

ОЦЕНКА ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

П.Н. Мирошников, исследователь

К.В. Жучаев, доктор биологических наук, профессор

Л.А. Осинцева, доктор биологических наук, профессор

В.И. Ермолаев, доктор биологических наук, профессор

О.В. Зданович, заведующий микробиологической лабораторией

Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

E-mail: petmir95@mail.ru

Ключевые слова: антимикробные свойства, полифенольные вещества, *Origanum vulgare*, *Comarum palustre*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*.

Реферат. Одной из важнейших проблем животноводства и здравоохранения является антибиотикорезистентность, связанная с повсеместным применением антибиотических препаратов. В результате патогенные микроорганизмы вырабатывают устойчивость к антибиотикам, что создает необходимость либо увеличивать их дозировку, либо заменять на другие препараты. К перспективной альтернативе антибиотическим препаратам относятся фитобиотики – действующие вещества лекарственных растений, проявляющие противомикробные свойства в отношении патогенных микроорганизмов. Основным источником противомикробной активности фитобиотиков являются фенольные и полифенольные соединения. Исследование проводилось с целью изучения противомикробной активности экстрактов душицы обыкновенной (ДО) и сабельника болотного (СБ). Методом водно-спиртовой экстракции из сухого сырья были изготовлены спиртовые экстракты (СЭ), а затем при помощи вакуумной дистилляции получены бесспиртовые экстракты (БЭ). В полученных экстрактах было исследовано содержание полифенольных соединений, а также оценены их противомикробные свойства луночным методом в отношении таких патогенов, как *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Salmonella enterica*. Результаты показали, что в БЭ ДО – содержание полифенольных соединений составило 1,487 мг/мл, в СЭ ДО 1,166, в БЭ СБ – 1,349, в СЭ СБ – 1,074 мг/мл. Все исследуемые экстракты проявили противомикробную активность в отношении золотистого стафилококка. Наиболее значительные зоны подавления (1,86 см) были образованы вокруг лунок с БЭ ДО, которые были достоверно ($P < 0,01$) больше, чем в образцах со СЭ ДО. В отношении грамотрицательных культур зоны подавления были обнаружены только у спиртовых экстрактов, что, вероятнее всего, является проявлением антибактериальной активности этилового спирта.

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE EXTRACTS OF OREGANO AND MARSH CINQUEFOIL AGAINST GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE BACTERIA

P.N. Miroshnikov, Researcher

K.V. Zhuchaev, Doctor of Biological Sciences, Professor

L.A. Osintseva, Doctor of Biological Sciences, Professor

V.I. Ermolaev, Doctor of Biological Sciences, Professor

O.V. Zdanovich, Head of Microbiological Laboratory

Novosibirsk state agrarian university, Novosibirsk, Russia

E-mail: petmir95@mail.ru

Keywords: antimicrobial activity, polyphenols, *Origanum vulgare*, *Comarum palustre*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*.

Abstract. One of the most critical problems in animal husbandry and public health is antibiotic resistance, associated with the widespread use of antibiotic drugs. As a result, pathogenic microorganisms develop antibiotic resistance, which creates the need to either increase their dosage or replace them with other medications.

*Phytobiotics are a promising alternative to antibiotic drugs. Phytobiotics are active substances of medicinal plants that exhibit antimicrobial properties against pathogenic microorganisms. The primary sources of antimicrobial activity of phytobiotics are phenolic and polyphenolic compounds. The research aimed to study the antimicrobial activity of oregano (O) extracts and marsh cinquefoil (MC). Alcohol extracts (AE) were prepared from dry raw materials by water-alcohol extraction, and then alcohol-free extracts (AFE) were obtained using vacuum distillation. The content of polyphenolic compounds was studied in the obtained extracts, and the hole method against pathogens such as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* evaluated their antimicrobial properties. The results showed that in O AFE, the content of polyphenolic compounds was 1.487 mg/ml, in O AE 1.166 mg/ml, in MC AFE 1.349 mg/ml, and MC AE 1.074 mg/ml. All studied extracts showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. The most significant zones of suppression (1.86 cm) were formed around the wells with O AFE, which were significantly ($P < 0.01$) larger than in the samples with O AE. About gram-negative cultures, zones of suppression were found only in alcoholic extracts, which is most likely a demonstration of the antibacterial activity of ethanol.*

Антибиотикорезистентность – одна из важнейших проблем в современной системе здравоохранения и животноводства, развившаяся в связи с нерациональным применением антибактериальных препаратов [1]. Применение одних и тех же антибиотиков как для лечения, так и для профилактики инфекционных заболеваний приводит к снижению их эффективности, из-за чего возникает необходимость увеличения их дозировки или полной замены на другие препараты.

