

УДК 615.076.7:615.1:615.28

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2024.1.32 EDN: WASKKA

СРАВНЕНИЕ МЕТОДА ДИФФУЗИИ В АГАР И БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ АНТИБИОТИКОВ© Османова С.Я.¹, Сафронюк С.Л.², Кияев А.Б.², Кацев А.М.²

¹Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С.И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Россия, 295007, Симферополь, бул. Ленина, 5/7

²Институт биохимических технологий, экологии и фармации федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский Федеральный университет им. В.И. Вернадского», Россия, 295007, Симферополь, бул. Ленина, 5/7

Резюме

Цель. Провести сравнение метода диффузии в агар и анализа на основе бактериальной биолюминесценции при определении антимикробной активности антибиотиков.

Методика. Проведен сравнительный анализ двух методов – луночной диффузии в агар, который проводили согласно методике Государственной Фармакопеи РФ XIV издания путем измерения диаметров зон подавления роста тест-штамма микроорганизмов, и биолюминесцентного метода, регистрирующего антимикробное действие образцов путем изменения интенсивности бактериальной люминесценции, под действием антибиотиков. В качестве тест-штамма в исследовании применяли *P. leiognathi* Sh1. Сопоставление методов проводили путем сравнения антимикробного действия 10 антибиотиков различных химических структур.

Результаты. В ходе сравнения результатов антимикробной активности исследованных антибиотиков, полученных с применением биолюминесцентного анализа и луночной диффузии в агар, выявили высокую сходимость полученных данные, выраженную коэффициентом Карла-Пирсона. Линейные коэффициенты корреляции между d и БЛИ составили: -0,96, -0,83, -0,83, -0,80, -0,76, -0,74, -0,65 и -0,64 для тетрациклина, цефотаксима, доксициклина, цефепима, пенициллина G, гентамицина, стрептомицина и цефтриаксона соответственно.

Заключение. В результате экспериментально подтверждена применимость биолюминесцентного метода для определения антимикробной активности антибиотиков для пенициллина G, тетрациклина, доксициклина, стрептомицина, гентамицина, цефепима, цефтриаксона и цефотаксима.

Ключевые слова: антибиотики, антимикробная активность, метод диффузии в агар, биолюминесцентный анализ

COMPARISON OF AGAR DIFFUSION AND BIOLUMINESCENT ANALYSIS FOR DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ANTIBIOTICSOsmanova S.Ya.¹, Safronyuk S.L.², Kiyayev A.B.², Katsev A.M.²

¹Institute "Medical Academy named after S.I. Georgievsky Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky", Russia, 295007, Simferopol, bul. Lenina, 5/7

²Institute of Biochemical Technologies, Ecology and Pharmacy of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky", Russia, 295007, Simferopol, bul. Lenina, 5/7

Abstract

Objective. To compare the agar diffusion method and the bacterial bioluminescence assay in determining the antimicrobial activity of antibiotics.

Methods. A comparative analysis of two methods was carried out - well diffusion in agar, which was carried out according to the methodology of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the

XIV edition by measuring the diameters of the growth inhibition zones of the test strain of microorganisms, and the bioluminescent method, which registers the antimicrobial effect of samples by changing the intensity of bacterial luminescence, under the action of antibiotics. *P. leiognathi* Sh1 was used as a test strain in the study. Comparison of methods was carried out by comparing the antimicrobial activity of 10 antibiotics of different chemical structures.

Results. In the course of comparing the results of the antimicrobial activity of the studied antibiotics, obtained using bioluminescent analysis and well diffusion in agar, a high convergence of the data obtained, expressed by the Karl-Pearson coefficient, was revealed. Linear correlation coefficients between *d* and BLI were: -0.96, -0.83, -0.83, -0.80, -0.76, -0.74, -0.65 and -0.64 for tetracycline, cefotaxime, doxycycline, cefepime, penicillin G, gentamicin, streptomycin, and ceftriaxone, respectively.

