Kemijski sastav i antimikrobno djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta iz rodova Salvia L. i Thymus L.

Ćerić, Jasna

Professional thesis / Završni specijalistički

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:902460

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

JASNA ĆERIĆ

KEMIJSKI SASTAV I ANTIMIKROBNO DJELOVANJE ETERIČNIH ULJA IZ BILJNIH VRSTA RODOVA *SALVIA* L. I *THYMUS* L.

SPECIJALISTIČKI RAD

Zagreb, 2015.

Mentor specijalističkog rada: prof. dr. sc. Marijana Zovko Končić, mag. pharm.

Specijalistički rad obranjen je dana 29. listopada 2015. godine, na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. dr. sc. Marijana Zovko Končić
2. dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević
3. dr. sc. Ivona Jasprica.

Rad ima 144 lista.

Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof. dr. sc. Marijani Zovko Končić, mag. pharm. na stručnom vodstvu, strpljenju i pomoći koje mi je pružala tijekom izrade ovog specijalističkog rada.

Veliko hvala suprugu Ivanu Palijanu i obitelji na podršci i motivaciji tijekom izrade rada.

SAŽETAK

Cilj istraživanja: Cilj ovog specijalističkog rada bio je napraviti sustavni pregled i usporedbu kemijskog sastava i antimikrobnog djelovanja eteričnih ulja što većeg broja biljnih vrsta rodova *Salvia* L. i *Thymus* L. rasprostranjenih diljem svijeta.

Materijal i metode: Za potrebe ovog rada pretražene su baze podataka Scopus, Science Direct, Medline i Wiley Online Library. Uključeni su izvorni znanstveni radovi o kemijskom sastavu i antimikrobnom djelovanju eteričnih ulja rodova *Salvia* i *Thymus* objavljeni na engleskom jeziku, neovisno o datumu objave.

Rezultati: Obrađena znanstvena istraživanja su pokazala značajno antimikrobno djelovanje eteričnih ulja rodova *Salvia* i *Thymus* na ispitane mikroorganizme, među kojima su gram-pozitivne bakterije i gljivice bile osjetljivije na eterična ulja i njihove sastavnice nego gram-negativne bakterije. Karvakrol, 1,8-cineol i timol su zabilježene kao antimikrobno najdjelotvornije sastavnice. Antimikrobni rezultati su zabilježeni i na neke od najrezistentnijih gram-negativnih bakterija, poput *P. aeruginosa.* Razlike u kemijskom sastavu i antimikrobnom djelovanju su zabilježene ovisno o zemljopisnom porijeklu biljke, razdoblju branja, odnosno fazi cvatnje biljke te biljnom organu iz kojeg je izolirano eterično ulje.

Zaključak: Eterična ulja su pokazala značajno antimikrobno djelovanje, međutim potrebne su dodatne dobro dizajnirane studije koje određuju stabilnost, toksičnost i sigurne doze ovih ulja za njihovu daljnju uporabu u prehrambenim, kozmetičkim ili farmaceutskim proizvodima.

Ključne riječi: eterično ulje, antimikrobno djelovanje, antibakterijsko djelovanje, antifungalno djelovanje, *Salvia*, *Thymus*.

SUMMARY

Objectives: Objective of this specialist paper was to systematically review and compare chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of various plants from *Salvia* L. and *Thymus* L. genera represented around the world.

Material and Methods: For the purpose of this paper Scopus, Science Direct, Medline and Wiley Online Library database were searched. Original scientific papers on chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Salvia* and *Thymus* genera, published in English, regardless of the date of publication, were included.

Results: Research showed significant antimicrobial activity of essential oils of *Salvia* and *Thymus* genera on tested microorganisms, including findings that gram-positive bacteria and fungi were more sensitive to the essential oils and their components than gram-negative bacteria. Carvacrol, 1,8-cineole and thymol were recorded as the most effective antimicrobial components. Antimicrobial activity was observed on some of the most resistant gram-negative bacteria, such as *P. aeruginosa*. Differences in chemical composition and antimicrobial activities were observed depending on geographic origin of plants, harvesting period, or the flowering pahse of plants as well as plant organs from which the essential oil was isolated.

Conclusion: The essential oils showed significant antimicrobial activity, however, additional well-designed studies that determine stability, toxicity and safe doses of these oils are required for further uses of these oils in food, cosmetic or pharmaceutical products.

Keywords: essential oil, antimicrobial activity, antibacterial activity, antifungal activity, *Salvia*, *Thymus*.

SADRŽAJ

SAŽETAK IV

SUMMARY V

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA 1

1.1. Definicija i kemijski sastav eteričnih ulja 1

1.1.1. Kemijski sastav eteričnog ulja biljne vrste *Salvia officinalis* L. 3

1.1.2. Kemijski sastav eteričnog ulja biljne vrste *Thymus vulgaris* L. 4

1.2. Svojstva i farmakološki učinci eteričnih ulja rodova S*alvia* L. i T*hymus* L. 4

1.3. Antibiotici i antimikrobna rezistencija 6

1.3.1. Najčešći patogeni mikroorganizmi s razvijenom antimikrobnom rezistencijom 9

1.4. Antimikrobni potencijal eteričnih ulja 12

2. CILJ ISTRAŽIVANJA 14

3. MATERIJAL I METODE 15

3.1. Pregled baze podataka 15

3.2. Pregled eteričnih ulja biljnih vrsta roda S*alvia* L. 15

3.2.1. Količina i kemijski sastav eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L. 15

3.2.1.1. Količina eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L. 22

3.2.1.2. Kemijski sastav eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L. 22

3.2.2. Antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L. 26

3.2.3. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L. 51

3.2.4. Antimikrobno djelovanje kemijskih sastavnica eteričnih ulja roda *Salvia* L. 60

3.3. Pregled eteričnih ulja biljnih vrsta roda Thymus L. 62

3.3.1. Količina i kemijski sastav eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* L. 62

3.3.1.1. Količina eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* L. 66

3.3.1.2. Kemijski sastav eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* L. 67

3.3.2. Antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta roda Thymus L. 69

3.3.3. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* L. 105

3.3.4. Antimikrobno djelovanje kemijskih sastavnica eteričnih ulja roda *Thymus* L. 114

4. RASPRAVA 117

5. ZAKLJUČAK 131

6. LITERATURA 132

7. ŽIVOTOPIS 144

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. Definicija i kemijski sastav eteričnih ulja

Eterična ili esencijalna ulja su smjese jače ili slabije hlapivih, lipofilnih sastavnica izoliranih iz biljaka ili biljnih dijelova. Aromatične biljke iz kojih se izoliraju eterična ulja su najzastupljenije u rodovima Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, Piperaceae, Rutaceae i Zingiberaceae. Osim rijetkih iznimaka eterična ulja su u biljnom organizmu slobodna. U nekim biljnim vrstama, kao u sjemenu gorkog badema ili crne gorušice, eterično ulje nije slobodno, nego glikozidno vezano, a oslobađa se tek nakon hidrolize. Svježe izolirana eterična ulja su bezobojne tekućine ili blijedožućkaste tekućine, a samo mali broj je obojen (npr. kamiličino ili klinčićevo eterično ulje). Potpuno su hlapiva i nemaju ostataka, dobro se miješaju s lipofilnim otapalima, kao što je apsolutni etanol, kloroform, eter, petroleter, benzen te masna ulja i tekući parafin. Topivost u vodi im je vrlo mala (1:200), ali ipak dovoljna da se mogu izrađivati aromatične vode (1).

Procjenjuje se da je poznato 3000 različitih eteričnih ulja, od kojih je oko 300 od komercijalne važnosti (2). Na području Europske unije eterična ulja se upotrebljavaju najprije u prehrambenoj industriji kao arome, zatim u proizvodnji parfema te farmaceutika zbog svojih farmakoloških djelovanja (2, 3). Dobivanje, odnosno izolacija eteričnih ulja, ovisi o količini i vrsti eteričnog ulja, kao i dijelu biljke od kojeg se ulje dobiva. Danas se primjenjuju tri destilacijska postupka pri industrijskom dobivanju eteričnih ulja (vodena, vodenoparna te parna destilacija), ali se radi i ekstrakcija pomoću organskih otapala te tiještenje biljnog materijala, primjerice kod citrusa (1). Različit način izolacije eteričnih ulja može rezultirati različitim organoleptičkim svojstvima ulja, odnosno razlikama u kemijskom sastavu i u farmakološkim djelovanjima, tako i u antimikrobnom djelovanju. Primjer za to je jače

antimikrobno djelovanje eteričnih ulja izoliranih heksanom naspram eteričnih ulja izoliranih vodenom destilacijom (4).

Eterična ulja su smjese od 20 do 200 kemijski različitih sastavnica, koje se mogu podijeliti prema koncentraciji u ulju na glavne sastavnice (20-95%), sastavnice u količini 1-20% i sastavnice u tragovima (manje od 1%). Vodeća sastavnica obično daje glavno obilježje eteričnom ulju, poput mirisa, kemijskih i fizikalnih svojstava ili farmakološkog djelovanja. Dosad je dokazano više od 3000 kemijskih spojeva kao sastavnica eteričnih ulja, a one se sastoje od različitih skupina organskih spojeva (alkani, alkeni, alkini, alkoholi, aldehidi, ketoni, karboksilne kiseline, esteri, eteri i laktoni) (1).

Iako su eterična ulja smjese organskih spojeva različitih funkcionalnih skupina, većina ih sadrži terpene (5). Terpeni su polimeri nastali kondenzacijom izoprenskih molekula. Monoterpeni ili jednostavni terpeni nastaju kao nezasićeni kondenzacijski produkt dviju izoprenskih jedinica i u strulturi imaju 10 ugljikovih atoma. Mogu biti aciklički (linalool, geraniol), monociklički (ugljikovodik limonen, fenol timol, keton menton) ili biciklički (ugljikovodik kamfen, alkohol (-)-borneol, keton kamfor). U eteričnim uljima je dosad nađeno više od 150 različitih monterpena. Seskviterpeni su nastali od triju izoprenskih jedinica, odnosno 15 ugljikovih atoma, a to su primjerice aciklički seskviterpen farnezol, monciklički bisabolen te biciklički α- kadinen (1). Diterpeni su nastali od četiriju izoprenskih jedinica, odnosno imaju 20 ugljikovih atoma. Primjer diterpenskih alkohola je sklareol iz muškatne kadulje (6).

Fenolne sastavnice u eteričnim uljima se smatraju glavnima odgovornima za antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja (7). Osim najzastupljenijih sastavnica u eteričnim uljima, presudnu važnost pri antibakterijskom djelovanju su pokazale i sastavnice prisutne u tragovima,

moguće zbog sinergističkog učinka s ostalim sastavnicama. Ovo je svojstvo dokazano i kod kadulje (8) i timijana (9).

1.1.1. Kemijski sastav eteričnog ulja biljne vrste *Salvia officinalis* L.

Biljna vrsta *S. officinalis* (ljekovita kadulja) sadrži 1-2,5% eteričnog ulja, čiji je kemijski sastav uvjetovan zemljopisinim porijeklom, ali i razvojnim stadijem, odnosno mjesecom branja biljke. Postotak eteričnog ulja ljekovite kadulje na hrvatskim prostorima je najveći u listovima kadulje ubrane u srpnju. Najzastupljenije sastavnice eteričnog ulja ljekovite kadulje su monoterpeni α- i β- tujon, a ostale su 1,8-cineol, (+)-kamfor, (-)-borneol i bornilacetat. Neka kaduljina ulja sadrže i fenole timol i karvakrol. Na temelju različitog udjela glavnih sastavnica ulja određuju se patvorine u deklariranoj kadulji. Dalmatinska kadulja i eterično ulje su vrlo cijenjeni na svjetskom tržištu, a njihova vrijednost se uglavnom temelji na visokom sadržaju tujona u eteričnom ulju lista. Prema svjetskim standardima kaduljino eterično ulje s udjelom tujona od 41,6-61,2% svrstava se u visokokvalitetna, a ulja s 22,0-39,7% tujona niskokvalitetna. Zanimljiv je podatak da je udio eteričnog ulja kaduljinih listova s otočnih staništa Hrvatske veći u uzocima iz unutrašnjosti otoka, nego u onima uz more. Temperatura u unutrašnjosti otoka može biti za nekoliko stupnjeva niža od temperature uz more i to može utjecati na količinu eteričnog ulja. Naime, dokazano je da na biosintezu eteričnog ulja utječe dužina dana, odnosno dokazana je ovisnost sastava eteričnog ulja o svjetlosti i temperaturi. Dosadašnja istraživanja pokazala su antiseptičko i baktericidno djelovanje eteričnog ulja dalmatinske kadulje. Antibakterijski učinak ovisi, uz ostale čimbenike, o koncentraciji ukupnog tujona, 1,8-cineola i kamfora (1).

1.1.2. Kemijski sastav eteričnog ulja biljne vrste *Thymus vulgaris* L.

Timijanov list sadržava 1,0-2,5% eteričnog ulja, u kojem su glavne fenolne sastavnice timol (36,0-55%) i karvakrol (1,0-4,0%). Osim eteričnog ulja u listu se nalaze flavonoidi (glikozidi apigenin i luteolin), fenolkarboksilne kiseline (klorogenska, kavena i ružmarinska) te triterpeni (ursolna i oleanolna kiselina). Udio fenolnih sastavnica timola i karvakrola u timijanovom eteričnom ulju je od 20 do 60%, a u različitim omjerima su zastupljeni i p-cimen, 1,8-cineol, linalool, (-)-borneol, geraniol i terpenski ugljikovodici. Njihov omjer ovisi o podrijetlu biljke, uvjetima uzgoja i vremenu berbe, a s promjenom sastava mijenja se i djelovanje eteričnog ulja. Kemijski sastav timijanova eteričnog ulja je zapravo vrlo promjenljiv i postoji najmanje sedam različitih kemotipova timijana. Timijanovo eterično ulje s visokim sadržajem timola i karvakrola (timolski tip) jako je antiinfektivno sredstvo, sprječava rast baketrija već u koncentraciji 1:3000. Tujanolski tip eteričnog ulja timijana jedno je od rijetkih eteričnih ulja koja pokazuju antimikrobno djelovanje na klamidiju, linaloolski tip je djelotvoran protiv *Candida albicans* i *Staphylococcus* vrsta, dok geraniolski tip ima široki spektar djelovanja protiv bakterija, virusa i gljivičnih infekcija. Ova četiri kemotipa timijana navodi Schnaubelt (1), dok Passatu navodi šest glavnih kemotipova, odnosno najzastupljenijih sastavnica timijanovog eteričnog ulja: timol, linalool, α-terpineol/terpenilacetat, geraniol/ geranilacetat, karvakrol i transtujenol-4 (6).

1.2. Svojstva i farmakološki učinci eteričnih ulja rodova S*alvia* L. i T*hymus* L.

Od srednjeg vijeka eterična ulja su se često upotrebljavala zbog svojih baktericidnih, fungicidnih, antiparazitskih i insekticidnih svojstava u medicinske i kozmetičke svrhe (5). Posljednjih desetljeća eterična ulja i različiti biljni ekstrakti ponovno dobivaju na važnosti te se ispituju kao potencijalna alternativa sredstvima za liječenje raznih infektivnih bolesti te za

konzerviranje hrane i zaštitu od štetnih posljedica oksidacije. Tako su eterična ulja često dio formulacija procesirane hrane, farmaceutskih pripravaka, komplementarne medicine te kozmetike (10). Posebno velika pažnja daje se prirodnim sredstvima za konzerviranje hrane i kozmetike s obzirom da su zabilježene brojne nuspojave od sintetskih antioksidansa, poput karcinogenih učinaka butiliranog hidroksitoluena (BHT) i butiliranog hidroksianisola (BHA) u pretkliničkim ispitivanjima (11, 12). S ovog stajališta meritorne institucije i potrošači su zabrinuti za sigurnost prehrambenih i kozmetičkih proizvoda te potencijalni učinak sintetskih aditiva na zdravlje (13).

U eteričnim uljima biljnih vrsta rodova *Salvia* L. i *Thymus* L. nalaze se brojni korisni sekundarni metaboliti, primjerice terpen i fenol, koji su od velikog interesa znanstvenicima diljem svijeta zbog svog farmakološkog djelovanja i moguće uporabe kao alternativa sredstvima za konzerviranje (14). Rodovima *Salvia* L. i *Thymus* L. pripadaju aromatične biljne vrste umjerenog, tropskog i suptropskog područja iz porodice Lamiaceae. Rod *Salvia* obuhvaća oko 900 vrsta diljem svijeta, što ga čini najbrojnijim rodom unutar porodice Lamiaceae. Među njima je najpoznatija ljekovita kadulja, *S. officinalis* L., koja posjeduje široki raspon bioloških i farmakoloških djelovanja (15). U tradicionalnoj medicini *Salvia* vrste su se upotrebljavale za liječenje reume, bronhitisa, tuberkuloze, psorijaze i ekcema (16), a pojedine vrste su se upotrebljavale i kod gubitka memorije (17). Dokazan je i njihov spazmolitički, adstringentni i antiseptički učinak (15), a zabilježena je i uporaba kod glavobolje, zubobolje, uobičajene prehlade, probavnih smetnji, kao i kod oralnih infekcija te cijeljenja vanjskih rana (18, 19, 20). Sve do otkrića antibiotika *Salvia* vrste su se redovno dodavale u čajne mješavine za pacijente s tuberkulozom, kroničnim bronhitisom ili kao sedativno sredstvo (21). Osim spomenutih, uz vrste *Salvia* se veže i antioksidativno,

antimutageno, antikarcinogeno, protuupalno djelovanje te antikolinesterinazno djelovanje (22).

Rod *Thymus* se sastoji od preko 200 vrsta, uglavnom rasprostranjenih u mediteranskom području. Među njima je najpoznatiji timijan (*Thymus vulgaris* L.), raširen u sjeverozapadnom dijelu Sredozemlja, koji se tradicionalno upotrebljava kao začinska biljka, čaj, ali i antiseptičko sredstvo u brojnim farmaceutskim formulacijama (23). Hibridizacijom unutar *Thymus* vrsta postignute su velike varijacije u prinosu eteričnih ulja, kemijskom sastavu i njihovim farmakološkim djelovanjima (24). Uz eterično ulje timijana se veže antiseptičko, ekspektoransno, karminativno i antispazmatsko djelovanje, što se primarno pripisuje sadržaju timola i njegovog izomera, karvakrola, koji imaju veću antibakterijsku i antifungalnu aktivnost od alkohola, a manje su toksičnosti (25). U farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji timol se rabi u vodama za usta, kremama, dezodoransima, pastama za zube te brijaćim sapunima. Timol djeluje bakteriostatski i fungicidno na kvasnice i plijesni, zbog čega se rabi i kod liječenja gljivičnih bolesti kože, kao i konzervans u kliničkim laboratorijima (1).

1.3. Antibiotici i antimikrobna rezistencija

Otkriće antibiotika i njihovo uvođenje u široku kliničku praksu 1940-ih godina je bitno promijenilo terapiju zaraznih bolesti te je omogućilo i razvoj invazivnih kirurških zahvata i radikalnih imunosupresivnih terapija. Međutim, uspjeh antibiotske terapije često kompromitira pojava rezistencije bakterija na antibiotike (26). Rezistencija bakterija na antibiotike nastaje genetskim promjena na bakteriji prilikom čega nastaju novi proteini koji mogu inaktivirati antibiotik ili ga moraju izbaciti van bakterije. Danas postoje i *multiplo rezistentne* bakterije, odnosno bakterije rezistentne na nekoliko različitih antibiotika. Cijeli rodovi bakterija su postali otporni na najstarije antibiotike i kemoterapeutike, poput

penicilina ili sulfonamida. Razlozi nastanka rezistencije su razni, a među njima je i široka uporaba antibiotika iz preventivnih razloga u uzgoju životinja, propisivanje antibiotika bez izolacije bakterije uzročnika bolesti i bez izrade antibiograma, nepotpuna terapija (antibiotik u premaloj dozi ili prekratko trajanje terapije) te pretjerano prepisivanje antibiotika i samostalno konzumiranje bez konzultacije s liječnicima (6).

Dok antibiotska rezistencija podrazumijeva otpornost bakterija uzročnika infekcija na antibiotike, *antimikrobna rezistencija* je širi pojam i uključuje otpornost drugih organizama na protuinfektivne lijekove, poput parazita (malarija), virusa (HIV) te gljivica (kandidijaza) (27). Bolesti uzrokovane mikroorganizmima predstavljaju jedan od glavnih uzorka smrtnosti u svijetu, posebno u zemljama u razvoju. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) infekcije donjih respiratornih organa četvrti su vodeći uzrok mortaliteta, a infekcije probavnog trakta i druge bolesti praćene dijarejom zauzimaju šesto mjesto (28). Procjene SZO pokazuju morbiditet od 55 milijuna ljudi diljem svijeta u 2011. godini, pri čemu su uzrok jedne trećine smrti bile infektivne bolesti. Situaciju pogoršava sve veći broj patogenih mikroorganizama rezistentnih na antiobiotsku terapiju, stoga je antibiotska rezistencija postala javnozdravstveni problem i okretanje prema inovativnim antimikrobnim sredstvima je od navjećeg društvenog značaja (29).

European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) definira bakterije kao *mikrobiološki rezistentne* ako posjeduju neki mehanizam rezistencije koji se može genotipski ili fenotipski iskazati, dok se *kliničkom rezistencijom* smatra situacija kada je malo vjerojatno da će infekcija biti suzbijena čak i maksimalnim količinama antibiotika (EUCAST, 2000). Prema US National Commitee for Clinical and Laboratory Standards (NCCLS) *rezistentne bakterije* su one koje ne mogu biti inhibirane sistemskom koncentracijom antibiotika koja se

postiže nakon primjene standardne doze tog lijeka i/ili pokazuje minimalnu inhibitornu koncentraciju (MIK) koja upućuje na prisutnost specifičnog mehanizma rezistencije i klinički učinak toga antibiotika nije pouzdan. Dilemu koji soj smatrati rezistentnim, a koji osjetljivim na neki antibiotik dodatno komplicira činjenica da stručna društva u različitim zemljama određuju različite koncentracije prema kojima se izolati dijele u kategorije rezistentnih, intermedijarnih i osjetljivih izolata (26). Bakterije mogu biti urođeno (intrinzično) rezistentne na neke antibiotike, a tipičan primjer bakterije koja je urođeno rezistentna na mnoge antibiotike je *Pseudomonas aeruginosa*. Osim urođene rezistencije u mnogih bakterija razvija se stečena rezistencija, koju potiču tri osnovna činitelja: 1. mutacije u bakterijskom genomu; 2. izmjena genetskog materijala među bakterijama; 3. selekcija rezistentnih sojeva zbog velike prisutnosti antibiotika u okolišu (ljudskim i životinjskim domaćinima te biljkama) (30).

Već je odavno postalo jasno da se empirijska terapija infektivnih bolesti ne može zasnivati samo na poznavanju očekivanog uzročnika. Današnji mikroorganizmi nemaju više lako predvidivu osjetljivost na antibiotike, već je neophodno dobro poznavati razinu i mehanizme rezistencije koji kruže u određenoj sredini (26). Rezistencija bakterija na antibiotike se razlikuje u različitim područjima svijeta, pa i različitim dijelovima jedne zemlje, te napokon na različitim odjelima jedne te iste bolnice (31). Svjetska zdravstvena organizacija je suzbijanje rezistencije uvrstila u svoje prioritete, a Europska komisija je pokrenula dva internacionalna projekta, European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) i European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC), koji proučavaju proširenost rezistencije i način uporabe antibiotika u pojedinim europskim zemljama (26). U Hrvatskoj je 1996. pri Akademiji medicinskih znanosti osnovan Odbor za praćenje rezistencije bakterijskih vrsta na

antibiotike u RH koji kontinuirano prati osjetljivost najčešćih bakterijskih vrsta u različtim regijama zemlje (32).

Brojna znanstvena istraživanja su pokazala kako biljke imaju visoki potencijal za sintezom raznih antimikrobnih spojeva (33), koji im koriste kao obrambeni mehanizmi protiv raznih abiotičkih (UV zračenje, suša, visoke ili niske temperature, previsoka slanost tla) i biotičkih stresova (mikroorganizmi, insekti, herbivori) (34).

1.3.1. Najčešći patogeni mikroorganizmi s razvijenom antimikrobnom rezistencijom

Prema izvješću Svjetske zdravstvene organizacije o globalnom statusu antimikrobne rezistencije na najčešće rabljene lijekove kod infekcija, iz 2014. godine, od međunarodne važnosti su najprije *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Salmonella* i *Shigella vrste, Neisseria gonorrhoeae* te *Candida albican*s. *E. coli* je dio normalne crijevne flore ljudi i životinja. Ipak, ova gram negativna bakterija je najčešći uzročnik infekcija mokraćnog trakta, uključujući i infekciju bubrega. Nadalje, najčešći je uzročnik trovanja krvi ili sepse, veže se uz infekcije unutrašnjosti abdomena, poput peritonitisa, a uzrok je i meningitisa te jedan od glavnih uzročnika infekcija uzrokovanih kontaminiranom hranom. Infekcije *E. coli* se obično prenose sa zaražene osobe, ali sojevi visoke otpornosti mogu se prenijeti i putem prehrambenog lanca (35).

Poput *E. coli*, gram negativne bakterije *Klebsiella* roda često nastanjuju crijeva ljudi i životinja, ali često mogu izazvati i infekcije. Infekcije s *K. pneumoniae* su posebno česte u bolnicama kod osjetljivih pojedinaca, poput nedonoščadi ili pacijenata s oslabljenim imunološkim odgovorom, dijabetesom ili kod zlouporabe alkohola, kao i kod intenzivne medicinske skrbi. Najuobičajnije su infekcije mokraćnih i dišnih puteva, a kod nedonoščadi i

trovanje krvi. Poput drugih bakterija *i K. pneumoniae* se brzo širi među pacijentima i redovna je pojava na odjelima intenzivne i neonatalne skrbi (35).

S. aureus je gram pozitivna bakterija koja može biti dio normalne flore kože i nosa, ali je jedan od najvažnijih ljudskih patogena. Može biti uzročnikom raznih infekcija, a najčešće kože, mekih tkiva, kosti i krvi. Ona je također česti uzročnik postoperativnih infekcija, a neki sojevi *S. aureus* proizvode toksine koji mogu dovesti do specifičnih simptoma, poput sindroma toksičnog šoka ili trovanja hranom.

Gram pozitivna bakterija *S. pneumoniae* je diljem svijeta vodeći uzrok upale pluća, koja je među glavnim uzročnicima smrti djece ispod 5 godina starosti. Ostale bolesti koje *S. pneumoniae* uzrokuje obuhvaćaju uobičajane infekcije, poput upale srednjeg uha, ali i invazivne bolesti visoke stope smrtnosti, poput meningitisa. Klinička učestalost infekcije je najveća među najmlađom i najstarijom populacijom pacijenata. Među bakterijskim uzročnicima meningitisa *S. pneumoniae* je povezana s najviše slučajeva smrtnosti, odnosno s trajnim simptomima bolesti (35).

Gram negativne bakterijske vrste roda *Salmonella* su diljem svijeta glavni uzročnici tzv. trovanja hranom, odnosno infekcija nastalih kao posljedica konzumacije kontaminirane hrane. Prirodno se nalazi u crijevnoj flori životinja i prenosi se putem prehrambenog lanca, najčešće konzumacijom kontaminirane vode ili hrane životinjskog porijekla, primjerice putem nedovoljno skuhanog mesa, jaja ili mlijeka. Ljudskim ili životinjskim fekalijama može se zaraziti povrće i dovesti do šire zaraze. Većina *Salmonella* sojeva uzrokuje gastroenteritis, dok su pojedini sojevi, konkretno *S. enterica Typhi ili Paratpyhi*, invazivniji i uzročnici su enterične groznice. Enterična groznica je jedna od ozbiljnijih infekcija zbog visoke rezistencije bakterija na primjenjene antibiotike u mnogim dijelovima svijeta (35).