Однако вывод антибиотиков из кормовой базы связан с рядом трудностей и рисков. Полный отказ от антибиотиков может привести к гибели всего поголовья животных, поэтому так важно найти не только экономически выгодные, но и эффективные с точки зрения ветеринарии альтернативы [2]. Фитобиотики – биологически активные вещества лекарственных растений – являются одной из самых перспективных альтернатив антибиотическим стимуляторам роста [3]. Обоснование их применения было впервые предложено несколько десятилетий назад, но результаты исследований были противоречивыми, так как большинство исследователей были сосредоточены на анализе влияния фитобиотиков на продуктивность животных в качестве добавки, пренебрегая при этом таким их важным биологическим свойством, как противомикробная активность [4].

Согласно литературным данным [5–10], фитобиотики проявляют противомикробную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных патогенных культур. Однако большинство проведенных исследований было направлено на изучение противомикробных свойств чистых эфирных масел, в которых

наблюдается максимальная концентрация фенольных и полифенольных соединений – главного источника противомикробной активности у лекарственных и эфирно-масличных растений [11].

К природным источникам полифенольных соединений относятся в том числе душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.) и сабельник болотный (*Comarum palustre* L.). Согласно литературным источникам [12], в сырье душицы обыкновенной содержатся следующие фенольные и полифенольные соединения: апигенин, кверцетин, тимол, карвакрол, терпинеол, борнеол, гераниол. В сырье сабельника болотного содержатся такие фенольные и полифенольные соединения, как кверцетин, кемпферол, терпинеол, эллаговая кислота.

Целью данного исследования являлось изучение противомикробной активности экстрактов душицы обыкновенной и сабельника болотного в отношении золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*), кишечной палочки (*Escherichia coli*) и сальмонеллы энтерики (*Salmonella enterica*).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Основное исследование было проведено в условиях микробиологической лаборатории Испытательного лабораторного комплекса ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, а анализ на содержание полифенольных соединений – на базе химико-аналитического отдела АО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии» в наукограде Кольцово.

Сырьем для изготовления экстрактов стали корневища сабельника болотного (СБ) и наземная часть душицы обыкновенной (ДО). П.И. Петрова и др. [19] изучали динамику накопления фенольных соединений в органах сабельника болотного в разные стадии вегетации. Их исследование показало, что наибольшая концентрация данных соединений наблюдается в фазу цветения. В проведенном нами исследовании также были использовано сырье растений, собранных в фазу цветения на территории Алтайского края.

Для выделения действующих веществ из предварительно высушенного сырья был применен метод водно-спиртовой экстракции. Так как этиловый спирт обладает собственными противомикробными свойствами, то для чистоты эксперимента из спиртовых экстрактов была в условиях вакуума произведена отгонка спирта при помощи ротационного испарителя [14]. Таким образом были получены бесспиртовые экстракты (БЭ) ДО и СБ. В опыте также были исследованы спиртовые экстракты (СЭ) для сравнительного анализа.

В полученных спиртовых и бесспиртовых экстрактах было определено содержание полифенольных веществ – группы веществ, преимущественно отвечающих за противомикробные свойства у растений. Суммарное содержание фенольных соединений в экстрактах было определено при помощи модифицированного метода Фолина–Чокальтеу. Суть метода заключается в том, что полифенольные соединения окисляются реактивом Фолина – Чокальтеу, состоящим из смеси фосфорно-вольфрамовой и фосфорно-молибденовой кислот, который, в свою очередь, восстанавливается в смесь окислов вольфрама голубого цвета и молибдена. Абсорбция раствора при 750 нм пропорциональна содержанию фенольных соединений. В качестве полифенольного стандарта применялась галловая кислота. Для проведения спектрофотометрического анализа был использован спектрофотометр однолучевой Helios Omega (США) и кварцевые кюветы с длиной пути 10 мм.