Conclusions. As a result, the applicability of the bioluminescent method for determining the antimicrobial activity of antibiotics for penicillin G, tetracycline, doxycycline, streptomycin, gentamicin, cefepime, ceftriaxone, and cefotaxime has been experimentally confirmed.

Keywords: antibiotics, antimicrobial activity, agar diffusion method, bioluminescent analysis

Введение

Одним из важнейших показателей в оценке качества лекарственной биопродукции является биологическая активность [1, 8, 17]. Для антибиотиков – это антимикробное действие, которое проявляется в способности убивать или ингибировать рост и размножение микроорганизмов [9, 10, 18]. Определение данного параметра проводится с использованием диффузионных подходов, таких как Е-тесты, диффузия из лунок в агаре, из агаровых блоков, методом серийных разведений и турбидиметрией [12-16]. Данные методы используют тест-микроорганизмы, чувствительных к воздействию различных химических веществ, в частности антибиотиков. В современной практике наиболее часто применяют метод диффузии в агар, основанный на диффузии противомикробного агента в питательную среду с микроорганизмами и дальнейшем сравнении зависимости степени угнетения роста тест-штамма от класса и концентрации антибиотика [2].

Основным преимуществом данного метода является простота, обусловленная отсутствием необходимости применения специального оборудования, а также возможность тестировать большое количество образцов. Тем не менее, подход трудоемок, так согласно ГФ РФ XIV издания, требует большого количества расходного материала, затрачиваемого для изготовления питательных сред, отличного состава для каждого тест-штамма, чувствительного к испытываемому антибиотику [2]. Особое значение имеет то, что для фармакопейного метода рекомендованы тест-микроорганизмы, отнесенные, в соответствии санитарными правилами Российской Федерации и принятой классификацией Всемирной организации здравоохранения, к различным группам патогенности [6]. Вследствие этого, анализ с использованием данного подхода требует наличие высокоспециализированного персонала и специальных условия для его реализации.

В настоящее время в исследованиях в области биологии, медицины и экологии нашли применение подходы на основе бактериальной биолуминесценции. Светящиеся микроорганизмы используют в качестве биотестов при мониторинге загрязнения окружающей среды, оценки биологической активности, в том числе антимикробной активности веществ [4-6]. Суть метода заключается в измерении светоизлучения бактерий, образующегося за счет ферментативной реакции, катализируемой люциферазой [3]. Подход прост в использовании, характеризуется быстротой получения результатов анализа, высокой чувствительностью и точностью полученных результатов анализа [3, 11]. Достоинства биолуминесцентного метода обусловлены использованием для измерения светоизлучения современной электронно-оптической техники, преобразующей световой сигнал в электрический [3].

Цель исследования – сравнение метода диффузии в агар и подходов на основе бактериальной биолуминесценции при определении антимикробной активности антибиотиков.

Методика

В работе использовали 10 фармацевтических субстанций антибиотиков различных химических структур: производные 6-аминопенициллановой кислоты – ампициллин (ОАО «Синтез», Россия, серия 1540815), бензилпенициллин натрия (ОАО «Синтез», Россия, серия 230310) и пенициллин G

(SANDOZ, GmbH, Австрия, серия 147305); производные нафтацена – доксицилина (ОАО «Синтез», Россия, серия 03211) и тетрацилина (БАТ «Вітаміни», Украина, серия 10409) гидрохлориды; аминогликозиды (АГ) – гентамицина (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина, серия 20509) и стрептомицина (БАТ «Київмедпрепарат», Украина, серия 170410) сульфаты; производные 7-аминоцефалоспоровой кислоты – цефотаксим (ЗАТ НВЦ «Борщаговский химико-фармацевтический завод», Украина, серия 120907), цефепим (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина, серия 10110) и цефтриаксон (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина, серия CN10110).

