

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М. І. ПИРОГОВА**

ЮРЧИШИН ОКСАНА ІВАНІВНА

УДК 615.451.+615.322+576.851.252+616.5-002.3

**ВИВЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ
ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ФЛОРИ УКРАЇНИ ВІДНОСНО ШКІРНИХ
ІЗОЛЯТІВ МІКРООРГАНІЗМІВ З РІЗНИМИ МЕХАНІЗМАМИ
MLS-РЕЗИСТЕНТНОСТІ**

03.00.07 – мікробіологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет" МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Куцик Роман Володимирович, ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології.

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Виноград Наталія Олексіївна**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри епідеміології;
- кандидат медичних наук, доцент **Бобир Віталій Васильович**, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології.

Захист відбудеться «19» жовтня 2018 р. о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К. 05.600.05 Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України за адресою: 21018, Україна, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України за адресою: 21018, Україна, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

Автореферат розісланий «17» вересня 2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат медичних наук

О. А. Назарчук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Інфекційні ураження шкіри та м'яких тканин складають 1/3 усіх інфекційних захворювань, зокрема, піодермії займають перше місце серед шкірних хвороб та складають 20–34 % всієї дерматологічної патології у населення працездатного віку (Дашко М. О. та ін., 2015; Калюжна Л. Д. та ін., 2013). У дорослих амбулаторних пацієнтів збудниками піодермій найчастіше є *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus epidermidis* (70 %), рідше *Streptococcus pyogenes* (Деркач С. А. та ін., 2015; Сорокіна Е. В. та ін., 2010; Mulazimoglu L. et al., 2004).

Серед великого арсеналу антибактеріальних препаратів для терапії інфекційних уражень шкіри препаратами вибору при лікуванні піодермій залишаються антибіотики групи макролідів (Калюжна Л. Д., 2013). Слід відмітити, що впродовж останніх років занепокоєння викликає прогресуюче зростання частоти виділення при піодерміях мікроорганізмів з резистентністю до макролідів, яка часто поширюється на споріднені з ними лінкозаміди та стрептограмін В (Li L. et al., 2015; Santos A. et al., 2015). Такий вид антибіотикорезистентності називають macrolides, lincosamides, streptogramin B (MLS)-резистентністю (Mišić M. et al., 2017; Steward C. D. et al., 2005).

Одним із перспективних джерел пошуку речовин, що володіють прямою протимікробною активністю щодо збудників піодермій, виступають у ролі модифікаторів MLS-резистентності бактерій та здатні її нейтралізувати, є препарати рослинного походження (Gibbons S., 2004; Kaatz G. W. et al., 2005; Marquez V. et al., 2005).

Завдяки своїм природно-кліматичним умовам Україна, зокрема Прикарпаття та Карпати, є одним із регіонів Європи, багатих на екологічно чисті лікарські рослини, які є перспективним джерелом одержання сполук з цінними протимікробними властивостями. Їх біологічно активні речовини (БАР) характеризуються високим рівнем біодоступності, а природні співвідношення сприяють оптимальному впливу на організм людини. Ряд компонентів рослинних екстрактів за хімічною структурою проявляють схожість із фізіологічно активними метаболітами організму (гормонами, вітамінами та ін.). Такі природні ліки більш активно включаються в біохімічні процеси людського організму, ніж ліки синтетичні, які за своєю природою є ксенобіотиками і вимагають певного напруження систем біотрансформації та детоксикації (Смирнов В. В., Бондаренко А. С., 1999).

На відміну від традиційних антибактеріальних препаратів, більшість БАР рослинного походження крім протимікробної дії, спричинюють додаткові позитивні впливи на макроорганізм: проявляють протизапальну дію за рахунок пригнічення міграції нейтрофілів та синтезу прозапальних речовин, блокуючи циклооксигеназний та ліпооксигеназний шляхи активації арахідонової кислоти та її перетворення в лейкотрієни, а також знижують рівень сироваткових хемокінів (інтерлейкін-8) та еозинофільного катіонного білка; мають властивості адаптогенів, не викликають дисбактеріозу, менш токсичні та рідше викликають алергічні реакції; не мають подразнюючої дії на відміну від антисептиків, які часто використовуються для місцевої терапії піодермій, крім того стійкість до них у мікроорганізмів формується значно повільніше (Ковальов В. М. та ін., 2017; Рибак Л. М. та ін., 2010; Azimi H. et al., 2012; Kim S. S. et al., 2008; Leelapornpisid P. et al., 2005).

Проте цілеспрямованого пошуку БАР з протимікробною активністю серед рослин флори України щодо MLS-резистентних мікроорганізмів не виконувалося. Мало вивченим є також питання нейтралізації у мікроорганізмів детермінант резистентності. У світовій літературі налічуються лише поодинокі публікації стосовно здатності БАР рослинного походження блокувати активність ефлюксної помпи MsrA, яка забезпечує енергетично-залежне виведення з бактеріальної клітини еритроміцину (ЕРИ) та інших макролідів (Jaglic Z. et al., 2012; Le Bouter A. et al., 2011).

Таким чином, обраний напрямок досліджень є актуальним та перспективним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках комплексної НДР кафедри мікробіології, вірусології та імунології Івано-Франківського Національного медичного університету (ІФНМУ) «Вивчення біологічної активності природних і синтетичних гетероциклічних сполук, що містять піридинобий, імідазольний цикли та комплекси з біометалами» (№ державної реєстрації 0103U004919, 2012–2017 рр.).

Мета – розробити мікробіологічне обґрунтування створення нових засобів для лікування піодермій на основі вивчення БАР лікарських рослин, що володіють прямою протимікробною активністю, а також проявляють синергізм протимікробної дії з макролідами щодо шкірних ізолятів стафілококів, відновлюють чутливість MLS-резистентних стафілококів до макролідів.

Завдання дослідження:

1. З'ясувати фенотипові прояви різних механізмів MLS-резистентності стафілококів та дослідити їх поширення серед збудників піодермій;

2. Виявити серед екстрактів лікарських рослин флори України представників з вираженими протимікробними властивостями щодо шкірних ізолятів стафілококів з різними фенотипами MLS-резистентності;

3. Вивчити синергізм протимікробної дії екстрактів лікарських рослин флори України, вибраних в процесі первинного скринінгу та антибіотиків групи макролідів щодо шкірних ізолятів стафілококів з різними фенотипами MLS-резистентності;

4. Дослідити вплив БАР лікарських рослин на постантибіотичний ефект (ПАЕ) макролідів;

5. Оцінити вплив БАР рослинного походження на темпи набування MLS-резистентності шкірних ізолятів стафілококів;

6. Вивчити вплив БАР рослинного походження на адгезивні властивості шкірних ізолятів стафілококів.

Об'єкт дослідження – музейні та клінічні штами шкірних ізолятів стафілококів з різними механізмами MLS-резистентності, екстракти лікарських рослин флори України.

Предмет дослідження – протимікробна активність екстрактів лікарських рослин, синергізм взаємодії БАР рослинного походження з макролідами, вплив на темпи формування MLS-резистентності та адгезивні властивості шкірних ізолятів стафілококів.

Методи дослідження – мікробіологічні, хроматографічні, біоавтографічні, математико-статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Проаналізовано чутливість до антибіотиків MLS-групи (14- і 16-членних макролідів та лінкозамідів) у стафілококів, виділених від пацієнтів з різними формами піодермій. Здійснено фенотипову ідентифікацію детермінант цього типу антибіотикорезистентності. Виявлено значне поширення штамів стафілококів резистентних до антибіотиків MLS-групи серед шкірних ізолятів *S. aureus* (45,0 %) та коагулазо-негативних стафілококів (КНС) (88,0 %), виділених в науково-дослідній лабораторії мікробіологічних досліджень кафедри мікробіології, вірусології та імунології ІФНМУ. Серед MLS-резистентних шкірних ізолятів *S. aureus* переважали штами з конститутивним фенотипом (70,0 %), з високим рівнем резистентності до всіх антибіотиків цієї групи. Серед MLS-резистентних шкірних ізолятів КНС переважали штами з індукцибельним фенотипом (64,0 %), який проявився стійкістю до 14-членних макролідів з індукцією на 16-членні макроліди та лінкозаміди. Значно менша кількість штамів *S. aureus* (22,0 %) та КНС (25,0 %) володіла низьким рівнем MLS-резистентності, з резистентністю тільки до 14-членних макролідів.

Здійснено цілеспрямований пошук активних компонентів екстрактів лікарських рослин з антимікробними та антибіотикопотенціюючими властивостями щодо шкірних ізолятів стафілококів з різними механізмами MLS-резистентності. Вперше встановлено здатність екстрактів цілого ряду лікарських рослин флори України підвищувати чутливість MLS-резистентних стафілококів до макролідів. Зокрема, екстракти плодів вільхи сірої (*Alnus incana* L.), трави рути садової (*Ruta graveolens* L.) та кореневищ герані лугової (*Geranium pratense* L.) володіли здатністю нейтралізувати рибосомальний механізм MLS-резистентності *S. aureus* і *S. epidermidis*. Екстракти листків мучниці звичайної (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.), трави рути садової (*Ruta graveolens* L.) та бруньок берези бородавчастої (*Betula verrucosa* L.) блокували ефлюксий механізм резистентності стафілококів до макролідів. Експериментально доведено, що БАР екстракту плодів вільхи сірої значно підвищують ПАЕ ЕРІ відносно MLS-резистентного штаму *S. aureus*, а також виразно сповільнюють темпи набуття резистентності *S. epidermidis* до ЕРІ та забезпечують достовірну елімінацію фенотипової ознаки резистентності.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведеного експериментального дослідження служать мікробіологічним обґрунтуванням можливості створення нових комбінованих лікарських засобів для місцевого лікування піодермій на основі антибіотиків групи макролідів та лікарських рослин, БАР яких виступають в ролі модифікаторів MLS-резистентності.

