їх активність із комерційним препаратом "HELICOCIN®" (виробництва фірми "Biochemie GmbH", Австрія), який містить амоксицилін та метронідазол і широко застосовується для ерадикації патогенів в сучасній комплексній терапії виразкової хвороби шлунку та дванадцятипалої кишки (згідно міжнародних рекомендацій лікування гастроентерологічних хворих I – V Маастрихтського погодження).

Результати досліджень активності нових композицій відносно клінічних штамів *H. pylori* наведено в табл. 2, дані якої свідчать, що найвищий рівень антигелікобактерної дії демонстрували композиції № 4 і 5. За цією характеристикою зазначені композиції були близькими до препарату порівняння "HELICOCIN®". Середнє значення діаметрів зон інгібіції росту для 12 штамів *H. pylori* композицій № 4 і 5 сягає $30,0 \pm 2,3$ мм. Проте, композиція № 5 містить відносно меншу кількість амоксициліну (8,33 мас. %), ніж композиція № 4 (16,66 мас. %).

Інші досліджені композиції, до складу яких включено ампіцилін, кларитроміцин, або амоксицилін у меншій кількості (4,17 мас. %) характеризувались нижчою антигелікобактерною активністю ($p < 0,05$), із варіаціями середніх значень діаметрів зони пригнічення росту штамів *H. pylori* від $22,7 \pm 1,3$ до $28,0 \pm 2,3$ мм. Тому, для подальших мікробіологічних досліджень було відібрано композицію № 5, яка містить компоненти у такому співвідношенні (мас. %): амоксицилін 8,33; нітазол 2,50; декаметоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100.

Експериментально визначені мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) композиції № 5 і "HELICOCIN®" відносно 12 досліджених штамів *H. pylori* становили $1,13 \pm 0,25$ та $1,47 \pm 0,60$ мкг/мл відповідно.

Таблиця 2

Результати визначення протимікробної активності розроблених композицій відносно клінічних штамів *H. pylori*

Штами <i>H. pylori</i>	Номер композицій, препарат порівняння, діаметр зон інгібіції росту (мм) ¹					
	№ 1	№ 4	№ 5	№ 6	№ 13	"HELICOCIN®"
1-2014	24,0±0,3	36,0±0,5 ²⁾	30,0±0,4 ²⁾	28,0±0,4	22,0±0,4	32,0±0,5
2-2014	20,0±0,4	34,0±0,4 ²⁾	27,0±0,3 ²⁾	22,0±0,3	20,0±0,4	28,0±0,4
3-2014	25,0±0,5	34,0±0,5 ²⁾	32,0±0,5 ²⁾	30,0±0,5 ²⁾	28,0±0,5	31,0±0,3
4-2014	24,0±0,4	25,0±0,3 ²⁾	24,0±0,3	22,0±0,4	23,0±0,3	26,0±0,3
5-2014	28,0±0,4	36,0±0,5 ²⁾	36,0±0,5 ²⁾	26,0±0,3	30,0±0,6	38,0±0,4
6-2014	28,0±0,3	32,0±0,3 ²⁾	32,0±0,3 ²⁾	30,0±0,4 ²⁾	21,0±0,5	31,0±0,5
7-2014	24,0±0,4	37,0±0,5 ²⁾	37,0±0,5 ²⁾	35,0±0,5 ²⁾	29,0±0,4	36,0±0,4
8-2014	26,0±0,5	29,0±0,3 ²⁾	28,0±0,4	25,0±0,3	22,0±0,3	30,0±0,4
9-2014	12,0±0,3	15,0±0,5	14,0±0,4	12,0±0,3	11,0±0,4	16,0±0,5
10-2014	24,0±0,4	28,0±0,3 ²⁾	28,0±0,5 ²⁾	26,0±0,4	20,0±0,5	30,0±0,3
11-2014	29,0±0,5	31,0±0,3	29,0±0,5	27,0±0,5	22,0±0,4	34,0±0,4
12-2014	28,0±0,5 ²⁾	31,0±0,5 ²⁾	31,0±0,6 ²⁾	29,0±0,4	20,0±0,4	29,0±0,4
n=12	24,3±2,0	31,5±2,3 ²⁾	29,8±2,4 ²⁾	26,0±2,3	22,3±1,3	30,1±1,8

Примітки: ¹⁾ показники представлені у вигляді $M \pm m$ п'ятиразово повторених досліджень; ²⁾ $p < 0,05$ якщо дорівнює, або більше показника "HELICOCIN®".

У *п'ятому розділі* досліджено протимікробну активність експериментальних зразків розроблених композицій №№ 1-15 щодо референтних і клінічних штамів найбільш поширених різновидів збудників бактерійних кишкових інфекцій (табл. 3-7).

Таблиця 3

Протимікробна активність лікарських композицій з ампіциліном

Тест-штами мікроорганізмів	Номер композицій, препарат порівняння, діаметр зон інгібіції росту (мм) ¹			
	№1	№2	№3	контроль
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	25,0±0,3 ²⁾	23,0±0,4 ²⁾	20,0±0,4	22,0±0,4
<i>E. coli</i> ATCC 25922	22,0±0,5 ²⁾	20,0±0,6 ²⁾	16,0±0,4	19,0±0,4
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	21,0±0,4 ²⁾	19,0±0,3 ²⁾	15,0±0,3	18,0±0,4
<i>E. faecalis</i> NCTC 6783	22,0±0,4 ²⁾	20,0±0,4 ²⁾	15,0±0,3 ²⁾	16,0±0,5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	18,0±0,5 ²⁾	16,0±0,4 ²⁾	11,0±0,6	14,0±0,4
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	24,0±0,4 ²⁾	20,0±0,5 ²⁾	18,0±0,3 ²⁾	18,0±0,4
<i>S. enterica</i> ATCC 13076	20,0±0,5 ²⁾	17,0±0,3 ²⁾	14,0±0,5	16,0±0,4
<i>S. sonnei</i> ATCC 25931	21,0±0,4 ²⁾	19,0±0,4	17,0±0,4 ²⁾	18,0±0,4
<i>S. flexneri</i> ATCC 9199	20,0±0,4 ²⁾	18,0±0,4 ²⁾	16,0±0,3 ²⁾	17,0±0,4
<i>V. cholerae</i> ATCC 39315	24,0±0,4 ²⁾	20,0±0,5 ²⁾	17,0±0,4	19,0±0,4
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	18,0±0,4 ²⁾	16,0±0,5 ²⁾	14,0±0,4 ²⁾	15,0±0,4

Примітки: ¹⁾ показники представлені у вигляді $M \pm m$ п'ятиразово повторених досліджень; ²⁾ $p < 0,05$ якщо дорівнює, або більше показника контролю (ампіцилін, 25,0 мг/мл).

