

DOI: 10.21802/artm.2023.2.26.51
УДК 615.451.1+633.83+615.282+616.31-002

ВПЛИВ ЕКСТРАКТІВ ЛІКАРСЬКИХ ТА ПРЯНО-АРОМАТИЧНИХ РОСЛИН НА ПРОТИГРИБКОВУ ДІЮ ФЛУКОНАЗОЛУ ЩОДО *CANDIDA ALBICANS* ТА *CANDIDA TROPICALIS*, ВИДІЛЕНИХ ВІД ПАЦІЄНТІВ З КАНДИДОЗНИМИ ПРОТЕЗНИМИ СТОМАТИТАМИ

Р.В. Куцик¹, Т.Ю. Огієнко¹, А.О. Челій⁴, Я.В. Пюрик², О.Б. Гайошко³

Івано-Франківський національний медичний університет,
м. Івано-Франківськ, Україна:

¹кафедра мікробіології, вірусології та імунології,
ORCID ID: 0000-0001-9408-9074, e-mail: rkutsyk@ifnmu.edu.ua;
ORCID ID: 0000-0002-9962-9823, e-mail: tanyusha.ohienko@gmail.com;

²кафедра дитячої стоматології,
ORCID ID: 0000-0002-0280-8156, e-mail: coyote2011@ukr.net;

³кафедра хірургічної стоматології,
ORCID ID: 0000-0002-5357-2358, e-mail: lenabog76@gmail.com;

⁴Приватна стоматологія «Естет Студіо», м. Івано-Франківськ, Україна,
ORCID ID: 0009-0006-4718-8508, e-mail: cheliyantont@gmail.com

Резюме. Методом дифузії в агар виконано скринінг протигрибкової активності та синергізму протигрибкової дії з флуконазолом 166 водно-етанольних рослинних екстрактів відносно 2-х клінічних штамів грибів роду *Candida* (*C. albicans* та *C. tropicalis*) з різними механізмами азолорезистентності, які виділені від пацієнтів з кандидозними протезними стоматитами. Встановлено пряму протигрибкову активність квітів календули лікарської, кермеку плосколистого, глоду одноматочкового, коренів перстача повзучого, трави буркуна білого, листків смовді руської, листків сумаха дубильного та трави зозулиного льону звичайного відносно тестованих штамів. Синергізм протигрибкової дії із $1/4$, $1/8$ та $1/32$ МПК (мінімальна пригнічуюча концентрація) флуконазолу відносно обох штамів проявили екстракти квітів календули лікарської та трави буркуна білого. Основною метою скринінгу було проведення дискримінації екстрактів, які представлятимуть перспективу для тестування методом титрувальної панелі. Ефлюксний механізм резистентності до триазолів (у тест-штаму *C. tropicalis*) піддається модифікації біологічно активними сполуками лікарських рослин. Стосовно тест-штаму штаму *C. albicans*, який поєднує ефлюксний механізм резистентності з мутацією(ями) ферментів біосинтезу ергостеролу, модифікуючий ефект рослинних екстрактів проявляється значно рідше і меншою мірою. Можна припустити, що саме мутації ферментів біосинтезу ергостеролу забезпечують високу стабільність фенотипічного прояву азолорезистентності кандид. Встановлення механізму азолорезистентності клінічних ізолятів кандид може мати важливе значення для клінічної практики і бути вирішальним питанням у подальшій терапевтичній тактиці.

Ключові слова: гриби роду *Candida*, рослинні екстракти, флуконазол.

Вступ. *Candida albicans* – один з найпоширеніших та найбільш вірулентний представник грибів роду *Candida*, що викликає мікотичні ураження слизових оболонок переважно в людей із скомпрометованою імунною системою. Гриби роду *Candida* є унікальними опортуністичними патогенами, властивості яких дозволяють їм персистувати не тільки в довкіллі, а й у різних біотопах макроорганізму. Вони, зокрема, достатньо часто колонізують шкіру та орофарингеальну зону. Легке виживання в різних екологічних нішах макроорганізму досягається у них завдяки великому спектру механізмів адаптації для зберігання своєї життєдіяльності. Шлунково-кишковий тракт людини в цілому і ротова порожнина зокрема є відкритими системами, що вільно сполучаються із зовнішнім середовищем, і персистування грибів на слизових оболонках забезпечується постійним балансуванням між факторами вірулентності кандид з одного боку та системою захисту макроорганізму з іншого [1]. Колонізація слизової оболонки ротової порожнини та протезного ложа дріжджоподібними грибами розглядається як один із

найважливіших мікробних механізмів розвитку кандидозних протезних стоматитів [2].

Обґрунтування дослідження. Серйозну практичну проблему становить резистентність кандид до класичних антимікотиків – полієнів, азолів, азолів, аліламінів. За даними літератури, важливим напрямком боротьби з набутою резистентністю є поєднання декількох препаратів із різним механізмом дії. У такому разі ризик одночасного утворення мутацій, які б призвели до формування резистентності до декількох препаратів набагато менший від ризику формування резистентності до кожного препарату окремо [3]. Найбільш застосовуваними на сьогодні при кандидозних ураженнях антифунгальними засобами є імідазоли та триазоли, механізм дії яких полягає в пригніченні біосинтезу ергостеролу, незамінного для підтримання структурної цілісності мембран клітин грибів. Мішенню азолів є ферменти 14 α -деметилази, що здійснюють деметилювання попередників ергостеролу. Азолорезистентність у грибів роду *Candida* може бути пов'язана з мутаціями, що призводять до

амінокислотних замінів і, як наслідок, до різкого зниження здатності ферментів зв'язуватися з азолами. Крім цього, у грибів роду *Candida* відомі декілька транспортних систем активного виведення (ефлюксу) азолів з клітини. Активація систем виведення часто асоціюється із змінами в структурі мембран грибів, що призводять до зниження надходження азолів усередину грибкової клітини [4].

Необхідною умовою успішного лікування кандидозної інфекції є раціональний вибір антимікотичних засобів, який передбачає врахування чутливості (чи резистентності) збудника, а також фармакодинамічних й фармакокінетичних характеристик препарату. Зростання захворюваності на грибкові інфекції, збудниками яких є штами кандид з резистентністю до антимікотиків, актуалізує потребу створення наступних поколінь протигрибкових засобів. Більшість доступних сьогодні антимікотиків мають небажані побічні ефекти, не зовсім задовільні фармакодинамічні та фармакокінетичні властивості, призводять до швидкого набуття резистентності. Вагомим успіхом у цьому відношенні можна розглядати появу ехінокандинів, проте ці засоби не є доступними для широкого застосування в Україні.