Впровадження комбінованої хіміотерапії в клінічну практику може допомогти реально вирішити дві актуальні проблеми сучасної медицини – сповільнити процес набуття мікроорганізмами (зокрема стафілококами) резистентності до антибіотиків і підвищити ефективність лікування інфекцій, спричинених резистентними штамми.

Одержані в ході досліджень результати розширюють відомості про фармакологічні властивості лікарських рослин флори України, дозволяють сформулювати нові показання до їх клінічного застосування, як ефективних засобів для протидії наростаючій антибіотикорезистентності мікроорганізмів.

Результати дослідження впроваджені в роботу науково-дослідної лабораторії мікробіологічних досліджень кафедри мікробіології, вірусології та імунології ДВНЗ «ІФНМУ»; в наукову і педагогічну діяльність кафедр дерматології, фармакології, клінічної фармакології та фармакотерапії ДВНЗ «ІФНМУ», кафедр мікробіології та шкірно-венеричних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри мікробіології та вірусології ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», кафедри мікробіології, вірусології та імунології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського».

Особистий внесок здобувача. Дисертант самостійно провела аналіз вітчизняної та іноземної літератури за темою дисертаційного дослідження, патентно-інформаційний пошук, планування та виконання експериментальної роботи, здійснила інтерпретацію та узагальнення отриманих результатів, написання всіх розділів дисертації, формулювання висновків, статистичне опрацювання результатів досліджень, оформлення опублікованих наукових праць, як особистих так і в співавторстві.

Здобувачем ідентифіковано 101 шкірний ізолят MLS-резистентних стафілококів (з яких 51 штамп *S. aureus* і 50 штамів КНС), виділених впродовж 2012–2017 років у науково-дослідній лабораторії мікробіологічних досліджень кафедри мікробіології вірусології та імунології ІФНМУ від амбулаторних пацієнтів з піодерміями, встановлено фенотипові прояви механізмів резистентності клінічних та колекційних штамів стафілококів до антибіотиків MLS-групи, антисептиків та офіційних фітопрепаратів. Відібрано 25 шкірних ізолятів стафілококів з ідентифікованими детермінантами MLS-резистентності для використання в якості тест-штамів при первинному мікробіологічному скринінгу та подальших мікробіологічних дослідженнях.

Дисертантом особисто проведено скринінг прямої протимікробної активності та синергізму протимікробної дії з макролідами (на прикладі ЕРІ) 241 екстракту різних органів (надземної частини, листків, суцвіть, плодів, коренів і кореневищ) 183 лікарських та пряно-ароматичних рослин відносно тест-штамів стафілококів з ефлюксом та індукцйбельним механізми MLS-резистентності. Самостійно визначено рівні протимікробної активності відібраних в процесі первинного мікробіологічного скринінгу рослинних екстрактів. Вивчено вплив рослинних екстрактів на динаміку росту мікробних культур, ПАЕ ЕРІ, темпи формування резистентності до ЕРІ та адгезивні властивості тест-штамів стафілококів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати дослідження були представлені та обговорювалися на XIII та XV з'їзді ТМУ ім. С. М. Виноградського (Ялта, 2013; Одеса, 2017); науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями», присвяченій 170-й річниці з дня народження І. І. Мечникова (Харків, 2015); II міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2015); міжнародній науково-практичній конференції «Нові досягнення у галузі медичних та фармацевтичних

наук» (Одеса, 2015); II International scientific conference «Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21st century» (Kyiv, 2016); XX міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2016); на 85-ій науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі» (Одеса, 2016); національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції перспективи» (Харків, 2016); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів» (Вінниця, 2016); науково-практичній конференції «Фармакотерапія при інфекційних захворюваннях» (Київ, 2017); науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація)» (Харків, 2017); III (X) з'їзді Української асоціації лікарів дерматовенерологів і косметологів (Львів, 2017); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності» (Чернівці, 2018).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 24 наукові праці, серед них 7 статей (3 одноосібно) в наукових фахових виданнях (з яких 5 статей – у журналах, визначених ДАК України, 1 стаття – у виданні України, що включене до міжнародних наукометричних систем Index Copernicus, Google Scholar, World Cat), 1 стаття – у закордонному науковому виданні, 16 тез доповідей у матеріалах міжнародних і вітчизняних наукових конференцій, з'їздів і конгресів. За результатами дисертаційного дослідження отримано один патент України на корисну модель.

Обсяг та структура дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 203 сторінках комп'ютерного тексту (основний зміст дисертації – на 121 сторінці), включає вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, три розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів дослідження, висновки роботи та практичні рекомендації, список використаних літературних джерел, який складається з 228 найменувань (64 кирилицею і 164 латиною), додатки. Робота ілюстрована 20 таблицями та 21 рисунком.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У *вступі* обґрунтовано актуальність обраної теми, сформульовані мета та завдання дослідження, визначено зв'язок роботи з державними науковими програмами, розкрито наукову новизну та практичну цінність одержаних результатів, наведено дані щодо апробації дослідження, вказано обсяг і структуру дисертації.

Огляд літератури містить три підрозділи, у яких висвітлено проблему MLS-резистентності сучасних клінічних штамів стафілококів, описано її механізми та детермінанти у стафілококів, проаналізовано лікарські рослини як джерело сполук з протимікробною та антибіотикопотенціюючою активністю відносно стафілококів – основних збудників піодермій.

Матеріали і методи досліджень. Для мікробіологічних досліджень у роботі використано 51 штамп *S. aureus* і 50 штамів КНС, виділених у лабораторії мікробіологічних досліджень кафедри мікробіології вірусології та імунології ІФНМУ від амбулаторних пацієнтів з піодерміями, протягом 2012–2017 рр. Підбір клінічних штамів стафілококів з музею кафедри мікробіології вірусології та імунології ІФНМУ здійснювався за допомогою комп'ютерної програми WHONET 5.1.

Культури стафілококів ідентифікували з використанням ідентифікаційної системи «STARHYtest 16» (Lachema, Чехія). Чутливість клінічних штамів стафілококів до антибіотиків визначали дискодифузійним методом на середовищі Мюллера–Хінтона, методами серійних розведень у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) та м'ясо-пептонному агарі (МПА) відповідно до рекомендацій Національного комітету клініко-лабораторних стандартів (NCCLS, США, 2013), згідно з вимогами наказу МОЗ України № 167 від 05.04.2007.

Фенотипову ідентифікацію детермінант MLS-резистентності тест-штамів стафілококів проводили на основі аналізу результатів тестування відносно шести антибіотиків: ЕРИ (15 мкг/диск), кларитроміцину (КТМ, 15 мкг/диск), рокситроміцину (РКМ, 30 мкг/диск), спіраміцину (СП, 30 мкг/диск), лінкоміцину (ЛН, 15 мкг/диск) та кліндаміцину (КЛІ, 2 мкг/диск). Для диференціації ефлюксного та індукбельного фенотипів MLS-резистентності використано дводисковий (ЕРІ–КЛІ) (Steward C. D. et al., 2005) та модифікований тридисковий (ЕРІ–КЛІ–СП) методи (Fiebelkorn K. R. et al., 2003). Ефлюксу природу резистентності додатково підтверджено на основі визначення чутливості до ЕРИ в присутності відомих інгібіторів помпи MsrA – 0,5 мкМ/мл арсенату натрію (Wondrack L. et al., 1996) та 0,5 мкМ/мл 2,4-динітрофенолу (Ross J. I. et al., 1990).

Скринінгове дослідження прямої протимікробної активності 241 рослинного екстракту (екстрагент 40 %, 70 % та 90 % водний етанол), поверхнево-активних антисептиків та офіціальних фітопрепаратів здійснено за допомогою модифікованого методу дифузії в агар (раціоналізаторська пропозиція №30/2614 від 28.05.09) відносно шкірних ізолятів *S. epidermidis* з індуктивним та *S. aureus* з неіндуктивним фенотипами.

Для оцінювання синергізму протимікробної дії екстрактів з ЕРИ в МПА додавали ЕРИ у кінцевій концентрації $\frac{1}{4}$ або $\frac{1}{64}$ мінімальної бактеріостатичної концентрації (МБСК) для кожного тест-штаму (Куцик Р. В., 2008). Висновок про антибіотикопотенціюючу дію екстрактів зроблено на основі порівняння характеру отриманих зон затримки росту (ЗЗР) та середніх значень їх метричних даних у контролі (на середовищі без ЕРИ) і в дослідному посіві (на середовищі з ЕРИ в суббактеріостатичній концентрації).

Екстракти, що проявили дозозалежний синергізм з ЕРИ щодо штамів з індуктивним та ефлюксным механізмами відібрано для подальшого поглибленого вивчення методом «титрувальної панелі», яка за допомогою визначення індексу фракційної інгібуючої концентрації (ФІКІ) дозволила встановити концентрації синергічних комбінацій препаратів (Santos A. et al., 2015).

Екстракти, що проявили виражену протимікробну та антибіотикопотенціюючу активність досліджено методом серійних розведень в агарі для визначення ефективних діючих концентрацій щодо 25 еталонних тест-штамів стафілококів з

різними фенотипами MLS-резистентності (Красильников А. П., 1995).

Мікрометодом серійних розведень в МПБ (Thornsberry C. et al., 1983) визначали ефективні протимікробні концентрації препаратів при їх ізольованому та поєднаному застосуванні. Характер росту культур в лунках полістиролових планшет з різними концентраціями ЕРИ та рослинних екстрактів оцінювали на основі приросту оптичної густини середовища (OD_{495}), яку реєстрували за допомогою багаторежимного фотометра SynergyTMHTX (SILFTA) впродовж 72 годин інкубації (через кожні 2 години).

