

УДК 619:616.988:616-076

ТАРАСОВ О.А., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: ast97@ukr.net,
САПЕЙКО В.П., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: v.sapeyko@gmail.com,
АЙШПУР О.Є., д-р вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: olenaayshpur@gmail.com,
БАБКІНА М.М., e-mail: pharmwork@ukr.net,
ТЕРЕЩЕНКО С.М., e-mail: vet@ivm.kiev.ua

Інститут ветеринарної медицини НААН

ЗОЦЕНКО І.А., e-mail: irazotz@ukr.net

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

ВИВЧЕННЯ СИНЕРГІЧНОГО ЕФЕКТУ БЕНЗАЛКОНІУМУ ХЛОРИДУ НА АНТИМІКРОБНУ АКТИВНІСТЬ РОСЛИННИХ ЕФІРНИХ ОЛІЙ

В статті наведені результати вивчення антимікробних властивостей рослинних ефірних олій. Всі досліджені ефірні олії мають бактеріостатичну та бактерицидну дію на культури актуальних збудників респіраторних інфекцій свиней та тест-мікроорганізми. Експериментально підтверджено синергічну дію бензалконіуму хлориду на антимікробну активність препаратів на основі рослинних ефірних олій, особливо олії чебрецю, евкаліпту, шавлії та піхти.

Експериментально підтверджено можливість створення антимікробних препаратів для боротьби з респіраторними захворюваннями свиней на основі рослинних ефірних олій.

Ключові слова: антимікробні властивості, рослинні ефірні олії.

Вступ. Синтетичні та натуральні ефірні олії досить давно відомі як засоби, які володіють антимікробними властивостями, проте із речовин гідрофобної природи, дуже важко створити водні композиції на їх основі. [1–4].

Дані літератури вказують на значне розповсюдження та вагомі економічні збитки внаслідок шлунково-кишкових та респіраторних захворювань свиней у країнах із розвинутим тваринництвом. Проведені нами дослідження підтверджують наявність та актуальність таких проблем і для свинарських господарств України [5]. Питання наукового обґрунтування використання рослинних ефірних олій для конструювання високоефективних препаратів також має соціальне та епідеміологічне значення [6–11].

Створення та відродження великих тваринницьких комплексів, впровадження індустріальних методів виробництва м'яса та інших продуктів тваринництва супроводжується різкою зміною епізоотичної ситуації щодо ряду інфекційних захворювань і активізацією патогенних мікроорганізмів. Одним із складників вдалого розвитку тваринництва являється ефективна боротьба з інфекційними захворюваннями. На перший план стали шлунково-кишкові захворювання та хвороби з ураженням дихальних шляхів [9 – 10]. Тому, останнім часом, зросла актуальність вивчення проблеми поширення бактеріальних інфекцій. Негативну картину зростання цих хвороб ускладнило

безконтрольне застосування антибіотиків. Останнє сприяло до селекції антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів [11].

У світі сучасного ставлення до проблем збереження екології довкілля, важливо створювати нові, більш натуральні та біодеградабельні субстанції для санації та дезінфекції тваринницьких приміщень, особливо у присутності тварин [12–14].

Мета роботи. Вивчити мінімальні діючі концентрації рослинних ефірних олій на тестові мікроорганізми та синергічний ефект бензалконіуму хлориду на антимікробну активність.

Матеріали та методи досліджень. За проведення досліджень використовували поживні середовища МПАХ, МПА, МПБХ, МПБ, середовище Сабуро, тіогліколеве середовище, агар Мюллер-Хінтона. Всі середовища готували згідно настанов наданих виробниками та стерилізували автоклавуванням згідно рекомендованих виробниками режимів [1–3, 14].

Під час визначення антимікробної активності ефірних олій (піхти, евкаліпту, шавлії та чебрецю) використовували наступні тестові культури, які зберігаються в музеї Інституту ветеринарної медицини: *E. coli* 1257, *B. cereus* ATCC6633, *S. aureus* 209-P, *Pasteurella multocida* 115.

При застосуванні методу дифузії враховували особливості поширення ефірних олій, які обумовлені їх ліпофільними компонентами, тому зони затримки росту на агарі зазвичай значно менші, ніж при застосуванні водорозчинних антибіотичних речовин та хімічних дезінфектантів.

