

**ВПЛИВ ЕКСТРАКТІВ З *PHYSOCARPUS OPULIFOLIUS* (L.) MAXIM.  
І *STACHYS PALUSTRIS* L. НА *CANDIDA PARAPSILOSIS***

**Г. Яворська<sup>1</sup>, Н. Воробець<sup>2</sup>, О. Мороз<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького  
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна  
e-mail: halyna.yavorska@lnu.edu.ua

Дедалі частіше до різноманітних захворювань призводять умовно-патогенні гриби *Candida parapsilosis*. Вони можуть бути комменсалами, але, маючи унікальні властивості інвазивності, вірулентності та стійкості до протигрибкових препаратів (це характерно загалом для грибів з цього роду), у новонароджених і людей з ослабленим імунітетом або у тих, хто використовує катетери, ці гриби стають руйнаторами тканин організму. Вони здатні утворювати міцні біоплівки на катетерах та інших медичних імплантованих пристроях, загрожуючи життю пацієнтів, які зазнали інвазивних медичних втручань. В епоху поширення антибіотикорезистентності актуальним є пошук допоміжних і альтернативних засобів задля уникнення дисемінації або лікування хвороби після виявлення збудника. Такими можуть бути речовини рослинного походження, зокрема, маловивчені, з точки зору антигрибкових властивостей, а саме з чистою болотяного (*Stachys palustris*) та пухироплідника калинолистого (*Physocarpus opulifolius*). Встановлено, що водно-етанольні екстракти з цих рослин мають потенційні антикандидозні властивості щодо *Candida parapsilosis*, які визначено методами дифузії в агар та додавання в середовище. Водно-етанольні (ВЕ) екстракти з цих рослин пригнічували ріст *C. parapsilosis* більше, ніж водні. Діаметри зон затримки росту (ДЗЗР) більше 13 мм спричиняли екстракти зі *Stachys palustris*, виготовлені з використанням 70 % і 95 % ВЕ, і екстракти з *Physocarpus opulifolius*, виготовлені з використанням 60 % і 95 % ВЕ, однак їхній вплив був удвічі меншим, порівняно з флюконазолом, і трохи більшим, порівняно з настоянками шавлії та евкالیпту. Найсуттєвіше впливав екстракт зі *Stachys palustris*, виготовлений з використанням 95 % ВЕ, спричиняючи ДЗЗР до 20 мм. Екстракт зі *S. palustris*, виготовлений з використанням 95 % ВЕ, пригнічує ріст досліджуваної культури за вмісту в середовищі у співвідношеннях 1:2, 1:4 і 1:6, а зі *Physocarpus opulifolius* – 1:2 та 1:4. Швидкий мікропланшетний метод визначення впливу рослинних екстрактів на мікроорганізми з резазурином може бути використаний тільки після додаткового підтвердження, оскільки самі екстракти здатні відновлювати індикатор.

*Ключові слова:* *Candida parapsilosis*, екстракти *Stachys palustris* і *Physocarpus opulifolius*, антикандидозний вплив, методи визначення дії екстрактів

Згідно з даними ВООЗ, до 1 млрд людей у всьому світі безпосередньо хворіють на одне або кілька інфекційних захворювань [17]. *C. parapsilosis* є другим за поширеністю видом *Candida*, виділеним в Азії, Південній Європі та Латинській Америці, і часто спричиняє інвазивні інфекції, які серйозно впливають на здоров'я людини. *C. parapsilosis* широко розповсюджений у природі [16]. Ці дріжджі успішно колонізують шкіру та слизові

оболонки людини як коменсальний мікроорганізм, при цьому руки медичних працівників визнано основною причиною нозокоміального зараження *C. parapsilosis* [4]. *C. parapsilosis* становить високий ризик для людей з ослабленим імунітетом і пацієнтів, які потребують тривалого використання центрального венозного катетера або інших постійних пристроїв, через здатність цих дріжджів прилипати до поверхонь протезів та імплантованих медичних пристроїв і утворювати біоплівки [6], а це суттєво зменшує здатність протигрибкових препаратів досягати клітин [7].

Дріжджові клітини *C. parapsilosis* мають овальну, круглу або циліндричну форму. На відміну від *C. albicans*, *C. parapsilosis* не утворює справжніх гіф, а існує у дріжджовій фазі та псевдогіфальній формі [9].