З метою уточнення отриманих результатів щодо синергічного потенціалу комбінації рослинних екстрактів та ЕРИ, було використано метод кривої «час-бактерицидний ефект» (Joray M. B. et al., 2011) в рідкому поживному середовищі на періодичних культурах. Ефективність комбінацій екстракту та ЕРИ оцінювали як зменшення або збільшення кількості живих мікробних клітин ($\Delta \lg$ колоніє утворюючих одиниць (КУО)/мл) під впливом комбінації в порівнянні з впливом кожного препарату окремо.

Вивчення ПАЕ ЕРИ та впливу на нього суббактеріостатичних концентрацій екстракту плодів вільхи сірої проводили в рідкому поживному середовищі (в періодичних культурах *S. aureus* з індуктивним фенотипом) (D'Arrigo M. et al., 2010). У дослідні пробірки вносили досліджуваний екстракт у кінцевих концентраціях $1/4$, $1/8$ та $1/32$ МБСК та ЕРИ (у кінцевій концентрації 1 МБСК). Контрольними служили пробірки тільки з ЕРИ та мікробною культурою. Експозицію з ЕРИ здійснювали впродовж 1 год. З метою припинення дії антибіотика зразки розводили 1:1000 МПБ та культивували впродовж 10 год. при постійному перемішуванні на шейкері. Забір аліквот проводили відразу після припинення експозиції мікроорганізмів з досліджуваними препаратами, а також через кожну годину культивування. Для підрахунку числа живих мікробних клітин робили ряд послідовних десятикратних розведень кожної аліквоти з наступним висівом на МПА та підрахунком колоній, що вирости. ПАЕ визначали як різницю між часом, необхідним для наростання числа мікробних клітин у дослідній культурі на $1 \lg$ КУО/мл, порівняно з початковим рівнем (0 годин) та часом, необхідним для наростання числа мікробних клітин у контрольній культурі на $1 \lg$ КУО/мл порівняно з початковим рівнем (0 годин).

Формування резистентності до ЕРИ та вплив на її темпи суббактеріостатичних концентрацій екстракту плодів вільхи сірої проводили щодо штаму *S. epidermidis* з фенотипом Neg. Спостереження за процесом набування резистентності до ЕРИ досліджуваними штамми здійснювали в процесі їх багаторазових послідовних пасажів в МПБ з різними концентраціями ЕРИ та екстракту. Пересіви здійснювали протягом 30 днів (Shimizu T. et al., 2013).

Вивчення впливу рослинних екстрактів на адгезивні властивості шкірних ізолятів *S. epidermidis* з різними механізмами MLS-резистентності виконано із використанням формалізованих еритроцитів людини 0(I) Rh⁺ групи крові з визначенням індексу адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) (Брилис В. И. и др., 1986). Вплив активних компонентів рослинних екстрактів на адгезію мікроорганізмів до еритроцитів досліджували у розведеннях 1:5 та 1:50.

З метою ідентифікації активних компонентів досліджуваних рослинних

екстрактів проведено їх хроматографію на папері та тонкошарову хроматографію на пластинках «Sorbifil» у системах розчинників: н-бутанол – 5 % оцтова кислота – вода 20:5:25 та етилацетат – метанол – вода 100:13,5:10 (Wagner H. et al., 1996; Wollgast J. et al., 2000). Хроматограми проявляли 3 % розчином хлориду заліза для виявлення поліфенольних сполук, проглядали у двох спектрах УФ випромінювання (254 та 365 нм). Біоавтографічні дослідження екстрактів виконано за методом A. Nostro та співавторів. (2000). Дослідження з кожним тест-штамом проводили тричі.

Для статистичного оброблення результатів застосовано методи варіаційної статистики, одно- і двофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA), комп'ютерні програми WHONET 5.1, UTHSCSA ImageTool 2.0 та Microsoft Office Excel 2011.

Результати власних досліджень викладені у наступних трьох розділах дисертації.

Поширення MLS-резистентних штамів стафілококів серед збудників піодермій. За допомогою програми WHONET 5.1 проведено моніторинг за поширенням MLS-резистентних штамів стафілококів, виділених від пацієнтів з піодерміями. Виявлено значне поширення штамів стафілококів резистентних до антибіотиків MLS-групи серед шкірних ізолятів *S. aureus* (45,0 %) та КНС (88,0 %).

На основі аналізу результатів дво- і тридискових тестів із застосуванням різних комбінацій 14-членних і 16-членних макролідів та лінкозамідів усі досліджені клінічні штами стафілококів класифіковано на 5 фенотипів.

Серед ідентифікованих MLS-резистентних клінічних штамів *S. aureus* переважали штами з конститутивним фенотипом (70,0 %), з високим рівнем резистентності до всіх антибіотиків цієї групи (фенотип R). Серед ідентифікованих MLS-резистентних клінічних штамів КНС переважали штами з індукцибельним фенотипом (64,0 %), з стійкістю до 14-членних макролідів та індукцією резистентності на 16-членні макроліди та лінкозаміди (фенотип D та D⁺). Значно менша кількість штамів *S. aureus* (22,0 %) та КНС (25,0 %) проявила низький рівень MLS-резистентності, з резистентністю тільки до 14-членних макролідів (фенотип Neg).

Для підтвердження ефлюксної природи резистентності у штамів стафілококів з фенотипом Neg та штамів з проміжною чутливістю до макролідів нами було використано блокатори помпи MsrA – арсенат натрію та 2,4-динітрофенол. У більшості тест-штамів спостерігалось значне зниження МБсК та мінімальних бактерицидних концентрацій (МБцК) ЕРИ. Середні значення кратності зниження МБсК та МБцК ЕРИ в присутності суббактеріостатичних концентрацій арсенату натрію становили 99 і 123 та 2,4-динітрофенолу 250 і 277 відповідно (p < 0,5). Таким чином, за допомогою штамів стафілококів з фенотипом Neg ми одержали можливість здійснити скринінгове тестування рослинних екстрактів на здатність відновлювати їх чутливість до ЕРИ за рахунок блокування ефлюксної помпи MsrA.

Дослідження протимікробних властивостей поверхнево-активних антисептиків методом двократних серійних розведень в МПА показало, що усі штами стафілококів, незалежно від фенотипу MLS-резистентності, проявили високу чутливість до хлоргексидину (МБцК ≤ 6,25 мкг/мл відносно 100 % штамів), декасану (МБцК 10–20 мкг/мл відносно 100 % штамів). Горостен у концентрації 6,25 мкг/мл пригнітив ріст (81,8±7,71) % штамів *S. aureus* та (64,2±9,53) % штамів

S. epidermidis ($p < 0,001$). Мірамістин у діапазоні концентрацій 10,0–1,25 мкг/мл активності не проявив.

Вивчення протимікробної активності екстрактів лікарських рослин флори України відносно шкірних ізолятів стафілококів з різними механізмами MLS-резистентності. Проведено первинний мікробіологічний скринінг 241 екстракту різних органів (надземної частини, листків, суцвіть, плодів, коренів і кореневищ) 183 лікарських та пряно-ароматичних рослин та 10 офіційних фітопрепаратів на протимікробну активність мікрометодом дифузії в агар.

Аналіз одержаних результатів скринінгового дослідження показав, що штам *S. epidermidis* з індуцибельним фенотипом MLS-резистентності виявився більш чутливим до БАР рослинних екстрактів. Протимікробну активність відносно цього штаму проявили 50 екстрактів ($20,74 \pm 2,61$) % ($p < 0,05$), тоді як шкірний ізолят *S. aureus* з фенотипом Neg MLS-резистентності виявився чутливим до 37 рослинних екстрактів ($15,35 \pm 7,8$) % ($p < 0,001$).

У табл. 1 представлено дані ефективних діючих концентрацій рослинних екстрактів щодо штамів КНС та *S. aureus* з різними фенотипами MLS-резистентності.

Таблиця 1 – Середні арифметичні значення МБсК рослинних екстрактів щодо штамів КНС та *S. aureus* з різними фенотипами MLS-резистентності (мкг/мл)

Екстракти	MLS фенотипи та ефективно діючі концентрації екстрактів			
	S (n=5)	Neg (n=3)	D (n=9)	R (n=8)
Береза бородавчаста бруньки	2437,5±1140,52	2390,6±832,42	1222,6±436,35	1828,1±192,56
Вільха сіра плоди	422,5±73,45	230,2±94,79	398,4±278,03	232,1±44,95
Герань болотна надземна частина	270,0±76,30	202,2±64,70	194,1±104,87	154,6±28,12
Герань лугова кореневища	260,3±125,87	325,0±162,50	573,3±267,63	2041,4±395,13
Герань лугова надземна частина	65,6±34,54	79,6±23,06	78,7±21,52	53,1±14,86
Калина звичайна сік плодів	145,7±12,46	154,9±12,14	139,9±19,95	194,7±17,13
Евернія злущена слань	93,7±25,15	93,7±19,26	123,7±26,25	15,6±3,12
Мучниця звичайна листки	215,6±71,87	638,8±104,73	521,1±108,45	455,2±78,00

Примітка: S – штами чутливі до антибіотиків MLS-групи; Neg – штами резистентні до 14, 15-членних макролідів; D – штами резистентні до 14, 15-членних макролідів з індукцією на лінкозаміди та 16-членні макроліди; R – штами резистентні до усіх антибіотиків MLS-групи.