Тому заслуговує на увагу ще один інноваційний підхід, який полягає у підвищенні чутливості кандид до класичних антимікотиків шляхом нейтралізації їх детермінант резистентності. Прикладом реалізації такого стратегічного підходу є поєднання пеніцилінів, цефалоспоринів та карбапенемів з інгібіторами β -лактамаз при бактеріальних інфекціях. Останнім часом описано ряд синтетичних і природних речовин, здатних посилювати дію флуконазолу на резистентні штами кандид [5, 6].

Мета дослідження. Проведення первинного скринінгу здатності водно-етанольних екстрактів лікарських рослин посилювати дію флуконазолу відносно резистентних штамів грибів роду *Candida*, асоційованих з кандидозними протезними стоматитами, для обґрунтування потенційної можливості застосування комбінованої антифунгальної терапії.

Матеріали і методи. Досліджено 166 водно-етанольних екстрактів з різних частин, а саме: квітів, листя, трави, коренів, плодів та суцвіть лікарських і пряно-ароматичних рослин. Висушену подрібнену сировину екстрагували методом настоювання 90% етанолу відповідно до вимог Державної Фармакопеї України при кімнатній температурі впродовж 2 тижнів (співвідношення сировина/екстрагент 1:10). Для остаточного одержання екстрактів відфільтровували залишок сировини і чистим екстрагентом доводили об'єм до початкового рівня.

Тестування виконано на клінічних штаммах грибів *C. albicans* та *C. tropicalis*, виділених із поверхні протезного ложа пацієнтів з кандидозними протезними стоматитами. Культури ідентифіковано за комплексом морфологічних і культуральних властивостей та на основі 40 біохімічних тестів за допомогою системи VITEK 2 з використанням VITEK 2 YST ID card (bioMérieux, Франція). Чутливість культур до класичних антимікотиків визначали диско-дифузійним методом, а чутливість до флуконазолу, крім того, – мікрометодом серійних розведень у рідкому середовищі YPD з інтерпретацією результатів відповідно до

критеріїв EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), Version 10.0, 2020-02-04 [7]. Визначення мінімальних фунгістатичних концентрацій (MIC) флуконазолу здійснювали на основі аналізу кривих росту культур, одержаних при щогодинній реестрації змін оптичної щільності середовища за допомогою багаторежимного спектрофотометра для мікропланшет Synergy™MHTX SILFTA (BioTek Instruments, Inc., США).

Скринінг антифунгальної активності екстрактів здійснено за допомогою мікрометоду дифузії в агар [8]. У чашки Петрі, розташовані на строго горизонтальній та рівній поверхні, заливали по 30 мл агару Сабуро. Після застигання середовища спеціальним пробійником з рівними краями виготовляли лунки діаметром 4,0 мм. Агар рівномірно засівали суспензіями тест-культур (концентрації 1×10^7 КУО/мл). У лунки вносили по 20 мкл рослинних екстрактів, у контролі – 20 мкл екстрагента (90% етанолу). Після 48 годин інкубації при температурі 37°C оцінювали діаметри зон затримки росту (ЗЗР) грибів. Одержували цифрові зображення посівів, які аналізували за допомогою комп'ютерної програми Image Tool 2.0 (UTHSCSA ImageTool 2.0, The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995-1996).

Для скринінгу екстрактів на синергізм протигрибкової дії з флуконазолом виконували аналогічні посіви на агар Сабуро з додаванням антимікотика в кінцевих концентраціях $1/4$, $1/8$ або $1/32$ MIC для кожного тест-штаму. Після 48 годин інкубації при температурі 37°C порівнювали діаметри зон затримки росту (ЗЗР) культур під впливом рослинних екстрактів на середовищі без антимікотика та на середовищах із субфунгістатичними концентраціями флуконазолу. Враховуючи результати контрольних дослідів для виключення впливу екстрагента (90% етанолу) на ріст тест-культур значення діаметрів ЗЗР менше 7,00 мм не брали до уваги.

Для статистичної обробки результатів використовували комп'ютерні програми UTHSCSA ImageTool 2.0 та Microsoft Office Excel 2003. Достовірність збільшення ЗЗР грибів у присутності комбінацій різних концентрацій флуконазолу з рослинними екстрактами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента та однофакторного дисперсійного аналізу.

Результати дослідження. Представлені дослідження виконано на сучасних клінічних штаммах кандид, які були виділені від пацієнтів з кандидозними протезними стоматитами. Адже більшість штамів грибів роду *Candida*, які представлені в національних колекціях мікроорганізмів (Інституту мікробіології ім. акад. Д.К.Заболотного НАН України, Інституту мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України), були виділені не з людського організму, причому 50-70 років тому, і тому вони не відображають сучасних тенденцій набуття резистентності до протигрибкових препаратів.

Відібрані для проведення скринінгу клінічні штами кандид були ідентифіковані допомогою системи VITEK 2 як *C. albicans* та *C. tropicalis*. Дискодифузійним методом встановлено профілі резистентності обох штамів до антимікотиків різних груп (табл. 1). Навколо дисків з імідазолами і триазолами (в т.ч. флуконазолом) спостерігали слабкий фунгістатичний

ефект. Проте диско-дифузійний метод вважається низькоінформативним для виявлення антимікотичної резистентності, а його результати важко піддаються клінічній інтерпретації з позиції вибору терапевтичного препарату та необхідного режиму його дозування. У

зв'язку з цим й не існує загально визначених критеріїв інтерпретації його результатів. Але тим не менше, одержана нами картина свідчить про полірезистентність обох штамів до класичних антимікотиків, що є серйозною практичною проблемою в клінічній практиці.

Таблиця 1

Порівняльна характеристика чутливості використаних клінічних штамів грибів до антимікотичних засобів (діаметри ЗЗР, мм)

Антимікотики	<i>C. albicans</i>		<i>C. tropicalis</i>		Пограничні значення (дозозалежна чутливість)
	Фунгі-цидна дія	Фунгі-статична дія	Фунгі-цидна дія	Фунгі-статична дія	
Амфотерицин В	6	9	6	6	10-14
Ністатин	14	14	14	14	17-24
Клотримазол	6	23	6	15	12-19
Кетоконазол	6	25	6	20	15-18*
Флюконазол	6	30	6	24	15-18
Ітраконазол	6	15	6	11	15-18*
Тербінафін	6	6	6	10	12-19

Примітка: *- дані не є достовірними

Більш надійними для визначення антимікотичної резистентності вважаються метод серійних розведень і Е-тест. Тому резистентність обох тест-штамів до флюконазолу було підтверджено методом мікророзведень у рідкому середовищі YPD (табл. 2). Відповідно

до критеріїв EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), Version 10.0, 2020-02-04 [7] чутливими до флюконазолу вважаються штами з MIC \leq 2 мкг/мл.

