

Г. О. Єрьоміна<sup>1</sup>, Т. В. Упир<sup>1</sup>, Т. П. Осолодченко<sup>2</sup>, З. Г. Єрьоміна<sup>1</sup>,  
Н. Р. Демченко<sup>3</sup>, Л. О. Перехода<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Національний фармацевтичний університет,  
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: annerem2012@gmail.com

<sup>2</sup> Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова

<sup>3</sup> Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка

## Пошук сполук з антимікробною дією серед морфоліновмісних похідних 2-R-фенілімінотіазолу

Лікування інфекційних захворювань є однією з глобальних проблем сучасної медицини. Незважаючи на великий арсенал лікарських препаратів, проблема пошуку нових високоефективних антимікробних засобів залишається актуальною, оскільки фіксується неухильне зростання стійкості мікроорганізмів до ліків. Одним з перспективних шляхів подолання цієї проблеми є пошук і впровадження в практику нових антимікробних субстанцій.

**Мета** даної роботи – пошук сполук антимікробної дії серед морфоліновмісних похідних 2-R-фенілімінотіазолу, а саме похідних N-[4-метил-2-(R-феніліміно)тіазол-3-іл]-морфоліну.

**Результати та їх обговорення.** Результати проведеного біологічного скринінгу показали, що всі досліджувані сполуки у концентрації 1 % проявили антибактеріальну та протигрибкову дію. Встановлено, що найбільш виражену антибактеріальну дію сполуки проявили щодо грампозитивних штамів мікроорганізмів (зони затримки росту становили 23-27 мм) і дещо нижчу – відносно грамнегативних штамів (зони затримки росту складала 15-25 мм). Найвищу активність відносно всіх досліджуваних штамів мікроорганізмів проявила сполука **3c** – гідрохлорид N-[4-метил-2-(2',5'-диметилфеніліміно)тіазол-3-іл]-морфоліну.

**Експериментальна частина.** Біологічний скринінг на антимікробну активність здійснювали *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів»).

**Висновки.** Встановлено, що похідні N-[4-метил-2-(R-феніліміно)тіазол-3-іл]-морфоліну є перспективними об'єктами для подальших поглиблених досліджень антимікробної активності з метою створення нових ефективних антимікробних препаратів.

**Ключові слова:** похідні 2-R-фенілімінотіазолу; синтез; реакція Ганча; антимікробні властивості; метод дифузії в агар

### **H. O. Yeromina, T. V. Upyr, T. P. Osolodchenko, Z. G. Ieromina, N. R. Demchenko, L. O. Perekhoda** **The search for substances with the antimicrobial activity among morpholine-containing 2-R-phenyliminothiazole derivatives**

The treatment of infectious diseases is one of the global problems of modern medicine. Despite the large amount of medications the problem of creation of new highly effective antimicrobials is a relevant task. This is, mainly, due to the increase of microbial resistance to the widely used antimicrobials. One of the promising ways to solve this task is the search and creation of new antimicrobial substances.

**Aim.** To search for the substances with the antimicrobial activity among derivatives of morpholine-containing 2-R-phenyliminothiazole, namely N-[4-methyl-2-(R-phenylimino)thiazol-3-yl]-morpholine derivatives.

**Results and discussion.** The results of the biological screening demonstrated that all compounds studied in the concentration of 1 % revealed the antibacterial and antifungal effect. It was determined that the compounds had the most pronounced antibacterial effect on gram-positive strains of microorganisms (with the average diameter of the inhibition zones of 23-27 mm) and a little less effect on gram-negative strains of microorganisms (with the average diameter of the inhibition zones of 15-25 mm). Compound 3c – N-[4-methyl-2-(2',5'-dimethylphenylimino)thiazol-3-yl]morpholine hydrochloride showed the highest activity against all strains of microorganisms tested.

**Experimental part.** The biological screening for the antimicrobial activity was carried out *in vitro* by the agar diffusion method (“wells” method).

**Conclusions.** It has been found that N-[4-methyl-2-(R-phenylimino)thiazol-3-yl]-morpholine derivatives can be promising objects for further in-depth studies of the antimicrobial activity and for creating new effective antimicrobial drugs.

