

ВИВЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ВІДНОСНО ШКІРНИХ ІЗОЛЯТІВ СТАФІЛОКОКІВ – ЗБУДНИКІВ ПІОДЕРМІЙ З РІЗНИМИ МЕХАНІЗМАМИ MLS-РЕЗИСТЕНТНОСТІ

О. І. Юрчишин

*Івано-Франківський національний медичний університет;
кафедра мікробіології, імунології, вірусології;
76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2;
тел. +380 977827556; e-mail: oyurchyshyn@gmail.com*

Методом дифузії в агар виконано скринінгове дослідження протимікробної активності 242 екстрактів на 90% водному етанолі різних органів 183 лікарських та пряно-ароматичних рослин відносно 2-х шкірних ізолятів стафілококів з індукцйбельним та конститутивним механізмами MLS-резистентності (макроліди, лінкозаміди та стрептограмін В). Високоактивними ($d_{33P} \geq 15$ мм) відносно штаму *S. epidermidis* з індукцйбельним фенотипом MLS-резистентності виявились екстракти: трави матки борової (Ортілія однобока) *Orthilia secunda* L. House (*Ramischia secunda* L. Garcke), надземної частини чорниці *Vaccinium myrtillus* L., кореневищ герані лугової *Geranium pratense* L., кори коричневого дерева *Cinnamomum aromaticum* Nees / *Cinnamomum cassia* Blume, перікарпу плодів граната звичайного *Punica granatum* L., кореневищ гірчака зміїного *Polygonum bistorta* L., надземної частини перстача повзучого *Potentilla repens* L., листків чаю китайського *Thea sinensis* L., плодів калини звичайної *Viburnum opulus* L. Екстракт листків бузини трав'янистої *Sambucus ebulus* L., плодів калини звичайної *Viburnum opulus* L. та надземної частини ранника вузлуватого *Scrophularia nodosa* L. виразно пригнітили шкірний ізолят *S. aureus* з конститутивним фенотипом MLS-резистентності. Високу протимікробну активність (МБцК < 200 мкг/мл, методом серійних розведень в агарі) відносно 25-ти штамів MLS-резистентних стафілококів проявили екстракти надземної частини герані лугової *Geranium pratense* L., герані болотної *Geranium palustre* L. та слані евернії злуценої *Evernia furfuracea* (L.) Mann.

Ключові слова: рослинні екстракти, протимікробна дія, стафілококи, піодермії.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень

Проблема створення нових ефективних засобів для лікування мікробних уражень шкіри на сьогоднішній день залишається актуальною з огляду на наростаючу резистентність їх збудників (стафілококів, стреп-

тококів, пропіонобактерій, кандид) до класичних протимікробних препаратів. Науковці різних країн все частіше звертають свою увагу на рослини метаболіти як перспективні протимікробні засоби [20]. Їх активність у багатьох випадках проявляється відносно антибіотикорезистентних штамів. Крім того, біологічно активні сполуки рослинного походження здатні пригнічувати біоплівкоутворення та процеси відчуття кворуму бактерій, відновлювати їх чутливість до антибіотиків (за рахунок блокування мембранних ефлюкських помп і нейтралізації метаболізуючих антибіотики ферментів, пригнічення експресії генів резистентності та елімінації плазмід), а також сповільнювати темп набуття антибіотикорезистентності [12, 13, 14, 15], володіють протизапальними та імуномодуючими властивостями [11, 21].

Інтенсивні дослідження протимікробної дії стосовно шкірних ізолятів бактерій проводяться для лікарських рослин і рослин народної медицини, що ростуть у Південній та Південно-Східній Азії. Екстракт надземної частини *Fagonia arabica* L. проявляє протимікробну дію та використовується в народній медицині Пакистану при лікуванні захворювань шкіри [7]. Водний екстракт листків *Excoecaria cochinchinensis* Lour. та *Salvia officinalis* L., етил-ацетатні та метанольні екстракти кореневищ *Alpinia galanga* (L.) Wild., листків *Phyllanthus emblica* L., і *Syzygium cumini* (L.) Skeels, етил-ацетатні екстракти зубців часнику *Allium sativum* L., *Eupatorium odoratum* L. та метанольний екстракт листків *Psidium guajava* L. (рослин флори Тайланду) володіють вираженою протимікробною активністю відносно *P. acnes*, *S. epidermidis* та *S. aureus*, зокрема MLS-резистентних штамів [9, 10]. Екстракти представників флори Південної Кореї *Mollugo penthaphylla* L., *Angelica anomala* Lallem., *Matteuccia orientalis* (Hook.) Trevis, *Orixa japonica* Thub. володіють протимікробною активністю відносно збудників акне *P. acnes* (МПК 15,6 мкг/мл) і *S. epidermidis* (125 мкг/мл). Протимікробну дію відносно *P. acnes* та *S. epidermidis* також проявляють ефірні олії *Citrus obovoides* (МПК 0,31 та 2,5 мкл/мл відповідно) та *Citrus natsudaoidai* (МПК 0,31 та 10,0 мкл/мл відповідно), їх активними компонентами є лімонен та γ -терпінен. [8]. Ефірна олія сандалового дерева *Santalum album* L. використовується в дерматології завдяки своїй протимікробній дії відносно *S. aureus*, *S. epidermidis*, протизапальним та заспокійливим властивостям [22]. Метил-саліцилат, виділений з ефірної олії *Laportea aestuans* (L.) Chew., проявляє інгібуючий потенціал відносно *S. aureus* (МПК 200 мкг/мл) [12]. Ефірна олія коричневого дерева *Cinnamomum zeylanicum* Blume повністю пригнічує ріст шкірного ізоляту *S. aureus* (d 33P 44 \pm 2,66 мм), для косметичного крему з її вмістом цей ефект спостерігається після 28 днів інкубації [17].

