

Михайличенко Богдан Григорович,
аспірант кафедри стоматології,
Національний університет охорони здоров'я імені П.Л. Шупика
ORCID ID: 0009-0007-0001-1921
м. Київ, Україна

Мочалов Юрій Олександрович,
доктор медичних наук, професор,
професор кафедри хірургічної стоматології та клінічних дисциплін,
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID ID: 0000-0002-5654-1725
м. Ужгород, Україна

Якісне визначення виділення антибактеріальних препаратів остеопластичними матеріалами, які застосовуються в стоматології та щелепно-лицевій хірургії

Вступ. Остеопластичні (або кістково-замінні) матеріали є медичними виробами, які застосовуються у різних галузях медицини, і стоматологія перебуває на умовному третьому місці у світі за рівнем їх споживання. Клінічне застосування остеопластичних матеріалів завжди має ризики інфікування рани патогенною та умовно-патогенною мікрофлорою, яка може потрапляти на операційне поле. Фармакокінетика антибактеріальних засобів, введених до складу остеопластичних матеріалів є мало дослідженим питанням в медицині та в стоматології зокрема.

Методологія та методи дослідження. Мета дослідження – перевірити за допомогою якісних тестів тривалість виділення антибіотиків з остеопластичних матеріалів, які застосовуються в стоматології та щелепно-лицевій хірургії, після попередньої експозиції матеріалів у відповідних розчинах. Три матеріали («Біомін ГТ», «easy-graft CLASSIC 150» та «InterOss» (1–2 мм)) після добової витримки в розчинах гентаміцину сульфату 4,0%, офлоксацину 5,0%, метронідазолу 5,0% та левоміцетину 5,0% і наступного висушування, поміщали в дистильовану воду, в якій визначали присутність залишків антибіотиків на 2-й, 5-й, 10-й та 30-й день (із заміною води). Для визначення використовували експрес-тест для визначення антибіотиків та інгібіторів (антисептики та мийні засоби) в молоці «Charm CowSide® II».

Виклад основного матеріалу дослідження. Результати дослідження показали, що тривале виділення антибіотиків (30 днів) спостерігалось при застосуванні розчину гентаміцину сульфату та офлоксацину. Залишки метронідазолу та левоміцетину виявлялися до другого дня експерименту включно. Застосована тест-система є високочутливою до гентаміцину сульфату й офлоксацину й менш чутливою до двох інших препаратів. Також не можна виключати часткову інактивацію метронідазолу та левоміцетину при взаємодії з речовиною остеопластичного матеріалу. Процеси взаємодії окремих антибіотиків з кістково-замінними матеріалами природного та штучного походження потребують подальшого дослідження.

Висновки. Проведені тести якісного визначення залишків антибіотиків в остеопластичних матеріалах дозволяють підтвердити тривале виділення активної речовини (до 30 днів) матеріалами природного та штучного походження при застосуванні розчину гентаміцину сульфату та офлоксацину. Взаємодія метронідазолу та левоміцетину з остеопластичними матеріалами потребує подальшого дослідження.

Ключові слова: стоматологія, кісткова тканина, кістково-замінні (остеопластичні) матеріали, антибіотики, тривале виділення.

Mykhajlychenko Bohdan, PhD Student at the Department of Dentistry, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, ORCID ID: 0009-0007-0001-1921, Kyiv, Ukraine

Mochalov Iurii, Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor at the Department of Surgical Dentistry and Clinical Disciplines, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0002-5654-1725, Uzhhorod, Ukraine

The qualitative determination of the antibacterial substances releasing by osteoplastic materials used in dentistry and maxillo-facial surgery

Introduction. Osteoplastic (bone substitute) materials are medical products that are used in various fields of medicine, and stomatology is in third place in the world by the level of their consumption. Clinical use of osteoplastic materials always has risks of wound infection with pathogenic and opportunistic microflora due to possible contamination of the operative field. The pharmacokinetics of antibacterial agents incorporated into osteoplastic materials is a poorly studied issue in medicine and dentistry in particular.