**Key words:** derivatives of 2-R-phenyliminothiazole; synthesis; Hantzsch reaction; antimicrobial properties; agar diffusion method

### **A. A. Eremina, T. V. Upyr, T. P. Osolodchenko, Z. G. Eremina, N. R. Demchenko, L. A. Perekhoda** **Поиск веществ с антимикробным действием среди морфолиносодержащих производных 2-R-фенилиминотиазола**

Лечение инфекционных заболеваний является одной из глобальных проблем современной медицины. Несмотря на большой арсенал лекарственных препаратов, проблема поиска новых высокоэффективных антимикробных средств остается актуальной, поскольку фиксируется неуклонный рост устойчивости микроорганизмов к лекарствам. Одним из перспективных путей преодоления этой проблемы является поиск и внедрение в практику новых антимикробных субстанций.

**Цель** данной работы – поиск соединений антимикробного действия среди морфолиносодержащих производных 2-R-фенилиминотиазола, а именно производных N-[4-метил-2-(R-фенилимино)тиазол-3-ил]-морфолина.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты проведенного биологического скрининга показали, что все исследуемые соединения в концентрации 1 % проявили антибактериальное и противогрибковое действие. Установлено, что наиболее выраженное антибактериальное действие соединения проявили относительно грамположительных штаммов микроорганизмов (зоны задержки роста составляли 23-27 мм), и несколько ниже – относительно грамотрицательных штаммов (зоны задержки роста составляли 15-25 мм). Самую высокую активность в отношении всех исследуемых штаммов микроорганизмов проявило соединение **3c** – гидрохлорид N-[4-метил-2-(2',5'-диметилфенилимино)тиазол-3-ил]-морфолина.

**Экспериментальная часть.** Биологический скрининг на антимикробную активность осуществляли *in vitro* методом диффузии в агар (метод «колодцев»).

**Выводы.** Установлено, что производные N-[4-метил-2-(R-фенилимино)тиазол-3-ил]-морфолина являются перспективными объектами для дальнейших углубленных исследований антимикробной активности с целью создания новых эффективных антимикробных препаратов.

**Ключевые слова:** производные 2-R-фенилиминотиазола; синтез; реакция Ганча; антимикробные свойства; метод диффузии в агар

За умов сучасної клініки у боротьбі з інфекційними та гнійно-запальними захворюваннями вірусної, бактеріальної та грибової етіології провідна роль належить антибіотикам та синтетичним хіміотерапевтичним засобам, більшість з яких була відкрита ще в середині минулого сторіччя. Однак широке та безконтрольне застосування цих препаратів у медицині, побуті та сільському господарстві призводить до селекції і поширення стійких до їх дії штамів мікроорганізмів. На сьогодні збільшення антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів набуло широкого розповсюдження і набуло характеру епідемії [1-2]. У більшості країн світу стійкість збудників інфекційних захворювань до антимікробних препаратів незмінно зростає. Запобігання формуванню та поширенню антибіотикорезистентності мікроорганізмів визнано ВООЗ як головна проблема сьогодення [3].

Виражена різноманітність генів і механізмів резистентності особливо характерна для ентеробактерій, які є важливими збудниками як поза лікарняних, так і госпітальних інфекцій різної локалізації [4]. Суттєве значення має проблема поширення інфекцій, викликаних штамми *Staphylococcus aureus*, стійкими до антибіотиків, оскільки *Staphylococcus aureus* може викликати розвиток гнійно-запальних процесів практично у всіх органах з тяжким перебігом [5]. Резистентність штамів поширюється не тільки на традиційні антибіотики, але й спостерігається набуття стійкості до нових груп. Така небезпечна ситуація може бути вирішена лише пошуком та впровадженням у медичну практику нових лікарських засобів з високою бактерицидною та антигрибовою дією [6-8].

Дослідження останніх років показали перспективність пошуку біологічно активних речовин антимікробної дії серед морфоліновмісних тіосечовин [9-13]. Заслугує на увагу також морфоліновмісний антибіотик групи оксазолідинонів – лінезолід, що використовується для лікування важких інфекційних захворювань, стійких до інших антибіотиків [14].