Актуальним є вивчення протимікробної активності екстрактів дикоростучих і культивованих лікарських рослин флори України відносно шкірних ізолятів мікроорганізмів, які володіють MLS-резистентністю

(резистентністю до макролідів і лінкозамідів, що часто застосовуються у дерматологічній практиці). Ці дослідження мають важливе прикладне значення; вони служитимуть обґрунтуванням вибору доступної сировини для створення нових ефективних протимікробних препаратів для дерматологічної практики, зокрема для лікування піодермій.

Мета дослідження – провести скринінгове дослідження протимікробної активності рослинних екстрактів на 90% етанолі та визначити їх ефективні протимікробні концентрації відносно шкірних ізолятів *S. epidermidis* та *S. aureus* з різними механізмами MLS-резистентності.

Матеріали та методи дослідження

Нами досліджено 242 екстракти різних органів (надземної частини, листя, суцвіть, плодів, коренів і кореневищ) 183 лікарських та пряно-ароматичних рослин флори України. Рослинну сировину заготовляли на територіях Івано-Франківської, Львівської та Одеської областей. Ідентифікацію рослин здійснювали за комплексом морфологічних властивостей (які оцінювали макро- і мікроскопічно) та із врахуванням екології зростання [4]. Висушену подрібнену сировину екстрагували 90% водним етанолом відповідно до вимог Державної Фармакопеї України при кімнатній температурі впродовж 2 тижнів (співвідношення сировина/екстрагент 1:10). Для остаточного одержання екстрактів відфільтровували нерозчинний залишок і чистим розчинником доводили об'єм до початкового рівня.

У якості тест-культур використано 25 шкірних ізолятів *S. epidermidis* та 25 штамів *S. aureus* з різними фенотипами MLS-резистентності. Штами шкірних стафілококів ідентифікували за комплексом культуральних та біохімічних властивостей з використанням тест-системи «STAPHYtest 16» (Lachema, Чехія). Рівень чутливості стафілококів до макролідів та антибіотиків інших груп визначали дискодифузійним методом на середовищі Мюллера–Хінтона та методом серійних розведень в бульйоні відповідно до рекомендацій NCCLS (Національний комітет клініко-лабораторних стандартів США, 2013). Ідентифікацію фенотипів MLS-резистентності у штамів здійснювали тридисковим методом [18].

Для проведення первинного мікробіологічного скринінгу використано 2 шкірні ізоляти стафілококів: *S. epidermidis* з фенотипом D (резистентний до еритроміцину з індукцією на кліндаміцин) (МБСК еритроміцину 2000 мкг/мл, МБцК – 4000 мкг/мл) та *S. aureus* з фенотипом Neg (резистентний до еритроміцину без індукції на кліндаміцин) (МБСК еритроміцину 125 мкг/мл, МБцК – 250 мкг/мл). Скринінг протимікробної дії рослинних екстрактів здійснювали за допомогою мікрометоду дифузії в агар [2].

Подальше мікробіологічне дослідження рослинних екстрактів, що проявили виражену протимікробну активність відносно досліджуваних штамів мікроорганізмів стосовно визначення МБСК та МБцК проведено

методом серійних розведень в агарі [3]. За допомогою спеціального штампа-реплікатора 50 тест-штамів стафілококів з різними детермінантами MLS-резистентності засівали в чашки Петрі з агаром, що містив різні концентрації рослинного екстракту та антисептика. Чашки засіяні культурами стафілококів, інкубували при температурі 37°C протягом 24 годин (для визначення МБСК) та 72 години при кімнатній температурі (для визначення МБцК). Ріст мікробних культур враховували макроскопічно та під лупою ($\times 10$) для виявлення мікроколоній. Найбільше розведення препарату, при якому спостерігалось уповільнення росту мікробних культур (поява колоній після 4 діб інкубації), приймалась за МБСК. Найбільше розведення препарату, при якому спостерігалась повна відсутність росту тест-штамів, приймалась за МБцК. Значення ефективних протимікробних концентрацій досліджуваних екстрактів для кожного штаму визначали із врахуванням сухого залишку, одержаного після випаровування 1,000 мл екстрактів при кімнатній температурі.

Для статистичної обробки результатів використовували комп'ютерні програми UTHSCSA ImageTool 2.0 (UTHSCSA ImageTool 2.0, The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995-1996) та Microsoft Office Excel 2011.

Результати роботи

Для скринінгу протимікробної активності нами вибрано 2 клінічні ізоляти стафілококів з принципово різними фенотипами і, відповідно, механізмами MLS-резистентності. Штам *S. aureus* з фенотипом Neg володіє низьким рівнем MLS-резистентності (МБСК еритроміцину 125 мкг/мл, МБцК – 250 мкг/мл), яка поширюється лише на 14 та 15-членні макроліди без індукції резистентності на інші антибіотики MLS-групи (зокрема, кліндаміцин). Згідно з даними літератури такий фенотип MLS-резистентності забезпечується активним ефлюксом макролідів з мікробних клітин, опосередкованим АТФ-залежною мембранною помпою ABC-типу [16]. Ізолят *S. epidermidis* з фенотипом D характеризується високим рівнем резистентності до всіх антибіотиків MLS-групи (зокрема, МБСК еритроміцину 2000 мкг/мл, МБцК – 4000 мкг/мл). У тридисковому тесті [18] даний штам демонструє феномен індукції резистентності з еритроміцину на кліндаміцин. Індуцибельний тип MLS-резистентності пов'язаний з посттранскрипційною модифікацією (метилюванням) рибосомальної 23S-рРНК у сайті її зв'язування з макролідами, що унеможлиблює їх блокуючий вплив на синтез білка [19].

