MED. DOŚW. MIKROBIOL., 2011, 63: 273 - 281

Monika Sienkiewicz[1], Danuta Kalemba[2], Małgorzata Wasiela[1]

Ocena wrażliwości klinicznych szczepów *Escherichia coli* na działanie olejku tymiankowego i lawendowego w odniesieniu do ich lekooporności

[1] Zakład Mikrobiologii Lekarskiej i Sanitarnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Kierownik Zakładu: dr hab. n med. *M. Wasiela*
[2] Instytut Podstaw Chemii Żywności, Politechnika Łódzka
Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. *S. Wysocki*

Przedstawiono wyniki badania aktywności olejków eterycznych tymiankowego i lawendowego wobec klinicznych szczepów *Escherichia coli,* z jednoczesną oceną lekowrażliwości tych szczepów. Skład olejków eterycznych określono metodą GC-MS-FID, wrażliwość bakterii na olejki eteryczne badano metodą dyfuzyjną, lekowrażliwość określano metodą dyfuzyjno-krążkową wg CLSI. Uzyskane wyniki wykazały, że bardzo niskie stężenia olejków eterycznych posiadały właściwości hamujące wzrost wszystkich klinicznych szczepów *Escherichia coli*, również lekoopornych.

Obserwowany wzrost oporności bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki ogranicza znacznie możliwości skutecznego leczenia chorób infekcyjnych. Istotne problemy kliniczne związane są z oportunistycznymi zakażeniami powodowanymi przez pałeczki Gram-ujemne, głównie z rodzajów *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Escherichia, Acinetobacter, Pseudomonas* i *Haemophilus*. Bakterie te są częstą przyczyną zakażeń szpitalnych, najczęściej infekcji układu moczowego, pokarmowego, zapalenia płuc, zakażenia ran chirurgicznych, bakteriemii (6, 12). Pałeczki *Escherichia coli* powodują zarówno infekcje pozaszpitalne, jak i szpitalne. Obecnie zaliczane są do tzw. patogenów alarmowych, produkujących beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (extender spectrum β-lactamases – ESBL). Hydrolizują one wszystkie antybiotyki z grupy penicylin, monobaktamów i cefalosporyn, nawet tych o szerokim zakresie aktywności. Wykazano, że stosowanie kwasu klawulonowego, sulbaktamu czy tazobaktamu, jako inhibitorów beta-laktamaz nie zawsze powoduje zwiększenie skuteczności działania antybiotyków beta-laktamowych w leczeniu infekcji wywołanych przez *E. coli* (1, 2, 16, 17).

Z uwagi na nieskuteczną antybiotykoterapię w ostatnich latach wzrosło zainteresowanie olejkami eterycznymi, które posiadają szeroką gamę aktywności terapeutycznej. Udokumentowano ich działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybowe, przeciwwirusowe i antyoksydacyjne (4, 8). Stosowane są od dawna przy leczeniu zakażeń układu oddechowego, pokarmowego, narządów płciowych, a także przy wspomaganiu funkcjonowania układu immunologicznego, endokrynologicznego i nerwowego. Olejki eteryczne wykorzystywane

są również w terapii przeciwnowotworowej, w schorzeniach układu sercowo-naczyniowego i nerwowego, a także wykazują działanie obniżające poziom cholesterolu, oraz obniżające i regulujące poziom glukozy (9). Właściwości olejków eterycznych znane są bardzo dobrze i wykorzystywane w medycynie i kosmetologii. Jednak pomimo wielu badań dotyczących szerokiego i kompleksowego ich oddziaływania na drobnoustroje, synergizmu działania, także w połączeniu z antybiotykami, istnieje potrzeba badań przeciwbakteryjnej aktywności olejków eterycznych wobec szczepów klinicznych w perspektywie ich powszechnego stosowania w terapii schorzeń infekcyjnych (13, 19, 21).

Celem niniejszej pracy było określenie właściwości przeciwbakteryjnych olejku tymiankowego i olejku lawendowego wobec klinicznych szczepów *Escherichia coli* w porównaniu do lekowrażliwości tych szczepów.

