

**ТЕОРЕТИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ  
ПЕРСПЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ  
МЕТАБОЛІТНИХ КОМПЛЕКСІВ  
ЛАКТОБАКТЕРІЙ ТА САХАРОМІЦЕТІВ ЩОДО  
БОРОТЬБИ З  
АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЮ  
МІКРООРГАНІЗМІВ**

<sup>1</sup>Ісаєнко О. Ю., <sup>1</sup>Бабич Є. М., <sup>2</sup>Горбач Т. В.,  
<sup>3</sup>Півненко С. Ю., <sup>1</sup>Антушева Т. О.

<sup>1</sup>ДУ «Інститут мікробіології та імунології  
ім. І.І. Мечникова

Національної академії медичних наук України»

<sup>2</sup>Харківський національний медичний університет

<sup>3</sup>ДУ «Харківський обласний лабораторний центр  
Міністерства охорони здоров'я України»

В поточний час виникнення та поширення антибіотикостійкості мікроорганізмів прогресує. Бактерії, котрі проявляли чутливість до певних протимікробних засобів, стрімко набули резистентності. Незмінне зростання кількості ізолятів з антибактеріальною стійкістю є всесвітньою проблемою сьогодення. Її актуальність підтверджують Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ), Міністерство охорони здоров'я (МОЗ) України, тощо [1 – 3]. У 2017 році ВООЗ опублікувало список резистентних до дії антибіотиків "пріоритетних патогенів" («супермікробів»), до якого входять *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, різні види сімейства *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia*, *Proteus*) [4].

Мікроорганізми відрізняються за наявністю утвореної набутої стійкості до певної кількості антибактеріальних препаратів. Серед них є монорезистентні (стійкі до одного лікарського засобу однієї протимікробної групи). Такі ізоляти викликають незначну занепокоєність завдяки несуттєвому впливу на результати лікування. Важливе клінічне значення внаслідок зниження ефективності антибіотикотерапії мають штами з мультирезистентністю (MDR – нечутливість принаймні до одного засобу в трьох або більше групах протимікробних препаратів), розширеною медикаментозною резистентністю (XDR – бактеріальні ізоляти чутливі тільки до однієї або двох груп протимікробних препаратів) та панрезистентністю (PDR – нечутливість до всіх лікарських засобів всіх груп протимікробних препаратів). Внаслідок збільшення кількості резистентних ізолятів, міжнародними експертами були запропоновані стандартні визначення набутої стійкості, а саме MDR, XDR та PDR [5].

Основними механізмами резистентності мікроорганізмів є ферментативна інактивація антибактеріального препарату; послаблення здатності лікарського засобу проникати всередину мікробної клітини (порушення проникності зовнішніх структур бактеріальної клітини); зміна конформації внутрішньоклітинної мішені для антимікробного засобу, завдяки чому перешкоджається їхня взаємодія; збільшення кількості молекул мішені, на яку діє

певний антибіотик; виведення хіміопрепаратів із клітини за участю ефлюкських насосів. Встановлено, що множинна медикаментозна резистентність мікробних клітин пов'язана з зниженням їхньої проникності. Це найменш специфічний механізм лікарської стійкості, який спричиняє формування резистентності разом до кількох груп антибактеріальних препаратів. Серед різних причин порушення проникності зовнішніх структур мультирезистентних мікробних клітин найчастіше спостерігається повна / часткова втрата поринових білків. Переважно даний феномен відбувається не поодиночі. Відоме одночасне зниження кількості одного з поринових білків і підвищення активності однієї з систем активного виведення у мультирезистентних до тетрацикліну / хлорамфеніколу, бета-лактамів та хінолонів мікроорганізмів або втрата / зменшення кількості поринових білків спільно з продукцією бета-лактамаз розширеного спектру дії [6].

На сьогодні резистентні збудники спричиняють інфекційні захворювання, які щорічно призводять до 700000 смертельних випадків. До 2050 року (при збереженні подібної схильності) припускають збільшення цих даних до 10 мільйонів смертей, що перебільшить нинішній показник в 14,3 разів [7]. Мультирезистентні мікроорганізми частіше викликають кишкові хвороби, захворювання верхніх дихальних шляхів, ранові та хірургічні інфекції. Переважно завдяки метицилін-резистентним стафілококам, ентерококам, псевдомонадам та іншим ентеробактеріям [8]. Внаслідок збільшення кількості інфекційних захворювань, які виникають за участю "пріоритетних патогенів", протидія названим антибіотикорезистентним збудникам є сучасною актуальною світовою проблемою [5]. Заходи щодо обмеження поширення антибіотикостійких збудників повинні бути спрямовані як на попередження формування резистентних популяцій мікроорганізмів так і на інгібування вже сформованих популяцій.