Дослідження були проведені із застосуванням методів, модифікованих з урахуванням нерозчинності ефірних олій в воді, а саме: методу розведення у поживному середовищі з наступним культивуванням в умовах, оптимальних для мікроорганізмів та підрахунком кількості мікроорганізмів до та після внесення препарату експериментальних в дозах та інкубацією протягом 2 годин за температури $36,0 \pm 1,0$ °C. При цьому визначали пригнічення росту, яке виражалось в *Log* та відповідало кратності зменшення життєздатних мікроорганізмів згідно методики В. Weidemann [4]. Підготовку тестових культур мікроорганізмів, розведення рослинних ефірних олій та їх сумішей проводили згідно методики, запропонованої К. Knobloch et al. [8].

В дослідженнях додатково використовували метод дифузії в агар із застосуванням паперових дисків, просочених певними концентраціями ефірних олій. Метод дифузії в агар базувався на здатності АБС дифундувати із паперових дисків в поживне середовище та пригнічувати ріст мікроорганізмів, що посіяні у товщу або на поверхню агару. Для проведення дослідів застосовували стандартну методику [14]. Даний метод був використаний обмежено, що пов'язано із летючістю ефірних олій та значною похибкою отриманих результатів.

Облік розмірів зон затримки росту тест-мікроорганізмів проводили за допомогою електронного штангенциркуля з точністю до 0,1 мм. При визначенні зон затримки росту мікроорганізмів враховували лише зони повної відсутності видимого росту.

Композиції для тестування були змішані за загальноприйнятими методиками. Концентрації діючих речовин були підібрані виходячи із даних наших попередніх досліджень та доступних літературних джерел [7, 8, 10].

Результати досліджень та їх обговорення. Для створення фармацевтичної форми були виготовлені різні варіанти препарату та апробовані в лабораторних умовах за дією на тестові культури мікроорганізмів (табл. 1).

Таблиця 1

Активність тестових препаратів на мікроорганізми (суміш культур *E. Coli* 1257, *B. cereus* ATCC6633, *S. aureus* 209-P)

№	Ефірні олії	Етиловий спирт	Сурфоктант	pH	Розчинність у воді*	Зона затримки росту, мм
1	Евкалиптова олія 0,15	0,25	Твін-80 0,001	3,5	Розчинна	15,2±2,2
2	Піхтова олія 0,15	0,25	Твін-80 0,001	3,6	Розчинна	14,0±4,3
3	Олія чебрецю 0,15	0,25	Твін-80 0,001	3,4	Розчинна	20,0±4,2
4	Олія шавлії 0,15	0,25	Твін-80 0,001	2,9	Розчинна	18,1±3,4
5	Вазелінова олія	0,25	Твін-80 0,001	3,6	Розчинна	Суцільний ріст

Примітка: *– під розчинністю слід розуміти рівномірне перемішування препарату з водою із утворенням стабільної емульсії.

Згідно даних таблиці 1, найбільш ефективними проти тестових мікроорганізмів – суміші культур *E. coli* 1257, *B. cereus* ATCC6633, *S. aureus* 209-P були ефірні олії чебрецю та шавлії, дещо меншу активність проявили ефірні олії евкаліпту та піхти.

В результаті проведених досліджень підібрано склад, який забезпечує створення стійкої водної суспензії із вмістом двох рослинних ефірних олій, які володіють вираженими антимікробними властивостями, яка може бути додатково розведена водою для отримання необхідної робочої концентрації препарату (табл. 2 та 3).

Антимікробний ефект підсилюється додаванням четвертинних амонійних сполук – бензалконію хлориду, який забезпечує синергічну антимікробну дію (табл. 2).

Згідно даних, відображених в таблиці 2, нами експериментально підтверджено синергічну дію бензалконіуму хлориду на антимікробну активність препаратів на основі рослинних ефірних олій: олії чебрецю (пригнічення росту $\log 5,0 \pm 0,22$), евкаліпту ($\log 4,9 \pm 0,20$), шавлії ($\log 2,6 \pm 0,31$) та піхти ($\log 4,7 \pm 0,13$). Інші комбінації показали також досить високу активність у порівнянні із активністю рослинних ефірних олій чебрецю, піхти, евкаліпту та бензалконію хлориду.