Research methodology and methods. The study aims to check the duration of the antibiotics release from osteoplastic materials used in dentistry and maxillofacial surgery, after the previous exposure of the materials in the antibiotic solutions, by using the qualitative test. The three materials (“Biomim GT”, “easy-graft CLASSIC 150” and “InterOss” (1–2 mm)) after daily exposure in solutions of gentamicin sulfate 4.0%, ofloxacin 5.0%, metronidazole 5.0% and chloramphenicol 5.0% and subsequent drying were placed in distilled water. Antibiotic residues in water was determined on the 2nd, 5th, 10th, and 30th days (with water replacement). To determine antibiotics in solutions, an express test, “Charm CowSide® II” (specialized for detection of residues of antibiotics and inhibitors (antiseptics and detergents) in milk), was used.

Presentation of the main research material. The study results showed that long-term release of antibiotics (30 days) was observed when using a gentamicin sulfate solution and ofloxacin solution. Residues of metronidazole and chloramphenicol were detected inclusively until the second day of the experiment. The applied test system is highly sensitive to gentamicin sulfate and ofloxacin and less sensitive to

the other two substances. Also, partial inactivation of metronidazole and chloramphenicol in interaction with the substance of osteoplastic material cannot be excluded. The processes of interaction of certain antibiotics with bone substitute materials of natural and artificial origin require further study.

Conclusions. The performed tests for the qualitative determination of antibiotic residues in osteoplastic materials allow us to confirm the long-term release of the active substance (up to 30 days) by materials of natural and artificial origin when using a solution of gentamicin sulfate and ofloxacin. The interaction of metronidazole and chloramphenicol with osteoplastic materials requires further study.

Key words: dentistry, bone tissue, bone graft (osteoplastic) materials, antibiotics, long-term emission.

Вступ. Остеопластичні (або кістково-замінні) матеріали є медичними виробами, які виступають надійним інструментом при відновленні анатомічної цілісності та функції кісткової тканини у різних галузях медицини, і стоматологія перебуває на умовному третьому місці у структурі світового споживання таких продуктів [1,2]. Також відомо, що клінічне застосування остеопластичних матеріалів завжди має ризики інфікування рани патогенною та умовно-патогенною мікрофлорою, яка може потрапляти на операційне поле, а також потенційно можуть бути шляхом передачі інфекцій від донора до реципієнта, а також між біологічними видами. Зазвичай, будь-яке хірургічне втручання, яке супроводжується імплантацією остеопластичного матеріалу до кісткового дефекту, завершується призначенням профілактичного курсу антибактеріальної терапії, найчастіше засобами широкого спектру дії [3,4]. Проте саме внесення остеопластичного матеріалу в кісткову рану може різко змінювати умови життєдіяльності навколишньої кісткової тканини, порушувати мікроциркуляцію та процеси регенерації, створювати зони потенційної колонізації різною мікрофлорою, і внаслідок цього призначені антибіотики при загальному способі введення можуть не потрапляти до кісткової рани. Саме такі факти та вдосконалення підходів до лікування остеомієліту різного походження стимулювало до створення остеопластичних матеріалів, які містять антибіотики. В сучасних умовах на медичному ринку присутні ряд остеопластичних матеріалів із зазначеними модифікаціями, але досліджень щодо застосування таких медичних виробів у стоматології є мало. Мало того, в сучасній хірургії тривають розробки таких модифікацій кістковозамінних матеріалів, де б останні виступали системами тривалого виділення різних лікарських речовин. Тобто, після імпрегнації чи імерсії матеріалу в антибіотиках, матеріал повинен протягом тривалого часу виділяти активну речовину в достатньому об'ємі – вище/рівно мінімальній інгібувальній концентрації, і навіть більше – в мінімальній концентрації, яка пригнічує утворення бактеріальної біоплівки. Встановлено, що остеопластичні матеріали різного походження та складу значно відрізняють у властивостях щодо накопичення та тривалої емісії різних антибактеріальних засобів. На вказані характеристики значно впливає сам склад матеріалу, природне чи штучне його походження, наявність органічних/неорганічних компонентів, сама хімічна сполука матеріалу, операційні властивості виробу (тверднення, пластифікація тощо) пористість і текстура виробу, розчинність у воді та рідинах людського організму, здатність до резорбції з часом, наявність білкового компонента, який зданий зв'язуватися з антибіотиками певних груп, та ін. [5-8].