Таблиця 4

Протимікробна активність лікарських композицій з амоксициліном

Тест-штами мікроорганізмів	Номер композицій, препарат порівняння, діаметр зон інгібіції росту (мм) ¹			
	№4	№5	№6	контроль
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	30,0±0,4 ²⁾	29,0±0,5 ²⁾	23,0±0,4 ²⁾	23,0±0,4
<i>E. coli</i> ATCC 25922	26,0±0,5 ²⁾	29,0±0,4 ²⁾	20,0±0,5 ²⁾	19,0±0,5
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	22,0±0,4 ²⁾	25,0±0,4 ²⁾	16,0±0,3	19,0±0,4
<i>E. faecalis</i> NCTC 6783	23,0±0,4 ²⁾	25,0±0,3 ²⁾	19,0±0,4	20,0±0,5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	21,0±0,3 ²⁾	22,0±0,4 ²⁾	16,0±0,4	17,0±0,5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	28,0±0,5 ²⁾	28,0±0,3 ²⁾	20,0±0,5	22,0±0,4
<i>S. enterica</i> ATCC 13076	24,0±0,3 ²⁾	29,0±0,4 ²⁾	18,0±0,4	17,0±0,3
<i>S. sonnei</i> ATCC 25931	22,0±0,3 ²⁾	25,0±0,3 ²⁾	18,0±0,4	19,0±0,3
<i>S. flexneri</i> ATCC 9199	23,0±0,5	26,0±0,4 ²⁾	19,0±0,5 ²⁾	19,0±0,4
<i>V. cholerae</i> ATCC 39315	25,0±0,4 ²⁾	24,0±0,3 ²⁾	20,0±0,4	22,0±0,3
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	24,0±0,5 ²⁾	22,0±0,5 ²⁾	21,0±0,5	23,0±0,5

Примітки: ¹⁾ показники представлені у вигляді $M \pm m$ п'ятиразово повторених досліджень; ²⁾ $p < 0,05$ якщо дорівнює, або більше показника контролю (амоксицилін, 50,0 мг/мл).

Таблиця 5

Протимікробна активність лікарських композицій з цефалексином

Тест-штами мікроорганізмів	Номер композицій, препарат порівняння, діаметр зон інгібіції росту (мм) ¹			
	№7	№8	№9	контроль
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	29,0±0,5 ²⁾	25,0±0,4 ²⁾	22,0±0,5	25,0±0,4
<i>E. coli</i> ATCC 25922	32,0±0,5 ²⁾	26,0±0,4	26,0±0,4	28,0±0,4
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	28,0±0,3 ²⁾	24,0±0,3 ²⁾	23,0±0,5 ²⁾	22,0±0,4
<i>E. faecalis</i> NCTC 6783	27,0±0,3 ²⁾	25,0±0,5 ²⁾	21,0±0,4 ²⁾	20,0±0,5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	24,0±0,4 ²⁾	19,0±0,4	20,0±0,5	22,0±0,3
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	30,0±0,5 ²⁾	27,0±0,4 ²⁾	26,0±0,4 ²⁾	25,0±0,5
<i>S. enterica</i> ATCC 13076	30,0±0,4 ²⁾	28,0±0,4 ²⁾	20,0±0,3 ²⁾	26,0±0,5
<i>S. sonnei</i> ATCC 25931	28,0±0,4 ²⁾	26,0±0,4 ²⁾	23,0±0,3	25,0±0,4
<i>S. flexneri</i> ATCC 9199	28,0±0,5 ²⁾	24,0±0,4 ²⁾	21,0±0,5	24,0±0,4
<i>V. cholerae</i> ATCC 39315	26,0±0,5 ²⁾	24,0±0,3 ²⁾	20,0±0,5	23,0±0,5
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	22,0±0,3 ²⁾	20,0±0,3 ²⁾	17,0±0,3	18,0±0,5

Примітки: ¹⁾ показники представлені у вигляді $M \pm m$ п'ятиразово повторених досліджень; ²⁾ $p < 0,05$ якщо дорівнює, або більше показника контролю (цефалексин, 50,0 мг/мл).

Таблиця 6

Протимікробна активність лікарських композицій з норфлуксацином

Тест-штами мікроорганізмів	Номер композицій, препарат порівняння, діаметр зон інгібіції росту (мм) ¹			
	№ 10	№ 11	№ 12	контроль
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	32,0±0,4 ²⁾	30,0±0,5 ²⁾	28,0±0,4 ²⁾	26,0±0,4
<i>E. coli</i> ATCC 25922	30,0±0,5 ²⁾	28,0±0,5 ²⁾	24,0±0,3	26,0±0,5
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	26,0±0,5 ²⁾	25,0±0,4 ²⁾	22,0±0,4 ²⁾	20,0±0,3
<i>E. faecalis</i> NCTC 6783	29,0±0,4 ²⁾	28,0±0,6 ²⁾	23,0±0,5	26,0±0,5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	29,0±0,5 ²⁾	28,0±0,4 ²⁾	22,0±0,4	23,0±0,3
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	28,0±0,4 ²⁾	25,0±0,3 ²⁾	20,0±0,4	22,0±0,4
<i>S. enterica</i> ATCC 13076	27,0±0,5 ²⁾	26,0±0,5 ²⁾	20,0±0,4	23,0±0,5
<i>S. sonnei</i> ATCC 25931	26,0±0,4 ²⁾	25,0±0,5 ²⁾	20,0±0,3	24,0±0,5
<i>S. flexneri</i> ATCC 9199	26,0±0,5 ²⁾	25,0±0,4 ²⁾	22,0±0,4	24,0±0,5
<i>V. cholerae</i> ATCC 39315	34,0±0,5 ²⁾	30,0±0,4 ²⁾	26,0±0,5 ²⁾	26,0±0,4
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	26,0±0,4 ²⁾	24,0±0,5 ²⁾	19,0±0,5	21,0±0,3

Примітки: ¹⁾ показники представлені у вигляді $M \pm m$ п'ятиразово повторених досліджень; ²⁾ $p < 0,05$ якщо дорівнює, або більше показника контролю (норфлуксацин, 40,0 мг/мл).

