

Р. В. Кравченко, С. Э. Ржеусский

**АДАПТАЦИЯ МЕТОДА «ШАХМАТНОЙ ДОСКИ»
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ
К КОМБИНАЦИЯМ АНТИСЕПТИКОВ**

**Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск, Республика Беларусь**

*Целью данной работы было адаптивное изменение метода «шахматной доски» для определения чувствительности *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* к комбинациям тетраметилэтилентетрамина, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида, хлоргексидина биглюконата, фурацилина, диметилсульфоксида, мирасептина. Фракционную подавляющую концентрацию определяли в сериях из 3 повторений в П-образных культуральных планшетах с крышкой на 96 лунок в формате «шахматной доски» (поле 8 на 8). Установлено, что по отношению ко всем изученным микроорганизмам аддитивным совместным антимикробным действием обладает комбинация тетраметилэтилентетрамина и полигексаметиленгуанидина гидрохлорида. Показано, что по отношению к *Klebsiella pneumoniae* аддитивным действием обладает комбинация хлоргексидина биглюконата и фурацилина. По отношению к *Staphylococcus aureus* аддитивным действием обладают комбинации фурацилина и полигексаметиленгуанидина гидрохлорида, фурацилина и хлоргексидина биглюконата, фурацилина и мирасептина. По отношению к *Candida albicans* аддитивным действием обладает комбинация тетраметилэтилентетрамина и хлоргексидина биглюконата. Диметилсульфоксид не проявляет аддитивного совместного действия ни с одним из антисептиков по отношению к изученным микроорганизмам. Ни одна из исследованных комбинаций не проявляет синергического или антагонистического совместного действия по отношению к изученным микроорганизмам. Определение антимикробной активности гелей тетраметилэтилентетрамина, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида и их комбинаций проводили методом диффузии в агар. Комбинация тетраметилэтилентетрамина и полигексаметиленгуанидина гидрохлорида в виде мягкой лекарственной формы обладает более выраженным антимикробным действием по отношению к грамположительным микроорганизмам. Сделан вывод о возможности использования метода «шахматной доски» для определения чувствительности микроорганизмов к комбинациям антисептиков, которые могут быть применены в стоматологической и хирургической практике.*

Ключевые слова: *антисептик, комбинированная антимикробная активность, аддитивное совместное действие.*

ВВЕДЕНИЕ

Все чаще сфера здравоохранения сталкивается со случаями недостаточной эффективности проводимых профилактических и противоэпидемических мероприятий при инфекциях, связанных с оказанием медицинской помощи, что связано с развитием резистентности микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам. Формирование госпитального штамма бактерий, обладающего резистентностью по отношению к антисептическим средствам (АС), ставит под угрозу эпидемиологическую безопасность медицинских

организаций. Имеются доказательства того, что патогенные бактерии могут адаптироваться к антисептикам при повторном воздействии [1].

Более тревожным является сопутствующее повышение устойчивости к антибиотикам, описанное для некоторых патогенов, которые ранее подвергались обработке АС. Согласно литературным данным, у большинства бактерий, адаптированных к антисептикам, гидрофобность клеточной поверхности была повышена, и масс-спектрометрический анализ выявил изменения в экспрессии белков, вовлеченных в широкий спектр функциональ-

ных доменов. Данные *in vitro* показывают адаптацию и перекрестную адаптацию патогенов полости рта к антисептикам и антибиотикам. Это связано с изменениями гидрофобности клеточной поверхности и экспрессии белков, участвующих в мембранном транспорте, вирулентности, защите от окислительного стресса и метаболизме. К сожалению, эффекты адаптации и перекрестной адаптации малоизвестны для патогенов полости рта [2].

В современной клинической практике применяется большое количество АС. Но, несмотря на многообразие торговых наименований препаратов, в качестве действующих веществ используется ограниченный спектр веществ антимикробного действия.