Оценку антимикробной активности антибиотиков проводили двумя методами с использованием тест-штамма, показавшего наибольшую чувствительность к антибиотикам, *Photobacterium leiognathi* Sh1 из коллекции Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» [4, 5, 7].

Оценку диффузии антибиотиков в агар и их влияния на тест-штамм *P. leiognathi* Sh1 проводили поэтапно. В подготовленные чашки Петри с твердой питательной средой (Nutrient agar M001, Himedia, Индия) с лунками засеивали культуру тест-штамма и инкубировали в термостате ТСО-1/80 (СПУ, Россия) при 25 °С в течении 2-х часов для уменьшения влияния колебаний во времени перед внесением исследуемых веществ [2]. Затем в лунки добавляли по 150 мкл растворов антибиотиков в концентрациях от 1 до 10 мкг/мл, приготовленных путем растворения лиофилизированных порошков, исследуемых фармацевтических субстанций, в 3 % водном растворе натрия хлорида, который использовали и в качестве контрольного образца. Чашки с культурой *P. leiognathi* Sh1 и внесенными растворами антибиотиков инкубировали при температуре 25 °С около 16-18 часов [2, 4]. Анализ результатов диффузии противомикробного агента проводили путем измерения диаметра зон подавления роста тест-штамма *P. leiognathi* Sh1 с помощью микрометра.

Анализ, основанный на бактериальной биолюминесценции, проводили в отношении тест-штамма *P. leiognathi* Sh1 по методике [7]. Интенсивность свечения оценивали с использованием биохемилюминометра БХЛ-06 (НПО «Биофармаавтоматика», Н. Новгород, Россия) и LumiShot (Красноярск, Россия) через 15, 30 минут и 18 часов. Сравнение методов проводили между параметрами – зоной задержки роста (d , мм), для метода диффузии в агар, и биолюминесцентным индексом (БЛИ, %), для метода на основе бактериальной люминесценции, который находят по формуле: $\text{БЛИ} = I_i/I_0 \times 100\%$, где I_i – интенсивность люминесценции бактерий в опытной пробе, I_0 – интенсивность свечения бактерий в контроле [3].

Статистическую обработку полученных результатов проводили согласно требований Государственной фармакопеи РФ XIV издания с применением ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» и ОФС.1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами» [2]. Для сравнения результатов, полученных двумя методами, рассчитывали коэффициент корреляции Карла Пирсона, применяемый для исследования взаимосвязи двух переменных одной выборки. Данный статистический метод позволяет определить наличие или отсутствие линейной связи между двумя анализируемыми методами при нормальном распределении каждой из сопоставляемых переменных. Значения коэффициента корреляции Пирсона варьировали от -1 до 0, так как для сопоставляемых методов характерна обратная взаимосвязь величин. Расчёты проводили с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследования влияния 10-ти антибиотиков на тест-штамм *P. leiognathi* Sh1 биолюминесцентным методом обнаружено, что все антибиотики снижали интенсивность свечения в исследуемых концентрациях от 1 до 10 мкг/мл, что характеризовалось уменьшением величины БЛИ при увеличении концентрации антимикробного агента в пробе. Тетрациклин подавлял рост микроорганизмов уже при концентрации 0,01 мкг/мл (рис. 1). Зависимости интенсивности биолюминесценции от концентраций испытуемых антибиотиков были выражены экспоненциальной и описывались уравнениями (табл. 1). Так для производного 6-аминопенициллановой кислоты бензилпенициллина зависимость была выражена уравнением $y = 85,184e^{-0,086x}$, где x – концентрация определяемого вещества; y – значение БЛИ. Коэффициент достоверности аппроксимации (R^2) составил 0,91. Экспоненциальная зависимость с высоким значениями R^2 были характерны также для производных других групп антибиотиков. Для получения линейной зависимости значения интенсивности люминесценции были логарифмированы. Уравнения линейных прямых представлены в табл. 1 с указанием R^2