Протимікробна активність лікарських композицій з кларитроміцином

Тест-штами мікроорганізмів	Номер композицій, препарат порівняння, діаметр зон інгібіції росту (мм) ¹			
	№13	№14	№15	контроль
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	28,0±0,4 ²⁾	26,0±0,5 ²⁾	22,0±0,4	24,0±0,5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	23,0±0,3 ²⁾	22,0±0,5 ²⁾	18,0±0,3 ²⁾	18,0±0,4
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	21,0±0,5 ²⁾	19,0±0,4 ²⁾	15,0±0,4 ²⁾	16,0±0,5
<i>E. faecalis</i> NCTC 6783	24,0±0,3 ²⁾	22,0±0,4 ²⁾	15,0±0,3	19,0±0,4
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	19,0±0,4 ²⁾	18,0±0,4 ²⁾	12,0±0,5	14,0±0,4
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	26,0±0,5 ²⁾	24,0±0,3 ²⁾	19,0±0,4 ²⁾	20,0±0,5
<i>S. enterica</i> ATCC 13076	20,0±0,4 ²⁾	18,0±0,5	16,0±0,3	20,0±0,5
<i>S. sonnei</i> ATCC 25931	21,0±0,4 ²⁾	19,0±0,4 ²⁾	16,0±0,4	20,0±0,4
<i>S. flexneri</i> ATCC 9199	20,0±0,4 ²⁾	18,0±0,3	15,0±0,3	20,0±0,4
<i>V. cholerae</i> ATCC 39315	24,0±0,5 ²⁾	21,0±0,4 ²⁾	18,0±0,5	20,0±0,3
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	20,0±0,3 ²⁾	19,0±0,5 ²⁾	17,0±0,4 ²⁾	16,0±0,4

Примітки: ¹⁾ показники представлені у вигляді $M \pm m$ п'ятиразово повторених досліджень; ²⁾ $p < 0,05$ якщо дорівнює, або більше показника контролю (кларитроміцин, 50,0 мг/мл).

Аналіз даних табл. 3-7 дозволив встановити, що відносно референтних штамів бактерій і грибів, більшість розроблених композицій характеризувалась високою інгібуючою дією. При цьому, найвищу ефективність протимікробної дії ($p < 0,05$) виявили нові композиції №№ 4 і 5, що містять амоксицилін (у кількості 16,66 і 8,33 мас. %, відповідно), та композиції №№ 10 і 11, до складу яких входить норфлоксацин (у кількості 13,33 і 6,67 мас. %, відповідно). Для подальшого вивчення чутливості клінічних штамів збудників кишкових інфекцій бактерійного генезу відібрано композиції №№ 5 і 11, які містять антибіотики амоксицилін та норфлоксацин у визначеній меншій, але достатньо ефективній концентрації.

Результати вивчення чутливості клінічних штамів бактерій кишкових інфекцій представлено у табл. 8.

За результатами тестування чутливості 27 клінічних штамів 13 різновидів збудників бактерійних кишкових інфекцій найбільш перспективною визначено композицією № 11, що містить компоненти у такому співвідношенні (мас. %): норфлоксацин 6,67; нітазол 2,50; декамтоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100.

Чутливість клінічних штамів бактерій кишкових інфекцій до нових композицій №№ 5 і 11

Штами мікроорганізмів	Номер композицій, діаметр зон інгібіції росту (мм) ¹⁾	
	№ 5	№ 11
<i>S. enterica</i> КЛПЗ-1 ²⁾	15,0±0,4	26,0±0,3
<i>S. enterica</i> КЛПЗ-3	14,0±0,4	27,0±0,5
<i>S. enterica</i> КЛПЗ-7	16,0±0,3	25,0±0,4
<i>S. enterica</i> КЛПЗ-8	16,0±0,3	27,0±0,3
<i>S. enterica</i> КЛПЗ-10	17,0±0,4	28,0±0,5
<i>S. flexneri</i> КЛПЗ-2	21,0±0,3	24,0±0,3
<i>S. flexneri</i> КЛПЗ-4	20,0±0,3	24,0±0,3
<i>S. flexneri</i> КЛПЗ-5	22,0±0,3	25,0±0,2
<i>S. sonnei</i> КЛПЗ-9	23,0±0,4	25,0±0,3
<i>S. sonnei</i> КЛПЗ-11	21,0±0,4	24,0±0,4
<i>S. sonnei</i> КЛПЗ-12	21,0±0,3	25,0±0,3
<i>E. coli</i> КЛПЗ-2	21,0±0,4	29,0±0,3
<i>E. coli</i> КЛПЗ-6	20,0±0,3	28,0±0,4
<i>E. coli</i> КЛПЗ-13	23,0±0,4	26,0±0,5
<i>E. coli</i> КЛПЗ-16	22,0±0,3	28,0±0,4
<i>E. coli</i> КЛПЗ-20	23,0±0,3	27,0±0,3
<i>K. pneumoniae</i> КЛПЗ-13	19,0±0,3	23,0±0,4
<i>K. pneumoniae</i> КЛПЗ-14	20,0±0,3	25,0±0,3
<i>E. aerogenes</i> КЛПЗ-5	20,0±0,3	25,0±0,4
<i>P. vulgaris</i> КЛПЗ-7	19,0±0,3	23,0±0,4
<i>C. freundii</i> КЛПЗ-9	20,0±0,5	23,0±0,5
<i>Y. enterocolitica</i> КЛПЗ-3	21,0±0,4	24,0±0,5
<i>S. marcescens</i> КЛПЗ-2	20,0±0,3	23,0±0,4
<i>E. faecalis</i> КЛПЗ-5	22,0±0,4	27,0±0,5
<i>S. aureus</i> КЛПЗ-2	29,0±0,5	30,0±0,3
<i>S. aureus</i> КЛПЗ-5	25,0±0,5	29,0±0,5
<i>B. subtilis</i> КЛПЗ-4	24,0±0,5	25,0±0,5

Примітки: ¹⁾ показники представлені у вигляді М±m п'ятиразово повторених досліджень; ²⁾ КЛПЗ – колекція лабораторії протимікробних засобів.

У шостому розділі представлено результати вивчення швидкості формування резистентності до перспективних нових композицій (№№ 5 і 11) у представників найбільш клінічно-значущих різновидів збудників бактерійних захворювань шлунково-кишкового тракту (*H. pylori* і *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli*).

Швидкість формування резистентності до експериментальних зразків композицій у мікроорганізмів досліджували *in vitro* шляхом їх багаторазових послідовних пасажів у комерційних живильних середовищах (бульйони Колумбія і Мюллера-Хінтона), що містили зростаючі концентрації композицій. Всього було виконано по 30 пасажів взятих в експеримент мікроорганізмів. Препаратами порівняння слугували: "HELICOCIN®" при дослідженні динаміки набуття резистентності до композиції № 5 у штамів *H. pylori*; "НОРФЛОКСАЦИН-ЗДОРОВ'Я" (м. Харків) в експериментах з вивчення швидкості формування резистентності до композиції № 11 у штамів *S. enterica*, *S. sonnei*, *E. coli*.

Для кожного наступного пасажу застосовували культури мікроорганізмів, що давали ріст у попередньому досліді з визначеною МІК композиції та препарату порівняння. Критерієм оцінки зростання резистентності вважали кратність збільшення МІК у кожному п'ятому послідовному пасажі.