Профилактика и лечение заболеваний пародонта, вызванных микроорганизмами, является важной проблемой системы здравоохранения. На фармацевтическом рынке Республики Беларусь присутствуют лекарственные препараты для лечения указанных патологий, однако их ассортимент недостаточен для эффективного и полного оказания помощи пациентам. Причиной этого является незначительное количество используемых действующих веществ и большая удельная доля импортных лекарственных препаратов в данном сегменте рынка. Поэтому актуальным является фармацевтическая разработка новых лекарственных препаратов для лечения заболеваний пародонта [3].

Перспективным направлением фармацевтической разработки стоматологических лекарственных препаратов в виде мягкой лекарственной формы является применение комбинаций действующих веществ, усиливающих антимикробную активность друг друга. Для осуществления поиска данных комбинаций применяют метод «шахматной доски», хорошо описанный в научной литературе [4, 5]. Согласно этому методу комбинации веществ антимикробного действия при совместном использовании могут как уменьшать активность друг друга (антагонизм), так и увеличивать (аддитивное действие – комбинация веществ обладает активностью суммы ее компонентов или синергизм – активность комбинации выше активности суммы ее компонентов) [5]. Ранее нами изучена антимикробная активность ряда антисептиков [6]. Метод «шахматной до-

ски» преимущественно используется для изучения комбинированной активности антибиотиков.

Целью данной работы было изучение возможности применения метода «шахматной доски» для изучения комбинированной активности антисептиков, используемых в стоматологической и хирургической практике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись растворы фармацевтических субстанций, цветовые характеристики которых не мешали учету антимикробной активности, которые не обладали окислительными свойствами и не взаимодействовали с питательной средой. В работе использовали растворы тетраметилэтилентетрамина, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида, хлоргексидина биглюконата, диметилсульфоксида, фурацилина, лекарственного средства мирасептина (содержит действующее вещество миритин в концентрации 0,01%).

Для изучения совместного применения комбинаций антисептиков использовали следующие музейные штаммы: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813.

Определение комбинированного антимикробного действия изучали согласно методике «шахматной доски». Тестирование проводили в П-образных культуральных планшетах с крышкой на 96 лунок в формате «шахматной доски» (поле 8 на 8).

Используя питательную среду в качестве растворителя, приготовили 3–5 мл рабочих растворов с концентрацией $16 \times$ МПК (минимальная подавляющая концентрация) веществ X и Y. В каждую ячейку ряда А первого планшета вносили 100 мкл рабочего раствора вещества X. В лунки рядов В–Н вносили 50 мкл питательной среды. При помощи 8-канального дозатора последовательно смешивали и переносили 50 мкл полученных растворов из ряда лунок А до ряда G. В результате получали двукратные серийно убывающие разведения вещества X: $16 \times$ МПК (ряд А), $8 \times$ МПК (ряд В), $4 \times$ МПК (ряд С), $2 \times$ МПК (ряд D), $1 \times$ МПК (ряд Е), $0,5 \times$ МПК (ряд F), $0,25 \times$ МПК (ряд G). Из ряда лунок G уда-

ляли 50 мкл жидкости. Лунки ряда Н не содержали вещество А.

В лунки 8 столбца второго планшета вносили 120 мкл рабочего раствора вещества Y, в лунки 1–7 столбцов вносили 60 мкл питательной среды. С помощью 8-канального дозатора последовательно смешивали и переносили по 60 мкл полученных растворов из столбца 8 до столбца 2. Таким образом получили двукратные серийно убывающие разведения вещества Y: $16 \times$ МПК (ряд 8), $8 \times$ МПК (ряд 7), $4 \times$ МПК (ряд 6), $2 \times$ МПК (ряд 5), $1 \times$ МПК (ряд 4), $0,5 \times$ МПК (ряд 3), $0,25 \times$ МПК (ряд 2). Удаляли 60 мкл жидкости из ряда лунок А2...Н2. Лунки столбца 1 не содержали вещество В.