Для оценки противомикробной активности экстрактов использован луночный метод. При постановке опыта применялись стандартные чашки Петри диаметром 90 мм, питательная среда – мясо-пептонный агар. Равноудаленно по

диаметру в питательной среде было проделано шесть лунок: четыре опытные и две контрольные. В опытные лунки вносилось 100 мкл изучаемых СЭ и БЭ ДО и СБ. В одну контрольную лунку было внесено 100 мкл 70 %-го раствора этанола, а в другую – контрольный антибиотик. Для опыта были выбраны три распространенные в животноводстве патогенные культуры: грамотрицательная кишечная палочка (штамм *Escherichia coli* M-17 (O2:H6)), грамотрицательная сальмонелла энтерика (штамм *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *enteritidis* BO3) и грамположительный золотистый стафилококк (штамм *Staphylococcus aureus* ATCC 25923). Штаммы были выданы из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур («ГКПМ – Оболенск»). Для каждой культуры был подобран контрольный антибиотик согласно литературным данным [16–18] – амоксициллин для кишечной палочки, гентамицин для сальмонеллы энтерики и оксациллин для золотистого стафилококка.

После посева культур и внесения препаратов в лунки чашки Петри были помещены в термостат при температуре 37° С на 24 ч в целях создания благоприятных условий для роста культур микроорганизмов. Через сутки после посева был проведен учет полученных результатов. Чашки были помещены на темную поверхность дном вверх. Замеры зон подавления производили при помощи штангенциркуля, результаты выражали в виде среднего диаметра образованной зоны.

Для статистической достоверности каждая культура микроорганизмов была исследована в 5 повторностях. Полученные в ходе исследований результаты были проанализированы и обработаны по стандартным методикам вариационной статистики с использованием таких программ, как MS Office Excel и STATISTICA. Для выявления достоверных различий был использован t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализов на содержание полифенольных веществ представлены на рис. 1.