**Мета роботи** – обґрунтувати перспективність застосування метаболітних комплексів лактобактерій та сахароміцетів щодо боротьби з антибіотикорезистентністю бактерій завдяки вивченню комбінованої дії метаболітів з антибіотиками відносно мультирезистентних умовно-патогенних та патогенних штамів мікроорганізмів.

#### **Матеріали і методи**

Клітинні структури пробіотичних штамів лактобактерій та сахароміцетів одержували завдяки опроміненню низькочастотними ультразвуковими хвилями (генератор ГЗ-109) суспензій *Lactobacillus rhamnosus GG* (з симбіотику PREEMA®, Schonen, Швейцарія) та *Saccharomyces boulardii* (з пробіотичного препарату BULARDI®, Schonen, Швейцарія) [9]. Метаболітні комплекси (екзометаболіти / продукти життєдіяльності) *L. rhamnosus GG* та *S. boulardii* отримували культивуванням суспензій лактобактерій та/або сахароміцетів у зазначених клітинних структурах за способами [9, 10].

Дослідний матеріал фільтратів пробіотичних штамів мікроорганізмів представлено шістьма зразками: клітинні структури лактобактерій / сахароміцетів (L / S), метаболітні комплекси лактобактерій (ML) / сахароміцетів (MS), отримані вирощуванням мікробних клітин продуценту у власних клітинних структурах; комбінація метаболітного комплексу лактобактерій із сахароміцетами (MLS), одержана культивуванням спільних суспензій *L. rhamnosus GG* та *S. boulardii* у клітинних структурах лактобактерій; оригінальний метаболітний комплекс сахароміцетів (LS), отриманий вирощуванням мікробних клітин продуценту в клітинних структурах лактобактерій.

Тест-культури: циркулюючі антибіотикорезистентні штами мікроорганізмів, а саме грамнегативні *Pseudomonas aeruginosa PR*, *Acinetobacter baumannii PR*, *Klebsiella pneumoniae PR*, *Lelliottia amnigena (Enterobacter amnigenus) PR*, грампозитивні *Staphylococcus aureus PR*, *Staphylococcus haemolyticus PR*, *Enterococcus faecalis PR*, *Corynebacterium xerosis PR*, а також представники *Corynebacterium spp. tox +*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pneumoniae*), отримані із колекції музею мікроорганізмів ДУ «ІМІ НАМН», м. Харкова. Для дослідження використовували добові культури, вирощені на регламентованих живильних середовищах [11]. Суспензії мікроорганізмів готували за допомогою 0,9 % фізіологічного розчину натрію хлориду. Оптичну щільність проб готували за шкалою McFarland, використовуючи прилад Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema Diagnostika (Чехія)). Синхронізацію культур здійснювали в гіпотермічних умовах при  $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ .

Формування набору антибактеріальних препаратів для оцінки чутливості мікроорганізмів проводили згідно з методичними наказами, рекомендаціями та міжнародними положеннями: [11, 12]. До експерименту взято представники із різних груп антимікробних засобів: першого ряду та додаткові препарати.

Для визначення чутливості токсигенних представників роду *Corynebacterium* взято антибіотики із груп: карбапенемів – іміпенем, глікопептидів – ванкоміцин, цефалоспоринів – цефотаксим, аміноглікозидів – гентаміцин, макролідів – еритроміцин, фторхінолонів – цiproфлоксацин.

Вивчення впливу метаболітних комплексів *L. rhamnosus GG* та *S. boulardii* на чутливість *P. aeruginosa PR* проводили відносно до гентаміцину, аміцилу, цiproфлоксацину, цефотаксиму, еритроміцину, левоміцетину, *A. baumannii PR* – цiproфлоксацину, цефотаксиму, левоміцетину, гентаміцину, аміцилу, ампіциліну, цефтазидиму, *K. pneumoniae PR* – гентаміцину, аміцилу, цефтріаксону, ампіциліну, левоміцетину, тетрацикліну, *L. amnigena (E. amnigenus) PR* – левофлоксацину, цефтріаксону, ампіциліну, амоксицилаву, аміцилу, цiproфлоксацину, *S. aureus* та *S. haemolyticus* – азитроміцину, левофлоксацину, *E. faecalis* – левофлоксацину, ампіциліну, *C. xerosis* – ампіциліну, азитроміцину,

*S. viridans* – ампіциліну, ванкоміцину, *S. pneumoniae* – ванкоміцину, левофлоксацину.