Таблиця 2

Порівняльна характеристика чутливості до флюконазолу використаних клінічних штамів грибів роду *Candida*

	<i>C. albicans</i>		<i>C. tropicalis</i>	
	MIC, мкг/мл	Кратність зниження MIC FCZ	MIC, мкг/мл	Кратність зниження MIC FCZ
Флюконазол (FCZ)	64	-	32	-
Хлорпромазин	125	-	250	-
Галоперидол	500	-	500	-
FCZ + Хлорпромазин ($1/8$ MIC)	32	2	4	8
FCZ + Галоперидол ($1/8$ MIC)	8	8	2	16

Для з'ясування механізму резистентності визначали MIC флюконазолу в присутності відомих інгібіторів ефлюксу азолів галоперидолу [9] і хлорпромазину (див. табл. 2). Обидва інгібітори ефлюксних pomp ефективно знизили резистентність до флюконазолу штаму *C. tropicalis* фактично до пограничної зони. Це дозволяє зробити висновок, що резистентність до флюконазолу в даного штаму забезпечується в основному ефлюксним механізмом. У штаму *C. albicans* спостерігали 8-кратне зниження MIC флюконазолу в присутності субінгібуючої концентрації хлорпромазину і лише 2-кратне – у присутності галоперидолу. При обох комбінаціях препаратів MIC флюконазолу були значно вищими від порогових для чутливих штамів за критеріями EUCAST. Тому можна висловити припущення про подвійну природу азолорезистентності штаму *C. albicans*: поєднання ефлюксного механізму резистентності з мутацією(ями) ферментів біосинтезу ергостеролу. На другий механізм хлорпромазин і галоперидол не впливають, що й пояснює порівняно меншу кратність зниження MIC флюконазолу в їх присутності.

З метою диференціації екстрактів з високою, слабкою і сумнівною протимікробною активністю нами застосовано достатньо чутливий мікрометод дифузії в агар. Цей же метод було адаптовано для скринінгу екстрактів на синергічну взаємодію з

флюконазолом. Аналогічні досліди дублювали на середовищах з субфунгістатичними концентраціями антимікотика ($1/4$, $1/8$ або $1/32$ MIC для кожного тест-штаму). Цей метод, безумовно, характеризується меншою чутливістю, порівняно з методом титрувальної панелі або аналізу динаміки кривих росту культур. Але він дозволяє одночасно протестувати велику кількість препаратів, щоб дискримінувати їх за активністю та відібрати найбільш перспективні з них для подальших досліджень.

Пряму протигрибкову активність відносно штаму *C. tropicalis* проявили 114 екстрактів із 166 досліджених ($68,7 \pm 0,28\%$), з них 74 екстракти ($44,6 \pm 0,30\%$) виявились високоактивними (d ЗЗР $>$ 10 мм). Протигрибкову активність відносно штаму *C. albicans* проявили лише 50 екстрактів із 166 досліджених ($30,1 \pm 0,28\%$), з них 26 екстрактів ($15,7 \pm 0,22\%$) виявились високоактивними (d ЗЗР $>$ 10 мм). У більшості протестованих рослинних екстрактів не спостерігалося виразного співпадіння антифунгальної активності стосовно обох тест-штамів грибів. Помітну пряму протигрибкову дію одночасно як відносно штаму *C. albicans*, так і відносно штаму *C. tropicalis* продемонстрували екстракти листків софори японської *Sophora japonica* L., слані мнію гостроконечного (мнію лісового) *Mnium cuspidatum* Hedw. (*M. silvaticum* Lindb.),

трави молочаю мигдалевидного *Euphorbia amygdaloides* L., чини чорної *Lathyrus niger* (L.) Bernh., буквиці лікарської *Betonica officinalis* L. s. l., квітів первоцвіту весняного *Primula officinalis* Hill., коренів ранника вузлуватого *Scrophularia nodosa* L.

Екстракти використаних у даному дослідженні рослин раніше були протестовані на антифунгальну активність відносно колекційного штаму *Candida albicans* ATCC 885-653 [10]. Стосовно цього штаму достовірну активність виявили 74 екстракти із 157 досліджених (27,4%), з них лише 16 (10,2%) були високоактивними. Проте слід констатувати факт, що спостерігаються істотні штамові відмінності у чутливості кандид до рослинних екстрактів. Тому, враховуючи поставлену мету дослідження, цілком виправданим є використання у даній роботі саме клінічних штамів грибів роду *Candida*, асоційованих із кандидозними протезними стоматитами.

При тестуванні рослинних екстрактів на середовищах з субфунгістатичними концентраціями флуконазолу діаметри ЗЗР культур грибів навколо лунок з рядом екстрактів були значно більшими, ніж у контрольних дослідах (на середовищі без антимікотика). При проведенню скринінгу на синергізм з флуконазолом, з 166 досліджуваних екстрактів, 23 з них проявили найбільшу протигрибкову активність (табл. 3). Це може свідчити про присутність у відповідних екстрактах сполук, здатних модифікувати резистентність кандид до антимікотиків триазолового ряду, зокрема флуконазолу. Виразний синергізм протигрибкової дії з $1/4$, $1/8$ або $1/32$ флуконазолу відносно *C. tropicalis* з ефлюксним механізмом резистентності до триазолів спостерігали у таких екстрактах: трави герані темної *Geranium phaeum* L. (збільшення d ЗЗР відповідно на 142%, 241% та 104%), гірчака зміїного *Polygonum bistorta* L. (158%, 124% та 161%), родовика лікарського *Sanguisorba officinalis* L. (138%, 112% та 67%), парила звичайного *Agrimonia eupatoria* L. (149%, 214% та 281%), ялиці звичайної *Aegopodium podagraria* L. (166%, 184% та 110%), пижма звичайного *Tanacetum vulgare* L. (553%, 551% та 129%), підмаренника м'якого *Galium mollugo* L. (308%, 217% та 283%), чебрецю звичайного *Thymus serpyllum* L. (95%, 86% та 37%), чорноголовки звичайної *Prunella vulgaris* L. (201%, 227% та 145%), молочаю мигдалевидного *Euphorbia amygdaloides* L. (177%, 129% та 182%), омели білої *Viscum album* L. (192%, 118% та 117%), листків смовди руської *Peucedanum ruthenicum* Vieb. (31%, 96% та 143%) і верби вужкатої *Salix aurita* L. (128%, 54% та 151%), квітів календули лікарської *Calendula officinalis* L. (збільшення d ЗЗР на 85%, 102% та 195%) і кермеку Мейєра *Limonium meyeri* (Boiss.) O. Kuntze (69%, 51% та 9%), квітів глоду одноматочкового *Crataegus monogyna* Jacq. (85%, 10% та 71%), коренів щавелю кінського *Rumex confertus* Willd. (155%, 168% та 87%), сідача коношлевого *Eupatorium*