Переносили 50 мкл из 64 лунок планшета 2 в одноименные лунки планшета 1. Затем во все лунки планшета 1 вносили

100 мкл питательной среды, предварительно инокулированной суспензией исследуемого штамма 0,5 МакФарланд (концентрация микробных клеток 10^9 КОЕ/мл). По окончании всех действий объем жидкости в каждой из 64 лунок составил 200 мкл (50 мкл А + 50 мкл В + 100 мкл питательной среды, содержащей 10^6 КОЕ/мл культуры исследуемого микроорганизма). Для предотвращения высушивания планшет помещали в герметичный пакет из полиэтилена. После чего инкубировали при температуре 35 ± 2 °С в течение 18–24 ч. Учет результатов проводили по наличию достаточного роста микроорганизмов исследуемой культуры в лунке, не содержащей исследуемых веществ (лунка Н1). В конечном итоге в лунках планшета 1 содержались действующие вещества в диапазоне их концентраций от 0 до 4 МПК (рисунок 1).

	1	2	3	4	5	6	7	8	x МПК _x
А	4* 0**	4 0,06	4 0,125	4 0,25	4 0,5	4 1	4 2	4 4	4
В	2 0	2 0,06	2 0,125	2 0,25	2 0,5	2 1	2 2	2 4	2
С	1 0	1 0,06	1 0,125	1 0,25	1 0,5	1 1	1 2	1 4	1
Д	0,5 0	0,5 0,06	0,5 0,125	0,5 0,25	0,5 0,5	0,5 1	0,5 2	0,5 4	0,5
Е	0,25 0	0,25 0,06	0,25 0,125	0,25 0,25	0,25 0,5	0,25 1	0,25 2	0,25 4	0,25
F	0,125 0	0,125 0,06	0,125 0,125	0,125 0,25	0,125 0,5	0,125 1	0,125 2	0,125 4	0,125
G	0,06 0	0,06 0,06	0,06 0,125	0,06 0,25	0,06 0,5	0,06 1	0,06 2	0,06 4	0,06
Н	0 4	0 4	0 4	0 4	0 4	0 4	0 4	0 4	0
x МПК _y	0	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	

Примечание: * – здесь и в дальнейшем количество МПК_x; ** – здесь и в дальнейшем количество МПК_y.

Рисунок 1. – Методика «шахматной доски». Финальные концентрации веществ X и Y в лунках, кратные МПК

Для учета результатов отмечали МПК_x и МПК_y, МПК антисептика X в присутствии антисептика Y и МПК Y в присутствии X. Далее индекс фракционной подавляющей концентрации (ФПК), показывающий активность исследуемой комбинации, рассчитывали по формуле (1):

$$\sum \text{ФПК} = \frac{\text{МПК}_{xy}}{\text{МПК}_x} + \frac{\text{МПК}_{yx}}{\text{МПК}_y}, \quad (1)$$

где МПК_x, мкг/мл – минимальная концентрация чистого А, при которой отсутствует рост в лунке;

МПК_y, мкг/мл – минимальная концентрация чистого В, при которой отсутствует рост в лунке;

МПК_{xy}, мкг/мл – минимальная концентрация А в присутствии В, при которой отсутствует рост в лунке;

МПК_{yx}, мкг/мл – минимальная концентрация В в присутствии А, при которой

отсутствует рост в лунке;

ФПК – фракционная подавляющая концентрация;

Σ ФПК – индекс фракционной подавляющей концентрации.

Интерпретацию результатов расчетов проводили следующим образом: Σ ФПК \leq 0,5 – синергическое комбиниро-

ванное действие; $0,5 < \Sigma$ ФПК \leq 1,0 – аддитивное действие; $1,0 < \Sigma$ ФПК \leq 4,0 – нейтральное действие; Σ ФПК $>$ 4,0 – антагонизм [5].