На сьогодні з фахової профільної літератури відомо про включення до складу кістково-замінних матеріалів наступних антибактеріальних засобів: амікацин, бензилпеніцилін, ванкоміцин, гатіфлоксацин, гентаміцину сульфат та пальмітат, диклоксацилін, доксицилін, імipенем, кліндаміцин, левофлоксацин, лінезолід, моксифлоксацин, нетилміцин, поліміксин, рифаміцин SV, рифампіцин, рифапентин, стрептоміцин, тайгециклін, тейкопланін, тетрациклін, тобраміцин, флулоксацилін, фосфоміцин, фузидинова кислота, цефазолін, цефалотин, цефуроксин, цiproфлаксацин та ін. Також застосовують комбінації антибіотиків: амфотерицин В/вориконазол, ванкоміцин/амікацин, ванкоміцин/піперацилін, гатіфлоксацин/флюконазол, лінезолід/даптоміцин/ванкоміцин, цефтріаксон/сульбактам та ін. [1].

Зазначені модифікації остеопластичних матеріалів можуть впливати безпосередньо на самі фізичні та хімічні властивості виробів, та й на реакції організму пацієнта, які перебігають протягом резорбції матеріалу та заміщення його власною кістковою тканиною (запальна відповідь, міграція клітин крові та запалення, ріст кровоносних судин, розмноження та функціонування клітин остебластичного диферону). Тому дослідження, пов'язані з розробкою та впровадженням у клінічну практику остеопластичних матеріалів з антибактеріальними властивостями є актуальним напрямком для сучасної медицини. Фармакокінетику таких складних матеріалів, наприклад досліджували М. Stravinskas зі співавт., у 2019 р., S. Sebastian зі співавт., у 2022-2023 рр. (ванкоміцин з бі-фазними керамічними матеріалами), N. Vormann зі співавт., у 2023 р. (біфазні керамічні матеріали з гентаміцином), A. Vidossi зі співавт., у 2020 р. (кальцій сульфат/гідроксиапатит з ванкоміцином/гентаміцином), D. Coraça-Huber зі співавт., у 2022 р. (алогенна кістка з кліндаміцином/ванкоміцином), A. Guardia зі співавт., у 2021 (бета-трикальцій фосфат та кальцію гідроксиапатит з еритроміцином) та інші [9-15]. Стосовно вітчизняної стоматології, то протягом останніх 10 років в Україні було проведено окремі подібні дослідження, але сама фармакокінетика антибактеріальних засобів, введених до складу остеопластичних матеріалів, не досліджувалася [16,17].

Методологія та методи дослідження. *Мета дослідження* – перевірити за допомогою якісних тестів тривалість виділення антибіотиків з остеопластичних матеріалів, які застосовуються в стоматології та щелепно-лицевій хірургії, після попередньої експозиції матеріалів у розчинах антибіотиків.

Матеріали та методи дослідження. Для виконання запланованого експерименту було обрано три остеопластичні матеріали, які застосовуються у стоматології – синтетичний біфазний матеріал «Біомін ГТ» (ТОВ «Центр науково-технічних послуг «Рapid», Україна), синтетичний вкритий полілактидно/