Rodu *Shigella* pripadaju gram negativne bakterije, uzročnici dijareje i dizenterije diljem svijeta. Prenose se konzumacijom kontaminirane vode ili hrane ili putem kontakta sa zaraženom osobom. Šigeloza je primarno bolest siromašnih i gusto naseljenih društava, koja nemaju adekvatnu sanitaciju ili vodu sigurnu za konzumaciju. *Shigella* nije dio normalne ljudske flore te je ingestija tek nekoliko tih mikroorganizama dovoljna da se razviju simptomi bolesti. Većina pacijenata se oporavi bez komplikacija u roku od sedam dana, ali šigeloza može biti i fatalna ili opasna po život kod male djece. Procjenjuje se da *Shigella* godišnje diljem svijeta zarazi oko 165 milijuna ljudi, od čega je preko 100 milijuna u zeljama u razvoju, a preko 1 milijuna ljudi godišnje umre od ove bolesti. Najviša stopa infekcija i najviša stopa smrtnosti je kod djece ispod 5 godina.

N. gonorrhoeae je gram negativna bakterija uzročnik gonoreje, akutne infekcije reproduktivnog trakta, koja se prenosi isključivo spolnim putem. Ako se pravovremeno ne liječi, može rezultirati ozbiljnim kopmlikacijama, upalom i oštećenjem reproduktivnog trakta, ili čak neplodnošću. Posebno je opasna za trudnice zbog mogućih infekcija očiju kod novorođenčadi, koja može dovesti čak i do sljepoće (35).

Candida albicans je patogena gljivica, uzročnik infekcija kandidijaza, koje imaju visoke stope morbiditeta i mortaliteta. 20 različitih vrsta unutar *Candida* roda su uzročnici infekcija i pokazuju visoku rezistenciju na klasične, ali i nove vrste antimikotika. Invazivna kandidijaza je glavni problem kod pacijenata na antibakterijskoj terapiji, intenzivnoj skrbi, imunosupresivnoj terapiji ili kod nedonoščadi. *Candida* se nalazi normalno u ustima, probavnom traktu i rodnici, ali njeno umnožavanje dovodi do upale koja može uzrokovati promjenu normalne flore. Zbog toga je posebno opasno kada se kandidijaza pojavi nakon prethodne uporabe antibiotika (35). U literaturi se među najrezistentnije bakterijske vrste ubraja i gram negativna vrsta *Pseudomonas aeruginosa*. *P. aeruginosa* izaziva infekcije kože

nakon ozlijeda te urinarne infekcije, što je posebno veliki problem kod ljudi koji imaju urinarni kateter, kao i kod imunosuprimiranih pojedinaca (6).

1.4. Antimikrobni potencijal eteričnih ulja

Kao dio modernog trenda prema „prirodnim“ aditivma i konzervansima antimikrobne sastavnice iz biljaka danas postaju alternativa sintetskim konzervansima (36). Biljke proizvode razne molekule za obranu od patogenih mikroorganizama, nastajale tijekom stotina milijuna godina evolucijskog odabira. Među njima očuvale su se molekule koje su bile najaktivnije protiv bakterija, odnosno protiv kojih bakterije nisu uspjele razviti rezistenciju (6).

Antimikrobna svojstva eteričnih ulja prepoznata su od davnina te su se upotrebljavala kao prirodna sredstva u farmaciji, fitopatologiji, medicini, kliničkoj mikrobiologiji te za konzerviranje hrane (36). Do 13. stoljeća farmakološka djelovanja eteričnih ulja već su bila zapisana u farmakopejama (3), ali njihova uporaba nije se proširila Europom sve do 16. stoljeća. Prema francuskom liječniku Du Chesne (Quercetanus) u 17. stoljeću proizvodnja eteričnih ulja je bila dobro poznata i svaka ljekarna je imala barem 15-20 pohranjenih eteričnih ulja (37). Uporaba eteričnog ulja čajevca u medicinske svrhe je zabilježena nakon kolonizacije Australije krajem 18. stoljeća, ali moguće je i da su ga domoroci Australije već i prije upotrebljavali (38). Prvo znanstveno ispitivanje baktericidnih svojstava para eteričnih ulja je proveo De la Croix 1881. godine (39).

Razlog zbog kojeg bakterije nisu uspjele razviti rezistenciju na eterična ulja leži u činjenici da su eterična ulja smjese tvari različitih mehanizama djelovanja, za razliku od antibiotika, gdje se radi samo o jednoj aktivnoj tvari protiv kojih bakterija treba razviti rezistenciju. Postoji

nekoliko mehanizama za koje se pretpostavlja da bi mogli pridonjeti učinku eteričnih ulja: 1. direktno mikrobicidno djelovanje, što se postiže uglavnom većim dozama ulja; 2. inhibitorno djelovanje na proliferaciju (u nižoj dozi eterična ulja sprječavaju razmnožavanje bakterija, ali ih ne ubijaju te se na taj način pomaže imunološkom sustavu da sam izliječi infekciju); 3. smanjujući patogeni potencijal bakterije (u još nižim dozama eterično ulje ometa čimbenike koji pomažu razmnožavanje bakterija u tkivima, primjerice produkciju sluzi kojom se lijepe za tkivo); 4. djelujući stimulirajuće na imunološki sustav, odnosno smanjujući pretjeranu upalu koja oštećuje tkivo; 5. djelujući na cijeli organizam tako da pomažu u funkcioniranju organskih sustava za izlučivanje; 6. djelujući na središnji živčani sustav, smanjujući depresivna raspoloženja, koja nastaju kao posljedica kroničnih infekcija (6).

Veliki broj istraživanja je izvijestio da antibakterijski učinak eteričnog ulja ovisi o kemijskom sastavu na kojeg utječe izloženost temperaturi, svjetlosti i zemljopisno porijeklo biljke. Što se *S. officinalis* tiče, bolje antimikrobno djelovanje imala su eterična ulja s većim sadržajem tujona, 1,8-cineola i kamfora (1). *T. vulgaris* kemotip timol i karvakrol imaju jako mikrobicidno i agresivno djelovanje te se rabe (rektalno, dermalno) u tretmanu infektivnih bolesti i kod oslabljenog imuniteta i umora. Upotrebljavaju se u malim dozama ako se nanose na kožu, dok se oralno smiju upotijebiti samo u iznimnim slučajevima. *T. vulgaris* kemotip linalool također djeluje jako mirkobicidno, ali je blaži od kemotipa timol i karvakrol. Aktivan je i kod gljivica, poput *Candida* roda. Upotrebljava se kod tretiranja dišnih infekcija (dermalno, inhalacijski), urinarnih infekcija (dermalno, katkad oralno) te kod gljivičnih infekcija u probavnom traktu (oralno). Kemotip geraniol djeluje dobro na patogene gljivice, *Candida*, *Trichosphyton*, *Microsporum* te plijesni *Aspergillus*. Rabi se kod gljivičnih i bakterijskih infekcija kože (dermalno) te infekcija urinarnog sustava (dermalno, rijetko

oralno). Kemotip tujenol-4 djeluje specifično na bakterije roda *Chlamydia* te se upotrebljava kod klamidijalnih infekcija (dermalno, vaginalnim putem, oralno) (6).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Unatoč impresivnom razvoju suvremene medicine, bolesti uzrokovane mikroorganizmima predstavljaju jedan od glavnih uzroka smrtnosti u svijetu. Iako danas postoje antibiotici i drugi antimikrobni lijekovi kojima se suvremena medicina bori protiv infektivnih bolesti, sve veća rezistencija mikroorganizama na postojeće terapeutike razlog je kontinuiranog ulaganja u razvoj novih molekula s antimikrobnim svojstvima. Osim u zdravstvu, ovaj izazov je prisutan u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji, gdje se javlja potreba za inovativnim, djelotvornim i sigurnim konzervansima. Pri tome brojni istraživači usmjeravaju svoj rad prema tradicionalnim ljekovitim biljnim vrstama kao izvoru novih molekula s antimikrobnim djelovanjem. Također, zbog sve većeg interesa zdravstvenih djelatnika i pacijenata za komplementarnim načinima liječenja, uporaba eteričnih ulja ponovno doživljava svoju afirmaciju. Pri tome je važno poznavati doseg farmakološkog djelovanja i učinkovitost eteričnih ulja. Stoga je cilj ovog specijalističkog rada bio sustavni pregled i usporedba kemijskog sastava i antimikrobnog djelovanja eteričnih ulja što većeg broja biljnih vrsta rodova *Thymus* L. i *Salvia* L. zastupljenih diljem svijeta.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Pregled baze podataka

Za potrebe pisanja ovog specijalističkog rada pretražene su sljedeće baze podatka: Medline, Scopus, Science Direct i Wiley Online Library. Za pretraživanje su korištene sljedeće ključne riječi: *essential oil*, *antimicrobial activity*, *antifungal activity*, *antibacterial activity* te *Thymus* i *Salvia*. Pretraživanje je obuhvatilo polja Sažetak, Naslov rada i Ključne riječi. Obrađeni radovi ograničeni su na izvorne znanstvene radove na engleskom jeziku. Sva istraživanja koja su odgovarala navedenim kriterijima uvrštena su u ovaj pregled neovisno o datumu njihove objave. Nadalje, prilikom pretraživanja uključeni su i odgovarajući filteri: *Document type* (Article); *Languages* (English); *Subject Areas* (Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics; Life Sciences; Health Sciences).

3.2. Pregled eteričnih ulja biljnih vrsta roda S*alvia* L.

3.2.1. Količina i kemijski sastav eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L.

Obrađeno je 19 znanstvenih radova koji su obuhvatili podatke o količini i kemijskom sastavu eteričnih ulja 20 biljnih vrsta roda *Salvia.* Ispitivanja su obuhvatila vrste iz Azije, Europe te Afrike. Najveći broj analiziranih biljnih vrsta bio je prikupljen na području Turske (9 vrsta), zatim na području Irana (4 vrste), Južnoafričke Republike (3 vrste), Libanona (2 vrste), Poljske (1 vrsta), Pakistana (1 vrsta), Saudijske Arabije (1 vrsta) te Srbije (1 vrsta) (Tablica 1). Eterično ulje iz suhog biljnog materijala je najčešće bilo izolirano vodenom destilacijom i analizirano kombinacijom plinske kromatografije i masene spektroskopije. Jedino su u radovima Al-Howirnyja i suradnika te Nadir i suradnika eterična ulje *S. palaestina* i *S. santolinifolia* bila izolirana iz svježeg biljnog materijala (47, 50).

Količina i kemijski sastav eteričnih ulja ovise o klimatskim, sezonskim i zemljopisnim uvjetima, razdoblju branja i tehnici destilacije (8, 41, 42). U Tablici 1 prikazan je kratki pregled kemijskog sastava i zemljopisnog porijekla biljnih vrsta iz roda *Salvia* L. obuhvaćenih ovim radom.

Tablica 1**.** Pregled kemijskog sastava eteričnih ulja i porijekla biljnih vrsta iz roda *Salvia* L. obuhvaćenih ovim radom

Biljna vrsta	Porijeklo biljnog materijala	Prinos eteričnog ulja (%)	Broj izoliranih sastavnica	Zastupljenost sastavnica (% ulja)	Najzastupljenije sastavnice	Literatura
S. aramiensis Rech.	Turska	0.76	51	98,5	1,8-cineol (46,0%), β-pinen (10.3%), kamfor (8,7%)	(43)
S. aucheri var. *aucheri* Benth.	Turska	0.59	41	97,2	1,8-cineol (30,5%), kamfor (21,3%) i (-)-borneol (8,50%)	(43)
S. bracteata Banks et Sol.	Libanon	0,22	75	94,2	kariofilen oksid (16,6%), β-kariofilen (4,1%), pulegon (3,9%), terpinen-4-ol (3,8%), α-kopaen (3,4%), α-kubeben (2,8%), β-pinen (2,3%)	(21)
S. cedronella Boiss.	Turska	0,08	92	96,1	1,8-cineol (13,3%), α-pinen (10,1%), kariofilen oksid (9,8%), sabinen (7,3%)	(44)
S. chloroleuca L.	Iran	0,3	34	98,5	β-pinen (10,6%), α-pinen (9,0%), β-kariofilen (9,0%), germakren D (6,4%)	(45)
S. dicroantha Stapf.	Turska	0,04	- [a]	-	kariofilen oksid (22.4%), palmitinska kiselina (18.3%), fitol (5.6%), kariofilenol II (5.5%)	(46)

Tablica 1. (nastavak)

Biljna vrsta	Porijeklo biljnog materijala	Prinos eteričnog ulja (%)	Broj izoliranih sastavnica	Zastupljenost sastavnica (% ulja)	Najzastupljenije sastavnice	Literatura
S. hydrangea DC ex. Benth.	Iran	0,1	- [a]	-	β-kariofilen (25,1%), 1,8-cineol (15,2%), kariofilen oksid (11,5%), α-pinen (5,5%), (-)-borneol (5,2%)	(15)
S. mirzayanii Rech. f. & Esfand.	Iran	0,8	- [a]	-	α-terpinenilacetat (22,6%), 1,8-cineol (21,2%), linalool (8,9%), linalilacetat (5,4%), γ-kardinen (5,2%)	(15)
S. palaestina Benth.	Saudijska Arabija	0,66 [b]	34	97,1	sklareol (26,8%), β-kariofilen (16,9%), linalool (7,8%), guaiol (5,4%), 1,8-cineol (5,2%)	(47)
S. pilifera Montbret & Aucher ex Benth.	Turska	0,83	83	98,2	tujon (36,1%), α-pinen (13,8%)	(43)
S. przewalskii Maxim. (*in vitro*)	Poljska	0,29 [c] 0,04 [d]	80 [c] 81 [d]	99,2 [c] 97,8 [d]	[c] β-felandren i limonen (23.6%), (-)-borneol acetat (8,2%), (-)-borneol (7,8%), α- pinen (6,4%) [d] β-felandren i limonen (25,5%), α-pinen (15,1%), β-kariofilen (13%), bornil acetat (5,6%)	(48)

Tablica 1. (nastavak)

Biljna vrsta	Porijeklo biljnog materijala	Prinos eteričnog ulja (%)	Broj izoliranih sastavnica	Zastupljenost sastavnica (% ulja)	Najzastupljenije sastavnice	Literatura
S. przewalskii Maxim. (*in vivo*)	Poljska	0,59 [c] 0,26 [d]	77 [c, d]	99,9 [c] 99,2 [d]	[c, d] β-felandren i limonen (36,1%) [c] α-pinen (16,9), β-kariofilen (7,1) [d] α-pinen (21,4%), β-kariofilen (6,4%)	(48)
S. repens Burch. ex Benth.	Južnoafrička Republika	-	55	98	β-felandren (22,2%), β-kariofilen (12,4%), limonen (9,8%), kamfor (6,9%)	(49)
S. rubifolia Boiss.	Libanon	0,21	56	95,7	γ-murolen (11,8%), α-pinen (7,1%), trans-pinokarvilacetat (5.5%), α-tujon (5,1%), p-cimen (3,4%)	(21)
S. runcinata L.	Južnoafrička Republika	-	73	96	α-bisabolol (41,1%), β-kariofilen (11,4%), kariofilen-oksid (6,9%), (E)-nerolidol (6,8%)	(49)
S. santolinifolia Boiss.	Iran	0,5	- [a]	-	α-pinen (72,4%), β-pinen (6,6%), limonen (5,3%), (-)-borneol (2,5%)	(15)

Tablica 1. (nastavak)

Biljna vrsta	Porijeklo biljnog materijala	Prinos eteričnog ulja (%)	Broj izoliranih sastavnica	Zastupljenost sastavnica (% ulja)	Najzastupljenije sastavnice	Literatura
S. santolinifolia Boiss.	Pakistan	0,16 [b]	116	97,15	α-pinen (13,86%), kariofilen oksid (4,38%), β-kariofilen (3,81%)	(50)
S. sclarea L.	Srbija	-	34	98,94	linalilacetat (52.83%), linalool (18.18%), α-terpineol (5%), α-pinen (4.57%), 1.8-cineol (2.29%)	(51)
S. stenophylla Burch. ex Benth.	Južnoafrička Republika	-	59	94,8	δ-3-karen (18,4%), manool (10,1%), α-bisabolol (8,2%), β-kariofilen (7,3%) i kamfor (6,0%)	(49)
S. tomentosa Mill.	Turska	0,31	116	99,41	β-pinen (37,28%), α-pinen (5,73%), trans-pinokarveol (3,05%), mirtenol (2,81%), kariofilen oksid (2,68%)	(52)
S. tomentosa Mill.	Turska	0,8	44	88,7	1,8-cineol (17%), β-kariofilen (11,1%), ciklofenhen (10,3%) i δ-kadinen (6,7%)	(40)

Tablica 1. (nastavak)

Biljna vrsta	Porijeklo biljnog materijala	Prinos eteričnog ulja (%)	Broj izoliranih sastavnica	Zastupljenost sastavnica (% ulja)	Najzastupljenije sastavnice	Literatura
S. verticillata L. *subsp. amasiaca* Bornm.	Turska	0,04	- [a]	-	germakren D (36,6%), β-kariofilen (7,6%), palmitinska kiselina (6,7%), β-kopen (5,7%)	(46)
S. wiedemannii Boiss.	Turska	0,27	- [a]	-	α-pinen (36,2%), 1,8-cineol (14,2%), β-pinen (13,3%), kamfor (7,4%) i p-cimen (5,4%)	(46)

([a]) U radu su navedene samo najzastupljenije sastavnice; ([b]) Eterično ulje je izolirano iz svježeg biljnog materijala; ([c]) Eterično ulje lista biljke ([d]) Eterično ulje cvijeta biljke

3.2.1.1. Količina eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L.

U većini istraživanja obuhvaćenih ovim radom prinos eteričnih ulja ispitivanih biljnih vrsta roda *Salvia* bio je izražen u postocima, u rasponu od 0,04 do 0,83% (računato na suhi biljni materijal). Jedino su iz biljnog materijala *S. palaestina* prikupljenog na području Saudijske Arabije te iz *S. santolinifolia* prikupljenog na području Pakistana eterična ulje izolirano iz svježeg biljnog materijala, a dobiveni prinosi iznosili su je 0,66% (47), odnosno 0,16% (50). Najmanji prinos (0,04%) je dobiven iz biljne vrste *S. dicroantha* prikupljene na području Turske (46), a najveći prinos (0,83%) iz biljne vrste *S. pilifera* također iz Turske (43). Razlike u količini eteričnih ulja zabilježene su i kod iste biljne vrste različitog zemljopisnog porijekla. Primjerice, *S. santolinifolia* iz Irana je dala prinos od 0,5% eteričnog ulja (15), dok je ista biljna vrsta iz Pakistana dala 0,16% eteričnog ulja (50). Razlike u količini eteričnog ulja zabilježene su kod iste biljne vrste prikupljene na sličnom području ukoliko su biljke prikupljene u različitom vremenu; primjerice za materijal *S. tomentosa* prikupljen na području Turske tijekom srpnja 2010. godine Ulukanli i suradnici (52) su odredili prinos od 0,31% eteričnog ulja, dok su Haznedaroglu i suradnici (40) odredili 0,8% eteričnog ulja za materijal prikupljen u Turskoj u svibnju 1999. godine. Osim pedoloških razlika, razlike u prinosu eteričnih ulja mogu se objasniti i različitim fazama cvatnje biljaka (53).

3.2.1.2. Kemijski sastav eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L.

Sastav eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* varirao je s obzirom na udio pojedinih sastavnica među različitim biljnim vrstama, ali i unutar iste vrste različitog zemljopisnog porijekla. Za biljne vrste iz roda *Salvia* obuhvaćene ovim radom pokazana je dominacija monoterpenskih ugljikovodika, oksigeniranih monoterpena, seskviterpenskih ugljikovodika te oksigeniranih seskviterpena.

Glavni predstavnici monoterpenskih ugljikovodika su bili α- i β-pinen, a osim njih p-cimen, kamfen, ciklofenhen, β-felandren, δ-3-karen i sabinen. Koncentracije α–pinena su se razlikovale u pojedinim biljnim vrsta, a u najvećem udjelu od 72,4% bio je zastupljen u eteričnom ulju biljne vrste *S. santolinifolia* prikupljene u Iranu.

Karakterističan predstavnik oksigeniranih monoterpena bio je 1,8-cineol, a osim njega često su bili identificirani i linalool, (-)-borneol, linalilacetat, kamfor, tujon, pinokarveol, mirtenol, pulegon, terpinen-4-ol, γ-murolen, α-terpineol te (E)-nerolidol. Najveća količina 1,8-cineola od 46,0% zabilježena je u eteričnom ulju *S. aramiensis* prikupljene u Turskoj.

Najčešće identificirani seskviterpenski ugljikovodici su bili β-kariofilen i germakren D, a osim njih značajni su bili i kardinen, β-kubeben, α-kopaen te β-kopaen. β-kariofilen je u najvećem udjelu od 25,1% pronađen u eteričnom ulju *S. hydrangea* prikupljene u Iranu, dok je najviše germakrena D, u udjelu od 36,6%, bilo u eteričnom ulju *S. verticillata* subsp. *amasiaca* prikupljene na području Turske (46).

Među oksigeniranim seskviterpenima najznačajniji predstavnici bili su β-kariofilen oksid (u najvećem udjelu od 22,4% u eteričnom ulju vrste *S. dicroantha* prikupljene u Turskoj), zatim γ-murolen, α-bisabolol te kariofilenol II. Osim spomenutih, među najzastupljenijim sastavnicama identificirane su i sklareol, fitol i manol kao predstavnice diterpena te palmitinska kiselina kao jedina karboksilna kiselina pristuna u značajnoj mjeri (46). Diterpeni su u većem udjelu bili identificirani u eteričnom ulju biljnih vrsta *S. palaestina* (sklareol, 26,8%) prikupljene na području Saudijske Arabije te *S. stenophylla* (manol, 10,1%) i *S. dicroantha* (fitol, 5,6%) prikupljenih na području Turske. Palmitinska kiselina bila je identificirana u eteričnim uljima dviju biljnih vrsta prikupljenih u Turskoj, *S. dicroantha* i *S. verticillata* subsp. *amasiaca* (46).

Razlike u zastupljenosti sastavnica iste biljne vrste različitog zemljopisnog porijekla bile su uočljive na primjeru biljne vrste *S. santolinifolia.* Sonboli i suradnici (15) su kao glavne sastavnice eteričnog ulja *S. santolinifolia* iz Irana odredili α-pinen u udjelu od 72,4%, zatim β-pinen, limonen te (-)-borneol, dok su Nadir i suradnici (50) u eteričnom ulju *S. santolinifolia* iz Pakistana identificirali α-pinen u znatno manjem udjelu od 13,86%, a osim njega pronađeni su i kariofilen oksid, (*E,E*)-farnezol, β-kariofilen te (*Z,E*)-farnezol. S druge strane Nadir i suradnici (50) su u materijalu vrste *S. santolinifolia* pronašli 39 sastavnica, od kojih su 22 prvi puta identificirane kao sastavnice eteričnih ulja roda *Salvia* uopće. Neke od njih bile su oleinska kiselina, potencijalni inhibitor sinteze kolesterola i masnih kiselina (54), zatim tujopsen, koji se pokazao uspješnim u odbijanju glodavaca (55) te neocembren A, koji se u obliku feoromona nalazi u termitima i može potaknuti razne biološke aktivnosti (56). I drugi literaturni podaci su pokazali da je vrsta *S. santolinifolia* bila α-pinen kemotip (57, 58).

Usporedba eteričnog ulja biljne vrste *S. bracteata* prikupljene u jugoistočnoj Turskoj (59) i Libanona (21) pokazala je značajne razlike između uzoraka, unatoč tome što je kariofilen oksid bio glavna sastavnica za oba ulja. Što se eteričnog ulja *S. bracteata* iz Irana tiče kariofilen oksid nije bio glavna sastavnica, nego su u većoj mjeri bili zastupljeni monoterpeni (60). Razlike između eteričnih ulja iste biljne vrste različitog zemljopisnog porijekla bile su vidljive i usporedbom analize eteričnog ulja vrste *S*. *sclarea* iz Srbije s podacima za istu biljnu vrstu iz Italije. Dok su za eterično ulje iz Srbije glavne sastavnice bile linalilacetat, linalool, α-terpineol i α-pinen (51), u eteričnom ulju vrste *S*. *sclarea* iz Italije dominantne sastavnice bile su linalool, linalilacetat, geranilacetat i trans-β- ocimen (61).

Također, razlike su bile vidljive u kemijskom sastavu iste biljne vrste, *S. tomentosa*, prikupljene na istom zemljopisnom području Turske. Haznedaroglu i suradnici (53) su kao najzastupljenije sastavnice eteričnog ulja *S. tomentosa* odredili 1,8-cineol (17%), β-kariofilen,

ciklofenhen te δ-kadinen, dok su Ulukanli i suradnici (55) odredili β-pinen (37,28%), α-pinen te trans-pinokarveol kao dominante sastavnice. Prema drugim literaturnim podacima, Tepe i suradnici (62) su za eterično ulje vrste *S. tomentosa* prikupljene na području Turske odredili β-pinen u udjelu od 39,7% te α-pinen i kamfor kao dominantne sastavnice, dok su Al-Bakri i suradnici (75) pronašli te iste sastavnice, ali u manjoj količini. Razlike u sastavu eteričnog ulja, čak i iste biljne vrste, mogu biti posljedica abiotskih faktora, kao što su klimatski, sezonski, zemljopisni ili biološki faktori, npr. genotipske varijacije (17).

Istraživanje koje su proveli Skałe i suradnici (48) je bilo zanimljivo po tome što su znanstvenici analizirali i usporedili sastav eteričnog ulja lista i cvijeta biljne vrste *S. przewalski* dobivene mikropropagacijom (*in vitro*) te su rezultate usporedili s uobičajeno uzgojenom biljkom (*in vivo*). Iako su sva ispitivana ulja bila karakterizirana prisustvom zajedničkih glavnih sastavnica, poput β-felandrena i limonena, ipak su bile uočljive razlike kvalitativne i kvantitativne, ponajprije u udjelu seskviterpena (Tablica 1). Također, većina ugljikovodika s eudezmanskom strukturom, γ-kadinen i (e)-nerolidol bila je identificirana samo u eteričnim uljima iz *in vitro* regeneriranih biljkaka. S druge strane, neke sastavnice, poput (Z, Z)- i (E, E)-α-farnezena, γ-kurkumena i α-murolena identificirane su samo u eteričnim uljima *in vivo* uzgojenih biljaka. S kvantitativnog gledišta iz *in vitro* regeneriranih biljaka uočena je i manja količina monoterpenskih ugljikovodika, a veća količina oksigeniranih monoterpena i seskviterpenskih ugljikovodika u odnosu na *in vivo* uzgojene materijale. Nadalje, količina monoterpena (-)-borneola i bornil acetata te seskviterpena β-kariofilena u eteričnim uljima iz *in vitro* biljaka bila je najmanje dva puta veća od onih iz *in vivo* uzgojenih biljaka.

Rezultati su pokazali da je proces regeneracije biljke mogao utjecati na stupanj sposobnosti biosintetskog kapaciteta i profila eteričnih ulja u zrelim biljkama *S. przewalskii*.

3.2.2. Antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L.

U istraživanjima obuhvaćenim ovim radom ispitano je antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja 27 biljnih vrsta roda *Salvia* na 40 različitih bakterijskih vrsta, među kojima je bilo 18 gram-pozitivnih i 23 gram-negativne bakterije. Mikroorganizmi su uključeni u patogenezu mnogih bolesti i uzrok su kvarenja brojnih prehrambenih, kozmetičkih i farmaceutskih proizvoda. Unatoč napretku u razumijevanju životnog ciklusa i kontrole niza patogena, veliki broj bolesti koje pogađaju milijune ljudi u zemljama u razvoju još uvijek su uzrokovane mikroorganizmima (49). Također, pojava rezistencije bakterija na antibiotike često kompromitira uspjeh antibiotske terapije i dostignuća moderne medicine (26). Za liječenje različitih infekcija u tradicionalnoj medicini vrlo često se upotrebljavaju upravo biljne vrste iz roda *Salvia* (49).