Найвищою антибактеріальною активністю відносно MLS-резистентних штамів стафілококів характеризувалися екстракти надземної частини герані лугової (53,1–79,6 мкг/мл) і герані болотної (154,6–202,2 мкг/мл), соку плодів калини звичайної (139,9–194,7 мкг/мл), а також слані евернії злущеної (15,6–123,7 мкг/мл)

Одержані в ході проведеного дослідження результати вказують на можливість використання цих екстрактів для створення нових протимікробних препаратів для лікування піодермій, спричинених MLS-резистентними штамми стафілококів.

Слід відзначити, що серед 10 досліджених офіційних фітопрепаратів протимікробну дію відносно тест-штамів *S. epidermidis* з індуктивним та *S. aureus* з ефлюксним механізмом проявили настоянка листків м'яти перцевої ((8,00±0,99) $p < 0,01$ та (8,8±1,6); $p < 0,05$), прополісу ((11,35±0,74) та (11,63±0,66); $p < 0,01$) та препарат «Альтан» ((10,05±0,57) та (10,08±0,38); $p < 0,01$). Настоянка плодів софори японської була активною відносно штаму *S. epidermidis* з індуктивним фенотипом ((9,92±0,82); $p < 0,01$).

За результатами проведеного дослідження встановлено, що за ІАМ MLS-резистентні штами *S. epidermidis* виявились середньоадгезивними ((2,78±0,03) та (2,54±0,06); $p < 0,001$).

Найвищу активність (зниження ІАМ $\geq 50\%$) відносно тест-штамів *S. epidermidis* з фенотипом D в обох розведеннях показали екстракти плодів вільхи сірої ((64,3±6,84) % та (59,8±7,00) %), бруньок берези бородавчастої ((57,4±7,06) % та (51,0±7,07) %) та препарат «Альтан» ((55,2±7,10) % та (51,0±7,14) %). Крім того, високу протиадгезивну активність у розведенні 1:5 продемонстрував екстракт листків скумпії звичайної (57,8±7,13) %, кореневищ родовика лікарського (58,7±7,03) % та надземної частини брусниці (53,8±7,12) %, тоді як екстракти плодів біоти східної (55,2±7,10) % та листків мучниці звичайної (53,5±7,12) % виявились більш активними у розведенні 1:50 ($p < 0,001$).

Найбільшими протиадгезивними властивостями відносно тест-штамів *S. epidermidis* з фенотипом Neg володів екстракт плодів біоти східної ((51,4±7,14) % в обох розведеннях), препарат «Альтан» в розведенні 1:5 (51,4±7,14) %, екстракти плодів вільхи сірої (51,0±7,14) % та кореневищ герані лугової у розведеннях 1:50 (52,1±7,13) % ($p < 0,001$).

Синергізм протимікробної активності з макролідами БАР лікарських рослин флори України. Нами виконано пошук модифікаторів антибіотикорезистентності бактерій серед лікарських рослин флори України мікрометодом дифузії в агар (Куцик Р. В., 2008) щодо штамів *S. epidermidis* з індуктивним фенотипом та *S. aureus* з фенотипом Neg. Дозозалежну здатність підвищувати чутливість до ЕРІ (збільшення ЗЗР в мм, кінцева концентрація антибіотика $\frac{1}{4}$ та $\frac{1}{64}$ МБСК) в порівнянні з контролем (середовище без ЕРІ) у тест-штамів проявили: екстракти плодів біоти східної ((12,31±0,97) та (17,91±0,41); $p < 0,01$) та вільхи сірої ((22,73±0,46); $p < 0,01$ та (18,57±1,45); $p < 0,05$), листків мучниці звичайної ((32,04±1,3) та (23,26±1,26); $p < 0,05$), скумпії звичайної ((30,42±2,05); $p < 0,05$ та (25,49±0,34); $p < 0,01$), смовді руської (11,56±0,93; $p < 0,01$ та (14,13±0,62); $p < 0,05$) та тамариксу галузистого ((20,34±1,81); $p < 0,05$ та (11,38±0,41); $p < 0,01$), бруньок берези бородавчастої ((16,77±0,56) та (17,15±0,54); $p < 0,01$), надземної частини

брусниці ((29,46±1,04) та 19,94±1,72); $p < 0,05$), кореневищ гірчака зміїного (20,59±1,34 та 20,28±1,58; $p < 0,05$), родовика лікарського ((22,73±0,38); $p < 0,01$ та (17,65±1,12); $p < 0,05$) та герані лугової ((28,71±0,67); $p < 0,01$ та (13,84±1,03); $p < 0,05$).

Серед офіціальних фітопрепаратів виражений дозозалежний синергізм з ЕРИ відносно обох тест-штамів продемонстрував препарат «Альтан». На середовищах з $1/4$ та $1/64$ МБсК ЕРИ для кожного тест-штаму «Альтан» проявив виразну антибіотикопотенціюючу активність: (10,08±0,38) – (24,62±0,55) мм для *S. aureus* та (10,05±0,57) – (17,87±0,45) мм для *S. epidermidis* ($p < 0,01$). Характер росту культур в лунках полістеролових планшет мікрометодом серійних розведень в МПБ з різними концентраціями «Альтану» ($1/4$, $1/8$ та $1/16$ МБсК) та ЕРИ (1000–0,3125 мкг/мл) оцінювали на основі приросту оптичної густини середовища після 1, 2, і 3 доби інкубації. Встановлено 16–32-кратне зниження бактеріостатичних концентрацій ЕРИ (до 32–64 мкг/мл) відносно *S. epidermidis* з індукбельним типом MLS-резистентності в присутності БАР «Альтану» в концентраціях 0,39–1,56 мкг/мл. Синергічну взаємодію «Альтану» з ЕРИ відносно штаму *S. epidermidis* з ефлюксімним механізмом MLS-резистентності досліджували в діапазоні концентрацій антибіотика 8–0,001 мкг/мл. При цьому спостерігали лише 2-кратне зниження МБсК ЕРИ.

Експериментальні дані вказують на доцільність поєднання «Альтану» з ЕРИ для лікування стафілококових інфекцій, спричинених штамми з індукбельним типом MLS-резистентності у терапевтичних схемах, а також на перспективність розробки на їх основі комбінованих лікувальних засобів, зокрема для дерматології.

Мікрометодом серійних розведень в бульйоні встановлено зниження бактеріостатичних концентрацій ЕРИ до 2–8 мкг/мл у штаму *S. epidermidis* з індукбельним типом MLS-резистентності в присутності БАР густого екстракту трави рути садової. Синергічну взаємодію досліджуваного екстракту з ЕРИ відносно штаму *S. aureus* з ефлюксімним механізмом MLS-резистентності досліджували в діапазоні концентрацій ЕРИ 8–0,001 мкг/мл. При цьому спостерігали зниження МБсК ЕРИ до 0,25–2,0 мкг/мл ($p < 0,001$).

За результатами попередніх досліджень, було відібрано рослинні препарати з властивостями модифікаторів резистентності стафілококів до макролідів для з'ясування їх синергічної комбінації з ЕРИ.

Синергічну взаємодію з ЕРИ для 100% штамів стафілококів з індуктивним фенотипом MLS-резистентності проявили екстракти плодів вільхи сірої та кореневищ герані лугової (ФІКІ (0,057±0,02) і (0,028±0,01) відповідно; $p < 0,001$). Під впливом екстракту плодів вільхи сірої у штамів стафілококів з індуктивним фенотипом спостерігалось зниження МБсК ЕРИ у 127 разів, тоді як у тест-штамів з фенотипом Neg лише у 4 рази.

Екстракти бруньок берези бородавчастої (ФІКІ (0,473±0,20); $p < 0,01$), листків мучниці звичайної (середнє значення ФІКІ (0,143±0,18); $p < 0,01$) та тамариксу галузистого (ФІКІ (0,189±0,29); $p < 0,01$) показали синергічну взаємодію з ЕРИ відносно 71,4–85,7% штамів. Екстракт кореневищ родовика лікарського продемонстрував відсутність взаємодії з антибіотиком відносно 42,8 % штамів. Відносно 28,6 % штамів нами зареєстровано адитивний і відносно ще 28,6 % – синергічний ефект (ФІКІ (0,812±0,52); $p < 0,01$).

Синергічну взаємодію (ФІКІ 0,268–0,348) з ЕРИ для 100 % штамів стафілококів з ефлюксімним механізмом MLS-резистентності проявили екстракти листків мучниці звичайної та бруньок берези бородавчастої. Екстракти кореневищ герані лугової (ФІКІ $(0,358 \pm 0,25)$; $p < 0,01$) та кореневищ родовика лікарського (ФІКІ $(0,34 \pm 0,22)$; $p < 0,01$) показали синергічну взаємодію з ЕРИ відносно 57,1–71,4 % штамів. Екстракт плодів вільхи сірої (ФІКІ $(0,54 \pm 0,4)$; $p < 0,01$) проявив синергічну взаємодію з ЕРИ відносно 4 штамів. Екстракт листків тамариксу галузистого (ФІКІ $(0,517 \pm 0,29)$; $p < 0,01$) продемонстрував синергічну взаємодію з ЕРИ відносно 3 штамів стафілококів.

Комбінація суббактеріостатичних концентрації ЕРИ та «Альтану» щодо 21 досліджуваного штаму (85,0 %) проявила синергічну взаємодію. Для штамів з індукцибельним фенотипом MLS-резистентності встановлено середні значення ФІКІ $(0,26 \pm 0,35)$, а для штамів з фенотипом Neg – $(0,18 \pm 0,87)$ ($p < 0,05$).

Аналіз кривих росту методом кривої «час-бактерицидний ефект» представлено на рис. 1.

