В. С. МИРГОРОД (<https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>),

Н. І. ФІЛІМОНОВА (<https://orcid.org/0000-0001-7447-6579>), д-р мед. наук, проф.,

О. Г. БАШУРА (<https://orcid.org/0000-0003-1896-9904>), д-р фарм. наук, проф.,

С. Г. БОБРО (<https://orcid.org/0000-0001-7933-107X>), канд. фарм. наук, доцент

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ДЕРМАТОЛОГІЧНОГО ФІТОГЕЛЮ НА ЗДАТНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО БІОПЛІВКОУТВОРЕННЯ

Ключові слова: біоплівки, екстракт листя горіха сухий, екстракт кропиви сухий, екстракт чабрецю сухий, гель

V. S. MYRHOROD (<https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>),

N. I. FILIMONOVA (<https://orcid.org/0000-0001-7447-6579>),

O. G. BASHURA (<https://orcid.org/0000-0003-1896-9904>),

S. G. BOBRO (<https://orcid.org/0000-0001-7933-107X>)

National University of Pharmacy, Kharkiv

STUDY OF THE EFFECT OF DERMATOLOGICAL PHYTOGEL ON THE ABILITY OF MICROORGANISMS TO FORM A BIOFILM

Key words: biofilms, dry Walnut leaf extract, dry nettle extract, dry thyme extract, gel

Мікробіом шкіри людини відіграє важливу роль як для здоров'я, так і для захворювання. Як інтерфейс із навколишнім середовищем, шкіра є складною екосистемою, колонізованою багатьма мікроорганізмами, які співіснують у встановленому балансі. Шкірний мікробіом пригнічує колонізацію патогенів і є вирішальним компонентом для функції епідермального бар'єру. Мікробна біоплівка – мікробне патогенне угруповання, що характеризується клітинами, прикріпленими до поверхні або одна до одної, замкненими в матрикс синтезованих ними позаклітинних полімерних речовин. Плівка включає зазвичай 15–20% бактеріальної маси, що міцно прикріпилася до тієї чи іншої поверхні, і 80–85% захисного матриксу, який знижує ступінь впливу антибіотиків і антисептиків на мікрокультури в десятки, сотні і навіть тисячі разів [1, 2].

Бактерії пристосовуються до життя на поверхнях шляхом індукції ряду метаболічних змін, включаючи вироблення позаклітинної речовини для утримання бактеріальних спільнот та регуляцію певних генів. У цьому стані вони утворюють мережі, які забезпечують багатоклітинні функції, що в цілому призводить до диференціації та існування, що називається біоплівкою. Бактеріальні біоплівки надають вигідні механізми виживання членам спільноти, які зумовлюють вірулентність, патогенез захворювань або стійкість збудників до антибіотиків [3, 4]. Науковці впродовж десятиліть висвітлювали складні молекулярні механізми, важливі для шкірних захворювань асоціації *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. acnes*, *Malassezia* spp. та інші як основних патогенних збудників шкірних захворювань [1]. Класичні мікробіологічні та дерматологічні дослідження вказують на асоціацію *P. acnes* та *Acne vulgaris*, *S. aureus* за atopічного дерматиту (АД). Окрім того, мікроби асоційовані зі шкірою, вивчали з огляду на їх здатність до утворення біоплівки [1, 5]. Відповідно, у хворих на АД зменшення різноманітності мікробіомів корелює з тяжкістю захворювання та посиленням колонізації патогенними бактеріями, такими як *S. aureus* [6, 7, 8].

В окремому дослідженні біоплівки *S. aureus* візуалізували на роговому шарі хворих на АД за допомогою скануючого електронного мікроскопа [9, 10]. Ці результати вказують на біоплішкову спрямованість фактора зовнішнього середовища *S. aureus* у виникненні та прогресуванні АД. Група дерматологів стверджують, що АД починається зі закупорки екринних проток слизом, що, безсумнівно, може бути позаклітинними полісахаридами, які, як відомо, існують у мікробних біоплівках. Наявність

штамів *S. aureus*, що продукують біоплівку, на шкірі та в протоках може виявитися визначальним фактором тяжкості захворювання, так як нещодавно встановлено вплив біоплівки на секрецію цитокінів кератиноцитів, які спричинюють диференціацію та апоптоз кератиноцитів [5, 7, 11]. Недавні дослідження показують важливу роль біоплівки в патогенезі численних дерматологічних захворювань, включаючи АД. Хронічне вироблення запальних цитокінів у шкірі людей з АД збігається з надмірною колонізацією *S. aureus* і формуванням біоплівки за рахунок інших мікробних агентів, порушуючи склад здорового шкірного мікробіому. Тісний взаємозв'язок між мікробною біоплівкою, що колонізує поверхню шкіри, і негативними наслідками для здоров'я людини робить мікробіом шкіри об'єктом терапевтичного впливу у разі дерматологічних патогенних процесів [12, 13].