Таблиця 2

Вивчення синергічного ефекту бензалконіуму хлориду на антимікробну активність препаратів на основі рослинних ефірних олій у відношенні до *S. Aureus*, $M \pm m$, $n=6$

Склад препарату	Кількість діючої речовини, %	Кількість мікроорганізмів до обробки КУО/мл	Кількість мікроорганізмів після обробки КУО/мл	Пригнічення росту, Log 10
Бензалконіум хлорид (БЗХ)	0,02	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$1,41 \pm 0,30 \times 10^5$	$1,80 \pm 0,2^*$
Олія чебрецю (Ч)	0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$1,52 \pm 0,11 \times 10^6$	$1,30 \pm 0,1^*$
Олія пихтова (П)	0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$1,50 \pm 0,12 \times 10^6$	$1,30 \pm 0,1^*$
Олія евкалиптова (Е)	0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$1,62 \pm 0,40 \times 10^6$	$1,30 \pm 0,3^*$
БЗХ + Ч	0,02+0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$3,06 \pm 0,11 \times 10^2$	$5,00 \pm 0,22^{**}$
БЗХ + П	0,02+0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$6,01 \pm 1,12 \times 10^2$	$4,70 \pm 0,13^{**}$
БЗХ + Е	0,02+0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$3,23 \pm 0,14 \times 10^2$	$4,90 \pm 0,20^{**}$
БЗХ + Ч+П	0,02+0,3+0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$2,18 \pm 0,09 \times 10^3$	$4,30 \pm 0,19^{**}$
БЗХ + Ч+Е	0,02 +0,3+0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$1,94 \pm 0,15 \times 10^3$	$4,20 \pm 0,16^{**}$
БЗХ + П+Е	0,02+0,3+0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$1,32 \pm 0,12 \times 10^3$	$4,40 \pm 0,08^{**}$
БЗХ + Ч+П+Е	0,02+0,3+0,3+0,3	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$1,50 \pm 0,21 \times 10^7$	$4,40 \pm 0,15^{**}$
Контроль (середовище МПБ)	–	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	$4,32 \pm 0,50 \times 10^7$	0,0

Примітки: * $p \leq 0,05$, ** $p < 0,001$ у відношенні до контролю.

Результати, отримані при вивченні антимікробної активності різних комбінацій препарату на основі рослинних ефірних олій у відношенні до *E. coli* 1257, *B. cereus* ATCC6633, *P. multocida* 115 також відповідають очікуванню та підтверджують високу активність бензалконію хлориду у підсиленні антибіотичної дії рослинних ефірних олій (табл. 3).

Таблиця 3

Результати вивчення синергічного ефекту бензалконіуму хлориду на антимікробну активність препаратів на основі рослинних ефірних олій щодо *P. multocida*, *E. coli*, *B. cereus*, $M \pm m$, $n=6$

Група	<i>P. multocida</i>		<i>E. coli</i>		<i>B. cereus</i>	
	КУО/мл	Пригнічення росту, log	КУО/мл	Пригнічення росту, log	КУО/мл	Пригнічення росту, log
1	2	3	4	5	6	7
Бензалконіум хлорид (БЗХ)	$3,3 \pm 0,2 \times 10^5$	$1,6 \pm 0,1^*$	$5,8 \pm 0,17 \times 10^5$	$1,6 \pm 0,14^*$	$5,8 \pm 0,28 \times 10^5$	$1,6 \pm 0,15^*$
Пихтова олія	$2,0 \pm 0,3 \times 10^6$	$0,8 \pm 0,1^*$	$1,0 \pm 0,07 \times 10^6$	$1,1 \pm 0,05^*$	$2,0 \pm 0,32 \times 10^6$	$1,1 \pm 0,20^*$
Олія шавлії	$1,4 \pm 0,1 \times 10^6$	$1,0 \pm 0,08^*$	$6,2 \pm 0,25 \times 10^4$	$2,6 \pm 0,14^*$	$6,2 \pm 0,39 \times 10^4$	$2,6 \pm 0,31^{**}$
Евкалиптова олія	$1,6 \pm 0,2 \times 10^6$	$0,9 \pm 0,1^*$	$1,9 \pm 0,30 \times 10^6$	$1,1 \pm 0,2^*$	$1,9 \pm 0,24 \times 10^6$	$1,1 \pm 0,08^*$

