

УДК 661.184 :591.1:57.084.1

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-12\(30\)-870-879](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-12(30)-870-879)

Бобир Віталій Васильович доктор медичних наук, професор, доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, проспект Берестейський, 34, м. Київ, 01601, тел.: (093)551-70-11, <https://orcid.org/0000-0002-8310-8011>.

Назарчук Олександр Адамович доктор медичних наук, професор кафедри мікробіології, вірусології та імунології, Вінницький Національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018, тел.: (097)-729-37-61, <https://orcid.org/0000-0001-7581-0938>

Бебик Віра Володимирівна аспірантка кафедри мікробіології, вірусології та імунології, Вінницький Національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018, тел.: (097)-743-47-91, <https://orcid.org/0000-0001-7110-8543>

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНИХ ТА СОРБЦІЙНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГІДРОГЕЛЮ МЕТИЛКРЕМНІЄВОЇ КИСЛОТИ І ГЕЛЕВОЇ ФОРМИ БЕНТОНІТУ

Анотація. Розглянуто основні властивості і принципи застосування ентеросорбентів на основі гідрогелю метилкремнієвої кислоти та бентоніту. З аналізу літератури зроблено висновок, що метод ентеросорбції з кожним роком все частіше використовується у медичній практиці. Показано, що використання сорбентів сприяє оптимізації процесів адаптації і компенсації порушених функцій, корекції патологічних змін метаболізму, досягненню імуномодуючого, антиоксидантного та інших важливих ефектів.

Зазначено, що з кожним роком стрімко зростає кількість лікарських засобів для підтримання та відновлення мікробіому людини, до яких певною мірою можна віднести й сорбенти. Водночас зроблено застереження, що при розробці таких препаратів слід враховувати їх сорбційні властивості по відношенню до основних форм непатогенних та умовнопатогенних грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів.

Встановлено, що такі сорбенти як гелева форма бентоніту та гідрогель метилкремнієвої кислоти не мають вираженої бактерицидної активності по відношенню до основних груп грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів бактеріальної природи. Водночас детально досліджено сорбційні властивості даних речовин по відношенню до основних груп бактерій та грибів. Показано, що при тривалому часі контакту дані сорбенти

здатні в різній ступені зв'язувати бактерії. В більшій мірі такі властивості виражені у ГМКК.

Зроблено аргументоване припущення, що пероральне застосування обох сорбентів, зокрема гелевої форми бентоніту не буде позначатись на показниках кишкового мікробіому людини і вони можуть використовуватись з метою конструювання нових засобів для підтримання та відновлення мікроекологічного статусу людини.

Ключові слова: ентеросорбенти, резистентність, стафілококи, кишкова паличка, кандиди, електронна мікрокопія, мікробіом.

Bobyр Vitalii Vasil'yevich Doctor of Science, Professor, Bogomolets National Medical University, microbiology, virology and immunology department, Docent, Beresteisky Ave., 34, Kyiv, 01601, tel.: (093) 551-70-11, <https://orcid.org/0000-0002-8310-8011>.

Nazarchuk Oleksandr Adamovych Doctor of Science, Professor, National Pirogov Memorial Medical University, Department of Microbiology, Professor, Pirogov St., 56, Vinnytsya, 21018, tel.: (097)-729-37-61, <https://orcid.org/0000-0001-7581-0938>.

Bebyk Vira Volodymyrivna National Pirogov Memorial Medical University, Department of Microbiology, PhD student, Pirogov St., 56, Vinnytsya, 21018, tel.: (097)-743-47-91, <https://orcid.org/0000-0001-7110-8543>.