Таким чином, дослідження із вивчення впливу фітогелю на здатність мікроорганізмів до біоплівкоутворення, який перебуває на етапі наукового обґрунтування складу, є актуальним. На кафедрі косметології і ароматології Національного фармацевтичного університету виконується наукова робота із розроблення складу гелю із фітокомплексом для лікування дерматологічних захворювань. На підставі даних джерел літератури як діючі речовини обрано сухі екстракти лікарських рослин, а саме листя горіху волоського (*Juglans regia* L.), кропиви дводомної (*Urtica dioica* L.) та трави чабрецю (*Thymus vulgaris* L.) [14, 15, 16]. У роботі використовували стандартизовані сухі екстракти виробництва ТОВ «Науково-виробнича компанія «Віларус» (Україна): горіха листя екстракт сухий – вміст суми танінів у перерахунку на галову кислоту та суху речовину 2,89%; кропиви екстракт сухий – вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та суху речовину – 2,04%; чабрецю екстракт сухий – вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин та суху речовину 3,23%. Поєднання різних біологічно активних речовин у одній лікарській формі сприятиме комплексному впливу на патологічні процеси при запальних захворюваннях шкіри. Флавоноїди та гідроксикоричні кислоти мають широкий терапевтичний потенціал як потужні протизапальні, антиоксидантні та антибактеріальні засоби у лікуванні дерматологічних захворювань. Таніни пригнічують ріст бактерій, використовуючи різні механізми дії, включаючи хелатування заліза, пригнічення синтезу клітинної стінки, порушення клітинної мембрани [17, 18, 19].

Метою цієї роботи є вивчення впливу дерматологічного фітогелю на здатність мікроорганізмів до біоплівкоутворення.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктами досліджень із вивчення впливу на здатність мікроорганізмів до біоплівкоутворення були зразки гелю, склад яких відрізнявся вмістом сухого екстракту та відповідно групою біологічно активних речовин, а також їх кількісним вмістом. Склад досліджуваних зразків наведено у табл. 1. Гель готували на основі карбомеру Carbopol™ Polymers Ultrez 10 NF.

Т а б л и ц я 1

Склад досліджуваних зразків фітогелю

Компоненти фітокомплексу	Склад, мг/100 г гелю					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
	однокомпонентний гель			комбінований гель		
Горіха листя екстракту сухого з сумою танінів у перерахунку на галову кислоту та суху речовину	30	–	–	30	60	90
Кропиви екстракту сухого з сумою гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та суху речовину	–	20	–	20	40	60
Чабрецю екстракту сухого з сумою флавоноїдів у перерахунку на рутин та суху речовину	–	–	35	35	70	105

Під час проведення експериментальних досліджень керувалися загальноприйнятими методичними рекомендаціями з мікробіологічних досліджень [20, 21]. Для вивчення здатності штамів до утворення біоплівок чисті культури референс-штамів *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *C. albicans* засівали на живильний агар та інкубували в термостаті 24 год при 37 °C (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) і 25 °C (*C. albicans*). Змив з агарової культури здійснювали додаванням 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду і доводили до стандарту мутності з урахуванням кількості 10^9 м. т./см³.

Біоплівки формували в пластикових чашках діаметром 90 мм, на дно яких було вміщено стерильне покривне скло. 18-годинну культуру штамів, розведену 1:100, вносили по 9 мл таким чином, щоб суспензія рівномірно розподілялася на дні чашки. Для визначення контрольних показників у кілька чашок вносили стерильне живильне середовище. Чашки вміщували в термостат при 37 °C на 24 год. На наступний день вміст чашок обережно відбирали, щоб не зруйнувати сформовану біоплівку, вносили по 9 мл дистильованої води і по 0,9 мл 1%-го спиртового розчину генціанвіолета, залишали за кімнатної температури на 45 хв. Після цього розчин обережно відбирали, тричі промивали чашки дистильованою водою і підсушували покривне скло. В отриманій рідині вимірювали оптичну щільність на спектрофотометрі (КФК-3-«ЗОМЗ», Росія) за довжини хвилі 545 нм.

Здатність препаратів попереджати утворення і руйнувати біоплівки вивчали в пластикових чашках Петрі діаметром 90 мм, на дно яких було вміщено стерильне покривне скло. 18-годинну культуру кожного з тест-штамів, розведену 1:10, вносили по 9 мл таким чином, щоб суспензія рівномірно розподілялася на дні чашки.