Продовження таблиці 3

1	2	3	4	5	6	7
Чебрецева олія	1,3±0,15 ×10 ⁶	1,0±0,12*	4,9±0,35 ×10 ⁵	1,7±0,12*	4,9±0,38 ×10 ⁵	1,7±0,16*
Піхтова олія + БЗХ	6,7±0,17 ×10 ¹	5,3±0,15**	1,1±0,18 ×10 ⁴	3,4±0,08**	1,1±0,17 ×10 ⁴	3,4±0,21**
Олія шавлії + БЗХ	3,3±0,4 ×10 ¹	5,6±0,24**	6,7±0,32 ×10 ¹	5,6±0,18**	6,7±0,65 ×10 ¹	5,6±0,17**
Евкалиптова олія + БЗХ	3,3±0,2 ×10 ¹	5,6±0,14**	4,2±0,18 ×10 ³	3,8±0,11**	4,2±0,30 ×10 ³	3,8±0,11**
Чебрецева олія + БЗХ	3,3±0,1 ×10 ¹	5,6±0,17**	3,3±0,45 ×10 ¹	5,9±0,54**	3,3±0,18 ×10 ¹	5,9±0,30**
Контроль культури	1,4±0,1 ×10 ⁷	0,0	2,6±0,12 ×10 ⁷	0,0	2,9±0,18 ×10 ⁷	0,0

Примітки: *p<0,05, **p<0,001 у відношенні до контролю культури.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. У дослідях із тест-мікроорганізмами *E. coli* 1257, *B. cereus* ATCC6633, *S. aureus* 209-P, *Pasteurella multocida* 115 підтверджена антибіотична дія ефірних олій чабрецю, шавлії, евкалипту та піхти, а також підтверджено можливість її підсилення додаванням четвертинних амонійних сполук.

2. Всі досліджені ефірні олії мають бактеріостатичну та бактерицидну дію на культури актуальних збудників респіраторних інфекцій свиней та тест-мікроорганізми. Це проявлялося загальним пригніченням їх росту в порівнянні із контролем (висіви без олій). Експериментально підтверджено синергічну дію бензалконіуму хлориду на антимікробну активність препаратів на основі рослинних ефірних олій: олії чабрецю (пригнічення росту log 5,0±0,22), евкалипту (log 4,9±0,20), шавлії (log 2,6±0,31) та піхти (log 4,7±0,13). Інші комбінації показали також досить високу активність у порівнянні із активністю рослинних ефірних олій чабрецю, піхти, евкалипту та шавлії.

3. Експериментально підтверджено можливість створення антимікробних препаратів для боротьби з респіраторними захворюваннями свиней на основі рослинних ефірних олій чабрецю, піхти, евкалипту, шавлії.

Препарати, які планується в подальшому розробляти на підставі виявлення закономірностей синергічної взаємодії антибіотиків, рослинних ефірних олій та їх комплексів будуть використовуватись для санації тваринницьких господарств.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Lorian V. Antibiotics in laboratory medicine / V. Lorian. – 4th ed. – Baltimore: Williams and Wilkins, 1996. – 642 p.
2. National committee for clinical laboratory standarts. Performance standarts for antimicrobial susceptibility testing approved standart. – 1993. – 4ed. – Document M2–A4. – Villanova, PA: NCCLS.
3. Бабкіна М.М. Чутливість мікроорганізмів роду *Bacillus* до антимікробних речовин *in vitro* / М.М. Бабкіна, О.А. Тарасов, С.А. Ничик [та ін.] // Вет. біотехнологія: бюл. – 2015. – № 27. – С. 226–231.
4. Weidemann B. Evaluation of data from susceptibility testing / B. Weidemann // International journal of antimicrobial agents. – 1998. – № 10. – P. 218–219.

5. Антибиотики и антибиоз в сельском хозяйстве / Пер. с англ. З.Ф. Богаутдинова; ред. А.Н. Полина. – М.: Колос, 1981. – 360 с.
6. Hanaki H. Detection methods of glycopeptide-resistant *Staphylococcus aureus*. Susceptibility testing / H. Hanaki, K. Hiramatsu // *Methods in Molecular Medicine: Humana press.* – 2003. – Vol 48. – P. 85–91.
7. Bergonzelli G.E. Essential oils as components of a diet-based approach to management of helicobacter infection / G.E. Bergonzelli, D. Donnicola, N. Porta, I.E. Cortesy-Theulaz // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – 2003. – Vol. 47, № 10. – P. 3240–3246.
8. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components / K. Knobloch, A. Pauli, B. Iberl [et al] // *J. Essential Oil Res.* – 1989. – №1. – P. 119–128.
9. Lawless J. The illustrated Encyclopedia of essential oils: The complete Guide to the Use of Oils in Aromatherapy and Herbalism / J. Lawless // USA: Element book. –1999. – P. 223–228.
10. Schnaubelt K. Advanced Aromatherapy: The Science of essential oil therapy / K. Schnaubelt. – Healing art press Vermont, 1998. – P. 31–36.
11. Яковлев В.П. Перспективы создания и внедрения новых антимикробных препаратов / В.П. Яковлев, С.В. Яковлев // *Инф. антимикроб. терапия.* – 2002. – № 4 (2). – С. 24–30.
12. Devasahayam G. Newer antibacterial drugs for a new century / G. Devasahayam, W.M. Scheld, P.S. Hoffman // *Expert Opin. Investig. Drugs.* – 2010. – № 19. – P. 215–234.
13. Брицун В.М. Антимікробні властивості 2-арил-2,3-дигідро-4н-[1,3]тіазино[3,2-*а*]бензімідазол-4-онів та їх похідних / В.М. Брицун, О.І. Майборода // *Фармація України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Національного з'їзду фармацевтів «Фармація України. Погляд у майбутнє» (15–17 вер., 2010 р., Нац. фарм. ун-т, м. Харків, Україна)*– Х: НФаУ, 2010. – Т.1. – С. 20.
14. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Метод. указания. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