Дослідження чутливості культур до антибіотиків та метаболітних комплексів *L. rhamnosus GG* та *S. boulardii* проводили за загальноприйнятою методикою [11]. Відмінності полягали в попередньої інкубації культур бактерій з дослідними речовинами *L. rhamnosus GG* та *S. boulardii*. Так, суспензії штамів з оптичною щільністю 5,0 одиниць за шкалою McFarland додавали до метаболітних комплексів (дослідні проби), або до 0,9 % розчину натрію хлориду (контрольні проби) у співвідношенні 1:1. Всі зразки витримували протягом 1 години при температурі  $(+35 \pm 1)^\circ\text{C}$ , після чого оптичну щільність дослідних і контрольних проб доводили до 0,5 одиниць за шкалою McFarland згідно з вимогами методичних рекомендацій [11, 12]. Висів матеріалу зі зразків здійснювали на середовище Мюллера–Хінтона. На засіяну поверхню середовища накладали стандартні диски з антибіотиками, інкубували при температурі  $(+35 \pm 1)^\circ\text{C}$  впродовж 24 годин. Облік результатів проводили шляхом вимірювання зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків з антибіотиками.

Результати експериментальних досліджень обробляли за допомогою програми Statistica 8.0 (StatSoft Inc., USA). Обчислювали середнє арифметичне ( $\bar{x}$ ) і стандартне відхилення середнього арифметичного (SD). Достовірність відмінностей між отриманими даними визначали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA. Вірогідною враховували різницю дослідних проб відносно контрольних при значеннях  $P < 0,05$  з урахуванням поправки Бонферроні.

## Результати та обговорення

Підвищення протимікробної активності спостерігалось при почерговому впливі дослідних фільтратів та різних антибіотиків відносно антибіотикорезистентних штамів (*P. aeruginosa PR*, *A. baumannii PR*, *K. pneumoniae PR*, *L. amnigena (E. amnigenus) PR*, *S. aureus PR*, *S. haemolyticus PR*, *E. faecalis PR*, *C. xerosis PR*) та *Corynebacterium spp. tox +* (Рис. 1). Серед названих мікроорганізмів наявні чутливі бактерії до окремих лікарських препаратів та стійкі ізоляти щодо певних медикаментозних засобів. Спільна протимікробна дія проявлялася збільшенням антибактеріальної ефективності дослідних речовин до терапевтично значимих показників або тенденцією до підвищення комбінованого впливу. Потенціювання антибактеріальної активності при комбінованому послідовному вживанні дослідних проб з обраними антибактеріальними препаратами відбувалося у 88 % комбінацій з ML, 83 % – з MLS, 85 % – з MS, 73 % – з LS відносно обраних збудників. При спільному застосуванні експериментальних речовин ML з лікарськими засобами в 11,9 % впливу не чинилося.

Підвищення протимікробної активності не спостерігалось при поєднанні жодного із дослідних фільтратів з 5 лікарськими засобами (гентаміцин, аміцил, ампіцилін, цефтазидим відносно *A. baumannii PR* та левофлоксацин стосовно *S. aureus*) при загальній кількості випробуваних комбінацій антибіотик –

мікроорганізм – 42. Наявність великої кількості комбінацій метаболітний комплекс + бактерія – антибіотик з можливістю підвищувати антибактеріальну активність дослідних речовин

свідчить про високу ефективність спільного використання метаболітів *L. rhamnosus* GG і *S. boulardii* з різними лікарськими препаратами.

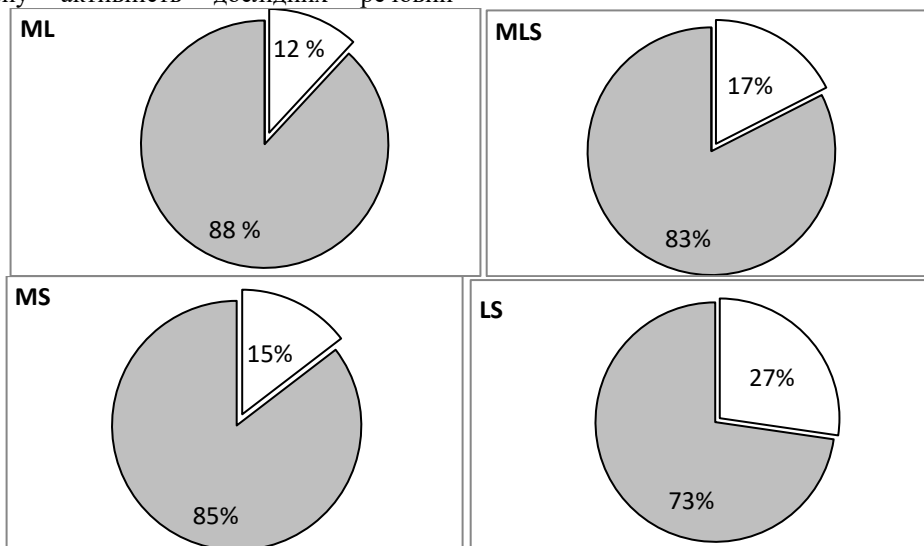


Рис. 1 Комбінована протимікробна активність відносно різних штамів *P. aeruginosa* PR, *A. baumannii* PR, *K. pneumoniae* PR, *L. amnigena* (*E. amnigenus*) PR, *S. aureus* PR, *S. haemolyticus* PR, *E. faecalis* PR, *C. xerosis* PR, *Corynebacterium spp. tox* + дослідних речовин *Lactobacillus rhamnosus* GG і *Saccharomyces boulardii* з різними антибактеріальними препаратами (n = 42).