Для визначення дії мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) тест-зразків фітогелю на біоплівки (здатність попереджати утворення) препарат вносили в лунки на 1-шу добу в концентрації 10 мг/мл й титрували. Інкубацію чашок виконували при 37 °C та 25 °C упродовж 24 год. Для визначення контрольних показників у кілька чашок вносили стерильне живильне середовище. Чашки вміщували в термостат при 25 °C та 37 °C на 24 год. На наступний день утримання чашок обережно відбирали, щоб не зруйнувати біоплівку, що сформувалася, вносили по 9 мл дистильованої води та по 0,9 мл 1%-го спиртового розчину генціанвіолету, залишали за кімнатної температури на 45 хв і вимірювали оптичну щільність на спектрофотометрі за довжини хвилі 545 нм.

Для визначення дії МІК препаратів на біоплівки (руйнування) препарат вносили в лунки на 2-гу добу в концентрації 10 мг/мл й титрували. Інкубацію чашок виконували при 37 °C упродовж 24 год. Для визначення контрольних показників у кілька чашок вносили стерильне живильне середовище. Чашки вміщували в термостат при 37 °C на 24 год. На наступний день утримання чашок обережно відбирали, щоб не зруйнувати сформовану біоплівку, вносили по 9 мл дистильованої води і по 0,9 мл 1%-го спиртового розчину генціанвіолета, залишали за кімнатної температури на 45 хв і вимірювали оптичну щільність на спектрофотометрі за довжини хвилі 545 нм.

Цифрові дані обробляли за допомогою коефіцієнта Стюдента–Фішера.

Результати дослідження та обговорення

Встановлено, що розвиток багатьох хронічних інфекцій, у т. ч. захворювань шкіри, зумовлений бактеріями, що ростуть у вигляді біоплівок. Під час вивчення біоплатів ран встановлено, що біоплівки присутні у 60% зразків із хронічних ран та лише у 6% зразків із гострих ран. Проблема подолання здатності до біоплівкоутворення бактеріями, що призводять до гнійно-запальних захворювань, становить одну з актуальних задач сучасної антимікробної терапії. Серед перспективних способів вирішення цієї проблеми є пошук антимікробних препаратів, що здатні як знижувати/блокувати

вірулентність бактерій, так й бути здатними попереджати формування біоплівки чи забезпечувати їх руйнування. Саме з цією метою було досліджено зразки дерматологічного фітогелю.

Результати досліджень вивчення впливу дерматологічного фітогелю на здатність мікроорганізмів до біоплівкоутворення наведені у табл. 2, 3, 4 та 5.

У процентному співвідношенні, при внесенні тест-зразків фітогелю в концентрації 10,0 мг/мл уповільнення формування біоплівки було достовірним ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Здатність до інгібування формування біоплівки показали всі тест-зразки. Рівень антибіоплівкоутворюючої активності досліджуваних зразків коливався в межах від 20,7 до 13,7% відповідно до референс-культур мікроорганізмів. Найбільшу антибіоплівкоутворюючу активність було зареєстровано у комбінованого гелю з фітокомплексом № 4 і становила відповідно до *S. aureus* – 19,7%, *E. coli* – 20,1%, *P. aeruginosa* – 20,6% та *C. albicans* – 20,7%. Зразки фітогелю № 8 та № 9 також спричинювали уповільнення формування біоплівки, але в менших достовірних значеннях, що становили відповідно до *S. aureus* – 17,5% та 16,9% відповідно, *E. coli* – 16,4% та 17,3%, *P. aeruginosa* – 16,6% та 15,0% та *C. albicans* – 15,7% та 15,9%.

Під час вивчення впливу фітогелю на руйнування біоплівки (2-га доба) було встановлено, що внесення тест-зразків у чашки Петрі зі сформованими біоплівками супроводжувалося зміною коефіцієнта пропускання світла, що вказувало на руйнування біоплівки.

Т а б л и ц я 2

Коефіцієнт пропускання живильного середовища за впливу тест-зразків фітогелю на бактеріальні біоплівки *S. aureus* (од. оц., $M \pm m$)

Контроль	Тест-зразки фітогелю, мг/мл					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Через 1 добу						
74,1 ± 0,29	86,6 ± 0,07***	86,5 ± 0,07***	86,7 ± 0,56***	92,3 ± 0,07***	89,8 ± 0,07***	89,2 ± 0,09***
Через 2 доби						
49,0 ± 0,28	55,6 ± 0,05***	55,4 ± 0,06***	51,0 ± 0,03**	68,2 ± 0,75***	63,0 ± 0,16***	58,8 ± 0,39***

П р и м і т к а: $n = 6$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з контролем.