Važno obilježje eteričnih ulja je njihova hidrofobnost, koja im omogućuje ugradnju u lipide bakterijske stanične i mitohondrijske membrane, čineći je propusnijom (63). To dovodi do gubitka molekula i iona iz bakterijske stanice, što za posljedicu može imati staničnu smrt (64). Antimikrobno djelovanje eteričnih ulja ovisi o sastavu i koncentraciji samih eteričnih ulja, vrsti i koncentraciji ispitivanih mikroorganizama, sastavu supstrata, obradi i uvjetima skladištenja (8, 41, 42). Inhibicija rasta mikroorganizama djelovanjem eteričnih ulja, zbog njihove topljivosti u agaru i mogućnosti difuzije s papirnih diskova (66), najčešće se ispituje metodom disk difuzije, mjerenjem promjera zona inhibicije na čvrstoj hranjivoj podlozi u Petrijevoj zdjelici. Često se metodom serijalne i dvostruke mikrodilucije određuju i minimalne inhibitorne koncentracije, odnosno minimalne doze ulja potrebne za antimikrobno djelovanje.

Važna odrednica osjetljivosti ili otpornosti bakterija prema mnogim antibiotskim sredstvima je stanična stijenka, a sastoji se od proteina, lipida i peptidoglikanskog sloja. Peptidoglikanski sloj se sastoji od oligosaharidnog lanca prekrivenog kratkim peptidama, koji služe kao glavna strukturna komponenta za održavanje cjelovitosti stanične stijenke. Iako gram-pozitivne i gram-negativne bakterije imaju puno zajedničkih strukturnih elemenata u stijenci, organizacija i sadržaj ovih elemenata ipak značajno varira. Zid stanične stijenke gram-pozitivnih bakterija se uglavnom sastoji od debelog sloja peptidoglikana. Gram-negativne bakterije, međutim, imaju dvostruku stijenku sastavljenu od hidrofobne lipopolisaharidne kapsule okružene lipoproteinskom fosfolipidnom membranom, na koju mnogi antibiotici slabije djeluju. Tanak peptidoglikanski sloj leži između vanjske membrane i unutrašnje citoplazmatske membrane. Ova dva sloja su razdvojena periplazmatskim prostorom. Taj prostor je važna strana za degradaciju antibiotika pomoću enzima (65).

U Tablici 2 je sažet pregled analiziranih eteričnih ulja te svih bakterijskih vrsta obuhvaćenih ovim radom, dok Tablice 3 - 10 prikazuju antibakterijsko djelovanje, odnosno vrijednosti zona inhibicija i minimalnih inhibitornih koncentracija eteričnih ulja i antibiotika (pozitivnih kontrola) za većinu bakterijskih vrsta obuhvaćenih ovih radom. Uz biljno porijeklo eteričnog ulja u tablicama je naveden i volumen eteričnog ulja, odnosno razrjeđenja eteričnog ulja, upotrijebljenog u testu disk difuzije za određivanje zona inhibicija rasta bakterija.

Eterična ulja roda *Salvia* su se pokazala iznimno učinkovitim antimikrobnim sredstvima prema gram-pozitivnim bakterijama. Međutim, djelovanje je značajno variralo ovisno o vrsti mikroorganizma i ispitivanom eteričnom ulju. Rezultati originalnih znanstvenih radova su u ovom preglednom radu sistematizirani u tablice prema rodovima bakterijskih vrsta. Najčešće ispitivane gram-pozitivne bakterijske vrste bile su *S. aureus, B. cereus, B. subtilis* te *S.*

epidermidis (Tablica 2). Najrezistentnije gram-pozitivne bakterijske vrste bile su *S. pyogenes* i *S. aureus*, a osim njih rezistenciju na barem jedno eterično ulje *Salvia* vrsta pokazale su i *B. subtilis*, *E. faecalis* te *M. luteus* (Tablica 3).

Najčešće ispitivane i ujedno najrezistentnije gram-negativne bakterijske vrste u pregledanim radovima bile su *E. coli i P. aeruginosa*. *P. aeruginosa* nije bila samo najrezistentnija gram-negativna bakterija, nego i generalno najrezistentniji mikroorganizam obuhvaćen ovim radom. Rod *Pseudomonas* je predmet brojnih znanstvenih istraživanja, s obzirom da zbog njegove velike sposobnosti prilagodbe na temperaturu i količinu hranjivih tvari te na ulazak u polimerni matriks (biofilm), liječenje infekcija uzrokovanih s *P. aeruginosa* predstavlja sve veći izazov (72). Osim *E. coli* i *P. aeruginosa*, rezistenciju na dva eterična ulja je pokazala i *K. pneumoniae* te bakterije roda *Proteus.* Usporedba rezultata antimikrobnog djelovanja eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* pokazala je da su općenito gram-pozitivne bakterije bile nešto osjetljivije na ispitana eterična ulja, dok su gram-negativne bakterije bile rezistentne na veći broj ispitanih eteričnih ulja.

Tablica 2. Pregled eteričnih ulja roda *Salvia* i bakterijskih vrsta obuhvaćenih ovim radom

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane bakterijske vrste		Literatura
		Gram-pozitivne	Gram-negativne	
S. aramiensis	Turska	*Streptococcus pneumoniae, Bacillus cereus, Clostridium perfringens*	*Acinetobacter lwoffii, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*	(43)
S. aucheri var. *aucheri*	Turska	*S. pneumoniae, B. cereus, C. perfringens*	*A. lwoffii, E. coli, K. pneumoniae*	(43)
S. bracteata	Libanon	*B. cereus, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptoccocus faecalis*	*E. coli, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi Ty2*	(21)
S. cedronella	Turska	*B. cereus, B. subtilis, Enterococcus faecalis, S. aureus, S. epidermidis, Listeria monocytogenes*	*E. coli, Enterobacter aerogenes, P. aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, P. mirabilis*	(44)
S. ceratophylla L.	Turska	*S. aureus, B. cereus, Streptococcus pyogenes*	*E. coli, P. aeruginosa*	(75)
S. chloroleuca	Iran	*B. subtilis, S. aureus, S. epidermidis*	*E. coli, P. aeruginosa, K. pneumoniae*	(45)
S. dicroantha	Turska	*B. cereus, S. aureus, E. faecium*	*E. coli, E. aerogenes*	(46)
S. hydrangea	Iran	*B. subtilis, S. aureus, S. epidermidis, E. faecalis*	*E. coli, P. aeruginosa, K. pneumoniae*	(15)
S. mirzayanii	Iran	*B. subtilis, S. aureus, S. epidermidis, E. faecalis*	*E. coli, P. aeruginosa, K. pneumoniae*	(15)
S. multicaulis Vahl. Enum	Turska	*S. aureus, B. cereus, S. pyogenes*	*E. coli, P. aeruginosa*	(75)

Tablica 2. (nastavak)

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane bakterijske vrste		Literatura
		Gram-pozitivne	Gram-negativne	
S. officinalis	Jordan	*S. aureus*	*P. aeruginosa, E. coli*	(74)
S. palaestina	Saudijska Arabija	*B. subtilis, S. aureus, S. epidermidis, Mycobacterium smegmatis*	*P. aeruginosa, P. mirabilis, E. coli*	(47)
S. palaestina	Turska	*S. aureus, B. cereus, S. pyogenes*	*E. coli, P. aeruginosa*	(75)
S. pilifera	Turska	*S. pneumoniae, B. cereus, C. perfringens*	*A. lwoffii, E. coli, K. pneumoniae*	(43)
S. przewalskii	Poljska	*S. aureus, S. epidemidis, E. faecalis*	*E. coli*	(48)
S. repens	Južnoafrička Republika	*E. faecalis, S. aureus, S. epidermidis, B. cereus, B. subtilis, meticilin rezistentni Staphylococcus aureus (MRSA)*	*P. aeruginosa, E. coli, K. pneumoniae, Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis, Yersinia enterocolitica, Serratia odorifera, P. vulgaris*	(49)
S. rubifolia	Libanon	*B. cereus, B. subtilis, S. aureus, S. epidermidis, S. faecalis*	*E. coli, P. mirabilis, P. vulgaris, P. aeruginosa, S. typhi Ty2*	(21)
S. runcinata	Južnoafrička Republika	*E. faecalis, S. aureus, S. epidermidis, B. cereus, B. subtilis, MRSA*	*P. aeruginosa, E. coli, K. pneumoniae, S. typhimurium, S. enteritdiis, Y. enterocolitica, S. odorifera, P. vulgaris*	(49)
S. runcinata	Južnoafrička Republika	*E. faecalis, S. aureus, S. epidermidis, B. cereus, B. subtilis, MRSA*	*P. aeruginosa, E. coli, K. pneumoniae, S. typhimurium, S. enteriditis, Y. enterocolitica, S. odorifera, P. vulgaris*	(49)

Tablica 2. (nastavak)

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane bakterijske vrste		Literatura
		Gram-pozitivne	Gram-negativne	
S. santolinifolia	Pakistan	*S. aureus, MRSA, S. epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, S. pyogenes, S. faecalis, S. pneumoniae, Corynebacterium hofmannii, Corynebacterium xerosis, B. subtilis, B. cereus, Bacillus thruingiensis, Micrococcus luteus*	*Shigella dysenteriae, Shigella boydii, Shigella flexneri, S. typhi, S. paratyphi A, S. paratyphi B, V. cholerae, P. vulgaris, P. mirabilis, E. coli, Helicobacter pylori, P. aeruginosa, Campylobacter jejuni, Citrobacter freundii, E. aerogenes, Acinetobacter baumannii, K. pneumoniae*	(50)
S. stenophylla	Južnoafrička Republika	*E. faecalis, S. aureus, S. epidermidis, B. cereus, B. subtilis, MRSA*	*P. aeruginosa, E. coli, K. pneumoniae, S. typhimurium, S. enteritidis, Y. enterocolitica, S. odorifera, P. vulgaris*	(49)
S. syriaca L.	Turska	*S. aureus, B. cereus, S. pyogenes*	*E. coli, P. aeruginosa*	(75)
S. tomentosa	Turska	*S. aureus, B. subtilis, B. cereus, M. luteus*	*E. coli, E. aerogenes*	(52)
S. tomentosa	Turska	*S. epidermidis, S. aureus, E. cloacae, E. faecalis*	*P. aeruginosa, E. coli*	(40)
S. triloba	Jordan	*S. aureus, MRSA*	*E. coli*	(75)
S. verticillata subsp. *amasiaca*	Turska	*B. cereus, E. faecium, S. aureus*	*E. coli, E. aerogenes*	(46)
S. wiedemannii	Turska	*B. cereus, E. faecium, S. aureus*	*E. coli, E. aerogenes*	(46)

Tablica 3. Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta roda *Staphylococcus* L. tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*S. auerus*		*S. epidermidis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. bracteata	n.p.	-	0,05	-	0,05	(21)
S. cedronella	n.p.	17	0,031	10	0,063	(44)
S. ceratophylla	50 µl (1/30 [b])	12	-	-	-	(76)
S. ceratophylla	50 µl (1/20 [b])	12	-	-	-	(76)
S. ceratophylla	50 µl (1/10 [b])	14	-	-	-	(76)
S. chloroleuca	10 µl	15	7,5	19	3,75	(15)
S. dicroantha	*25* µl [c]	-	25 [e]	-	-	(46)
S. hydrangea	n.p.	14	15	16	7,5	(45)
S. mirzayanii	n.p.	16	2,5	22	1,25	(45)
S. multicaulis	*50* µl (1/30 [b])	10	-	-	-	(76)
S. multicaulis	50 µl (1/20 [b])	12	-	-	-	(76)
S. multicaulis	50 µl (1/10 [b])	10	-	-	-	(76)
S. officinalis	15 µL	R	-	-	-	(74)
S. officinalis	10 µl	R	-	-	-	(74)
S. officinalis	5 µl	R	-	-	-	(74)
S. palaestina	50 µl (1/30 [b])	10	-	-	-	(76)
S. palaestina	50 µl (1/20 [b])	12	-	-	-	(76)
S. palaestina	50 µl (1/10 [b])	16	-	-	-	(76)
S. palaestina	50 µl	10	0,4	10	0,4	(47)

Tablica 3. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*S. auerus*		*S. epidermidis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. repens	n.p.	1	0,39	1	3,13	(49)
S. rubifola	n.p.	-	0,05	-	0,05	(21)
S. runcinata	n.p.	2	0,313	2	3,13	(49)
S. syriaca	50 µl (1/30 [b])	10	-	-	-	(76)
S. syriaca	50 µl (1/20 [b])	10	-	-	-	(76)
S. syriaca	50 µl (1/10 [b])	12	-	-	-	(76)
S. santolinifolia	n.p.	12	15	18	7,5	(45)
S. santolinifolia	50 µl [d]	R	R	18	5	(50)
S. stenophylla	n.p.	5	0,098	5	3,13	(15)
S. tomentosa	15 µl	15	10	-	-	(52)
S. verticillata subsp. *amasiaca*	25 µl [c]	-	12,5 [e]	-	-	(46)
S. wiedemannii	25 µl [c]	-	12,5 [e]	-	-	(46)
S. tomentosa	30 µl	10,1	-	11,3	-	(40)
Amoksicilin	10 µg	16	-	-	-	(76)
Amoksicilin	20 µg	17	-	13,3	-	(16)
Ampicilin	10 µg	13	-	19	-	(45)
Eritromicin	10 µg	22	-	-	-	(52)
Gentamicin	-	-	10[f]	-	-	(46)
Gentamicin	10 µl	-	0,0013	-	0,003	(21)
Gentamicin	10 µg	14	0,002	12	0,002	(47)
Neomicin	30 µg	6	0,0003	6	0,00063	(49)

Tablica 3. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna 6 kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*S. auerus*		*S. epidermidis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
Sulbaktam/ Ampicilin	10 µg	16	-	-	-	(76)
Sulbaktam/ Ampicilin	10 µg	14,6	-	18,3	-	(40)
Tetraciklin	30 µg	20	3,2	20	3,2	(49)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk) / masa (µg/disk) upotrijebljeni za određivanje ZI; ([b]) razrjeđenje u apsolutnom heksanu; ([c]) razrjeđenje s 25% dimetil sulfoksidom (DMSO); ([d]) razrjeđenje s 10% DMSO; ([e]) volumen je izražen u µl/ml; ([f]) MIK vrijednost je izražena u µg/ml.

U Tablici 3 prikazano je antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta *Salvia* na gram pozitivne bakterije *S. aureus* i *S. epidermidis.* Najveću zonu inhibicije bakterije *S. aureus* od 17 mm te najmanju MIK vrijednost od 0,031 mg/ml ostvarilo je eterično ulje *S. cedronella* (17). Najveću zonu inhibicije *S. epidermidis* od 22 mm ostvarilo je eterično ulje *S. mirzayanii*, a najmanju MIK vrijednost od 0,05 mg/ml postigla su eterična ulja *S. bracteata* (45) i *S. rubifola* (21). U usporedbi sa *S. epidermidis S. aureus* je bila rezistentnija na djelovanje pojedinih eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia*. Pokazala je potpunu rezistenciju na četiri eterična ulja, među ostalima i na eterično ulje *S. santolinifolia* prikupljene u Pakistanu, koje je uspješno djelovalo protiv *S. epidermidis* sa zonom inhibicije promjera 18 mm i MIK vrijednosti od 5 mg/ml (50). *S. aureus* je bila rezistentna i na tri različite koncentracije eteričnog ulja *S. officinalis* (5, 10 i 15 µl) prikupljene u Jordanu (74). Također, eterična ulja *S. chloroleuca* (15), *S. hydrangea* (45), S. *mirzayanii* te *S. santolinifolia* iz Irana (45) ispoljila su bolje antimikrobno djelovanje na *S. epidermidis* nego na *S. aureus*.

Eterično ulje *S. santolinifolia* je u dva istraživanja ispoljilo različito antimikrobno djelovanje na *S. aureus*, a razlog se može tražiti u različitim uvjetima rasta i branja biljke. Eterično ulje *S. santolinifolia* prikupljene tijekom mjeseca svibnja u Iranu uspješno je djelovalo na *S. aureus* (45), dok eterično ulje biljke prikupljene između lipnja i srpnja u Pakistanu, nije ispoljilo učinak na *S. aureus* (50). Iako je usporebom kemijskog sastava zapažena znatno veća koncentracija α-pinena, koji se ne odlikuje jakim antimikrobnim potencijalnom (45), u biljnom materijalu ubranom na području Irana, naspram onom iz Pakistana, može se pretpostaviti da je jače antimikrobno djelovanje posljedica sinergije svi prisutnih sastavnica (7, 22). Jednaku antimikrobnu aktivnost prema *S. aureus* i *S. epidermidis* pokazalo je eterično ulje *S. palaestina* sa zonama inhibicije 10 mm i MIK vrijednostima od 0,4 mg/ml za obje bakterijske vrste (76) te eterično ulje *S. rubifola* s MIK vrijednostima od 0,5 mg/ml za obje vrste (21).

Nešto bolje antimikrobno djelovanje na *S. aureus* nego na *S. epidermidis* imalo je eterično ulje S. *cedronella* sa zonom inhibicije 17 mm i MIK vrijednosti od 0,031 mg/ml kod *S. aureus* te 11 mm, odnosno 0,063 mg/ml kod *S. epidermidis* (44). Također, bolje antimikrobne vrijednosti prema *S. aureus* imala su eterična ulja biljnih vrsta *S. stenophylla* (15)*, S. repens* i *S. runcinata* prikupljenih na području Južnoafričke Republike (49), primjerice MIK vrijednost eteričnog ulja *S. stenophylla za S. aureus* bila je 0,098 mg/ml, dok je za *S. epidermidis* bila 3,13 mg/ml.

Većina ispitanih eteričnih ulja biljnih vrsta *Salvia* su u usporedbi s pozitivnim kontrolama (amoksicilin, ampicilin, eritromicin, gentamicin, neomicin, sulbaktam/ampicilin, tetraciklin) pokazala relativno dobro antimikrobno djelovanje protiv *S. aureus i S. epidermidis*, sa zonama inhibicije sličnog promjera, dok su MIK vrijednosti bile značajno niže za antibiotike

nego za ispitivana eterična ulja. Očekivano, kod eteričnih ulja ispitivanih pri različitim koncentracijama, najbolje antimikrobno djelovanje, odnosno najveće zone inhibicije, eterična ulja su postigla pri višim koncentracijama. Takav je slučaj zabilježen kod eteričnih ulja S. p*alaestina, S. multicaulis, S. ceratophylla i S. syriaca* prikupljenih u Turskoj (76).

Tablica 4. Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta roda *Bacillus* L. tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*B. cereus*		*B. subtilis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. aramiensis	15 µl	11	36	-	-	(43)
S. aucheri var. *aucheri*	15 µl	9	72	-	-	(43)
S. bracteata	n.p.	-	0,05	-	0,05	(21)
S. cedronella	n.p.	16	0,031	20	0,016	(44)
S. ceratophylla	50 µl (1/30 [b])	-	-	14	-	(76)
S. ceratophylla	50 µl (1/20 [b])	-	-	14	-	(76)
S. ceratophylla	50 µl (1/10 b)	-	-	16	-	(76)
S. chloroleuca	10 µl	-	-	21	3,75	(15)
S. dicroantha	*25* µl [c]	-	25 [e]	-	-	(46)
S. hydrangea	n.p.	-	-	17	15	(45)
S. mirzayanii	n.p.	-	-	27	1,25	(45)
S. multicaulis	50 µl (1/30 [b])	-	-	10	-	(76)
S. multicaulis	50 µl (1/20 [b])	-	-	10	-	(76)
S. multicaulis	50 µl (1/10 [b])	-	-	16	-	(76)
S. palaestina	50 µl (1/30 [b])	-	-	10	-	(76)
S. palaestina	50 µl (1/20 [b])	-	-	10	-	(76)

Tablica 4. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*B. cereus*		*B. subtilis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. palaestina	50 µl (1/10 [b])	-	-	14	-	(76)
S. palaestina	50 µl	10	0,4	10	0,4	(47)
S. pilifera	15 µl	8	>72	-	-	(43)
S. repens	n.p.	3	3,13	3	1,56	(49)
S. rubifola	n.p.	-	0,05	-	0,05	(21)
S. runcinata	n.p.	5	0,39	4	0,63	(49)
S. syriaca	50 µl (1/30 [b])	-	-	12	-	(76)
S. syriaca	50 µl (1/20 [b])	-	-	12	-	(76)
S. syriaca	50 µl (1/10 [b])	-	-	12	-	(76)
S. santolinifolia	n.p.	-	-	17	7,5	(45)
S. santolinifolia	50 µl [d]	-	-	R	R	(50)
S. stenophylla	n.p.	6	0,098	6,5	0,39	(49)
S. tomentosa	*15 µl*	20	12	20	10	(52)
S. verticillata subsp. *amasiaca*	25 µl [c]	-	50 [e]	-	-	(46)
S. wiedemannii	25 µl [c]	-	50 [e]	-	-	(46)
Amoksicilin	10 µg	-	-	20	-	(76)
Ampicilin	10 µg	-	-	14	-	(45)
Eritromicin	10 µg	24	-	29	-	(52)
Gentamicin	10 µl	-	0,15 [f]	-	-	(46)
Gentamicin	10 µl	-	0,0031	-	0,0008	(21)
Gentamicin	10 µg	12	0,004	-	-	(47)
Neomicin	30 µg	6	0,0006	5	0,00004	(49)

Tablica 4. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*B. cereus*		*B. subtilis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
Sulbaktam/ ampicilin	10 µg	-	-	28	-	(76)
Tetraciklin	30 µg	-	-	21	3,2	(15)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk) / masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) razrjeđenje u apsolutnom heksanu; ([c]) razrjeđenje s 25% DMSO; ([d]) razrjeđenje s 10% DMSO; ([e]) volumen je izražen u µl/ml; ([f]) mik vrijednost je izražena u µg/ml.

Promatrana eterična ulja biljnih vrsta roda *Salvia* pokazala su značajno antimikrobno djelovanje i na bakterijske vrste iz roda *Bacillus*, a rezultati su prikazani u Tablici 4. U obuhvaćenim studijama rezistenciju na ispitivanu koncentraciju od 72 mg/ml eteričnog ulja *S. pilifera* pokazala je *B. cereus* (43), dok je na sva druga ulja bakterija bila osjetljiva. Potpunu rezistenciju na eterično ulje *S. santolinifolia* pokazala je bakterija *B. subtilis* (50), iako je u nekoliko drugih znanstvenih radova *B. subtilis* bila osjetljivija na djelovanje eteričnih ulja od *B. cereus*. Tako je i najveću zonu inhibicije postiglo eterično ulje *S. mirzayanii* upravo na *B. subtilis* s većom zonom inhibicije od ampicilina, koji je rabljen kao kontrolni antibiotik, 27 mm u odnosu na 14 mm (45). Najnižu MIK vrijednost kod *B. subtilis* postiglo je eterično ulje *S. rubifola* (21). Najveću zonu inhibicije od 20 mm kod *B. cereus* postiglo je eterično ulje *S. tomentosa* (52), a najnižu MIK vrijednost *S. rubifola* s 0,05 mg/ml (21).

Neki radovi su pokazali identične MIK vrijednosti i promjere zona inhibicije za obje bakterijske vrste, primjerice za eterična ulja *S. bracteata, S. rubifola* i *S. tomentosa* (52, 21), dok su drugi radovi pokazali značajne razlike, kao na primjeru eteričnih ulja *S. cedronella* (44) te *S. stenophylla*, *S. repens* i *S. runcinata* (49). Osim različite osjetljivosti mikroorganizama, to

bi moglo upućivati i na to da su neki autori upotrebljavali veći broj različitih koncentracija prilikom ispitivanja antimikrobnog djelovanja, što je omogućilo veću preciznost mjerenja.

Iako su promjeri zona inhibicije bakterija *B. subtilis* i *B. cereus* u pravilu bili manji za eterična ulja nego za kontrolne antibiotike, razlika je bila posebno vidljiva u usporedbi antimikrobnog djelovanja eteričnih ulja *S. ceratophylla, S. multica*ulis, *S. palaestina* i *S. syriaca* na *B. subtilis*, gdje su zone inhibicije bile između 10 (*S. palaestina*) i 16 mm (*S. multica*ulis), dok su za kontrolne antibiotike bile između 14 (ampicilin) i 29 mm (eritromicin) (76). Rezultati su pokazali i značajne razlike u MIK vrijednostima eteričnih ulja i antibiotika. Primjerice, MIK vrijednost eteričnog ulja *S. wiedemannii* bila je 50 µl/ml, dok je za gentamicin iznosila 0,15 µg/ml (46).

Tablica 5. Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta roda *Enterococcus* L. tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. faecalis*		*E. faecium*	Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	MIK (mg/ml)	
S. cedronella	n.p.	R	R	-	(44)
S. chloroleuca	10 µl	13	15	-	(15)
S. dicroantha	25 µl [b]	-	-	12,5 [c]	(46)
S. hydrangea	n.p.	10	15	-	(45)
S. mirzayanii	n.p.	14	10	-	(45)
S. santolinifolia	n.p.	10	>15	-	(45)
S. tomentosa	30 µl	7,6	-	-	(40)
S. verticillata subsp. *amasiaca*	25 µl [b]	-	-	12,5 [c]	(46)

Tablica 5. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. faecalis*		*E. faecium*	Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	MIK (mg/ml)	
S. wiedemannii	25 µl [b]	-	-	12,5 [c]	(46)
Ampicilin	10 µg	11	-	-	(45)
Amoksicilin	20 µg	7,7	-	-	(40)
Gentamicin	10 µl	-	-	20 [d]	(46)
Sulbaktam/ ampicilin	10 µg	7,7	-	-	(40)
Sulbaktam 30 µg/ Cefoperazon 75 µg	105 µg	18	0,031	-	(44)
Tetraciklin	30 µg	9	6,4	-	(15)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk) / masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) razrjeđenje s 25% DMSO; ([c]) volumen je izražen u µl/ml; ([d]) MIK vrijednost je izražena u µg/ml.

E. faecalis i *E. faecium* su bakterijske vrste iz roda *Enterococcus* čija se osjetljivost na eterična ulja vrsta *Salvia* često ispitivala, a rezultati tih ispitivanja su prikazani u Tablici 5. Nijedan obrađeni rad nije obuhvatio ispitivanje obje vrste, već su one obrađivane pojedinačno. Sva ispitivana eterična ulja su ispoljila antimikrobno djelovanje prema *Enterococcus* bakterijama, osim eteričnog ulja *S. cedronella* na *E. faecalis*, koja je ostala potpuno rezistentna (44). *E. faecium* nije bila rezistentna ni na jedno ispitivano ulje, a radovi koji su ispitivali antimikrobnu aktivnost prema toj bakteriji odredili su isključivo njihove MIK vrijednosti. Najbolje rezultate na *E. faecium* s MIK vrijednostima od 12,5 µl/ml ispoljila su eterična ulja *S. dicroantha, S. verticillata* subsp. *amasiaca i S. wiedemannii* (49). Najbolje rezultate zona inhibicije i MIK vrijednosti na *E. faecalis* dalo je eterično ulje *S. mirzayanii* s promjerom zone inhibicije 14 mm te MIK vrijednosti od 10 mg/ml (45).

Usporedba rezultata MIK vrijednosti i zona inhibicija kod ove dvije vrste enterokoka s kontrolnim antibioticima pokazala je da je u nekim slučajevima promjer zona inhibicije bio veći kod eteričnih ulja nego kod kontrolnih antibiotika, kao npr. u slučaju eteričnog ulja *S. chloroleuca* u usporedbi s tetraciklinom (15). Ostali rezultati, očekivano, uglavnom upućuju na veće zone inhibicije te niže MIK vrijednosti kontrolnih antibiotika. Takav je slučaj, primjerice, sa sulbaktam/cefoperazonom, koji je dao najveću zonu inhbicije od 18 mm na *E. faecalis*, dok ispitivano eterično ulje *S. cedronella* nije bilo aktivno protiv bakterije (44).

Tablica 6. Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta roda *Streptococcus* L. tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*S. pneumoniae*		*S. pyogenes*	Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	
S. aucheri var. aucheri	15 µl	10	36	-	(43)
S. aramiensis	15 µl	13	18	-	(43)
S. ceratophylla	50 µl (1/30 [b])	-	-	R	(76)
S. ceratophylla	50 µl (1/20 [b])	-	-	R	(76)
S. ceratophylla	50 µl (1/10 [b])	-	-	R	(76)
S. multicaulis	50 µl (1/30 [b])	-	-	R	(76)
S. multicaulis	50 µl (1/20 [b])	-	-	R	(76)
S. multicaulis	50 µl (1/10 [b])	-	-	12	(76)
S. palaestina	50 µl (1/30 [b])	-	-	R	(76)
S. palaestina	50 µl (1/20 [b])	-	-	R	(76)
S. palaestina	50 µl (1/10 [b])	-	-	R	(76)
S. pilifera	15 µl	9	72	-	(43)

Tablica 6. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*S. pneumoniae*		*S. pyogenes*	Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	
S. syriaca	50 µl (1/30 [b])	-	-	R	(76)
S. syriaca	50 µl (1/20 [b])	-	-	R	(76)
S. syriaca	50 µl (1/10 [b])	-	-	10	(76)
Amoksicilin	10 µg	-	-	22	(76)
Sulbaktam/ ampicilin	10 µg	-	-	22	(76)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk) / masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) razrjeđenje u apsolutnom heksanu; ([c]) volumen je izražen u µl/ml.