THE RESEARCH OF ANTIMICROBIAL AND SORPTION PROPERTIES OF HYDROGEL OF METHYLSILICA ACID AND GEL FORM OF BENTONITE

Abstract. The main properties and principles of use of enterosorbents based on hydromethylsilica acid and bentonite are studied. On the basis of the analysis of the literature, there was concluded that the enterosorption method was increasingly used in medical practice every year. The use of sorbents was shown to contribute into the optimization of the processes of adaptation and compensation of impaired functions, the correction of pathological changes in metabolism, the achievement of immunomodulating, antioxidant and other important effects.

There is noted that every year the number of medicines for maintaining and restoring the human microbiome is rapidly increasing, which can also include sorbents. At the same time, a caveat is made that when developing such drugs, their sorption properties should be taken into account in relation to the main forms of non-pathogenic and conditionally pathogenic Gram-positive and Gram-negative bacteria and fungi *Candida*.

There has been established that such sorbents as the gel form of bentonite and

hydrogel of methylsilica acid do not have a pronounced bactericidal activity in relation to the main groups of Gram-positive and Gram-negative microorganisms of a bacterial nature. At the same time, with a long contact time, they are able to bind bacteria to varying degrees. To a greater extent, such properties are expressed in hydrogel of methylsilica acid which.

There has been made a reasoned assumption that the oral use of both sorbents, in particular the gel form of bentonite, will not affect the indicators of the human intestinal microbiome and can be used for the purpose of designing new means for maintaining and restoring the microecological status of a person.

Keywords: enterosorbents, resistance, Staphylococci, Escherichia coli, Candida, electronic microscopy, microbiome

Постановка проблеми. Ще донедавна препарати на основі сорбентів найчастіше розглядалися як препарати для лікування різного роду інтоксикацій. В наш час сорбенти використовують не лише в якості патогенетичної, але й етіотропної моно- й комбінованої терапії при кишкових інфекціях, що є актуально з огляду на стрімке зростання полірезистентності мікроорганізмів до антибіотиків та хіміопрепаратів [1, 2]. Крім того, сьогодні активно вивчається ефективність використання монтморилонітових глин (сметитів), до яких належить бентоніт, для лікування і профілактики інфекційних кишкових захворювань [3]. Існують дані, що вживання бентонітів може попереджувати порушення мінерального обміну, яке відіграє важливу патогенетичну роль при значній кількості захворювань [4,5].

На даний час накопичено значну кількість науково обґрунтованих свідчень того, що використання сорбентів сприяє оптимізації процесів адаптації і компенсації порушених функцій, корекції патологічних змін метаболізму, досягненню імуномодулюючого, антиоксидантного та інших важливих ефектів.

З року в рік нестримно збільшується арсенал засобів для підтримання та відновлення мікроекологічного статусу людини. Водночас при розробці таких препаратів слід враховувати сорбційні властивості сорбентів, зокрема на основі гелевої форми бентоніту та гідрогелю метилкремніевої кислоти (ГМКК) по відношенню до основних форм грампозитивних та грамнегативних бактерій та грибів роду кандиди.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Раніше під керівництвом академіка Широбокова В.П. проведені дослідження показали позитивний вплив бентоніту на організм білих мишей, який проявляється в тому числі і зростанням тривалості їх життя [6]. Крім того, цим питанням активно цікавляться за кордоном, так наприклад, австралійські колеги Tanka P. Prasai, Kerry B. Walsh, Surya P. Bhattarai, David J. Midmore, Thi T. H. Van Robert J. Moore, Dragana Stanley в досліджах на тваринах показали, що споживання бентоніту сприяє значному зниженню рівня потенційно-патогенних мікроорганізмів [7].

Разом із тим, залишається до кінця не вивченим питання впливу ентеросорбції на умови функціонування природнього мікробіому людини.

Мета статті Дослідити сорбційні властивості гідрогелю метилкремнієвої кислоти та гелевої форми бентоніту по відношенню до основних форм патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, а також дріжджових грибів роду *Candida*.