Т а б л и ц я 3

Коефіцієнт пропускання живильного середовища за впливу тест-зразків фітогелю на бактеріальні біоплівки *E. coli* (од. оц., $M \pm m$)

Контроль	Тест-зразки фітогелю, мг/мл					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Через 1 добу						
74,1 ± 0,13	87,3 ± 0,06***	86,8 ± 0,08***	86,9 ± 0,65***	93,4 ± 0,07***	88,6 ± 0,07***	89,6 ± 0,09***
Через 2 доби						
49,0 ± 0,25	54,8 ± 0,04***	55,4 ± 0,07***	51,3 ± 0,05**	68,2 ± 0,75***	63,1 ± 0,16***	58,8 ± 0,39***

П р и м і т к а: $n = 6$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з контролем.

Т а б л и ц я 4

Коефіцієнт пропускання живильного середовища за впливу тест-зразків фітогелю на бактеріальні біоплівки *P. aeruginosa* (од. оц., $M \pm m$)

Контроль	Тест-зразки фітогелю, мг/мл					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Через 1 добу						
74,1 ± 0,29	86,2 ± 0,04***	86,6 ± 0,09***	86,9 ± 0,06***	93,3 ± 0,07***	88,8 ± 0,08***	87,2 ± 0,07***
Через 2 доби						
49,0 ± 0,28	54,6 ± 0,06***	57,2 ± 0,07***	53,0 ± 0,04**	68,7 ± 0,75***	67,0 ± 0,19***	57,2 ± 0,42***

П р и м і т к а: $n = 6$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з контролем.

**Коефіцієнт пропускання живильного середовища за впливу тест-зразків
фітогелю на бактеріальні біоплівки *C. albicans* (од. оц., $M \pm m$)**

Контроль	Тест-зразки фітогелю, мг/мл					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
<i>Через 1 добу</i>						
74,1 ± 0,29	93,5 ± 0,08***	87,9 ± 0,09***	88,1 ± 0,05***	87,1 ± 0,06***	85,9 ± 0,09***	87,3 ± 0,54***
<i>Через 2 доби</i>						
49,0 ± 0,28	67,9 ± 0,65***	63,0 ± 0,16***	58,7 ± 0,41***	55,4 ± 0,06***	54,4 ± 0,06***	51,2 ± 0,03**

П р и м і т к а: $n = 6$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з контролем.

Таким чином, додавання фітогелю до культур *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *C. albicans* достовірно ($p < 0,001$) впливає на уповільнення формування біоплівок у досліджених концентраціях. Найвираженішу здатність до руйнування біоплівок культур тест-штамів, задіяних в експерименті, виявлено у зразка фітогелю № 4 і вона становила відповідно до *S. aureus* 28,2%, *E. coli* 28,2%, *P. aeruginosa* 28,7% та *C. albicans* 27,8% достовірно ($p < 0,001$).

В и с н о в к и

1. Дослідження здатності окремих рослинних компонентів зразків фітогелю № 1, № 2, № 3 та зразків комбінованого фітогелю № 4, № 5 та № 6 впливати на біоплівкоутворення показало, що найвираженіші властивості щодо уповільнення формування біоплівок зареєстровано у зразка гелю із фітокомплексом № 4 і становило 19,7–20,7% відповідно до *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *C. albicans*. Ефективність попереджати утворення біоплівок тест-культур зразками гелю із фітокомплексом № 5 та № 6 була в 1,22 та 1,24 раза нижчою порівняно зі зразком № 4.

2. Активність зразка гелю із фітокомплексом № 4 була в 1,3–1,4 раза вищою за активність однокомпонентних зразків гелю № 1, № 2 та № 3.

3. Під час визначення здатності досліджуваних тест-зразків до руйнування біоплівок встановлено, що зразок гелю із фітокомплексом № 4 виявив найбільшу активність, яка перевищувала зазначені властивості зразків № 5 та № 6 у середньому в 1,2 та 1,8 раза. Однокомпонентні зразки гелю № 1, № 2 та № 3 поступалися рівнем активності до руйнування біоплівок *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *C. albicans*.

4. Виконані дослідження доводять доцільність подальшого вивчення комбінованого гелю з фітокомплексом № 4 зі вмістом горіха листя екстракту сухого з сумою танінів у перерахунку на галову кислоту та суху речовину 30 мг/100 г гелю, кропиви екстракту сухого з сумою гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та суху речовину 20 мг/100 г гелю, чабрецю екстракту сухого з сумою флавоноїдів у перерахунку на рутин та суху речовину 35 мг/100 г гелю.