Рослини розглядають як потенційні джерела вторинних метаболітів для терапевтичних втручань, що відкрило можливості для їхнього використання як активних інгредієнтів у харчовій, фармацевтичній і медичній промисловості. Біоактивність хімічних речовин, які виробляють рослини, робить їх високоцінними, спонукаючи інвестувати в їхнє вирощування, екстрагування й аналіз. Є повідомлення про антибактерійну і антигрибкову активність багатьох видів рослин [1, 5, 13, 15, 18], серед яких *Stachys palustris* L. [19]. *S. palustris* є однією з їстівних рослин, яку використовують у традиційній медицині, оскільки її листки та квіти багаті на природні антиоксиданти з високою біологічною активністю [8]. Ці корисні для здоров'я інгредієнти варто додатково досліджувати з перспективою використання у функціональному харчуванні, спеціальному харчуванні, косметичі та/або медичній і фармацевтичній промисловості [11]. У листках *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim. є велика кількість антоціанів, що надає їм насиченого фіолетового кольору і робить їх важливими компонентами ландшафтного дизайну. Кора *P. opulifolius* багата на тритерпеноїдні сполуки, які мають протипухлинні й інші властивості, тому є перспективи її медичного застосування [10]. Однак відомостей про антигрибкову активність екстрактів *Stachys palustris* L. і *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim. сорту **RedBaron** немає, тому мета цієї роботи – дослідити вплив водно-етанольних екстрактів із цих рослин на дріжджі *Candida parapsilosis*.

#### Матеріали та методи

Для виготовлення екстрактів використовували листки рослин *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim. сорту RedBaron, які вирощували в околицях Львова, і надземну частину *Stachys palustris* L. з околиць м. Східниця. Їх відбирали на стадії цвітіння рослин і висушували до повітряно-сухого стану. Водно-етанольні екстракти (ВЕЕ) готували методом мацерації з використанням 20-, 50-, 60-, 70- та 95 % водного етанолу (ВЕ) у темряві упродовж 14 діб за температури 25 °С. Екстрагування проводили відповідно до вимог Державної фармакопеї України [3] (співвідношення наважка:екстрагент = 1:20 (маса, г/об'єм, мл, тобто 1 г сировини заливали 20 мл екстрагента). Водні екстракти у співвідношенні 1:10 готували на слабо киплячій водяній бані (за 65–80 °С) упродовж 30 хв з оберненим холодильником. Після охолодження кожен екстракт фільтрували крізь паперовий фільтр, одержані фільтрати використовували в експериментах.

Тестову культуру дріжджів *Candida parapsilosis* Д-35-С (АТСС 22019=УКМ Y-73т=VKM Y-58) вирощували на середовищі Сабуро упродовж 48 год в термостаті за температури 28 ± 1 °С. Виготовляли суспензію у дистильованій воді, стандартизуючи за стандартом мутності (0,5 McFarland, 10<sup>8</sup> клітин/мл), розподіляючи 0,2 мл поверхнею агаризованого середовища. Крім *Candida parapsilosis*, для порівняння використовували *Bacillus subtilis* VKM B-408, *Pseudomonas fluorescens* VKM B-894 (АТСС 13525), *Micrococcus luteus* VKM B-109 і *Candida kefyr* (*Kluyveromyces marxianus* VKM Y-459) із колекції культур мікроорганізмів кафедри мікробіології ЛНУ ім. Івана Франка.

Методи лункової та дискової дифузії стандартизовані Інститутом клінічних і лабораторних стандартів (CLSI) для тестування антибіотиків. Антикандидозну дію екстрактів визначали методом дифузії у щільне середовище, в модифікації лунок і циліндриків [2]. Чашки інкубували дві доби за температури  $28 \pm 1$  °С. Вимірювали діаметр зони затримки росту (ДЗЗР) у міліметрах за допомогою лінійки з точністю до 1 мм. Дослідження проводили у трьох повторях. Наразі немає чітких критеріїв інтерпретації результатів тестування натуральних продуктів у разі використання методу дискової дифузії. Для оцінювання антикандидозної активності досліджених рослинних екстрактів використовували критерії, описані в Carrelli et al. [5].

Як контролю використовували флюконазол (150 мг), етиловий спирт досліджуваних концентрацій. Для порівняння також застосовували настійку евкаліпта (*Tinctura eucalypti*, 1:5 з 70 % етанолом) і настійку листя шавлії (*Salviae tincture*, 1:5 з 70 % етанолом) ТОВ «ДКП Фармацевтична фабрика», Житомир; Хлорофіліпт спиртовий (1:15,3 з 96 % етанолом) ПАТ «Галичфарм», Львів; Олію лавандову ТОВ Ароматика, Київ.

Для визначення впливу рослинних екстрактів на досліджувані мікроорганізми з використанням резазурину в лункових планшетах використовували середовище *Luria-Bertrani*, г/л: пептон – 10, NaCl – 5, дріжджовий екстракт – 10. Метод лункових планшетів з використанням резазурину описаний [14]. Активні бактеріальні клітини відновлюють нефлуоресцентний резаурин (синій) до флуоресцентного резорурфіну (рожевий), який можна далі відновити до гідрорезорурфіну (незабарвлений і нефлуоресцентний), що дає змогу якісно спостерігати наявність метаболітно активних клітин. Резаурин дає змогу виявляти ріст мікробів у надзвичайно малих об'ємах розчину в мікропланшетах. У дослідженні використовували водно-етанольні екстракти (ВЕЕ) з надземної частини *S. palustris* і листків *P. opulifolius* (з розведенням 1:20), 0,015 % розчин резазурину та суспензію досліджуваної культури – *C. parapsilosis*. Суспензію з дводобової культури *C. parapsilosis* готували, стандартизуючи до концентрації  $5 \times 10^6$  КУО/мл (як описано в Sarker et al., 2007). Для контролю використовували флюконазол (150 мг/10 мл води). Дослідження проводили в 96-лунковому планшеті, в лунки якого закапували досліджувані розчини (табл. 1).