Матеріали і методи. Антимікробну активність досліджуваних препаратів вивчали стандартним методом дифузії препарату в агар [8]. В якості тест-культур використовували шість еталонних штамів мікроорганізмів: *Enterococcus faecalis* УКМ В-915, *Candida albicans* УКМ В-2681, *Escherichia coli* УКМ В-906, *Pseudomonas aeruginosa* УКМ В-900, *Proteus vulgaris* УКМ В-905 та *Staphylococcus aureus* УКМ В-918.

З метою дослідження динаміки формування антимікробної активності ГМКК та бентоніту, препарати зважували по 50 мг, змішували з суспензією еталонних штамів мікроорганізмів, які містили 2×10^6 мікробних клітин в мл. Суміші витримували при кімнатній температурі і через 1, 3, 6 та 24 год висівали надосадову рідину в об'ємі 50 мкл на відповідні тверді поживні середовища. Через 24 год на такі ж середовища висівали і осад (сорбент). В якості контролю використовували вихідні мікробні зависи без сорбентів.

Для дослідження показників сорбційної здатності препарати зважували по 50 мг і додавали до них по 0,1 мл суспензій тест-культур, що містили 2×10^6 мікробних клітин в 1 мл, витримували 1 годину при 40°C , вносили у флакони з 10 мл фізіологічного розчину, струшували протягом 10 хв і центрифугували протягом 10 хв при 3000 об/хв для отримання осаду. Надосадову рідину в об'ємі 0,05 мл висівали на щільні середовища, оптимальні для тест-культур, при необхідності розбавляючи її фізіологічним розчином. Для експериментів підбирали такі розведення центрифугатів мікроорганізмів, які при посіві на тверді поживні середовища дають можливість підрахувати кількість отриманих колоній. Контролем слугували суспензії мікроорганізмів, які готували і обробляли аналогічно дослідним. Після 24-год інкубації при 37°C підраховували кількість колоній, що вирости і, враховуючи коефіцієнт розведення, визначали загальну їх кількість в дослідних та в контролі. Показники сорбції досліджуваних препаратів визначали за формулою: $A=K-O/K \times 100$, де К і О – кількість мікроорганізмів, що висіяні відповідно з дослідного та контрольного зразків.

Міцність зв'язку досліджуваних сорбентів і мікроорганізмів вивчали на прикладі *E. coli* УКМ В-906 та *S. aureus* УКМ В-918. Для цього після контакту бактерій з препаратами і центрифугування, як було описано вище, їх висівали з надосадової рідини в об'ємі 0,02 мл на МПА. Надосадову рідину зливали, а до осадів додавали по 5 мл 0,85% розчину NaCl, 10% розчину NaCl, 50% сироватки та м'ясо-пептонний бульйону, які використовували в якості десорбентів. Струшували 10 хвилин та висівали в об'ємі 0,02 мл на МПА.

Після інкубації при $+37^{\circ}\text{C}$ протягом 24 г підраховували кількість колоній бактерій, що вирости з надосадових рідин і з елюатів та визначали показники елюції мікроорганізмів, сорбованих препаратами.

Виклад основного матеріалу. Антимікробну активність у ГГМКК виявлено через 6 год після його взаємодії зі *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*, після взаємодії з усіма іншими тест-мікроорганізмами – значно пізніше, після 24 год. Бактерицидна дія у даного сорбенту зафіксована лише по відношенню до *Enterococcus faecalis* УКМ В-915 після їх контакту протягом доби. У бентоніту така властивість відносно досліджуваних мікроорганізмів протягом 24 год спостереження не зареєстрована, хоча через 24 год контакту з ним відмічали незначне зменшення кількості колоній *P. aeruginosa* УКМ В-900 та *E. coli* УКМ В-906 (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка прояву антимікробної активності ГГМКК та бентоніту