Примітки: ML або MS – метаболітні комплекси лактобактерій або сахароміцетів, отримані вирощуванням мікробних клітин продуценту у власних клітинних структурах; MLS – комбінація метаболітного комплексу лактобактерій із сахароміцетами, одержана культивуванням спільних суспензій *L. rhamnosus* GG та *S. boulardii* у клітинних структурах лактобактерій; LS – метаболітний комплекс сахароміцетів, отриманий вирощуванням мікробних клітин продуценту в клітинних структурах лактобактерій; ■ – наявність синергії: присутність підвищення протимікробної активності відносно до загальної кількості випробуваних комбінацій метаболітний комплекс – антибіотик; □ – відсутність синергії: відсутність підвищення протимікробної активності відносно до загальної кількості випробуваних комбінацій метаболітний комплекс – антибіотик.

В пробах комбінацій метаболітний комплекс – антибіотик та клітинні структури – антибіотик, які проявили синергізм (кількість антибактеріальних препаратів 37), наявний достовірно різний ступінь активності дослідних речовин відносно один до другого щодо патогенних коринебактерій та мультирезистентних умовно-патогенних грамнегативних і грампозитивних штамів мікроорганізмів (Рис. 2). Перевагу за загальним збільшенням діаметрів зон пригнічення росту всіх випробуваних збудників мали проби ML перед L (P=0,005), MLS перед L (P=0,008). Ці результати свідчать про статистично достовірно більше інгібування росту обраних штамів при поєднанні антибіотиків з метаболітними комплексами ніж з клітинними структурами. Відмінне потенціювання відбувалося при комбінуванні різних антибактеріальних препаратів (n = 37) з ML (на 5,5±0,7 мм, P<0,05), MLS (на 4,95±0,6, P=0,01) та MS (на

3,96±0,6, P=0,001) відносно контролю. Слід звернути увагу, що тенденція до більшої кількості проб з посиленою антибактеріальною дією спостерігалася при поєднанні з MS (85 %) ніж MLS (83 %) (Рис. 1), але більше інгібування росту штамів, навпаки, вище з MLS ніж MS (P=0,02) (Рис. 2). Іншими словами, потенціювання частіше відбувалося при комбінуванні антибіотиків з MS, проте статистично достовірна інтенсивніша протимікробна дія чинилася з MLS. Вірогідної різниці між ефективностями метаболітних комплексів ML та MLS не встановлено (P=0,09) (Рис. 2). Дані показники свідчать про терапевтичну значимість щодо застосування цих дослідних речовин з різними антибактеріальними препаратами по відношенню до різних штамів, зокрема патогенних коринебактерій, антибіотикорезистентних грамнегативних і грампозитивних збудників захворювань.

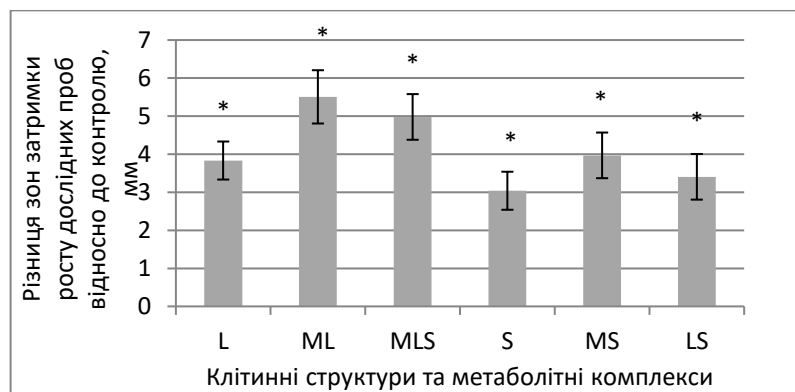


Рис. 2 Загальні діаметри зон пригнічення росту штамів *P. aeruginosa* PR, *A. baumannii* PR, *K. pneumoniae* PR, *L. amnigena* (*E. amnigenus*) PR, *S. aureus* PR, *S. haemolyticus* PR, *E. faecalis* PR, *C. xerosis* PR, *Corynebacterium spp.* tox + до різних антибактеріальних препаратів (n = 37) у комбінуванні з клітинними структурами та метаболітними комплексами *Lactobacillus rhamnosus* GG і *Saccharomyces boulardii*.