Далее для изучения антимикробной активности веществ и их комбинаций были приготовлены гели на основе гидроксипропилметилцеллюлозы, составы действующих веществ представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Содержание действующих веществ в опытных гелях, %

Состав, №	Действующее вещество	
	ТМЭТ	ПГМГ
1	1	
2		1
3	0,5	0,5
4	1,0	1,0

Определение антимикробной активности опытных гелей проводили методом диффузии в агар «колодцами» на двух слоях плотной питательной среды, разлитой в чашки Петри. В нижнем слое использовали «голодную» среду, представляющую собой подложку объемом $10,0 \pm 0,3$ мл, на которой строго горизонтально были установлены тонкостенные цилиндры из нержавеющей стали диаметром 10 мм и высотой 10 мм. Вокруг цилиндров заливали верхний слой объемом $15 \pm 0,5$ мл, содержащий в себе питательную агаризованную среду с соответствующей взвесью суточной культуры исследуемого микроорганизма. После застывания в цилиндры помещали испытуемое вещество объемом $0,27 \pm 0,02$ мл. Чашки Петри подсушивали при комнатной температуре в течение 30 минут и ставили в термостат на 18–24 часа [7].

Результаты работы обрабатывали с помощью программы Microsoft Office Excel [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения комбинированной активности ранее были получены МПК изученных веществ по отношению к музейным штаммам микроорганизмов: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813 [6]. На основе этих данных изучена комбинированная антимикробная активность. Ре-

зультаты изучения комбинаций по отношению к грамотрицательным микроорганизмам представлены в таблице 2.

Установлено, что комбинация ТМЭТ, приводящего к инактивации ДНК и ПГМГ, нарушающего работу ферментов, регулирующих клеточное дыхание и репарацию нуклеиновых кислот, обладает аддитивным совместным действием по отношению к изученным грамотрицательным микроорганизмам (ФПК = 0,75). При совместном использовании фурацилина, приводящего к конформационным изменениям рибосомальных белков, и ХГ, имеющего аналогичный ПГМГ механизм, наблюдается аддитивное совместное действие по отношению к *Klebsiella pneumoniae* (ФПК = 0,75).

Определено, что фурацилин в предельной концентрации не оказывает антимикробного действия по отношению к *Pseudomonas aeruginosa*.

Результаты изучения комбинаций по отношению к грамположительным микроорганизмам представлены в таблице 3.

Установлено, что по отношению к изученным грамположительным микроорганизмам аддитивным антимикробным действием обладает комбинация ТМЭТ и ПГМГ (по отношению к *Staphylococcus aureus* ФПК = 0,625, *Streptococcus agalactiae* – ФПК = 0,75). Аддитивным совместным действием по отношению к *Staphylococcus aureus* обладают комбинации фурацилина и ПГМГ (ФПК = 0,67), фурацилина и ХГ (ФПК = 0,67), фурацилина и мирасептина (ФПК = 0,71).

Результаты изучения комбинирован-

Таблица 2. – Комбинированная антимикробная активность антисептиков по отношению к грамотрицательным микроорганизмам, ФПК (n = 3)

Исследуемые вещества	Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид	Фурацилин	Хлоргексидина биглюконат	Мирасептин	Диметилсульфоксид
<i>Klebsiella pneumoniae</i>					
Тетраметилендиэтилентетрамин	0,75	1,0	1,0	1,0	1,0
Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид		1,0	1,0	1,5	1,0
Фурацилин			0,75	2,0	2,0
Хлоргексидина биглюконат				1,0	2,0
Мирасептин					2,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>					
Тетраметилендиэтилентетрамин	0,75		1,0	1,0	1,0
Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид			1,0	2,0	1,0
Хлоргексидина биглюконат				2,0	2,0
Мирасептин					2,0

Таблица 3. – Комбинированная антимикробная активность антисептиков по отношению к грамположительным микроорганизмам, ФПК (n = 3)