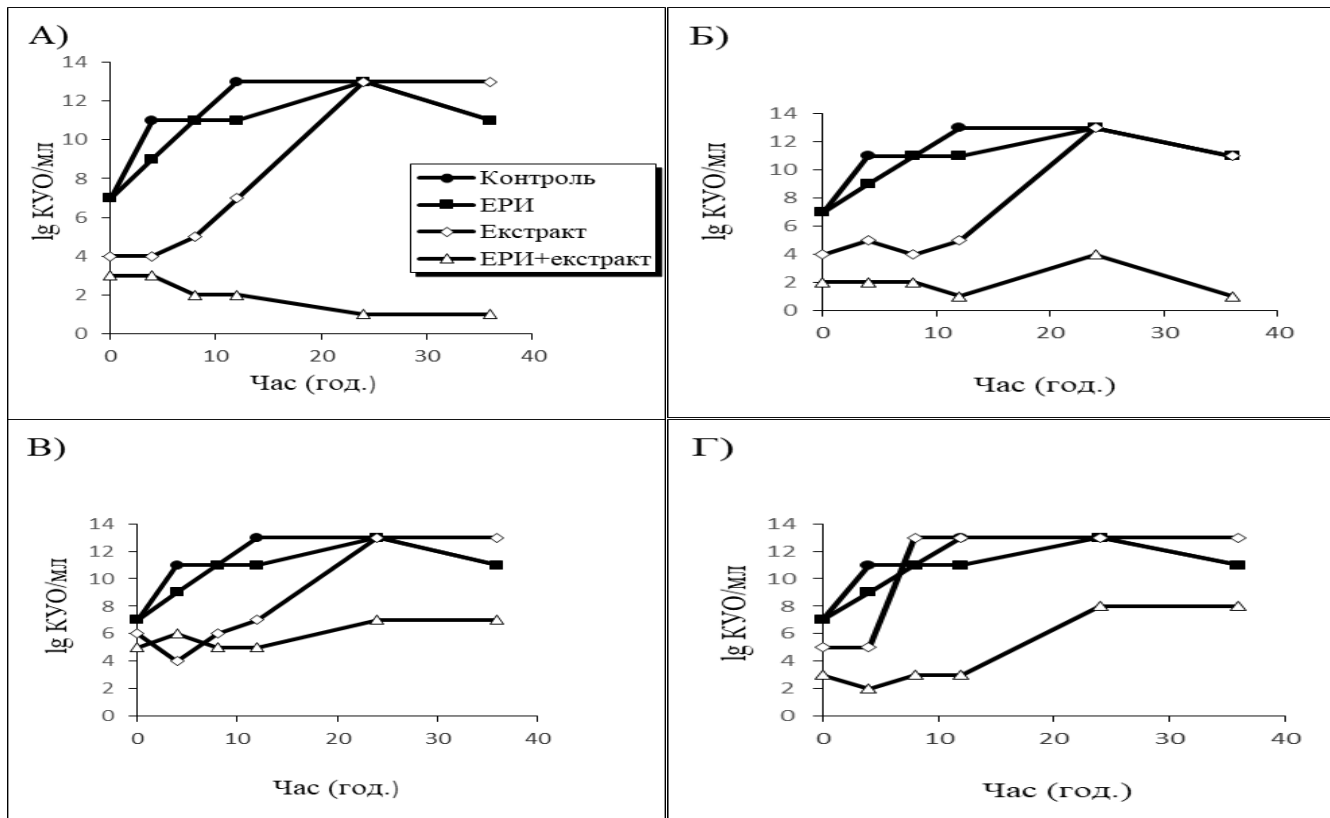


Рисунок 1 – Криві росту культур *S. aureus* в присутності $\frac{1}{4}$ МПК ЕРИ, рослинних екстрактів та їх синергічних комбінацій: А) екстракт плодів вільхи сірої; Б) екстракт кореневищ герані лугової; В) екстракт листків мучниці звичайної; Г) екстракт бруньок берези бородавчастої. Примітка: ● — Контроль: кількість колоній без ЕРИ та екстракту; ■ — ЕРИ: кількість колоній з $\frac{1}{4}$ МБсК ЕРИ; ◇ — Екстракт: кількість колоній з $\frac{1}{4}$ МБсК екстракту; ▲ — ЕРИ+Екстракт: кількість колоній з $\frac{1}{4}$ МБсК ЕРИ та екстракту (зміни $\lg \text{KUO/ml}$).

Характер росту тест-штамів в присутності $\frac{1}{4}$ МПК ЕРИ був аналогічним росту культури без антибіотика. Екстракти плодів вільхи сірої, кореневищ герані

лугової та листків мучниці звичайної в концентраціях $\frac{1}{4}$ МПК значно подовжили тривалість латентної і логарифмічної (до 24 год.) фаз росту мікробної культури.

Комбінації суббактеріостатичних концентрацій ЕРИ з екстрактами плодів вільхи сірої та кореневищ герані лугової, а також препаратом «Альтан» відносно штаму *S. aureus* з фенотипом D проявили синергічну взаємодію, виразно зменшуючи кількість життєздатних мікробних клітин в культурі ($\Delta \lg \text{КУО/мл} < -2$, $p < 0,01$). При цьому синергічні комбінації ЕРИ з даними екстрактами дозволили досягнути виразного бактерицидного ефекту: через 24–36 год. інкубації в культурах було виявлено лише поодинокі життєздатні бактеріальні клітини (на рівні $1 \lg \text{КУО/мл}$, $p < 0,001$).

Екстракти листків мучниці звичайної та бруньок берези бородавчастої проявили синергічну взаємодію з ЕРИ відносно штаму *S. aureus* з ефлюксомним механізмом MLS-резистентності, виразно зменшуючи кількість життєздатних мікробних клітин в культурі ($\Delta \lg \text{КУО/мл} < -2$, $p < 0,01$). Комбінація суббактеріостатичних концентрацій ЕРИ з екстрактом листків мучниці забезпечила стійкий бактеріостатичний ефект впродовж усього періоду спостереження за мікробними культурами (36 год.) ($p < 0,01$). Поєднання ЕРИ з екстрактом бруньок берези бородавчастої істотно зменшили число життєздатних мікробних клітин в культурі (до 2–3 $\lg \text{КУО/мл}$) впродовж перших 12 год. інкубації. Через 24–36 год. ріст культури відновився, але за своєю інтенсивністю він значно відставав від росту контрольних культур ($\Delta \lg \text{КУО/мл} = -5$, $p < 0,01$).

Виявлені нами факти зниження резистентності до макролідів індуцибельного типу у стафілококів під впливом екстрагованих комплексів лікарських рослин дозволили припустити присутність в них сполук, здатних пригнічувати посттранскрипційну модифікацію 23S-рРНК за рахунок блокування активності фермента аденін- N^6 -метилтрансферази, або за рахунок пригнічення експресії хромосомних генів родини *erm*. Активні компоненти бруньок берези бородавчастої та листків мучниці звичайної достовірно блокували мембранну помпу MsrA.

Було вираховано ПАЕ ЕРИ для визначення фармакокінетичних аспектів протимікробної дії препаратів (рис 2.).

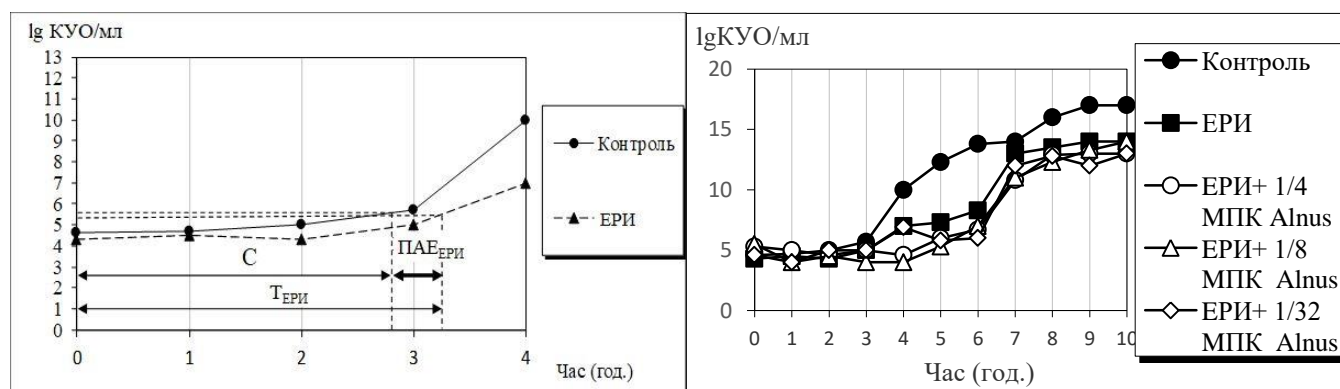


Рисунок 2 – Постаантибіотичний ефект ЕРИ та його комбінацій з екстрактом плодів вільхи сірої відносно тест-штаму *S. aureus* з індуцибельним фенотипом MLS-резистентності.

Результати проведеного нами дослідження показали, що ПАЕ ЕРИ відносно штаму *S. aureus* з індукбельним фенотипом MLS-резистентності становить 0,5 год. У присутності екстракту плодів вільхи сірої спостерігали збільшення тривалості ПАЕ ЕРИ: при $\frac{1}{4}$ МПК екстракту – до 2,8 год., при $\frac{1}{8}$ МПК – до 3,1 год. та при $\frac{1}{32}$ МПК – до 2,7 год. ($p < 0,05$). Збільшення тривалості ПАЕ ЕРИ під впливом цього екстракту істотно не залежало від його концентрації та однаково проявлялося в усіх трьох тестованих розведеннях.

Отримані результати мають клінічне значення з точки зору подовження протимікробної дії антибіотика в організмі після зниження його концентрації нижче порогу МБсК.