Таблиця 1

Схема експерименту

Ряд планшету, кількість лунок	Внесені компоненти, мл				
	Середовище <i>Luria-Bertrani</i>	Культура ( <i>Candida</i> <i>parapsilosis</i> )	Резаурин	Досліджуваний екстракт	Антимікотик (флюконазол)
1 8	0,05	–	0,05	0,1 <i>S. palustris</i> з 50 % ВЕ	–
2 8	0,05	0,05	0,05	0,1 <i>S. palustris</i> з 50 % ВЕ	–
3 8	–	–	0,05	0,1 <i>S. palustris</i> з 50 % ВЕ	0,05
4 8	–	0,05	0,05	0,1 <i>S. palustris</i> з 50 % ВЕ	0,05
5 8	0,1	0,05	0,05	–	–
6 8	0,1	–	0,05	–	–
7 8	0,05	–	0,05	0,05 <i>S. palustris</i> з 70 % ВЕ	–
8 8	0,05	0,05	0,05	0,05 <i>S. palustris</i> з 70 % ВЕ	–
9 4	0,05	–	0,05	0,15 <i>P. opulifolius</i> з 95 % ВЕ	–
4	0,05	–	0,05	0,15 <i>S. palustris</i> з 70 % ВЕ	–
10 4	0,05	0,05	0,05	0,01 <i>P. opulifolius</i> з 95 % ВЕ	–
4	0,05	0,05	0,05	0,01 мл <i>S. palustris</i> з 70 % ВЕ	–
11 2	0,05	–	0,05	–	–
2	0,05	–	0,05	0,2 <i>P. opulifolius</i> з 60 % ВЕ	–
4	0,05	–	0,05	0,2 <i>S. palustris</i> з 95 % ВЕ	–
12 2	0,05	–	0,05	–	–
2	0,05	–	0,05	0,1 <i>P. opulifolius</i> з 60 % ВЕ	–
4	0,05	–	0,05	0,1 мл <i>S. palustris</i> з 95 % ВЕ	–

Після цього харчовою плівкою щільно загортали планшети, щоб уникнути зневоднення бактеріальної культури, й інкубували за 37 °С упродовж 24 год в інкубаторі, фіксуючи зміни забарвлення через годину та добу. Зміну кольору в лунках спостерігали візуально, де зміну від фіолетового до рожевого кольору або безбарвність оцінювали як позитивну. Після інкубації з лунок, до яких було додано суспензію культури *C. parapsilosis* і досліджуваний екстракт, робили посів на агаризоване середовище і спостерігали за появою росту.

Дослідження впливу готових аптечних препаратів – олії лаванди і хлорофіліпту спиртового – проводили методом дифузії в агар і з використанням 12-лункових планшетів, застосовуючи як тест-культуру *C. parapsilosis*.

У лунки закапували компоненти за схемою (табл. 2).

Таблиця 2

Схема експерименту

Ряд планшету, кількість лунок	Внесені компоненти, мл		
	Культура ( <i>Candida parapsilosis</i> )	Резазурин	Досліджуваний екстракт
1	2	–	0,03
2	2	–	0,03
3	2	–	0,03
4	2	0,01	0,03
5	2	0,02	0,03
6	2	0,05	0,03
7	2	0,01	0,03
8	2	0,05	0,03
9	2	0,05	0,03
10	2	0,05	0,03
11	2	0,05	0,03
12	2	0,05	0,03

Спостерігали за змінами кольору в лунках через годину та добу.

Усі цифрові значення піддавали статистичному обробленню з використанням програми «Excel-2010» для Windows.

### Результати і їхнє обговорення

Методом дифузії в агар встановлено, що на *C. parapsilosis* впливали екстракти *P. opulifolius* з 95 % та 60 % ВЕ (табл. 1), але залежно від методу визначення. Водний екстракт з розведенням 1:10 та 1:20 із *P. opulifolius* не впливав на ріст досліджуваних культур (ДЗЗР: від 6,6 до 9,6 мм). На досліджувані дріжджі впливали водний екстракт і екстракти зі *S. palustris* з 50, 70 і 95 % ВЕ (табл. 3), але залежно від методу визначення. Проте екстракти з 20 % ВЕ не виявляли інгібуючого впливу.

Зони затримки росту *C. parapsilosis* за впливу екстрактів зі *Stachys palustris* були значними (рис. 1). Встановлено, що екстракти, виготовлені з використанням 70 та 95 % ВЕ впливали на ріст цієї культури, на відміну від екстрактів, виготовлених з використанням 20 та 50 % ВЕ.