Враховуючи це, було цікаво продовжити пошук нових антимікробних засобів з урахуванням

можливості використання морфоліновмісних тіосечовин у синтезі похідних тіазолу.

На основі несиметричних тіосечовин, що містять у своїй структурі морфоліновий та арильний замісники, в умовах реакції Ганча нами одержано нові похідні 2-R-фенілімінотиазолу, синтез яких описаний у роботі [15]. Гідрохлориди N-[4-метил-2-(R-феніліміно)тиазол-3-іл]-морфоліну **3(a-e)** синтезовані у середовищі етанолу взаємодією еквімолярних кількостей нуклеофільних реагентів – N-(R-феніл)-N'-(морфолін-4-іл)тіосечовин **1(a-e)** з електрофілом  $\alpha$ -хлорацетоном **2** відповідно до схеми [15].

Вивчення антибактеріальної та протигрибової активності 1 % розчинів синтезованих похідних N-[4-метил-2-(R-феніліміно)тиазол-3-іл]-морфоліну **3(a-e)** здійснювали згідно з рекомендаціями МОЗ України [16] у дослідах *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів»).

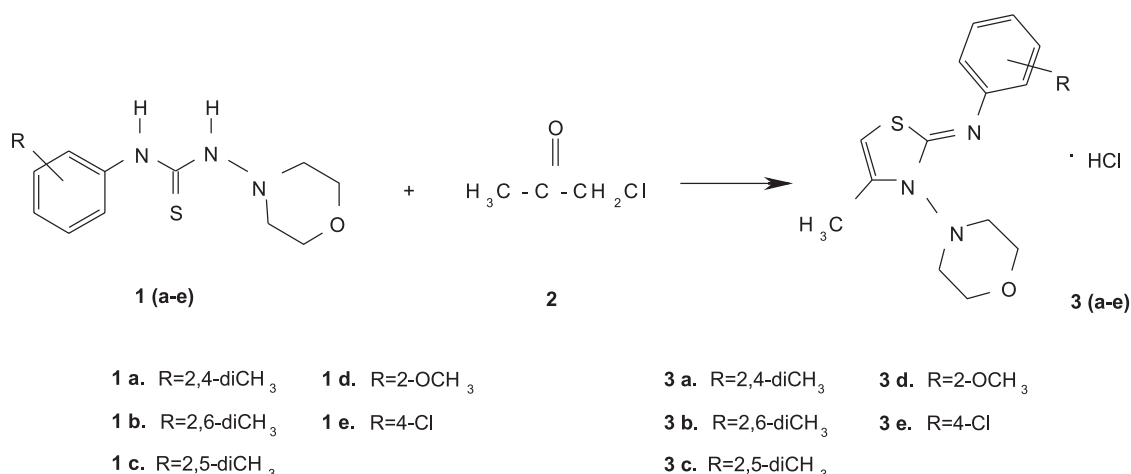
Як тест-мікроорганізми для оцінки антимікробної активності речовин були обрані еталонні штами умовно-патогенних грампозитивних: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 та грамнегативних бактерій: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Для оцінки протигрибової активності речовин використовували тест-культуру одного з найбільш патогенних представників роду *Candida* – *Candida albicans* ATCC 885/653.

По відношенню до кожної тест-культури досліди проводили три рази. Показниками антибактеріальної та протигрибової дії був діаметр зон затримки росту тест-культур, які утворювалися в агарових середовищах.

### **Результати та їх обговорення**

Діаметри зон затримки росту кожного з мікроорганізмів (мм), отримані в результаті вивчення антибактеріальних та протигрибових властивостей досліджуваних зразків відносно різних культур тест-мікроорганізмів, наведені у таблиці.

Найвищу активність щодо всіх досліджуваних культур мікроорганізмів проявив гідрохлорид N-[4-метил-2-(2',5'-диметилфеніліміно)тиазол-3-іл]-морфоліну **3c**. Грампозитивні штами мікроорга-



## Схема

нізмів (золотистий стафілокок та сінна паличка) виявилися високочутливими до даної синтезованої речовини, грамнегативні – середньочутливими, що свідчить про відповідно її високу та помірну антибактеріальну дію.