Tablica 6 prikazuje antimikrobno djelovanje eteričnih ulja *Salvia* vrsta na predstavnike bakterijskog roda *Streptococcus, S. pneumoniae* i *S. pyogenes*. Kao što je već spomenuto*, S. pyogenes* je bila najrezistentnija bakterija od svih ispitanih gram-pozitivnih bakterijskih vrsta. Bila je rezistentna na eterična ulja *S. palaestina* i *S. ceratophylla* u tri razrjeđenja u apsolutnom heksanu (1:10, 1:20 i 1:30) te na eterična ulja *S. multicaulis* i *S. syriaca* u dva razrjeđenja (1:20 i 1:30) (1). Eterična ulja *S. multicaulis* i *S. syriaca* razrjeđena u omjeru 1:10 (najviša ispitana koncentracija ulja) pokazala su antimikrobno djelovanje prema *S. pyogenes* s 12 mm promjera zone inhibicije kod *S. multicaulis*, odnosno 10 mm kod *S. syriaca*, dok su kontrolni antibiotici, amoksicilin i sulbaktam/ampicilin, ispoljili zone inhibicije promjera 22 mm (76).

Osjetljivost *S. pneumoniae* promatrana je na tri eterična ulja, koja su postigla antimikrobni učinak. Bakterija je bila najosjetljivija na eterično ulje *S. aramiensis* sa zonom inhibicije

promjera 13 mm te MIK vrijednosti 18 mg/ml, dok je najslabije djelovalo eterično ulje *S. pilifera* sa zonom inhibicije promjera 9 mm i MIK vrijednosti 72 mg/ml (43).

Tablica 7**.** Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta M*. luteus* i *C. perfringens* tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*C. perfingens*		*M. luteus*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. aucheri var. aucheri	*n.p.*	11	36	-	-	(43)
S. aramiensis	n.p.	13	18	-	-	(43)
S. pilifera	n.p.	9	72	-	-	(43)
S. santolinifolia	50 µl [b]	-	-	R	R	(50)
S. tomentosa	15 µl	-	-	18	20	(52)
Eritromicin	-	-	-	35	-	(52)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk) / masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) razrjeđenje s 10% DMSO.

Osim spomenutih bakterijskih vrsta u tri znanstvena rada obrađeno je i djelovanje eteričnih ulja *Salvia* vrsta na *M. luteus* i *C. perfringens*, što se vidi u Tablici 7. Bakterija *M. luteus* je bila potpuno rezistentna na eterično ulje *S. santolinifolia* (50), dok je eterično ulje *S. tomentosa* ispoljilo antibakterijsko djelovanje na nju sa zonom inhibicije promjera 18 mm te MIK vrijednosti 20 mg/ml (52). Zona inhibicije eteričnog ulja *S. tomentosa* je značajno manja nego kod eritromicina, kod kojeg je promjer zone inhibicije bio čak 35 mm (52).

Tri ispitane *Salvia* vrste, *S. aucheri* var. *aucheri, S. aramiensis* i *S. pilifera*, djelovale su antimikrobno na *C. perfringens* (6). Najbolje antimikrobno djelovanje na *C. perfringens* postiglo je eterično ulje *S. aramiensis*, sa promjerom zone inhibicije 13 mm te MIK vrijednosti od 18 mg/ml (43), dok je bakterija bila najmanje osjetljiva na *S. pilifera* sa 9 mm zone inhibicije i MIK vrijednosti 72 mg/ml (43).

Nadalje, u obuhvaćenim radovima navedeno je i antimikrobno djelovanje nekih drugih bakterijskih vrsta navedenih u Tablici 2, poput *L. monocytogenes, MRSA, E. cloacae i M. smegmatis*. Mnoge od njih su obradili Nadir i suradnici, a njihovi rezultati su pokazali značajno antimikrobno djelovanje na pojedine gram-pozitivne bakterije eteričnog ulja *S. sanotlinifolia* (*C. hofmanii, C. xerosis, S. epidermidis*), dok su rezistente bile MRSA, *S. aureus, S. saprophyticus, S. pyogenes*, *S. faecalis*, *S. pneumoniae*, *M. leuteus, B. thruingiensis, B. subtilis B. cereus i M. leuteus* (50).

Tablica 8. Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta *E. coli* i *P. aeruginosa* tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. coli*		*P. aeruginosa*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. aucheri var. aucheri	15 µl	11	36	-	-	(43)
S. aramiensis	15 µl	12	36	-	-	(43)
S. bracteata	n.p.	-	> 0,1	-	> 0,1	(21)
S. cedronella	n.p.	R	R	R	R	(44)
S. ceratophylla	50 µl (1/30 [b])	14	-	R	-	(76)
S. ceratophylla	50 µl (1/20 [b])	14	-	R	-	(76)

Tablica 8. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. coli*		*P. aeruginosa*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. ceratophylla	50 µl *(*1/10 [b])	14	-	R	-	(76)
S. chloroleuca	10 µl	14	15	R	-	(15)
S. dicroantha	25 µl [c]	-	25 [e]	-	0,025	(46)
S. hydrangea	n.p.	8	> 15	R	-	(45)
S. mirzayanii	n.p.	16	2,5	9	20	(45)
S. multicaulis	50 µl (1/30 [b])	12	-	R	-	(76)
S. multicaulis	50 µl (1/20 [b])	14	-	R	-	(76)
S. multicaulis	50 µl *(*1/10 [b])	20	-	14	-	(76)
S. officinalis	15 µl	-	R	-	R	(74)
S. officinalis	10 µl	-	R	-	R	(74)
S. officinalis	5 µl	-	R	-	R	(74)
S. palaestina	50 µl (1/30 [b])	12	-	R	-	(76)
S. palaestina	50 µl (1/20 [b])	12	-	R	-	(76)
S. palaestina	50 µl (1/10 [b])	14	-	R	-	(76)
S. palaestina	50 µl	R	-	R	-	(47)
S. pilifera	15 µl	8	>72	-	-	(43)
S. rubifola	n.p.	-	0,1	-	0,1	(21)
S. syriaca	50 µl (1/30 [b])	10	-	R	-	(76)
S. syriaca	50 µl (1/20 [b])	12	-	R	-	(76)
S. syriaca	50 µl (1/10 [b])	12	-	14	-	(76)
S. santolinifolia	n.p.	12	>15	R	-	(45)

Tablica 8. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. coli*		*P. aeruginosa*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. santolinifolia	50 µl [c]	16	20	R	R	(50)
S. tomentosa	15 µl	15	20	-	-	(52)
S. tomentosa	30 µl	9,45	-	R	-	(40)
S. verticillata subsp. *amasiaca*	25 µl [d]	-	12,5 [e]	-	-	(46)
S. wiedemannii	25 µl [d]	-	12,5 [e]	-	-	(46)
Amoksicilin	10 µg	22	-	R	-	(76)
Gentamicin	10 µl	23	3,2	20	3,2	(15)
Gentamicin	10 µl	-	0,0025	-	-	(46)
Gentamicin	10 µg	-	0,13	-	0,016	(21)
Gentamicin	10 µg	16	0,0015	7	0,004	(47)
Sulbaktam/ ampicilin	10 µg	22	-	R	-	(76)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk) /masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) razrjeđenje u apsolutnom heksanu; ([c]) razrjeđenje s 10% DMSO; ([d]) razrjeđenje s 25% DMSO; ([e]) volumen je izražen u µl/ml.

U Tablici 8 prikazani su rezultati antimikrobnog djelovanja eteričnih ulja roda *Salvia* za gram-negativne bakterije *E. coli* i *P. aeruginosa*. Prateći zone inhibicije eteričnih ulja, od 20 uzoraka eteričnih ulja (različitih biljnih vrsta i različitih koncentracija) na kojima se ispitivala zona inhibicije, *P. aeruginosa* je bio rezistentan na 17 uzoraka, a tri eterična ulja su dovela do inhibicije rasta bakterija, *S. mirzayanii*, *S. multicaulis* i *S. syriaca*. Eterična ulja *S. multicaulis* i *S. syriaca*, razrjeđena u heksanu 1:10, ostvarila su promjer zona inhibicije 14 mm, što je bio posebno značajan rezultat, s obzirom da sulbaktam/ampicilin nije ispoljio antimikrobno djelovanje (76). Nadalje, među 11 radova koji su ispitivali MIK vrijednosti za *P. aeruginosa*,

ona za 6 eteričnih ulja nije mogla biti određena zbog rezistencije bakterije. Eterična ulja *S. dicroantha, S. mirzayanii* i *S. rubifola* ostvarila su antimikrobno djelovanje s MIK vrijednostima redom od 0,025 mg/ml, 20 mg/ml te 0,1 mg/ml. U usporedbi s gentamicinom eterična ulja, npr. eterično ulje *S. chloroleuca*, su očekivano ostvarila slabije antimikrobno djelovanje, odnosno više MIK vrijednosti (15).

E. coli je od 23 uzoraka eteričnih ulja na kojima se promatrala zona inhibicije bila rezistentna na dva eterična ulja, *S. cedronella* i *S. palaestina*. Osim njih, bakterija nije reagirala na ispitivanu koncentraciju od 0,1 mg/ml eteričnog ulja *S. bracteata* te na 15 mg/ml eteričnih ulja *S. hydrangea* i *S. santolinifolia,* a bila je rezistentna i na eterično ulje *S. officinalis* u tri različite koncentracije (74). Najveća zona inhibicije, promjera 16 mm, zabilježena je za eterično ulje *S. mirzayanii* (45). S obzirom na njegovo djelovanje i na bakteriju *P. aeruginosa* to ukazuje na značajan antimikrobni potencijal ovog eteričnog ulja. Najniža MIK vrijednost, 0,1 mg/ml, zabilježena je za eterično ulje *S. rubifola*, što je posebno dobar rezultat u usporedbi s gentamicinom, za kojeg je MIK vrijednost iznosila 0,13 mg/ml (21).

Tablica 9. Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta roda *Proteus* L. te *S. typhi* tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*P. mirabilis*		*P. vulgaris*		*S. typhi*	Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	MIK (mg/ml)	
S. bracteata	n.p.	-	>0,1	-	>0,1	0,1	(21)
S. dicroantha	25 µl [b]	-	-	-	-	12,5 [d]	(46)
S. cedronella	n.p.	8	0,25	-	-	-	(44)
S. palaestina	50 µl	8	0,55	-	-	-	(47)
S. rubifola	n.p.	-	>0,1	-	0,1	>0,1	(21)
S. santolinifolia	50 µl [c]	24,5	20	25,5	10	-	(50)

Tablica 9. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*P. mirabilis*		*P. vulgaris*		*S. typhi*	Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	MIK (mg/ml)	
S. wiedemannii	25 µl [b]	-	-	-	-	12,5 [d]	(46)
Gentamicin	10 µl	-	-	-	-	0,02	(46)
Gentamicin	10 µg	-	R	-	R	R	(21)
Gentamicin	10 µg	16	0,02	-	-	-	(47)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk) /masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) razrjeđenje s 25% DMSO; ([c]) razrjeđenje s 10% DMSO; ([d]) volumen je izražen u µl/ml.

Antimikrobno djelovanje ispitivanih eteričnih ulja na bakterije roda *Proteus*, *P. mirabilis i P. vulgaris,* te bakteriju *S. typhi* prikazano je u Tablici 9. Promatran je učinak pet eteričnih ulja na rod *Proteus*, a najveće zone inhibicije izmjerene su kod eteričnog ulja *S. santolinifolia* s promjerom od 24,5 mm za *P. mirabilis* te 25,5 mm za *P. vulgaris* (50). MIK vrijednosti eteričnog ulja *S. santolinifolia* su također pokazivale bolji antimikrobni potencijal ovog ulja prema *P. vulgaris* (10 mg/ml), nego *P. mirabilis* (20 mg/ml) (50). Najnižu MIK vrijednost za *P. vulgaris* postiglo je eterično ulje *S. rubifola* pri volumenu od 0,1 mg/ml. Ista koncentracija eteričnog ulja nije bila dovoljna da bi ispoljila antimikrobni učinak na *P. mirabilis* i *S. typhi,* kao ni eterično ulje *S. bracteata* na *P. vulgaris* i *P. mirabilis* (21).

Antimikrobno djelovanje na bakteriju *S. typhi* ispitivano je na četiri eterična ulja, *S. bracteata*, *S. dicroanta*, *S. rubifola* i *S. wiedemannii*. Bakterija je bila osjetljiva na tri ispitana eterična ulja, s MIK vrijednostima gotovo duplo nižima od gentamicina. Najniža MIK vrijednost izmjerena je za eterično ulje S. bracteata (0,1 mg/ml), a zanimljivo je da je u tom radu za pozitivnu kontrolu odabran gentamicin, na kojeg je *S. typhi* bila rezistentna (21). Rezultati ukazuju na umjeren antimikrobni potencijal ispitanih eteričnih ulja.

Tablica 10. Zone inhibicije rasta bakterijske vrste *K. pneumoniae* tretirane s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*K. pneumoniae*		*A. Iwoffii*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. aucheri var. aucheri	15 µl	9	72	18	9	(43)
S. aramiensis	15 µl	11	36	20	4,5	(43)
S. cedronella	n.p.	R	R	-	-	(44)
S. hydrangea	50 µl (1/30 [b])	R	-	-	-	(45)
S. mirzayanii	n.p.	10	20	-	-	(45)
S. pilifera	15 µl	7	>72	15	18	(43)
S. santolinifolia	n.p.	11	15	-	-	(45)
S. santolinifolia	*50* µl [c]	21,5	3,5	-	-	(50)
Ampiclin	30 µg	R	-	-	-	(45)
Ofloksacin	*10* µg	12	0,13	-	-	(44)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk)/ masa (µg/disk) upotrijebljeni za određivanje ZI; ([b]) razrjeđenje u apsolutnom heksanu; ([c]) razrjeđenje s 10% DMSO

U Tablici 10 prikazane su vrijednosti zona inhibicija bakterijskih vrsta *K. pneumoniae* i A. *Iwoffii* te minmalnih inhibitornih koncentracija ispitanih eteričnih ulja roda *Salvia*. Od osam eteričnih ulja u provedenim ispitivanjima *K. pneumoniae* je bila rezistentna na tri eterična ulja, ono iz *S. hydrangea* (45) te na eterična ulja *S. cedronella* (44) i *S. pilifera* (43). Najveću zonu inhibicije promjera 21,5 mm i najnižu MIK vrijednost od 3,5 mg/ml postiglo je eterično ulje *S. santolinifolia* iz Pakistana (50). Zone inhibicije eteričnog ulja *S. santolinifolia* su bile veće, a MIK vrijednosti niže za biljni materijal iz Pakistana, naspram onom iz Irana (50, 45). Eterična ulja *S. mirzayanii i S. santolinifolia* su također pokazala značajno antimikrobno

djelovanje sa zonama inhibicije promjera 10, odnosno 11 mm, što je posebno zanimljivo s obzirom na to da je *K. pneumoniae* bila rezistentna na ampicilin, koji je u toj studiji upotrijebljen kao pozitivna kontrola (45). Iz obrađenih radova može se zaključiti da je *K. pneumoniae* bila najosjetljivija na eterično ulje *S. santolinifolia* iz Pakistana, čija je MIK vrijednost bila značajno niža od MIK vrijednosti ostalih ispitivanih eteričnih ulja (50).

Bakterijska vrsta A*. Iwoffii* je testirana na tri eterična ulja vrsta *Salvia, S. aucheri* var*. aucheri*, *S. aramiensis* i *S. pilifera* i sva su pokazala antimikrobni potencijal. Najveću zonu inhibicije ostvarilo je eterično ulje *S. aramiensis* promjera 20 mm, dok je MIK vrijednost bila 4,5 mg/ml (43). Eterično ulje *S. aucheri* var. *aucheri* je postiglo nešto manji promjer inhibicije, 18 mm, dok je eterično ulje *S. pilifera* ostvarilo još manju zonu inhibicije od 15 mm. MIK vrijednosti su se također razlikovale, od 4,5 mg/ml kod eteričnog ulja *S. aramiensis* do 18 mg/ml kod *S. pilifera* (43).

Nadalje, u znanstvenim radovima obuhvaćenim ovim pregledom istraživano je i antimikrobno djelovanje nekih drugih bakterijskih vrsta navedenih u Tablici 2, poput vrsta iz roda *Shigella* ili *Salmonella*. Mnoge od njih su obradili Nadir i suradnici, a njihovi rezultati su pokazali značajno antimikrobno djelovanje protiv brojnih gram-negativnih bakterija eteričnog ulja *S. sanotlinifolia* (*S. dysenteriae*, *S. boydii*, *S. flexneri*, *E. coli, V. cholerae*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* i *A. baumannii*). Rezistentni su bili *P. aeruginosa, S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *H. pylori*, *C. jejuni*, *C. freundii*, *E. aerogenes*, *S. typhimurium, S. enteritidis, Y. enterocolitica* te *S. odorifera* (50).

3.2.3. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Salvia* L.

Antifungalno djelovanje eteričnih ulja ispitano je na brojnim kvasnicama i plijesnima, ali među najispitanijim i najrezistentnijim vrstama bile su *Candida albicans, Aspergillus niger* i *Saccharomyces cerevisiae*. Ukupno je obuhvaćeno antimikrobno djelovanje 21 eteričnog ulja na 25 gljiivica. Kratki pregled ispitanih eteričnih ulja, gljivica i plijesni prikazan je u Tablici 11, dok su u tablicama 12 i 13 objedinjeni podaci o antifungalnom djelovanju eteričnih ulja roda *Salvia* i njihovih pozitivnih kontrola na najčešće ispitivane vrste gljivica i plijesni u obuhvaćenim radovima.

Na svijetu postoji oko 50 000 vrsta gljivica, od kojih je veliki broj posve nepatogen za čovjeka i ima važne funkcije u prirodi u razlaganju organskih tvari, kao i u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji te medicini (43). Iako su gljivice svepristune, postoje velike razlike u pojavi određenih gljivičnih infekcija na različitim zemljopisnim područjima. Najučestalija gljivična infekcija diljem svijeta je kandidijaza, koju uzrokuje gljivica roda *Candida*. Preko 20 vrsta roda *Candida* može uzrokovati infekciju, a njihovi odgovori na antifungalnu terapiju se razlikuju. Invazivna kadnidijaza je posebno veliki problem za pacijente na intenzivnoj antibakterijskoj terapiji, kao i za one na intenzivnoj njezi ili imunosupresivnoj terapiji. Trovanje krvi kandida vrstama najčeći je oblik invazivnih kandidijaza, koje se vežu uz visoku stopu morbiditeta i mortaliteta (oko 35%), ali i višim troškovima i produženom razdoblju hospitalizacije. Ostali primjeri čestih gljivičnih infekcija su aspergiloze (uzročnik su plijesni *Aspergillus*), histoplazmoze (uzročnik je *Histoplasma capsulatum*) i dermatofitoze (uzročnici su iz rodova *Microsporum*, *Trichophyton* i *Epidermophyton*) (35).

Tablica 11. Pregled eteričnih ulja roda *Salvia* te gljivica i plijesni obuhvaćenih ovim radom

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane gljivice/ plijesni	Literatura
S. aucheri var. aucheri	Turska	*Candida albicans, Candida krusei*	43
S. aramiensis	Turska	*C. albicans, C. krusei*	43
S. cedronella	Turska	*C. albicans*	44
S. ceratophylla	Turska	*C. albicans*	76
S. chloroleuca	Iran	*C. albicans, Aspergillus niger, Saccharomyces cerevisiae*	45
S. dicroantha	Turska	*C. albicans, Candida glabrata, S. cerevisiae*	46
S. hydrangea	Iran	*C. albicans, A. niger, S. cerevisiae*	15
S. mirzayanii	Iran	*C. albicans, A. niger, S. cerevisiae*	15
S. multicaulis	Turska	*C. albicans*	76
S. palaestina	Turska	*C. albicans*	76
S. palaestina	Turska	*C. albicans*	76
S. palaestina	Saudijska Arabija	*C. albicans, Candida vaginalis*	47
S. pilifera	Turska	*C. albicans, C. krusei*	43
S. przewalskii	Poljska	*C. albicans*	48
S. repens	Južnoafrička Republika	*C. albicans, Cryptococcosis neoformans, A. niger, Alternaria alternata*	49
S. runcinata	Južnoafrička Republika	*C. albicans, C. neoformans, A.niger, A. alternata*	49

Tablica 11. (nastavak)

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane gljivice/ plijesni	Literatura
S. santolinifolia	Iran	*C. albicans, A. niger, S. cerevisiae*	15
S. sclarea	Srbija	*C. albicans, A. niger, Aspergillus ochraceus, Aspergillus flavus, Aspergillus terreus, A. alternata, Aureobasidium pullulans, Cladosporium cladosporioides, Cladosporium fulvum, Fusarium tricinctum, Fusarium sporotrichoides, Mucor mucedo, Penicillium ochrochloron, Penicillium funiculosum, Phoma macdonaldii, Puccinia helianthi, Trichoderma viride, Trichophyton mentagrophytes*	51
S. sclarea	Indija	*Trichosporon* asahii, Trichosporon *cutaneum*	77
S. stenophylla	Južnoafrička Republika	*C. albicans, C. neoformans, A.niger, A. alternata*	49
S. syriaca	Turska	*C. albicans*	76
S. triloba	Jordan	*C. albicans*	75
S. verticillata subsp. amasiaca	Turska	*C. albicans, C. glabrata, S. cerevisiae*	46
S. wiedemannii	Turska	*C. albicans, C. glabrata, S. cerevisiae*	46

Tablica 12. Zone inhibicije rasta gljivica roda *Candida* L. tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*C. albicans*		*C. glabrata*		*C. krusei*		*C. vaginalis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. aucheri var. aucheri	15 µl	13	18	-	-	16	18	-	-	(43)
S. aramiensis	15 µl	14	18	-	-	19	9	-	-	(43)
S. cedronella	n.p.	10	0,063	-	-	-	-	-	-	(44)
S. ceratophylla	50 µl[b]	R	-	-	-	-	-	-	-	(76)
S. choloroleuca	10 µl	10	>10	-	-	-	-	-	-	(15)
S. dicroantha	25 µl	-	50 [f]	-	25 [f]	-	-	-	-	(46)
S. hydrangea	n.p.	12	>10	-	-	-	--	-	-	(45)
S. mirzayanii	n.p.	19	2,5	-	-	-	-	-	-	(45)
S. multicaulis	50 µl[b]	R	-	-	-	-	-	-	-	(76)
S. palaestina	50 µl[b]	R	-	-	-	-	-	-	-	(76)
S. palaestina	50 µl	10	0,4	-	-	-	-	13	0,018	(47)
S. pilifera	15 µl	11	36	-	-	13	18	-	-	(43)

Tablica 12. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*C. albicans*		*C. glabrata*		*C. krusei*		*C. vaginalis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. santolinifolia	n.p.	14	10	-	-	-	-	-	-	(43)
S. sclarea	n.p.	-	5 [f]	-	-	-	-	-	-	(51)
S. syriaca	50 µl [c]	R	-	-	-	-	-	-	-	(76)
S. syriaca	50 µl [d]	10	-	-	-	-	-	-	-	(76)
S. verticillata subsp. *amasiaca*	25 µl [e]	-	50 g	-	50 [f]	-	-	-	-	(46)
S. wiedemannii	25 µl [e]	-	50 [f]	-	25 [f]	-	-	-	-	(46)
Amoksicilin	10 µg	O [g]	-	O [g]	-	-	-	-	-	(76)
Amfotericin B	10 µl	28	31,25	-	-	-	-	-	-	(44)
Amfotericin	10 µg	16	0,025	-	-	-	-	16	0,03	(47)
Amfotericin	10 µl	-	0,125	-	0,125	-	-	-	-	(46)
Ampicilin	n.p.	-	0,001	-	-	-	0,001	-	-	(43)
Bifonazol	n.p.	-	10 [f]	-	-	-	-	-	-	(51)

Tablica 12. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*C. albicans*		*C. glabrata*		*C. krusei*		*C. vaginalis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
Sulbaktam/ Ampicilin	20 µg	O [g]	-	O [g]	-	-	-	-	-	(76)
Nistatin	30 µg	18	3,2	-	-	-	-	-	-	(15)
Nistatin	30 µg	18	-	-	-	-	-	-	-	(45)
Nistatin	10 µl	-	0,047	-	0,188 [h]	-	-	-	-	(46)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija gljivice; ([a]) Volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk)/ masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) Razrjeđenja u apsolutnom heksanu 1:30, 1:20 i 1:10; ([c]) Razrjeđenja u apsolutnom heksanu 1:30 i 1:20; ([d]) Razrjeđenje u apsolutnom heksanu 1:10; ([e]) Razrjeđenje s 25% DMSO; ([f]) Volumen je izražen u µl/ml; ([g]) Autori navode da je gljivica osjetljiva (O) na et. ulje, ali ne navode iznos ZI.

Antifungalno djelovanje eteričnih ulja roda *Salvia* na četiri vrste gljivica roda *Candida, C. albicans, C. glabrata, C. krusei* i *C. vaginalis,* prikazano je u Tablici 12. Zone inhibicije *C. albicans* za 21 uzorak eteričnih ulja različitih *Salvia* vrsta i različitih koncentracija pokazale su da je *C. albicans* bila rezistentna na 6 eteričnih ulja, i to iz vrsta *S. ceratophylla*, *S multicaulis, S. palaestina* i *S. syriaca*. Ispitivana su tri različita razrjeđenja ovih četiriju eteričnih ulja, a jedino je eterično ulje *S. syriaca* pri razrjeđenju 1:10 ispoljilo antimikrobno djelovanje te se može zaključiti da je njegova djelotvornost ovisila o količini ulja uzetog u ispitivanje (76). Također, kvasnica nije reagirala na eterična ulja *S. chloroleuca* i *S. hydrangea* (15, 45). Ostala eterična ulja ispoljila su antimikrobno djelovanje na *C. albicans* s najvećom zonom inhibicije od 19 mm kod eteričnog ulja *S. mirzayanii* (45) i najnižom MIK vrijednost od 0,063 mg/ml kod eteričnog ulja *S. cedronella* (44). Vrijednosti zona inhibicija kod amfotericina, ampiclina, bifonazola i nistatina, njihovih pozitivnih kontrola, bile su značajno više od eteričnih ulja, što se vidi i usporedbom eteričnog ulja *S. pilifera* s ampicilinom (43). Jedino je eterično *ulje S. mirzayanii* izazvalo veću zonu inhibicije (19 mm) od nistatina, koji je služio kao pozitivna kontrola (18 mm) (45).

Ispitivano je i antimikrobno djelovanje triju eteričnih ulja na *C. glabrata*, triju na *C. krusei* te jednog eteričnog ulja na *C.* vaginalis. Najvišu MIK vrijednost od 50 µl/ml za *C. glabrata* imalo je eterično ulje *S. verticillata* subsp. *amasiaca* (46), dok su eterična ulja *S. dicroantha* i *S. wiedemannii* bila djelotvornija s nižom MIK vrijednosti od 25 µl/ml. MIK vrijednost nistatina u istoj studiji bila je 187,5 µg/ml, a amfotericina 125 µg/ml (46).

Najbolje antimikrobno djelovanje na *C. krusei*, s 14 mm promjera zone inhibicije i 18 mg/ml MIK vrijednosti, postiglo je eterično ulje *S. aramiensis*, a najslabije je djelovalo eterično ulje *S. pilifera* s 11 mm promjera zone inhibicije i MIK vrijednosti od 36 mg/ml (43). MIK

vrijednost od 0,001 mg/ml kontrolnog ampicilina bila je znatno niža od one kod eteričnih ulja (43). Antifungalno djelovanje na *C. vaginalis* promatrano je samo na eteričnom ulju *S. palaestina*, koje je ispoljio umjeren antimikrobni učinak s 10 mm promjera zone inhibicije i 0,4 mg/ml MIK vrijednosti (47). Amfotericin je upotrijebljen kao kontrolni antibiotik, ostvario je zonu inhibicije od 16 mm, a MIK vrijednost od 0,025 mg/ml.