Біологічно активні речовини екстракту плодів вільхи сірої виразно гальмували процес наростання резистентності стафілококів до макролідів. Під впливом селективного тиску ЕРИ тест-штам *S. epidermidis* (фенотип Neg) з низьким початковим рівнем резистентності, зумовленим ефлюксом препарату з клітини, доволі швидко досяг резистентності високого рівня ($F = 34,2804$; $F > F_{\text{крит max}} = 5,9874$, $p < 0,001$). Вихідна МБсК ЕРИ для нього становила 32 мкг/мл. Після 15-го пасажу МБсК ЕРИ зросла у 16 разів та зберігалась на цьому рівні до 20-го пасажу. На момент закінчення експерименту (30 пасажів на середовищі з ЕРИ) МБсК ЕРИ становила 1024 мкг/мл, що перевищувало аналогічний показник материнського штаму в 32 рази. У присутності $\frac{1}{4}$ МБсК екстракту плодів вільхи сірої наростання базально низької резистентності до ЕРИ у штаму *S. epidermidis* (фенотип Neg) не спостерігалось ($F = 9,7497$; $F > F_{\text{крит max}} = 5,9874$, $p < 0,05$). Після 5-го пасажу в даному випадку вихідна МБсК ЕРИ знизилась у 4 рази. Після 20-го пасажу зареєстровано зниження МБсК ЕРИ у 32 рази, вона становила 1 мкг/мл і до 30-го пасажу її змін не спостерігалось. Таким чином, після 30 пасажів в середовищі з еритроміцином та $\frac{1}{4}$ МБсК екстракту плодів вільхи сірої шкірний ізолят *S. epidermidis* Neg повністю відновив чутливість до ЕРИ. Отже в присутності суббактеріостатичних концентрацій екстракту плодів вільхи спостерігалась достовірна елімінація фенотипової ознаки резистентності, властивої материнському штаму.

Для попереднього виявлення хімічної природи БАР екстрактів лікарських рослин, що проявили достовірний синергізм протимікробної дії з макролідами відносно клінічних штамів стафілококів з індукбельним механізмом MLS-резистентності виконано їх біоавтографічні дослідження. На біоавтограмах екстракту плодів вільхи сірої та препарату «Альтан», покритих агаровим гелем, що містив $\frac{1}{4}$ МПК ЕРИ (засіяним тест-культурою *S. epidermidis* з фенотипом D) недалеко від лінії старту візуалізувалися зони з чіткими краями вираженого гальмування росту тест-культури ($R_f = 0,26-0,32$ та $R_f = 0,11-0,14$, відповідно). Низький рівень хроматографічної рухливості БАР з еритроміцинопотенціуючою активністю та поява характерного чорно-фіолетового забарвлення при прояві 3 % розчином $FeCl_3$ може свідчити про їх приналежність до гідролізабельних танінів.

Біоавтограми екстракту кореневищ герані лугової демонстрували присутність іншого класу сполук з антибіотикопотенціуючою активністю відносно тест-штаму *S. epidermidis*, виявлених поблизу лінії фінішу і досить великих за площею ($R_f = 0,82-0,96$), із вираженими гідрофобними властивостями. Можемо припустити, що дані сполуки належать до ефірних олій.

Аналогічні біоавтографічні дослідження цих екстрактів відносно штаму *S. epidermidis* з ефлюксным механізмом MLS-резистентності показали відсутність їх протимікробної та антибіотикопотенціуючої активності.

ВИСНОВКИ

Виконана дисертаційна робота на основі даних експериментальних досліджень мікробіологічно обґрунтовує створення нових протимікробних препаратів рослинного походження для лікування піодермій, спричинених MLS-резистентними штамами стафілококів. Обґрунтовано та експериментально доведено синергізм протимікробної дії біологічно активних речовин з макролідами (на прикладі еритроміцину) відносно шкірних ізолятів стафілококів з різними механізмами MLS-резистентності.

1. MLS-резистентні шкірні ізоляти КНС (88,0 %), виділені від пацієнтів з різними формами піодермій, переважають над штамми чутливими до антибіотиків MLS-групи. Чутливість до антибіотиків MLS-групи проявляють 55,0 % шкірних штамів *S. aureus*. Серед MLS-резистентних шкірних ізолятів *S. aureus* переважають штами з конститутивним фенотипом (70,0 %). Серед MLS-резистентних шкірних ізолятів КНС переважають штами з індукцибельним фенотипом (64,0 %). Значно менша кількість штамів *S. aureus* (22,0 %) та КНС (25,0 %) проявляє низький рівень MLS-резистентності.

2. Серед лікарських рослин флори України найвищою антибактеріальною активністю відносно MLS-резистентних штамів стафілококів характеризуються екстракти надземної частини герані лугової (*Geranium pratense* L.) (МБсК 53,1–79,6 мкг/мл) і герані болотної (*Geranium palustre* L.) (МБсК 154,6–202,2 мкг/мл), соку плодів калини звичайної (*Viburnum opulus* L.) (МБсК 139,9–194,7 мкг/мл), а також слані евернії злушеної (*Evernia furfuracea* (L.) Mann.) (МБсК 15,6–123,7 мкг/мл). Ці екстракти можуть бути використані для створення нових протимікробних препаратів для лікування піодермій, спричинених MLS-резистентними штамми стафілококів.

3. Екстракти ряду лікарських рослин флори України проявляють виражений синергізм протимікробної дії з ЕРІ, знижуючи його МБсК відносно MLS-резистентних шкірних ізолятів стафілококів до терапевтичних концентрацій. БАР екстракту плодів вільхи сірої (*Alnus incana* L.), трави рути садової (*Ruta graveolens* L.) та кореневищ герані лугової (*Geranium pratense* L.), а також препарат «Альтан» відновлюють чутливість до ЕРІ штамів з індукцибельним фенотипом MLS-резистентності. Активні компоненти екстрактів бруньок берези бородавчастої (*Betula verrucosa* L.), трави рути садової (*Ruta graveolens* L.) та листків мучниці звичайної (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.) підвищують чутливість до ЕРІ штамів стафілококів з ефлюксным MLS-резистентності.

4. У присутності екстракту плодів вільхи сірої спостерігається збільшення тривалості ПАЕ ЕРІ (від 0,5 до 3,1 год.) відносно *S. aureus* з індукцибельним фенотипом MLS-резистентності.

5. Біологічно активні сполуки екстракту плодів вільхи сірої виразно гальмують процес наростання стійкості до макролідів стафілококів з низьким початковим рівнем резистентності. Після 30 пасажів на середовищі з

еритроміцином (1 МБсК) в присутності $\frac{1}{4}$ МБсК екстракту у MLS-резистентного шкірного ізоляту *S. epidermidis* спостерігалось 32-кратне зниження МБсК антибіотика.

6. Екстракти плодів вільхи сірої (зниження ІАМ на 64,3 % та 59,8 %), бруньок берези бородавчастої (зниження ІАМ 57,4 % та 51,0 %) та препарат «Альтан» (зниження ІАМ на 55,2 % та 51,0 %) демонструють високу протиадгезивну активність відносно штаму *S. epidermidis* з індуктивним фенотипом MLS-резистентності. Найбільшими протиадгезивними властивостями відносно штаму *S. epidermidis* з ефлюкским механізмом володіє екстракт плодів біоти східної (*Biota orientalis* L.) ((51,4±7,14) % в обох розведеннях).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для моніторингу за поширенням шкірних ізолятів стафілококів з різними механізмами MLS-резистентності доцільно застосовувати комп'ютерну програму WHONET 5.1.

2. Для проведення фенотипової диференціації різних механізмів MLS-резистентності клінічних ізолятів стафілококів доцільно використовувати дво- і тридискові тести із застосуванням різних комбінацій 14-членних (еритроміцин, кларитроміцин, рокситроміцин) і 16-членних (спіраміцин) макролідів та лінкозамідів (лінкоміцин, кліндаміцин).

3. Для місцевого лікування піодермій стафілококової етіології рекомендовано застосовувати поверхнево-активні антисептики: горостен, хлоргексидин та декасан, а також офіційні фітопрепарати: настоянку листків м'яти перцевої, прополіс та «Альтан».

4. Для розробки технологій нових засобів для лікування піодермій та проведення їх доклінічного і поглибленого фармакологічного дослідження рекомендуються плоди вільхи сірої (*Alnus incana* L.), надземна частина і кореневища герані лугової (*Geranium pratense* L.), трава герані болотної (*Geranium palustre* L.), трава рути садової (*Ruta graveolens* L.), бруньки берези бородавчастої (*Betula verrucosa* L.), листки мучниці звичайної (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.), слань евернії злущеної (*Evernia furfuracea* (L.) Mann.) та плоди калини звичайної (*Viburnum opulus* L.).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Юрчишин О. І., Куровець Л. М., Руско Г. В. Вивчення протимікробних і антибіотикопотенціюючих властивостей спиртових рослинних екстрактів відносно шкірних ізолятів стафілококів – збудників піодермій з різними механізмами MLS-резистентності // Biomedical and Biosocial Anthropology. 2016. № 26. С. 52–57. (Здобувач самостійно здійснила огляд літератури за проблемою публікації та провела експериментальні дослідження).

2. Юрчишин О. І. Вивчення протимікробної дії антисептиків відносно стафілококів – збудників піодермій з різними механізмами MLS-резистентності // Буковинський медичний вісник. 2016. Т. 20. № 3 (79). С. 197–201.

3. Юрчишин О. І., Куцик Р. В. Дослідження впливу синергічних комбінацій еритроміцину і екстрактів лікарських рослин флори Прикарпаття на динаміку росту

культури *Staphylococcus aureus* з індукційним фенотипом резистентності до макролідів // Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2017. Т. 17. № 4(60). С. 110–118. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження та підготувала матеріали до публікації).