Досліджувані штами умовно-патогенних мікроорганізмів виявилися чутливими до всіх синтезованих похідних 2-R-фенілімінотіазолу, що свідчить про їх високу антимікробну активність. Вірогідно, це обумовлено наявністю морфолінового та фенілімінотіазольного фрагменту у структурах сполук. Похідні N-[4-метил-2-(R-феніліміно)тіазол-3-іл]-морфоліну **3a-e** пригнічували ріст грам-позитивних штамів бактерій із зонами затримки росту 23-27 мм і пригнічували ріст грамнегативних штамів із зонами затримки росту 15-25 мм. Діаметри зон затримки росту *Candida albicans* становили 20-22 мм.

**Експериментальна частина**

Біологічний скринінг на наявність антибактеріальної та протигрибкової активності сполук проводили у ДУ «ІМІ імені І. І. Мечникова НАМНУ» під керівництвом с. н. с. Осолодченко Т. П.

Приготування мікробної суспензії проводили з використанням приладу Densi-La-Meter (виробництво PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі – 540 нм).

Суспензію готували згідно з інструкцією, що додається до приладу, та інформаційного листа про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 «Стандартизація приготування мікробних суспензій», м. Київ. Синхронізацію культур проводили з використанням низької температури (4 °С). Мікробне навантаження становило 10<sup>7</sup> мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалося за стандартом McFarland. У роботу брали 18-24 годинну культуру мікроорганізмів тест-штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653. Для досліджень використовували агар Мюллера-Хінтона («HI Media Laboratories Pvt. Ltd India»). Для *Candida albicans* використовували агар Сабуро-декстрозний (виробництво Індія, «HI Media Laboratories Pvt. Ltd India»).

Дифузію сполуки в агар проводили методом «колодязів». Визначення активності речовин проводили на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі. У нижньому шарі використовували «голодні» незасіяні середовища (агар-агар, вода, солі). Нижній шар являв собою підкладку з 10 мл «голодного агару», на яку строго горизонтально встановлювали 3-6 тонкостінних циліндрів з нержавіючої сталі діаметром

**Таблиця**Антимікробна активність похідних N-[4-метил-2-R-фенілімінотіазол-3-іл]-морфоліну **3(a-e)**

Сполука	Діаметри зон затримки росту, мм, n=3					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885
<b>3a</b>	22, 23, 24	25, 24, 25	20, 21, 22	17, 16, 16	16, 17, 17	22, 20, 21
<b>3b</b>	24, 24, 25	24, 23, 24	22, 22, 21	16, 17, 16	16, 16, 16	21, 21, 21
<b>3c</b>	26, 25, 25	26, 25, 26	24, 25, 25	17, 18, 17	18, 17, 17	22, 21, 21
<b>3d</b>	24, 24, 24	24, 23, 23	23, 22, 23	15, 15, 16	16, 15, 16	22, 22, 21
<b>3e</b>	22, 23, 22	25, 25, 27	20, 19, 20	17, 16, 16	16, 16, 15	21, 22, 22

10 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складався із поживного агаризованого середовища, розплавленого та охолодженого до 40 °С, у нього вносили відповідний стандарт добової культури тест-мікроба. Попередньо верхній шар добре перемішували до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри стерильним пінцетом витягували і в лунки, що утворилися, поміщали 1 % розчин випробовуваної речовини з урахуванням об'єму (0,25-0,30 мл). Об'єм середовища для верхнього шару коливався від 14

до 16 мл. Чашки підсушували 30-40 хвилин при кімнатній температурі і ставили в термостат на 18-24 години.

### Висновки

Отримані результати обґрунтовують доцільність подальших поглиблених досліджень похідних N-[4-метил-2-(R-феніліміно)тіазол-3-іл]-морфоліну з метою пошуку нових ефективних антимікробних препаратів.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