MATERIAŁ I METODY

Szczepy bakteryjne. Do badań wykorzystano szczepy *Escherichia coli* izolowane w pracowniach mikrobiologicznych Wojewódzkiego Zespołu Zakładów Opieki Zdrowotnej Centrum Leczenia Chorób Płuc i Rehabilitacji w Łodzi oraz Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego Nr 2 w Łodzi, pochodzące z różnych materiałów klinicznych, pobranych od pacjentów leczonych na oddziałach: laryngologii, chorób wewnętrznych, chirurgii, urologii i intensywnej opieki medycznej, oraz szczep wzorcowy *Escherichia coli* ATCC 25922 pochodzący z kolekcji Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej i Sanitarnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Do badań użyto 30 szczepów klinicznych *E. coli*, w tym: 7 szczepów izolowanych z ran, 5 z odleżyn, 4 z odbytu, 4 z moczu, 2 z owrzodzeń, 2 z pachwin, 2 z gardła, 2 z aspiratów z oskrzeli, 1 z nosa, 1 z jamy otrzewnej.

Oznaczanie wrażliwości badanych szczepów bakteryjnych na antybiotyki. Wrażliwość badanych szczepów bakteryjnych na zalecane antybiotyki i chemioterapeutyki określano metodą dyfuzyjno-krążkową i weryfikowano zgodnie z zaleceniami CLSI (7). Do określania wrażliwości szczepów bakteryjnych użyto następujących antybiotyków (Becton Dickinson): AmC – amoksycylina / kwas klawulonowy, CF – cefalotyna, CZ – cefazolina, CXM – cefuroksym, GM – gentamycyna, AM – ampicylina (tylko dla izolatów z moczu), NOR - norfloksacyna (j.w.), F/M - nitrofurantoina (j. w.), FOX - cefoksytyna, CTX – cefatoksym, CAZ – ceftazydym, ATM – aztreonam, IPM – imipenem, CIP – ciprofloksacyna, NET – netilmycyna, NN - tobramycyna C – chloramfenikol, Te – tetracyklina, SXT - trimetoprim / sulfametaksazol.

Przygotowanie zawiesin szczepów bakteryjnych do określania wrażliwości na olejki eteryczne i antybiotyki. Zarówno szczep wzorcowy, jak i kliniczne szczepy badanych drobnoustrojów posiewano na stałe podłoża agarowe Columbia Agar i inkubowano 48 godzin w temperaturze 37°C w warunkach tlenowych. Następnie kolonie zebrane z podłoża wzrostowego zawieszano w 0.85 % roztworze NaCl i rozcieńczano tak, aby otrzymać zawiesinę o gęstości optycznej 0.5 w skali Mc Farlanda. Do określenia gęstości używano densytometru firmy bioMerieux.

Analiza chemiczna olejków eterycznych. W badaniach stosowano olejki eteryczne zakupione w firmie POLLENA – AROMA, olejek tymiankowy pozyskany z ziela

tymianku pospolitego – *Thymus vulgaris* L. i olejek lawendowy z ziela lawendy wąskolistnej – *Lavandulae angustifolia* Mill. syn. *L. officinalis* Chaix., *L.vera* DC. Skład olejków oznaczano metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektometrią masową (GC-FID-MS). Aparat Trace GC Ultra (Thermo Electron Corporation), z dozownikiem SSL, detektorem masowym DSQ II i płomieniowo-jonizacyjnym FID; kolumna kapilarna: Rtx-1ms (Restek) 60 m x 0,25 mm, grubość filmu 0,25 μm; temp. programowana 100-245°C, narost 4°C/min; temp. dozownika 280°C; ciśn. 100 kPa, podział strumienia, 1:20; gaz nośny, hel, indeksy retencji (RI) i zawartości %: FID; temp. detektora 300°C. Widma masowe (MS): DSQII; energia jonizacji 70 eV; temp. źródła jonów 200°C. Składniki olejków eterycznych identyfikowano na podstawie RI i MS dostępnych w bibliotece wzorów Instytutu Chemii Żywności PŁ i bibliotece NIST.