Список використаної літератури

1. Brandwein M., Steinberg D., Meshner S. Microbial biofilms and the human skin microbiome // NPJ biofilms and microbiomes. – 2016. – N 3. – P. 1–6. <https://doi.org/10.1038/s41522-016-0004-z>
2. Мансурова Г. Ш., Мальцев С. В. «Що таке біоплівка?» // MedicalNature. – 2013. – № 1. – С. 86–89.
3. Di Domenico E. G., Cavallo I., Capitanio B. et al. Staphylococcus aureus and the Cutaneous Microbiota Biofilms in the Pathogenesis of Atopic Dermatitis // Microorganisms. – 2019. – N 7 (9). – P. 301–322. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090301>
4. Вринчану Н. О., Бухтіярова Т. А. Проблема резистентності мікроорганізмів – виклик людству // Фармац. журн. – 2021. – Т. 76, № 1. – С. 57–71. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.21.07>
5. Belizário J. E., Napolitano M. Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches // Frontiers in microbiol. – 2015. – N 6. – P. 1050–1066. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01050>
6. Paller A. S., Kong H. H., Seed P. et al. The microbiome in patients with atopic dermatitis. // J. Allergy Clin. Immunol. – 2019. – N 143 (1). – P. 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.11.015>
7. Allen H. B., Vaze N. D., Choi C. et al. The presence and impact of biofilm-producing staphylococci in atopic dermatitis // JAMA Dermatol. – 2014. – N 150 (3). – P. 260–265. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2013.8627>

8. Akiyama H., Hamada T., Huh W. K. et al. Confocal laser scanning microscopic observation of glycocalyx production by *Staphylococcus aureus* in skin lesions of bullous impetigo, atopic dermatitis and pemphigus foliaceus // *The British J. Dermatol.* – 2003. – N 148 (3). – P. 526–532. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2003.05162.x>
9. Katsuyama M., Ichikawa H., Ogawa S., Ikezawa Z. A novel method to control the balance of skin microflora. Part 1. Attack on biofilm of *Staphylococcus aureus* without antibiotics // *J. Dermatol. Sci.* – 2005. – N 38. – P. 197–205.
10. Гостєв В. В., Сидоренко С. В. Бактеріальні біоплівки і інфекції // *Журн. інфектології.* – 2010. – Т. 2, № 3. – С. 4–15.
11. Gonzalez T., Biagini Myers J. M., Herr A. B. et al. Staphylococcal Biofilms in Atopic Dermatitis // *Current allergy and asthma reports.* – 2017. – N 17 (12). – P. 81–92. <https://doi.org/10.1007/s11882-017-0750-x>
12. Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy / Ed. J. L. Pace et al. – Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. – 495 p.
13. Donlan R. M., Costerton J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2002. – V. 15, N 2. – P. 167–193.
14. Pereira J. A., Oliveira I., Sousa A. et al. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. // *Food Chem. Toxicol.* – 2007. – N 45 (11). – P. 2287–2295. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.06.004>.
15. Dhouibi R., Affes H., Ben Salem M. et al. Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica* and others benefits // *Biophys. Mol. Biol.* – 2020. – N 150. – P. 67–77. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2019.05.008>
16. Taghouti M., Martins-Gomes C., Félix L. M. et al. Polyphenol composition and biological activity of *Thymus citriodorus* and *Thymus vulgaris*: Comparison with endemic Iberian *Thymus* species // *Food Chem.* – 2020. – N 30 (331). – P. 127362. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127362>
17. Farha A. K., Yang Q.-Q., Kim G. et al. Tannins as an alternative to antibiotics // *Food Biosci.* – 2020. – N 38. – P. 100751. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>
18. Contardi M., Lenzuni M., Fiorentini F. et al. Hydroxycinnamic Acids and Derivatives Formulations for Skin Damages and Disorders: A Review // *Pharmaceutics.* – 2021. – N 13 (7). – P. 999. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070999>
19. Dias M. C., Pinto D. C. G. A., Silva A. M. S. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity // *Molecules.* – 2021. – N 26. – P. 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
20. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів. Метод. реком. МОЗ України / Ю. Л. Волянська, І. С. Грищенко, В. П. Широбоков та ін.; ДФЦ МОЗ України. – К., 2004. – 38 с.
21. Доклінічні дослідження лікарських засобів (метод. рекомендації) / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Вид. дім «Авіцена», 2001. – 527 с.