Аналіз одержаних результатів показав, що штам *S. epidermidis* з індуцибельним фенотипом MLS-резистентності виявився більш чутливим до біологічно активних речовин рослинних екстрактів. Протимікробну активність ($d \geq 10$ мм) відносно даного штаму проявили 50 екстрактів (20,74% від усіх досліджених), тоді як шкірний ізолят *S. aureus* з конститутивним фенотипом MLS-резистентності виявився чутливим лише до 37 рослинних екстрактів (15,35%).

Протимікробну активність відносно тест-штамів стафілококів (d ЗЗР ≥ 10 мм) з конститутивним та індукцибельним механізмами MLS-резистентності проявили екстракти бруньок берези бородавчастої *Betula verrucosa* L. та тополі чорної *Populus nigra* L., кореневищ гірчака зміїного *Polygonum bistorta* L., родовика лікарського *Sanguisorba officinalis* L. та рудбекії роздільнолистої *Rudbeckia laciniata* L., плодів вільхи сірої *Alnus incana* L., плодів калини звичайної *Viburnum opulus* L., перікарпу плодів граната звичайного *Punica granatum* L., слані евернії злушеної *Evernia furfuracea* (L.) Mann., надземної частини буркуна білого *Melilotus albus* Medik, ялівцю козачого *Juniperus sabina* L., герані болотної *Geranium palustre* L., герані лугової *Geranium pratense* L., листків скумпії звичайної *Cotinus coggygria* Scop. (*Rhus cotinus* R.), софори японської *Sophora japonica* L. (*Styphnolobium japonicum* (L.) Shott.) та лавра благодного *Laurus nobilis* L.

Таблиця 1. Результати скринінгового дослідження протимікробної активності екстрактів лікарських рослин відносно шкірних ізолятів стафілококів з різними механізмами MLS-резистентності (діаметри зон затримки росту, мм)

Назви рослин	Частини рослин	<i>S. aureus</i> Neg-фенотип	<i>S. epidermidis</i> D-фенотип
1	2	3	6
Контроль (90% етанол)		6,32±0,03	7,00±0,01
Біота східна <i>Biota orientalis</i> L.	пл	7,85±0,65*	[8,77±1,21]*
Біота східна <i>Biota orientalis</i> (L.)	хв, пл	12,32±0,43**	7,78±0,38*
Береза бородавчаста <i>Betula verrucosa</i> L.	бр.	9,33±0,74*	12,31±0,51**
Береза бородавчаста <i>Betula verrucosa</i> L.	кор	-	7,82±0,47*
Бузина трав'яниста <i>Sambucus ebulus</i> L.	лис	16,39±1,32**	9,83±0,75*
Брусниця <i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	н/ч	-	12,58±0,25**
Буркун білий <i>Melilotus albus</i> Medik.	н/ч	[10,1±0,25]*	[14,19±2,25]**
Вільха сіра <i>Alnus incana</i> L.	пл	10,92±0,76*	10,10±0,61*
Гірчак зміїний <i>Polygonum bistorta</i> L.	кор.	10,67±0,57*	19,02±1,57**
Гранат звичайний <i>Punica granatum</i> L.	пер	10,9±0,17*	19,74±1,02**
Герань болотна <i>Geranium palustre</i> L.	н/ч	10,47±0,5*	10,73±0,43*
Герань лугова <i>Geranium pratense</i> L.	коренев	-	17,14±0,77**
Герань лугова <i>Geranium pratense</i> L.	н/ч	12,89±1,10*	[13,54±0,82]**
Дуб звичайний <i>Quercus robur</i> L.	кора	9,36±0,46*	9,96±0,31*
Евернія злушена <i>Evernia furfuracea</i> (L.) Mann.	слань	11,97±0,41**	11,36±0,93**
Калина звичайна <i>Viburnum opulus</i> L.	пл	16,9±0,36**	17,71±1,22**
Катальпа бігніонієвидна <i>Catalpa bignonioides</i> Walt.	пл	-	-
Катальпа бігніонієвидна <i>Catalpa bignonioides</i> Walt.	лис	8,97±0,31*	7,49±0,32*