Узагальнені результати дослідження набуття резистентності клінічними штамми *H. pylori* №№ 1-2014, 3-2014 і 7-2014 до композиції № 5 у порвнянні з "HELICOCIN®" представлено на рис. 2.

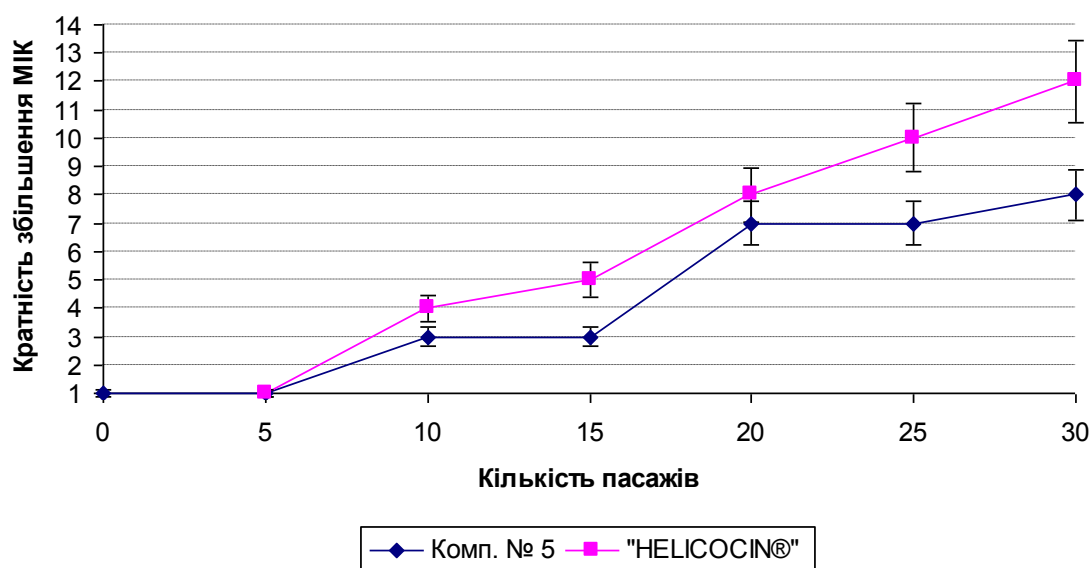


Рис. 2. Динаміка набуття резистентності штамів *H. pylori* №№ 1-2014, 3-2014 і 7-2014 до композиції № 5.

Наведені на рис. 2 дані свідчать, що резистентність в усіх взятих в експеримент штамів *H. pylori* до композиції № 5 у цілому формується повільно. На 10 пасажі МІК зростає у три рази, а до 20 і 30 пасажів значення вихідної МІК збільшилось у 7 та 8 разів відповідно. Навпроти, набуття резистентності у цих самих штамів *H. pylori* до "HELICOCIN®" відбувалось суттєво інтенсивніше ($p < 0,05$) із зростанням показника МІК до 30 пасажу у 12 разів.

Результати вивчення формування резистентності у клінічних штамів *S. enterica* КЛПЗ-10, *S. sonnei* КЛПЗ-9, *E. coli* КЛПЗ-13 до композиції № 11 у порвнянні з "НОРФЛОКСАЦИН-ЗДОРОВ'Я" продемонстровано на рис. 3-5.

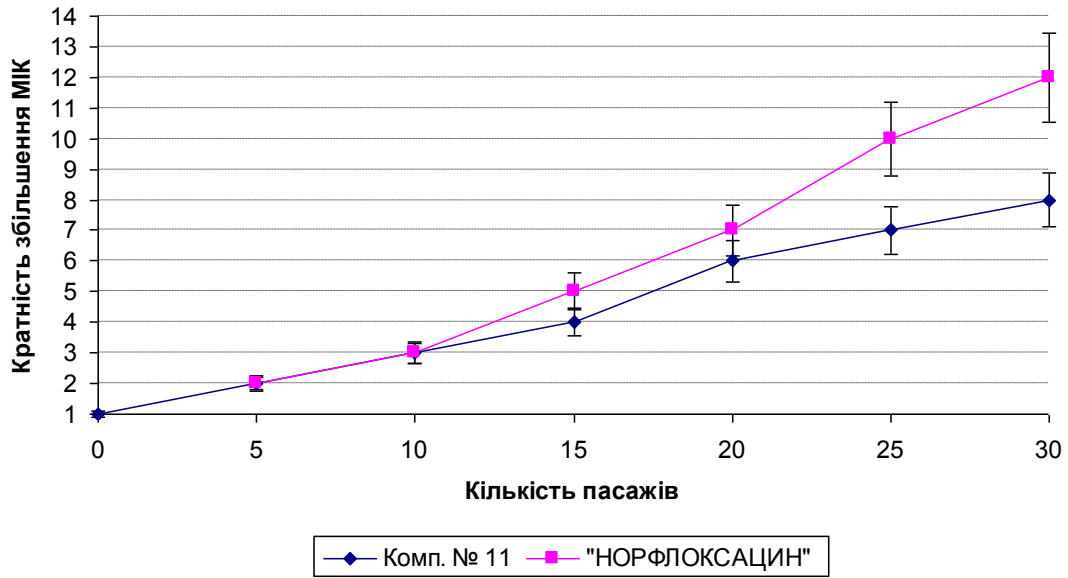


Рис. 3. Динаміка набуття резистентності штаму *S. enterica* КЛПЗ-10 до композиції № 11.

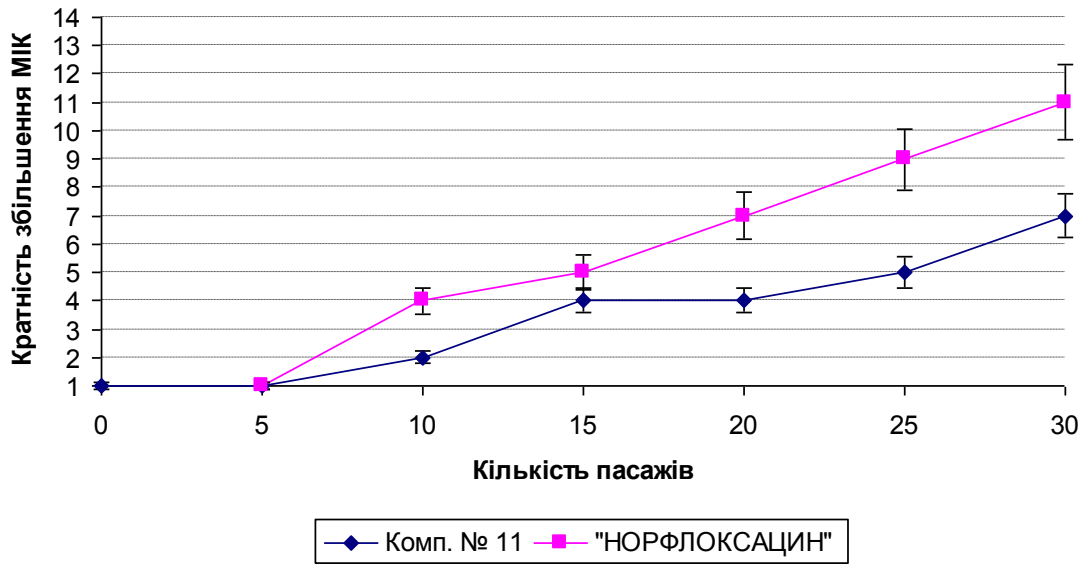


Рис. 4. Динаміка набуття резистентності штаму *S. sonnei* КЛПЗ-9 до композиції № 11.