References

1. Brandwein M., Steinberg D., Meshner S. Microbial biofilms and the human skin microbiome // *NPJ biofilms and microbiomes.* – 2016. – N 3. – P. 1–6. <https://doi.org/10.1038/s41522-016-0004-z>
2. Mansurova H. Sh., Maltsev S. V. «Shcho take bioplivka?» // *MedicalNature.* – 2013. – № 1. – С. 86–89.
3. Di Domenico E. G., Cavallo I., Capitanio B. et al. *Staphylococcus aureus* and the Cutaneous Microbiota Biofilms in the Pathogenesis of Atopic Dermatitis // *Microorganisms.* – 2019. – N 7 (9). – P. 301–322. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090301>
4. Vrychanu N. O., Bukhtiarova T. A. Problema rezystentnosti mikroorhanizmiv – vyklyk liudstvu // *Farmats. zhurn.* – 2021. – Т. 76, № 1. – С. 57–71. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.21.07>
5. Belizário J. E., Napolitano M. Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches // *Frontiers in microbiol.* – 2015. – N 6. – P. 1050–1066. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01050>
6. Paller A. S., Kong H. H., Seed P. et al. The microbiome in patients with atopic dermatitis. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2019. – N 143 (1). – P. 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.11.015>
7. Allen H. B., Vaze N. D., Choi C. et al. The presence and impact of biofilm-producing staphylococci in atopic dermatitis // *JAMA Dermatol.* – 2014. – N 150 (3). – P. 260–265. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2013.8627>
8. Akiyama H., Hamada T., Huh W. K. et al. Confocal laser scanning microscopic observation of glycocalyx production by *Staphylococcus aureus* in skin lesions of bullous impetigo, atopic dermatitis and pemphigus foliaceus // *The British J. Dermatol.* – 2003. – N 148 (3). – P. 526–532. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2003.05162.x>
9. Katsuyama M., Ichikawa H., Ogawa S., Ikezawa Z. A novel method to control the balance of skin microflora. Part 1. Attack on biofilm of *Staphylococcus aureus* without antibiotics // *J. Dermatol. Sci.* – 2005. – N 38. – P. 197–205.
10. Hostiev V. V., Sydorenko S. V. Bakterialni bioplivky i infektsii // *Zhurn. infektolohii.* – 2010. – Т. 2, № 3. – С. 4–15.
11. Gonzalez T., Biagini Myers J. M., Herr A. B. et al. Staphylococcal Biofilms in Atopic Dermatitis // *Current allergy and asthma reports.* – 2017. – N 17 (12). – P. 81–92. <https://doi.org/10.1007/s11882-017-0750-x>
12. Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy / Ed. J. L. Pace et al. – Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. – 495 p.

13. Donlan R. M., Costerton J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms // Clin. Microbiol. Rev. – 2002. – V. 15, N 2. – P. 167–193.
14. Pereira J. A., Oliveira I., Sousa A. et al. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. // Food Chem. Toxicol. – 2007. – N 45 (11). – P. 2287–2295. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.06.004>.
15. Dhouibi R., Affes H., Ben Salem M. et al. Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica* and others benefits // Biophys. Mol. Biol. – 2020. – N 150. – P. 67–77. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2019.05.008>
16. Taghouti M., Martins-Gomes C., Félix L. M. et al. Polyphenol composition and biological activity of *Thymus citriodorus* and *Thymus vulgaris*: Comparison with endemic Iberian *Thymus* species // Food Chem. – 2020. – N 30 (331). – P. 127362. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127362>
17. Farha A. K., Yang Q.-Q., Kim G. et al. Tannins as an alternative to antibiotics // Food Biosci. – 2020. – N 38. – P. 100751. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>
18. Contardi M., Lenzuni M., Fiorentini F. et al. Hydroxycinnamic Acids and Derivatives Formulations for Skin Damages and Disorders: A Review // Pharmaceutics. – 2021. – N 13 (7). – P. 999. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070999>
19. Dias M. C., Pinto D. C. G. A., Silva A. M. S. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity // Molecules. – 2021. – N 26. – P. 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
20. Vyvchennia spetsifichnoi aktivnosti protimikrobnikh likarskikh zasobiv. Metod. rekom. MOZ Ukrainy / Yu. L. Volianska, I. S. Hrytsenko, V. P. Shyrobokov ta in.; DFTs MOZ Ukrainy. – K., 2004. – 38 s.
21. Doklinichni doslidzhennia likarskikh zasobiv (metod. rekomendatsii) / Za red. O. V. Stefanova. – K.: Vyd. dim «Avitsena», 2001. – 527 s.

Надійшла до редакції 1 вересня 2021 р.
Прийнято до друку 20 вересня 2021 р.