Продовження таблиці 1

1	2	3	4
Куркума довга <i>Curcuma longa</i> L.	коренев	[9,06±0,34]*	[14,09±0,24]**
Коричне дерево <i>Cinnamomum cassia</i> (L.) J. Presl	кора	-	[15,76±1,29]**
Лавр благородний <i>Laurus nobilis</i> L.	лис	[11,85±0,38]* *	[13,13±0,79]**
Материнка звичайна (Орегано) <i>Origanum vulgare</i> L.	тр	10,29±0,5*	11,15±0,81*
Матка борова (Ортілія однобока) <i>Orthilia secunda</i> L. House (<i>Ramischia secunda</i> L. Garcke)	тр	9,50±0,48*	18,41±1,11**
Мучниця звичайна <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> (L.) Spreng.	лист	14,51±0,31**	12,66±1,09**
Пижмо звичайне <i>Tanacetum vulgare</i> L.	н/ч	11,56±0,35*	-
Парило звичайне <i>Agrimonia eupatoria</i> L.	кор	9,37±0,64*	-
Полин естрагонний <i>Artemisia dracunculus</i> L.	тр	10,67±0,49*	-
Перець червоний <i>Capsicum annuum</i> L.	пл	8,1±0,77*	8,12±0,87*
Перстач повзучий <i>Potentilla repens</i> L.	н/ч	8,68±0,53	15,7±0,67
Ранник вузлуватий <i>Scrophularia nodosa</i> L.		17,52±0,57**	9,88±0,57*
Родовик лікарський <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	коренев	10,6±0,53*	14,73±0,72**
Ромашка аптечна <i>Matricaria recutita</i> L.	кв	-	9,54±0,47*
Розмарин лікарський <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	лис	7,66±0,38*	10,4±2,3*
Рудбекія роздільнолиста <i>Rudbeckia laciniata</i> L.	коренев	10,73±0,89	10,73±0,89
Солодка гола <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	коренев	8,05±0,28*	11,34±0,94**
Сідач коноплевий <i>Eupatorium cannabinum</i> L.	н/ч	9,67±0,27*	-
Скумпія звичайна <i>Cotinus coggygria</i> Scop. (<i>Rhus cotinus</i> R.)	лис	12,96±1,15*	12,06±0,67**
Смовдь руська <i>Peucedanum ruthenicum</i> Bieb.	лис	-	-
Тополя чорна <i>Populus nigra</i> L.	бр	11,47±0,41**	9,98±0,24*
Тамарикс галузистий <i>Tamarix ramosissima</i> Ledeb.	лис	9,05±0,25*	9,05±0,25*
Хміль звичайний <i>Humulus lupulus</i> L.	пл	-	-
Цибуля городня <i>Allium cepa</i> L.	шк	-	8,22±0,51*
Цмин піщаний <i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench.	пл	-	-
Чай китайський <i>Thea sinensis</i> L.	лис	12,05±0,47	23,55±0,95
Чемериця біла <i>Veratrum album</i> L.	кор	8,02±0,5*	-
Черета трироздільна <i>Bidens tripartita</i> L.	тр	-	-
Чебрець звичайний <i>Thymus serpyllum</i> L.	тр	[9,6±0,2]*	[14,86±0,81]**

Продовження таблиці 1

1	2	3	4
Чорниця <i>Vaccinium myrtillus L.</i>	н/ч	-	18,68±0,75**
Ялівець звичайний <i>Juniperus communis L.</i>	пл	10,91±1,13*	-
Ялівець козачий <i>Juniperus sabina L.</i>	н/ч	12,64±1,05*	[11,91±0,87]**

Примітки: 1. Скорочено позначені частини рослин: н/ч – надземна частина, стеб – стебла, суцв – суцвіття, кор – корені, коренев – кореневища, пл – плоди, лис – листки, тр – трава, хв. – хвоя, пер – перікарп плодів; 2. «-» – діаметри ЗЗР < 7,00 мм, що відповідає ЗЗР навколо 90% етанолу (контроль); 3. У квадратних дужках наведено діаметри зон часткового пригнічення росту мікроорганізмів (бактеріостатична дія); 4. В таблиці наведено середні значення 3 незалежних дослідів; 5. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ при порівнянні з контролем

Високоактивними ($d \text{ ЗЗР} \geq 15 \text{ мм}$) відносно штаму *S. epidermidis* з індукцибельним фенотипом MLS-резистентності виявились екстракти трави матки борової (Ортілія однобока) *Orthilia secunda L. House (Ramoschia secunda L. Garcke)*, надземної частини чорниці *Vaccinium myrtillus L.*, кореневищ герані лугової *Geranium pratense L.*, кори коричневого дерева *Cinnamomum aromaticum Nees / Cinnamomum cassia Blume*, перікарпу плодів граната звичайного *Punica granatum L.*, кореневищ гірчака зміїного *Polygonum bistorta L.*, надземної частини перстача повзучого *Potentilla repens L.*, листків чаю китайського *Thea sinensis L.* та плодів калини звичайної *Viburnum opulus L.*

Екстракт листків бузини трав'янистої *Sambucus ebulus L.*, плодів калини звичайної *Viburnum opulus L.* та надземної частини ранника вузлуватого, *Scrophularia nodosa L.* виразно пригнітили шкірний ізолят *S. aureus* з конститутивним фенотипом MLS-резистентності.

З метою узагальнення одержаних результатів у процесі первинного скринінгу, нами оцінено таксономічну приналежність рослин, екстракти яких проявили протимікробну дію і еритроміцинпотенціюючу активність відносно обох тест-штамів для орієнтовного з'ясування хімічної природи діючих компонентів та механізму їх дії. Більшість представників родини кипарисових (Cupressaceae), сумахових (Anacardiaceae), березових (Betulaceae), вересових (Ericaceae) та геранієвих (Geraniaceae) проявили пряму протимікробну дію відносно обох тест-штамів. Усі представники даних родин мають хімічну спорідненість за рядом компонентів: флавоноїди (кварцетин, ліналоол), фенольні сполуки (арбутин, метиларбутин, ефірні олії (пінен, терпінеол, діпентен), органічні кислоти (елагова, галова, аскорбінова та нікотинова), сапоніни, дубильні речовини.

Для скринінгового дослідження нами використано неочищені сумарні екстракти лікарських рослин на 90% етанолі, тому очікуваною є їх значно вища протимікробна активність відносно MLS-резистентних стафілококів при оптимізації процесу екстрагування і наступного очищення.