Досліджені водно-етанольні екстракти із *S. palustris*, виготовлені з використанням 70 % та 95 %, з розведенням 1:20 та 70 % водно-етанольної настойки з листків шавлії (розведення 1:5) ТОВ ДКП «Фармацевтична фабрика» (Житомир) мають практично однаковий інгібуючий вплив на ріст досліджених культур (див. табл. 3).

Щоб дослідити вплив екстрактів з *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris* з 95 % ВЕ на мікроорганізми, екстракт додавали у живильне середовище Luria Bertani у різних

співвідношеннях: 1:2, 1:4, 1:6 та 1:10. На поверхню живильного агару штами мікроорганізмів засівали методом штриха. Крім культури *Candida parapsilosis*, використали для порівняння *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus luteus* і *Candida kefyr*. Посіви інкубували 48 год за температури  $28 \pm 1$  °С. Результати оцінювали візуально.

Таблиця 3

Дія екстрактів з *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris* на *Candida parapsilosis* (n=3)

Екстракт, концентрація етанолу екстрагента, %		Діаметр зони затримки росту, мм		
		Модифікація методу		
		Лунки	Циліндрики	
Контроль	Флюконазол	44,3±6,6	43,5±5,6	
	Настойка евкалипта	15,5±1,1	15,4±1,1	
	Настойка шавлії	12,0±0,8	11,6±0,8	
	Вміст етанолу у воді	20 %	6,0±0,5	6,0±0,5
		50 %	6,0±0,5	6,0±0,5
		60 %	6,1±0,3	6,1±0,5
		70 %	7,2±0,5	7,2±0,5
	95 %	9,1±0,3	9,0±0,2	
<i>Stachys palustris</i>	Водний, 1:10	10,0±0,0	10,0±0,0	
	3 20 % ВЕ, 1:20	8,0±0,0	7,5±0,5	
	3 50 % ВЕ, 1:20	11,0±1,0	10,0±0,0	
	3 70 % ВЕ, 1:20	19,0±1,0	12,5±2,5	
	3 95 % ВЕ, 1:20	20,0±0,0	11,0±1,0	
<i>Physocarpus opulifolius</i>	Водний, 1:10	6,6±0,5	9,6±0,5	
	Водний, 1:20	7,3±0,5	7,3±0,5	
	3 20 % ВЕ, 1:20	7,0±1,4	7,6±1,2	
	3 60 % ВЕ, 1:20	19,0±5,3	8,6±0,5	
	3 95 % ВЕ, 1:20	16,6±1,2	12,6±2,0	



Рис. 1. Зони затримки росту *Candida parapsilosis* (метод лунок) за впливу екстрактів зі *Stachys palustris* (6 – водний, 7 – з 20 % ВЕ, 8 – з 50 % ВЕ, 9 – з 70 % ВЕ, 10 – з 95 % ВЕ)

Як видно з рис. 2, екстракти впливали залежно від співвідношення вмісту екстракту до середовища. У високих концентраціях (співвідношення 1:2) вони мали виражений

інгібуючий ефект, пригнічуючи ріст культур мікроорганізмів. Однак зменшення вмісту екстракту в середовищі пригнічувало ріст досліджуваних культур по-різному. Екстракт *Stachys palustris* з 95 % ВЕ у співвідношенні 1:4 пригнічував ріст усіх культур, а екстракт *Physocarpus opulifolius* з 95 % ВЕ тільки двох (*Candida kefir* і *Candida parapsilosis*). У співвідношенні 1:6 та 1:10 екстракт *Stachys palustris* з 95 % ВЕ пригнічував тільки *Candida parapsilosis*, а екстракт *Physocarpus opulifolius* з 95 % ВЕ – *Candida kefir* (рис. 2, А, Б).