cannabinum L. (346%, 178% та 196%), буркуна білого *Melilotus albus* Medik. (303%, 215% та 44%), чемериці білої *Veratrum album* L. (163%, 391% та 185%), кореневищ тирлича жовтого *Gentiana lutea* L. (163%, 213% та 13%) та плодів перцю чорного *Piper nigrum* L. (287%, 2% та 190%).

Рівень чутливості до флуконазолу штаму *C. albicans*, який характеризується комбінованим механізмом резистентності до триазолів, піддавався модифікації під впливом біологічно активних сполук рослинних екстрактів у значно меншій мірі. Синергізм протигрибкової дії з $1/4$, $1/8$ або $1/32$ флуконазолу відносно цього штаму спостерігали у екстрактах квітів календули лікарської *Calendula officinalis* L. (збільшення d ЗЗР відповідно на 4%, 93% та 95%) і рудбекії роздільнолистої *Rudbeckia laciniata* L. (0%, 83% та 124%), кореневищ перстача повзучого *Potentilla repens* L. (27%, 104% та 105%), трави (на 0%, 86% та 113%) і коренів (на 154%, 104% та 30%) парила звичайного *Agrimonia eupatoria* L., трави зозулиного льону звичайного *Polythridum commune* Hedw. (8%, 49% та 120%), леукобрію сизого *Leucobryum glaucum* (Hedw.) Aongstr. (0%, 110% та 85%), трави чебрецю звичайного *Thymus serpyllum* L. (240%, 62% та 69%), котячої м'яти транскавказької *Nepeta transcaucasica* Grossch. (55%, 138% та 122%), родовика лікарського *Sanguisorba officinalis* L. (49%, 69% та 62%), буркуна білого *Melilotus albus* Medik. (7%, 76% та 92%), слані ксанторії постінної *Xanthoria parietina* (L.) Bett. (135%, 84% та 55%) та плодів перцю чорного *Piper nigrum* L. (202%, 286% та 0%).

Здатність підвищувати чутливість до флуконазолу обох тест-штамів проявили екстракти квітів календули лікарської *Calendula officinalis* L., і рудбекії роздільнолистої *Rudbeckia laciniata* L., трави і коренів парила звичайного *Agrimonia eupatoria* L., трави чебрецю звичайного *Thymus serpyllum* L., листків горіха волоського *Juglans regia* L., слані ксанторії постінної *Xanthoria parietina* (L.) Bett.

Результати виконаних експериментів свідчать, що практично в усіх активних екстрактах інтенсивність виявленого синергічного ефекту при різних суббактеріостатичних концентраціях флуконазолу була не однакою. Ми спостерігали як виразний прямий дозозалежний ефект, так і інші варіанти прояву синергізму: зворотний дозозалежний ефект, стабільно однаковий синергізм при різних концентраціях флуконазолу, а також поодинокі прояви синергізму лише при певній концентрації флуконазолу (табл. 4). У зв'язку з цим вважаємо за необхідне звернути увагу, що основною метою виконаного скринінгу було проведення дискримінації екстрактів для відбору тих, які представлятимуть перспективу для подальшого тестування більш точним методом титрувальної панелі.

Таблиця 3
Антифунгальна активність рослинних екстрактів в присутності субфунгістатичних концентрацій флуконазолу відносно штамів *C. albicans* і *C. tropicalis* з різними механізмами резистентності (діаметри ЗЗР, мм)