### Перелік використаних джерел інформації

1. Воротеї, С. С. Чутливість плівкоутворюючих та неплівкоутворюючих штамів *St. aureus* до антибіотиків та лікувальних препаратів – бактеріофагів / С. С. Воротеї, Л. С. Воронкова, А. І. Вінніков // Вісник проблем біол. та медицини. – 2015. – Вип. 2 (4). – С. 227–282.
2. A study on biofilm production and antifungal drug resistance among *Candida* species from vulvovaginal and bloodstream infections / S. Tulasidas, P. Rao, Bhat, R. Manipura // *Infect. Drug Resist.* – 2018. – Vol. 11. – P. 2443–2448. <https://doi.org/10.2147/idr.s179462>
3. Устойчивость к антибиотикам: Информационный бюллетень. Всемирная организация здоровья. Центр СМИ. Женева. – 2016. – Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
4. Резистентность энтеробактерий к антимикробным препаратам выбора при лечении острых кишечных инфекций / Л. А. Кафтырева, С. А. Егорова, Е. А. Кожухова и др. // *Казанский мед. журн.* – 2009. – № 90 (5). – С. 699–704.
5. Foster, T. J. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects / T. J. Foster // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2017. – Vol. 1, Iss. 41 (3). – P. 430–449. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux007>
6. Бактерицидна та протигрибкова активність біс-четвертинних амонійних солей, що містять фрагмент димедролу / Т. М. Бойчук, І. П. Бурденюк, В. Ф. Мислицький та ін. // *Clin. and Experim. Pathol.* – 2016. – Vol. 15, № 2 (56). – P. 39–41. <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XV.2.56.2016.8>
7. Research of the antimicrobial and antifungal activity of 7-((3-thio-4-R-4H-1,2,4-triazoles-3-yl)methyl)theophylline S-derivatives. / A. S. Gotsulya, O. M. Kamyshnyi, N. M. Polishchuk et al. // *Запорожский мед. журн.* – 2015. – №4 (91). – С. 95–99. <http://dx.doi.org/10.14739/2310-1210.2015.4.50302>
8. Противомикробная активность и токсичность алкилтетрагидроизохинолинов / Е. Терентьева, С. Сасмаков, Ш. Азимов и др. // *Вісник Київського нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія.* – 2017. – Вип. 2. – С. 51–55.
9. Anusionwu, C. G. Hybrid molecules development : A versatile landscape for the control of antifungal drug resistance–A Review / C. G. Anusionwu, B. A. Aderibigbe, X. Y. Mbianda // *Mini Rev. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 19. <https://doi.org/10.2174/1389557519666181210162003>
10. Синтез антибактериальная и противогрибковая активность тиомочевинных производных алкалоида анабазина / И. В. Кулаков, О. А. Нуркенов, С. Б. Ахметова и др. // *Хим.–фарм. журн.* – 2011. – Т. 45, № 1. – С. 17–20.
11. Синтез и свойства углеводных производных гетероциклических соединений / Р. К. Сарымзакова, Ж. А. Джаманбаев, Ю. А. Абдурашитова и др. // *Успехи совр. естествознания.* – 2016. – № 2. – С. 65–69.
12. Синтез и изучение антибактериальных свойств новых дизамещенных производных тиомочевин / С. О. Варганян, А. Б. Саргсян, А. С. Авакян и др. // *Хим. журн. Армении.* – 2015. – Т. 68, № 2. – С. 251–258.
13. Semwal, A. Synthesis, Characterization and Biological Activity of Novel N-p-methylbenzoyl-N-substituted thiourea / A. Semwal, A. Nigam, D. C. P. Singh // *Intern. J. of Drug Design and Discovery.* – 2011. – Vol. 2, № 4. – P. 654–658.
14. Иванов, Д. Д. Применение препаратов группы оксазолидинонов в терапии инфекции мочевыводящих путей / Д. Д. Иванов, Я. А. Домбровский // *Почки.* – 2015. – № 4 (14). – С. 50–54.
15. Синтез похідних N-[4-метил(4'-хлорофеніл)-2-R-фенілімінотіазол-3-іл]-морфоліну за реакцією Ганча / Л. О. Перехода, Г. О. Єрьоміна, І. В. Драпак та ін. // *Журн. орг. та фарм. хімії.* – 2016. – Т. 14, № 3 (55). – С. 52–57. <https://doi.org/10.24959/ophcj.16.890>
16. Coyle, M. B. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing.* American Society for Microbiology / M. B. Coyle. – Washington : American Society for Microbiology, 2005. – 236 p.