Рослинні екстракти, що проявили протистафілококову активність та синергічну взаємодію з еритроміцином [5] відносно двох MLS-резистентних штамів стафілококів при проведенні первинного мікробіологічного скринінгу, протестовані методами серійних розведень в агарі та бульйоні для встановлення їх ефективних протимікробних концентрацій. Розведення екстрактів, які були використані на другому етапі дослідження і проявили бактерицидну активність відносно 90% тест-штамів стафілококів, наведено в таблиці 2. Особливу увагу слід звернути на екстракт надземної частини герані лугової *Geranium pratense L.*, який забезпечував бактерицидний ефект відносно чутливих до макролідів стафілококів у розведенні 1:320, а відносно MLS-резистентних штамів (незалежно від фенотипу резистентності) – у розведенні 1:640. Бактеріостатичний ефект цього екстракту проявлявся у розведеннях 640-1280. Більш активними відносно усіх різновидів MLS-резистентних стафілококів, порівняно з MLS-чутливими, виявилися також екстракти бруньок берези бородавчастої *Betula verrucosa L.* та тополі чорної *Populus nigra L.*

Більш точно про рівень активності екстрагованих з рослинної сировини комплексів біологічно активних речовин (БАР) можна студити, приймаючи до уваги масу сухого залишку, одержаного після випаровування 1,000 мл екстрактів при кімнатній температурі. Середні геометричні значення МБцК та МБсК рослинних екстрактів, вибраних в процесі первинного скринінгу, відносно 25 шкірних ізолятів *S. aureus* та CNS з різними фенотипами MLS-резистентності наведено в табл. 3. Для порівняння протимікробної активності досліджуваних екстрактів у табл. 2 і 3 внесено значення МБцК та МБсК для штамів чутливих до антибіотиків MLS-групи (фенотип S).

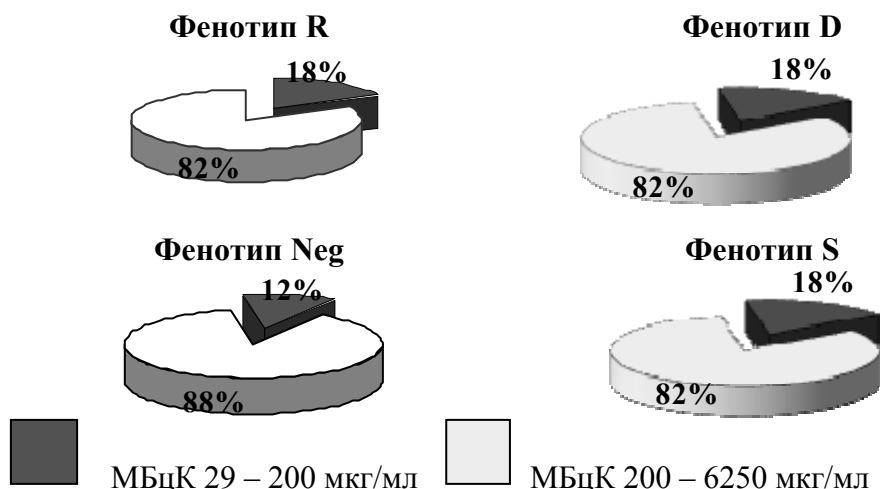


Рис. 1. Протимікробна активність екстрактів лікарських рослин на 90% етанолі відносно стафілококів з різними фенотипами MLS-резистентності

Зауважимо, що чіткої залежності між чутливістю досліджуваних штамів до БАР рослинних екстрактів та фенотипом MLS-резистентності стафілококів не спостерігалось. Вони виявилися однаково активними відносно штамів стафілококів чутливих до антибіотиків MLS групи та резистентних (рис. 1).

Таблиця 2. Протимікробні концентрації (МБцК₉₀) екстрактів лікарських рослин на 90% водному етанолі відносно шкірних ізолятів стафілококів з різними фенотипами MLS-резистентності

№ п/п	Назви рослин	Частина рослин	Розведення екстрактів			
			S	Neg	D	R
1.	Береза бородавчаста <i>Betula verrucosa L.</i>	бруньки	1:10	1:40	1:80	1:20
2.	Біота східна <i>Biota orientalis L.</i>	плоди	1:20	1:10	1:10	1:20
3.	Брусниця <i>Vaccinium vitis-idaea L.</i>	надземна частина	1:10	1:10	1:10	1:10
4.	Вільха сіра <i>Alnus incana L.</i>	плоди	1:40	1:80	1:40	1:40
5.	Герань болотна <i>Geranium palustre L.</i>	надземна частина	1:20	1:10	1:10	1:10
6.	Герань лугова <i>Geranium pratense L.</i>	кореневища	1:80	1:80	1:20	1:10
7.	Герань лугова <i>Geranium pratense L.</i>	надземна частина	1:320	1:640	1:640	1:640
8.	Гірчак зміїний <i>Polygonum bistorta L.</i>	кореневища	1:10	1:10	1:10	1:10
9.	Евернія злуцена <i>Evernia furfuracea (L.) Mann.</i>	слань	1:40	1:20	1:20	1:160
10.	Мучниця звичайна <i>Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spreng</i>	листки	1:40	1:20	1:20	1:20
11.	Родовик лікарський <i>Sanguisorba officinalis L.</i>	кореневища	1:20	1:10	1:20	1:20
12.	Рудбекія роздільнолиста <i>Rudbeckia laciniata L.</i>	кореневища	1:20	1:20	1:20	1:40
13.	Скумпія звичайна <i>Cotinus coggygria Scop. (Rhus cotinus R.)</i>	листки	1:320	1:160	1:80	1:40
14.	Смовдь руська <i>Peucedanum ruthenicum Bieb.</i>	листки	1:10	1:10	1:10	1:10
15.	Тополя чорна <i>Populus nigra L.</i>	бруньки	1:20	1:40	1:40	1:40
16.	Тамарикс галузистий <i>Tamarix ramosissima Ledeb.</i>	листки	1:10	1:10	1:10	1:10
17.	Ялівець козачий <i>Juniperus sabina L.</i>	надземна частина	1:10	1:20	1:20	1:20

Таблиця 2. Середні геометричні значення ефективно діючих компонентів лікарських рослин на 90% водно-му етанолу відносно лікарських рослин з'являється та коагуласо-негативних стафілококів з різними фенотипами MLS-резистентності