Określanie przeciwbakteryjnych właściwości testowanych olejków eterycznych. Do sporządzania roztworów wyjściowych olejków eterycznych użyto 96% alkoholu etylowego. W podłożu agarowym sporządzono stężenia od 0,125 do 0,75 μl/ml dla olejku tymiankowego i od 1,00 do 5,00 μl/ml dla olejku lawendowego. Dla każdego wariantu stężeń wykonano podłoża kontrolne zawierające tylko etanol w ilości odpowiadającej objętości wykorzystanej do rozpuszczenia olejku dla prób badanych. Inokulat zawierający 1,5 x 10^8 CFU/ml testowanych szczepów bakteryjnych o objętości 0,1 ml nanoszono na podłoża agarowe zawierające odpowiednie stężenia badanych olejków. MIC (Minimal Inhibitory Concentration) określano po 24 godzinach inkubacji płytek w temperaturze 37ºC w warunkach tlenowych.

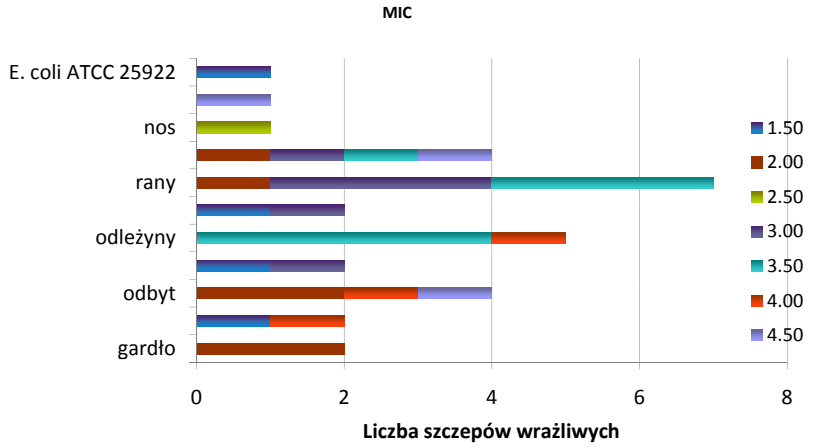
Dla każdego wariantu stężeń olejków, a także w przypadku prób kontrolnych stosowano trzykrotne powtórzenia. Stwierdzono, że w podłożach kontrolnych zawierających etanol w ilości odpowiadającej objętości wykorzystanej do rozpuszczenia olejku dla prób badanych rozpuszczalnik ten użyty w tak niewielkiej ilości nie wpływa na wzrost wszystkich badanych szczepów *E. coli*.

WYNIKI

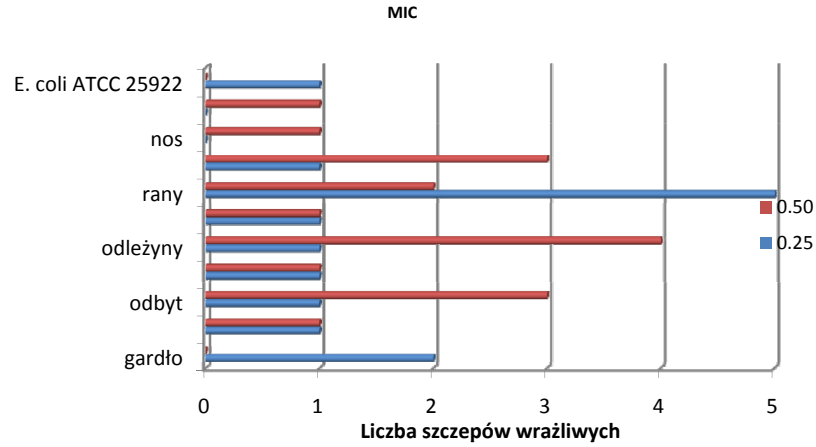
Skład chemiczny olejków eterycznych. W olejku tymiankowym zidentyfikowano 40 składników, w tym jako główne fenole: tymol (38,1%) i karwakrol (2,3%) oraz *p*-cymen (29,1%), terpinen (5,2%), linalol (3,7%) i kariofilen (3,1%). W olejku lawendowym wykryto 34 składniki, w których dominowały: linalol (34,1%), octan linalilu (33,3%) i octan lawandulilu (3,2%), a także (Z)-β-ocymen (3,2%), (E)-β-ocymen (2,7%) i β-kariofilen (2,7%). Analiza wykazała, że skład olejku lawendowego jest zgodny z wymogami Farmakopei Europejskiej 6 (11). W przypadku zaleceń Farmakopei Polskiej VIII (10) oznaczono dokładnie 2,5% 1.8-cyneolu wobec wymaganej wartości mniejszej niż 2,5%. Natomiast w olejku tymiankowym zawartość *p*-cymenu była nieco wyższa od wymaganej (29,1% wobec 15-28%), a linalolu niższa (3,7% wobec 4-6,5%). Pozostałe składniki analizowanych olejków mieściły się w zalecanych zakresach.