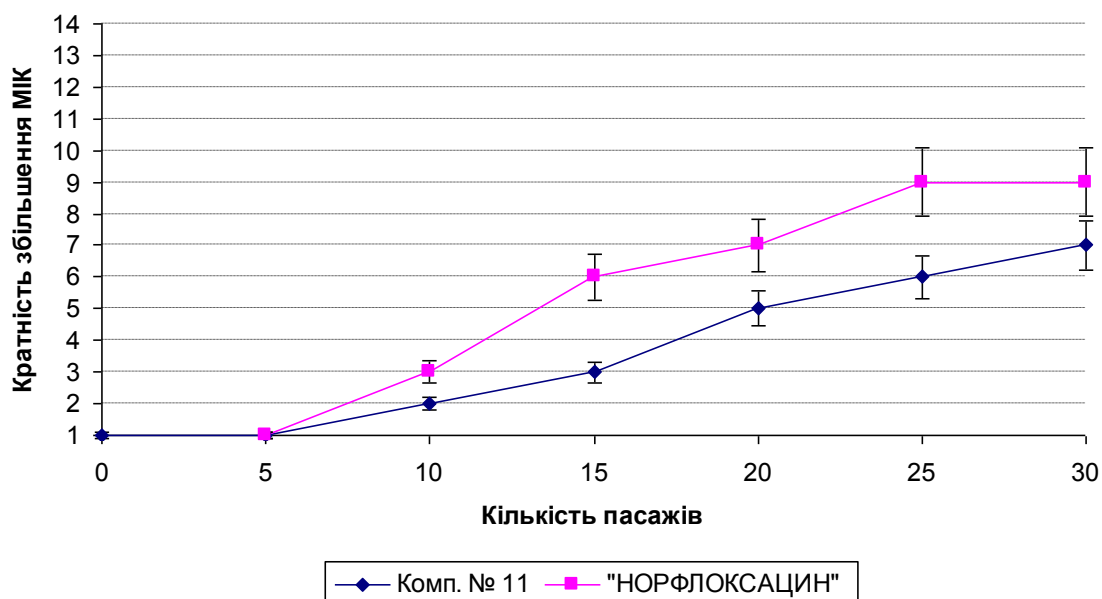


Рис. 5. Динаміка набуття резистентності штаму *E. coli* КЛПЗ-13 до композиції № 11.

Як видно з рис. 3-5, у досліджених клінічних штамів ентеробактерій (сальмонел, шигел, ешеріхій) – збудників кишкових інфекцій резистентність до композиції № 11 помітно формувалась починаючи з 5 пасажу з поступовим її зростанням в послідуєчих пасажах. У цілому, до 30 пасажу за показником МІК набула стійкість до композиції № 11 зроста в *S. enterica* КЛПЗ-10 у 8 разів, а в *S. sonnei* КЛПЗ-9 та *E. coli* КЛПЗ-13 у 7 разів. Відносно препарату порівняння "НОРФЛОКСАЦИН-ЗДОРОВ'Я" у зазначених мікроорганізмів динаміка зростання резистентності характеризувалась більшою інтенсивністю ($p < 0,05$) з кратністю зростання МІК на 30 пасажі для *S. enterica* КЛПЗ-10, *S. sonnei* КЛПЗ-9 і *E. coli* КЛПЗ-13 у 12, 11 і 9 разів відповідно.

Таким чином, нові композиції №№ 5 і 11, які запропоновано для ерадикації збудників найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу, характеризуються високою протимікробною активністю з повільним формуванням резистентності у патогенів.

У розділі аналізу і узагальнення результатів дослідження в стислій формі наведено підсумки виконаної роботи, обговорено основні результати експериментів, які дозволили реалізувати мету і завдання дисертації, обґрунтувати висновки.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на основі результатів експериментальних досліджень та їх теоретичних узагальнень вирішено наукове завдання розробки нових протимікробних композицій для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу. Проведено мікробіологічне обґрунтування високої антибактерійної дії і повільне формування резистентності у найбільш поширених їх збудників до створених

багатокомпонентних складів на основі напівсинтетичних, синтетичних антибіотиків, хіміопрепаратів та допоміжних речовин природного походження.

1. Інфекції шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу на теперішній час посідають одне з провідних місць в структурі загальної захворюваності та смертності людей. Тому, актуальним завданням сучасної медичної мікробіології залишається розробка нових більш ефективних та безпечних протимікробних препаратів для лікування цієї групи хвороб.

2. Вперше для підвищення ефективності лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу з використанням чотирьохетапної технології розроблено 15 зразків нових протимікробних композицій у формі водорозчинних гранул на основі напівсинтетичних і синтетичних антибіотиків (ампіцилін, амоксицилін, цефалексин, норфлуксацин, кларитроміцин) та хіміопрепаратів (нітазол, декаметоксин) у різних концентраціях, а також допоміжних речовин природного походження (гліцирам, пектин, кислота сорбінова, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль кукурудзяний, цукор).

3. За результатами тестування протимікробної дії нових композицій щодо 12 клінічних штамів *H. pylori* визначено, що найвищу активність має склад, який містить компоненти у такому співвідношенні (мас. %): амоксицилін 8,33; нітазол 2,50; декаметоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100. Встановлено, що резистентність у *H. pylori* до зазначеної композиції формується відносно повільно: на 30 пасажі МІК зросла лише у 8 разів, тоді як за цих же умов показник МІК до "HELICOCIN®" зріс у 12 разів.

4. Експериментальним шляхом встановлено, що відносно референтних штамів бактерій і грибів - збудників кишкових інфекцій (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. vulgaris* ATCC 4636, *E. faecalis* NCTC 6783, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. enterica* ATCC 13076, *S. sonnei* ATCC 25931, *S. flexneri* ATCC 9199, *V. cholerae* ATCC 39315, *C. albicans* ATCC 885-653) найвищу ефективність протимікробної дії ($p < 0,05$) виявили нові композиції, які містять амоксицилін (у кількості 16,66 і 8,33 мас. %) та норфлуксацин (у кількості 13,33 і 6,67 мас. %).