№ п/п	Назва рослини	Фенотипи MLS-резистентності																	
		Частина рослини				S				Meg				D				R	
		MBC	MIC	MBC/MIC	MBC	MBC/MIC	MIC	MBC/MIC	MBC	MBC/MIC	MIC	MBC/MIC	MBC	MBC/MIC	MIC	MBC/MIC	MBC	MBC/MIC	
1.	Береза бородавчаста <i>Betula verrucosa</i> L.	6240,25	1834,11	3,40	2972,98	1486,49	2,00	1070,34	739,35	1,44	3576,76	1553,27	2,30						
2.	Біюча сльозка <i>Biota orientalis</i> L.	565,68	400	1,41	400	216,01	1,85	565,68	282,84	2,00	356,35	178,17	2,05						
3.	Брусниця <i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	853,5	426,75	2,00	850,0	425,0	2,00	1050,6	525,3	2,00	1345,7	672,85	2,00						
4.	Вільха стра <i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	565,85	282,92	2,00	257,95	162,5	1,58	351,01	113,45	3,09	344,32	173,83	0,19						
5.	Герань болотна <i>Geranium palustre</i> L.	450	225	2,00	225	112,5	2,00	112,5	56,25	2,00	56,25	28,125	2,00						
6.	Герань лугова <i>Geranium pratense</i> L.	492,6	214,81	2,29	515,9	237,95	2,00	702,03	278,6	2,51	1545,96	1417,66	1,09						
7.	Герань лугова <i>Geranium pratense</i> L.	49,48	24,72	2,00	43,08	23,07	1,86	37,5	21,52	1,74	29,76	14,46	2,00						
8.	Гречка змішаний <i>Polygonum bistorta</i> L.	3031,43	1515,71	2,00	3174,8	1587,4	2,00	2939,46	1851,74	1,58	3668,01	1834	2,00						
9.	Евгерія змішана <i>Euphorbia palustris</i> (L.) Mam.	113,67	75,0	1,52	139,95	69,97	2,00	197,92	98,96	2,00	29,76	14,88	2,00						
10.	Мучниця звичайна <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> (L.) Spreng	497,96	248,98	2,00	1150	575	2,00	886,77	443,38	2,00	813,17	406,58	2,00						
11.	Родовик лікарський <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	1897,36	948,68	2,00	1632,94	952,44	1,71	1308,6	713,52	1,83	1200	600	2,00						
12.	Рудбекия розшир-нолиста <i>Rudbeckia laciniata</i> L.	725,7	362,8	2,00	478,8	239,4	2,00	362,8	181,4	2,00	346,5	173,2	2,00						
13.	Скучилия звичайна <i>Cotinus coggygria</i> Scop. (<i>Rhus cotinus</i> R.)	56,25	28,125	2,00	450	225	2,00	450	225	2,00	450	225	2,00						
14.	Слюзівка <i>Ruscus aculeatus</i> L.	900	450	2,00	900	486,02	1,85	981,45	490,72	2,00	900	505,1	1,78						
15.	Тополь чорна <i>Populus nigra</i> L.	1229,29	1163,30	1,05	1559,85	939,836	1,65	1341,78	1282,80	1,04	1679,98	1395,65	1,20						
16.	Тамарикс галузистий <i>Tamarix gallicana</i> Ledeb.	2082,06	1041,03	2,00	2141,86	1249,27	1,71	2021,65	1144,01	1,76	2141,86	1202,08	1,78						
17.	Ялівцеві козачий <i>Juniperus sabina</i> L.	757,85	378,92	2,00	615,57	307,78	2,00	757,85	378,92	2,00	500	250	2,00						

Високу протимікробну активність (МБцК < 200 мкг/мл) відносно усіх штамів MLS-резистентних стафілококів проявили екстракти надземної частини герані лугової *Geranium pratense L.*, герані болотної *Geranium palustre L.* та слані евернії злушеної *Evernia furfuracea (L.) Mann.* Порівнюючи одержані результати з даними літературних джерел та проведеного раніше дослідження щодо протимікробної активності деяких антисептиків [6], слід відмітити, що вище згадані екстракти володіють значно більшими протимікробними властивостями від повідону йодиду (МБцК 6,25 мкг/мл), мірамістину (МБцК 1,25 мкг/мл), який виявився неактивним відносно MLS-резистентних штамів стафілококів, хлорофіліпту, тимолу (МБцК 250,0 мкг/мл), етакридину лактату (МБцК 200,0 мкг/мл), пероксиду водню (МБцК 187,5 мкг/мл), цитралю (МБцК 125 мкг/мл), етонію (МБцК 62,5 мкг/мл) [1, 6]. Разом з тим вони поступаються за бактерицидними властивостями хлоргексидину, горостену (МБцК \leq 6,25 мкг/мл) та декасану (МБцК 20 мкг/мл). Деякі вищі значення МБцК показали екстракти плодів вільхи сірої *Alnus incana L.*, біоти східної *Biota orientalis L.* кореневищ рудбекії роздільнолистої *Rudbeckia laciniata L.* та листя скумпії звичайної *Cotinus coggygria Scop. (Rhus cotinus R.)*. Протимікробна активність екстракту плодів вільхи проявлялася у розведеннях, у двічі більших, ніж екстракту бруньок берези. Різниця в протимікробній активності між цими екстрактами стає ще більш істотною, коли прийняти до уваги вміст у них нелетких екстрагованих речовин. Найнижчою протимікробною активністю володіють екстракти бруньок берези бородавчастої *Betula verrucosa L.*, тополі чорної *Populus nigra L.*, кореневищ гірчака зміїного *Polygonum bistorta L.* та надземної частини брусниці *Vaccinium vitis-idaea L.*

Цікаво, що більшість екстрактів, які володіють здатністю потенціювати протимікробну дію еритроміцину [5], а саме екстракт бруньок берези бородавчастої *Betula verrucosa L.*, кореневищ герані лугової *Geranium pratense L.* та родовика лікарського *Sanguisorba officinalis L.*, листя тамариксу галузистого *Tamarix ramosissima Ledeb. Tamarix ramosissima Ledeb.* та мучниці звичайної *Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spreng* показали низьку пряму протимікробну активність (МБцК 702,03-3576,76 мкг/мл) відносно MLS-резистентних штамів стафілококів.