Екстракти	Частина рослини	<i>C. albicans</i> (MIC FCZ 62,5 мкг/мл)				<i>C. tropicalis</i>			
		контроль (без FCZ)	FCZ (1/4 MIC)	FCZ (1/8 MIC)	FCZ (1/32 MIC)	контроль (без FCZ)	FCZ (1/4 MIC, 125 мкг/мл)	FCZ (1/8 MIC, 125 мкг/мл)	FCZ (1/32 MIC, 125 мкг/мл)
Контроль (90% етанол)		4,54±0,57	6,12±0,44	6,64±0,63	6,40±0,96	4,59±0,28	7,53±1,60	6,86±0,68	5,29±1,29
Календула лікарська. <i>Calendula officinalis</i> L.	квіти	5,40±0,71	5,63±0,56	10,55±1,40**	10,43±0,79**	5,81±0,90	17,19±4,59**	10,75±1,04**	11,79±2,87**
Рудбекия роздільнолиста	квіти	4,00±0,03	4,00±0,03	7,33±2,28	8,97±0,58*	4,94±1,06	11,55±1,97**	8,19±0,51*	10,82±3,84**
<i>Rudbeckia laciniata</i> L.									
Ромашка лікарська. <i>Matricaria recutita</i> L.	квіти	9,29±0,31	7,72±0,78	7,39±0,65	16,50±1,54**	6,15±1,52	26,85±1,77**	6,31±0,70	22,59±6,44**
Кермек Мейера	трава	7,23±1,97	6,70±0,77	7,28±0,91	13,38±0,91**	5,60±0,37	9,48±1,45*	8,48±2,56*	6,11±1,09
<i>Limonium meyeri</i> (Boiss.) O. Kuntze									
Глід однонаточковий	квіти	7,19±0,76	7,51±0,30	9,06±1,15*	10,35±1,96**	6,78±0,87	12,54±1,19**	7,49±1,02	11,57±2,58**
<i>Crataegus mongolica</i> Jacq.									
Перстач повзучий. <i>Potentilla repens</i> L.	трава	7,25±0,71	5,67±0,99	11,58±1,48**	11,63±0,65**	5,81±0,87	11,37±2,61**	8,06±0,77*	8,32±1,57*
Парило звичайне. <i>Agriomonia eupatoria</i> L.	трава	4,00±0,03	4,00±0,03	7,45±0,67	8,55±1,20*	3,39±0,66	8,46±0,76*	10,65±2,36**	12,92±1,97**
Парило звичайне. <i>Agriomonia eupatoria</i> L.	корені	5,61±0,93	14,28±0,48**	11,45±1,10*	7,29±2,07	6,69±1,86	9,45±2,76*	13,30±1,45**	13,77±3,31**
Родовик лікарський	трава	5,06±0,74	7,58±0,97	8,57±0,39*	8,24±2,08*	5,02±0,83	11,96±3,28**	10,67±3,41*	8,43±0,58*
<i>Sanguisorba officinalis</i> L.									
Чебрець звичайний (повзучий)	трава	4,96±1,39	16,91±2,81**	8,07±1,08*	8,39±1,59*	5,96±0,64	11,67±1,97**	11,12±2,18**	8,20±1,75*
<i>Thymus serpyllum</i> L.									
Сідач коноплевий. <i>Eupatorium cannabinum</i> L.	корені	7,46±0,99	9,52±0,62	5,18±0,72	4,91±0,71	4,15±0,66	18,53±3,18**	11,57±0,88**	12,31±2,87**
Буркун білий. <i>Melilotus albus</i> Medik.	трава	5,94±0,74	11,43±0,90**	6,37±0,85	10,51±1,39**	9,04±1,84	9,13±1,59	11,21±3,36	14,75±2,24*
Смольді руська. <i>Peucedanum ruthenicum</i> Bieb.	лістя	6,39±1,07	8,01±0,60*	9,04±0,82*	15,84±0,82**	5,80±0,60	14,12±0,89**	11,39±0,60**	7,61±1,97
Перець чорний. <i>Piper nigrum</i> L.	плоди	4,00±0,03	12,09±1,91**	15,47±1,39**	4,10±0,96	6,82±1,02	26,40±9,00**	6,96±2,06	19,82±5,55**
Софора японська. <i>Sophora japonica</i> L.	лістя	10,07±3,40	5,26±0,57	11,25±2,40	10,42±1,92	10,81±0,57	10,61±1,67	10,17±2,51	9,83±0,94
Верба вулпката. <i>Salix aurita</i> L.	лістя	7,40±1,06	4,63±0,20	13,77±0,87**	10,77±0,71*	5,26±0,10	11,77±0,55**	8,10±1,54*	13,20±3,18**
Горіх волосський. <i>Juglans regia</i> L.	лістя	6,59±1,19	12,68±1,43**	7,04±0,99	14,55±0,78**	6,59±1,19	11,67±7,52**	8,14±1,04	10,60±1,35*
Герань темна. <i>Geranium phaeum</i> L.	трава	9,33±2,45	8,62±2,04	8,82±0,44	5,61±1,11	5,45±0,48	13,19±1,31**	18,61±4,45**	11,13±1,16*
Кулина кильчаста	корені	16,64±1,94	9,92±1,23	13,97±1,54	11,45±1,04	6,00±0,48	9,84±3,08*	11,34±1,59**	9,52±2,67*
<i>Polygonatum verticillatum</i> L.									
Перстач сріблястий. <i>Potentilla repens</i> L.	корені	7,25±0,71	5,67±0,99	11,58±1,48*	11,63±0,65*	5,81±0,87	11,37±2,61*	8,06±0,77*	8,32±1,57
Зозулин льон звичайний	трава	7,43±2,31	8,06±0,55	11,11±0,83*	16,37±1,21**	9,40±0,87	7,19±1,62	10,33±1,11	6,56±0,65
<i>Polytrichum commune</i> Hedw.									
Левкобрія сізій	трава	7,05±0,68	6,41±0,76	14,84±1,21**	13,10±0,49**	9,20±1,04	10,18±1,25	10,90±1,88	12,52±1,22*
<i>Leucobryum glaucum</i> (Hedw.) Aongstr.									
Ксанторія постінна	сльня	3,90±0,86	9,19±1,34*	7,20±0,90	6,06±0,34	5,23±0,29	6,68±0,92	9,05±1,75*	11,34±1,16**
<i>Xanthoria parietina</i> (L.) Bett.									

Примітка: * – p < 0,05, ** – p < 0,01 при порівнянні з контролем (середовище без флуконазолу)

Таблиця 4

Характер флуконазол-потенціюючої дії рослинних екстрактів (n=166) відносно *C. albicans* і *C. tropicalis* з різними механізмами азолорезистентності

Порівняння синергічного ефекту екстрактів з FCZ відносно тест-штамів.				
	<i>C. albicans</i>		<i>C. tropicalis</i>	
	Абс. число екстрактів	%	Абс. число екстрактів	%
у 2 субфунгістатичних концентраціях FCZ	13	7,8±0,16	47	28,3±0,27**
у 3 субфунгістатичних концентраціях FCZ	3	1,8±0,08	44	26,5±0,27**
прямий дозозалежний ефект	5	3,0±0,10	37	22,3±0,25**
зворотний дозозалежний ефект	9	5,4±0,14	14	8,4±0,17
однаковий рівень синергізму при різних концентраціях	4	2,4±0,09	9	5,4±0,14
Співпадіння синергічного ефекту екстрактів з FCZ на 2 штамах				
	Абс. число екстрактів		%	
у 6 субфунгістатичних концентраціях FCZ	0		0	
у 5 субфунгістатичних концентраціях FCZ	8		4,8±0,13	
у 4 субфунгістатичних концентраціях FCZ	13		7,8±0,16	

Примітка: * – $p < 0,05$; * – $p < 0,01$ при порівнянні між штамами

Крім того, одержані нами результати вказують на принципово різний характер впливу рослинних екстрактів на штами кандид з різними механізмами азолорезистентності (табл. 4 і 5). Ефлюксий механізм резистентності до тріазолів (у тест-штаму *C. tropicalis*) більшою мірою піддається модифікації біологічно активними сполуками лікарських рослин. Стосовно тест-штаму штаму *C. albicans*, який поєднує ефлюксий механізм резистентності з мутацією(ями) ферментів біосинтезу ергостеролу, модифікуючий ефект рослинних екстрактів проявляється значно рідше і меншою мірою. Тому можна припустити, що саме мутації ферментів біосинтезу ергостеролу забезпечують високу стабільність фенотипічного прояву азолорезистентності кандид. Якщо це дійсно так, то встановлення механізму азолорезистентності клінічних ізолятів кандид може мати важливе значення для клінічної практики і бути принциповим для вирішення питання про подальшу терапевтичну тактику.