Tablica 13. Zone inhibicije rasta plijesni *A. niger* i kvasnice *S. cerevisiae* tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*A. niger*		*S. cerevisiae*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
S. chloroleuca	10 µl	R	-	11	>10	(15)
S. dicroantha	25 µl[b]	-	-	-	12,5 [c]	(46)
S. hydrangea	n.p.	14	10	11	>10	(45)
S. mirzayanii	n.p.	20	2,5	17	5	(45)
S. santolinifolia	n.p.	13	>10	17	5	(45)
S. sclarea	n.p.	12	25	-	-	(51)
S. verticillata subsp. *amasiaca*	25 µl[b]	-	-	-	25 [c]	(46)
S. wiedemannii	25 µl[b]	-	-	-	12,5 [c]	(46)
Amfotericin	10 µl	-	-	-	0,063	(46)
Bifonazol	10 µl	24	-	-	-	(46)
Nistatin	30 µg	6,4	16	18	1,6	(15)
Nistatin	30 µg	16	-	18	-	(45)
Nistatin	10 µl	-	-	-	0,047	(46)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija gljivice; ([a]) Volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk) /masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) razrjeđenje s 25% DMSO; ([c]) volumen je izražen u µl/ml.

Antifungalno djelovanje ispitanih eteričnih ulja na plijesan *A. niger* i kvasnicu *S. cerevisiae* prikazano je u Tablici 13. Među pet ispitanih eteričnih ulja, plijesan *A. niger* je pokazala rezistenciju na eterično ulje *S. chloroleuca* te *S. santolinifolia* (15, 45). Ostala eterična ulja su ispoljila značajno antimikrobno djelovanje. Najveću zonu inhibicije promjera 20 mm te najnižu MIK vrijednost od 2,5 mg/ml postiglo je eterično ulje *S. mirzayanii* (45), a najmanju zonu inhibicije i najvišu MIK vrijednost, izuzevši rezistenciju eteričnog ulja *S. chloroleuca* (15), imala je *S. sclaera* s 12 mm promjera, odnosno 25 mg/ml (51). S obzirom da je eterično ulje *S. mirzayanii* postiglo i veće zone inhibicije od nistatina, pozitivne kontrole rabljene u tom ispitivanju (16 mm), može se zaključiti da ono ima visoki antifungalni potencijal prema plijesni *A. niger* (45).

Osjetljivost kvasnice *S. cerevisiae* ispitivana je prema djelovanju sedam eteričnih ulja roda *Salvia*, od kojih je bila osjetljiva na pet ispitanih eterična ulja, a nije reagirala na ispitivane koncentracije eteričnih ulja *S. chloroleuca i S. hydrangea* (15, 45). Najbolje rezultate pri ispitivanju zone inhibicije ostvarila su eterična ulja *S. mirzayanii* i *S. santolinifolia* (Iran) s promjerima od 17 mm, dok je nistatin, rabljen kao pozitivna kontrola u istom ispitivanju, ostvario zonu inhibicije promjera 18 mm (45). Najnižu MIK vrijednost od 25 µl/ml postiglo je eterično ulje *S. wiedemannii* (46). Općenito su MIK vrijednosti eteričnih ulja bile značajno više nego kod antimikotika. Primjerice, dok je za antimikrobno djelovanje na *S.cerevisiae* bilo potrebno >10 mg/ml eteričnog ulja *S. chloroleuca* , za nistatin, njegovu pozitivnu kontrolu, MIK vrijednost bila je 1,6 mg/ml (15).

Zaključno, najveću rezistenciju među ispitanim gljivicama pokazala je kvasnica *C. albicans*, a osim nje rezistenciju na obrađena eterična ulja pokazale su i plijesan *A. niger* i kvasnica *S.*

cerevisiae. Ostale vrste bile su osjetljive na sva ispitana eterična ulja, stoga se može zaključiti da su eterična ulja biljnih vrsta roda *Salvia* pokazala značajan antifungalni potencijal.

3.2.4. Antimikrobno djelovanje kemijskih sastavnica eteričnih ulja roda *Salvia* L.

Osim antimikrobnog djelovanja samih eteričnih ulja, dva rada koja su ispitivala eterična ulja roda *Salvia*, obuhvatila su i djelovanje najzastupljenijih kemijskih sastavnica eteričnih ulja. Najučinkovitije ispitane sastavnice bile su predstavnice oksigeniranih monoterpena, karvakrol i 1,8-cineol (15, 45). Kod eteričnog ulja *S. chloroleuca* ispitivano je djelovanje pet glavnih sastavnica, α-pinena, β-pinena, 1,8-cineola, β-kariofilena i karvakrola na gram-pozitivne (*B. subtilis*, *E. faecalis*, *S. aureus, S. epidermidis*) i gram-negativne bakterije (*E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa*) te gljivice (*A.niger, C. albicans*, *S. cerevisiae*) (15). Najjače antimikrobno djelovanje na sve ispitivane mikroorganizme ispoljio je karvakrol, sa zonama inhibicije od 23 mm za *E. faecalis do* 41 mm za *S. epidermidis,* 25 mm za *P. aeruginosa do* 35 mm za *E. coli* te 25 mm za *S. cerevisiae do 42* mg/ml za *A. niger.* MIK vrijednosti bile su od 0,2 mg/ml za *B. subtilis* i *S. epidermidis* do 0,4 mg/ml za *S. aureus, E. coli, C. albicans* i *S. cerevisiae te 0,8* mg/ml za *E. faecalis*, *P. aeruginosa* i *A. niger.* β-kariofilen, osim na *E. coli* sa zonom inhibicije od 15 mm i MIK vrijednosti 7,3 mg/ml nije djelovao protiv ispitivanih gram-negativnih bakterija, niti protiv ispitivanih gljivica. 1,8- cineol je bio djelotvoran na sve mikroorganizme, osim na *C. albicans* i *S. cerevisiae*, dok su β-pinen i α-pinen bili najmanje učinkoviti s antimikrobnim učincima samo na *B. subtilis* i *E. coli* za β-pinen te *B. subtilis, S. aureus, S. epidermidis* i *E. coli* za α-pinen (45). Na temelju rezultata može se zaključiti da su kemijske sastavnice bile učinkovitije na gram-pozitivne bakterije nego na gram-negativne bakterije i gljivice te da su karvakrol i 1,8-cineol imali šire antimkrobno djelovanje nego α- i β-pinen (15). U drugom radu, u kojem je ispitivano i antimikrobno djelovanje limonena, također je primjećeno bolje antimikrobno djelovanje α- i β-pinena na gram-pozitivne nego

na gram-negativne bakterije ili gljivice (45). Limonen iz eteričnih ulja *S. santolinifolia, S. hydrangea* i *S. mirzayanii* djelovao je protiv *B. subtilis, S. aureus, E. coli* i *K. pneumoniae* sa zonama inhibicije od 8,4 mm za *K. pneumoniae* do 18 mm za *B. subtilis* te MIK vrijednostima od 0,6 mg/ml za *S. epidermidis* i *B. subtilis* do 9,6 mg/ml za *S. cerevisiae*. Na limonen su ostale rezistentne bakterije *E. faecalis*, *S. epidermidis* i *P. aeruginosa* te plijesan *A. niger*, dok su na α- i β-pinen rezistentni bili sljedeći mikroorganizmi: *K. pneumoniae, P. aeruginosa,* A. niger, *C. albicans* i *S. cerevisiae* te *S. aureus* na α-pinen (45).

3.3. Pregled eteričnih ulja biljnih vrsta roda Thymus L.

3.3.1. Količina i kemijski sastav eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* L.

U okviru ovog specijalističkog rada obrađen je 21 znanstveni rad koji je obuhvatio podatke o količini i kemijskom sastavu eteričnih ulja 18 biljnih vrsta roda *Thymus*. Ispitivanja su obuhvatila vrste iz Azije, Europe te Afrike. Najveći broj analiziranih biljnih vrsta je bio prikupljen na području Turske (7 vrsta), Maroka (4 vrste), Sardinije (4 vrste), Portugala (3 vrste), Irana (2 vrste), Italije (2 vrste) te Tajvana (1 vrsta) i Južnoafričke Republike (1 vrsta). Eterično ulje je iz suhog biljnog materijala najčešće bilo izolirano vodenom destilacijom i analizirano kombinacijom plinske kromatografije i masene spektroskopije. U Tablici 14 je prikazan kratki pregled ispitivanih eteričnih ulja roda *Thymus*, njihovo biljno i zemljopisno porijeklo i kemijski sastav.

Tablica 14. Pregled kemijskog sastava eteričnih ulja i porijekla biljnih vrsta iz roda *Thymus* L. obuhvaćenih ovim radom

Biljna vrsta	Porijeklo biljnog materijala	Prinos eteričnog ulja (%)	Broj izoliranih sastavnica	Zastupljenost sastavnica (% ulja)	Najzastupljenije sastavnice	Literatura
T. argaeus Boiss. & Bal.	Turska	0,8	15	55,09	linalool (49,9%), α-terpineol (15%), linalilacetat (9,7%, timol (9,4%), karvakrol (4,8%)	78
T. broussonetti Boiss.	Maroko	1,6	36	93,1	p-cimen (21,0%), (-)-borneol (16,5%), α-pinen (11,8%) i timol (11,3%), kamfen (8,5%)	79
T. broussonetii	Maroko	1,20	31	89,16	karvakrol (39,77%), (-)-borneol (12,03%)	80
T. camphoratus Hoffmanns. & Link.	Portugal	-	16	81,2[a] 85,3[b]	[a] 1,8-cineol (56,7%), limonen (9,0%) [b] 1,8-cineol (62,7 %), limonen (9,9%)	81
T. capitatus L., komercijalna	Sardinija	-	19	98	timol (46,1%), α-pinen (25,2%), linalool (10,3%)	(7)
T. capitatus, samonikla	Sardinija	-	19	95,9	timol (29,3%), p-cimen (26,4%), karvakrol (10,8%), γ-terpinen (8,4%)	(7)
T. cappadocicus Boiss.	Turska	3,3	8	99,87	timol (70.82%), p-cimen (9.52%), γ-terpinen (9.27%), karvakrol (4.65%)	(82)
T. fallax Fisch. & CA Mey.	Turska	1,91	35	99	karvakrol (66,1%); p-cimen (7,1%), (E)-β-ocimen (5,5%) i γ-terpinen (4,6%)	(83)

Tablica 14. (nastavak)

Biljna vrsta	Porijeklo biljnog materijala	Prinos eteričnog ulja (%)	Broj izoliranih sastavnica	Zastupljenost sastavnica (% ulja)	Najzastupljenije sastavnice	Literatura
T. herba-barona Loisel.	sjeverna Sardinija	-	19	99,4	timol (50,3%), p-cimen (27,6%), γ-terpinen (6,1%)	(7)
T. herba-barona	centralna Sardinija	-	19	90,2	timol (46,9%), karvakrol (20,6%), p-cimen (5,2%)	(7)
T. lotocephalus G. Lopez & R. Morales	Portugal	-	23	80	linalilacetat (14,1%), 1,8-cineol (12,7%), linalool (11,4%), a-pinen (8,4%)	81
T. maroccanus Ball.	Maroko	1,0	49	96,7	karvakrol (33,0%), p-cimen (25,3%), α-pinen (11,6%), γ-terpinen (4,6%)	(79)
T. maroccanus	Maroko	1,38	10	90,68	karvakrol (76,35%)	80
T. mastichina L. *subsp. mastichina*	Portugal	-	23	91,6 [a] 92,8 [b]	[a] 1,8-cineol (46,9%),kamfor (6,7%), a-terpineol (5,2%); [b] 1,8-cineol (42,4%), kamfor (7,7%), (-)-borneol (6,8%)	81
T. migricus Klokov & Des.-Shost.	Turska	0,29	26	80,4	α-terpineol (30.6%), timol (20.7%), α-terpinil acetat (14.9%), (-)-borneol (5,5%)	(83)
T. pubescens Boiss. et Kotschy ex Celak	Iran	0,55 [c] 0,57 [d]	28 [c, d]	97,15 [c] 94,18 [d]	karvakrol (64,79% [c], 48,75% [d]), timol (11,94% [c], 13,88% [d]), γ-terpinen (6,12% [c], ispod 0,1% d), p-cimen (2,85% [c], 12,65%[d])	(84)

Tablica 14. (nastavak)

Biljna vrsta	Porijeklo biljnog materijala	Prinos eteričnog ulja (%)	Broj izoliranih sastavnica	Zastupljenost sastavnica (% ulja)	Najzastupljenije sastavnice	Literatura
T. pubescens var. *pubescens*	Turska	0,08	53	96,1	cis-karveol (29.6%) i α-terpineol (10.8%); (E)-β-ocimen (9,5%), (E)-nerolidol (7,5%), 1,8-cineol (7,1%), β-kariofilen (5,6%), karvakrol (5,6%)	(83)
T. revolutus Celak	Turska	1,67	22	98,16	karvakrol (43.13%), γ-terpinen (20.86%), p-cimen (13,94%), β-kariofilen (5,40%), timol (4,62%)	(85)
T. serpyllum L.	Iran	1,65 [c] 0,90 [d]	27 [c] 30 [d]	98,26 [c] 94,62 [d]	γ-terpinen (21,90% [c] i 22,69% [d]), p-cimen (21,12% [c] i 20,68% [d]), timol (18,73% [c] i 18,68% [d]), β-kariofilen (7,11% [c] i 6,68% [d]), germakren D (5,9% [c] i 5,13% [d])	(84)
T. vulgaris L.	Tajvan	0,28	10	64,31	p-cimen (14,63%), timol (21,46%); lindreol (5,41%)	(86)
T. vulgaris	Južnoafrička Republika	-	22	>95	timol (60.18%), p-cimen (15.44%)	(87)
T. vulgaris, 2 klona	Italija	-	44	96,7 i 95,8	p-cimen (16,3% i 20,8%), timol (21.8% i 5.1%), linalool (3.2% i 13.3%)	(88)

([a]) eterično ulje cvijeta; ([b]) eterično ulje lista; ([c]) prije cvatnje; ([d]) tijekom cvatnje

3.3.1.1. Količina eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* L.

U većini istraživanja obuhvaćenih ovim radom prinos eteričnih ulja ispitivanih biljnih vrsta roda *Thymus* bio je izražen u postocima, u rasponu od 0,08 do 3,3% na suhi biljni materijal. Najmanji prinos eteričnog ulja dobiven je iz biljne vrste *T. pubescenes* (83), a najveći prinos dala je vrsta *T. cappadocicus (*82); obje biljke su prikupljene na području Turske. Razlike u prinosima eteričnih ulja zabilježene su i kod istih biljnih vrsta različitog zemljopisnog porijekla. Primjerice, dok je iz *T. pubescenes* prikupljene u Turskoj izolirano tek 0,08%, ista biljna vrsta prikupljena na području Irana dala je 0,55% eteričnog ulja prije cvatnje i 0,57% tijekom cvatnje (84). Veća odstupanja u različitim fazama cvatnje pokazala je biljka *T. serpyllum* prikupljena na području Irana, koja je dala 1,65% eteričnog ulja prije cvatnje, a 0,90% tijekom cvatnje (84). Nadalje, razlike u prinosu eteričnih ulja zabilježene su i kod iste biljne vrste prikupljene na sličnom području. Primjerice, za eterično ulje biljne vrste *T. maroccanus,* prikupljene na području Maroka, Belaqziz i suradnici (79) odredili su prinos od 1% eteričnog ulja, dok su Fadli i suradnici (80) odredili 1,38% eteričnog ulja. Rezultati obuhvaćenih radova su pokazali da su, osim mogućih razlika u prinosu eteričnih ulja iste biljne vrste istog ili različitog zemljopisnog porijekla, moguće i razlike u prinosu eteričnih ulja iste biljne vrste prikupljene u različitoj fazi cvatnje biljke. Rezultati su potvrdili zapažanja Arraiza i suradnika (89) da se, osim pedoloških razlika, prinos eteričnih ulja može razlikovati zbog različitih faza cvatnje biljaka.

3.3.1.2. Kemijski sastav eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* L.

Za biljne vrste roda *Thymus* obuhvaćene ovim radom udio najzastupljenijih kemijskih sastavnica se razlikovao unutar različitih biljnih vrsta, ali i iste biljne vrste istog ili različitog zemljopisnog porijekla. Ipak, u svim radovima je pokazana dominacija monoterpena, na prvom mjestu oksigeniranih monoterpena te monoterpenskih ugljikovodika. Među najzastupljenijim sastavnicima u nekoliko radova zabilježeni su i predstavnici seskviterpenskih ugljikovodika i oksigeniranih seskviterpena.

Glavni predstavnici oksigeniranih monoterpena bili su karvakrol, timol, 1,8-cineol, linalool i linalilacetat, a u manjem udjelu bili su prisutni i cis-karveol, α-terpineol, (-)-borneol i kamfor. Karvakrol je u većini ispitivanih eteričnih ulja bio jedna od dominantnih sastavnica, dok je isključivo najzastupljenija sastavnica bio u 6 eteričnih ulja, s najvećim udjelom od 76,35% kod eteričnog ulja vrste *T. maroccanus* prikupljene na području Maroka (80). Timol je također bio najzastupljenija sastavnica u 6 ispitivanih radova, s najvećim udjelom od 70,82% kod *T. cappadocicus* prikupljenog na podučju Turske. 1,8-cineol je bio najzastupljeniji u eteričnim uljima cvijeta i lista dviju biljnih vrsta iz Portugala*, T. mastichina* subsp. *mastichina* i *T. camphoratus*, s najvećim udjelom od 56,7% u eteričnom ulju cvijeta *T. camphoratus* (81). Glavni predstavnici monoterpenskih ugljikovodika bili su p-cimen i γ-terpinen, limonen, α-pinen te (E)-β-ocimen. p-cimen je bio glavna sastavnica eteričnih ulja dvaju klonova biljke *T. vulgaris* u udjelima od 20,8% i 16,3% (88), kao i biljke *T. broussonetti* (21,0%) (79), a u najvećem udjelu od 25,3% ipak je bio identificiran u eteričnom ulju vrste *T. maroccanus* prikupljene na području Maroka (79).

Osim monoterpena, među najzastupljenijim sastavnicama identificirani su i predstavnici seskviterpenskih ugljikovodika (β-kariofilen, germakren D) te oksigeniranih seskviterpena ((E)-nerolidol). β-kariofilen je u značajnom udjelu iznad 5% identificiran u eteričnim uljima

biljaka *T. revolutus, T. serpyllum* te *T. pubesecnes* prikupljenih u Turskoj. Germakren D je u značajnom udjelu (5,9%) identificiran jedino u eteričnom ulju biljke *T. serpyllum* prikupljene u Iranu, a (E)-nerolidol u eteričnom ulju *T. pubescens* prikupljenog u Turskoj (7,5%) (83).

Razlike u sastavu eteričnih ulja iste biljne vrste prikupljene u isto vrijeme (u fazi cvatnje), ali na različitom području (Turska i Iran), bile su vidljive usporedbom analize eteričnih ulja vrste *T. pubescens*. U eteričnom ulju *T. pubescens* iz Irana karvakrol je bio dominantna sastavnica s udjelom od 48,75%, a zatim timol s udjelom od 13,88% (84), dok su eteričnim uljem *T. pubescens* prikupljenog na području Turske dominirali cis-karveol (29.6%) i α-terpineol (10.8%) (83).

Također, zapažene su razlike u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu eteričnog ulja *T. pubescens* prikupljenog u Iranu u fazi prije i tijekom cvatnje. Prije cvatnje zabilježen je udio karvakrola od 64,79%, a u cvatnji 48,75%; γ-terpinena 6,12% prije cvatnje, a ispod 0,1% u cvatnji te p-cimena, 12,65% u cvatnji i 2,85% prije cvatnje (84).

Nadalje, eterična ulja iste biljne vrste prikupljene na sličnom području također su pokazala razliku u zastupljenosti sastavnica, kao npr. kod biljne vrste *T. maroccanus* iz Maroka. Fadli i suradnici (80) su zabilježili karvakrol kao glavnu sastavnicu eteričnog ulja u udjelu od 76,35%, dok su ostale sastavnice zabilježene u malim udjelima. Belaqziz i suradnici (79) su za eterično ulje iste biljne vrste iz Maroka odredili 33% karvakrola te tri monoterpenska ugljikovodika u ukupnom udjelu od 41,5%.

Osim toga, u obuhvaćenim radovima zapažene su i razlike u kemijskom sastavu eteričnih ulja različitih biljnih organa iste biljne vrste. Primjerice, iako su u eteričnom ulju lista i cvijeta biljke *T. mastichina* subsp. *mastichina* redom dominirali monoterpeni, u eteričnom ulju lista zabilježeni su 1,8-cineol, kamfor i (-)-borneol, a u eteričnom ulju cvijeta 1,8-cineol, kamfor i α-terpineol kao dominantne sastavnice (81). Također, kvalitativne i kvantitativne razlike u

kemijskom sastavu zapažene su i među eteričnim uljima samonikle i komercijalne biljke *T. capitatus,* prikupljene na području Sardinije (7). Radovi su ukazali i na kvantitativne razlike u kemijskom sastavu eteričnih ulja dvaju klonova biljke *T. vulgaris* (88).

3.3.2. Antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta roda Thymus L.

U istraživanjima obuhvaćenim ovim radom pregledano je antimikrobno djelovanje 18 eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* na ukupno 27 bakterija, 13 gram-pozitivnih i 21 gram-negativnu bakteriju. Među ispitivanim mikroorganizmima obuhvaćene su neke od najučestalijih bakterija uključenih u patogenezu mnogih bolesti i uzročnika kvarenja brojnih prehrambenih, kozmetičkih i farmaceutskih proizvoda.

Kratki pregled ispitivanih eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* te svih bakterijskih vrsta obuhvaćenih ovim radom prikazan je u Tablici 15, dok Tablice 16-22 prikazuju antibakterijsko djelovanje, odnosno vrijednosti zona inhibicija i minimalnih inhibitornih koncentracija eteričnih ulja i antibiotika (pozitivnih kontrola) za većinu bakterijskih vrsta obuhvaćenih ovih radom. Uz biljno porijeklo eteričnog ulja u tablicama je naveden i volumen eteričnog ulja, odnosno razrjeđenja eteričnog ulja upotrijebljenog u testu disk difuzije za određivanje zona inhibicija rasta bakterija.

Tablica 16 prikazuje antimikrobno djelovanje eteričnih ulja na četiri vrste bacila, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. cereus* i *B. brevis* te standardnih antibiotika koji su služili kao pozitivne kontrole eteričnim uljima. Slično je s dalje prikazanim tablicama, u kojima su prikazane antimikrobne vrijednosti za eterična ulja, zatim za njihove pozitivne kontrole, radi lakše usporedbe njihove učinkovitosti.

Najčešće ispitivane gram-pozitivne bakterijske vrste u obuhvaćenim radovima bile su *S. aureus, B. subtilis* i *L. monocytogenes*. Najrezistentnije gram-pozitivne bakterijske vrste bile su *S. aureus* i *B. subtilis,* a osim njih rezistenciju na jedno eterično ulje vrste *Thymus* pokazale su i *L. monocytogenes* i *M. luteus.* Rezultati pregledanih radova su sistematizirani u tablice prema rodovima bakterijskih vrsta, odnosno prema biljnim vrstama iz kojih su izolirana promatrana eterična ulja, a rezultati antibakterijskog djelovanja eteričnih ulja *Thymus* vrsta na gram-pozitivne bakterijske vrste prikazani su u Tablicama 16-18.

Najčešće ispitivane gram-negativne bakterijske vrste, a ujedno i najrezistentnije, bile su *E. coli, P. aeruginosa* i *K. pneumoniae*. Osim njih rezistenciju na jedno eterično ulje pokazale su i *P. vulgaris* i *Y. enterocolitica*. Rezultati antibakterijskog djelovanja eteričnih ulja *Thymus* vrsta na gram-negativne bakterijske vrste prikazani su u Tablicama 19-22. Usporedba rezultata antimikrobnog djelovanja eteričnih ulja biljnih vrsta *Thymus* roda pokazala je da su gram-pozitivne bakterije bile osjetljivije na ispitana eterična ulja, dok je veći broj gram-negativnih bakterija pružao rezistenciju na veći broj eteričnih ulja.