Aktywność testowanych olejków eterycznych wobec szczepów klinicznych *Escherichia coli*. Zarówno szczep wzorcowy jak i wszystkie szczepy kliniczne były wrażliwe na stosowane olejki eteryczne.

Olejek tymiankowy. W badaniach określono wysoką aktywność olejku tymiankowego wobec wszystkich badanych szczepów z podobnymi wartościami MIC: 0,25 i 0,5 µl/ml (Ryc. 1). Wartość MIC – 0,25 µl/ml oznaczono dla szczepu wzorcowego *E. coli* ATCC 25922 i 13 szczepów klinicznych, w tym dla 5 z 7 szczepów pochodzących z ran oraz dla wszystkich szczepów wyizolowanych z gardła. Wartość MIC – 0,5 µl/ml uzyskano dla 17 szczepów, w większości izolowanych z odleżyn (4 z 5), odbytu (3 z 4) i moczu (3 z 4).



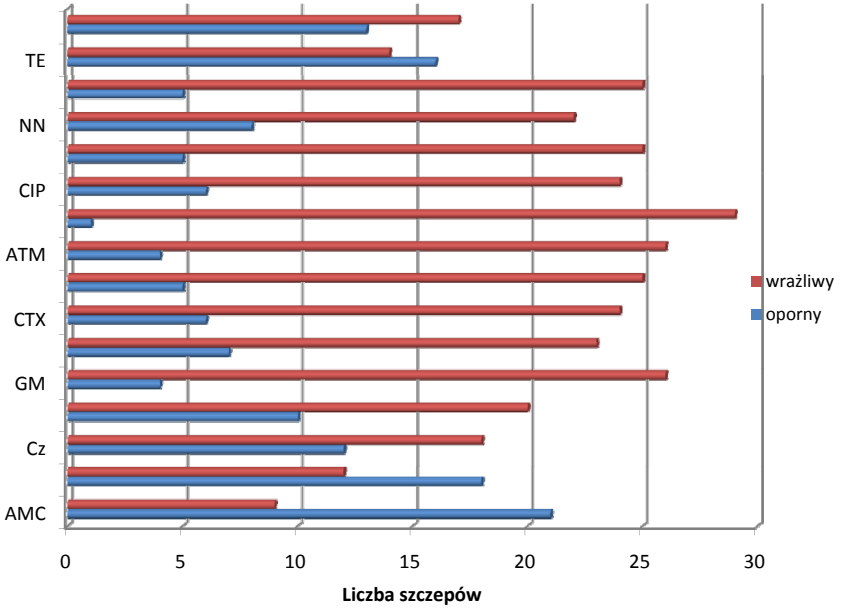
Rycina 1 Wrażliwość badanych szczepów *E. coli* pochodzących z różnych materiałów klinicznych na olejek tymiankowy określona współczynnikiem MIC (Minimal Inhibitory Concentration (µl/ml))



Rycina 2 Wrażliwość badanych szczepów *E. coli* pochodzących z różnych materiałów klinicznych na olejek lawendowy określona współczynnikiem MIC (Minimal Inhibitory Concentration (µl/ml))

Olejek lawendowy. Stwierdzono słabsze działanie olejku lawendowego w porównaniu z olejkiem tymiankowym wobec tych samych pałeczek *E. coli*. Równocześnie to działanie było bardziej zróżnicowane. Wyznaczone wartości współczynnika MIC mieściły się w granicach od 1,5 do 4,5 µl/ml (Ryc. 2). Szczep wzorcowy *E. coli* ATCC 25922 był wrażliwy na olejek lawendowy w najniższym ze stężeń. Największa liczba szczepów klinicznych (8 szczepów) była hamowana przez stężenie 3,5 µl/ml, były to głównie szczepy pochodzące z odleżyn (4 z 5). Jednakowa liczba szczepów (3 z 7) izolowana z ran hamowana była przez MIC 3,5 i 3,0 µl/ml, wszystkie szczepy izolowane z gardła hamowało stężenie 2,0 µl/ml, natomiast pozostałe szczepy pochodzące z tego samego materiału wykazywały wrażliwość na różne stężenia olejku lawendowego.