Обговорення результатів. Лікарські рослини є надзвичайно багатим природним джерелом біологічно активних сполук, у тому числі з антифунгальними властивостями [6]. З огляду на наростаючу резистентність грибів роду *Candida* до існуючих антисептиків та їх вкрай обмежений арсенал, дуже перспективним напрямком у боротьбі з опортуністичними кандидозами виглядає комбінована терапія, яка полягає у поєднаному застосуванні синергічних агентів. Цілий ряд фітосполук (передусім фенілпропаноїди, флавоноїди і терпеноїди) можна охарактеризувати як модифікатори протигрибкової резистентності [5, 6], які здатні нейтралізувати механізми набуті резистентності до класичних антифунгальних засобів. Синергізм з флуконазолом проявляють алкалоїди (берберин, тетрандрин), флавоноїди (байкалейн, кемпферол, кверцетин), терпеноїди (тимол, карвакрол, фарнезол, евгенол, ментол, ментон, карвон), а також магнолол, гонокіол, куркумін, метилциамальдегід, аліл-ізотіоціанат. При цьому доведено, що кемпферол [11], куркумін [12], тимол, карвакрол [13], фарнезол [14], ятрофанові і латиранові дитерпени [15] є інгібіторами ефлюксий помп резистентності до флуконазолу *C. albicans*. Карвакрол, евгенол, цинамальдегід проявляють синергізм з флуконазолом стосовно не тільки планктонного, але й біоплівкового росту. Ефірна олія чебрецю звичайного *Thymus*

vulgaris L. і присутній у ній тимол безпосередньо пригнічують планктонний та біоплівковий ріст *C. albicans* і *C. tropicalis*, проявляють у цьому відношенні виражений синергізм з флуконазолом та вищу здатність до ерадикації преформованих біоплівок кандид.

Виконані нами дослідження демонструють, що модифікатори резистентності кандид до флуконазолу можуть бути досить широко представленими в лікарських рослинах флори України, і це питання потребує подальшого глибокого вивчення, оскільки може мати важливе прикладне значення. Варто зауважити, що флавоноїди, кверцетин і кемпферол, а також терпенові сполуки є надзвичайно поширеними у рослинній сировині. Вважаємо це одним із пояснень факту, при проведенню скринінгу на синергізм з флуконазолом, з 166 досліджуваних екстрактів, 23 з них проявили найбільшу протигрибкову активність (див. табл. 3 і 5).

На наш погляд, при пошуку модифікаторів резистентності кандид до флуконазолу на особливу увагу заслуговують представники рослини родини Губоцвіті (*Lamiaceae*), в ефірних оліях яких широко представлені монотерпени. Синергізм дії з флуконазолом відносно резистентних штамів *C. albicans*, *C. tropicalis* і *C. glabrata* описано для ефірної олії м'яти перцевої *Mentha piperita* L. та присутніх у ній ментолу, ментону та карвону, ефірної олії чебреців *Thymus vulgaris* L., *Thymus maroccanus* Ball. і *Thymus broussonetii* Boiss. та присутнього в них тимолу, водно-етанольного екстрактів розмарину лікарського *Rosmarinus officinalis* L., метанольного і водного екстрактів листків базилика (василька) священного *Ocimum sanctum* L. Нами ж зареєстровано аналогічну дію водно-етанольних екстрактів трави котячої м'яти транскавказької *Nepeta transcaucasica* Grossch., буквиці лікарської *Betonica officinalis* L. s. l., чорноголовки звичайної *Prunella vulgaris* L., листків майорану садового *Origanum majorana* L. та підтверджено її для екстракту трави чебрецю звичайного (повзучого) *Thymus serpyllum* L.

У літературі є інформація, що інгібіторами ефлюксий помп резистентності до флуконазолу *C. albicans* є макроциклічні дитерпеноїди ятрофанового і латиранового типів ряду видів молочаїв: *Euphorbia squamosa* Willd. [15], *Euphorbia pubescens* Vahl., *Euphorbia mellifera* Ait. [15, 16].

Таблиця 5
Розподіл рослинних екстрактів (n=166) за їх здатністю підвищувати чутливість штамів *S. albicans* і *S. tropicalis* до субфунгістатичних концентрацій флуконазолу

% збільшення діаметрів ЗЗР	<i>S. albicans</i>						<i>S. tropicalis</i>					
	$1/4$ МІС FCZ		$1/8$ МІС FCZ		$1/32$ МІС FCZ		$1/4$ МІС FCZ		$1/8$ МІС FCZ		$1/32$ МІС FCZ	
	Абс. число екстрактів	%	Абс. число екстрактів	%	Абс. число екстрактів	%	Абс. число екстрактів	%	Абс. число екстрактів	%	Абс. число екстрактів	%
>150	3	1,8±0,08	1	0,6±0,05	0	0	36	21,7±0,25**	20	12,0±0,20**	17	10,2±0,18**
100-150	3	1,8±0,08	4	2,4±0,09	8	4,8±0,13	29	17,5±0,23**	21	12,7±0,20**	26	15,7±0,22**
Високий рівень синергізму												
70-100	6	3,6±0,11	6	3,6±0,11	5	3,0±0,10	26	15,7±0,22**	27	16,3±0,22**	19	11,4±0,19*
50-70	10	6,0±0,14	8	4,8±0,13	10	6,0±0,14	20	12,0±0,20*	26	15,7±0,22**	23	13,9±0,21*
Помірний синергізм												
30-50	9	5,4±0,14	11	6,6±0,15	11	6,6±0,15	14	8,4±0,17*	21	12,7±0,20*	40	24,1±0,26**
Слабкий (сумнівний) синергізм												

Примітка: * – $p < 0,05$; * – $p < 0,01$ при порівнянні між штамами.