5. За результатами тестування чутливості 27 клінічних штамів 13 різновидів збудників бактерійних кишкових інфекцій найбільш перспективною визначено композицією, що містить компоненти у такому співвідношенні (мас. %): норфлуксацин 6,67; нітазол 2,50; декаметоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100.

6. Доведено повільне формування резистентності до цієї композиції у клінічних штамів сальмонел, шигел та ешеріхій. До 30 пасажу за показником МІК набула стійкість до вказаної композиції зросла: у 8 разів у *S. enterica* КЛПЗ-10 та у 7 разів в *S. sonnei* КЛПЗ-9 і *E. coli* КЛПЗ-13, тоді як динаміка зростання резистентності у зазначених патогенів до препарату порівняння "НОРФЛОКСАЦИН-ЗДОРОВ'Я" характеризувалась більшою інтенсивністю ($p < 0,05$) із кратністю зростання МІК на 30 пасажі у 12, 11 і 9 разів, відповідно.

7. Для ерадикації збудників найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу запропоновано дві нові композиції, які характеризуються високою протимікробною активністю з повільним формуванням резистентності у патогенів та забезпечують захист слизової оболонки завдяки присутності допоміжних речовин природного походження.

Практичні рекомендації

Розроблено нові протимікробні композиції у формі гранул, що містять:

- амоксицилін, нітазол, декамтоксин та допоміжні речовини природного походження (гліцирам, пектин, кислота сорбінова, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль кукурудзяний, цукор) з метою підвищення ефективності лікування виразкової хвороби шлунку та дванадцятипалої кишки, асоційованих з *H. pylori* (патент на корисну модель № 92250 UA);
- компоненти у такому співвідношенні (мас. %): норфлуксацин 6,67; нітазол 2,50; декамтоксин 0,01; гліцирам 0,10; пектин 10,00; кислота сорбінова 0,40; мікрокристалічна целюлоза 20,00; крохмаль кукурудзяний 20,00; цукор до 100 з метою підвищення ефективності лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу.

Зазначені композиції з протимікробною дією пропонуються для проведення наступних етапів випробувань, промислового виготовлення лікарських препаратів з подальшим застосуванням їх в медичній практиці.

СПИСОК НАУКОВИХ РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гушилик Б. І. Застосування напівсинтетичних пеніцилінів у складі протимікробних композицій для лікування інфекційних захворювань шлунково-кишкового тракту / Б. І. Гушилик // Медицина сьогодні і завтра. – 2015. - № 4(69). – С. 5-10.
2. Гушилик Б. І. Формування резистентності у *Salmonella enteritidis* щодо нових протимікробних композицій для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактеріального генезу / Б. І. Гушилик // Експериментальна і клінічна медицина. – 2016. - № 3 (72). - С. 25-29.
3. Открытие *Helicobacter pylori* – революционный этап развития гастроэнтерологии / В. В. Казмирчук, И. В. Короваева, Б. И. Гушилик, И. Н. Долгая, В. Ю. Иванник // Экспериментальна і клінічна медицина – 2016. - № 1 (70). – С. 26-32. (Здобувач проаналізував роль *H. pylori* в етіології виразкової хвороби шлунку та дванадцятипалої кишки)
4. Оцінка ефективності нової композиції для ерадикації *Helicobacter pylori* у хворих на виразкову хворобу шлунку та дванадцятипалої кишки / Б. І. Гушилик, О. М. Савінова, В. І. Чернявський, І. В. Короваєва, В. В. Казмірчук // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. - 2015. – Т. 15, Вип. 3 (51). - С. 198-201. (Здобувач вивчив ефективність нової композиції щодо *H. pylori*)
5. Этиологические и эпидемиологические аспекты острых кишечных инфекций у детей / В. Д. Макаренко, Д. И. Кухарь, Б. И. Гушилик,

- И. П. Юдин, В. В. Казмирчук // Медицина сьогодні і завтра. – 2015. - № 3(68). – С. 82–85. (Здобувач проаналізував особливості спалахів гострих кишкових захворювань у дітей)
6. Современные представления об острых кишечных инфекциях у детей / Макаренко В. Д., Гушилик Б. И., Яковенко Д. В., Иванник В. Ю., Похил С. В. // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2017. - № 2 (75). - С. 27–33. (Здобувач вивчив сучасні уявлення гострих кишкових інфекцій в дитячому віці)
 7. Визначення некультурабельного стану ентеробактерій за ознакою електрохімічної активності / Л. Б. Суходуб, І. П. Юдін, Б. І. Гушилик, С. В. Похил, В. В. Казмірчук // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2015. – № 3 (1). – С. 51–56. (Здобувач виконав експериментальні дослідження та проаналізував результати)
 8. Гушилик Б. І. Основні напрямки синтезу та біологічна активність деяких фосфорорганічних сполук, що вміщують фрагменти сечовини та трихлоретіламіду [Електронний ресурс] / Б. І. Гушилик // *Аннали Мечниковського інституту*. - 2013. - № 3. - С. 44-48. - Режим доступу до журн.: <http://www.imiamn.org/journal.htm>.
 9. Гушилик Б. І. Протимікробна активність та фармакологічна дія гетероциклічних сполук з піридиновим фрагментом / Б. І. Гушилик // *Вісник наукових досліджень*. – 2013. – № 3. – С. 101–103.
 10. Исследование свойств наночастиц цинк ферум (ii) фериту / И. А. Ведерникова, А. А. Коваль, А. В. Фаталиева, О. Н. Щербак, В. В. Казмирчук, Б. И. Гушилик // *Вестник Таджикского национального университета. Серия естественных наук*. – 2015. – Т. 160, № 1/2. – С. 281–284. (Здобувач дослідив властивості наночастиць цинк ферум і фериту)
 11. Study of properties for zinc iron (ii) ferrite nanoparticles / I. Vedernikova, A. Koval, A. Fataliyeva, V. Makarenko, I. Dovga, V. Kazmirchuk, B. Gushilyk // *International Journal of Innovative Drug Discovery*. – 2015. – V. 5, № 1. – P. 46–48. (Здобувач дослідив антимікробні властивості наночастиць цинк ферум і фериту)
 12. Препараты на основе фенольной гидрофильной субстанции прополиса и их применение в терапии инфекционных заболеваний [Електронний ресурс] / Е. А. Радченко, Н. Н. Шульга, Б. И. Гушилик, Мустафа Али Альхусейн, С. А. Черняева // *Аннали Мечниковського Інституту*. – 2011. – № 4. – С. 312–313. - Режим доступу до журн.: <http://www.imiamn.org/journal.htm>. (Здобувач визначив показники протимікробної активності препаратів на основі фенольної гідрофільної субстанції прополіса)
 13. Дослідження антибактеріальних властивостей субстанцій ламінарії [Електронний ресурс] / І. М. Владимірова, Д. Л. Волянський, Т. Л. Кліса, Т. П. Осолодченко, Л. Г. Штикер, Б. И. Гушилик, Я. Ю. Парусова // *Аннали Мечниковського інституту*. – 2011. – № 3. – С. 23–26. – Режим доступу до журн.: <http://www.imiamn.org/journal.htm>. (Здобувач визначив показники антибактеріальних властивостей субстанцій ламінарії)
 14. Патент на корисну модель № 92250 UA, МПК А61К 31/00, А61К 9/16, А61К 47/00. Засіб для лікування виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, асоційованих з *Helicobacter pylori* / В. В. Казмірчук, Б. І. Гушилик, А. О. Новицький, А. В. Фаталієва,