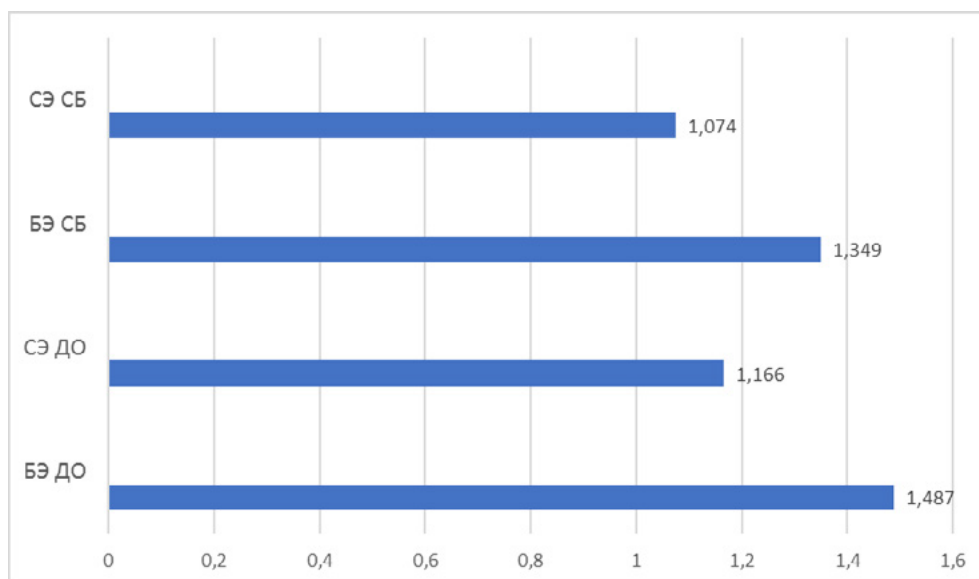


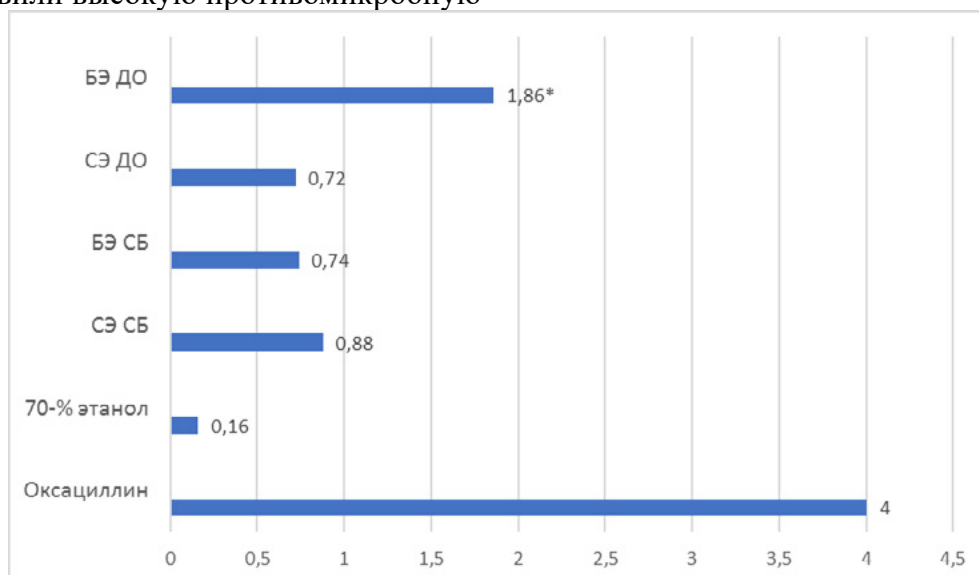
Рис. 1. Содержание полифенольных веществ в экстрактах душицы и сабельника, мг/мл
Content of polyphenolic substances in oregano and cinquefoil extracts, mg/ml

Исследование показало, что концентрация полифенольных веществ в бесспиртовых экстрактах выше, чем в спиртовых, на 21,59% для душицы обыкновенной и на 20,39 – для сабельника болотного. Наибольшее содержание полифенольных соединений было обнаружено в бесспиртовом экстракте душицы – 1,487 мг/мл.

При проведении микробиологического опыта во всех исследуемых чашках не было обнаружено посторонних культур, а антибиотики проявили высокую противомикробную

активность во всех опытных чашках, образовав хорошо различимые зоны подавления. Это говорит о правильном подборе антибиотических препаратов.

Как спиртовые, так и бесспиртовые экстракты образовали зоны подавления по отношению к золотистому стафилококку (рис. 2), наиболее значительные (1,86 см) вокруг лунок с БЭ ДО, которые были достоверно ($p < 0,01$) больше, чем в образцах со спиртовым экстрактом ДО.



* $p < 0,01$ в сравнении со спиртовым экстрактом ДО

* $p < 0,01$ compared with alcohol extract BEFORE

Рис. 2. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus*, см
Zones of suppression of growth of *Staphylococcus aureus*, cm

Что же касается эксперимента с кишечной палочкой, то исследуемые БЭ не проявили какой-либо противомикробной активности по отношению к этому патогену (рис. 3). Неболь-

шие зоны подавления образовали спиртовые экстракты и 70%-й этанол, что, вероятнее всего, является проявлением противомикробной активности этилового спирта.