Tablica 15. Pregled eteričnih ulja roda *Thymus* i bakterijskih vrsta obuhvaćenih ovim radom

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane bakterijske vrste		Literatura
		Gram-pozitivne	Gram-negativne	
T. argaeus	Turska	*S. aureus, Bacillus brevis, B. cereus, B. subtilis, B. subtilis* var. *niger, M. smegmatis*	*Aeromonas hydrophila, E. coli, K. pneumoniae, Morganella morganii, P. mirabilis, P. aeruginosa, Y. enterocolitica*	(78)
T. broussonetti	Maroko	*B. subtilis, S. auerus*	*E. coli, P. aeruginos, V. cholerae, Salmonella* spp.	(79)
T. broussonetii	Maroko	*B. subtilis, B. cereus, M. luteus, S. aureus*	*E. coli, K. pneumoniae, V. Cholerae, P. aeruginosa, Enterobacter cloacae, Salmonella sp.*	(80)
T. camphoratus	Portugal	*S. aureus, L. monocytogenes*	*E. coli, P. mirabilis, Salmonella* subsp.	(81)
T. capitatus, komercijalna	Sardinija	*S. aureus, S. epidermidis, E. faecalis, B. cereus, L. monocytogenes, S. typhimurium*	*E. coli, P. aeruginosa, Y. enterocolitica,*	(7)
T. capitatus, samonikla	Sardinija	*S. aureus, S. epidermidis, E. faecalis, B. cereus, L. monocytogenes, S. typhimurium*	*E. coli, P. aeruginosa, Y. enterocolitica,*	(7)
T. cappadocicus	Turska	*B. brevis, B. cereus, B. subtilis, L. monocytogenes, S. typhimurium, S. aureus*	*A. hydrophila, E. coli, K. pneumoniae, P. mirabilis, P. aeruginosa, Y. enterocolitica, M. morganii*	(82)
T. daenensis	Iran	*S. aureus, B. subtilis*	*E. coli*	(80)

Tablica 15. (nastavak)

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane bakterijske vrste		Literatura
		Gam-pozitivne	Gram-negativne	
T. fallax	Turska	*L. monocytogenes, S. aureus*	*E. aerogenes, E. coli, P. aeruginosa, P. vulgaris, Serratia marcescens*	(83)
T. eigii	Turska	*M. luteus, B. megaterium, B. brevis, E. faecalis, M. smegmatis, S. aureus, S. faecalis*	*Pseudomonas pyocyaneus, E. coli, A. hydrophila, Y. enterocolitica*	(91)
T. herba-barona	Sjeverna Sardinija	*S. aureus, S. epidermidis, E. faecalis, B. cereus, L. monocytogenes, S. typhimurium*	*E. coli, P. aeruginosa, Y. enterocolitica,*	(7)
T. herba-barona	Centralna Sardinija	*S. aureus, S. epidermidis, E. faecalis, B. cereus, L. monocytogenes, S. typhimurium*	*E. coli, P. aeruginosa, Y. enterocolitica,*	(7)
T. lotocephalus	Portugal	*S. aureus, L. monocytogenes*	*E. coli, P. mirabilis, Salmonella* subsp.	(81)
T. maroccanus	Maroko	*B. subtilis, S. auerus*	*E. coli, P. aeruginos, V. cholerae, Salmonella* spp.	(79)
T. maroccanus	Maroko	*B. subtilis, B. cereus, M. luteus, S. aureus*	*E. coli, K. pneumoniae, V. Cholerae, P. aeruginosa, E. cloacae, Salmonella sp.*	(80)
T. migricus	Turska	*L. monocytogenes, S. aureus*	*E. aerogenes, E. coli, P. aeruginosa, P. vulgaris, S. marcescens, C. jejuni*	(83)
T. mastichina subsp. *mastichina*	Portugal	*S. aureus, L. monocytogenes*	*E. coli, P. mirabilis, Salmonella* subsp.	(81)

Tablica 15. (nastavak)

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane bakterijske vrste		Literatura
		Gam-pozitivne	Gram-negativne	
T. pubescens	Iran	*S. aureus, B. subtilis*	*E. coli, P. aeruginosa, K. pneumoniae*	(84)
T. pubescens var. *pubescens*	Turska	*L. monocytogenes, S. aureus*	*E. aerogenes, E. coli, P. aeruginosa, P. vulgaris, S. marcescens, C. jejuni*	(83)
T. revolutus	Turska	*B. megaterium, B. subtilis, B. cereus, S. aureus, L. monocytogenes, M. luteus, M. smegmatis*	*E. coli, P. aeruginosa, P. vulgaris, K. pneumoniae*	(85)
T. serpyllum	Iran	*S. aureus, B. subtilis*	*E. coli, P. aeruginosa, K. pneumoniae*	(84)
T. serpyllum	Jordan	*S. aureus*	*E. coli, P. aeruginosa*	(74)
T. vulgaris	Mađarska	*S. epidermidis*	*E. coli*	(92)
T. vulgaris	Tajvan	*S. aureus, Propionibacterium acnes*	*E. coli, P.aeruginosa*	(86)
T. vulgaris	Brazil	*S. auereus*	-	(24)
T. vulgaris	Slovačka	-	*E. coli*	(93)
T. vulgaris	Iran	*S. aureus, B. subtilis*	*E. coli*	(90)
T. vulgaris	Jordan	*S. aureus*	*E. coli, P. aeruginosa*	(74)
T. vulgaris	Južnoafrička Republika	*S. aureus , E. faecalis, B. cereus*	*E. coli, Moraxella cattarhalis*	(87)

Tablica 16. Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta roda *Bacillus* L. tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*B. brevis*		*B. cereus*		*B. megaterium*		*B. subtilis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. argaeus	50 µl [b]	11	-	10	-	-	-	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [c]	10	-	9	-	-	-	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [d]	R	-	R	-	-	-	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [e]	R	-	R	-	-	-	R	-	(78)
T. broussonetti	10 µl	-	-	-	-	-	-	33	-	(79)
T. broussonetii	10 µl	-	-	40,3	0,171	-	-	39,7	0,085	(80)
T. cappadocicus	50 µl	13,5	0,5	13	0,5	-	-	9	0,5	(82)
T. daenensis	2 µl	-	-	-	-	-	-	35,7	-	(90)
T. daenensis	3 µl	-	-	-	-	-	-	38,4	-	(90)
T. daenensis	4 µl	-	-	-	-	-	-	40,4	-	(90)
T. daenensis	5 µl	-	-	-	-	-	-	43	-	(90)
T. eigii	0,5 µl	16	0,00005	-	-	19	0,00025	-	-	(91)
T. eigii	1 µl	35		-	-	27		-	-	(91)
T. maroccanus	10 µl	-	-	-	-	-	-	43	-	(79)

Tablica 16. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*B. brevis*		*B. cereus*		*B. megaterium*		*B. subtilis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. maroccanus	10 µl	-	-	39,7	0,086	-	-	42	0,086	(80)
T. pubescens	1:1 [h]	-	-	-	-	-	-	72[f], 75[g]	-	(84)
T. pubescens	1:2 [h]	-	-	-	-	-	-	52[f], 62[g]	-	(84)
T. pubescens	1:4 [h]	-	-	-	-	-	-	36[f], 50[g]	-	(84)
T. pubescens	1:8 [h]	-	-	-	-	-	-	30[f], 44[g]	-	(84)
T. pubescens	1:16 [h]	-	-	-	-	-	-	16[f], 26[g]	-	(84)
T revolutus	0,1 µl	-	-	7	-	8	-	7	-	(85)
T revolutus	0,2 µl	-	-	9	-	9	-	8	-	(85)
T revolutus	0,4 µl	-	-	14	-	14	-	12	-	(85)
T revolutus,	0,8 µl	-	-	20	-	27	-	19	-	(85)
T revolutus	1,6 µl	-	-	23	-	29	-	21	-	(85)
T. serpyllum	1:1 [h]	-	-	-	-	-	-	52[f], 60[g]	-	(84)
T. serpyllum	1:2 [h]	-	-	-	-	-	-	40[f], 50[g]	-	(84)
T. serpyllum	1:8 [h]	-	-	-	-	-	-	18[f], 24[g]	-	(84)
T. serpyllum	1:4 [h]	-	-	-	-	-	-	24[f], 32[g]	-	(84)

Tablica 16. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*B. brevis*		*B. cereus*		*B. megaterium*		*B. subtilis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. serpyllum	1:16 [h]	-	-	-	-	-	-	10 [f], 14 [g]	-	(84)
T. vulgaris	2 µl	-	-	-	-	-	-	30,4	-	(90)
T. vulgaris	3 µl	-	-	-	-	-	-	32,4	-	(90)
T. vulgaris	5 µl	-	-	-	-	-	-	39,7	-	(90)
T. vulgaris	4 µl	-	-	-	-	-	-	33	-	(90)
Amoksicilin	25 µg	12	-	34	-	-	-	25	-	(82)
Ampicilin	n.p.	-	-	-	-	-	-	17	-	(90)
Ampicilin	10 µg	8	-	31	-	-	-	24	-	(78)
Ampicilin	10 µg	8	-	31	-	-	-	24	-	(82)
Cefiksim	10 µg	-	-	25,7	0,062	-	-	16	0,002	(80)
Ciprofloksacin	5 µg	-	-	25,3	0,002	-	-	36	0,002	(80)
Eritromicin	15 µg	-	0,0024	-	-	-	0,0025	-	-	(80)
Gentamicin	30 µg	-	-	-	-	-	-	36	-	(79)
Gentamicin	10 µg	16	-	11	-	-	-	12	-	(78)
Gentamicin	15 µg	-	-	42,7	0,002	-	-	40	0,002	(80)
Karbenicilin	10 µg	9	-	38	-	-	-	24	-	(78)

Tablica 16. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*B. brevis*		*B. cereus*		*B. megaterium*		*B. subtilis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
Pristinamicin	15 µg	-	-	25,7	0,004	-	-	22	0,004	(80)
Tetraciklin	30 µg	-	-	-	-	-	-	22	-	(79)
Tetraciklin	30 µg	23	-	25	-	-	-	27	-	(78)
Vankomicin	30 µg	27	-	19	-	-	-	20	-	(78)
Vankomicin	30 µg	16	-	-	-	16	-	-	-	(91)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk) / masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) 20% razrjeđenje u DMSO; ([c]) 10% razrjeđenje u DMSO; ([d]) 5% razrjeđenje u DMSO; ([e]) 2% razrjeđenje u DMSO; ([f]) prije cvatnje ([g]) tijekom cvatnje; ([h]) razrjeđenje eteričnog ulja.

Tablica 16 prikazuje antimikrobno djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus*. Sva ispitivana eterična ulja su pokazala umjerenu aktivnost protiv bakterija roda *Bacillus*, osim eteričnog ulja *T. argaeus*, na koje su pri određenim razrjeđenjima bakterije bile rezistentne (78). Najveću zonu inhibicije od 72 mm od svih ispitivanih eteričnih ulja na četiri bakterije ispoljilo je eterično ulje *T. pubescens* (iz biljnog materijala prikupljenog u Iranu u fazi cvatnje) na *B. subtilis* (84). Najmanju zonu inhibicije od 7 mm dalo je eterično ulje *T. revolutus* (volumena 0,1 µl) prema *B. cereus* i *B. subtilis* (85). Najnižu MIK vrijednost od 0,00005 mg/ml postiglo je eterično ulje *T. eigii* za *B. brevis* (91), a najvišu MIK vrijednost od 0,5 mg/ml eterično ulje *T. cappadocicus* za *B. brevis, B. cereus* i *B. subtilis* (90).

B. brevis je bila rezistentna na otopine s 2% i 5% eteričnog ulja *T. argaeus*, ali je bila osjetljiva na otopine s 10% i 20% ulja sa zonama inhibicije 10 i 11 mm (78). Na temelju ovih rezultata možemo zaključiti da je djelotvornost eteričnog ulja *T. argaeus* na *B. brevis* ovisila o količina ulja uzetog u ispitivanje. Najveću zonu inhibicije od 35 mm i najnižu MIK vrijednost od 0,00005 mg/ml postiglo je eterično ulje *T. eigii* pri volumenu od 1 µl (91). Ovi rezultati upućuju na visoki antimikrobni potencijal eteričnog ulja *T. eigii*, koje je postiglo veću zonu inhibicije i nižu MIK vrijednost od pozitivnih kontrola. Amoksicilin, ampicilin, gentamicin, karbenicilin, tetraciklin i vankomicin su u znanstvenim istraživanjima služili kao pozitivne kontrole eteričnim uljima, a zone inhibicije koje su postigli na *B. brevis* kretale su se u rasponu od 8 do 27 mm.

I bakterija *B. cereus* bila je rezistentna na otopine s 2% i 5% eteričnog ulja *T. argaeus* (78). Najveću zonu inhibicije od 40,3 mm postiglo je eterično ulje *T. broussonetii* (80) a najnižu MIK vrijednost od 0,086 mg/ml postiglo je eterično ulje *T. maroccanus* (79). Ostala eterična ulja su ispoljila umjereno antimikrobno djelovanje u usporedbi s kontrolnim antibioticima

(amoksicilin, ampicilin, cefiksim, ciprofloksacim, gentamicin, pristinamicin, tetraciklin, vankomicin), koji su ostvarili zone inhibicije od 11 do 42,7 mm te MIK vrijednosti od 0,002 do 0,062 mg/ml.

Na bakteriju *B. megaterium* svi uzorci su ispoljili antimikrobno djelovanje, s najvećom zonom inhibicije od 29 mm za eterično ulje *T. revolutus* pri volumenu od 1,6 µl i najmanjom zonom inhibicije od 8 mm pri volumenu od 0,1 µl istog eteričnog ulja (85). Zabilježena je i MIK vrijednost eteričnog ulja *T. eigii* od 0,00025 mg/ml pri volumenima 0,5 µl i 1 µl, što je u usporedbi s eritromicinom, kontrolnim antibiotikom u istoj studiji, 10 puta viša MIK vrijednost (91).

Bakterija *B. subtilis* bila je rezistentna na sva razrjeđenja eteričnog ulja *T. argaeus* (78). Najveću zonu inhibicije od 75 mm postiglo je eterično ulje *T. pubcescens* iz biljnog materijala ubranog u fazi cvatnje (84). Najmanju zonu inhibicije od 7 mm imalo je eterično ulje *T. revolutus* volumena 1 µl (85). Najmanju MIK vrijednost od 0,086 mg/ml postiglo je eterično ulje *T. broussonetii* (80), a najvišu od 0,5 mg/ml *T. cappadocicus* (82). Eterično ulje *T. pubcescens* ubranog prije cvatnje ostvarilo je značajno manju zonu inhibicije (55 mm) od biljnog materijala ubranog u fazi cvatnje, a isto pravilo zabilježeno je za sve ispitane volumene eteričnog ulja *T. pubesencs* i *T. serpyllum*, što navodi na zaključak da je antimikrobno djelovanje ovih dvaju eteričnih ulja ovisilo o vremenu branja biljnog materijala, odnosno da je bolje antimikrobno djelovanje imalo eterično ulje biljnog materijala ubranog u fazi cvatnje (84). Posebno je zanimljivo i što je eterično ulje *T. pubescens* ubranog u fazi cvatnje ostvarilo veću zonu inhibicije od amoksicilina, ampicilina, cefiksima, ciprofloksacima, gentamicina, vankomicina i drugih kontrolnih antibiotika, koji su dali zone inhibicije *B. subtilis* promjera 20-40 mm. Ovisnost o fazi cvatnje biljke, odnosno o vremenu branja biljnog

materijala, zapažena je i kod eteričnog ulja T. *broussonetti* izoliranog iz biljnog materijala iz Maroka (79).

Ispitivana eterična ulja imala su umjereno antimikrobno djelvoanje u usporedbi s amoksicilinom, ampicilinom, cefiksimom, ciprofloksacimom, gentamicinom, vankomicinom i drugim kontrolnim antiiboticima, koji su pokazali zone inhibicije *B. subtilis* promjera 20-40 mm te MIK vrijednosti 0,002 do 0,004 mg/ml.

Tablica 17. Zone inhibicije rasta bakterijske vrste *Staphylococcus aureus* L. tretirane s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*S. auerus*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. argaeus	50 µl [b]	9	-	(78)
T. argaeus	50 µl [c]	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [d]	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [e]	R	-	(78)
T. broussonetti	10 µl	19	-	(79)
T. broussonetii	10 µl	22,7	0,339	(80)
T. camphoratus	3 µl	6 [f] 7,3 [g]	-	(81)
T. cappadocicus	50 µl	15,5	1	(82)
T. daenensis	2 µl	31,7	-	(90)
T. daenensis	3 µl	33,7	-	(90)
T. daenensis	4 µl	35	-	(90)

Tablica 17. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*S. auerus*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. daenensis	5 µl	38,4	-	(90)
T. eigii	0,5 µl	19	0,0005	(91)
T. eigii	1 µl	28		(91)
T. fallax	20 µl [h]	10	0,25	(83)
T. lotocephalus	3 µl	13	-	(81)
T. maroccanus	10 µl	25,7	0,342	(80)
T. maroccanus	10 µl	23	-	(79)
T. mastichina	3 µl	13,7 [f] 15,7 [g]	-	(81)
T. migricus	20 µl [h]	9	0,5	(83)
T. pubescens	1:1 [m]	75 [i], 75 [j]	-	(84)
T. pubescens	1:2 [m]	50 [i], 53 [j]	-	(84)
T. pubescens	1:4 [m]	38 [i], 40 [j]	-	(84)
T. pubescens	1:8 [m]	29 [i], 34 [j]	-	(84)
T. pubescens	1:16 [m]	17 [i], 19 [j]	-	(84)
T. pubescens var. pubescens	20 µl [e]	8	0,5	(83)
T revolutus	0,1 µl	8	-	(85)
T revolutus	0,2 µl	10	-	(85)
T revolutus	0,4 µl	15	-	(85)
T revolutus	0,8 µl	19	-	(85)
T revolutus	1,6 µl	20	-	(85)
T. serpyllum	1:1 [n]	28 [i], 45 [j]	-	(84)

Tablica 17. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*S. auerus*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. serpyllum	1:2 [n]	15 [i], 34 [j]	-	(84)
T. serpyllum	1:4 [n]	14 [i], 22 [j]	-	(84)
T. serpyllum	1:8 [m]	10 [i], 14 [j]	-	(84)
T. serpyllum	1:16 [m]	R [i], 10 [j]	-	(84)
T. serpyllum	300 µg	9 [k], 12 [l]	-	(74)
T. serpyllum	200 µg	7 [k], 9 [l]	-	(74)
T. serpyllum	100 µg	5 [k, l]	-	(74)
T. vulgaris	n.p.	-	0,002	(86)
T. vulgaris	2 µl	25	-	(90)
T. vulgaris	3 µl	29,7	-	(90)
T. vulgaris	4 µl	33	-	(90)
T. vulgaris	5 µl	35,7	-	(90)
T. vulgaris	300 µg	9 [k], 7 [l]	-	(74)
T. vulgaris	200 µg	5	-	(74)
T. vulgaris	100 µg	4	-	(74)
T. vulgaris	n.p.	-	0,5	(87)
Amoksicilin	25 µg	17	-	(82)
Ampicilin	15 µg	23	-	(90)
Ampicilin	10 µg	16	-	(74)
Cefiksim	10 µg	R	0,015	(80)
Ciprofloksacin [n]	15 µl	25[k], 28 [l]	-	(74)
Ciprofloksacin [n]	10 µl	18 [k], 10[l]	-	(74)
Ciprofloksacin [n]	5 µl	5 [k], 10 [l]	-	(74)

Tablica 17. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*S. auerus*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
Ciprofloksacin	5 µg	27,3	0,031	(80)
Eritromicin	15 µg	0,0026	-	(91)
Gentamicin	30 µg	22	-	(79)
Gentamicin	15 µg	31	0,008	(80)
Kloramfenikol	n.p.	22	-	(83)
Pristinamicin	15 µg	26	0,125	(80)
Tetraciklin	30 µg	20	-	(79)
Vankomicin	30 µg	20	-	(91)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk)/ masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) 20% razrjeđenje u DMSO; ([c]) 10% razrjeđenje u DMSO; ([d]) 5% razrjeđenje u DMSO; ([e]) 2% razrjeđenje u DMSO; ([f]) eterično ulje cvijeta; ([g]) eterično ulje lista; ([h]) razrjeđenje u DMSO; ([i]) prije cvatnje; ([j]) tijekom cvatnje; ([k]) klinički soj bakterije; ([l]) referentni soj bakterije; ([m]) razrjeđenje eteričnog ulja; ([n]) razrjeđenje u DMSO pri 100 µg/ml.

Antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja vrsta *Thymus* na *S. aureus* prikazano je u Tablici 17. Ispitivano je djelovanje 15 eteričnih ulja pri različitim volumenima. Najveću zonu inhibicije od 75 mm ostvarilo je eterično ulje *T. pubescens* prikupljenog na području Irana (84), a najmanju MIK vrijednost od 0,002 mg/ml eterično ulje *T. vulgaris* prikupljenog na području Jordana (90). Bakterija *S. aureus* bila je rezistentna na 2%, 5% i 10%-tnu otopinu eteričnog ulja *T. argaeus* (78) te na eterično ulje *T. serpyllum* prikupljenog u fazi prije cvatnje pri razrjeđenju 1:16 (84). Međutim, bakterija je bila osjetljiva na manja razrjeđenja ovih eteričnih ulja (78, 84) te se može zaključiti da je njihova antimikrobna aktivnost prema *S. aureus* ovisila o količini upotijebljenoj u ispitivanju. Uzevši u obzir i da su zone inhibicije eteričnih ulja biljaka *T. serpyllum* i *T. pubescens* ubranih u fazi cvatnje sve redom bile veće od

onih ubranih prije cvatnje, može se zaključiti da je njihovo antimikrobno djelovanje ovisilo o fazi cvatnje biljke (2).

Antimikrobna učinkovitost se očekivano povećavala s količinom eteričnog ulja upotrijebljenom za ispitivanje, što je vidljivo i na primjeru eteričnog ulja *T. vulgaris,* koje je ostvarilo zone inhibicije raspona od 25 do 35,7 mm (90). Nadalje, razlike su postojale i u djelovanju eteričnih ulja na klinički i referentni soj bakterije *S. aureus*, pri čemu je eterično ulje *T. serpyllum* bolje rezultate ostvarilo na referentni soj (84), dok je eterično ulje *T. vulgaris* nešto bolje djelovanje ispoljio na klinički soj bakterije (90). Osim toga, zapažena je razlika u antimikrobnom djelovanju eteričnog ulja *T. mastichina* iz cvijeta i lista biljke, pri čemu je eterično ulje lista pokazalo bolje antimikrobno djelovanje (81). U usporedbi s kontrolnim antibioticima, poput amoksicilina, cefiksima, eritromicina i vankomicina, eterična ulja su pokazala umjereno antimikrobno djelovanje. Zanimljiva je /činjenica da su pojedina eterična ulja ispoljila veće zone inhibicije od kontrolnih antibiotika (84, 90). Na temelju rezultata može se zaključiti da posebno eterično ulje *T. pubescens* posjeduje visoki antimikrobni potencijal prema *S. aureus*.

Tablica 18**.** Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta *E. faecalis, L. monocytogenes, M. luteus, M. smegmatis* tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. faecalis*		*L. monocytogenes*		*M. luteus*		*M. smegmatis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. argaeus	50 µl [b]	-	-	-	-	-	-	10	-	(78)
T. argaeus	50 µl [c]	-	-	-	-	-	-	9	-	(78)
T. argaeus	50 µl [d]	-	-	-	-	-	-	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [e]	-	-	-	-	-	-	R	-	(78)
T. broussonetii	10 µl	-	-	-	-	31	0,171	-	-	(80)
T. camphoratus	3 µl	-	-	7,3 [g] 8,3 [h]	-	-	-	-	-	(81)
T. capitatus, komercijalna	-	-	0,9	-	0,9	-	-	-	-	(7)
T. capitatus, samonikla	-	-	0,9	-	0,45	-	-	-	-	(7)
T. cappadocicus	50 µl	-	-	12	0,5	-	-	-	-	(82)
T. eigii	0,5 µl	15	0,00015	-	-	17	0,00005	15	0,0001	(91)
T. eigii	1 µl	30		-	-	36		31		(91)
T. fallax	20 µl [f]	-	-	10	0,25	-	-	-	-	(83)
T. herba-barona, sj. Sardinija	-	-	0,9	-	0,45	-	-	-	-	(7)

Tablica 18. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. faecalis*		*L. monocytogenes*		*M. luteus*		*M. smegmatis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. herba-barona, centr. Sardinija	-	-	0,45	-	0,225	-	-	-	-	(7)
T. lotocephalus	3 µl	-	-	13	-	-	-	-	-	(81)
T. maroccanus	10 µl	-	-	-	-	31	0,086	-	-	(80)
T. mastichina	3 µl	-	-	9,7 [g] 12,3 [h]	-	-	-	-	-	(81)
T. migricus	20 µl [f]	-	-	9	0,25	-	-	-	-	(83)
T. pubescens var. *pubescens*	20 µl [f]	-	-	10	0,25	-	-	-	-	(84)
T revolutus	0,1 µl	-	-	R	-	R	-	7	-	(85)
T revolutus	0,2 µl	-	-	7	-	7	-	9	-	(85)
T revolutus	0,4 µl	-	-	10	-	10	-	11	-	(85)
T revolutus	0,8 µl	-	-	13	-	12	-	17	-	(85)
T revolutus	1,6 µl	-	-	16	-	22	-	21	-	(85)
Amoksicilin	25 µg	-	-	33	-	-	-	-	-	(82)
Ampicilin	10 µg	-	-	28	-	-	-	-	-	(82)
Cefiksim	10 µg	-	-	-	-	24	0,062	-	-	(80)
Cefatoksim	30 µg	-	-	15	-	32	-	13	-	(85)
Ciprofloksacin	5 µg	-	-	-	-	24,3	0,002	-	-	(80)

Tablica 18. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. faecalis*		*L. monocytogenes*		*M. luteus*		*M. smegmatis*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
Eritromicin	15 µg	-	-	-	-	-	0,0034	-	0,0027	(91)
Gentamicin	15 µg	-	-	-	-	26,7	0,002	-	-	(80)
Kloramfenikol	n.p.	-	-	24	-	-	-	-	-	(83)
Oflaksacin	5 µg	-	-	34	-	25	-	34	-	(85)
Penicilin	10 µg	-	-	10	-	32	-	16	-	(85)
Pristinamicin	15 µg	-	-	-	-	21,7	0,004	-	-	(80)
Vankomicin	30 µg	-	-	-	-	21	-	22	-	(91)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk)/ masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) 20% razrjeđenje u DMSO; ([c]) 10% razrjeđenje u DMSO; ([d]) 5% razrjeđenje u DMSO; ([e]) 2% razrjeđenje u DMSO; ([f]) razrjeđenje u DMSO; ([g]) eterično ulje cvijeta; ([h]) eterično ulje lista.

Antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja na *E. faecalis, L. monocytogenes, M. luteus* i *M. smegmatis* prikazano je u Tablici 18. Najbolje rezultate postiglo je eterično ulje *T. eigii* pri volumenu od 1 µl na bakteriju *M. luteus*, sa zonom inhibicije od 36 mm (91). Rezistentna je bila jedino *L. monocytogenes* na eterično ulje *T. revolutus* volumena 0,1 µl (85) te *M. smegmatis* na tri volumena eteričnog ulja *T. argaeus* (78). Najbolje antimikrobno djelovanje prema *E. faecalis* postiglo je eterično ulje *T. eigii* pri volumenu 1 µl sa zonom inhibicije promjera 30 mm i MIK vrijednosti od 0,00015 mg/ml (91). Za ostala eterična ulja ispitivane su samo MIK vrijednosti, a one su bile značajno više nego za kontrolne antibiotike.

L. monocytogenes je bila rezistentna na eterično ulje *T. revolutus* volumena 0,1 µl, ali isto je eterično ulje pri volumenu 1,6 µl postiglo i najveću zonu inhibicije od 16 mm (85). Na temelju ovih rezultata može se zaključiti da je antimikrobni učinak eteričnog ulja ovisio o količini ulja upotrijebljenog u ispitivanju te da je eterično ulje imalo umjeren antimikrobni potencijal (85). Kontrolni antibiotici u istoj studiji su ostvarili raspon zona inhibicija od 10 do 34 mm, pri čemu je penicilin imao najmanju, a oflaksacin najveću zonu inhibicije. Najniža MIK vrijednost od 0,225 mg/ml zabilježena je kod eteričnog ulja *T. herba-barona*, a najviša kod eteričnog ulja *T. capitatus* (7). Zabilježene su razlike i u zonama inhibicije eteričnog ulja različitih biljnih dijelova, pri čemu je eterično ulje cvijeta *T. camphoratus* i *T. mastichina* pokazalo manju zonu inhibicije od eteričnog ulja lista (81).

Najveću zonu inhibicije *M. luteus* od 36 mm i najnižu MIK vrijednost od 0,00005 mg/ml postiglo je eterično ulje *T. eigii* volumena 0,1 µl (91). Slični su rezultati zabilježeni i za *M. smegmatis*, gdje je eterično ulje *T. eigii* ostvarilo najveću zonu inhibicije od 31 mm te MIK vrijednost od 0,0001 mg/ml. Na temelju ovih podataka može se zaključiti da je eterično ulje *T. eigii* posjedovalo značajan antimikrobni potencijal prema *M. luteus* i *M. smegmatis*.

Najslabije antimikrobno djelovanje na *M. luteus* imalo je eterično ulje *T. revolutus*, na koje je bakterija bila rezistentna kada je promatrano njegovo djelovanje pri 0,1 µl (85). *M. smegmatis* je bila rezistentna na 2% i 5%-tnu otopinu eteričnog ulja *T. argaues* (78). U usporedbi s vankomicinom, koji je ostvario najmanju zonu inhibicije od ispitivanih kontrolnih antibiotika (21 mm) te penicilinom, koji je ostvario najveću zonu inhibicije (32 mm), eterična ulja su prema *M. luteus* ostvarila umjerenu antimikrobnu aktivnost. Zanimljivo je, ipak, istaknuti da je eterično ulje *T. revolutus* pri 1,6 µl ostvarilo veću zonu inhibicije od svih kontrolnih antibiotika (36 mm) (85). Antimikrobna aktivnost ispitanih eteričnih ulja na *M. smegmatis* je bila nešto slabija od njihovog djelovanja na *M. luteus* i u usporedbi s kontrolnim antibioticima, od kojih je cefatoksim dao najmanju zonu inhibicije (13 mm), a oflaksacin najveću (34 mm) (85).