Тест-мікроорганізми	Дослід	Час прояву антимікробної активності			
		ГГМКК		Бентоніт	
		10^6	10^7	10^6	10^7
<i>S. aureus</i>	П	6	>6	-	-
	Б	>24	>24	-	-
<i>Enteroc. faecalis</i>	П	6	24	-	-
	Б	24	24	-	-
<i>Candida albicans</i>	П	24	>24	-	-
	Б	>24	>24	-	-
<i>E. coli</i>	П	6	6	24	24
	Б	>24	>24	>24	>24
<i>P. aeruginosa</i>	П	6	6	24	24
	Б	24	>24	>24	>24
<i>Proteus vulgaris</i>	П	24	>24	-	-
	Б	>24	>24	-	-

Примітки: П – час (год) контакту препаратів з мікроорганізмами, коли починає проявлятися антимікробна активність (зменшується кількість колоній). Б – час (год) контакту, при якому реєструється бактерицидна дія.

Сорбційні властивості вказаних препаратів вивчали також за допомогою електронно-мікроскопічних методів (ЕМ). В роботі використовували суспензії *S. aureus* УКМ В-918 та *E. coli* УКМ В-906 в концентрації 10^8 мікробних клітин на 1 мл. До 1 мл суспензій мікроорганізмів у вищезазначених концентраціях додавали 50 мг кожного сорбенту та струшували протягом 2 хв. ЕМ дослідження взаємодії мікроорганізмів з препаратами проводили через 15 хв, 60 хв, 6 год, 9 год та 12 год після їх контакту з бактеріями при кімнатній температурі.

Результати ЕМ дослідження показали наявність сорбційної активності відносно кишкової палички у обох досліджуваних препаратів (рис. 1-4). Разом з тим, зв'язування *E. coli* УКМ В-906 ГМКК відмічалась значно швидше ніж гелевою формою бентоніту – вже після 60 хв контакту з ГМКК 50% бактеріальних клітин були сорбовані даним препаратом (рис. 1). У бентоніту такі властивості розпочинали проявлятися лише після 6 годин контакту (рис. 2). Сорбцію стафілококів на поверхні ГМКК починали спостерігати через три години, а після 6 годин контакту більшість клітин *S. aureus* УКМ В-918 були зв'язані з ним (рис. 3). Сорбційні властивості бентоніту відносно стафілококу зареєстровані лише на 6 годину взаємодії (рис. 4). Після 9 год контакту з бентонітом даних бактерій, вільних від сорбенту, практично не зустрічалось.