4. Yurchyshyn O. I., Rusko H. V., Kutsyk R. V. Synergistic interaction of medicinal plant ethanolic extracts with erythromycin against skin strains of staphylococci with inducible phenotype of MLS-resistance // Annals of Mechnikov Institute. 2017. № 3. P. 71-79. URL: <http://www.imiamn.org.ua/journal.htm>. DOI: 10.5281/zenodo.1000150. (Здобувач самостійно здійснила огляд літератури за проблемою публікації та провела експериментальні дослідження).

5. Юрчишин О. І. Вивчення протимікробної активності екстрактів лікарських рослин флори України відносно шкірних ізолятів стафілококів – збудників піодермій з різними механізмами MLS-резистентності // Прикарпатський вісник НТШ «Пульс». 2018. № 8(44). С. 148-162.

6. Yurchyshyn O. I., Rusko G. V., Kutsyk R. V. Antimicrobial effect of south Ukrainian sea lavender *Limonium meyeri* (Boiss.) O. Kuntze and *Limonium hypanicum* Klok. with especial emphasizing against staphylococci and Propionibacteria // The Pharma Innovation Journal. 2017. Vol. 6, № 10. P. 380–384. URL: <http://www.thepharmajournal.com>. (Здобувач частково провела експериментальні дослідження та підготувала матеріали до публікації).

7. Юрчишин О. І. Фенотипи MLS-резистентності шкірних ізолятів стафілококів – збудників піодермій // Прикарпатський вісник НТШ «Пульс». 2014. № 28. С. 16–23.

8. Юрчишин О. І., Руско Г. В., Куровець Л. М., Куцик Р. В. Здатність водно-етанольних екстрактів лікарських рослин відновлювати чутливість до еритроміцину шкірних ізолятів стафілококів з рибосомальним механізмом MLS-резистентності // Art of Medicine. 2017. № 2 (2). С. 45–53. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження).

9. Пат. 112298 Україна, МПК А61К 6/00, А61К 36/00, А61Р43/00. Спосіб лікування протезних стоматитів: Пат. 112298 Україна, МПК А61К 6/00, А61К 36/00. Т. Ю. Огієнко, С. А. Огієнко, Р. В. Куцик, Л. М. Куровець, О. І. Юрчишин. – № 201606242; Заявл. 08.06.2016; Опубл. 12.12.2016, Бюл. №23. 4с. (Здобувач частково провела експериментальні дослідження).

10. Юрчишин О. І., Куровець Л. М., Куцик Р. В. Синергізм протимікробної дії водно-етанольних екстрактів бруньок тополі чорної (*Populus nigra* L.) та берези бородавчастої (*Betula varrucosa* Ehrh.) і антибіотиків відносно клінічних штамів стафілококів // тези доп. XIII з'їзду товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (Ялта, 1-6 жовтня 2013 р.). Ялта. : Ін-т мікроб. вірус. ім. Д. К. Заболотного, 2013. с. 274 (Здобувач підготувала матеріали до публікації).

11. Юрчишин О. І., Руско Г. В. Дослідження протимікробної активності та синергізму протимікробної дії з еритроміцином рослинних екстрактів представників родини *Geraniaceae* Juss. відносно *S. epidermidis* з індукційним механізмом MLS-резистентності // Нові досягнення у галузі медичних та фармацевтичних наук : матеріали міжнар. науково-практ. конф., (м. Одеса, 20–21 листопада 2015 р.). Одеса : Південна Фундація Медицини, 2015. С. 99–101.

(Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження та підготувала матеріали до публікації).

12. Юрчишин О.І., Куцик Р.В., Юрків Х.Р. Вивчення протимікробних властивостей лікарських косметичних форм з екстрактами плодів калини та горобини відносно збудників акне і піодермій // Технол. та біофармацевт. аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали II міжнар. науково-практ. інтернет-конф., (м. Харків, 12–13 листопада 2015 р.). Харків : НФУ, 2015. С. 270–271. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження та опрацювала результати досліджень).

13. Юрчишин О.І., Куцик Р.В. Синергізм протимікробної дії спиртових екстрактів лікарських рослин і еритроміцину відносно шкірних ізолятів *Staphylococcus epidermidis* з різними механізмами MLS-резистентності // Акт. пит. боротьби з інфекційними захворюваннями, присв. 170-й річниці з дня нар. І. І. Мечникова : тези доп. наук.-практ конф. за участю міжнар. спеціалістів (м. Харків, 14–15 травня 2015 р.). Харків : Ін-т мікроб. вірус. ім. І. І. Мечникова, 2015. с. 83. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження та підготувала матеріали до публікації).

14. Куровець Л.М., Руско Г.В., Юрчишин О.І. Вивчення протимікробних і антибіотикопотенціюючих властивостей спиртових рослинних екстрактів відносно шкірних ізолятів стафілококів – збудників піодермій з різними механізмами MLS-резистентності // Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів : тези доп. Міжнар. наук.-практ. конференції (м. Вінниця 15–16 вересня 2016 р.). Вінниця : ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2016. С. 52–57. (Здобувач самостійно здійснила огляд літератури за проблемою публікації та провела експериментальні дослідження).

15. Юрчишин О.І. Дослідження протимікробної дії та синергічної взаємодії згущеного екстракту рути садової *Ruta graveolens* L. з еритроміцином відносно стафілококів з конститутивним та індукцибельним механізмами MLS-резистентності // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : тези доп. VI науково-практ. конф. з міжнар. участю (м. Тернопіль, 10–11 листопада 2016 р.). Тернопіль : ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського, 2016. С. 344–345. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження та підготувала матеріали до публікації).

16. Юрчишин О.І. Дослідження протимікробної активності та синергізму протимікробної дії з еритроміцином водно-етанольного екстракту плодів вільхи сірої *Alnus incana* (L.) Moench та препарату «Альтан» відносно стафілококів з конститутивним та індукцибельним механізмами MLS-резистентності // Матеріали XX міжнар. мед. конгресу студентів і молодих вчених, (м. Тернопіль, 25–26 квітня 2016 р.). Тернопіль : ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського, 2016. с. 367. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження та підготувала матеріали до публікації).

17. Юрчишин О.І. Вивчення протимікробних та антибіотикопотенціюючих властивостей водно-етанольних екстрактів плодів та хвої біоти східної *Biota orientalis* (L.) ENDL. відносно MLS-резистентних шкірних ізолятів стафілококів // Інновації в медицині : тези доп. 85-ої наук.-практ. конф. студентів та молодих

вчених із міжнар. участю (м. Івано-Франківськ, 24–25 березня 2016 р.). Івано-Франківськ : ІФНМУ, 2016. с. 264. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження).

18. Юрчишин О. І., Куцик Р. В. Дослідження синергічної взаємодії «Альтану» з еритроміцином відносно стафілококів з конститутивним та індукцибельним механізми MLS-резистентності // Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи : тези доп. VIII нац. з'їзду фармацевтів України (м. Харків, 13–16 вересня 2016 р.). Харків : НФУ, 2016. с. 134. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження та підготувала матеріали до публікації).

19. Юрчишин О. І., Руско Г. В., Куцик Р. В. Вивчення впливу БАР рослинного походження на адгезивні властивості MLS-резистентних стафілококів // тези доп. XV з'їзду товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (м. Одеса, 11–15 вересня 2017 р.). Одеса : ОНУ ім. І. І. Мечникова, 2017. С. 200. (Здобувач підготувала матеріали до публікації).

20. Юрчишин О. І., Руско Г. В. Дослідження протимікробної дії спиртових рослинних екстрактів відносно MLS-резистентних *S. aureus*, *S. epidermidis* та *P. acnes* // Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі : тези доп. міжнар. науково-практ. конф. (Одеса, 17-18 червня 2016р.). Одеса. : Південна Фундація Медицини, 2016. С. 104-106. (Здобувач самостійно здійснила огляд літератури за проблемою публікації).

21. Юрчишин О. І., Руско Г. В., Куцик Р. В. Herbal medicines as new perspective for a treatment of acne vulgaris // Microbiology and immunology – the development outlook in the 21st century : матеріали II міжнар. наукової конф. (Київ, 14-15 квітня 2016 р.). Київ. : ТМУ ім. С. М. Виноградського, 2016. С. 96–97. (Здобувач самостійно здійснила огляд літератури за проблемою публікації).

22. Юрчишин О. І., Руско Г. В. Вивчення протимікробної активності офіцинальних фітопрепаратів відносно MLS-резистентних шкірних ізолятів стафілококів // Фармакотерапія при інфекційних захворюваннях : матеріали науково.-практ. конф., (м. Київ, 6–7 квітня 2017 р.). Київ : НВМКЦ «ГВКГ», 2017. С. 121–122. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження).

23. Yurchyshyn O. I., Rusko G. V., Kutsyk R. V. Synergistic effect of *Altanum* with erythromycin against skin strains of staphylococci with constitutive and inducible mechanisms of MLS-resistance // Achievements and prospects in the fight against infectious diseases (microbiology, veterinary, pharmacy) : abst. of scientific conf. (Харків, 18–19 травня 2017 р.). Харків. : Ін-т мікроб. вірус. ім. І. І. Мечникова, 2017. С. 85-86. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження та підготувала матеріали до публікації).

24. Руско Г. В., Юрчишин О. І., Куровець Л. М., Чмут В. Г., Куцик Р. В. Чутливість *P. acnes* до антибіотиків та біологічно активних речовин лікарських рослин // Тези доповідей III (X) з'їзду Української асоціації лікарів дерматовенерологів і косметологів, (м. Львів, 22–23 листопада 2017 р.). Львів : УАЛДВК, 2017. с. 97. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження).