Tablica 19. Zone inhibicije rasta bakterijske vrste *E. coli* L. tretirane s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. coli*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. argaeus	50 µl [b]	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [c]	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [d]	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [e]	R	-	(78)
T. broussonetti	10 µl	21	-	(79)
T. broussonetii	10 µl	25,3	0,339	(80)
T. camphoratus	3 µl	6,6 [g], 9,6 [h]	-	(81)
T. cappadocicus	50 µl	8,5	0,5	(82)
T. daenensis	2 µl	15	-	(90)
T. daenensis	3 µl	18,4	-	(90)
T. daenensis	4 µl	23	-	(90)
T. daenensis	5 µl	27,7	-	(90)
T. eigii	0,5 µl	11	0,00015	(91)
T. eigii	1 µl	27		(91)
T. fallax	20 µl [f]	9	0,25	(83)
T. lotocephalus	3µl	R [i], R [j]	-	(81)
T. maroccanus	10 µl	30,7	0,342	(80)
T. maroccanus	10 µl	23	-	(79)
T. mastichina	3 µl	8 [g], 14 [h]	-	(81)
T. migricus	20 µl [f]	9	0,25	(83)
T. pubescens	1:1 [n]	49 [i], 55 [j]	-	(84)
T. pubescens	1:2 [n]	40 [i], 45 [j]	-	(84)
T. pubescens	1:4 [n]	34 [i], 41 [j]	-	(84)
T. pubescens	1:8 [n]	26 [i], 30 [j]	-	(84)
T. pubescens	1:16 [n]	10 [i], 14 [j]	-	(84)

Tablica 19. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. coli*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. pubescens var. pubescens	20 µl [f]	9	0,25	(83)
T revolutus	0,1 µl	R	-	(85)
T revolutus	0,2 µl	R	-	(85)
T revolutus	0,4 µl	8	-	(85)
T revolutus	0,8 µl	11	-	(85)
T revolutus	1,6 µl	16	-	(85)
T. serpyllum	1:1 [n]	32 [i], 45 [j]	-	(84)
T. serpyllum	1:2 [n]	26 [i], 32 [j]	-	(84)
T. serpyllum	1:4 [n]	16 [i], 24 [j]	-	(84)
T. serpyllum	1:8 [n]	9 [i], 11 [j]	-	(84)
T. serpyllum	1:16 [n]	R [i], R [j]	-	(84)
T. serpyllum	300 µg	11 [k], 5 [l]	-	(74)
T. serpyllum	200 µg	8 [k], 5 [l]	-	(74)
T. serpyllum	100 µg	4 [k], 3 [l]	-	(74)
T. vulgaris	*20* µl	26	1,5	(92)
T. vulgaris	n.p.	-	0,0019	(86)
T. vulgaris	2 µl	12,4	-	(90)
T. vulgaris	3 µl	13,4	-	(90)
T. vulgaris	4 µl	15	-	(90)
T. vulgaris	5 µl	19,7	-	(90)
T. vulgaris	4 µl	15	-	(90)
T. vulgaris	5 µl	19,7	-	(90)

Tablica 19. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*E. coli*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. vulgaris	300 µg	9	-	(74)
T. vulgaris	200 µg	8 [k], 7 [l]	-	(74)
T. vulgaris	100 µg	5	-	(74)
T. vulgaris	n.p.	-	0,5	(87)
Amoksicilin	25 µg	12	-	(82)
Ampicilin	10 µg	6,5	-	(78)
Ampicilin	10 µg	6,4	-	(82)
Ciprofloksacin [m]	15 µl	30 [k], 30 [l]	-	(74)
Ciprofloksacin [m]	10 µl	22 [k], 23 [l]	-	(74)
Ciprofloksacin [m]	5 µl	13	-	(74)
Ciprofloksacin	5 µg	-	0,0005	(87)
Eritromicin	15 µg	-	0,009	(91)
Gentamicin	30 µg	29	-	(79)
Gentamicin	15 µg	19,7	-	(90)
Kloramfenikol	n.p.	22	-	(83)
Norfloksacin	n.p.	-	0,0039	(80)
Novobiocin	n.p.	-	0,25	(80)
Pristinamicin	15 µg	26	0,125	(80)
Tetraciklin	30 µg	11	-	(79)
Tetraciklin	30 µg	21	-	(78)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk)/ masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) 20% razrjeđenje u DMSO; ([c]) 10% razrjeđenje u DMSO; ([d]) 5% razrjeđenje u DMSO; ([e]) 2% razrjeđenje u DMSO; ([f]) razrjeđenje u DMSO; ([g]) eterično ulje cvijeta; ([h]) eterično ulje lista; ([i]) prije cvatnje; ([j]) tijekom cvatnje; ([k]) klinički soj bakterije; ([l]) referentni soj bakterije; ([m]) razrjeđenje u DMSO pri 100 µg/ml); ([n]) razrjeđenje eteričnog ulja.

Antimikrobno djelovanje eteričnih ulja na *E. coli* prikazano je u Tablici 19. Bakterija je testirana na 15 eteričnih ulja različitih volumena, a bila je rezistentna na 5 eteričnih ulja, *T. cappadocicus* (82), *T. lotocephalus* (81), zatim na na četiri razrjeđenja (od 1:1 do 1:16) eteričnog ulja *T. argaeus* (78), na eterično ulje *T. serpyllum* pri razrjeđenju 1:16, odnosno pri razrjeđenju 1:8 za materijal prikupljen prije cvatnje (84) te na eterično ulje *T. revolutus* pri volumenima 0,1 µl i 0,2 µl (85). Bolje antimikrobno djelovanje redom su pokazala eterična ulja biljnog materijala prikupljenog u fazi cvatnje, nego prije cvatnje a ujedno je i ukupno najveću zonu inhibicije od 45 mm ostvarilo eterično ulje *T. serpyllum* prikupljenog tijekom cvatnje (84). Najnižu MIK vrijednost od 0,0019 mg/ml ostvarilo je eterično ulje biljke *T. vulgaris* iz Tajvana (86).

Očekivano, eterična ulja su pokazala bolje antimikrobno djelovanje s većom količinom ulja upotrijebljenog u isptivanjima. Tako je, primjerice, 0,5 µl eteričnog ulja *T. eigii* pokazalo zonu inhibicije od 11 mm, dok je 1 µl pokazalo zonu inhibicije od 29 mm (86). Osim toga, zapaženo je i bolje antimikrobno djelovanje eteričnog *T. serpyllum* na klinički soj bakterije (zone inhibicije 4-11 mm) naspram referentnog soja bakterije (zone inhibicije 3-5 mm) (84). Zone inhibicije kontrolnih antibiotika u obuhvaćenim studijama kretale su se u rasponu od 6,4 mm za ampicilin (78) do 29 mm za gentamicin (79); najnižu MIK vrijednost od 0,0005 mg/ml imao je ciprofloksacin (87), a najvišu novobiocim u iznosu od 0,25 mg/ml (80). Uzevši u obzir rezistenciju koju je bakterija pokazala te usporedbu s kontrolnim antibioticima, može se zaključiti da su tek pojedina eterična ulja *Thymus* ispoljila značajno antimikrobno djelovanje na *E. coli*. Zanimljiva je, ipak, bila činjenica da je najveća zona inhibicije eteričnog ulja *T. pubescens* (45 mm) bila značajno veća od najveće zone inhibicije koju su ostvarile pozitivne kontrole (gentamicin, 29 mm).

Tablica 20. Zone inhibicije rasta bakterijske vrste *P. aeruginosa* L. tretirane s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*P. aeruginosa*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. argaeus	50 µl [b]	12	-	(78)
T. argaeus	50 µl [c]	8	-	(78)
T. argaeus	50 µl [d]	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [e]	R	-	(78)
T. broussonetti	10 µl	9	-	(79)
T. broussonetii	10 µl	10	5,48	(80)
T. cappadocicus	50 µl	13,5	0,5	(82)
T. fallax	20 µl [f]	9	0,25	(83)
T. maroccanus	10 µl	9,3	5,52	(80)
T. maroccanus	10 µl	11	-	(79)
T. mastichina	3 µl	R [g], R [h]	-	(81)
T. migricus	20 µl [f]	9	0,25	(83)
T. pubescens	1:1 [l]	12 [g], 10 [h]	-	(84)
T. pubescens	1:2 [l]	10 [g], 8 [h]	-	(84)
T. pubescens	1:4 [l]	R [g], R [h]	-	(84)
T. pubescens	1:8 [l]	R [g], R [h]	-	(84)
T. pubescens	1:16 [l]	R [g], R [h]	-	(84)
T. pubescens var. *pubescens*	20 µl [f]	8	0,5	(83)
T. revolutus	0,1 µl	R	-	(85)
T. revolutus	0,2 µl	R	-	(85)
T. revolutus	0,4 µl	R	-	(85)

Tablica 20. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*P. aeruginosa*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. revolutus	0,8 µl	7	-	(85)
T. revolutus	1,6 µl	10	-	(85)
T. serpyllum	1:1 [l]	R [g], R [h]	-	(84)
T. serpyllum	1:2 [l]	R [g], R [h]	-	(84)
T. serpyllum	1:4 [l]	R [g], R [h]	-	(84)
T. serpyllum	1:8 [l]	R [g], R [h]	-	(84)
T. serpyllum	1:16 [l]	R [g], R [h]	-	(84)
T. serpyllum	300 µg	10 [i], 8 [j]	-	(74)
T. serpyllum	200 µg	7 [i], 6 [j]	-	(74)
T. serpyllum	100 µg	6 [i], 5 [j]	-	(74)
T. vulgaris	n.p.	-	>0,02	(86)
T. vulgaris	300 µg	11 [i], 9 [j]	-	(74)
T. vulgaris	200 µg	8	-	(74)
T. vulgaris	100 µg	7 [i], 6 [j]	-	(74)
Amoksicilin	25 µg	30	-	(82)
Ampicilin	10 µg	25	-	(82)
Cefatoksim	30 µg	60	-	(85)
Ciprofloksacin [k]	15 µl	42 [i], 39 [j]	-	(74)
Ciprofloksacin [k]	10 µl	30 [i], 22 [j]	-	(74)
Ciprofloksacin [k]	5 µl	20 [i], 12 [j]	-	(74)
Eritromicin	n.p.	-	0,25	(80)

Tablica 20. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*P. aeruginosa*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
Gentamicin	30 µg	23	-	(79)
Imipenem	n.p.	-	0,0039	(80)
Karbenicilin	100 µg	7	-	(78)
Kloramfenikol	n.p.	23	0,25	(83)
Kloramfenikol	n.p.	-	0,25	(80)
Nitrofuran	n.p.	-	0,5	(80)
Tetraciklin	30 µg	9	-	(79)
Vankomicin	30 µg	6,5	-	(78)
Vankomicin	30 µg	8	-	(85)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk)/ masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) 20% razrjeđenje u DMSO; ([c]) 10% razrjeđenje u DMSO; ([d]) 5% razrjeđenje u DMSO; ([e]) 2% razrjeđenje u DMSO; ([f]) razrjeđenje u DMSO; ([g]) prije cvatnje; ([h]) tijekom cvatnje; ([i]) klinički spoj; ([j]) referentni spoj; ([k]) razrjeđenje u DMSO pri 100 µg/ml; ([l]) razrjeđenje eteričnog ulja.

Antimikrobno djelovanje eteričnih ulja na *P. aeruginosa* prikazano je u Tablici 20. Bakterija je testirana na 12 eteričnih ulja različitih volumena, a bila je rezistentna na 5 eteričnih ulja ispitivanih u različitim količinama. Najveću zonu inhibicije od 13,5 mm dalo je eterično ulje *T. cappadocicus* (82), a najnižu MIK vrijednost od 0,25 mg/ml ostvarila su eterična ulje *T. fallax* i *T. migricus* (83). Bakterija je bila rezistentna na eterično ulje *T. mastichina* (81), na dva od četiri razrjeđenja eteričnog ulja *T. argaeus* (78) i *T. revolutus* (85), na tri od četiri ispitivana razrjeđenja eteričnog ulja *T. pubescens* (84) te na eterično ulje *T. serpyllum* prikupljenog na području Irana (84) . Međutim, djelovanje nekih eteričnih ulja ovisilo je o upotrijebljenoj

količini, tako je eterično ulje *T. pubescens* pri razrjeđenju 1:1 i 1:2 ostvarilo antimikrobno djelovanje sa zonama inhibicije 8-12 mm (84), eterično ulje *T. revolutus* je pri volumenima od 0,8 i 1,6 µl ostvarilo zone inhibicije od 7 mm i 10 mm (85), a 10% i 20%-tne otopine eteričnog ulja *T. argaeus* su ostvarile zone inhibicije od 8 mm i 12 mm (78). Razlike su zapažene i u djelovanju eteričnih ulja ovisno o vremenu branja biljnog materijala, primjerice kod eteričnog ulja *T. pubescens* (84). Zone inhibicije kontrolnih antibiotika u obuhvaćenim studijama su se kretale u rasponu od 6,5 mm za vankomicin (78) do 60 mm za cefatoksim (85), najnižu MIK vrijednost od 0,0039 mg/ml imao je imipenem (80), a najvišu nitrofuran u iznosu od 0,5 mg/ml (80). Uzevši u obzir učestalost rezistencije koju je *P. aeruginosa* pokazao te usporedbu s kontrolnim antibioticima, može se zaključiti da je većina eteričnih ulja *Thymus* roda ispoljila relativno slabo antimikrobno djelovanje na bakteriju s dobrim antimikrobnim potencijalom za pojedina ispitivana ulja.

Tablica 21. Zone inhibicije rasta bakterijske vrste *K. pneumoniae* L. tretirane s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*K. pneumoniae*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. argaeus	50 µl [b]	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [c]	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [d]	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [e]	R	-	(78)
T. broussonetii	10 µl	25,6	0,685	(80)
T. cappadocicus	50 µl	9	1	(82)
T. maroccanus	10 µl	25,3	0,342	(80)
T. pubescens	1:1 [h]	62 [f], 62 [g]	-	(84)
T. pubescens	1:2 [h]	46 [f], 56 [g]	-	(84)
T. pubescens	1:4 [h]	30 [f], 40 [g]	-	(84)

Tablica 21. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*K. pneumoniae*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. pubescens	1:8 [h]	24 [f], 34 [g]	-	(84)
T. pubescens	1:16 [h]	12 [f], 14 [g]	-	(84)
T revolutus	0,1 µl	R	-	(85)
T revolutus	0,2 µl	7	-	(85)
T revolutus	0,4 µl	8	-	(85)
T revolutus	0,8 µl	13	-	(85)
T revolutus	1,6 µl	16	-	(85)
T. serpyllum	1:1 [h]	22 [f], 36 [g]	-	(84)
T. serpyllum	1:2 [h]	14 [f], 24 [g]	-	(84)
T. serpyllum	1:4 [h]	10 [f], 12 [g]	-	(84)
T. serpyllum	1:8 [h]	9 [f], 10 [g]	-	(84)
T. serpyllum	1:16 [h]	R [f], R [g]	-	(84)
Amoksicilin	25 µg	16	-	(82)
Cefatoksim	30 µg	11	-	(85)
Gentamicin	10 µg	6,5	-	(78)
Gentamicin	10 µg	6,5	-	(82)
Imipinem	n.p.	-	0,0078	(80)
Nitrofuran	n.p.	-	0,5	(80)
Oflaksacin	5 µg	32	-	(85)
Tetraciklin	30 µg	15	-	(78)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk)/ masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) 20% razrjeđenje u DMSO; ([c]) 10% razrjeđenje u DMSO; ([d]) 5% razrjeđenje u DMSO; ([e]) 2% razrjeđenje u DMSO; ([f]) prije cvatnje; ([g]) tijekom cvatnje; ([h]) razrjeđenje eteričnog ulja.

Antimikrobno djelovanje 7 eteričnih ulja različitih volumena na *K. pneumoniae* prikazano je u Tablici 21. Najveću zonu inhibicije od 62 mm ostvarilo je eterično ulje *T. pubescens* pri razrjeđenju 1:1 (84), a najnižu MIK vrijednost od 0,342 mg/ml ostvarilo je eterično ulje *T. maroccanus* (80). Bakterija je bila rezistentna na eterično ulje *T. argaeus* pri svim razrjeđenjima ulja (78), dok je, za razliku od njega, na antimikrobno djelovanje eteričnih ulja *T. revolutus* i *T. serpyllum* utjecala količina ulja upotrijebljenog u ispitivanjima (85, 84). Primjerice, bakterija je bila rezistentna na *T. revolutus* pri volumenu od 0,1 µl, ali je pri volumenima od 0,2 - 1,6 µl ostvarila zone inhibicije od 7 do 16 mm (85). Također, kod eteričnih ulja *T. pubescens* i *T. serpyllum* zapažen je jači antibakterijski učinak iz materijala ubranog u cvatnji, nego prije cvatnje (85, 84). Na temelju rezultata zapaženo je da je antimikrobno djelovanje eteričnih ulja ovisilo o količini upotrijebljenog ulja, s očekivano boljim učinkom pri većim količinama ulja, te da je učinak ovisio i o fazi branja biljnog materijala iz kojeg je eterično ulje izolirano (84, 85). Posebno je zanimljiva činjenica da je najveća zona inhibicije koju su postigla eterična ulja (T. pubescens, 62 mm) značajno veća od najveće zone inhibicije koju su postigli kontrolni antibiotici. Naime, oflaksacin je postigao najveću inhibiciju od 32 mm (85). Najmanju zonu inhibicije od 6,5 mm postigao je gentamicin (82).

Tablica 22. Zone inhibicije rasta bakterijskih vrsta *P. vulgaris, Salmonella* spp., *V. Cholerae* i *Y. enterocolitica* tretiranih s eteričnim uljima i pozitivnim kontrolama i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*P. vulgaris*		*Salmonella* spp.		*V. Choleeae*		*Y. enterocolitica*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. argaeus	50 µl [b]	-	-	-	-	-	-	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [c]	-	-	-	-	-	-	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [d]	-	-	-	-	-	-	R	-	(78)
T. argaeus	50 µl [e]	-	-	-	-	-	-	R	-	(78)
T. broussonetii	10 µl	-	-	19	-	40	-	-	-	(80)
T. camphoratus	3 µl	-	-	8,6 [g] 8 [h]	-	-	-	-	-	(81)
T. cappadocicus	50 µl	-	-	-	-	-	-	11	0,5	(82)
T. eigii	0,5 µl	-	-	-	-	-	-	19	0,00015	(91)
T. eigii	1 µl	-	-	-	-	-		25		(91)
T. fallax	20 µl [f]	9	0,25	-	-	-	-	-	-	(83)
T. lotocephalus	3 µl	-	-	8,3	-	-	-	-	-	(81)
T. maroccanus	10 µl	-	-	29	-	37	-	-	-	(79)
T. maroccanus	10 µl	-	-	21,3	-	38,3	0,086	-	-	(80)
T. mastichina	3 µl	-	-	8 [g] 8,7 [h]	-	-	-	-	-	(81)
T. migricus	20 µl [f]	10	0,25	-	-	-	-	-	-	(83)

Tablica 22. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*P. vulgaris*		*Salmonella* spp.		*V. Choleeae*		*Y. enterocolitica*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. pubescens var. *pubescens*	20 µl [f]	9	0,25	-	-	-	-	-	-	(84)
T revolutus	0,1 µl	R	-	-	-	-	-	-	-	(85)
T revolutus	0,2 µl	8	-	-	-	-	-	-	-	(85)
T revolutus	0,4 µl	10	-	-	-	-	-	-	-	(85)
T revolutus	0,8 µl	14	-	-	-	-	-	-	-	(85)
T revolutus	1,6 µl	20	-	-	-	-	-	-	-	(85)
Amoksicilin	25 µg	-	-	-	-	-	-	13	-	(82)
Ampicilin	10 µg	-	-	-	-	-	-	8	-	(82)
Cefiksim	10 µg	-	-	23,6	-	37,3	-	-	-	(80)
Ciprofloksacim	5 µg	-	-	10,3	-	41,3	-	-	-	(80)
Eritromicin	15 µg	-	-	-	-	-	-	7	-	(78)
Kloramfenikol	n.p.	23	-	-	-	-	-	-	-	(83)
Kolistin	n.p.	-	-	-	-	-	0,25	-	-	(80)
Gentamicin	30 µl	-	-	25	-	37	-	-	-	(79)
Norfloksacin	n.p.	-	-	-	0,0039	-	0,0019	-	-	(80)
Oflaksacin	5 µg	29	-	-	-	-	-	-	-	(85)

Tablica 22. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*P. vulgaris*		*Salmonella* spp.		*V. Choleeae*		*Y. enterocolitica*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
Penicilin	10 µg	9	-	-	-	-	-	-	-	(85)
Pristinamicin	15 µg	-	-	R	-	10,7	-	-	-	(80)
Tetraciklin	30 µl	-	-	15	-	35	-	-	-	(79)
Tetraciklin	30 µg	-	-	-	-	-	-	22	-	(78)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk)/ masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) 20% razrjeđenje u DMSO; ([c]) 10% razrjeđenje u DMSO; ([d]) 5% razrjeđenje u DMSO; ([e]) 2% razrjeđenje u DMSO; ([f]) razrjeđenje u DMSO; ([g]) eterično ulje cvijeta; ([h]) eterično ulje lista.

Zone inhibicije rasta *P. vulgaris, Salmonella* spp*., V. Cholerae* i *Y. enterocolitica* te minimalne inhibitorne koncentracije ispitivanih eteričnih ulja prikazani su u Tablici 21. Osjetljivost *P. vulgaris* je ispitivana na 4 eterična ulja, od kojih je rezistentna bila na eterično ulje *T. revolutus* volumena 0,1 µl (85). Na ostale upotrijebljene volumene ovog eteričnog ulja bakterija je bila osjetljiva sa zonama inhibicije u rasponu od 8 do 20 mm, koje su rasle proporcionalno s upotrijebljenom količinom eteričnog ulja. Upravo je eterično ulje *T. revolutus* pri volumenu 1,6 µl dalo najveću zonu inhibicije od 20 mm (85). Ostala eterična ulja, izuzevši rezistenciju bakterije, su dala zone inhibicije od 8 do 14 mmm. MIK vrijednost je određena za eterična ulja *T. fallax, T. migricus* i *T. pubescens* var. *pubescens* i za sve je iznosila 0,025 mg/l (83, 84). U usporedbi s penicilinom, koji je dao najmanju zonu inhibicije od korištenih kontrolnih antibiotika (9 mm) te oflaksacina, koji je dao najveću zonu inhibicije (29 mm) (85), ispitivana eterična ulja su pokazala umjerenu antimikrobnu aktivnost prema *P. vulgaris*.

Osjetljivost *Salmonella* spp. je ispitivana na pet eteričnih ulja i sva ulja su pokazala antimikrobno djelovanje. Najveću zonu inhibicije od 29 mm ostvarilo je eterično ulje *T. maroccanus* (79), a najmanju od 8,3 mm eterično ulje *T. lotocephalus* (81). MIK vrijednosti nisu određivane. Razlike u antimikrobnom djelovanju zabilježene su za eterična ulja iz cvijeta i lista *T. camphoratus* i *T. mastichina* (81), a veću zonu inhibicije od 8,6 mm pokazalo je eterično ulje cvijeta *T. camphoratus*, dok je eterično ulje lista pokazalo zonu inhibicije od 8 mm. Kod eteričnog ulja *T. mastichina* bila je obrnuta situacija te je eterično ulje lista dalo veću zonu inhibicije od 8,7 mm, naspram 8 mm iz cvijeta (81). U usporedbi s ciprofloksacimom i cefiksimom, koji su se upotrijebili kao pozitivne kontrole u ispitivanju, i koji su ostvarili zone inhibicije od 10,3 i 23,6 mm (80), eterična ulja su postigla relativno

dobro antimikrobno djelovanje, dok pristinamicin, koji je upotrijebljen kao jedan od kontrolnih antibiotika u ovom istraživanju, nije bio djelotvoran protiv *Salmonella* spp (80).

Na gram-negativnu bakteriju *V. cholerae* ispitivano je djelovanje dvaju eteričnih ulja, od kojih je eterično ulje *T. broussonetti* ostvarilo značajnu zonu inhibicije od 40 mm (80), dok je eterično ulje *T. maroccanus*, ispitivano u dva zasebna istraživanja, dalo zone inhibicije od 37 mm (79) i 38,3 mm (80). Nešto veću zonu inhibicije postiglo je eterično ulje *T. maroccanus* biljnog materijala prikupljenog između ožujka i travnja 2009, dok je drugi materijal prikupljen u lipnju 2006. Oba materijala su prikupljena na području Maroka i na temelju rezultata može se zaključiti da njihova eterična ulja nisu pokazala značajne razlike u antimikrobnom djelovanju (79, 80). Usporedbom sa cefiksimom, ciprofloksacimom, pristinamicinom i tetraciklinom, koji su u istraživanjima služili kao pozitivne kontrole i ostvarili zone inhibicije od 10,7 mm do 41,3 mm (80), može se zaključiti da su ispitivana eterična ulja imaju relativno visok antimikrobni potencijal prema *V. cholerae*.

Osjetljivost bakterije *Y. enterocolitica* je ispitivana na tri eterična lja, od kojih se eterično ulje *T. argaeus* nije pokazalo uspješnim u inhibiciji bakterije pri četiri različite koncentracije (78), dok je najbolji rezultat sa zonom inhibicije od 19 mm i MIK vrijednosti od 0,00015 mg/ml ostvarilo eterično ulje *T. eigii* pri volumenu od 1 µl. Pri volumenu od 0,5 µl isto eterično ulje je, očekivano, dalo manju zonu inhibicije (11 mm) (91).

3.3.3. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* L.

U obuhvaćenim radovima ispitano je antifungalno djelovanje 14 eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Thymus* na 7 gljivica, od kojih 4 kvasnice i 3 plijesni. Najčešće ispitivane vrste bile su kvasnice *Candida albicans* i *Saccharomyces cerevisiae*. Kratki pregled ispitanih eteričnih ulja, gljivica i plijesni prikazan je u Tablici 23, dok su u Tablici 24 objedinjeni podaci o antifungalnom djelovanju eteričnih ulja i njihovih pozitivnih kontrola na najčešće ispitivane vrste gljivica i plijesni u radovima.