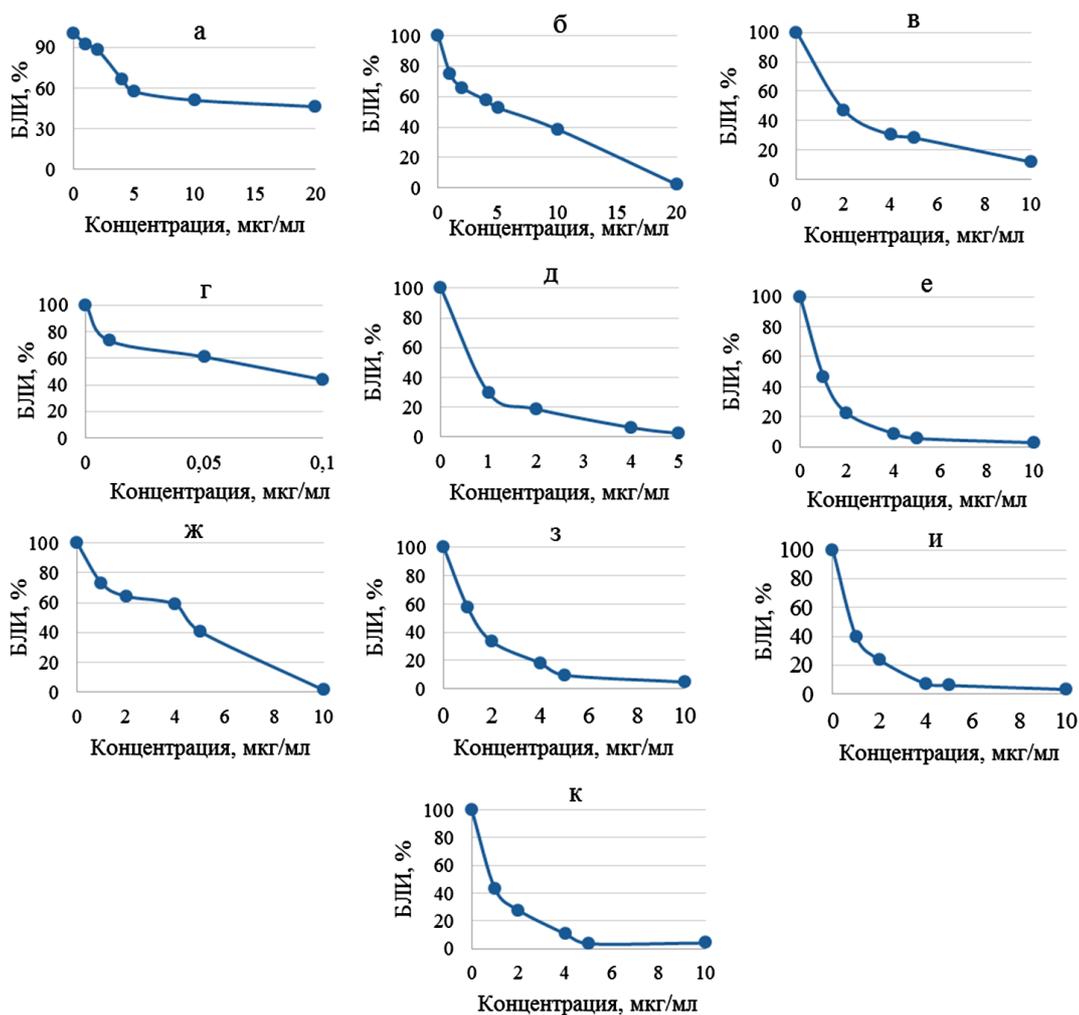


Рис. 1. Графики зависимости интенсивности биолюминесценции, выраженного в БЛИ (%), от концентрации антибиотиков в хроническом (24 часа) воздействии, где а – ампициллин, б – бензилпенициллин, в – пенициллин G, г – тетрациклин, д – доксициклин, е – стрептомицин, ж – гентамицин, з – цефепим, и – цефтриаксон, к – цефотаксим