Нами було помічено ознаки синергізму з флуконазолом відносно штаму *C. tropicalis* з ефлюксним механізмом азолорезистентності у екстрактів трави молочаю мигдалевидного *Euphorbia amygdaloides* L. та молочаю городнього (садового) *Euphorbia peplus* L., трави і особливо коренів молочаю гострого *Euphorbia esula* L., а у значно слабшій мірі – і у молочаю соняшного *Euphorbia helioscopia* L. та молочаю кипарисовидного *Euphorbia cyparissias* (L.) Scop. Цікаво, що ятрофанові дитерпени, присутні в *E. peplus* L. і *E. esula* L., а також ятрофани і латирани *Euphorbia helioscopia* L. описані як сильні інгібітори людських Р-глікопротеїнів (білків з родини мембранних АТФ-залежних АВС-транспорттерів) які забезпечують поліхіміорезистентність пухлинних клітин [15]. Тому молочаї флори України також слід розглядати як перспективне джерело для пошуку сполук – модифікаторів азолорезистентності кандид.

В цілому результати виконаного масштабного скринінгу несуть цінну інформацію про новий вид дії (здатність підвищувати чутливість резистентних штамів кандид до флуконазолу) цілого ряду офіційальних та неофіційальних лікарських і пряно-ароматичних рослин. У перспективі вони можуть стати сировиною для створення нових протигрибкових засобів та підвищення ефективності протигрибкової терапії.

З огляду на актуальність і невирішеність проблеми ефективної антифунгальної терапії опортуністичних інфекцій, викликаних стійкими до антимікотиків штамми грибів роду *Candida* представлені результати можна вважати обнадійливими. Вони покликані спрямувати подальші наукові дослідження в більш раціональне русло і у віддаленій перспективі можуть стати підставою для впровадження в клінічну практику стратегії комбінованої антифунгальної терапії. Адже підвищення доз чи поєднання двох протигрибкових препаратів не може вирішити проблеми, оскільки призводить до збільшення побічних ефектів або токсичності. Комбінована терапія вигідніша від монотерапії, оскільки вона може забезпечити більш ефективне знищення або пригнічення патогенів. При локалізованих поверхневих ураженнях (які мають місце на слизові оболонці протезного ложа при кандидозних протезних стоматитах) поєднаної дії синергічних агентів доволі легко досягнути: наприклад, застосовуючи системний антимікотик і місцевий засіб, який містить модифікатор резистентності грибів рослинного походження. Синергетична взаємодія підвищить терапевтичну ефективність лікарських засобів, зменшить ймовірність виникнення або подальшого розвитку резистентності, а також дозволить забезпечити зниження токсичності, пов'язаної з дозою.

Висновки:

1. Водно-етанольні екстракти лікарських та ароматичних рослин флори України мають пряму протигрибкову дію проти азолорезистентних *C. albicans* та *C. tropicalis* (44,6±0,30% та 15,7±0,22% досліджених екстрактів, відповідно), асоційованих із кандидозним протезним стоматитом, а також відновлюють чутливість до флуконазолу (44,6±0,30% та 15,7±0,22% екстрактів відповідно).

2. Ефлюксний механізм резистентності до флуконазолу у тест-штаму *C. tropicalis* більш сприйнятливий до модифікації біологічно активними

сполуками лікарських рослин (15,7±0,22% екстрактів виявили значний синергізм), ніж резистентність комбінованого типу в тест-штаму *C. albicans* (4,8±0,13% синергічних екстрактів).

3. Здатність підвищувати чутливість обох тест-штамів *Candida* до флуконазолу продемонстрували квіти *Calendula officinalis* L., *Rudbeckia laciniata* L., трава *Melilotus albus* Medik., трава та корені *Agrimonia eupatoria* L., трава *Thymus serpyllum* L., листки *Juglans regia* L., слань ксанторії постінної *Xanthoria parietina* (L.) Bett.

4. Найбільш перспективними для пошуку інгібіторів ефлюксних pomp резистентності *C. albicans* до флуконазолу є рослини родин Губоцвіті *Lamiaceae*, Молочайні *Euphorbiaceae* і Розові *Rosaceae*.

References:

1. Kushnirenko IV. Risk factors for the development of candidiasis of the mucous membrane of the upper gastrointestinal tract. The problem of antibiotic therapy. Journal "Gastroenterology". 2019; 53(2):9-17.
2. Montoya C, Kurylec J, Baraniya D, Tripathi A, Puri S, Orrego S. Antifungal Effect of Piezoelectric Charges on PMMA Dentures. ACS Biomater Sci Eng. 2021 Oct 11;7(10):4838-4846. doi: 10.1021/acsbomaterials.1c00926. Epub 2021 Oct 1. PMID: 34596379.
3. Nikolishina EV, Marchenko AV, Ilenko NM, Lytovchenko IYu. Local treatment of chronic candidal stomatitis. Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports. 2020; 2(24):121-123.
4. Bondar MV, Pylypenko MM, Svintukovsky MYu, Kharchenko LA, Prevysla OM, Tsvyk IM. Antibiotic resistance of microorganisms: Mechanisms of development and ways of prevention. - "Emergency medicine" journal. 2016; 3(74):11-17.
5. Liu Y, Wang W, Yan H, Wang D, Zhang M, Sun S. Anti-Candida activity of existing antibiotics and their derivatives when used alone or in combination with antifungals. Future Microbiol. 2019; 14(10):899-915 doi: 10.2217/fmb-2019-0076.
6. Lu M, Li T, Wan J, Li X, Yuan L, Sun S. Antifungal effects of phytochemicals on *Candida* species alone and in combination with fluconazole. Int J Antimicrob Agents. 2017 Feb; 49(2):125-136.
7. EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) Breakpoint tables for interpretation of MICs for antifungal agents. Version 10.0, 2020. Available from: <https://www.eucast.org/astoffungi/clinicalbreakpointsforantifungals/>
8. Yurchyshyn OI, Kurovets LM, Rusko GV. Study of antimicrobial and antibiotic potentiating properties of alcoholic plant extracts in relation to skin isolates of staphylococci - causative agents of pyoderma with different mechanisms of MLS-resistance. Biomedical and Biosocial Anthropology. 2016; 26:52-57.
9. Brilhante RS, Paiva MA, Sampaio CM, etc. Azole resistance in *Candida spp.* isolated from Catu Lake, Ceara, Brazil: an efflux-pump-mediated mechanism. Braz J Microbiol. 2016 Jan-Mar; 47(1):33-8. doi: 10.1016/j.bjm.2015.11.008.
10. Tymchuk IV, Kutsyk RV, Danileichenko VV, Korniyuchuk OP. Antifungal activity of water-ethanol extracts of medicinal plants against *Candida albicans*.