Исследуемые вещества	Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид	Фурацилин	Хлоргексидина биглюконат	Мирасептин	Диметилсульфоксид
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Тетраметилендиэтилентетрамин	0,625	1,5	1,5	1,0	1,0
Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид		0,67	1,5	1,0	1,0
Фурацилин			0,67	0,71	1,0
Хлоргексидина биглюконат				1,58	1,83
Мирасептин					1,5
<i>Streptococcus agalactiae</i>					
Тетраметилендиэтилентетрамин	0,75	1,0	1,0	1,0	1,0
Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид		1,0	1,0	1,5	1,0
Фурацилин			1,0	1,0	2,0
Хлоргексидина биглюконат				1,33	2,66
Мирасептин					2,0

ной противогрибковой активности представлены в таблице 4.

Показано отсутствие противогрибковой активности фурацилина в предельной

концентрации.

Установлено, что комбинации ТМЭТ и ПГМГ (ФПК=0,625), ТМЭТ и ХГ (ФПК = 0,625) обладают аддитивным совместным

Таблица 4. – Комбинированная антимикробная активность антисептиков по отношению к *Candida albicans*, ФПК (n = 3)

Исследуемые вещества	Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид	Хлоргексидина биглюконат	Мирасептин	Диметилсульфоксид
Тетраметилендиэтилентетрамин	0,625	0,625	1,0	1,0
Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид		1,0	2,0	1,0
Хлоргексидина биглюконат			2,0	1,0
Мирасептин				1,5

действием по отношению к *Candida albicans*.

Определено, что по отношению ко всем изученным микроорганизмам аддитивным совместным антимикробным действием обладает комбинация ТМЭТ и ПГМГ. ДМСО не проявляет аддитивного совместного действия ни с одним из рассмотренных антисептиков по отношению к исследованным микроорганизмам. Ни одна из изученных комбинаций не прояв-

ляет синергического или антагонистического совместного действия к изученным микроорганизмам.

Далее нами были приготовлены опытные гели ТМЭТ, ПГМГ и их комбинации в разных концентрациях. Антимикробная активность опытных гелей была изучена по отношению к *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus agalactiae* ATCC, *Staphylococcus aureus*. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5. – Зоны задержки роста опытных гелей, мм (n = 4)

Состав, №	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	22,8 ± 0,95	20,5 ± 1,29	26,0 ± 0,81	22,5 ± 0,57
2	16,5 ± 1,29	15,5 ± 0,57	21,75 ± 1,7	19,5 ± 0,57
3	22,25 ± 1,5	17,75 ± 0,5	26,5 ± 0,57	27,5 ± 1,0
4	26,5 ± 1,29	22,75 ± 0,5	28,25 ± 0,5	27,5 ± 0,57

Установлено, что по отношению к грамположительным микроорганизмам комбинация ТМЭТ и ПГМГ обладает более выраженным антимикробным действием в сравнении с веществами по отдельности при равной сумме концентраций.

Таким образом при использовании адаптированной методики «шахматной доски» обнаружена перспективная для фармацевтической разработки комбинация тетраметилендиэтилететрамина и полигексаметиленгуанидина гидрохлорида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Адаптировали метод «шахматной доски» для определения чувствительности микроорганизмов к комбинациям антисептиков, не обладающих окислительными свойствами, не взаимодействующих с питательной средой и цветовые характеристики которых не мешают учету результатов.