Таблица 1. Уравнения зависимости БЛИ (%) от С (мкг/мл) антибиотиков через 24 часа

Антибиотик	Уравнение экспоненциальной прямой	R ²	Уравнение Линейной зависимости	R ²
Ампициллин	$y = 95,75e^{-0,072x}$	0,91	$y = -0,0722x + 4,5617$	0,89
Бензилпенициллин	$y = 85,184e^{-0,086x}$	0,88	$y = -0,0859x + 4,4448$	0,92
Пенициллин G	$y = 74,36e^{-0,191x}$	0,86	$y = -0,1907x + 4,3089$	0,94
Доксициклин	$y = 79,481e^{-0,691x}$	0,95	$y = -0,6913x + 4,3755$	0,98
Тетрациклин	$y = 88,918e^{-7,253x}$	0,87	$y = -7,2529x + 4,4877$	0,92
Стрептомицин	$y = 55,91e^{-0,347x}$	0,90	$y = -0,3471x + 4,0237$	0,87
Гентамицин	$y = 151,37e^{-0,403x}$	0,82	$y = -0,4031x + 5,0197$	0,87
Цефепим	$y = 70,39e^{-0,304x}$	0,94	$y = -0,3036x + 4,254$	0,92
Цефтриаксон	$y = 51,271e^{-0,332x}$	0,87	$y = -0,3319x + 3,9371$	0,83
Цефотаксим	$y = 52,871e^{-0,322x}$	0,89	$y = -0,3218x + 3,9679$	0,76

Оценка БЛИ для антибиотиков производных нафтацена, а именно, тетрациклина, показала наибольшую антимикробную активность. При концентрации 1 мкг/мл интенсивность люминесценции составила $5,1 \pm 0,03$ (табл 1). Наибольшую антимикробную активность из аминогликозидов показал гентамицин, значение БЛИ которого при концентрации 1 мкг/мл

составило 11,6% при полуширине доверительного интервала 2,3%. Из производных 7-аминоцефалоспоровой кислоты наибольшую активность в отношении тест-штамма микроорганизмов продемонстрировал цефтриаксон. Однако, данный антибиотик не показал экспоненциальной зависимости БЛИ от концентрации. Так, при концентрации 1 мкг/мл значение БЛИ составило $10,9 \pm 0,8$ %, а при 2 мкг/мл – $16,5 \pm 0,9$ %. Дальнейшее увеличение концентрации до 4, 5 и 10 мкг/мл приводит к значениям $8,6 \pm 0,7$ %, $10,8 \pm 0,8$ % и $7,4 \pm 3,2$ % соответственно. Прогнозируемые доверительные интервалы варьировали от 0,03 до 4,4 % для антибиотиков с концентрациями 1 мкг/мл, от 0,1 до 2,5 % – 10 мкг/мл. Для расчета доверительных интервалов определяли среднее значение и стандартное отклонение аналитического сигнала, выраженного интенсивностью свечения, для каждого значения концентрации антибиотиков.

Таблица 2. Результаты оценки антимикробной активности антибиотиков биолюминесцентным методом с использованием тест-штамма *P. leiognathi* Sh1