### References

1. Vorotey, E. S., Voronkova, L. S., Vinnikov, A. I. (2015). Chutlivist plivkoutvoryuyuchih ta neplivkoutvoryuyuchih shtamiv *St. aureus* do antibiotikov ta likuvalnih preparativ. *Visnik problem biologiyi ta meditsini*, 2 (4), 227–282.
2. Tulasidas, S., Rao, P., Bhat, S., & Manipura, R. (2018). A study on biofilm production and antifungal drug resistance among *Candida* species from vulvovaginal and bloodstream infections. *Infection and Drug Resistance*, Volume 11, 2443–2448. <https://doi.org/10.2147/idr.s179462>
3. *Ustoichivost k antibiotikam: Informatsionnyi biulleten.* (2016). Vsemirnaia organizatsiaia zdorovia. Tcentr SMI. Zheneva. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
4. Kofyureva, L. A., Egorova, S. A., Kozhukhova, E. A., Makarova, M. A., Kozlova, N. S., Matveeva, Z. N., Shestakova, T. I., Petrova, L. Iu., & Kicha, E. V. (2009). *Kazanskii meditsinskii zhurnal*, 90 (5), 699–704.
5. Foster, T. J. (2017). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiology Reviews*, 41 (3), 430–449. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux007>
6. Boichuk, T. N., Burdeynyuk, I. P., Myslytsky, V. F., Khodorowsky, V. M., & Chornous, V. A. (2016). Bactericidal and antifungal activity of quaternary ammonium salts – a derivative of diphenhydramine. *Clinical & Experimental Pathology*, 15 (2). <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XV.2.56.2016.8>
7. Gotsulya, A. S., Kamyshnyi, O. M., Polishchuk, N. M., Panasenko, O. I., & Knysh, Y. G. (2015). Research of the antimicrobial and antifungal activity of 7-((3-thio-4-R-4H-1,2,4-triazoles-3-yl)methyl)theophylline S-derivatives. *Zaporozhye Medical Journal*, 4 (91), 95–99. <http://dx.doi.org/10.14739/2310-1210.2015.4.50302>
8. Terenteva, E., Sasmakov, S., Azimov, Sh., Vinogradova, V., Abdurakhmanov, D., Khashimova, Z., & Saidov, A. (2017). *Visnyk Kyivskoho natsionalnoho universytetu imeni Tarasa Shevchenka. Biologiya*, (2), 51–55.
9. Anusionwu, C. G., Aderibigbe, B. A., & Mbianda, X. Y. (2018). Hybrid molecules development : A versatile landscape for the control of antifungal drug resistance–A Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 19. <https://doi.org/10.2174/1389557519666181210162003>
10. Kulakov, I. V., Nurkenov, O. A., Ahmetova, S. B., Seydahmetova, R. B., Zhambekov, Z. M. (2011). *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 45 (1), 17–20.

11. Sarymzakova, R. K., Dzhamanbaev, Zh. A., Abdurashitova, Iu. A., Suleimanova, Sh. S., Sarymzakova, B. K. (2016). *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniia*, 2, 65–69
12. Vartanyan, S. O., Sargsyan, A. B., Avakyan, A. S., Agekyan, A. A., Stepanyan, G. M., Paronikyan, R. V. (2015). *Him. zhurn. Armenii*, 68 (2), 251–258.
13. Semwal, A., Nigam, A., Singh, D. C. P. (2011). Synthesis, Characterization and Biological Activity of Novel N-*p*-methylbenzoyl-N-substituted thiourea. *IJDDD*, 2 (4), 654–658.
14. Ivanov, D. D., Dombrovskii, Ia. A. (2015). *Pochki*, 4 (14), 50–54.
15. Perekhoda, L. O., Yeromina, H. O., Drapak, I. V., Sych, I. A., Demchenko, A. M., & Komykhov, S. O. (2016). The synthesis of N-[4-methyl(41-chlorophenyl)-2-R-phenyliminothiazol-3-yl]-morpholine derivatives by Hantzsch reaction. *Žurnal Organičnoї Ta Farmaceutičnoї Himiї*, 14 (3 (55)), 52–57. <https://doi.org/10.24959/ophcj.16.890>
16. Coyle, M. B. (2005). *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology*. American Society for Microbiology, 236.

Надійшла до редакції 17.01.2019 р.