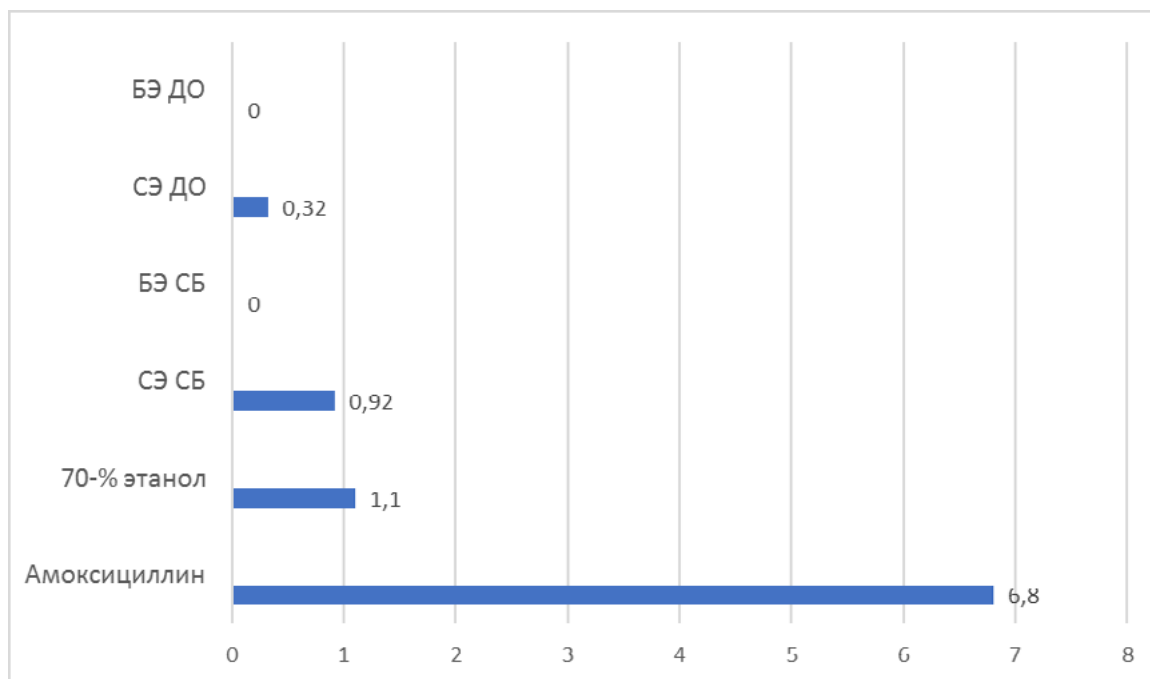


Рис. 3. Зоны подавления роста *Escherichia coli*, см
Zones of growth inhibition of *Escherichia coli*, cm

По отношению к сальмонелле энтерике БЭ также не проявили какой-либо противомикробной активности (рис. 4). Как и в опыте с

кишечной палочкой, были обнаружены зоны подавления вокруг лунок со спиртом и спиртовыми экстрактами.

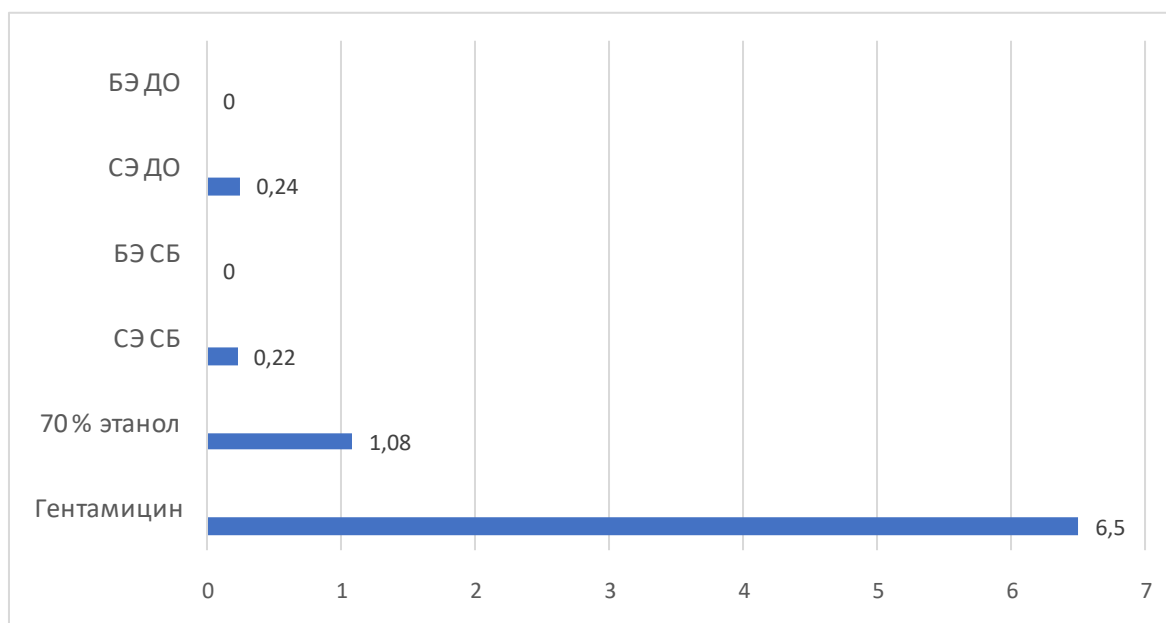


Рис. 4. Зоны подавления роста *Salmonella enterica*, см
Zones of inhibition of growth of *Salmonella enterica*, cm