А

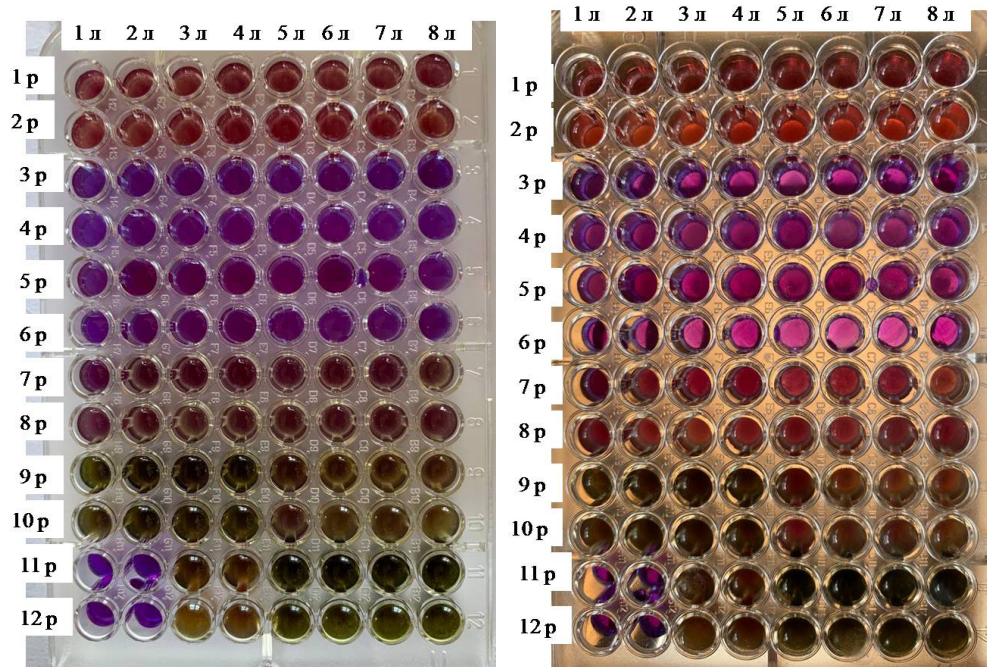


Б

Рис. 2. Вплив екстрактів *Physocarpus opulifolius* (А) і *Stachys palustris* (Б), виготовлених з 95 % водним етанолом, на ріст тест-культур (1 – *Bacillus subtilis*; 2 – *Pseudomonas fluorescens*; 3 – *Micrococcus luteus*; 4 – *Candida kefir*; 5 – *Candida parapsilosis*) у різних співвідношеннях із живильним середовищем

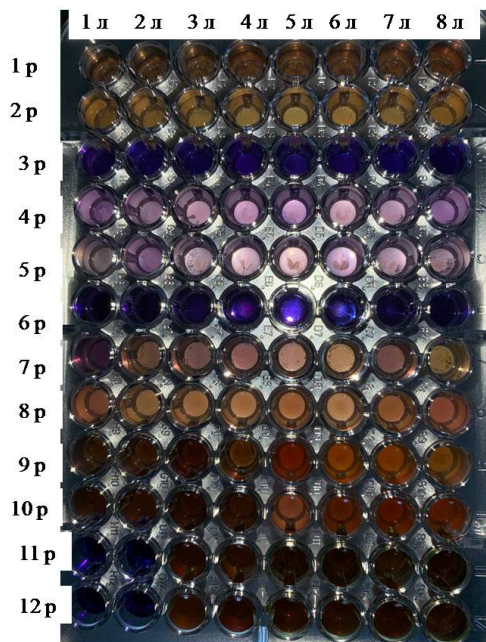
Для визначення впливу рослинних екстрактів із надземних частин рослини *S. palustris* (водно-етанольні екстракти з розведенням 1:20) використовували метод 96-лунокових планшетів. На рис. 3 показано фото, на якому видно, що додавання рослинних екстрактів змінює властивості резазурину і що він фактично одразу втрачає свій колір (див. рис. 3, А). Після інкубації (1 год) колір лунок, які містили ВЕЕ досліджуваних рослин, практично не змінюється (рис. 3, Б). Це свідчить про те, що візуально оцінити вплив неможливо. За добу відбувається практично повне знебарвлення сумішей, окрім лунок, які містять тільки середовище і резазурин (6 ряд і перші дві лунки рядів 11 і 12), а також екстракту, флюконазолу і резазурину (3 ряд) (рис. 3, В).

Після інкубації з лунок, до яких було додано суспензію культури *C. parapsilosis*, робили посів на агаризоване середовище Лурія–Бертрані та спостерігали за появою росту. Лише у ряду 12 (лунка 3) виявили ріст після посіву (рис. 4). У цю лунку додали 0,1 мл *P. opulifolius* з 60 % ВЕ.



А

Б



В

Рис. 3. Вплив екстрактів зі *Stachys palustris* і *Physocarpus opulifolius* на *Candida parapsilosis* за 5 хв (А), за 1 год (Б), за 1 добу (В): р – ряд, л – лунка



Рис. 4. Ріст *C. parapsilosis* після посіву з лунки 3 (12 ряд)

Для перевірки здатності *C. parapsilosis* за впливу рослинних препаратів (олії лаванди та хлорофіліпту етанольного) змінювати колір резазурину використовували 12-лункові планшети, середовище Лурія–Бертрані та 0,015 % розчин резазурину.

Як видно з рис. 5, після додавання рослинних екстрактів вони швидко змінили властивості резазурину, і він одразу втратив свій колір (лунки 2, 3), аналогічно як і в лунках, де були культури з цими препаратами (лунки 7, 8, 9, 10, 11 і 12). А внесення культури без препаратів спричиняло знебарвлення резазурину тільки через 24 год (лунки 4, 5 і 6). У лунках 1 (де не було ні культур грибів, ні рослинних препаратів) колір резазурину не змінився.