Lekowrażliwość szczepów *Escherichia coli*. Szczep wzorcowy był wrażliwy na wszystkie zastosowane antybiotyki. Lekowrażliwość szczepów klinicznych przedstawiono na rycinie 3. Największa liczba tych szczepów była oporna na AMC 21 (70%), CF 18 (60%), TE 16 (53%), SXT 16 (53%), CZ 12 (40%), CXM 10 (33%). W największym odsetku były to szczepy izolowane z gardła, ran, owrzodzeń, odleżyn, pachwin. Największą lekoopornością na 16 antybiotyków charakteryzowały się szczepy izolowane z nosa (13/16) i moczu (15/16, 13/16, 12/16, 11/16).



Rycina 3 Lekowrażliwość badanych szczepów klinicznych *Escherichia coli*

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania jednoznacznie wskazały, że wszystkie wykorzystane szczepy kliniczne *Escherichia coli,* również oporne na stosowane powszechnie antybiotyki, były

wrażliwe na obydwa badane olejki eteryczne. Wykazano jednak, że olejek tymiankowy wykazywał silniejszą aktywność przeciwbakteryjną w porównaniu do olejku lawendowego. Stwierdzono, że minimalne stężenie hamujące wzrost szczepów klinicznych pałeczek okrężnicy wynosiło odpowiednio 0,25 i 0,5 µl/ml vs 1,5 µl/ml do 4,5 µl/ml. Należy jednocześnie podkreślić, że szczep o 100% oporności na zastosowane antybiotyki wyizolowany z owrzodzenia był wrażliwy na najniższe stężenia obu badanych olejków. Niską wartość współczynnika MIC dla olejku tymiankowego (0,25 µl/ml) i lawendowego (3,0 µl/ml) uzyskano również dla dwóch klinicznych szczepów izolowanych z ran, które były wrażliwe tylko na 5 z 16 testowanych antybiotyków. 60% szczepów opornych na ponad połowę zastosowanych antybiotyków było wrażliwych na stężenie 0,5 µl/ml olejku tymiankowego. Stwierdzone tak silne działanie przeciwbakteryjne olejku tymianku pospolitego spowodowane jest prawdopodobnie dużą zawartością związków fenolowych - tymolu i karwakrolu – które, jak pokazała analiza chemiczna, stanowią łącznie 40,4 % składników tego olejku. *Bousmaha-Marroki* i wsp. (3) wykazali podobnie wysoką aktywności olejku tymiankowego uzyskanego z gatunku *T. ciliatus* zawierającego ponad 70 % karwakrolu, w stosunku do szczepów klinicznych *E. coli* izolowanych ze środowiska szpitalnego odpowiedzialnych za zakażenia szpitalne. Z kolei *Mihajilov-Kristev* i wsp. (18) stwierdzili równie silne działanie przeciwbakteryjne olejku cząbrowego (*Satureja hortensis* L.) zawierającego 67% karwakrolu, 15.3% γ-terpinenu i 6.73% *p*-cymenu wobec 2 szczepów wzorcowych *Escherichia coli*. Udokumentowano również silne właściwości hamujące adhezję szczepów *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* do komórek nabłonka układu moczowo-płciowego przez tymol pochodzący z gatunków *Thymus sp.*, sugerując, że może to stanowić alternatywę dla leków pochodzenia syntetycznego w zapobieganiu infekcjom dróg moczowych (8).

Jak wynika z piśmiennictwa olejki eteryczne różnych gatunków lawendy są aktywne, choć w wyższych stężeniach niż tymiankowe, wobec *Staphylococcus aureus* (MRSA) czy *Enterococcus faecalis* (VRE), a także bakterii Gram-ujemnych: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Shigella sonnei,* (5). Pomimo, że użyty w przeprowadzonych badaniach olejek lawendy wąskolistnej zawierał duży odsetek alkoholi – 34,1 % linalolu oraz estrów: 33,3 % octanu linalolu i 3,2% octanu lawandulilu jednak ich działanie było znacznie słabsze od związków zawartych w olejku tymiankowym. Alkohole i estry zawarte w olejkach eterycznych mają mniejszą aktywność przeciwbakteryjną w porównaniu do związków fenolowych (15). *Hui* i wsp. (14) uzyskali w swoich badaniach wyższe wartości współczynników MIC (8,5 mg/ml – 34,0 mg/ml) dla szczepów klinicznych *Escherichia coli* w porównaniu do otrzymanych w niniejszej pracy, badany przez nich olejek lawendowy zawierał w przeważającej ilości zestryfikowaną postać linalolu w postaci maślanu (44,7%) oraz β-ocymen (25,1%).