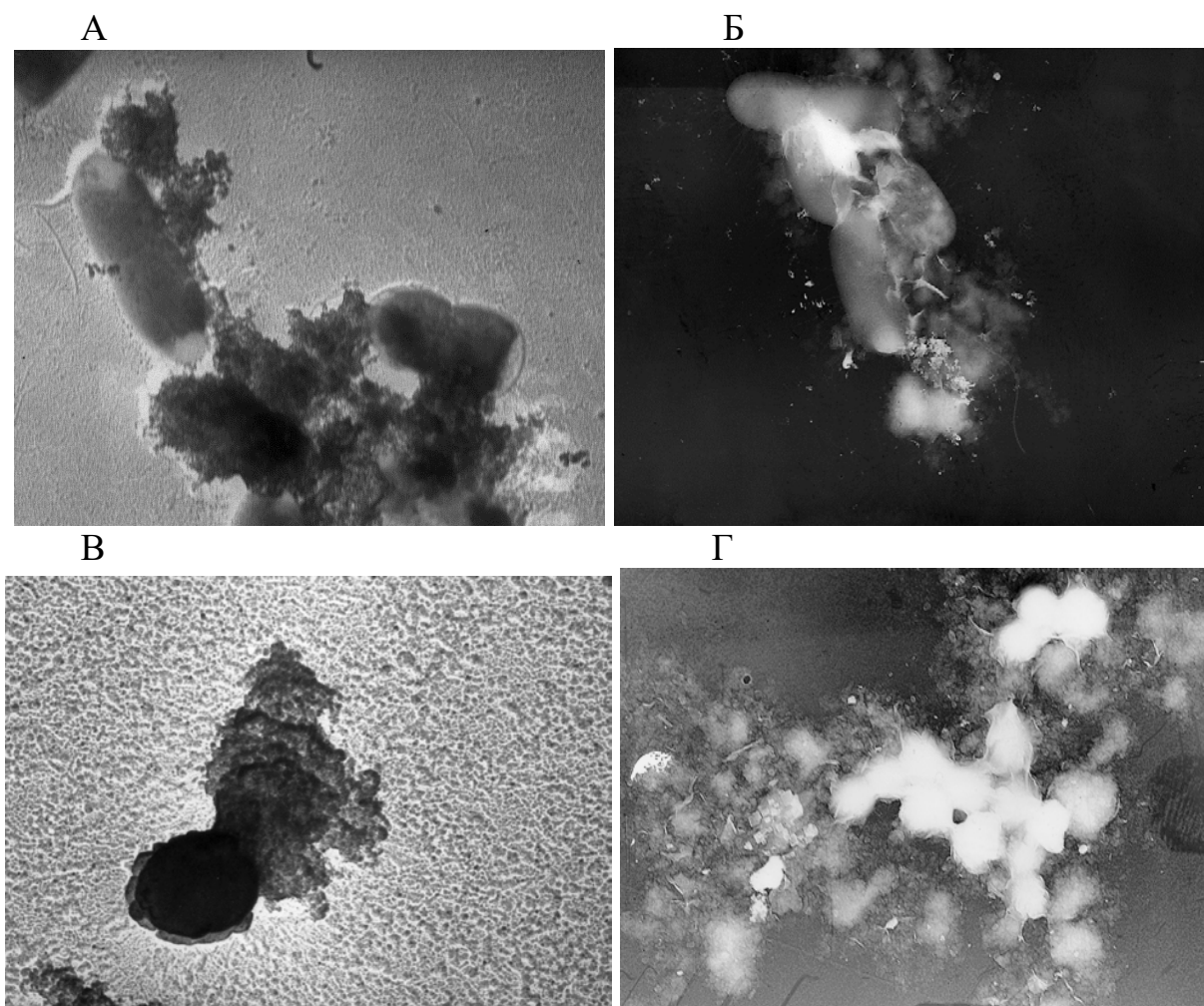


Рис. 1А. Електронна мікроскопія. *E. coli* УКМ В-906 після 60 хв контакту з ГМКК. Збільшення 20 000×; **1Б.** Електронна мікроскопія. *E. coli* УКМ В-906 після 6 год контакту з гелевою формою бентоніту. Збільшення 20 000×; **1В.** Електронна мікроскопія. *S. aureus* УКМ В-918 після 6 год контакту з ГМКК. Збільшення 20 000×. **1Г.** Електронна мікроскопія. *S. aureus* УКМ В-918 після 9 год взаємодії з гелевою формою бентоніту Збільшення 20 000×.

Як показано на рис. 2, найбільш активно ГМКК зв'язував *P. vulgaris* УКМ В-905. і *S. aureus* УКМ В-918, 90% і 82% відповідно (рис. 11). Меншою мірою – *E. coli* УКМ В-906, *P. aeruginosa* УКМ В-900, 75% та 71% відповідно. Найгірше він сорбував *E. faecalis* УКМ В-915, *Candida albicans* УКМ В-2681 – 52% та 38%, відповідно. У порівнянні з ГМКК, сорбційна активність гелевої форми бентоніту щодо використаних в експерименті штамів мікроорганізмів була значного нижчою і коливалась в межах 27-45% ($p \leq 0,05$).