- І. П. Юдін, В. В. Власенко, І. О. Ведерникова, І. Ф. Білоконь, С. Л. Крестецька, В. І. Чернявський, О. Р. Гіршфельд, О. І. Грішина, Н. М. Шульга, І. В. Поволокіна, В. Д. Макаренко, І. Ф. Невмержицький; заявник та патентовласник: ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України", Казмірчук В. В. – u201401763 ; заявл. 24.02.2014. ; опубл. 11.08.2014. – Бюл. № 15. – 3 с. (Здобувач приймав участь в розробці засобу для лікування виразкової хвороби шлунку та дванадцятипалої кишки, проводив мікробіологічні дослідження)
15. Патент на корисну модель № 107411 UA, МПК C12Q1/04. Спосіб визначення мембранного потенціалу клітин стрес-індукованих некультурабельних ентеробактерій / І. П. Юдін, С. І. Похил, В. В. Казмірчук, Б. І. Гушилик, І. В. Короваєва, Л. Б. Суходуб, С. В. Похил, В. Д. Макаренко, І. В. Гіржанова, О. О. Чумаченко ; заявник та патентовласник: ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України". – u201510296 ; заявл. 21.10.2015 ; опубл. 10.06.2016. – Бюл. № 11. – 6 с. (Здобувач приймав участь в розробці модифікованого розчинника для флюоресцентного барвника)
 16. Методи розрахунку інтегральних показників протимікробної активності антибактеріальних лікарських засобів : [методичні рекомендації] / Бойко М. М., Зайцев О. І., Похил С. І., Осолодченко Т. П., Казмірчук В. В., Нефьодова Л. В., Гушилик Б. І., Мельник А. Л., Невмержицький В. В., Христян Г. Є. – Київ, 2015 – 29 с. (Здобувач вивчив методи розрахунку інтегральних показників протимікробної активності антибактеріальних лікарських засобів)
 17. Метод інтегрального оцінювання протимікробної активності препаратів [інформаційний лист № 65] / Зайцев О. І., Яковлева Л. В., Бойко М. М., Похил С. І., Осолодченко Т. П., Гушилик Б. І., Мельник А. Л., Невмержицький В. В., Христян Г. Є., Юдін І. П., Макаренко В. Д., Казмірчук В. В. – Київ, 2015. – 6 с. (Здобувач оцінив протимікробну активність препаратів)
 18. Стан захворюваності на ГКІ у дітей в регіонах Слобожанщини і Буковини за період з 1990 по 2008 роки / Б. І. Гушилик, І. М. Балута, О. А. Маслянчук, Н. О. Волянська, С. Г. Маланчук, Д. І. Кухар // Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : XV з'їзд Українського науково-медичного товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д. К. Заболотного, 23-25 листопада 2011 р. – Харків, 2011. – С. 59. (Здобувач провів аналіз даних літературних джерел щодо розповсюдженості гострих кишкових захворювань в Україні)
 19. Проблема ентерококової інфекції в сучасній клініці / Б. І. Гушилик, В. В. Мізін, А. М. Вдовичен, А. В. Парусов, Т. М. Моїсеєнко, Н. А. Юрченко, Д. І. Кухар., А. О. Волков // Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : XV з'їзд Українського науково-медичного товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д. К. Заболотного, 23-25 листопада 2011 р. – Харків, 2011. – С. 60–61. (Здобувач провів аналіз

- даних літературних джерел щодо розповсюдженості гострих кишкових захворювань в Україні)
20. Ступінь впливу антисептиків групи четвертинного амонію на прояв факторів патогенності клінічно значущих патогенів / О. К. Толстанов, Б. І. Гушилик, О. А. Маслянчук, С. Г. Маланчук, А. Ю. Воропай, О. І. Корнеєв // Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : XV з'їзд Українського науково-медичного товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д. К. Заболотного, 23-25 листопада 2011 р. – Харків, 2011. – С. 137–138. (Здобувач приймав участь в експериментальних дослідженнях по визначенню ступеню впливу антисептиків групи четвертинного амонію на прояв факторів патогенності бактерій)
 21. Механізм впливу похідних хіноліну та азометанів на метаболізм *E. coli* / Б. І. Гушилик, Д. О. Аронова, С. Г. Маланчук, С. І. Вальцук, Н. О. Волянська // Довкілля і здоров'я : матеріали науково-практичної конференції. – Тернопіль, 2012. - С. 31. (Здобувач дослідив вплив похідних хіноліну на метаболізм *E. coli*)
 22. Проблеми госпіталізму та перспектива пошуку нових синтетичних протимікробних засобів / І. Ю. Кучма, Б. І. Гушилик, Т. В. Каблучко, Н. П. Волянська, Ю. В. Шатіло // Довкілля і здоров'я : матеріали науково-практичної конференції. – Тернопіль, 2012. - С. 45-46. (Здобувач довів необхідність пошуку нових синтетичних протимікробних препаратів)
 23. Стимулюючий ефект производных изохинолина и имидазола при воздействии на микроорганизмы, культивируемые на стандартных питательных средах / Е. А. Батрак, Н. П. Завада, И. С. Рябова, Б. И. Гушилик, Е. А. Чернявская, А. И. Димитриева // Стратегія і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями : матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 17-18 жовтня 2012 р. – Харків, 2012. – № 4. – С. 12. (Здобувач дослідив стимулюючий ефект похідних ізохіноліну та імідазолу)
 24. Аналіз розповсюдженості позастаціонарних метицилінрезистентних штамів стафілококів / С. А. Деркач, І. А. Воронкіна, О. В. Коцар, І. А. Крилова, Б. І. Гушилик, В. В. Мізін // Довкілля і здоров'я : матеріали науково-практичної конференції. – Тернопіль, 2013. - С. 60–61. (Здобувач проаналізував розповсюдженість метицилінрезистентних штамів стафілококів)
 25. Бузинна Ю. Б. Вплив четвертинних амонієвих сполук на процес елімінації плазмід антибіотикорезистентності *E.coli* / Ю. Б. Бузинна, Б. І. Гушилик, А. В. Парусов // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського, 1-6 жовтня 2013р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 225. (Здобувач дослідив антибіотикорезистентність *E.coli*)
 26. Некультурабельная фракция *Salmonella enterica* появляется в процессе хлорной дезинфекции / И. П. Юдин, Б. И. Гушилик, С. И. Похил, С. Л. Клыса, О. Н. Щербак // Наукові засади боротьби з інфекційними хворобами в Україні : науково-практична конференція, 8–9 жовтня 2014 р. // Профілактична медицина. – 2014. – Т. 23, № 3–4. – С. 95–96. (Здобувач приймав участь в експериментальних дослідженнях по визначенню параметрів життєздатності бактерій *Salmonella enterica*)