Problemy terapeutyczne, jakie sprawiają oporne na antybiotyki i chemioterapeutyki bakterie, zmuszają do ciągłych poszukiwań skutecznych środków przeciwdrobnoustrojowych. W przeprowadzonych badaniach szczepy kliniczne *E. coli* wykazywały różną wrażliwość na wybrane antybiotyki i było to związane z rodzajem materiału klinicznego, z którego były izolowane. Największą oporność stwierdzano w przypadku szczepów izolowanych ze zmian skórnych – ran, ropni, owrzodzeń. Biorąc pod uwagę fakt, że w przypadku tych zmian chorobowych można stosować leczenie miejscowe i fakt, że bardzo niewielkie stężenia olejku tymiankowego wykazywało aktywność wobec szczepów wielolekoopornych, stosowanie tego olejku może okazać się alternatywą dla leczenia konwencjonalnego. Ciekawych danych

dostarczają badania *Rosato* i wsp. (19) dotyczące synergizmu działania olejków eterycznych w połączeniu z przeciwdrobnoustrojowymi lekami syntetycznymi. Jednoczesne zastosowanie olejku pozyskanego z *Pelargonium graveolens* L'Her. ex Ait. (*Geraniaceae*) i norfloksacyny wobec szczepów wzorcowych *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* oraz *Bacillus* sp. pozwoliło znacznie obniżyć minimalne, efektywne stężenie hamujące antybiotyku.

Obecnie uwaga badaczy skoncentrowana jest na intensywnych badaniach *in vitro* dotyczących mechanizmu działania przeciwdrobnoustrojowego i synergizmu z lekami poszczególnych składników różnych olejków eterycznych (19, 20). Wnikliwe badania właściwości przeciwbakteryjnych olejków eterycznych wobec szczególnie opornych szczepów klinicznych mogą okazać się pomocne w leczeniu groźnych, często nawracających infekcji, a także zmniejszyć ryzyko pojawiania się szczepów opornych w środowisku szpitalnym. Argumentem przemawiającym za potrzebą rozwoju tego kierunku badań jest fakt, że olejki eteryczne wchłaniane są dobrze przez błonę śluzową nosa, jamy ustnej, gardła, żołądka, jelit i skórę, nie ulegają kumulacji w organizmie, ich składniki są neutralizowane przez organizm poprzez wiązanie w postaci estrów z kwasem glukuronowym i wydalane przez drogi moczowe (4).

WNIOSKI

Zbyt mała liczba szczepów pozyskana do przeprowadzenia badań nie pozwala na wyciągnięcie daleko idących wniosków, niemniej uzyskane rezultaty można podsumować następująco:

1. Olejek tymiankowy otrzymany z *Thymus vulgaris* L. wykazuje silniejsze właściwości przeciwbakteryjne w porównaniu do olejku lawendowego otrzymanego z *Lavandula angustifolia* Mill. wobec szczepu wzorcowego i szczepów klinicznych *Escherichia coli* izolowanych z różnych materiałów klinicznych.
2. Zarówno olejek tymiankowy, jak i lawendowy były aktywne wobec szczepów wykazujących wielolekooporność.
3. Uzyskane wyniki uzasadniają przeprowadzenie badań dotyczących aktywności innych olejków eterycznych wobec szczepów klinicznych różnych gatunków bakterii.

M. Sienkiewicz, D. Kalemba, M. Wasiela

Sensitivity assessment of thyme and lavender essential oils against clinical strains of *Escherichia coli* for their resistance

SUMMARY

Strong antiseptic activity of plant essential oils and extracts has been known for a long time. The antibacterial activity of thyme and lavender essential oils were tested against 30 clinical bacterial strains of *Escherichia coli* from patients with different clinical conditions. The agar diffusion method was used for microbial growth inhibition at various concentrations of the oils from *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia*. Susceptibility testing to antibiotics and chemotherapeutics was carried out

using disc-diffusion method. The results of experiments showed that the both oils, from *T. vulgaris* and *L. angustifolia* were active against all of the clinical strains, but thyme oil demonstrated the highest activity. Thyme and lavender essential oils were active against multi drug resistant clinical strains of *Escherichia coli* genera. The results of experiments justify a study related to activity other essential oils against different genus of bacteria.