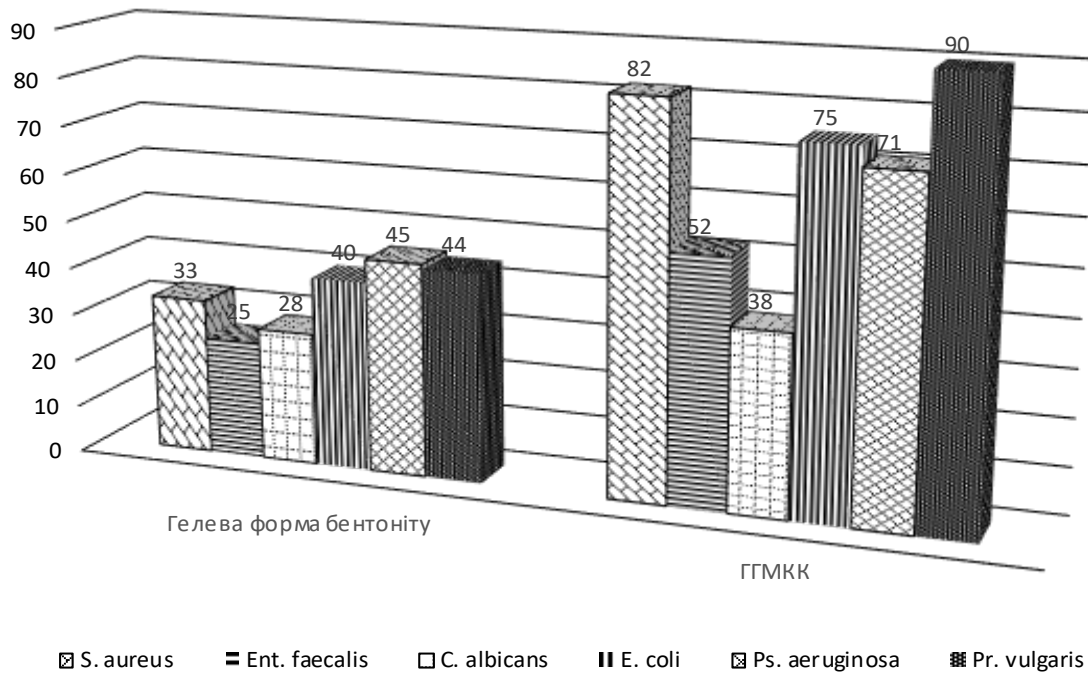


Рис. 2. Показники сорбційної здатності гідрогелю метилкремніевої кислоти та гелевої форми бентоніту (%).

Сорбційна активність гелевої форми бентоніту щодо використаних в експерименті штамів мікроорганізмів була значного нижчою і коливалась в межах 27-45%. Експерименти також показали, що даний препарат зв'язує більш інтенсивно грамнегативні мікроорганізми. Натомість, відносно ентерококів цей показник не перевищував 25%.

Отримані результати (табл. 2) свідчать про те, що ГМКК наділений помірною міцністю зв'язку з *E. coli* УКМ В-906, з нього екстрагується від 5,73 до 8,3% бактерій. Найлегше даний сорбент «віддає» кишкову паличку при використанні в якості десорбенту 10% р-н NaCl, в даному випадку з нього звільнялось 8,3% мікроорганізмів, натомість, при використанні 0,85% р-н NaCl цей показник становив 3,92%. Відсоток десорбції *S. aureus* УКМ В-918 з ГМКК був близьким до попередніх, в залежності від десорбенту він коливався в межах 1,6 – 4,46%. Найбільш ефективно елюція стафілококів відбувалась при використанні в якості десорбенту 0,85% р-н NaCl.