27. Комбіновані протимікробні засоби, як альтернатива традиційній терапії хелікобактерної інфекції / Гушилик Б. І., Довга І. М., Казмірчук В. В., Щербак О. М., Іваннік В. Ю., Поволокіна І. В., Макаренко В. Д. // Інновації в дитячій гастроентерології та нутріціології в практиці дитячого та сімейного лікаря : матеріали Міжрегіональної науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті проф. Ю. В. Белоусова, 1-2 червня 2017 р. – Харків, 2017. – С. 16–18. (Здобувач вивчив комбіновані протимікробні засоби проти хелікобактерної інфекції)
28. Самоелімінуючі антагоністи в комплексній терапії гострих кишкових інфекцій у дітей / Макаренко В. Д., Дмитрієва В. В., Конельський В. Д., Гушилик Б. І., Казмірчук В. В., Іваннік В. Ю. // Інновації в дитячій гастроентерології та нутріціології в практиці дитячого та сімейного лікаря : матеріали Міжрегіональної науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті проф. Ю. В. Белоусова, 1-2 червня 2017 р. – Харків, 2017. – С. 37–38. (Здобувач вивчив питання щодо комплексній терапії гострих кишкових інфекцій в дитячому віці)
29. Гушилик Б. І. Розробка протимікробних композицій з антибіотиками, хіміопрепаратами та допоміжними речовинами природного походження для лікування кишкових інфекційних хвороб / Б. І. Гушилик // Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація) : матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів. – Харків, 2017. – С. 126–127.

АНОТАЦІЯ

Гушилик Б. І. Мікробіологічне обґрунтування розробки нових композицій для ерадикації збудників найбільш поширених захворювань шлунково-кишкового тракту. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. - Державна установа "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України", Харків, 2017.

У дисертаційній роботі експериментальним шляхом вирішено наукове завдання розробки нових протимікробних композицій для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту бактерійного генезу. За результатами тестування протимікробної дії нових композицій щодо 12 клінічних штамів *Helicobacter pylori* та 27 клінічних штамів 13 різновидів збудників бактерійних кишкових інфекцій визначено найбільш перспективні композиції, які містять протимікробні засоби (амоксацилін, норфлоксацин, нітазол, декамтоксин) та допоміжні речовини природного походження (гліцирам, пектин, кислота сорбінова, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль кукурудзяний, цукор). Доведено повільне формування резистентності до цих композицій у клінічних штамів хелікобактерів, сальмонел, шигел та ешеріхій.

Ключові слова: протимікробні композиції, активність, *Helicobacter pylori*, бактерії кишкових інфекцій, резистентність.

АННОТАЦИЯ

Гушилик Б. И. Микробиологическое обоснование разработки новых композиций для эрадикации возбудителей наиболее распространенных заболеваний желудочно-кишечного тракта. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.00.07 - микробиология. - Государственное учреждение "Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины", Харьков, 2017.

В диссертационной работе экспериментальным путем решена научная задача по разработке новых противомикробных композиций для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта бактериального генеза. Разработано 15 образцов новых противомикробных композиций на основе антибиотиков, химиопрепаратов и вспомогательных веществ природного происхождения в форме водорастворимых гранул с высокой биодоступностью.

В результате тестирования противомикробного действия на 12 клинических штаммах *Helicobacter pylori*, ассоциированных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, микробиологически обоснована эффективность (для эрадикации этих патогенов) новой композиции, содержащей компоненты в следующем соотношении (мас. %): амоксициллин 8,33; нитазол 2,50; декамтоксин 0,01; глицирам 0,10; пектин 10,00; сорбиновая кислота 0,40; целлюлоза микрокристаллическая 20,00; крахмал кукурузный 20,00; сахар до 100. Предлагаемая композиция по сравнению с коммерческим препаратом "HELICOCIN®" характеризуется достаточно высоким уровнем противохеликобактерной активности ($p < 0,05$) благодаря сочетанному действию компонентов, что позволяет существенно снизить концентрацию каждого из включенных в ее состав противомикробных средств и обеспечивает защиту слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта благодаря присутствию вспомогательных веществ природного происхождения.

Установлена высокая противомикробная активность в отношении 38 референтных и клинических штаммов 13 видов возбудителей наиболее распространенных бактериальных кишечных инфекций новой композиции, содержащий компоненты в следующем соотношении (мас. %): норфлоксацин 6,67; нитазол 2,50; декамтоксин 0,01; глицирам 0,10; пектин 10,00; сорбиновая кислота 0,40; целлюлоза микрокристаллическая 20,00; крахмал кукурузный 20,00; сахар до 100.

Доказано медленное формирование резистентности к этим композициям у клинических штаммов хеликобактеров, сальмонелл, шигелл и эшерихий.

Ключевые слова: противомикробные композиции, активность, *Helicobacter pylori*, бактерии кишечных инфекций, резистентность.

SUMMARY

Hushylyk B.I. Microbiological study the development of new compositions for the eradication of pathogens of the most common diseases of the gastrointestinal tract. - As a manuscript.

The thesis for the degree of candidate of medical sciences in specialty 03.00.07 - microbiology. - State Institution "Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, 2017.

In the thesis experimentally solved scientific problem of developing new antimicrobial compositions for the treatment of gastrointestinal diseases of bacterial genesis. The test results of the new antimicrobial compositions on 12 clinical strains of *Helicobacter pylori* and 27 clinical strains of 13 species of bacterial intestinal infections identified the most promising compositions containing antimicrobial agents (amoxicillin, norfloxacin, nitazol, decamethoxin) and natural origin adjuvants (glycyram, pectin, sorbic acid, microcrystalline cellulose, corn starch, sugar). It has been proved slow formation of resistance to these compositions in clinical strains of *H. pylori*, *Salmonella enterica*, *Shigella sonnei* and *Escherichia coli*.

Keywords: antimicrobial compositions, activity, *Helicobacter pylori*, bacteria of intestinal infections, resistance.