Наименование субстанции	Концентрация, мкг/мл					
	0	1	2	4	5	10
Ампициллин	$100 \pm 3,2$	$92,5 \pm 2,9$	$87,8 \pm 2,8$	$66,2 \pm 2,1$	$57,4 \pm 1,8$	$51,0 \pm 1,6$
Бензилпенициллин	$100 \pm 3,2$	$74,9 \pm 2,4$	$65,8 \pm 2,1$	$57,6 \pm 1,8$	$52,7 \pm 1,7$	$38,5 \pm 1,3$
Пенициллин G	100 ± 10	$51,6 \pm 4,1$	$47,4 \pm 4,7$	$30,4 \pm 3,0$	$28,4 \pm 2,6$	$12,1 \pm 1,2$
Доксициклин	$100 \pm 5,3$	$29,7 \pm 2,4$	$18,7 \pm 1,07$	$6,2 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,1$	0
Стрептомицин	$100 \pm 3,5$	$46,6 \pm 1,6$	$22,4 \pm 0,8$	$8,9 \pm 0,3$	$5,7 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,1$
Гентамицин	$100 \pm 4,6$	$72,9 \pm 4,4$	$64,3 \pm 4,3$	$58,7 \pm 3,7$	$40,6 \pm 3,9$	$1,5 \pm 2,5$
Цефепим	$100 \pm 6,2$	$57,2 \pm 3,6$	$33,3 \pm 2,03$	$18,1 \pm 1,1$	$9,6 \pm 0,6$	$4,6 \pm 0,3$
Цефтриаксон	$100 \pm 3,2$	$39,6 \pm 1,3$	$23,7 \pm 0,8$	$6,9 \pm 0,2$	$5,9 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,1$
Цефотаксим	$100 \pm 9,2$	$42,8 \pm 3,9$	$27,6 \pm 2,5$	$10,6 \pm 0,9$	$3,6 \pm 0,4$	$4,1 \pm 0,4$
Наименование субстанции	Концентрация, мкг/мл					
	0	0,01	0,05	0,1	0,5	1
Тетрациклин	$100 \pm 0,6$	$73,2 \pm 0,03$	$60,9 \pm 0,01$	$43,9 \pm 0,01$	0	0

В ходе исследования влияния 10-ти антибиотиков на тест-штамм *P. leiognathi* Sh1 методом диффузии в агар обнаружено, что все исследуемые вещества вызывали угнетение роста тест-микроорганизмов под действием различных концентраций при полуширине доверительного интервала d равной $\pm 0,1$ мм. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 3. Результаты оценки зоны задержки роста тест-штамма *P. leiognathi* Sh1 после диффузии противомикробного агента в агар

Наименование субстанции	Концентрация, мкг/мл					
	0	1	2	4	5	10
Пенициллин G	0	5,9	6,5	6,1	7,2	10,0
Тетрациклин	0	4,7	5,8	6,2	7,2	8,1
Доксициклин	0	6,6	11	11,9	12,1	16,8
Стрептомицин	0	3,4	5,4	6,6	7,4	12,6
Гентамицин	0	4,0	3,5	3,5	4,4	4,8
Цефепим	0	12,3	10,3	11	14,8	15,3
Цефтриаксон	0	16,6	16,3	18,6	22,5	23,2
Цефотаксим	0	3,4	3,5	3,6	4,2	4,7

Результаты тестирования антибиотиков стандартным фармакопейным методом показали увеличение диаметров зон угнетения роста микроорганизмов от увеличения концентрации антимикробных агентов. Так из группы производных 6-аминопенициллановой кислоты наибольшей антимикробной активностью характеризовался пенициллин G поскольку d составило 5,9 мм при концентрации антибиотика 1 мкг/мл, а при максимальной исследованной концентрации 10,0 мм. Из производных тетрациклина доксициклин оказывал наибольшее влияние на рост тест-микроорганизмов штамма на *P. leiognathi* Sh1. При этом d зон задержки роста составили 6,6 мм для концентрации 1 мкг/мл и 16,8 мм при 10 мкг/мл. Из аминогликозидных антибиотиков наибольшим угнетением роста на поверхности агаризованной питательной среды характеризовался гентамицин с d 4,0 мм при концентрации вещества в пробе 1 мкг/мл. Однако, при увеличении концентрации антибиотика до 10 мкг/мл наибольшее значение зоны задержки

роста показал стрептомицин, d составил 12,6 мм. Из производных 7-аминоцефалоспоровой кислоты цефтриаксон характеризовался наибольшей антимикробной активностью в отношении тест-штамма. d составило от 16,6 мм при 1 мкг/мл антибиотика в лунке до 23,2 мм при концентрации 10 мкг/мл.