PIŚMIENNICTWO

1. *Adwan K, Abu-Hasan N, Adwan G* i inni. Molecular epidemiology of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients with urinary tract infections in Nothern Palestine. Pol J Microbiol 2004; 53: 23-26.
2. *Alou L, Agular L, Sevillano D* i inni. Urine bacteriocidal activity against resistant *Escherichia coli* in an *in vitro* pharmacodynamic model simulating urine concentrations obtained after 2000/125 mg sustained-release co-amoxiclav and 400 mg norfloxacin administration. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 714-9.
3. *Bousmaha-Marroki L, Atik-Bekkara F, Tomi F* i inni. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. ssp. *eu-ciliatus* Maire from Algeria. J Essent Oil Res 2007; 19: 490-3.
4. *Cal K.* Olejki eteryczne w preparatach leczniczych – mechanizm działania i zastosowanie. Aromaterapia 2003; ¾ (33/34) t.9: 20-9.
5. *Cavanagh H MA, Wilkinson J M.* Lavender essential oil: review. Australian Infect Control 2005; 10: 35-7.
6. *Chastre J.* Evolving problems with resistant pathogens. Clin Microbiol Infect 2008; 14: 3-14.
7. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: nineteenth informational supplement. CLSI document M100-S19. Clinical and Laboratory Standard Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2009.
8. *Dal Sasso M.* Thymol: inhibitory activity on *Escheichia coli* and *Staphylococcus aureus* adhesion to human vaginal cells. J Essent Oil Res 2006; 18: 455-61.
9. *Edris A E.* Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. Phytother Res 2007; 21: 308-23.
10. European Pharmacopoeia. 6 th Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2008.
11. Farmakopea Polska VIII. 8 Edycja. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa, 2008.
12. *Gaynes R, Edwards J.* Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. Clin Infect Dis 2005; 41: 848–54.
13. *Giordani R, Regli, P, Kaloustian, J* i inni. Potentation of antifungal activity of amphoteracin B by essential oil from *Cinnamonium cassia. Phytother* Res 2006; 20: 58-61.
14. *Hui L, He L, Huan L* i inni. Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria. Afr J Microbiol Res 2010; 4: 309-13.
15. *Kalemba D, Kunicka A*. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr Med Chem 2003; 10: 813-29.
16. *Linde H J, Lehn N.* Mutant prevention concentration of nalidixic acid, ciprofloxacin, clinafloxacin, levofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, sparfloxacin or trovafloxacin for *Escherichia coli* under different growth conditions. J Antimicrob Chemother 2004; 53: 252-7.
17. *Meyer E, Schwab F, Schroeren-Boersch B* i inni. Dramatic increase of third-generation cephalosporin-resistant *E. coli* in German intensive care units: secular trends in antibiotic drug use and bacterial resistance, 2001 to 2008. Crit Care 2010; 14: R113.

18. *Mihajilov-Kristev T, Radović D, Kitić D* i inni. Antibacterial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil against pathogenic microbial strains. Biotechnol & Biotechnol Eq 2009; 23: 1492-1496.
19. *Rosato A, Vitali C, De Laurentis N* i inni. Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with norfloxacin. Phytomedicine 2007; 14: 727-32.
20. *Schmitt S, Schaefer UF, Doebler L, Reichling J.* Cooperative interaction of monoterpenes and phenylpropanoids on the *in vitro* human skin permeation of complex composed essential oils. Planta Med 2009; 75: 1381-5.
21. *Shin S, Kim J. In vitro* inhibitory activities of essential oils from two Korean *Thymus* species against antibiotic-resistant pathogens. Arch Pharm *Res* 2005; 28: 897-901.

Otrzymano: 4 VIII 2011 r.
Adres Autora: 90-647 Łódź, Zakład Mikrobiologii lekarskiej i Sanitarnej,
Wydział Wojskowo-Lekarski UM w Łodzi