При изучении комбинированной активности показано, что комбинация тетраметилендиэтилететрамина и полигексаметиленгуанидина гидрохлорида обладает аддитивным совместным действием по отношению ко всем изученным микроорганизмам: *Pseudomonas aeruginosa* (индекс фракционной подавляющей концентрации = 0,75), *Staphylococcus aureus* (индекс фракционной подавляющей концентрации = 0,625), *Candida albicans* (индекс фракционной подавляющей концентрации = 0,625), *Klebsiella pneumonia* (индекс фракционной подавляющей кон-

центрации = 0,75), *Streptococcus agalactiae* (индекс фракционной подавляющей концентрации = 0,75). По отношению к *Klebsiella pneumonia* аддитивным действием обладает комбинация хлоргексидина биглюконата и фурацилина (индекс фракционной подавляющей концентрации = 0,75). По отношению к *Staphylococcus aureus* аддитивным действием обладают комбинации фурацилина и полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (индекс фракционной подавляющей концентрации = 0,67), фурацилина и хлоргексидина биглюконата (индекс фракционной подавляющей концентрации = 0,67), фурацилина и мирасептина (индекс фракционной подавляющей концентрации = 0,71). По отношению к *Candida albicans* аддитивным действием обладает комбинация тетраметилендиэтилететрамина и хлоргексидина биглюконата (индекс фракционной подавляющей концентрации = 0,625).

В результате изучения антимикробной активности опытных гелей показано, что по отношению к грамположительным микроорганизмам комбинация тетраметилендиэтилететрамина и полигексаметиленгуанидина гидрохлорида обладает более выраженным антимикробным действием в сравнении с гелями этих веществ по отдельности при равной сумме концентраций (по отношению к *Staphylococcus aureus* наблюдается увеличение зон задержек роста на 2–18%, по отношению к *Streptococcus agalactiae* – на 18–29%).

Таким образом, метод «шахматной доски» может использоваться для определения чувствительности микроорганизмов к комбинациям антисептиков, применяемых в стоматологической и хирургической практике.

SUMMARY

R. V. Krauchanka, S. E. Rzheussky
ADAPTATION OF THE "CHESSBOARD"
METHOD FOR DETERMINING
MICROORGANISMS SENSITIVITY TO
THE COMBINATIONS OF ANTISEPTICS

The aim of this work was to adapt the "chessboard" method for determining *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* sensitivity to tetramethylenediethylene tetramine, polyhexamethylene guanidine hydrochloride, chlorhexidine bigluconate, furaciline, dimethyl sulfoxide, miraseptin combinations. The fractional suppressive concentration was determined in the series of 3 repetitions in U-shaped cultural plates with a lid for 96 holes in the "chessboard" format (field 8 by 8). It was found that in relation to all the microorganisms studied the combination of tetramethylenediethylentetramine and polyhexamethylene guanidine hydrochloride had an additive joint antimicrobial effect. It has been shown that chlorhexidine bigluconate and furacillin combination has an additive effect in relation to *Klebsiella pneumoniae*. Furacilin and polyhexamethylene guanidine hydrochloride, furacilin and chlorhexidine bigluconate, furacilin and miraseptin combinations have an additive effect in relation to *Staphylococcus aureus*. Tetramethylenediethylentetramine and chlorhexidine bigluconate combination has an additive effect in relation to *Candida albicans*. Dimethyl sulfoxide does not exhibit additive joint action with any antiseptic in relation to the microorganisms studied. None of the combinations studied shows synergistic or antagonistic joint action in relation to the microorganisms studied. Antimicrobial activity determination of tetramethylenediethylentetramine, polyhexamethylene guanidine hydrochloride gels and their combinations was conducted by the diffusion method into agar. Tetramethylenediethylentetramine and polyhexamethylene guanidine hydrochloride combination in the soft dosage form has a more pronounced antimicrobial effect against

gram-positive microorganisms. The conclusion is made about the possibility of using the "chessboard" method to determine microorganisms sensitivity to antiseptics combinations that can be used in stomatological and surgical practice.