полігліколідною оболонкою «easy-graft CLASSIC 150» («Regenity Biosciences», США) та природний кістковий матеріал бичачого походження «InterOss» (1–2 мм) («SigmaGraft», США). Для імерсії матеріалів було обрано чотири розчини антибіотиків, які широко застосовуються в охороні здоров'я: 5,0% водний розчин офлоксацину, 5,0% водний розчин метронідазолу, 4,0% водний розчин гентаміцину сульфату (виробник – ТОВ «ВФ «Базальт», Україна) та 5,0% водний розчин левоміцетину («Левомікан», виробник – «O.L.KAR.-АгроЗооВет-Сервіс», Україна). Зважена доза кожного з матеріалів у пластикових контейнерах з кришкою було занурено в 1,0 мл розчину антибіотика на 24 години при кімнатній температурі, контрольні зразки було залито дистильованою водою (рис. 1). Через 24 години рідкий вміст кожного з контейнерів було аспіровано за допомогою мікропіпетки, а самі контейнери зі змоченим матеріалом на 48 годин було поміщено до термостата при температурі 37,0°C для повного висихання. Згодом, до кожного з контейнерів з матеріалом було внесено по 5,0 мл дистильованої води. Контейнери зберігали в темному середовищі при кімнатній температурі. На 2-й, 5-й, 10-й та 30-й день експозиції рідкий вміст контейнера аспірували за допомогою мікропіпетки та знову вносили по 5,0 мл дистильованої води. Аспірований вміст передавали на дослідження на вміст залишків антибактеріальних речовин. Зібраний рідкий вміст контейнерів після відповідного маркування зберігали в темній холодильній шафі при температурі 4,0-6,0°C.

Для якісного визначення залишків антибіотиків у рідкому вмісті було використано стандартний тест для визначення антибіотиків та інгібіторів (антисептики та мийні засоби) в молоці «Charm CowSide® II» («Charm Sciences, Inc.», США). Відповідно до інструкції

виробника, індивідуально запаковані мініпробірки з індикаторним поживним середовищем (агар з бромокрезолом пурпуровим), заселеним спорами термофільної *Geobacillus stearothermophilus*, розкривали лезом скальпеля перед застосуванням. До маркованої пробірки в товщу агару вносили 100 мкл досліджуваного розчину одноразовою піпеткою з тестового набору. Доступ до пробірки закривали клейкою прозорою стрічкою. Пробірки поміщали на 3 години до вологої водної бані при температурі 64,0±2,0°C, після чого визначали зміну кольору агару. Позитивним результатом (присутній антибіотик) вважалося збереження синього/фіолетового кольору середовища, негативним – зміна кольору агару на жовтий чи зелений внаслідок виділення молочної кислоти тестовою бактеріальною культурою. Результати аналізували шляхом простого табличного аналізу в Microsoft Excel 2016.

Виклад основного матеріалу дослідження. Проведені дослідження показали, що всі чотири обрані антибактеріальні засоби в оригінальному розчині є активними щодо тестової культури термофільних бактерій, про що свідчила затримка розмноження мікроорганізмів у контрольних зразках розчинів антибіотиків (табл. 1). Контрольні зразки імерсії остеопластичних матеріалів не володіли такою властивістю. Також, протягом першої доби експозиції матеріалу в дистильованій воді концентрація активної речовини в системі була достатньою, аби зумовити пригнічення росту всіх дослідних зразків. На 5 день досліді тест був позитивним лише у зразків остеопластичного матеріалу, який був настояний в розчинах гентаміцину сульфату 4,0% та офлоксацину 5,0%. Рідина з усіх інших дослідних зразків не викликала затримки розмноження тестової культури мікроорганізмів. Така ж картина спостеріга-