Таким образом, результаты исследований подтверждают сообщение В.Г. Лужанина и др. о наличии у соединений кверцетина и эллаговой кислоты противомикробной активности в отношении *Staphylococcus aureus* [19]. Согласно литературным данным [12], эти соединения входят в состав фенольных веществ душицы обыкновенной и сабельника болотного, что подтверждает целесообразность изучения противомикробных свойств данных растений.

Следует отметить, что, по данным В.В. Милевской и др. [20], определявших концентрацию фенольных соединений в таких лекарственных растениях семейства яснотковых, как шалфей лекарственный, чабрец ползучий, душица обыкновенная и Melissa лекарственная, наибольшая концентрация фенольных исследований была обнаружена в экстрактах душицы обыкновенной, что доказывает целесообразность ее применения как источника фитобиотиков.

Полученные данные согласуются с результатами других исследователей [21, 5], сообщающих о противомикробных свойствах душицы обыкновенной. Большая их выраженность, увеличенные зоны подавления развития микрофлоры, вероятно, связаны с тем, что в опытах были использованы чистые эфирные масла и концентрированные этанольные экстракты, обладающие более выраженной противомикробной активностью. Комплексных исследований по выявлению противомикробных свойств у сабельника болотного ранее не проводилось.

ВЫВОДЫ

1. Вакуумная отгонка этанола на ротационном испарителе позволила не только удалить

спирт из экстрактов, но и повысила концентрацию в них полифенольных соединений на 21,59% для экстракта душицы обыкновенной и на 20,39% для экстракта сабельника болотного.

2. Исследуемые экстракты проявили противомикробные свойства по отношению к грамположительному *Staphylococcus aureus*. Не беря во внимание контрольный антибиотик, наибольшие зоны подавления были образованы вокруг лунки с БЭ ДО ($X=1,86$ см), которые были достоверно ($p<0,01$) больше, чем зоны подавления вокруг лунок со СЭ ДО. Полученные данные соответствуют результатам анализа на содержание полифенольных веществ, который показал, что наибольшая (1,487 мг/мл) концентрация полифенолов также была определена у БЭ ДО.

3. Исследуемые экстракты не проявили противомикробной активности в отношении грамотрицательных культур *Escherichia coli* и *Salmonella enterica*. Вероятнее всего, полученные БЭ ДО и СБ не обладают достаточной противомикробной активностью для преодоления труднопроницаемой клеточной стенки грамотрицательных культур и подавления их роста. В спиртовых экстрактах были обнаружены небольшие зоны подавления, что, вероятнее всего, является проявлением противомикробных свойств содержащегося в экстрактах этанола.

Статья подготовлена в рамках выполнения первого этапа календарного плана программы поддержки коммерчески ориентированных научно-технических проектов молодых ученых «УМНИК-21», договор № 17983ГУ/2022 от 25.05.2022.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Данилов А.И., Жаркова Л.П. Антибиотикорезистентность: аргументы и факты // Клиническая фармакология и терапия. – 2017. – № 26 (5). – С. 6–9.
2. Тараканов Б.В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животных // Ветеринария. – 2020. – №1. – С.47–54.
3. Влияние экстракта чабреца на качественные показатели мяса цыплят-бройлеров / Е.А. Кишняйкина, К.В. Жучаев, О.А. Багно [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2019. – № 2 (24). – С. 25–31.
4. Cromwell G.L. Why and how antibiotics are used in swine production // Anim. Biotechnol. – 2020. – Vol. 13. – P. 7–27.