Примітки: \* – різниця дослідних щодо контрольних проб статистично значуща (P < 0,05).

На підставі отриманих результатів стосовно ефективності комбінованого вживання антибактеріальних препаратів з метаболітними комплексами можна підсумувати перспективу застосування останніх за декількома спрямуваннями. На сьогодні надто актуальне обмеження поширення антибіотикостійких збудників [13 – 14]. Це можливо за двома напрямками: попередження формування резистентних популяцій мікроорганізмів та інгібування сформованих стійких популяцій. За однією із зазначених направностей, а саме подолання резистентності мікроорганізмів, можливо успішне використання метаболітних комплексів лактобактерій та сахароміцетів. Штами мікроорганізмів (грамнегативні та грампозитивні), стійкі до антибактеріальних препаратів, проявили чутливість до останніх при комбінованому вживанні з ними метаболітних комплексів, що представлено в окремих публікаціях [15 – 17]. Це свідчить про можливість фільтратів лактобактерій та сахароміцетів призупиняти / долати / усувати прояв стійкості збудників до окремих виробничих засобів. Із вище представлених результатів наявний широкий спектр дії дослідних речовин відносно різних штамів збудників інфекційних захворювань та різних за групами і механізмами дії антибіотиків. Таким чином, перший напрямок застосування метаболітних комплексів лактобактерій та сахароміцетів, отриманих за авторськими способами, – це інгібування / призупинення / долання / усунення резистентності бактерій вже сформованих антибіотикостійких популяцій.

За другим напрямком, а саме уповільнення розвитку резистентності мікроорганізмів до антибактеріальних засобів, також допустиме успішне використання метаболітних комплексів. Призупинення утворення резистентності бактерій до виробничих лікарських препаратів можливо внаслідок отриманих результатів відносно наступних штамів бактерій. Взяті в дослід обидві культури *Streptococcus* (*S. viridans* та *S. pneumoniae*) володіли чутливістю до обраних антибактеріальних препаратів (ампіциліну,

ванкоміцину, левофлораксацину). Додавання біологічно активних речовин пробіотичних мікроорганізмів при вживанні лікарських засобів підвищували сприйнятливість тест-штамів стрептококів відносно останніх. Ці результати співпадають з даними достовірного та терапевтично значущого підвищення метаболітами сприйнятливості до антибіотиків представників патогенних коринебактерій, які мали початкову високу чутливість до антибактеріальних засобів [18]. Вплив метаболітних комплексів на сприйнятливості культури, окрім збільшення чутливості, може обумовлювати припинення розвитку резистентності збудників інфекційних захворювань. Подолання / уповільнення / призупинення утворення / контролювання антибіотикостійкості мікроорганізмів метаболітними комплексами лактобактерій та сахароміцетів можливо внаслідок їхньої спроможності впливати на резистентність культур, що доведено в експериментальних дослідженнях на мультирезистентних штаммах.

Отримані результати щодо підвищення комбінованої протимікробної активності дослідних речовин *L. rhamnosus* GG і *S. boulardii* з різними антибактеріальними препаратами відносно різних культур резистентних умовно - патогенних та патогенних мікроорганізмів частково співпадають з даними інших дослідників. Відомо потенціювання протимікробної активності антибіотиків (азтреонаму, амікацину, меропенему, ципрофлоксацину) штамми *L. rhamnosus* / *S. boulardii* / *S. faecalis* / *L. acidophilus* відносно 71,87 % референтних та циркулюючих культур *P. aeruginosa* [19]. В наступному повідомленні встановлено збільшення зон інгібування росту *S. aureus* в 84,37 % проб, відсутність змін – у 12,5 % та зменшення – в 3,12 % зразків антибіотиками (амоксациліном / клавуланатом азитроміцином, ципрофлоксацином) у поєднанні із зазначеними вище пробіотичними мікроорганізмами (*L. rhamnosus*, *S. boulardii*, *S. faecalis* і *L. acidophilus*) [20]. Підвищення протимікробної дії комбінацій з різними лікарськими препаратами та високий ступінь ефективності відповідають власним результатам. Відмінності полягають в застосуванні авторами цілих мікробних

клітин пробіотичних штамів мікроорганізмів. А також відсутність даних щодо їхнього поєднаного вживання з антибіотиками відносно резистентних культур. Обробка сприйнятливих ізолятів сприяє більш суттєвій чутливості тест-штамів мікроорганізмів відносно антибактеріальних препаратів, що може бути спрямовано на призупинення розвитку резистентності збудників інфекційних захворювань. Відома здатність підвищувати сприйнятливість *E. faecalis* поєднаним вживанням нізину з пеніциліном або хлорамфеніколом: порушення ентерококів відбувалося будь-яким антибіотиком у поєднанні з нізином, що встановлено за допомогою електронної мікроскопії [21].