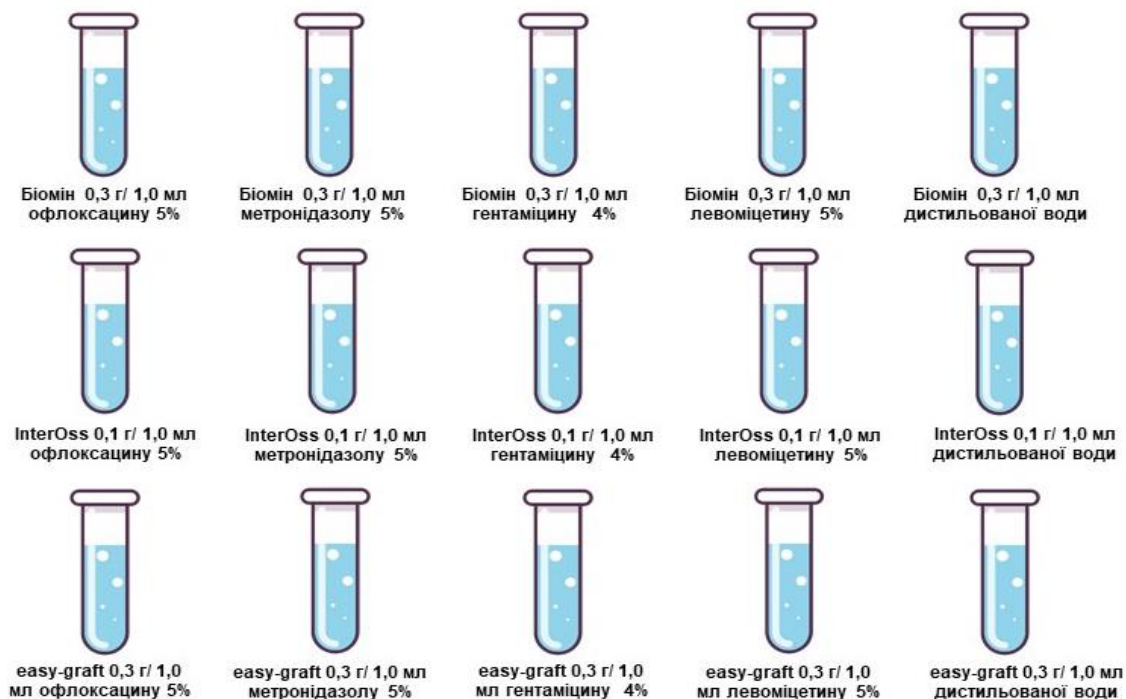


Рис. 1. Схема експерименту

Результати застосування інгібувального експрес-тесту на залишки антибіотиків

Дослідний зразок	День 2	День 5	День 10	День 30
Контроль- (дистильована вода)	+*	+	+	+
Гентаміцину сульфат 4,0%	-**	-	-	-
Левоміцетин 5,0%	-	-	-	-
Офлоксацин 5,0%	-	-	-	-
Метронідазол 5,0%	-	-	-	-
Біомін	+	+	+	+
Easygraft	+	+	+	+
InterOss	+	+	+	+
Біомін/гентаміцину сульфат	-	-	-	-
Біомін/левоміцетин	-	+	+	+
Біомін/офлоксацин	-	-	-	-
Біомін/метронідазол	-	+	+	+
Easygraft/гентаміцину сульфат	-	-	-	-
Easygraft/левоміцетин	-	+	+	+
Easygraft/офлоксацин	-	-	-	-
Easygraft/метронідазол	-	+	+	+
InterOss/гентаміцину сульфат	-	-	-	-
InterOss/левоміцетин	-	+	+	+
InterOss/офлоксацин	-	-	-	-
InterOss/метронідазол	-	+	+	+

* ріст/інтенсивний ріст культури

**відсутність росту

лася також на 10-й та 30-й день експерименту. Пригнічували ріст тестових мікроорганізмів лише рідини зі зразків, які перебували в розчинах гентаміцину сульфату та офлоксацину (рис. 2). Отримані результати можуть свідчити про наявність різної чутливості тестової культури до обраних антибіотиків.

Загалом, рекомендації виробника експрес-тесту «Charm CowSide® II» містять інформацію про мінімально інгібувальну концентрацію (МІК) гентаміцину сульфату для зазначеного тесту (0,075-0,150 мкг/мл). Даних щодо МІК офлоксацину, метронідазолу та левоміцетину виробник не наводить, оскільки зазначені препарати зазвичай не використовуються в молочних порід корів.

У профільній літературі можна знайти результати досліджень антибіотикорезистентності бактерій роду *Geobacillus* до представників групи фторхінолонів (марбофлоксацин та енрофлоксацин), і МІК у зазначеної групи протимікробних засобів є доволі мала – 0,0007-0,0034 мкг/мл, чим можна пояснити виражену затримку росту бактерій протягом всього експерименту. Вони є високочутливими до мікродоз фторхінолонів.