5. *Antioxidant and Antibacterial Activity of Essential Oils and Hydroethanolic Extracts of Greek Oregano and Common Oregano* / O. Kosakowska, Z. Węglarz, E. Pióro-Jabruka [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Feb, Vol. 26 (4). – P. 988. – DOI: 10.3390/molecules26040988 PMID: PMC7918425.
6. *Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils* / A. Sivropoulou, E. Papanikolaou, C. Nikolaou [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2016. – Vol. 44 (5). – P. 1202–1205. – DOI: 10.1021/jf950540t.
7. *Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus Origanum* / M.K. Stefanakis, E. Touloupakis, E. Anastasopoulos [et al.] // *Food Control*. – 2018. – Vol. 34. – P. 539–546. – DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.05.024.
8. Васева Е.М., Малишевская О.И., Николенко М.В. Сравнительная оценка противомикробной активности растворов эфирных масел и бензилдиметил [3 (миристоиламино)пропил] аммония хлорида моногидрата в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и патогенных грибов // *Международный научно-исследовательский журнал*. – 2021. – № 6–2 (108). – С. 11–14.
9. Влияние эфирных масел на микроорганизмы различной таксономической принадлежности в сравнении с современными антибиотиками. Сообщ. III: Действие масел лаванды, розового дерева, эвкалипта, пихты на некоторые грамотрицательные бактерии / Е.В. Жученко, Е.Ф. Семенова, Н.Н. Маркелова [и др.] // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки*. – 2015. – № 1 (9). – С. 30–41.
10. Сочетанное воздействие эфирных масел и левофлоксацина на биологические свойства *Staphylococcus aureus* / М.В. Николенко, О.А. Русакова, М.В. Пастухов [и др.] // *Университетская медицина Урала*. – 2018. – Т. 4, № 2 (13). – С. 22–24.
11. *Antibacterial activity of polyphenols derived mechanochemically from natural raw materials* / I.O. Lomovskiy, V.Yu. Koptev, N.Yu. Balybina [et al.] // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. – 2023. – Т. 16, № 1. – С. 16–27.
12. *Растительные ресурсы СССР*. – Л.–СПб.: Наука, 1985–1993. – Вып. 1.
13. Динамика накопления фенольных соединений в органах сабельника болотного (*Comarum palustre* L.) / П.И. Петрова, Е.Ю. Бахтенко, Н.В. Загоскина [и др.] // *Химия растительного сырья*. – 2013. – № 1. – С. 165–169.
14. Мирошников П.Н., Сороколетов О.Н., Жучаев К.В. Патент на изобретение 2791450 С1 07.03.2023. Способ получения экстрактов из лекарственного сырья. Заявка № 2022112703 от 05.05.2022.
15. Gerba C.P., Smith J.E. Sources of pathogenic microorganisms and their fate during land application of wastes // *J. Environ. Qual.* – 2015. – Vol. 34. – P. 42–48.
16. *The population genetics of commensal Escherichia coli* / O. Tenaillon, D. Skurnik, B. Picard [et al.] // *Nature Reviews. Microbiology*. – 2017. – Vol. 8 (3). – DOI: 10.1038/nrmicro2298; PMID: 20157339; S2CID: 5490303.
17. Todar K. *Salmonella and Salmonellosis* [Электронный ресурс] // *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. – URL: <https://www.textbookofbacteriology.net/>. (дата обращения: 03.10.2020).
18. *Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management* / S. Tong, J. Davis, E. Eichenberger, T. Holland [et al.] // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2015. – Vol. 28 (3). – P. 603–61. – DOI:10.1128/CMR.00134-14.
19. Противомикробная активность соединений полифенольной природы / В.Г. Лужанин, А.К. Уэйли, А.О. Понкратова [и др.] // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 65–72.
20. Определение фенольных соединений в лекарственных растениях семейства яснотковых / В.В. Милевская, З.А. Темердашев, Т.С. Бутыльская, Н.В. Киселева // *Журнал аналитической химии*. – 2017. – Т. 72, № 3. – С. 273–279.
21. *Essential oil and antimicrobial activity of wild and cultivated Origanum vulgare L. subsp. hirtum (Link) letswart from the Marmara region, Turkey* / G. Esen, A.D. Azaz, M. Kurkcuglu [et al.] // *Flavour Frag. J.* – 2017. – Vol. 22. – P. 371–376.

REFERENCES

1. Danilov A.I., Zharkova L.P., *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya*, 2017, No. 26 (5), pp. 6–9. (In Russ.)
2. Tarakanov B.V., *Veterinariya*, 2020, No. 1, pp. 47–54. (In Russ.)