Протимікробна активність більшості екстрактів лікарських рослин відносно шкірних ізолятів *S. aureus* проявлялася при вищих концентраціях в порівнянні з штамами CNS (рис. 2).

Таким чином, лікарські рослини, які широко розповсюджені у флорі України і мають достатню сировинну базу, можуть бути перспективною сировиною для створення нових препаратів з протимікробними властивостями відносно шкірних ізолятів стафілококів – збудників піодермій. Визначення спектру і ступеня протимікробної дії біологічно активних речовин рослинного походження щодо основних збудників ін-

фекційних захворювань шкіри, є дуже важливим для розробки на їх основі ефективних лікарських засобів протимікробного спрямування.

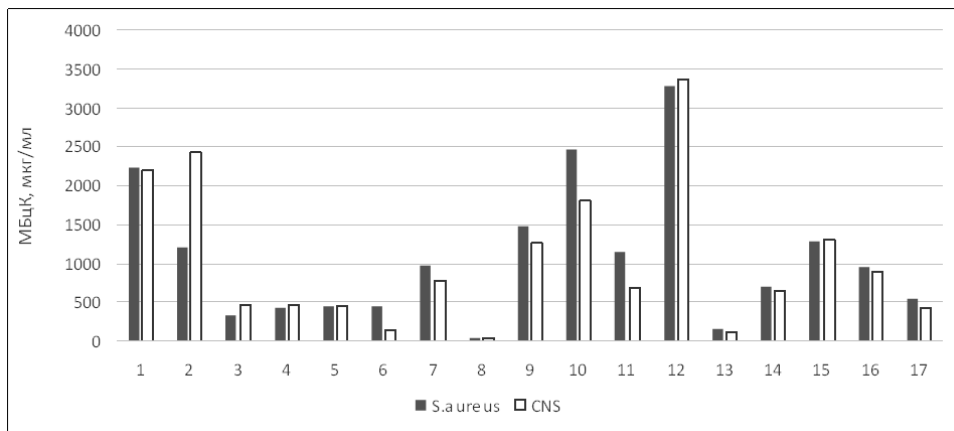


Рис. 2. Рівні протимікробної активності рослинних екстрактів відносно шкірних ізолятів *S. aureus* та CNS з різними фенотипами MLS-резистентності.

Висновки

1. На основі скринінгу 242 екстрактів лікарських рослин флори України встановлено відносно шкірних ізолятів стафілококів з різними механізмами MLS-резистентності високу протимікробну активність БАР у надземної частини герані лугової *Geranium pratense L.* і герані болотної *Geranium palustre L.*, а також слані евернії злущеної *Evernia furfuracea (L.) Mann.*

2. Дані екстракти можуть бути використані для створення нових протимікробних препаратів для лікування піодермій спричинених MLS-резистентними штамами стафілококів.

Література

1. Кашпур Н.В. Протимікробна активність і біологічна дія субстанцій рослинного походження рослин родів *Galium L.* та *Artemisia L.*: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.07 / Наталія Валеріївна Кашпур. – Х., 2012. – 179 с.
2. Куцик Р.В. Скринінгове дослідження протимікробної активності лікарських рослин Прикарпаття відносно поліантибіотикорезистентних клінічних штамів стафілококів / Р.В. Куцик // Галицький лікарський вісник. – 2004. – № 4. – С. 44-48.
3. Красильников А.П. Справочник по антисептике / А.П. Красильников. – Москва: Высшая школа, 1995. – 367 с.
4. Определитель высших растений Украины / Д.Н. Доброчаева, М.И. Котов, Ю.Н.Прокудин и др. – К.: Наукова думка, 1987. – 471 с.