Стосовно левоміцетину (хлорамфенікол), то в інших джерелах наводять інформацію щодо МІК препарату на представників роду *Geobacillus* – 8 мкг/мл, але інформації саме щодо *G. stearothermophilus* – немає. Стосовно метронідазолу, то загалом такий засіб є мало-ефективним щодо аеробних бактерій, якими є тестові культури. У доступних джерелах наявна інформація щодо впливу метронідазолу на аеробні культури – МІК варіює від 500 до 1000 мкг/мл [18-20].

Частково така інформація може бути підтверджена і в нашому дослідженні, коли пригнічувальний вплив

метронідазолу було виявлено при застосуванні оригінального розчину – 50,00 мг/мл, та на другий день дослідження, коли залишків активної речовини в досліджуваній рідині мало бути орієнтовно 2,83-3,70 мг/мл. Серед ймовірних причин негативних результатів тестів на залишки антибіотиків може бути також розпад активної речовини з часом при кімнатній температурі та взаємодія із самою речовиною остеопластичного матеріалу (виражена абсорбція та ретенція у структурі гранул або хімічні взаємодії сполук кальцію з антибіотиком, що призвело до його інактивації). Тому процеси взаємодії окремих антибіотиків з кістковозамінними матеріалами природного та штучного походження потребують подальшого дослідження.

Отже, отримані результати тривалого спостереження за виділенням антибактеріальних препаратів остеопластичними матеріалами стоматологічного призначення після попередньої імерсії в розчині антибіотиків дозволяють твердити, що протягом місяця після приготування суміші позитивні якісні реакції спостерігаються при взаємодії матеріалу з гентаміцину сульфатом та офлоксацином. Саме такі засоби теоретично можуть протягом тривалого часу виділятися з матеріалу в середовище кісткової рани, чим можна досягати певних терапевтичних ефектів в післяопераційний період.

Висновки. Взаємодія кістково-замінних матеріалів з антибіотиками різних груп є малодослідженим питанням. Враховуючи модифікації сучасних матеріалів та включення до їх складу протимікробних речовин, наявні рекомендації та експертні думки щодо необхідності імерсії остеопластичних матеріалів в розчинах антибіотиків перед їх застосуванням потребують