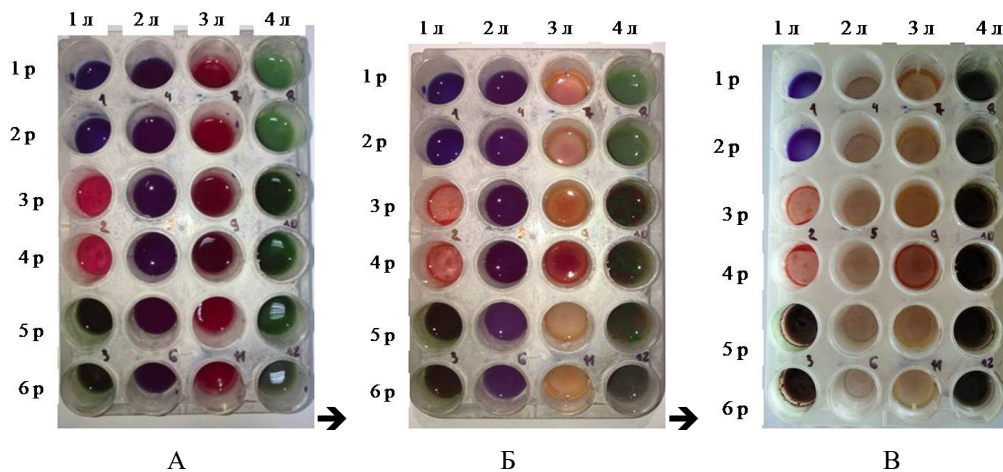


Рис. 5. Вплив олії лаванди та хлорофіліпту етанольного на *C. parapsilosis* за використання методу з резазурином у лункових планшетах (за 1 хв – А, за годину – Б і за добу – В): р – ряд, л – лунка



Методом дифузії в агар було встановлено (рис. 6), що олія лаванди пригнічує культуру *C. parapsilosis* зі зонами затримки росту  $40,6 \pm 0,4$  мм.

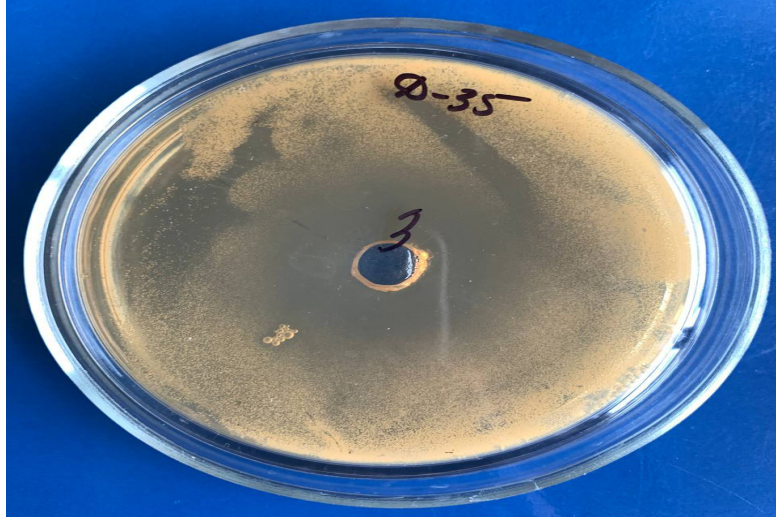


Рис. 6. Вплив олії лаванди на дріжджі *Candida parapsilosis*

Аналогічно хлорофіліпт етанольний також пригнічував *Candida parapsilosis* зі зонами затримки росту  $10,2 \pm 0,2$  мм (рис. 7).

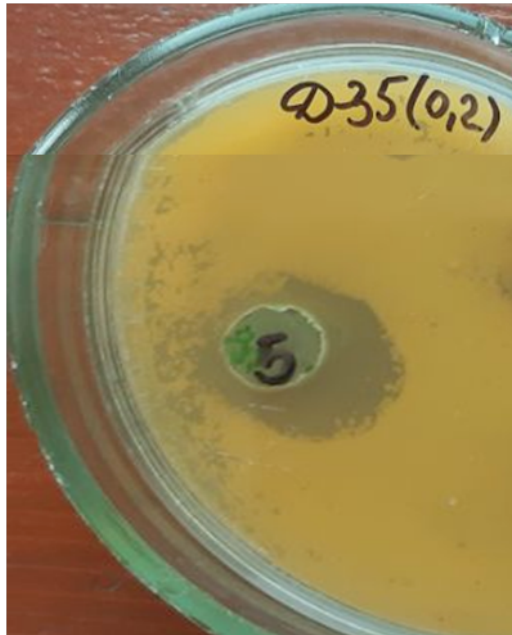


Рис. 7. Вплив хлорофіліпту етанольного (5) на дріжджі *Candida parapsilosis* (за додавання 0,2 мл/лунку)

Отже, встановлено інгібувальну дію на *Candida parapsilosis* водно-етанольних екстрактів листків *Physocarpus opulifolius* і наземної частини *Stachys palustris* методом дифузії