3. Kishnyaikina E.A., Zhuchaev K.V., Bagno O.A. i dr., *Innovacii i prodovol'stvennaya bezopasnost'*, 2019, No. 2 (24), pp. 25–31. (In Russ.)
4. Cromwell G.L., Why and how antibiotics are used in swine production / G.L. Cromwell, *Anim. Biotechnol.*, 2020, Vol. 13, pp. 7–27.
5. Kosakowska O., Węglarz Z., Pióro-Jabrucka E. et al., Antioxidant and Antibacterial Activity of Essential Oils and Hydroethanolic Extracts of Greek Oregano and Common Oregano, *Molecules*, 2021 Feb, Vol. 26 (4), pp. 988, DOI: 10.3390/molecules26040988 PMID: PMC7918425.
6. Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C. et al., Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, Vol. 44 (5), pp. 1202–1205, DOI: 10.1021/jf950540t.
7. Stefanakis M.K., Touloupakis E., Anastasopoulos E. et al., Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus Origanum, *Food Control.*, 2018, Vol. 34, pp. 539–546, DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.05.024.
8. Vaseva E.M., Malishevskaya O.I., Nikolenko M.V., *Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal*, 2021, No. 6–2 (108), pp. 11–14. (In Russ.)
9. Zhuchenko E.V., Semenova E.F., Markelova N.N., Shpichka A.I., Knyaz'kova A.A., *Izvestiya vysshih uchebnyh zavedenij. Povolzhskij region. Estestvennye nauki*, 2015, No. 1 (9), S. 30–41. (In Russ.)
10. Nikolenko M.V., Rusakova O.A., Pastuhov M.V. i dr., *Universitetskaya medicina Urala*, 2018, T. 4, № 2 (13), pp. 22–24. (In Russ.)
11. Lomovskiy I.O., Koptev V.Yu., Balybina N.Yu., Tikhova V.D. et al., Antibacterial activity of polyphenols derived mechanochemically from natural raw materials, *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*, 2023, T. 16, No. 1, pp. 16–27.
12. *Rastitel'nye resursy SSSR* (Plant resources of the USSR), Leningrad – Sankt-Peterburg: Nauka, 1985–1993. Vyp. 1.
13. Petrova P.I., Bahtenko E.YU., Zagorskina N.V. i dr., *Himiya rastitel'nogo syr'ya*, 2013, No. 1, pp. 165–169.
14. Miroshnikov P.N., Sorokoletov O.N., Zhuchaev K.V., *Patent na izobretenie 2791450 C1*, Sposob polucheniya ekstraktov iz lekarstvennogo syr'ya, 07.03.2023, Zayavka № 2022112703 ot 05.05.2022. (In Russ.)
15. Gerba C.P., Smith J.E., Sources of pathogenic microorganisms and their fate during land application of wastes, *J. Environ. Qual.*, 2015, Vol. 34, pp. 42–48.
16. Tenaillon O., Skurnik D., Picard B. et al., The population genetics of commensal Escherichia coli, *Nature Reviews. Microbiology*, 2017, Vol. 8 (3), DOI:10.1038/nrmicro2298.
17. Todar K., Salmonella and Salmonellosis, *Todar's Online Textbook of Bacteriology*: <https://www.textbookofbacteriology.net/>. (data obrashcheniya 03.10.2020).
18. Tong S., Davis J., Eichenberger E., Holland T. et al., Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management, *Clinical Microbiology Reviews*, 2015, Vol. 28 (3), pp. 603–661, DOI:10.1128/CMR.00134-14.
19. Luzhanin V.G., Uejli A.K., Ponkratova A.O. i dr., *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv*, 2022, T. 11, No. 2, pp. 65–72. (In Russ.)
20. Milevskaya V.V., Temerdashev Z.A., Butyl'skaya T.S., Kiseleva N.V., *Zhurnal analiticheskoy himii*, 2017, T. 72, No. 3, pp. 273–279. (In Russ.)
21. Esen G., Azaz A.D., Kurkcuglu M. et al., Essential oil and antimicrobial activity of wild and cultivated Origanum vulgare L. subsp. hirtum (Link) letswaart from the Marmara region, Turkey, *Flavour Frag. J.*, 2017, Vol. 22, pp. 371–376.