- Acta Medica Leopoliensia. Lviv Medical Journal. 2014; 20(1):88-94.
11. Shao J, Zhang MX, Wang TM, Li Y, Wang CZ. The roles of CDR1, CDR2, and MDR1 in kaempferol-induced suppression with fluconazole-resistant *Candida albicans*. Pharm Biol. 2016; 54(6):984-92.
 12. Sharma M, Manoharlal R, Shukla S, Puri N, Prasad T, Ambudkar SV, Prasad R. Curcumin modulates efflux mediated by yeast ABC multidrug transporters and is synergistic with antifungals. Antimicrob Agents Chemother. 2009 Aug; 53(8):3256-65.
 13. Ahmad A, Khan A, Manzoor N. Reversal of efflux mediated antifungal resistance underlies synergistic activity of two monoterpenes with fluconazole. Eur J Pharm 2013 Jan 23; 48(1-2):80-6.
 14. Sharma M, Prasad R. The quorum-sensing molecule farnesol is a modulator of drug efflux mediated by ABC multidrug transporters and synergizes with drugs in *Candida albicans*. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Oct; 55(10):4834-43. doi: 10.1128/AAC.00344-11.
 15. Rawal MK, Shokohinia Y, Chianese G, Zolfaghari B, Appendino G, Tagliatalata-Scafati O, Prasad R, Di Pietro A. Jatrophanes from *Euphorbia squamosa* as potent inhibitors of *Candida albicans* multidrug transporters. J Nat Prod. 2014 Dec 26; 77(12):2700-6. doi: 10.1021/np500756z.
 16. Nim S, Monico A, Rawal MK, Duarte N, Prasad R, A.Di Pietro, Ferreira M.-J.U. Overcoming Multidrug Resistance in *Candida albicans*: Macrocyclic Diterpenes from *Euphorbia* Species as Potent Inhibitors of Drug Efflux Pumps. Planta Med. 2016 Aug; 82(13):1180-5. doi: 10.1055/s-0042-106169.

UDC 615.451.1+633.83+615.282+616.31-002

**THE INFLUENCE OF MEDICINAL AND
AROMATIC PLANTS EXTRACTS ON THE
ANTIFUNGAL EFFECT OF FLUCONAZOLE
REGARDING *C. ALBICANS* AND *C. TROPICALIS*
ISOLATED FROM PATIENTS WITH DENTURE
STOMATITIS**

R.V. Kutsyk¹, T.Yu. Ohienko¹, A.O. Cheliy⁴,
Ya.V. Pyuryk², O. B. Haioshko³

*Ivano-Frankivsk National Medical University,
Ivano-Frankivsk, Ukraine,*

¹*Department of Microbiology Virology and Immunology,
ORCID ID: 0000-0001-9408-9074,
e-mail: rkutsyk@ifnmu.edu.ua;
ORCID ID: 0000-0002-9962-9823,
e-mail: tanyusha.ohienko@gmail.com;*

²*Department of Child Dentistry,
ORCID ID: 0000-0002-0280-8156,
e-mail: coyote2011@ukr.net;*

³*Department of Surgery Dentistry,
ORCID ID: 0000-0002-5357-2358,
e-mail: lenabog76@gmail.com;*

⁴*Private dentistry «Estet Studio»,
Ivano-Frankivsk, Ukraine,
ORCID ID: 0009-0006-4718-8508,
e-mail: cheliyantont@gmail.com*

Abstract. *Candida albicans* is one of the most common and virulent representatives of *Candida* fungi which causes fungal lesions of the mucous membranes predominantly in people with compromised immune system. *Candida* resistance to classical antifungals such as polyenes, azoles, allylamines is a serious practical problem. Imidazole and triazole are the most commonly used antifungal agents for candidiasis today. Their mechanism of action lies in the inhibition of ergosterol biosynthesis which is indispensable for maintaining the structural integrity of fungal cell membranes. Activation of elimination systems is often associated with changes in the structure of fungal membranes, leading to a decrease in the supply of azoles into the fungal cell. Screening of antifungal activity and synergism of antifungal activity of 166 aqueous-ethanol plant extracts with Fluconazole in relation to 2 clinical strains of *Candida* fungi (*C. albicans* and *C. tropicalis*) with different mechanisms of azole resistance isolated from patients with prosthetic stomatitis was conducted by means of agar diffusion method. The expressed direct antifungal activity of extracts of *Calendula officinalis* L. inflorescences, flowers of *Limonium platyphyllum* Lincz., flowers of *Grataegus monogyna* Jacq., roots of *Potentilla repens* L., the grass of *Melilotus albus* Medik, leaves of *Peucedanum ruthenicum* Bieb, leaves of *Rhus coriaria* L. and aerial part of *Polythridum commune* Hedw was determined in reference to the tested strains. Synergism of antifungal action with $1/4$, $1/8$ and $1/32$ of Fluconazole MIC (minimal inhibiting concentration) in relation to both test strains of yeast-like *Candida* fungi was demonstrated by the flowers of *Calendula officinalis* L, aerial part of *Melilotus albus* Medik. The main purpose of the screening was to discriminate extracts in order to select those that would be promising for further testing by a more accurate checkerboard titration method. The efflux mechanism of resistance to triazoles (in *C. tropicalis* test strain) is more susceptible to modification by biologically active compounds of medicinal plants. Regarding *C. albicans* test strain which combines the efflux mechanism of resistance with mutation(s) of ergosterol biosynthesis enzymes, the modifying effect of plant extracts is much less frequent and less pronounced. Therefore, it may be assumed that mutations of ergosterol biosynthesis enzymes provide high stability of the phenotypic manifestation of *Candida* azole resistance. Should that be the case, determining the azole resistance mechanism of *Candida* clinical isolates may be important for clinical practice. Combination therapy is more beneficial than monotherapy because it may provide more effective destruction or suppression of pathogens. The combined action of synergistic agents is quite easy to achieve in case of localized superficial lesions (which occur on the mucous membranes of the prosthetic bed in candidal prosthetic stomatitis): for example, using a systemic antifungal agent and a topical agent that contains a modifier of resistance of plant origin fungi. Synergistic interactions will increase the therapeutic efficacy of drugs, reduce the likelihood of resistance occurrence or further development, and will reduce dose-related toxicity.

Keywords: fungi of the genus *Candida*, plant extracts, fluconazole.

Стаття надійшла в редакцію 17.03.2023 р.
Стаття прийнята до друку 21.06.2023 р.