Наряду з зазначеним, наявне комбіноване застосування продуктів життєдіяльності пробіотичних мікроорганізмів з медикаментозними препаратами відносно антибіотикорезистентних збудників. Так, нізин з рамопланином проявив ефективність відносно різних ізолятів антибіотикостійких штамів стафілококів та ентерококів [22]. Даними авторами також запропоновано модифікування комбінацій нізину з антибіотиками завдяки додатковому додаванню пептидоглікану, який є модулятором, задля більш ефективної боротьби із стійким до метициліну золотистим стафілококом та резистентними до ванкомицину ентерококами [22]. Підвищення комбінованої протимікробної дії проти метицилінрезистентного стафілококу встановлено для лізостафіну (стафілокоцин) із поліміксином В [23] та раналексином [24]. В наступному повідомленні доведена здатність біологічно активних речовин руйнувати негативно заряджені зовнішні мембрани резистентних грамнегативних мікроорганізмів [25]. Наслідком зазначеного є можливість проникати раніше непроникним молекулам, а саме антибактеріальним препаратам. При поєднанні нізину з ципрофлоксацином спостерігався протимікробний ефект відносно трьох із п'яти ізолятів стійких та сприйнятливих до метициліну *Staphylococcus aureus*. А синергізм при взаємодії нізин – ванкоміцин встановлен до двох із п'яти штамів стафілококів [26]. Ці дані, щодо протимікробної ефективності відносно резистентних мікроорганізмів, поступають власним результатам.

Таким чином, властивості метаболітичних комплексів лактобактерій та сахароміцетів щодо інгібування антибіотикостійкості бактерій вже сформованих популяцій та ймовірність уповільнення формування резистентних популяцій мікроорганізмів доводять перспективність їхнього використання при конструюванні багатоспрямованих протимікробних препаратів з врахуванням зазначених в даній роботі актуальних напрямків вживання.

## Висновки

Результати наведених експериментальних досліджень довели наявність вірогідного підвищення спільної протимікробної активності фільтратів лактобактерій та сахароміцетів з антибактеріальними препаратами при почерговому їхньому впливі на мікроорганізми. Зазначений прояв ефективності відносно різних за сприйнятливістю до антибіотиків

штамів свідчить про перспективність можливого використання метаболітичних комплексів лактобактерій та сахароміцетів для конструювання поліфункціональних протимікробних препаратів з врахуванням зазначених актуальних напрямків їхнього застосування, а саме інгібування антибіотикостійкості бактерій вже сформованих популяцій та ймовірність уповільнення формування резистентних популяцій мікроорганізмів.

## Theoretical confirmation of prospectivity of application of metabolic complexes of lactobacilli and saccharomycetes in the fight antibiotic resistance of bacteria

Isayenko O. Yu., Babich Y. M., Gorbach T. V., Pivnenko S. Yu., Antusheva T. O.

**Introduction.** The global problem is the increase in the number of infectious diseases caused by antibiotic-resistant pathogens. Measures to control these microorganisms should be aimed at preventing the formation of antibiotic-resistant populations of microorganisms and at inhibiting already established resistant populations. The aim of the work is to substantiate the perspective of using metabolic complexes of lactobacilli and saccharomycetes to control antibiotic resistance of bacteria. **Material & methods.** Cellular structures of lactobacilli and saccharomycetes (L / S) were received by irradiation with low-frequency ultrasonic waves (generator G3–109) of suspensions of *Lactobacillus rhamnosus* GG (from symbiotic PREEMA®, Schonen, Switzerland) and *Saccharomyces boulardii* (from probiotic drug BULARDI®, Schonen, Switzerland). The metabolites of *L. rhamnosus* GG (ML) and *S. boulardii* (MS) were received in their own cellular structures. The combination of lactobacilli with saccharomycetes (MLS) and metabolites of saccharomycetes (LS) in the cellular structures of lactobacilli. Suspensions of microorganisms (resistant to antibiotics) gram-negative *Pseudomonas aeruginosa* PR, *Acinetobacter baumannii* PR, *Klebsiella pneumoniae* PR, *Lelliottia amnigena* (*Enterobacter amnigenus*) PR, gram-positive *Staphylococcus aureus* PR, *Staphylococcus haemolyticus* PR, *Enterococcus faecalis* PR, *Corynebacterium xerosis* PR, the cultures *Corynebacterium spp. tox +*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pneumoniae* with an optical density of 5.0 units on the McFarland scale (Densi-La-Meter (PLIVA–Lachema Diagnostika, (Czech Republic)) was added to L / S / ML / MLS / MS / LS (experimental samples) or to 0.9% sodium chloride solution (control samples) in a ratio of 1: 1. All samples were incubated for 1 hour at a temperature of + 35 ± 1 ° C, then the optical density was adjusted to 0.5 McFarland. Sowing was carried out on Mueller–Hinton medium. After disks with antibiotics (imipenem, vancomycin, cefotaxime, gentamicin, erythromycin, ciprofloxacin, amoxicillin, chloramphenicol, ampicillin, ceftazidime, ceftriaxone, tetracycline, levofloxacin, amoxiclav, azithromycin), incubated (35 ± 1 ° C, 24 hours), measured the zones of growth retardation of microorganisms around the discs with antibiotics. **Results & discussion.** Potentiation of antimicrobial activity in the combined use of experimental samples with