В. С. Миргород (<https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>),
Н. І. Філімонова (<https://orcid.org/0000-0001-7447-6579>),
О. Г. Башура (<https://orcid.org/0000-0003-1896-9904>),
С. Г. Бобро (<https://orcid.org/0000-0001-7933-107X>)

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ДЕРМАТОЛОГІЧНОГО ФІТОГЕЛЮ НА ЗДАТНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО БІОПЛІВКОУТВОРЕННЯ

Ключові слова: біоплівки, екстракт листя горіха сухий, екстракт кропиви сухий, екстракт чабрецю сухий, гель

А Н О Т А Ц І Я

Розвиток багатьох хронічних інфекцій, зокрема захворювань шкіри, спричинено бактеріями, що ростуть у вигляді біоплівок. Бактеріальні біоплівки надають вигідні механізми виживання, які зумовлюють вірулентність, патогенез захворювань або стійкість збудників до антибіотиків. Велика кількість досліджень вказує на важливу роль біоплівки в патогенезі дерматологічних захворювань, включаючи atopічний дерматит. Тісний взаємозв'язок між мікробною біоплівкою, що колонізує поверхню шкіри, і негативними наслідками для здоров'я людини робить мікробіом шкіри об'єктом терапевтичного впливу у разі дерматологічних патогенних процесів.

Метою роботи є вивчення впливу дерматологічного фітогелю на здатність мікроорганізмів до біоплівкоутворення.

Об'єктами досліджень були зразки гелю зі вмістом горіха листя екстракту сухого з сумою танінів у перерахунку на галову кислоту та суху речовину 30 мг/100 г гелю, кропиви екстракту сухого з сумою гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та суху речовину 20 мг/100 г гелю, чабрецю екстракту сухого з сумою флавоноїдів у перерахунку на рутин та суху речовину 35 мг/100 г гелю як монокомпонентні, так і комбіновані.

Дослідження здатності окремих рослинних компонентів зразків фітогелю № 1, № 2, № 3 та зразків комбінованого фітогелю № 4, № 5 та № 6 впливати на біоплівкоутворення показало, що найвираженіші властивості щодо уповільнення формування біоплівок зареєстровано у зразка гелю із фітокомплексом № 4, які становили 19,7–20,7% відповідно до *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *C. albicans*. Активність зразка гелю із фітокомплексом № 4 була в 1,3–1,4 раза вищою за активність однокомпонентних зразків гелю № 1, № 2 та № 3. Під час визначення здатності досліджуваних тест-зразків до руйнування біоплівок встановлено, що зразок гелю із фітокомплексом № 4 виявив найбільшу активність, яка перевищувала зазначені властивості зразків № 5 та № 6 в середньому в 1,2 та 1,8 раза. Однокомпонентні зразки гелю № 1, № 2 та № 3 поступалися рівнем активності до руйнування біоплівок *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *C. albicans*.

Виконані дослідження доводять доцільність подальшого вивчення комбінованого гелю з фітокомплексом № 4 зі вмістом горіха листя екстракту сухого з сумою танінів у перерахунку на галову кислоту та суху речовину 30 мг/100 г гелю, кропиви екстракту сухого з сумою гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та суху речовину 20 мг/100 г гелю, чабрецю екстракту сухого з сумою флавоноїдів у перерахунку на рутин та суху речовину 35 мг/100 г гелю.

В. С. Миргород (<https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>),
Н. И. Филимонова (<https://orcid.org/0000-0001-7447-6579>),
А. Г. Башура (<https://orcid.org/0000-0003-1896-9904>),
С. Г. Бобро (<https://orcid.org/0000-0001-7933-107X>)

Національний фармацевтичний університет, г. Харків

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДЕРМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФИТОГЕЛЯ НА СПОСОБНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ К БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЮ

Ключевые слова: биопленки, экстракт листьев ореха сухой, экстракт крапивы сухой, экстракт чабреца сухой, гель

А Н О Т А Ц И Я

Развитие многих хронических инфекций, в т. ч. заболеваний кожи, вызваны бактериями, растущими в виде биопленок. Бактериальные биопленки предоставляют выгодные механизмы выживания, которые обуславливают вирулентность, патогенез заболеваний или устойчивость возбудителей к антибиотикам. Большое количество исследований указывает на важную роль биопленки в патогенезе дерматологических заболеваний, включая атопический дерматит. Тесная взаимосвязь между микробной биопленкой, которая колонизирует поверхность кожи, и негативными последствиями для здоровья человека делает микробиом кожи объектом терапевтического воздействия при дерматологических патогенных процессах.

Целью работы является изучение влияния дерматологического фитогеля на способность микроорганизмов к биопленкообразованию.