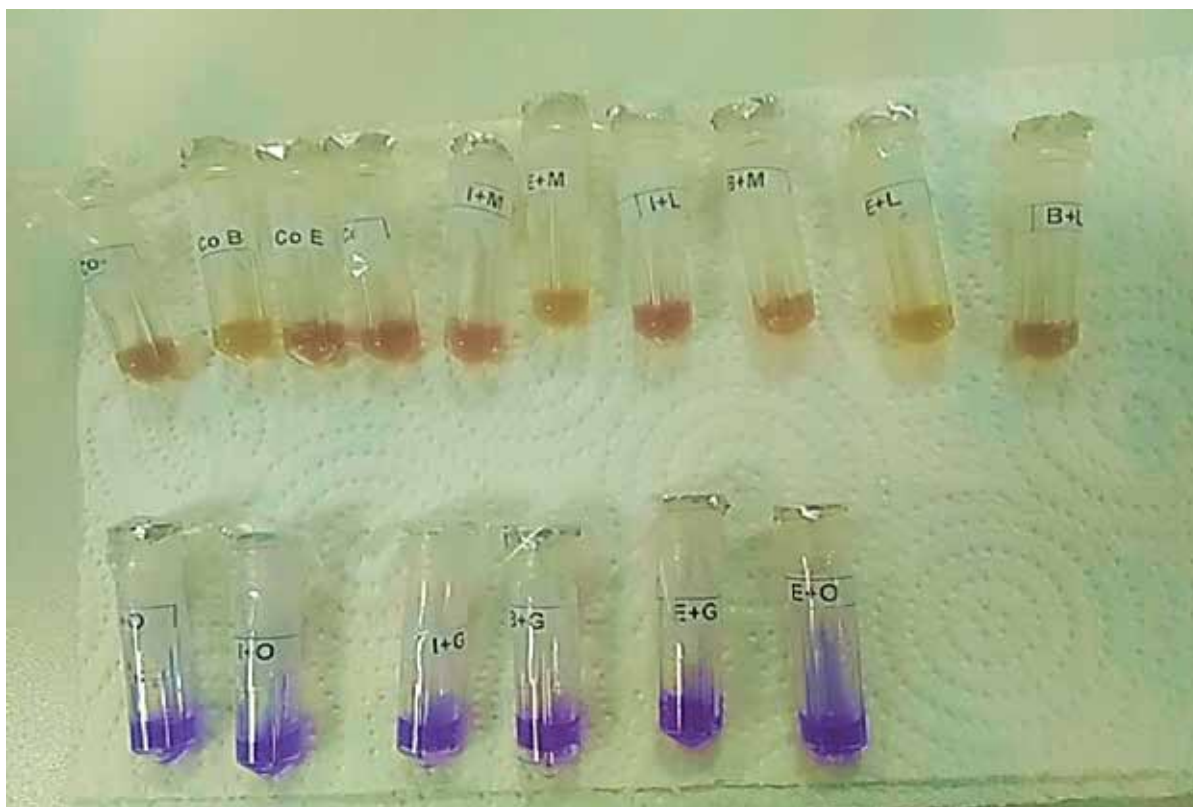


Рис. 2. Облік результатів застосування експрес-тесту

уточнення та перевірки на експериментальному та клінічному рівні. Проведені тести якісного визначення залишків антибіотиків в остеопластичних матеріалах дозволяють підтвердити тривале виділення активної речовини (протягом 30 днів) матеріалами природного та штучного походження при застосуванні розчину гентаміцину сульфату та офлоксацину. Взаємодія метроні-

дазолу та левоміцетину з остеопластичними матеріалами потребує подальшого дослідження.

Перспективи подальших досліджень. Удосконалення остеопластичних матеріалів для потреб стоматології шляхом включення до їх складу антибактеріальних речовин є актуальним напрямком розвитку медичної науки.

REFERENCES

1. Tsuperyak SS, Mochalov IO. Ways for improvement the osteoplastic materials for dentistry. Review. *Medical Science of Ukraine (MSU)*. 2022;18(4):94-105. doi: 10.32345/2664-4738.4.2022.14 [In Ukrainian]
2. Bambuliak A. Biocompatibility of mesenchymal stromal cells of adipose tissue with osteoplastic materials (in vitro). *Archives of the Balkan Medical Union*. 2019;54(3):486-91. doi.org/10.31688/abmu.2019.54.3.13
3. Noelken R, Al-Nawas B. Bone regeneration as treatment of peri-implant disease: A narrative review. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2023;25(4):696-709. doi: 10.1111/cid.13209.
4. Salgado-Peralvo AO, Mateos-Moreno MV, Velasco-Ortega E, Peña-Cardelles JF, Kewalramani N. Preventive antibiotic therapy in bone augmentation procedures in oral implantology: A systematic review. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 2022;123(1):74-80. doi: 10.1016/j.jormas.2021.01.011.
5. Cyphert EL, Zhang N, Learn GD, Hernandez CJ, von Recum HA. Recent Advances in the Evaluation of Antimicrobial Materials for Resolution of Orthopedic Implant-Associated Infections *In Vivo*. *ACS Infect Dis*. 2021;7(12):3125-3160. doi: 10.1021/acsinfectdis.1c00465.
6. Freischmidt H, Armbruster J, Reiter G, Grütznier PA, Helbig L, Guehring T. Individualized Techniques of Implant Coating with an Antibiotic-Loaded, Hydroxyapatite/Calcium Sulphate Bone Graft Substitute. *Ther Clin Risk Manag*. 2020;16:689-694. doi: 10.2147/TCRM.S242088.
7. Freischmidt H, Reiter G, Grütznier PA, Armbruster J. Augmentation in der septischen Chirurgie: Chancen und Limitationen in der Behandlung der Osteitis mit antibiotikahaltigem Kalziumhydroxylapatit. *Unfallchirurgie (Heidelb)*. 2022;125(6):452-459. doi: 10.1007/s00113-022-01185-w.
8. Alegrete N, Sousa SR, Peleteiro B, Monteiro FJ, Gutierrez M. Local Antibiotic Delivery Ceramic Bone Substitutes for the Treatment of Infected Bone Cavities and Bone Regeneration: A Systematic Review on What We Have Learned from Animal Models. *Materials (Basel)*. 2023;16(6):2387. doi: 10.3390/ma16062387.
9. Stravinskas M, Nilsson M, Vitkauskienė A, Tarasevicius S, Lidgren L. Vancomycin elution from a biphasic ceramic bone substitute. *Bone Joint Res*. 2019;8(2):49-54. doi: 10.1302/2046-3758.82.BJR-2018-0174.R2.