antibacterial drugs occurred in 88% of combinations with ML, 83 % – with MLS, 85 % – with MS, 73 % – with LS. Without increase in activity was substances with gentamicin, ampicillin, ceftazidime were administered against *A. baumannii* PR and with levofloxacin against *S. aureus*. Samples of ML over L ( $P = 0,005$ ) and MLS over L ( $P = 0,008$ ) had the advantage of a general increase in the diameters of the zones of growth inhibition of all tested pathogens. These results indicate a statistically significantly greater inhibition of growth of selected strains when combining antibiotics with metabolic complexes than with cellular structures. Excellent enhancement was observed when combining different antibacterial drugs with ML (on  $5,5 \pm 0,7$ ,  $P < 0,05$ ), MLS (on  $4,95 \pm 0,6$ ,  $P = 0,01$ ) and MS (on  $3,96 \pm 0,6$ ,  $P = 0,001$ ) relative to control. More inhibition of growth was observed of antibiotics with MLS than with MS ( $P = 0,02$ ). A difference between the efficacies of the metabolic complexes ML and MLS was not found ( $P = 0,09$ ). The presence of a large number of combinations of metabolic complex – antibiotic with the ability to therapeutically significant indicators to increase the antibacterial activity testifies the effectiveness of the combined use of metabolites *L. rhamnosus* GG and *S. boulardii* with different drugs. **Conclusion.** Theoretically confirmed of perspective of application of metabolic complexes of lactobacilli and saccharomycetes in the fight against antibiotic resistance of bacteria. Synergistic combinations of lactobacilli and saccharomycetes with antibiotics have been established. A therapeutically significant increase in their combined antimicrobial activity has been proven. This efficacy for different antibiotic-resistant strains indicates the perspectives of using metabolic complexes of lactobacilli and saccharomycetes to develop multifunctional antimicrobials preparations with consequence the possibility of inhibiting antibiotic resistance to already formed bacterial populations and at preventing the formation of antibiotic-resistant populations of microorganisms.

**Key words:** lactobacilli; saccharomycetes; multidrug-resistant microorganisms; potentiation of antibiotics; combinations metabolites with antibiotics; synergistic antibacterial activities.

## References

1. Anderson M., Mossialos, E. Strengthening implementation of antimicrobial resistance national action plans. World Health Organization. Regional Office for Europe. *Eurohealth*. 2020. 26 (1). 3 – 7. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332442>
2. Eurohealth: tackling antimicrobial resistance. World Health Organization. Regional Office for Europe. *Eurohealth*. 2020. 26 (1). URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331653>
3. Renwick, M. & Mossialos, E.. Fostering clinical development and commercialisation of novel antibiotics. *Eurohealth*. 2020. 26 (1). 8 – 11. World Health Organization. Regional Office for Europe. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332478>

4. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. (2017). WHO, News Releas. URL: <http://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
5. Magiorakos A. P., Srinivasan A., Carey R. B., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012. 18(3). 268–81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
6. Strachunsky L. S., Belousov Yu. B., Kozlov S. N. Practical Guide to Anti-Infectious Chemotherapy. M.:Borges, 2002.379 p.
7. Nicolaou K., Rigol S. A brief history of antibiotics and select advances in their synthesis. *J Antibiot*. 2018. 71. 153–184. doi:10.1038/ja.2017.62
8. Plotkin L. L., Molchanova I. V., Chumakov P. G., et al. The infection caused by *Acinetobacter baumannii* in the intensive care units of a general hospital. *Messenger of anesthesiology and resuscitation. Anesthesiology and reanimatology (rus)*. 2017. 14(6). 22–27. doi:10.21292/2078-5658-2017-14-6-22-27
9. UA. Patent. N. 126603. Isayenko, O. Y., Knysh, O. V., Babych, Y. M., Poljans'ka, V. P., Zachepylo, S. V., Vashchenko, V. L., Kovalenko, O. I., & Balak, O. K. A method of obtaining a combination of metabolites of probiotic strains of fungi and bacteria.
10. UA. Patent. N. 123122. Isayenko, O. Y., Knysh, O. V., Babych, Y. M., Kivva, F. V., Gorbach, T. V. & Balak, O. K. Method of obtaining metabolites of probiotic strains of bacteria.
11. Order of Ukraine On Approval of Methodical Instructions "Determination of Sensitivity of Microorganisms to Antibacterial Drugs" № 167. 2007
12. MIC and zone diameter distributions and ECOFFs. EUCAST. URL: [https://www.eucast.org/mic\\_distributions\\_and\\_ecoff/s/](https://www.eucast.org/mic_distributions_and_ecoff/s/)
13. Frickmann H., Klenk C., Warnke P., et al. Influence of probiotic culture supernatants on in vitro biofilm formation of staphylococci. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 2018. 8(4). 119-127. doi: 10.1556 / 1886.2018.00022
14. Al-Malkey M. K., Munira Ch. I, Abo Al-Hur, F. J., et al. Antimicrobial effect of probiotic Lactobacillus spp. on *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Contemporary Medical Sciences*. 2017. 3(10). 218–223
15. Isayenko O. Y., Knysh O. V., Babych Y. M., et al. Effect of disintegrates and metabolites of Lactobacillus rhamnosus and Saccharomyces boulardii on biofilms of antibiotic resistant conditionally pathogenic and pathogenic bacteria. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2019. 10(1). 3–8. <https://doi.org/10.15421/021901>
16. Isayenko O. Y., Knysh O. V., Kotsar O. V., et al. Simultaneous and sequential influence of metabolite complexes of *Lactobacillus rhamnosus* and *Saccharomyces boulardii* and antibiotics against poly-resistant Gram-negative bacteria. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2020. 11(1). 139–145. doi:10.15421/022021

17. Isayenko O. Yu., Kotsar O. V. Minimum inhibitory and bactericidal concentrations of antibacterial drugs separately and together with metabolic complexes of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Saccharomyces boulardii*. Challenges of medical science and education: an experience of eu countries and practical introduction in Ukraine. «Baltija Publishing». 2020. DOI:10.30525/978-9934-588-64-8-9
18. Isayenko O. Y. Synergistic activity of filtrates of *Lactobacillus rhamnosus* and *Saccharomyces boulardii* and antibacterial preparations against *Corynebacterium* spp. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2019. 10(4). 445-456. doi:10.15421/021966
19. Sharma, J., Chauhan, D. S. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by antibiotics and probiotics combinations – In vitro study. European Journal of Experimental Biology. 2014. 4(6). 10–14.
20. Sharma J., Chauhan, D. S. In vitro study on the role of probiotic strains in potentiation of antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. International Journal of Pharmacy & Life Sciences. 2015. 6(1). 4161–4165.
21. Tong Z., Zhang Y., Ling J., et al. An *in vitro* study on the effects of nisin on the antibacterial activities of 18 antibiotics against *Enterococcus faecalis*. PLOS ONE. 2014. 9(2). e89209. doi: 10.1371/journal.pone.0089209
22. Brumfitt W., Salton M. R., & Hamilton–Miller J. M. Nisin, alone and combined with peptidoglycan–modulating antibiotics: activity against methicillin–resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin–resistant enterococci. J. Antimicrob. Chemother. 2002. 50. 731–734. doi: 10.1093/jac/dkf190
23. Polak J., Della Latta P. & Blackburn P. In vitro activity of recombinant lysostaphin-antibiotic combinations toward methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Diagn Microbiol Infect Dis. 1993.17. 265–270.
24. Graham S. Coote P .J. Potent, synergistic inhibition of *Staphylococcus aureus* upon exposure to a combination of the endopeptidase lysostaphin and the cationic peptide ranalexin. J Antimicrob Chemother. 2007. 59. 759–762.
25. Zabawa T. P., Pucci M. J., Parr T. R., Lister T. Treatment of Gram–negative bacterial infections by potentiation of antibiotics. Current Opinion in Microbiology. 2016. 33. 7–12. doi: 10.1016/j.mib.2016.05.005
26. Dosler S., Gerceker A. A. In vitro activities of nisin alone or in combination with vancomycin and ciprofloxacin against methicillin–resistant and methicillin–susceptible *Staphylococcus aureus* strains. Chemotherapy. 2011. 57(6). 511–516. doi: 10.1159/000335598