Объектами исследований были образцы геля с содержанием ореха листьев экстракта сухого с суммой танинов в пересчете на галловую кислоту и сухое вещество 30 мг/100 г геля, крапивы экстракта сухого с суммой гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту и сухое вещество 20 мг/100 г геля, чабреца экстракта сухого с суммой флавоноидов в пересчете на рутин и сухое вещество 35 мг/100 г геля как монокомпонентные, так и комбинированные.

Исследование способности отдельных растительных компонентов образцов фитогеля № 1, № 2, № 3 и образцов комбинированного фитогеля № 4, № 5 и № 6 влиять на биопленкообразование показало, что наиболее выраженные свойства относительно замедления формирования биопленок зарегистрированы в образце геля с фитокомплексом № 4, что составило 19,7–20,7% по отношению к *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и *C. albicans*. Активность образца геля с фитокомплексом № 4 была в 1,3–1,4 раза выше активности однокомпонентных образцов геля № 1, № 2 и № 3. При определении способности исследуемых тест-образцов к разрушению биопленок установлено, что образец геля с фитокомплексом № 4 обнаружил наибольшую активность, которая превышала указанные свойства образцов № 5 и № 6 в среднем в 1,2 и 1,8 раза. Однокомпонентные образцы геля № 1, № 2 и № 3 уступали по уровню активности к разрушению биопленок *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и *C. albicans*.

Проведенные исследования доказывают целесообразность дальнейшего изучения комбинированного образца геля с фитокомплексом № 4 с содержанием ореха листьев экстракта сухого с суммой танинов в пересчете на галловую кислоту и сухое вещество 30 мг/100 г геля, крапивы экстракта сухого с суммой гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту и сухое вещество 20 мг/100 г геля, чабреца экстракта сухого с суммой флавоноидов в пересчете на рутин и сухое вещество 35 мг/100 г геля.

V. S. Myrhorod (<https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>),
N. I. Filimonova (<https://orcid.org/0000-0001-7447-6579>),
O. G. Bashura (<https://orcid.org/0000-0003-1896-9904>),
S. G. Bobro (<https://orcid.org/0000-0001-7933-107X>)

National University of Pharmacy, Kharkiv

STUDY OF THE EFFECT OF DERMATOLOGICAL PHYTOGEL ON THE ABILITY OF MICROORGANISMS TO FORM A BIOFILM

Key words: biofilms, dry Walnut leaf extract, dry nettle extract, dry thyme extract, gel

А Б С Т Р А К Т

The development of many chronic infections, including skin diseases, is caused by bacteria growing in the form of biofilms. Bacterial biofilms provide beneficial survival mechanisms that determine virulence, disease pathogenesis, or resistance of the pathogen to antibiotics. As shown by a large number of studies, biofilms play an important role in the pathogenesis of dermatological diseases, including atopic dermatitis. The close relationship between the microbial biofilm that colonizes the skin surface and the negative consequences for human health makes the skin microbiome an object of therapeutic intervention in dermatological pathogenic processes.

The work aims to study the effect of dermatological phytogel on the ability of microorganisms to form biofilms.

The objects of research were samples of gel containing dry walnut leaf extract with the sum of tannins in terms of gallic acid and dry matter 30 mg/100 g of gel, dry nettle extract with the sum of hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid, and dry matter 20 mg/100 g of gel, dry thyme extract with the sum of flavonoids in terms of rutin and dry matter 35 mg/100 g of gel both monocomponent and combined.

The study of the ability of individual plant components of phytogel samples N 1, N 2, N 3 and samples of combined phytogel N 4, N 5, and N 6 to influence biofilm formation have shown that the most pronounced deceleration of biofilms formation was registered in the gel sample with phytocomplex N 4 and was 19.7–20.7% to *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* respectively. The activity of the gel sample with phytocomplex N 4 was 1.3–1.4 times higher than that of monocomponent gel samples N 1, N 2, and N 3. When determining the ability of the test samples to destroy biofilms, it has been found that the gel sample with phytocomplex N 4 showed the greatest activity, which exceeded the specified properties of samples N 5 and N 6 by an average of 1.2 and 1.8 times. The activity of single-component gel samples N 1, N 2, and N 3 was lower in *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* biofilm destruction.

The conducted studies prove the feasibility of further study of the combined gel with the phyto complex № 4 containing dry walnut leaf extract with the sum of tannins in terms of gallic acid and dry matter 30 mg/100 g of gel, dry nettle extract with the sum of hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid, and dry matter 20 mg/100 g of gel, dry thyme extract with the sum of flavonoids in terms of rutin and dry matter 35 mg/100 g of gel.

Електронна адреса для листування з авторами: sveta_bobro2@ukr.net

(Бобро С. Г.)