25. Юрчишин О. І., Руско Г. В., Куцик Р. В. Дослідження протимікробних та антибіотикопотенціюючих властивостей екстракту листків мучниці звичайної

Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spreng. відносно клінічних штамів стафілококів та пропіонібактерій // Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності : Матеріали науково-практ. конф. з міжнар. участю (Чернівці, 29 січня 2018 р.). Чернівці. : БДМУ, 2018. С. 141-143. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження та підготувала матеріали до публікації).

АНОТАЦІЯ

Юрчишин О.І. Вивчення протимікробної активності екстрактів лікарських рослин флори України відносно шкірних ізолятів мікроорганізмів з різними механізмами MLS-резистентності – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. – Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2018.

Дисертація присвячена пошуку нових ефективних протимікробних засобів для лікування піодермій, спричинених стафілококами з різними фенотипами MLS-резистентності та модифікаторів MLS-резистентності серед БАР рослинного походження.

Доведено високу протимікробну активність екстрактів надземної частини *Geranium pretense* L. і *Geranium palustre* L., соку плодів *Viburnum opulus* L., слані *Evernia furfuracea* (L.) Mann. відносно клінічних штамів MLS-резистентних стафілококів.

Вперше встановлено, що БАР екстрактів *Alnus incana* (L.) Moench., трави *Ruta graveolens* L. та кореневищ *Geranium pratense* L., а також препарат «Альтан» відновлюють чутливість до ЕРИ штамів з індукцйбельним фенотипом MLS-резистентності, крім того БАР екстракту *Alnus incana* L. Moench. здатні збільшувати тривалість ПАЕ ЕРИ та гальмувати процес наростання стійкості до макролідів стафілококів з низьким початковим рівнем резистентності.

Встановлено, що активні компоненти екстрактів бруньок *Betula verrucosa* L., трави *Ruta graveolens* L. та листків *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. підвищують чутливість до ЕРИ штамів стафілококів з ефлюксним механізмом MLS-резистентності.

Ключові слова: стафілококи, антибіотикорезистентність, рослинні екстракти, еритроміцин, протимікробна дія, антибіотикопотенціююча активність.

АННОТАЦИЯ

Юрчишин О.И. Изучение противомикробной активности экстрактов лекарственных растений флоры Украины относительно кожных изолятов микроорганизмов с различными механизмами MLS-резистентности – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.00.07 – микробиология. – Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2018.

Диссертация посвящена поиску новых эффективных противомикробных средств для лечения пиодермий, вызванных стафилококками с различными

механизмами MLS-резистентности и модификаторов MLS-резистентности среди биологически активных веществ растительного происхождения.

Доказана высокая противомикробная активность экстрактов надземной части *Geranium pratense* L. и *Geranium palustre* L., сока плодов *Viburnum opulus* L., а также слоевища *Evernia furfuracea* (L.) Mann. относительно клинических штаммов MLS-резистентных стафилококков.

Впервые установлено, что биологически активные вещества экстрактов плодов *Alnus incana* L., травы *Ruta graveolens* L. и корневищ герани лучной *Geranium pratense* L., а также препарат «Альтан», восстанавливают чувствительность к эритромицину у штаммов с индуцибельным фенотипом MLS-резистентности, кроме того биологически активные вещества экстракта *Alnus incana* (L.) Moench. способны увеличивать продолжительность постантибиотического эффекта эритромицина и тормозить процесс нарастания устойчивости к макролидам стафилококков с низким начальным уровнем резистентности.

Установлено, что активные компоненты экстрактов почек *Betula verrucosa* L., травы *Ruta graveolens* L. и листьев *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. повышают чувствительность к эритромицину у штаммов стафилококков с эффлюксным механизмом MLS-резистентности.

Ключевые слова: стафилококки, антибиотикорезистентность, растительные экстракты, эритромицин, противомикробное действие, антибиотикопотенцирующая активность.

SUMMARY

Yurchyshyn O.°I. Medicinal plants extracts of Ukrainian flora antimicrobial activity study against skin isolates of microorganisms with different mechanisms of MLS-resistance – Manuscript.

Dissertation for the scientific degree of the candidate of medical sciences, specialty 03.00.07 – microbiology. – Vinnytsya National Pirogov Memorial Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2018.

Dissertation is devoted to the search of new effective antimicrobial agents for the treatment of pyoderma caused by staphylococci with different phenotypes of MLS-resistance and MLS-modifiers among biologically active substances of plant origin.

Among identified MLS-resistant *S. aureus* skin isolates a constitutive phenotype (70.0 %) was predominant with high level of resistance to all antibiotics of this group. Among identified MLS-resistant coagulase negative staphylococci skin isolates inducible phenotype (64.0 %) was predominant with resistance to 14-membered macrolides and induction of resistance to 16-membered macrolides and lincosamides. Significantly smaller amounts of *S. aureus* (22.0 %) and coagulase negative staphylococci (25.0 %) strains showed low level of MLS-resistance with resistance to only 14-membered macrolides.

It has been revealed that all MLS-resistant staphylococci strains were sensitive to surface-active antiseptics chlorhexidine (minimal bactericidal concentration ≤ 6.25 $\mu\text{g/ml}$ against 100 % strains), horseten (minimal bactericidal concentration ≤ 6.25 $\mu\text{g/ml}$ against 81.8 % *S. aureus* strains and 64.2 % *S. epidermidis* strains) and dekasol (minimal bactericidal concentration 10-20 $\mu\text{g/ml}$ against 100 % strains).

High antimicrobial activity of *Geranium pratense* L. (minimal bacteriostatic concentration 53,1–79,6 µg/ml) and *Geranium palustre* L. (154,6–202,2 µg/ml) aerial parts, *Viburnum opulus* L. fruits (139,9–194,7), *Evernia furfuracea* (L.) Mann. thallus (15,6–123,7 µg/ml) extracts against staphylococci skin isolates with different mechanisms of MLS-resistance has been found.

For the first time it was established that biologically active substances of *Alnus incana* L. fruits, *Ruta graveolens* L. herb, *Geranium pratense* L. rhizomes extracts and *Altanum* restore sensitivity to erythromycin of staphylococci strains with inducible phenotype of MLS-resistance ($\Delta \lg \text{CFU/ml} < -2$, $p < 0.01$). Active compounds of *Betula verrucosa* L. buds, *Ruta graveolens* L. herb and *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. leaves extract increased sensitivity of staphylococci strains with efflux mechanism of MLS-resistance to erythromycin ($\Delta \lg \text{CFU/ml} = -5$, $p < 0.01$).

For the first time, it has been proved that *Alnus incana* L. fruits extract increases the duration of erythromycin postantibiotic effect (from 0.5 to 3.1 hours, $p < 0.05$) against *S. aureus* strain with inducible phenotype of MLS-resistance.

The obtained results have shown that under the influence of erythromycin selective pressure, *S. epidermidis* strain with low initial level of MLS-resistance, caused by erythromycin efflux from the bacterial cell, rapidly develops a high-level resistance (increase of erythromycin minimal bacteriostatic concentration from 32 to 1024 µg/ml, $F = 34.2804$; $F > F_{\text{critical max}} = 5.9874$, $p < 0.001$). biologically active substances of the *Alnus incana* L. fruit extract ($1/4$ minimal bacteriostatic concentration) after 30 passages on the medium with antibiotic (1 minimal bacteriostatic concentration) decreased the minimal bacteriostatic concentration of erythromycin in 32 times ($F = 9.7497$; $F > F_{\text{critical max}} = 5.9874$, $p < 0.05$).

This research has proved that *Alnus incana* L. fruits (decreased adhesive index to 64.3 % and 59.8 %), *Betula verrucosa* L. buds' extracts (decreased adhesive index to 57.4 % and 51.0 %) and *Altanum* (decreased adhesive index to 55.2 % and 51.0 %) in inhibitory and subinhibitory concentrations have the highest ability to decrease adhesive properties of *S. epidermidis* strain with an inductive phenotype of MLS-resistance. The *S. epidermidis* skin isolate with phenotype Neg was more resistant to biologically active substances of medicinal plants. All investigated extracts were characterized by a less degree of influence on its adhesive ability. The highest anti-adhesive properties against test strain showed *Biota orientalis* L. (51.4 % in both dilutions), *Alnus incana* L. fruits extract (51.0 %) and *Altanum* in dilution 1:5 (51.3 %), *Geranium pratense* L. rhizomes extract in dilution 1:50 (52.1 %).

Key words: staphylococci, antibiotic resistance, plant extracts, erythromycin, antimicrobial activity, antibiotic-potentiating activity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

БАР	– біологічно активна речовина
ЕРИ	– еритроміцин
ЗЗР	– зона затримки росту мікроорганізмів
ІАМ	– індекс адгезивності мікроорганізмів
КЛІ	– кліндаміцин
КНС	– коагулазо-негативні стафілококи
КТМ	– кларитроміцин
КУО	– колонієутворююча одиниця
ЛН	– лінкоміцин
МБсК	– мінімальна бактериостатична концентрація
МБцК	– мінімальна бактерицидна концентрація
МПА	– м'ясо пептонний агар
МПБ	– м'ясо пептонний бульйон
ПАЕ	– постантибіотичний ефект
РКМ	– рокситроміцин
СР	– спіраміцин
ФІКІ	– індекс фракційної інгібуючої концентрації
MLS	– macrolides, lincosamides, streptogramin B.

Підписано до друку 11.09.2018 р. Замовл. № 516.
Формат 60х90 1/16 Ум. друк. арк. 0,9 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова, Пирогова, 56.