Для сравнения метода диффузии в агар и биолюминесцентного анализа при определении антимикробной активности антибиотиков были рассчитаны коэффициенты корреляции, которые характеризовали степень сходимости результатов. Корреляционный анализ результатов показал наибольшую сходимость для пенициллина G, тетрациклина, доксициклина, гентамицина, цефтриаксона и цефотаксима. Коэффициенты корреляции Карла Пирсона для антибиотиков составили -0,98; -0,98; -0,94; -0,99; -0,97 и -0,93. Хорошую корреляцию показали бензилпенициллин, стрептомицин и цефепим, коэффициенты корреляции которых соответственно составили -0,88, -0,86 и -0,89. А также ампициллин и цефазолин, для которых коэффициенты составили -0,68 и -0,59.

Данные могут свидетельствовать о корреляции результатов, полученных в следствии сравнения двух методов, а также применимости биолюминесцентного анализа для оценки их антимикробной активности в отношении тест-штамма *P. leiognathi* Sh1 для испытуемых субстанций.

Заключение

В результате экспериментально подтверждена применимость подходов на основе бактериальной биолюминесценции для определения антимикробной активности антибиотиков для пенициллина G, тетрациклина, доксициклина, стрептомицина, гентамицина, цефепима, цефтриаксона и цефотаксима. Методика определения антимикробной активности биолюминесцентным анализом в сравнении с методом диффузии в агар позволила сократить время на проведение исследования, в том числе, исключить необходимость длительной подготовки питательных сред и инкубирования на них микроорганизмов.

Литература (references)

1. Востоков В.М., Смирнова В.М., Пачурин Г.В. Биологическая активность – важнейший показатель качества лекарственной биопродукции. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – Т.12, №1. – С. 17-21. [Vostokov V.M., Smirnova V.M., Pachurin G.V. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. International Journal of Applied and Basic Research. – 2017. – V.12, N1. – P. 17-21. (in Russian)]
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. Издание XIV. Том 1. – М.: ФЭМБ, 2018. – 1832 с. [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. Izdanie XIV, Tom. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Edition XIV. Volume 1. Moscow: FEMB, 2018. – 1832 p. (in Russian)]
3. Дерябин Д.Г. Бактериальная биолюминесценция: фундаментальные и прикладные аспекты. – М.: Наука, 2009. – 248 с. [Deryabin D.G. *Bakterial'naja bioluminescencija: fundamental'nye i prikladnye aspekty*. Bacterial Bioluminescence: Fundamental and Applied Aspects. – Moscow: Nauka, 2009. – 245 p. (in Russian)]
4. Кацев А. М. Новые термофильные люминесцентные бактерии, выделенные из азовского моря // Таврический медико-биологический вестник. – 2014. – Т.17. – С. 59-64. [Katsev, A.M. *Tavricheskij mediko-biologicheskij vestnik*. Tauride Medical and Biological Bulletin. – 2014. – V.17. – P. 59-64. (in Russian)]
5. Кацев А.М., Сафронюк С.Л., Цокало И.Е. и др. Оценка применимости биолюминесцентного анализа при определении активности лекарственных препаратов // Ветеринарна биотехнологія. – 2013. – Т.22 – С. 188-195. [Katsev A.M., Safronyuk S.L., Tsokalo I.E., Sheremetyeva A.V., Starodub N.F. *Veterinarna biotehnologija*. Veterinary biotechnology. – 2013. – V.22 (22). – P. 188-195. (in Russian)]
6. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2021 г. N 4 "Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" (с изменениями и дополнениями). URL:<https://base.garant.ru/400342149/> [Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated January 28, 2021 N 4 "On approval of sanitary rules and norms SanPiN 3.3686-21" Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases "(as amended). URL:<https://base.garant.ru/400342149/> (in Russian)]
7. Сафронюк С.Л., Гавриченко Ю.Ю., Кацев А.М. Использование биолюминесцентных бактерий для оценки антибиотических эффектов лекарственных препаратов // Вестник Воронежского