Порівняно з ГМКК, бентоніт легше «віддавав» зв'язані з ним мікроорганізми. Показники ефективності десорбції *S. aureus* УКМ В-918 з бентонітом склали 6,8 – 16,2%. Найбільш ефективно десорбція даних мікроорганізмів з бентоніту здійснювалась при використанні в якості десорбенту МПБ та 50% сироватки ВРХ. За таких умов звільнялось 16,2% та 12,5 % стафілококів відповідно. Менш ефективними десорбентами виявились 20% розчин сахарози та 10% розчин NaCl, 8,8% та 6,8% відповідно, ще нижчі показники десорбції зафіксовані при його обробці 0,85% NaCl, в даному випадку вони становили 6,8% (табл. 2). Міцність зв'язку бентоніту з *E. coli* УКМ В-906 є близькою до характеристики його сорбції зі *S. aureus* УКМ В-918, відсоток десорбції в залежності від десорбенту коливався у межах 7,25-12,3%. Найлегше даний процес відбувався у зразках, де екстрагентами слугували МПБ та 50 % сироватка ВРХ, в цьому випадку звільнялось 12,3 % та 9,2 % мікроорганізмів відповідно.

Таблиця 2

Ефективність десорбції мікроорганізмів з гідрогелю метилкремнієвої кислоти (ГМКК) та бентоніту (%)

Десорбент	Об'єкт дослідж.	ГМКК		Бентоніт	
		Тест-мікроорганізми		Тест-мікроорганізми	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
0,85% р-н NaCl	А	7,5	4,9	6,9	5,8
	В	4,46	3,92	6,8	7,5
10% р-н NaCl	А	5	10,0	6	8,9
	В	2,73	8,3	6,8	8,2
20 % р-н сахарози	А	8,3	11,0	8,7	7,4
	В	1,6	5,39	8,8	7,25
50% сиров. ВРХ	А	4,3	10	5,2	8,4
	В	3,5	5,0	12,5	9,2
МПБ	А	5,5	10,5	4,25	8,5
	В	3,15	5,73	16,2	12,3

Примітки: А – надосадова рідина після центрифугування; В – елюат;

Висновки. Отже, результати експериментальних досліджень дозволили встановити, що такі сорбенти як гелева форма бентоніту та гідрогель метилкремнієвої кислоти, які здатні активно сорбувати кишкові віруси, не наділені вираженою бактерицидною функцією по відношенню до більшості видів досліджених мікроорганізмів бактеріальної природи. Разом з тим, при тривалому часі контакту, обидва сорбенти здатні в різній ступені зв'язувати бактерії. В більшій мірі такі властивості виражені у ГМКК який, в залежності від виду мікроорганізмів, може сорбувати від 52 до 90% клітин. Показники

сорбційної активності та міцність зв'язку мікроорганізмів з гелевою формою бентоніту були не такі виражені і коливались в межах 27-45%.

Таким чином, можна зробити припущення, що пероральне застосування обох сорбентів, зокрема гелевої форми бентоніту не буде суттєво впливати на кількісні показники кишкового мікробіому людини і крім використання для корекції патологічних змін метаболізму, досягнення імуномодельючого, антиоксидантного та інших важливих ефектів, вони можуть використовуватись з метою конструювання нових засобів для підтримання та відновлення мікроекологічного статусу людини.

Література:

1. Романюк Л.Б., Кравець Н.Я., Климнюк С.І, Копча В.С., Дронова О.Й.. Антибіотикорезистентність умовно-патогенних мікроорганізмів: актуальність, умови виникнення, шляхи подолання. *Інфекційні хвороби*. № 4. С. 63-71. Doi:10.11603/1681-2727.2019.4.10965.
2. Schooley, Robert T.; Biswas, Biswajit; Gill, Jason J.; Hernandez-Morales, Adriana; Lancaster, Jacob; Lessor, Lauren; Barr, Jeremy J.; Reed, Sharon L. та ін. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy (American Society for Microbiology)* 61 (10): e00954–17. ISSN 0066-4804. PMC 5610518. PMID 28807909. doi:10.1128/aac.00954-17.
3. Pharmacologic Agents for Chronic Diarrhea. *Intestinal Research* 13 (4): 306–312. October 2015. PMC 4641856. PMID 26576135. doi:10.5217/ir.2015.13.4.306.
4. Ширококов В. П., Янковський Д. С., Димент Г. С. Світ глини і здоров'я людини. *Світгляд*. 2012. №2 (34). С. 6-17.
5. Ширококов В. П., Янковський Д. С., Димент Г. С. На зорі зародження життя: роль глинистих мінералів. *Світгляд*. 2013. №1 (39). С. 58-65.
6. Ширококов В. П., Понятовський В. А., Яворовський О. П., Янковський Д. С., Димент Г. С., Бобир В. В. Вплив гелю бентоніту на фізіологічні показники лабораторних мишей. *Медичні перспективи*. 2018. Т.23, №4. С. 4-11. Doi. 10.26641/2307-0404.2018.4.152924.
7. Tanka P. Prasai, Kerry V. Walsh. Biochar, Bentonite and Zeolite Supplemented Feeding of Layer Chickens Alters Intestinal Microbiota and Reduces *Campylobacter* Load. *PLoS ONE* 11(4): e0154061. <https://doi.org/10.1371/journal>.
8. Вивчення спеціальної активності протимікробних лікарських засобів. Методичні рекомендації. Київ. 2004. 38с.

References:

1. Romaniuk L.B., Kravets N.Ia., Klymniuk S.I, Kopcha V.S., Dronova O.I.. Antybiotyko rezystentnist umovno-patohennykh mikroorhanizmiv: aktualnist, umovy vynyknennia, shliakhy podolannia [Antibiotic resistance of opportunistic pathogens: relevance, conditions of occurrence, ways to overcome]. *Infektsiini khvoroby*. № 4. S. 63-71. Doi:10.11603/1681-2727.2019.4.10965. [in Ukrainian].
2. Schooley, Robert T.; Biswas, Biswajit; Gill, Jason J.; Hernandez-Morales, Adriana; Lancaster, Jacob; Lessor, Lauren; Barr, Jeremy J.; Reed, Sharon L. та ін. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy (American Society for Microbiology)* 61 (10): e00954–17. ISSN 0066-4804. PMC 5610518. PMID 28807909. doi:10.1128/aac.00954-17.

3. Pharmacologic Agents for Chronic Diarrhea. *Intestinal Research* 13 (4): 306–312. October 2015. PMC 4641856. PMID 26576135. doi:10.5217/ir.2015.13.4.306.
4. Shyrobokov V.P., Yankovskyi D.S., Dymant H.S. Svit hlyn i zdorovia liudyny [The world of clay and human health]. *Svitohliad*. 2012. №2 (34). S. 6-17. [in Ukrainian].
5. Shyrobokov V. P., Yankovskyi D. S., Dymant H. S. Na zori zarodzhennia zhyttia: rol hlynystykh mineraliv [At the dawn of life: the role of clay minerals]. *Svitohliad*. 2013. №1 (39). S. 58-65. [in Ukrainian].
6. Shyrobokov V.P., Poniatovskyi V.A., Yavorovskyi O. P., Yankovskyi D.S., Dymant H.S., Bobyr V. V. Vplyv heliu bentonitu na fiziologichni pokaznyky laboratornykh myshei [The influence of bentonite gel on the physiological parameters of laboratory mice]. *Medychni perspektyvy*. 2018. T.23, №4. S. 4-11. Doi. 10.26641/2307-0404.2018.4.152924. [in Ukrainian].
- 7.. Tanka P. Prasai, Kerry B. Walsh. Biochar, Bentonite and Zeolite Supplemented Feeding of Layer Chickens Alters Intestinal Microbiota and Reduces Campylobacter Load. *PLoS ONE* 11(4): e0154061. <https://doi.org/10.1371/journal>.
8. Vyvchennia spetsialnoi aktyvnosti protymikrobnnykh likarskykh zasobiv. *Metodychni rekomendatsii*. Kyiv. 2004. 38s. [in Ukrainian].