5. Юрчишин О.І. Дослідження впливу синергічних комбінацій еритроміцину і екстрактів лікарських рослин флори Прикарпаття на динаміку росту культури *Staphylococcus aureus* з індуцибельним фенотипом резистентності до макролідів / О.І. Юрчишин, Р.В. Куцик // Актуальні проблеми сучасної медицини: «Вісник Української медичної стоматологічної академії». – 2017. – Т. 17, № 4(60). – С. 110-118.
6. Юрчишин О.І. Вивчення протимікробної дії антисептиків відносно стафілококів – збудників піодермій з різними механізмами MLS-резистентності / О.І. Юрчишин // Буковинський медичний вісник. 2016. – Т. 20, № 3 (79). – С. 197-201.
7. Anti-*Helicobacter pylori* and urease inhibition activities of some traditional medicinal plants [Електронний ресурс] / M. Amin, F. Anvar, F. Naz et al. [Electronic re-source] // *Molecules*. – 2013. – № 18. – P. 2135-2149. – Режим доступу: Access to the journal: <http://www.mdpi.com/journal/molecules>. DOI: 10.3390/molecules1822135.
8. Antimicrobial and anti-inflammatory effects of Jeju medicinal plants against acne-inducing bacteria / S. Kim, J. Kim, N.H. Lee et al. // *J. Gen. Appl. Microbiol.* – 2008. – Vol. 54. – P. 101-106.
9. Antimicrobial activity of Thai herbal extracts on acne involved microorganisms / P. Niuomkam, S. Kaewbumrung, S. Kaewpparat et al. // *Pharmaceutical Biology*. – 2010. – Vol. 48, № 4. – P. 375-380.
10. Antimicrobial activity of herbal extracts on *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes* / P. Leelapornpisid, S. Chansakao, T. Ittiwittayawat et al. // *Acta Hort.* – 2005. – Vol. 5. – P. 97-104.
11. Antimicrobial and antioxidant activities of *Cortex Magnoliae Officinalis* and some other medicinal plants commonly used in South-East Asia / L.W. Chan, E. Cheah, C. Saw et al. // *Chinese Medicine*. – 2008. – Vol. 3, № 15. – P. 1-10.
12. Antimicrobial activity of selected phytochemicals against *E. coli* and *S. aureus* and their biofilms [Electronic resource] / J. Monte, A.C. Abreu, A. Borges [et al.] // *Pathogens*. – 2014. – № 3. – P. 473-498. – Access to the journal: <http://www.mdpi.com/journal/pathogens>. DOI: 10.3390/pathogens3020473.
13. Antistaphylococcal and biofilm inhibitory activities of acetyl-11- keto- β -boswellic acid from *Boswellia serrata* / F.L. Alsaba, A. Furqan, A.K. Inshad et al. // *BMC. Microbiology*. – 2011. – Vol. 54, № 11. – P. 1-9.
14. Bioguided fractionation shows *Cassia alata* extract to inhibit *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* growth and biofilm formation / S.T. Saito, D.S. Trentin, A.J. Macedo et al. // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. – 2012. – Vol. 1. – P. 1-13.
15. Combating against methicillin-resistant *S. aureus* – two fatty acids from Purslane (*Portulaca oleracea* L.) exhibit synergic effects with erythromycin / B.C.L. Chan, X.Q. Han, S.L. Lui et al. // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2014. – Vol. 10. – P. 1-10.

16. Clinical strains of *S. aureus* inactivates and causes efflux of macrolides / L. Wondrack, M. Massa, B.V. Yang et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1996. – Vol. 40, № 4. – P. 992-998.
17. Essential oils and Herbal extracts as antimicrobial agents in cosmetic emulsion [Internet resource] / A. Herman, A.P. Herman, B.W. Domagalska et al. // *Indian J Microbiol.* – 2013. – Vol. 53, № 2. – P. 232-237. – Access to the journal: <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0329-0>.
18. Phenotypes and genotypes of erythromycin-resistant *S. pyogenes* strains in Italy and heterogeneity of inducible resistant strains / E. Giovanetti, M.P. Montanari, M. Mingoia et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1999. – Vol. 43, № 8. – P. 1935-1940.
19. Prevalence of macrolide-resistance genes in *S. aureus* and *E. faecium* isolates from 24 European university hospitals / F.J. Schmitz, R. Sadurski, A. Kray et al. // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2000. – Vol. 45, № 6. – P. 891-894.
20. Reuter J., Merfort I., Shempp C. // *Am. J. Clin. Dermatol.* – 2010. – Vol. 11, № 4. – P. 247-267.
21. Sienciewicz M., Denus P., Kowalczyk E. Antibacterial and immunostimulatory effect of essential oils. // *Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 17, №1. – P. 40-44.
22. Single-center, open-label study of a proprietary topical 0,5% salicylic acid-based treatment regimen containing Sandalwood oil in adolescents and adults with mild to moderate acne / R.L. Moy, C. Levenson, J.J. So [et al.] // *Journal of Drugs in Dermatology.* – 2012. – Vol. 11, № 12. – P. 1403-1408.

Стаття надійшла до редакційної колегії 22.10.2017 р.

*Рекомендовано до друку д.м.н., професором Матейком Г.Б.,
д.м.н., професором Кончею В.С. (м. Тернопіль)*

MEDICINAL PLANTS EXTRACTS ANTIMICROBIAL ACTIVITY STUDY AGAINST STAFILOCOCCI SKIN ISOLATES WITH DIFFERENT TYPES OF MLS-RESISTANCE

O. I. Yurchyshyn

*Ivano-Frankivsk National Medical University;
76000, Ivano-Frankivsk, Halytska str., 2
ph. +380 977827556; e.mail: oyurchyshyn@gmail.com*

242 ethanolic extracts of 183 medicinal and spice-aromatic plants antimicrobial activity study was performed against 2 skin strains of staphylococci with inducible and constitutive mechanisms of MLS-resistance (macrolides, lincosamides and streptogram B) by agar diffusion method.

Orthilia secunda L. House (Ramischia secunda L.Garcke) herb, Vaccinium myrtillus L. and Potentilla repens L. aerial part, Geranium

*pratense L. and Polygonum bistorta L. rhizomes, Cinnamomum aromaticum Nees / Cinnamomun cassia Blume bark, Punica granatum L. fruit pericarp, Thea sinensis L. leaves, Viburnum opulus L. fruits extracts showed remarkable antimicrobial activity (d inhibition zone ≥ 15 mm) against *S. epidermidis* with inducible mechanisms of MLS-resistance. Extract of *Sambucus ebulus L. leaves, Viburnum opulus L. fruits and Scrophularia nodosa L. aerial part* were active against *S. aureus* strain with constitutive MLS-resistance phenotype. High antimicrobial activity (MBC < 200 $\mu\text{g/ml}$ by agar serial dilution method) against 25 skin isolates of staphylococci showed extracts of *Geranium pratense L., Geranium palustre L. aerial part and Evernia furfuracea (L.) Mann. thallus.**

Key words: *plant extracts, antimicrobial activity, staphylococci, piodermia.*