ИЗУЧЕНИЕ СИНЕРГИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА БЕНЗАЛКОНИУМА ХЛОРИДА НА АНТИМИКРОБНУЮ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ / Тарасов А.А., Сапейко В.П., Айшпур Е.Е., Бабкина М.М., Терещенко С.М., Зоценко И.А.

В статье приведены результаты изучения антимикробных свойств растительных эфирных масел. Все исследованные эфирные масла обладают бактериостатическим и бактерицидным действием на культуры актуальных возбудителей респираторных инфекций свиней и тест-микроорганизмы. Экспериментально подтверждено синергическое действие бензалкония хлорида на антимикробную активность препаратов на основе растительных эфирных масел, особенно масла чабреца, эвкалипта, шавлії и пихты.

Экспериментально подтверждена возможность создания антимикробных препаратов для борьбы с респираторными заболеваниями свиней на основе растительных эфирных масел чабреца, пихты, эвкалипта, шалфея.

Ключевые слова: антимикробные свойства, растительные эфирные масла

STUDY OF SYNERGY EFFECT OF BENZALCONIUM CHLORIDE ON ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF VEGETABLE ESSENTIAL OILS / Tarasov O.A., Sapeyko V.P., Aishpur E.E., Babkina M.M., Tereshchenko S.M., Zotsenko I.A.

Introduction. *In the modern world it is important to create new more natural and biodegradable substances for the sanitation and disinfection of livestock buildings, especially in the presence of animals.*

The goal of the work was to study the minimum effective concentrations of plant essential oils toward test microorganisms and to reveal the synergistic effect of benzalkonium chloride on antimicrobial activity.

Materials and methods. To detect the antimicrobial activity of essential oils, the following test cultures were used: *E. coli*, *B. cereus* ATCC6633, *S. aureus* 209-P, *Pasteurella multocida*, which are stored in the Museum of the Institute of Veterinary Medicine.

The research was carried out using methods modified for the essential oils insoluble in water: macrotests in a nutrient medium, followed by cultivation under conditions that are optimal for microorganisms; the method of diffusion into agar using paper disks, impregnated with certain concentrations of essential oils.

Essential oils were used in the studies: fir, eucalyptus, sage and thyme. To evaluate the activity of antibiotic substances and their minimally effective concentrations macro and micro methods were used and the method of diffusion in agar.

Results of research and discussion. The most effective against test microorganisms – mixtures of *Staphylococcus aureus* 209-P, *Pasteurella multocida* 115, *E. coli* 1257, *B. cereus* ATCC6633 cultures were essential oils of thyme and sage, while eucalyptus and fir showed less activity.

As a result of the studies, a composition has been chosen that provide a stable aqueous suspension containing two plant essential oils that have solid antimicrobial properties, which can be further diluted with water to obtain the required working concentration of the preparation. The antimicrobial effect is enhanced by the addition of quaternary ammonium compounds – benzalkonium chloride, which provides a synergistic antimicrobial effect.

We have experimentally confirmed the synergistic effect of benzalkonium chloride on the antimicrobial activity of preparations based on plant essential oils, especially thyme oil (inhibition of growth of $\log 5,0 \pm 0,22$), eucalyptus ($\log 4,9 \pm 0,20$), sage ($\log 2,6 \pm 0,31$) and fir ($\log 4,7 \pm 0,13$). Other combinations also showed quite a high activity compared to the activity of plant essential oils of thyme, fir, eucalyptus and benzalkonium chloride.