Keywords: antiseptic, combined antimicrobial activity, additive joint action.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чувствительность и формирование устойчивости к антисептикам и дезинфектантам у возбудителей внутрибольничных инфекций / И. А. Дятлов [и др.] // Бактериология. – 2017. – Т. 2, № 2. – С. 48–58.
2. Development of antiseptic adaptation and cross-adaptation in selected oral pathogens in vitro / T. Verspecht [et al.] // Sci. rep. – 2019. – Vol. 9, N 1. – P. 1–13.
3. Кравченко, Р. В. Анализ рынка стоматологических мягких лекарственных средств / Р. В. Кравченко, С. Э. Ржеусский // Вестн. фармации. – 2020. – № 1. – С. 37–42.
4. Synergy tests by E test and checkerboard methods of antimicrobial combinations against *Brucella melitensis* / G. Orhan [et al.] // J. of clinical microbiology. – 2005. – Vol. 43, N 1. – P. 140–143.
5. Doern, C. D. When does 2 plus 2 equal 5? A review of antimicrobial synergy testing / C. D. Doern // J. of clinical microbiology. – 2014. – Vol. 52, N 12. – P. 4124–4128.
6. Кравченко, Р. В. Изучение антимикробной активности ряда антисептиков / Р. В. Кравченко, С. Э. Ржеусский // Вестн. фармации. – 2022. – № 2. – С. 77–81.
7. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. : введ. в действие с 1 янв. 2013 г. приказом М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 25.04.2012 г. № 453. – Т. 1: Общие методы контроля качества лекарственных средств / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении ; [под общ. ред. А. А. Шерякова]. – Молодечно: Победа, 2012. – 1220 с.
8. Гинзбург, А. И. Статистика / А. И. Гинзбург. – Санкт-Петербург: Питер, 2002. – 128 с.

REFERENCES

1. Diatlov IA, Detusheva EV, Mitsevich IP, Detushev KV, Podkopaev IaV, Fursova NK. Sensitivity and formation of resistance to antiseptics and disinfectants in causative agents of nosocomial infections. *Bakteriologiya*. 2017;2(2):48–58. doi: 10.20953/2500-1027-2017-2-48-58. (In Russ.)
2. Verspecht T, Herrero ER, Khodaparast L, Khodaparast L, Boon N, Bernaerts K et al. De-

velopment of antiseptic adaptation and cross-adaptation in selected oral pathogens in vitro. *Sci Rep.* 2019;9(1):1–13. doi: 10.1038/s41598-019-44822-y

3. Kravchenko RV, Rzhusskii SE. Market Analysis of Dental Soft Medicines. *Vestn farmatsii.* 2020;(1):37–42. (In Russ.)

4. Orhan G, Bayram A, Zer Y, Balci I. Synergy tests by E test and checkerboard methods of antimicrobial combinations against *Brucella melitensis*. *J. of clinical microbiology. J Clin Microbiol.* 2005;43(1):140–3. doi: 10.1128/JCM.43.1.140-143.2005

5. Doern CD. When does 2 plus 2 equal 5? A review of antimicrobial synergy testing. *J Clin Microbiol.* 2014;52(12):4124–8. doi: 10.1128/JCM.01121-14

6. Kravchenko RV, Rzhusskii SE. Study of the antimicrobial activity of a number of antiseptics. *Vestn farmatsii.* 2022;(2):77–81. doi:

10.52540/2074-9457.2022.2.77. (In Russ.)

7. Ministerstvo zdravookhraneniia Respubliki Belarus', Tsentr ekspertiz i ispytaniia v zdravookhraneniia. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: v 2 t. T. 1. General methods of quality control of medicines. Sheriakov AA, redactor. Molodechno, RB: Pobeda; 2012. 1220 s. (In Russ.)

8. Ginzburg AI. Statistics. Sankt-Peterburg, RF: Piter; 2002. 128 s. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:

210009, Республика Беларусь,

г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,

УО «Витебский государственный ордена

Дружбы народов медицинский университет»,

кафедра менеджмента и маркетинга фармации,

тел. раб.: +375298154190,

e-mail: xolelo2014@gmail.com,

Кравченко Р. В.

Поступила 17.01.2023 г.