в агар і додавання до середовища вирощування. Водно-етанольні екстракти з цих рослин пригнічували ріст *Candida parapsilosis* більше, ніж водні. Водний екстракт *Physocarpus opulifolius* мало впливав на досліджувану культуру. Серед досліджених водно-етанольних екстрактів найсуттєвіше впливав екстракт зі *Stachys palustris*, виготовлений з використанням 95 % водного етанолу (ДЗЗР до 20 мм). ДЗЗР більше 13 мм спричиняли екстракти зі *Stachys palustris* з 70 % і 95 % ВЕ і *Physocarpus opulifolius* з 60 % і 95 % ВЕ, однак їхній вплив був удвічі меншим, порівняно з флюконазолом і трохи більшим, порівняно з настоянками шавлії та евкаліпту. Екстракт зі *S. palustris* з 95 % ВЕ пригнічує ріст досліджуваної культури за вмісту в середовищі у співвідношеннях 1:2, 1:4 і 1:6, а зі *Physocarpus opulifolius* – 1:2 і 1:4. Подібний ефект етанольного екстракту стебел і коренів *Stachys palustris* як антибактерійних препаратів (проти грампозитивних *B. subtilis*, *S. aureus* і грамнегативних бактерій *P. vulgaris*, *E. coli*, *P. aeruginosa*), що може бути пов'язаний із вторинними метаболітами, такими як алкалоїди, глікозиди, сапоніни, поліоли, смоли й амінокислоти, виявлено деякими дослідниками [8]. Щодо впливу подібних екстрактів на *Candida parapsilosis*, як і екстрактів з листків *Physocarpus opulifolius* на мікроорганізми, то в літературі не знайдено такої інформації.

Використання резазурину як індикатора росту в аналізах мікророзведення для визначення мінімальної концентрації антибіотиків є ефективним і здатне забезпечити відтворювані результати [12]. Деякі автори зазначають про можливість використання мікропланшетного методу з резазурином для етанольних рослинних екстрактів [13]. Наші дослідження показали, що внесення водно-етанольних екстрактів *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris* до середовища з резазурином одразу змінює колір середовища, як і олія лаванди та хлорофіліпту етанольного. Тому цей метод можна застосовувати з посівом після інкубування для підтвердження інгібувальної дії водно-етанольних екстрактів із рослин.

Підсумовуючи, варто зауважити, що водно-етанольні екстракти *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris* за використання методу дифузії в агар проявляють антикандидозну дію щодо *Candida parapsilosis*. Однак метод лункових планшетів з резазурином не надається для візуального оцінювання здатності водно-етанольних екстрактів *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris*, як і олії лаванди та хлорофіліпту етанольного, пригнічувати ріст *Candida parapsilosis* і потребує додаткового посіву після інкубування.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Воробець Н. М., Яворська Г. В., Кузеляк Х. В., Воронюк О. М. Вплив екстрактів *Heterocallis fulva* L. на деякі штами мікроорганізмів // Укр. журн. лабор. медицини. 2023. Т. 1. № 2. С. 4–14. doi: 10.62.151/2786-9288.1.2.2023.01.
2. Гудзь С., Гнатуш С., Яворська Г. В. та ін. Практикум з мікробіології. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка, 2014. 456 с.
3. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Доп. 1. Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
4. Bonassoli L. A., Bertoli M., Svidzinski T. I. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts // J. Hosp. Infect. 2005. Vol. 59 (2). P. 159–62. doi: 10.1016/j.jhin.2004.06.033.
5. Cappelli G., Mariani F. A Systematic Review on the Antimicrobial Properties of Mediterranean Wild Edible Plants: We Still Know Too Little about Them, but What We Do Know Makes Persistent Investigation Worthwhile // Foods. 2021. Vol. 10 (9). N 2217. doi: 10.3390/foods10092217.