Conclusions and prospects for further research. In experiments with test microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella multocida*, *E. coli*, *Bacillus cereus* was confirmed the antibiotic effect of the essential oils of thyme, sage, eucalyptus and fir, and confirmed the possibility of its enhancement by the addition of quaternary ammonium compounds.

The synergistic effect of benzalkonium chloride on the antimicrobial activity of preparations based on vegetable essential oils, especially thyme oil (growth inhibition $\log 5,0 \pm 0,22$), eucalyptus ($\log 4,9 \pm 0,20$), sage ($\log 5,6 \pm 0,17$) and fir ($\log 4,7 \pm 0,13$).

Preparations that are planned to be further developed on the basis of synergistic interaction of antibiotics, vegetable essential oils and their complexes will be used for the treatment of livestock farms.

Keywords: plant essential oils, antimicrobial action.

REFERENCES

1. Lorian, V. *Antibiotics in laboratory medicine*. (1996). 4th ed., Baltimore: Williams and Wilkins.
2. National committee for clinical laboratory standarts. Performance standarts for antimicrobial susceptibility testing approved standart. (1993). 4 ed. *Document M2-A4.*, Villanova, PA: NCCLS.
3. Babkina, M.M., Tarasov, O.A., Nychyk, S.A. et al. (2015). Chutlivist mikroorganizmiv rodu *Bacillus* do antimikrobnih rechovin in vitro. [Susceptibility of microorganisms of *Bacillus* genus toward antimicrobial substances in vitro]. *Veterinarna biotekhnologija – Veterinary biotechnology*, 27, 226-231 [in Ukrainian].
4. Weidemann, B. (1998). Evaluation of data from susceptibility testing. *International journal of antimicrobial agents*, 10, 218-219.
5. Polina, A.N. (Eds). (1981). *Antibiotiki I antibioz v selskom hoziaistve [Antibiotics and antibiotics in agricultural production]*. Moskow: Kolos [in Russian].

6. Hanaki, H. & Hiramatsu, K. (2003). Detection methods of glycopeptide-resistant *Staphylococcus aureus*. Susceptibility. *Methods in Molecular Medicine: Antibiotic resistance methods and protocols*, 48, 85-91.
7. Bergonzelli, G.E., Donnicola, D. Porta, N. & Corthisy-Theulaz I.E. (2003). Essential oils as components of a diet-based approach to management of helicobacter infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47 (10), 3240-3246.
8. K. Knobloch, A. Pauli, B. Iberl [et al]. (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, 1, 119-128.
9. Lawless, J. (1999). *The illustrated encyclopedia of essential oils: The complete guide to the use of oils in aromatherapy and herbalism*. USA: Element book.
10. Schnaubelt, K. (1998). *Advanced Aromatherapy: The Science of essential oil therapy*. Healing art press Vermont.
11. Yakovlev, V.P. & Yakovlev, S.V. (2002). Perspektivu sozdaniya i vnedreniya novukh antimicrobnikh preparatov [Prospects for the creation and introduction of new antimicrobial preparations]. *Infektsyonnaia antimicrobnaia terapiia – Infection antimicrobial therapy*, 4(2), 24-30 [in Russian].
12. Devasahayam, G., Scheld, W.M. & Hoffman, P.S. (2010). Newer antibacterial drugs for a new century. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 19, 215-234.
13. Britsun, V.M. & Maiboroda, O.I. (2010). Antimicrobni vlastivosti 2-aril-2,3,-dihidro-4n-[1,3]tiazino[3,2- α]benzimidazol-4-oniv ta ikh pohidnikh [Antimicrobial properties of 2-aryl-2,3- dihydro-4n-[1,3]tiazyno[3,2- α]benzimidazole-4-ones and their derivatives]. Proceedings from the Pharmacy of Ukraine. Future Outlook: *Materialyi VII Natsionalnogo zizdy farmacevtiv (15-17 veresnya 2010 roky) – Materials of VII National Congress of Pharmacists*. (pp 20). Kharkiv: NPhaY [in Ukraine].
14. Opredelenie chuvstvitel'nosti microorganizmov k antibacterial'nym preparatam [Determination of the susceptibility of microorganisms to antimicrobial agents]. (2004). *Manual*. Moscow: Federal'nyi tsentr gossanepidnadzora Minzdrava Rosii [in Russian].