- государственного университета. – 2018. – №1. – С. 194-203. [Safronyuk S.L., Gavrichenko Yu.Yu., Katsev A.M. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta*. Bulletin of Voronezh State University. – 2018. – N1. – P. 194-203. (in Russian)]
8. Alizadeh S.R., Ebrahimzadeh M.A. Quercetin derivatives: Drug design, development, and biological activities, a review // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2022. – V.229. – P. 1-17.
 9. Baxter K. *Stockley's Drug Interactions*. 8th Edition // Pharmaceutical Press. – 2008. – 1264 p.
 10. Berger-Bächi B., Rohrer S. Factors influencing methicillin resistance in staphylococci // *Archives of Microbiology*. – 2002. – V.178, N3. – P. 165-171.
 11. Dai Y., Chen D., Wang G., Yin J., Zhan Y., Wu K., Liang J., Chen X. Kinetic modeling and analysis of dynamic bioluminescence imaging of substrates administered by intraperitoneal injection // *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*. – 2020. – V.10, N2. – P. 389-396.
 12. Gehring T., Kim H.-J., Dibloni E. et al. Comparison of Antimicrobial Susceptibility Test Results of Disk Diffusion, Gradient Strip, and Automated Dilution with Broth Microdilution for Piperacillin-Tazobactam // *Microbial Drug Resistance*. – 2021. – V.27, N10. – P. 1305-1311.
 13. Gupta P., Khare V., Kumar D., et al. Comparative evaluation of disc diffusion and E-test with broth microdilution in susceptibility testing of amphotericin B, voriconazole and caspofungin against clinical *Aspergillus* isolates // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2015. – V.9, N1. – P. 4-7.
 14. Jeon S., Shin J.H., Lim H.J. et al. Disk Diffusion Susceptibility Testing for the Rapid Detection of Fluconazole Resistance in *Candida* Isolates // *Annals of Laboratory Medicine*. – 2021. – V.41, N6. – P. 559-567.
 15. Jorgensen J.H., Ferraro M.J. Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices // *Clinical Infectious Diseases*. – 2009. – V.49, N11. – P. 1749-1755.
 16. Lopez-Oviedo E., Aller A.I., Martín C., et al. Evaluation of disk diffusion method for determining posaconazole susceptibility of filamentous fungi: Comparison with CLSI broth microdilution method // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2006. – V.50, N3. – P. 1108-1111.
 17. Moschny J., Daletos G., Proksch P., et al. Structure Elucidation of Antibiotics // *Methods in Molecular Biology*. – 2023. – N2601. – P. 97-122.
 18. Susa J.B., Lardy H.A. Antibiotics as tools for metabolic studies. XVIII. Inhibition of sodium- and potassium-dependent adenosine triphosphatase // *Molecular Pharmacology*. – 1975. – V.11, N2. – P. 166-173.

Информация об авторах

Османова Селина Ягъяевна – аспирант обучения кафедры медицинской и фармацевтической химии Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С. И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». E-mail: selinaosmanova@gmail.com

Сафронюк Сергей Леонидович – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры медицинской и фармацевтической химии Института биохимических технологий, экологии и фармации федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». E-mail: safronuksergey@gmail.com

Кияев Амет-хан Бекирович – аспирант обучения кафедры медицинской и фармацевтической химии Института биохимических технологий, экологии и фармации федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». E-mail: ametxan.kiyaev@gmail.com

Кацев Андрей Моисеевич – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской и фармацевтической химии Института биохимических технологий, экологии и фармации федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». E-mail: katsev@mail.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.11.2023

Принята к печати 15.03.2024