6. Cuéllar-Cruz M., López-Romero E., Villagómez-Castro J. C., Ruiz-Baca E. Candida species: new insights into biofilm formation // *Future Microbiol.* 2012. Vol. 7 (6). P. 755–71. doi: 10.2217/fmb.12.48.
7. Faria-Ramos I., Neves-Maia J., Ricardo E. et al. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility profiles of yeast isolates from invasive infections during a Portuguese multicenter survey // *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2014. Vol. 33 (12). P. 2241–2247. doi: 10.1007/s10096-014-2194-8.
8. Lachowicz-Wiśniewska S., Pratap-Singh A., Kapusta I. et al. Flowers and Leaves Extracts of *Stachys palustris* L. Exhibit Stronger Anti-Proliferative, Antioxidant, Anti-Diabetic, and Anti-Obesity Potencies than Stems and Roots Due to More Phenolic Compounds as Revealed by UPLC-PDA-ESI-TQD-MS/MS // *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022. Vol. 15 (7). P. 785. doi: 10.3390/ph15070785.
9. Laffey S.F., Butler G. Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis* // *Microbiology (Reading)*. 2005. Vol. 151 (4). P. 1073–1081. doi: 10.1099/mic.0.27739-0.
10. Liu X., Yu J. Extraction of anthocyanin from *Physocarpus opulifolius* “Diabolo” and its stability // *J. Northeast For. Univ.* 2011. Vol. 39 (2). P. 38–39.
11. Negi P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application // *Int. J. Food Microbiol.* 2012. Vol. 156 (1). P. 7–17. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.006.
12. Oliveira L. C. C., Rodrigues F. A. A., dos Santos Barbosa C. R. et al. Antibacterial Activity of the Pyrogallol against *Staphylococcus aureus* Evaluated by Optical Image // *Biologics*. 2022. Vol. 2 (2). P. 139–150. doi: 10.3390/biologics2020011
13. Reddy Y. M., Kumar S. P. J., Saritha K. V. et al. Phytochemical Profiling of Methanolic Fruit Extract of *Gardenia latifolia* Ait. by LC-MS/MS Analysis and Evaluation of Its Antioxidant and Antimicrobial Activity // *Plants (Basel)*. 2021. Vol. 10 (3). P. 545. doi: 10.3390/plants10030545.
14. Sarker S. D., Nahar L., Kumarasamy Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals // *Methods*. 2007. Vol. 42 (4). P. 321–324. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.01.006>.
15. Stefanovic O., Radojevic I., Vasic S., & Comic L. Antibacterial Activity of Naturally Occurring Compounds from Selected Plants. *Antimicrobial Agents*. Intech. 2012. doi: 10.5772/33059
16. van Asbeck E. C., Clemons K. V., Stevens D. A. *Candida parapsilosis*: A review of its epidemiology, pathogenesis, clinical aspects, typing and antimicrobial susceptibility // *Critical Reviews in Microbiology*. 2009. Vol. 35 (4). P. 283–309. doi: 10.3109/10408410903213393.
17. WHO, 2024 <https://www.who.int>
18. Yavorska H. V., Vorobets N. M., Yavorska N. Y., Fafula R. V. Screening of anticandidal activity of *Vaccinium corymbosum* shoots' extracts and content of polyphenolic compounds during seasonal variation // *Studia Biologica*. 2023. Vol. 17 (1). P. 3–18. <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1701.699>
19. Yildirim A. B., Karakas F. P., Turker A. U. In vitro antibacterial and antitumor activities of some medicinal plant extracts, growing in Turkey // *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2013. Vol. 6 (8). P. 616–624. doi: 10.1016/S1995-7645(13)60106-6.

Стаття надійшла до редакції 29.05.24

доопрацьована 11.09.24

прийнята до друку 16.09.24

ASSESSMENT OF *PHYSOCARPUS OPULIFOLIUS* (L.) MAXIM.  
AND *STACHYS PALUSTRIS* L. EXTRACTS INFLUENCE  
AGAINST *CANDIDA PARAPSILOSIS*

H. Yavorska<sup>1</sup>, N. Vorobets<sup>2</sup>, O. Moroz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

<sup>2</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical University  
69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine  
e-mail: halyna.yavorska@lnu.edu.ua

The opportunistic fungi *Candida parapsilosis* are increasingly causing various diseases. They can be commensals, but, having unique properties of invasiveness, virulence and antifungal sensitivity, which is characteristic of fungi of this genus in general, in newborns and people with weakened immunity or those who use catheters, they become destroyers of body tissues. These fungi are capable of forming strong biofilms on catheters and other implanted medical devices, threatening the lives of patients undergoing invasive medical procedures. In the era of the spread of antibiotic resistance, the search for auxiliary and alternative means to avoid dissemination or treatment of the disease after the detection of the causative agent is urgent. These can be substances of plant origin, in particular, little-studied, from the point of view of antifungal properties, *Stachys palustris* and *Physocarpus opulifolius*. Aqueous-ethanol (AE) extracts from these species have been found to have potential anti-candidal properties against *Candida parapsilosis*, which were determined by agar diffusion and media addition methods. AE extracts of these species inhibited the growth of *Candida parapsilosis* more than aqueous extracts. *Stachys palustris* extracts made with 70 % and 95 % AE and *Physocarpus opulifolius* extracts made with 60 % and 95 % AE caused diameter of inhibition zone (IZ) greater than 13 mm, but their effect was half that of fluconazole and slightly more, compared to tinctures of sage and eucalyptus. An extract of *Stachys palustris* made with 95 % aqueous ethanol was most effective, causing IZ, of up to 20 mm. The extract of *S. palustris* prepared with 95 % ethanol suppresses the growth of the culture when present in the medium in ratios of 1:2, 1:4 and 1:6, and the similarly prepared extract of *Physocarpus opulifolius* – 1:2 and 1:4. The rapid microplate method for determining the effect of plant extracts on microorganisms with resazurin can be used only after additional confirmation, since the extracts themselves are able to regenerate the indicator.

**Keywords:** *Candida parapsilosis*, extracts of *Stachys palustris* and *Physocarpus opulifolius*, anti-candidal effect, methods of determining the action of extracts