-
10. Sebastian S, Tandberg F, Liu Y, Raina DB, Tägil M, Collin M, Lidgren L. Extended local release and improved bacterial eradication by adding rifampicin to a biphasic ceramic carrier containing gentamicin or vancomycin. *Bone Joint Res.* 2022;11(11):787-802. doi: 10.1302/2046-3758.1111.BJR-2022-0101.R1.
 11. Sebastian S, Huang J, Liu Y, Collin M, Tägil M, Raina DB, Lidgren L. Systemic rifampicin shows accretion to locally implanted hydroxyapatite particles in a rat abdominal muscle pouch model. *J Bone Jt Infect.* 2023;8(1):19-28. doi: 10.5194/jbji-8-19-2023.
 12. Bormann N, Schmock A, Hanke A, Eras V, Ahmed N, Kissner MS, Wildemann B, Brune JC. Analysis of the Ability of Different Allografts to Act as Carrier Grafts for Local Drug Delivery. *J Funct Biomater.* 2023;14(6):305. doi: 10.3390/jfb14060305
 13. Bidossi A, Bottagisio M, Logoluso N, De Vecchi E. In Vitro Evaluation of Gentamicin or Vancomycin Containing Bone Graft Substitute in the Prevention of Orthopedic Implant-Related Infections. *Int J Mol Sci.* 2020;21(23):9250. doi: 10.3390/ijms21239250
 14. Coraça-Huber DC, Steixner SJM, Najman S, Stojanovic S, Finze R, Rimashevskiy D, Saginova D, Barbeck M, Schnettler R. Lyophilized Human Bone Allograft as an Antibiotic Carrier: An In Vitro and In Vivo Study. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(7):969. doi: 10.3390/antibiotics11070969.
 15. Guardia A, Shi T, Bou-Akl T, Dietz P, Wu B, Ren W, Markel D. Properties of erythromycin-loaded polymeric dicalcium phosphate dehydrate bone graft substitute. *J Orthop Res.* 2021;39(11):2446-2454. doi: 10.1002/jor.24979.
 16. Nagirnyi YP, Pyasetska LV, Oschypko RV. Investigation of the microflora of the socket after atypical removal of the lower third molars with the use of osteoplastic material “Kolapol KP-3 LM”. *Clinical stomatology.* 2016;1(14):42-6. [In Ukrainian]
 17. Lyubchenko OV, Chernenko VM. Morphological study of guided regeneration of bone tissue using xenogenic osteoplastic material “Cerabone”. *Problems of continuous medical education and science of KhMAPO.* 2017; 4:54-5. [In Ukrainian]
 18. Nagel OG, Gasparotti ML, Machado SI, Althaus RL. Similarities of *Geobacillus* bacteria based on their profiles of antimicrobial susceptibility in milk samples. *Rev Argent Microbiol.* 2024;56(1):102-111. doi: 10.1016/j.ram.2023.07.003
 19. Najjar IN, Das S, Kumar S, Sharma P, Mondal K, Sherpa MT. Coexistence of heavy metal tolerance and antibiotic resistance in thermophilic bacteria belonging to genus *Geobacillus*. *Frontiers in Microbiology.* 2022;13. doi: 10.3389/fmicb.2022.914037
 20. Ralph ED, Clarke DA. Inactivation of metronidazole by anaerobic and aerobic bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 1978;14(3):377-83. doi: 10.1128/AAC.14.3.377.