Tablica 23. Pregled eteričnih ulja roda *Thymus* te gljivica i plijesni obuhvaćenih ovim radom

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane gljivice/ plijesni	Literatura
T. argaeus	Turska	*C. albicans, S. cerevisiae*	(78)
T. camphoratus	Portugal	*C. albicans*	(81)
T. capitatus, komercijalna	Sardinija	*C. albicans, S. cerevisiae*	(7)
T. capitatus, samonikla	Sardinija	*C. albicans, S. cerevisiae*	(7)
T. cappadocicus	Turska	*C. albicans, S. cerevisiae*	(82)
T. daenensis	Iran	*A. niger, C. albicans*	(90)
T. eigii	Turska	*Kluyveromyces fragilis, S. cerevisiae*	(91)
T. fallax	Turska	*C. albicans*	(83)
T. herba-barona	sjeverna Sardinija	*C. albicans, S. cerevisiae*	(7)
T. herba-barona	centralna Sardinija	*C. albicans, S. cerevisiae*	(7)
T. lotocephalus	Portugal	*C. albicans*	(81)
T. mastichina subsp. mastichina	Portugal	*C. albicans*	(81)
T. migricus	Turska	*C. albicans*	(83)
T. pubescens var. pubescens	Turska	*C. albicans*	(83)

Tablica 23. (nastavak)

Eterično ulje iz biljne vrste	Porijeklo biljnog materijala	Ispitivane gljivice/ Plijesni	Literatura
T. revolutus	Turska	*C. albicans, C. tropicalis, S. cerevisiae*	(85)
T. vulgaris	Mađarska	*S. cerevisiae*	(92)
T. vulgaris	Tajvan	*C. albicans*	(86)
T. vulgaris	Iran	*A.niger, C. albicans*	(90)
T. vulgaris	Južnoafrička Republika	*C. albicans, C. tropicalis*	(87)
T. vulgaris	Kanada	*Botytis cinerea, Rhizopus stolonifer*	(88)

Tablica 24. Zone inhibicije glijvica *C. albicans, C. tropicalis, S. cerevisia*e i *A. niger* tretiranih s eteričnim uljima i njihove minimalne inhibitorne koncentracije

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*C. albicans*		*C. tropicalis*		*S. cerevisiae*		*A. niger*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. argaeus	50 µl [b]	R	-	-	-	10	-	-	-	(78)
T. argaeus	50 µl [c]	R	-	-	-	9	-	-	-	(78)
T. argaeus	50 µl [d]	R	-	-	-	-	-	-	-	(78)
T. argaeus	50 µl [e]	R	-	-	-	-	-	-	-	(78)
T. camphoratus	3 µl	6 [g] 8,3 [h]	-	-	-	-	-	-	-	(81)
T. capitatus, komercijalna	-	-	0,45	-	-	-	0,45	-	-	(7)
T. capitatus, samonikla	-	-	0,45	-	-	-	0,45	-	-	(7)
T. cappadocicus	50 µl	8	0,25	-		7	0,12	-	-	(82)
T. daenensis	2 µl	26,4	-	-	-	-	-	41,7	-	(90)
T. daenensis	3 µl	31	-	-	-	-	-	49,7	-	(90)
T. daenensis	4 µl	35	-	-	-	-	-	49	-	(90)

Tablica 24. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*C. albicans*		*C. tropicalis*		*S. cerevisiae*		*A. niger*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T. daenensis	5 µl	37,7	-	-	-	-	-	53,7	-	(90)
T. eigii	0,5 µl	-	-	-	-	16 24	0,00015			(91)
T. eigii	1 µl	-	-	-	-					(91)
T. fallax	20 µl [f]	8	0,5	-	-	-	-			(83)
T. herba-barona, sj. Sardinija	-	-	0,45	-	-	-	0,225			(7)
T. herba-barona, central. Sardinija	-	-	0,225	-	-	-	0,225	-		(7)
T. lotocephalus	3µl	R[i], R [j]	-	-	-	-	-	-	-	(81)
T. mastichina	3 µl	10 [g] 11 [h]	-	-	-	-	-	-	-	(81)
T. migricus	20 µl [f]	10	0,25	-	-	-	-			(83)
T revolutus	0,1 µl	R	-	R		-	-	-	-	(84)
T revolutus	0,2 µl	R	-	R		-	-	-	-	(84)
T revolutus	0,4 µl	R	-	7		9	-	-	-	(84)

Tablica 24. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*C. albicans*		*C. tropicalis*		*S. cerevisiae*		*A. niger*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
T revolutus	0,8 µl	8	-	11		12	-	-	-	(84)
T revolutus	1,6 µl	13	-	14		13	-	-	-	(84)
T. pubescens var. *pubescens*	20 µl [f]	9	0,25	-	-	-	-	-	-	(83)
T. vulgaris	*n.p.*	-	-	-	-	23 25 [k]	0,4 0,7 [k]	-	-	(92)
T. vulgaris	-	-	0,0016	-	-	-	-	-	-	(86)
T. vulgaris	2 µl	25,7	-	-	-	-	-	36,4	-	(90)
T. vulgaris	3 µl	28,4	-	-	-	-	-	41,7	-	(90)
T. vulgaris	4 µl	29,7	-	-	-	-	-	40,4	-	(90)
T. vulgaris	5 µl	33	-	-	-	-	-	45,7	-	(90)
T. vulgaris	-	-	0,062	-	0,062	-	-	-	-	(87)
Amoksicilin	25 µg	R	-	-	-	R	-	-	-	(78)
Ampicilin	10 µg	R	-	-	-	R	-	-	-	(78)

Tablica 24. (nastavak)

Biljna vrsta / pozitivna kontrola	Količina et. ulja / pozitivne kontrole [a]	*C. albicans*		*C. tropicalis*		*S. cerevisiae*		*A. niger*		Literatura
		ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	ZI (mm)	MIK (mg/ml)	
Ampicilin	10 µg	R	-	-		-	R	-	-	- (78)
Ciprofloksacin	n.p.	-	0,001	-		0,001	-	-	-	- (87)
Eritromicin	15 µg	R	-	-		-	R	-	-	- (82)
Gentamicin	10	R	-	-		-	R	-	-	- (82)
Ketokonazol	n.p.	27	-	-		-	-	-	-	- (83)
Kloramfenikol	30 µg	R	-	-		-	R	-	-	- (78)
Nistatin	10 µg	-	-	-		-	-	-	18	- (91)
Polimiksin	n.p.	R	-	-		-	-	-	R	- (90)
Vankomicin	30 µg	R	-	-		-	R	-	-	- (78)

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija (mg/ml); ZI: promjer zone inhibicije (mm); n.p.: nije poznato; (-) nije ispitivano; (R) rezistentncija bakterijske vrste; ([a]) volumen čistih ili razrjeđenih eteričnih ulja i pozitivnih kontrola (µl/disk)/ masa (µg/disk) upotrijebljenih za određivanje ZI; ([b]) 20% razrjeđenje u DMSO; ([c]) 10% razrjeđenje u DMSO; ([d]) 5% razrjeđenje u DMSO; ([e]) 2% razrjeđenje u DMSO; ([f]) razrjeđenje u DMSO; ([g]) eterično ulje cvijeta; ([h]) eterično ulje lista; ([i]) prije cvatnje; ([j]) tijekom cvatnje; ([k]) dva ispitivana soja *S. cerevisiae*.

U Tablici 24 prikazano je antifungalno djelovanje eteričnih ulja roda *Thymus* na najčešće ispitivane gljivice u obuhvaćenim radovima*, C. albicans*, *C. tropicalis, A. niger* i *S. cerevisiae*.

C. albicans je ispitivana na 12 eteričnih ulja, od kojih je rezistentna bila na eterično ulje *T. argaeus* pri svim upotrijebljenim volumenima (78) te na eterično ulje *T. lotocephalus* (81). Najveću zonu inhibicije od 37,7 mm pružilo je eterično ulje *T. daenesis* pri volmenu od 5 µl (90). Antimikrobni učinak je očekivano bio bolji s većom količinom ulja upotrijebljenog u ispitivanju, tako su eterična ulja *T. daenesis* pri volumenima 2-4 µl dala manje zone inhibicije, 26,4-35 mm (90). Najnižu MIK vrijednost od 0,0016 mg/ml postiglo je eterično ulje *T. vulgaris* iz Tajvana (87), a najviša izmjerena MIK vrijednost od 0,5 mg/ml zabilježena je za eterično ulje *T. fallax* (83). Kod eteričnog vrste *T. mastichina* zabilježena je razlika u antimikrobnom djelovanju eteričnog ulja iz cvijeta i lista biljke, tako je eterično ulje cvijeta pokazalo zonu inhibicije od 10 mm, dok je ulje lista pokazalo zonu inhibicije od 11 mm (81). Zona inhibicije ketokonazola, koji je rabljen kao pozitivna kontrola eteričnih ulja, bila je 27 mm (83), što je manja vrijednost od zona inhibicije nekoliko ispitivanih eteričnih ulja te možemo zaključiti kako su eterična ulja *Thymus* roda imala dobar antimikrobni potencijal prema *C. albicans*.

Kao što se vidi iz Tablice 24, kvasnica *C. tropicalis* je ispitivana na eterično ulje *T. revolutus* pri pet različitih volumena, od kojih je bila rezistentna na ona od 0,1 µl i 0,2 µl (85). Međutim, osjetljivost je pokazala na volumene od 0,4 µl, 0,8 µl i 1,6 µl eteričnog ulja sa zonama inhibiciija od 7, 11 i 14 mm redom, na temelju čega se može zaključiti da je antimikrobno djelovanje ovog ulja o količini upotrijebljenoj u ispitivanju i da je pri većim upotrijebljenim količinama ulje ispoljio umjeren antimikrobni potencijal (85). Nadalje, *C. tropicalis* je ispitivana i na antimikrobno djelovanje *T. vulgaris*, koje je ostvarilo MIK vrijednost od 0,062 mg/ml (87). U usporedbi s ciprofloksacinom, koji je upotrijebljen kao pozitivna kontrola u

ispitivanju, bila je potrebna značajno veća koncentraciija eteričnog ulja *T. vulgaris* da bi došlo do inhibicije *C. tropicalis.* MIK vrijednost ciprofloksacina bila je 0,001 mg/ml (87).

Kvasnica *S. cerevisiae* je ispitivana na pet eteričnih ulja koja su pokazala antimikrobnu aktivnost. Najveću zonu inhibicije od 25 mm ostvarilo je eterično ulje biljke *T. vulgaris* prikupljene u Mađarskoj (92), a najmanju zonu inhibicije od 7 mm eterično ulje *T. cappadocicus* (82). Ostale zone inhibicije kretale su se u rasponu 9-24 mm. Najniža MIK vrijednost zabilježena je za eterično ulje *T. eigii* od 0,00015 mg/ml (91), a najviša od 0,7 mg/ml za eterično ulje *T. vulgaris* biljnog materijala prikupljeno u Mađarskoj (92). Nadalje, kod eteričnog ulja *T. capitatus* nije zabilježena razlika u antimikrobnom djelovanju za ulje iz samoniklog i kupljenog biljnog materijala i oba eterična ulja su ostvarila MIK vrijednost 0,45 mg/ml (7).

Osjetljivost *A. niger* je ispitivana na eterična ulje *T. daenesis* i *T. vulgaris* pri četiri različita volumena, svi uzorci su se pokazali uspješnima u inhibiciji rasta ove plijesni. Najveću zonu inhibicije od 53,7 mm postiglo je eterično ulje *T. daenesis* pri volumenu od 5 µl, a najnižu zonu inhibicije postiglo je eterično ulje *T. vulgaris* pri volumenu od 2 µl (90). Zone inhibicije za eterično ulje *T. daenesis* volumena 2 - 4 µl kretale su se u rasponu 41,7-49 mm, a za eterično ulje *T. vulgaris* volumena 3- 5 µl bili su u rasponu 41,7 – 45,7 mm. Zabilježen je i očekivano bolji antimikrobni učinak na gljivice s većom upotrijebljenom količinom eteričnih ulja.

Na temelju dobivenih rezultata za zone inhibicije i MIK vrijednosti eteričnih ulja *Thymus* roda u obuhvaćenim znanstvenim istraživanjima, može se zaključiti da su ispitivana eterična ulja posjedovala dobar antimikrobni potencijal protiv kvasnica *C. albicans*, *C. tropicalis*, *S. cerevisiae* te plijesni *A. niger*.

Osim antimikrobnog djelovanja na gljivice obrađene u Tablici 24, u obuhvaćenim su znanstvenim radovima ispitivane i kvasnice *B. cinerea, K. fragilis* te plijesan *R. stolonifer* (88, 91). *B. cinerea i R. stolonifer* su biljni patogeni koji se najčešće pojavljuju na uskladištenim jagodama, *Fragaria ananassa*, a njihova osjetljivost promatrana je na eterično ulje dvaju klonova biljke *T. vulgaris* pri različitim koncentracijama ulja. Ulja su pokazala antimikrobno djelovanje, s rasponom inhibicije od 26,5 do 63,5% za *B. cinerea* te od 5,5 do 50,5% inhibicije za *R. stolonifer* pri koncentracijama 50-200 ppm eteričnog ulja prvog klona biljke. Eterično ulje drugog klona biljke dalo je inhibicije u rasponu od 36,9 do 90,5% za *B. cinerea* te od 11,5 do 65,8% za *R. stolonifer* pri istim koncentracijama eteričnog ulja (88). Na temelju razultata može se zaključiti da je eterično ulje *T. vulgaris* djelovalo relativno uspješno na gljivice *B. cinerea* i *R. stolonifer*.

K. fragilis je kvasnica koja ima čestu uporabu u prehrambenoj industriji zbog svoje sposobnosti pretvorbe laktoze u etanol. Ispitivana je njezina osjetljivost na eterično ulje *T. eigii* (91). *K. fragilis* se pokazala osjetljivom primjerice na 5 i 10 µl ulja sa zonama inhibicija od 30 i 50 mm, što je značajno bolji rezultat od nistatina, koji se u istraživanju upotrijebio kao pozitivna kontrola, a dao je zonu inhibicije od 18 mm. *K. fragilis* je na eterično ulje bila osjetljivija od *S. cerevisiae*, drugog kvasca koji je u istom istraživanju ispitivan, a čije su zone inhibicije bile 16 i 24 mm (91).

3.3.4. Antimikrobno djelovanje kemijskih sastavnica eteričnih ulja roda *Thymus* L.

Osim antimikrobnog djelovanja eteričnih ulja, tri rada koja su obuhvatila eterična ulja roda *Thymus*, su ispitivala i djelovanje najzastupljenijih kemijskih sastavnica eteričnih ulja. Najučinkovitija ispitana sastavnica bila je timol (7, 74, 87). Kod eteričnog ulja *T. vulgaris* ispitivano je djelovanje sedam glavnih sastavnica, timola, karvakrola, linaloola, p-cimena, (-)-borneola, α i γ- terpinena (87). Timol i karvakrol su se pokazale najjaktivnijim sastavnicama s MIK vrijednostima od 0,125 mg/ml za *C. albicans i C. tropicalis* do 1 mg/ml za *E. coli* i *M. cattarhalis* te *S. aureus* za timol. Linalool je bio sljedeća sastavnica po djelotvornosti, umjerene antimikrobne aktivnosti, s najnižom MIK vrijednosti od 0,25 mg/ml za *C. tropicalis* i najvišom MIK vrijednosti od 4 mg/ml za *E. coli*. Najslabiju aktivnost je ispoljio p-cimen s MIK vrijednosti >8 mg/ml za sve ispitivane mikroorganizme. Osim p-cimena i (-)-borneol te α- i γ-terpenin ispoljili su relativno slabo antimikrobno djelovanje (87).

Nadalje, u ispitivanju Abu-Darwisha i suradnika (74) ispitivano je antimikrobno djelovanje 19 sastavnica eteričnih ulja *T. vulgaris* i *T. serpyllum* pri tri volumena protiv kliničkih i referentnih sojeva *S. aureus, E. coli* i *P. aeruginosa*. Najbolji učinak imao je timol sa zonama inhibicije od 2 mm kod referentnih sojeva *P. aeruginosa* (pri 10 ml timola) i *E. coli* (pri 5 ml timola) do 15 mm kod kliničkog soja *S. aureus* (pri 15 ml timola) i referentnog soja *S. aureus* (pri 15 i 10 ml timola). Najslabiji učinak imali su bornilacetat, linalilacetat i 1,8-cineol, protiv kojih su svi mikroorganizmi ostali rezistentni. Karvakrol je u ovom istraživanju također imao slab učinak na mikroorganizme, pri čemu je klinički i referentni soj *P. aeruginosa* ostao rezistentan pri svim ispitivanim volumenima, a učinak je ispoljio na *E. coli* i *S. aureus* sa zonama inhibicije u rasponu od 2 mm (kod referentnog soja *E. coli* pri 5 ml karvakrola) do 5 mm (kod kliničkog soja *E. coli* pri 5 ml karvakrola te kod referentnog soja *S. aureus* pri 15 ml karvakrola i kod kliničkog soja *S. aureus* pri 5 ml karvakrola). Nakon timola najaktivniji je bio

β-pinen, zatim α- i γ- terpinen, a ostale sastavnice su imale visoku stopu rezistencije ili su bile slabo aktivne u usporedbii s ciprofloksacinom, koji je rabljen kao pozitivna kontrola u ispitivanju. Zone inhibicije ciprofloksacina su bile u rasponu od 10 mm (kod kliničkog soja *S. aureus* pri 5 ml antibiotika) do 42 mm (kod kliničkog soja *P. aeruginosa* pri 15 ml antibiotika). Zanimljivi su rezultati zabilježeni za linalool, p-cimen, menton i mircen, na kojih su svi mikroorganizmi bili rezistentni, osim *S. aureus*, kliničkog i referentnog soja sa zonama inhibicije u rasponu 4-10 mm (74).

U radu Cosentina i suradnika (7) ispitivano je antimikrobno djelovanje 7 sastavnica, od kojih α-pinen, p-cimen, γ-terpinen i linalool nisu ispolijili učinak na ispitivane mikroorganizme, dok su α-terpineol, timol i karvakrol bili aktivni. α-terpineol je ispoljio blagu antimikrobnu aktivnost prema dvije gljivice (*C. albicans* i *S. cerevisiae*) i dvije gram negativne bakterije (*E. coli* i *S. typhimurium*), no najjači antimikrobni učinak ispoljili su timol i karvakrol s MIK vrijednostima od 56,25 μg/ml timola za *S. typhimurium* te 112,5 μg/ml karvakrola za *C. albicans* i *S. cerevisiae* do 450 μg/ml karvakrola za *S. aureus*, *S. epidermidis* i *L. monocytogenes* te 450 μg/ml timola za *E. coli*, *L. monocytogenes* i *B. cereus*. Na timol i karvakrol nije reagirala jedino *P. aeruginosa* (7).

Iako je u istraživanju Abu-Darwisha i suradnika (74) antimikrobni učinak karvakrola gotovo izostao, djelovanje karvakrola i timola kao jakih antimikrobnih sredstava zabilježeno je u brojnim znanstvenim radovima do sada (9, 94). Ove razlike odražavaju relativni položaj hidroksilne grupe, što može utjecati na komponente koje kontroliraju antimikrobnu aktivnost (95) . Za α-terpineol je također prethodno zabilježeno antimikrobno djelovanje (38), kao i za linalool (96, 97), iako u ovim radovima i djelovanje linaloola djelomično odskače od dosadašnjih ispitivanja. Nedostatak antimikrobne aktivnosti α-pinena, p-cimena i γ-

terpinena je u skladu s prethodnim studijama u kojima je među sastavnicama ulja najmanja učinkovitost zabilježena za ugljikovodike (9, 38).

Na temelju iznešenih rezultata može se zaključiti da su pojedine kemijske sastavnice eteričnih ulja, kao i sama ulja, bile aktivnije protiv gram-pozitivnih bakterija i gljivica, nego protiv gram-negativnih bakterija, kao što je objavljeno u sličnim studijama više puta do sada (98, 99, 100). Najmanje osjetljiva bila je bakterija *P. aeruginosa,* koja se i do sada pokazala uglavnom rezistentnom na timol i karvakrol, ali je reagirala na pulegon, izopulegon i piperiton, kao i na eterična ulja bogata ovim sastavnicama (101). Nadalje, sinergistički ili antagonistički učinak između pojedinih sastavnica također može utjecati na ukupno antimikrobno djelovanje eteričnog ulja. Do sada je u pojedinim radovima zabilježeno sinergističko djelovanje timola i karvakrola protiv nekih bakterija (101).

Rezultati studija su potvrdili mogućnost uporabe eteričnih ulja *Thymus* vrsta ili njihovih komponenti za konzerviranje hrane s obzirom da imaju GRAS status od Američke (Agencije za hranu i lijekove FDA) te da su rizici od njihove konzumacije minimalni (7).

4. RASPRAVA

Obrađeno je preko 40 izvornih znanstvenih radova koji su ispitivali kemijski sastav i/ili antimkrobno djelovanje eteričnih ulja rodova *Salvia* L. i *Thymus* L. Ispitivanja su obuhvatila vrste iz Azije, Europe te Afrike. Najveći broj analiziranih biljnih vrsta prikupljen je na području Turske, Irana, Maroka, Sardinije, Portugala i Južnoafričke Republike. Eterična ulja su najčešće izolirana vodenom destilacijom, a kemijski sastav je obično analiziran kombinacijom plinske kromatografije i masene spektroskopije. Antimikrobno djelovanje eteričnih ulja najčešće se ispitivalo metodom disk difuzije, mjerenjem promjera zona inhibicije na čvrstoj hranjivoj podlozi u Petrijevoj zdjelici, a u velikom broju radova se metodom serijalne i dvostruke mikrodilucije određivala i minimalna inhibitorna koncentracija eteričnih ulja. Kemijski sastav je određen za eterična ulja 20 biljnih vrsta iz roda *Salvia* te 21 iz *Thymus* vrsta. Antimikrobno djelovanje eteričnih ulja roda *Salvia* ispitano je na 65 mikroorganizama (40 bakterija i 25 gljivica) te 34 mikroorganizama (27 bakterija, 7 gljivica) za eterična ulja roda *Thymus*.

Kemijska analiza eteričnih ulja pokazala je ovisnost kvantitativnog i kvalitativnog sastava eteričnih ulja o klimatskim, sezonskim i zemljopisnim uvjetima te razdoblju branja, odnosno zrelosti biljke, što je potvrđeno i nizom prethodnih istraživanja (8, 41, 42). Razlike u količini eteričnog ulja zabilježene su kod različitih biljnih vrsta, ali i kod iste biljne vrste prikupljene na sličnom području ukoliko su biljke prikupljene u različitom dijelu godine. Nadalje, obuhvaćeni radovi pokazali su i kvantitativne razlike u kemijskom sastavu eteričnih ulja dvaju klonova jedne biljke (88), različitih biljnih organa iste biljne vrste, kao i između *in vitro* i *in vivo* uzgojene biljke.

Ispitivanja su pokazala i ovisnost antimikrobnog djelovanja o količini ulja upotrijebljenoj u ispitivanju, te su, očekivano, veće količine ulja davale bolje rezultate. Iako je sastav eteričnih

ulja biljnih vrsta roda *Salvia* varirao, u njima je pokazana dominacija monoterpenskih ugljikovodika (α- i β-pinen), oksigeniranih monoterpena (1,8-cineol), seskviterpenskih ugljikovodika (β-kariofilen i germakren D) te oksigeniranih seskviterpena (β-kariofilen oksid). Za eterična ulja biljnih vrsta roda *Thymus* također je pokazana dominacija monoterpena, na prvom mjestu oksigeniranih monoterpena (karvakrol, timol, 1,8-cineol, linalool) te monoterpenskih ugljikovodika (p-cimen i γ-terpinen).

Kod ispitivanja antimikrobnog djelovanja eteričnih ulja obuhvaćeni su neki od najučestalijih mikroorganizama uključeni u patogenezu raznih bolesti. Bolesti uzrokovane mikroorganizmima još uvijek predstavljaju jedan od glavnih uzorka smrtnosti u svijetu, a zbog sve veće rezistenncije bakterija na postojeće antibiotike očituje se važnost pronalaska novih antimikrobnih lijekova (28). Bolesti uzrokovane mikroorganizmima kreću se od jednostanih upala, poput upale grla do upale pluća, infekcije mokraćnog trakta, trovanja hranom, trovanja krvi do sindroma toksičnog šoka, a njihovi uzočnici su uglavnom predstavnici rodova *Streptococcus, Staphylococcus, Escherichia, Pseudomonas, Salmonella, Shigella, Candida* itd (35).

Među spomenutim rodovima nalaze se i uzročnici kvarenja brojnih prehrambenih, kozmetičkih i farmaceutskih proizvoda, poput *S. aureus, S. epidermidis*, *S. pneumoniae*, *E. coli, K. pneumoniae*, *P. aeruginosa, Salmonella* spp., *A. niger, C. albicans, S. cerevisiae* i td. Važnost pronalaska novih, učinkovitih i neškodljivih konzervansa za produženje trajnosti lijekova, hrane i kozmetike očituje se u činjenici da su kod pojedinih sintetskih konzervansa, na koje meritorne institucije upozoravaju, zabilježene brojne nuspojave, poput karcinogenih i mutagenih učinaka butiliranog hidroksitoluena (BHT) i butiliranog hidroksianisola (BHA) u pretkliničkim ispitivanjima (11, 12).

Eterična ulja *Salvia* i *Thymus* rodova pokazala su se iznimno učinkovitim antimikrobnim sredstvima prema većini ispitivanih mikroorganizama, među kojima su gram-pozitivne bakterije i gljivice pretežno bili osjetljiviji od gram-negativnih bakterija. Razlog tome jeste građa stijenke gram-negativnih bakterija, a njezino važno obilježe je prisutnost dvostruke stijenke sastavljene od hidrofobne lipopolisaharidne kapsule okružene lipoproteinskom fosfolipidnom membranom, koja onemogućuje prodor u stanicu nekim lijekovima i antibioticima (65).

Među pojedinim obuhvaćenim radovima ispitivano je i antimikrobno djelovanje sastavnica eteričnih ulja. U radovima koji su ispitivali eterična ulja roda *Salvia* najuspješnijima su se pokazali karvakrol i 1,8-cineol, dok su β-pinen i α-pinen bili najmanje učinkoviti, s većom uspješnosti zabilježenom kod gram pozitivnih bakterija, nego kod gram-negativnih. U većini radova koji su ispitivali antimikrobnu učinkovitost eteričnih ulja roda *Thymus* najaktivnijom sastavnicom se pokazao timol, a najmanje uspješnima pokazali su se p-cimen i α-pinen. Ovi rezultati su u skladu s prethodnim istraživanjima u kojima je među sastavnicama ulja najmanja učinkovitost zabilježena za ugljikovodike (9, 38). Iako su u brojnim dosadašnjim istraživanjima karvakrol i timol zabilježeni kao jaka antimikrobna sredstva (9, 94), karvakrol je u eteričnim uljima roda *Thymus* bio među najučinkovitijim sastavnicama u dva rada, dok je u jednom radu njegova aktivnost izostala. Razlog se može tražiti u antagonističkom djelovanju s drugim sastavnicama eteričnih ulja (101).

Među eteričnim uljima *Salvia* roda najbolje antimkrobno djelovanje na gram pozitivne bakterije ispoljila su eterična ulja vrsta *S. multicaulis* i *S. syriaca* prikupljenih na području Turske, koja su bila aktivna i protiv *S. pyogenes*, najrezistentnije zabilježene gram-pozitivne bakterije u obuhvaćenim radovima. Međutim, antimikrobno djelovanje ovih eteričnih ulja

ovisilo je o količini ulja upotrijebljenoj u ispitivanjima. Važnost ovog nalaza je u tome što je *S. pyogenes* uzročnik brojnih ljudskih bolesti, od blagih infekcija kože i streptokokne upale grla do po život opasnih stanja, poput sindroma toksičnog šoka ili rapidnog progresa infekcija vezivnog tkiva, poput nekrotizirajućeg fasciitisa (102). S obzirom da kemijska analiza eteričnih ulja *S. multicaulis* i *S. syriaca* u istraživanjima nije provedena, ne može se usporediti ovisnost njihove antimikrobne uspješnosti o kemijskom sastavu.

Osim *S. pyogenes* u obuhvaćenim znanstvenim radovima česta rezistencija zabilježena je i kod *S. aureus*, bakterije koja može biti dio normalne flore kože i nosa, ali je jedan od najvažnijih ljudskih patogena i može biti uzročnikom raznih infekcija, od upale nosa i grla do sindroma toksičnog šoka ili trovanja hranom (35). Hrana koja nije skladištena pri odgovarajućim temperaturama, poput jaja, piletine, tune, zelene salate, pekarskih i svih proizvoda koji sadrže jaja i mlijeko mogu biti izvor *S. aureus* (103). U obuhvaćenim radovima su, osim eteričnih ulja *S. multicaulis* (Turska) i *S. syriaca* (Turska), protiv *S. aureus,* značajno antimikrobno djelovanje postigla i eterična ulja *S. chloroleuca* (Turska)*, S. tomentosa* (Turska) i *S. santolinifolia* (Iran) (47, 55, 53). Iako su dominantne sastavnice spomenutih eteričnih ulja bile β-pinen te α-pinen, koje se zasebno ne odlikuju jakim antimkrobnim potencijalnom, može se pretpostaviti da su eterična ulja ispoljila značajno antimikrobno djelovanje kao posljedica sinergije svih sastavnica, poput β-kariofilen okida, β-kariofilena, mirtenola i ostalih sastavnica prisutnih u manjim količinama. Među ostalim ispitivanim eteričnim uljima *Salvia* roda svojim antimikrobnim djelovanjem na *S. aureus* ističu se i eterično ulje *S. palaestina* (Turska), *S. hydrangea* (Iran), *S. mirzayanii* (Iran) te *S. cedronella* (Turska) (7, 49, 46).

Rezistenciju na pojedina eterična ulja vrsta *Salvia* pokazale su i *B. subtilis* te *E. faecalis. B. subtilis* je bakterija koja se najčešće nalazi u tlu, a u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji

se uglavnom koristi zbog svoje sposobnosti proizvodnje različitih enzima te kao probiotik. Američka Agencija za hranu i lijekove (FDA) je proglasila *B. subtilis* organizmom generalno prepoznatim kao neškodljivim (GRAS) (104). Nadalje, *E. faecalis* je u tehnološkom smislu jedan od vodećih mikroba u fermentacijskim procesima, iako je rod *Enterococcus* istovremeno i dobro poznat uzročnik kvarenja hrane. Osim toga, rod *Enterococcus* predstavlja rastući rezervoar oportunističkih patogena za ljude jer izazivaju bolesti, sadrže činitelje za antibiotsku rezistenciju i mehanizme njihova transfera (105). Posebno uspješno antimikrobno djelovanje prema rodu *Bacillus* u obuhvaćenim radovima imala su eterična ulja *S. cedronella* (Turska) i *S. tomentosa* (Turska) (46, 55), a na bakteriju *E. faecalis* značajno antimikrobno djelovanje ispoljilo je eterično ulje *S. mirzayanii* (49). Antimikrobni potencijal eteričnog ulja *S. mirzayanii* može se povezati uz visoki sadržaj oksigeniranih monoterpena, poput 1,8-cineola, koji je i u radovima obuhvaćenim ovim pregledom ispoljio značajan antimikrobni učinak (45). Ostala eterična ulja roda *Salvia,* koja su pokazala relativno dobro antimikrobno djelovanje na ispitivane mikroorganizme, bila su eterična ulja *S. aramiensis* (Maroko) i *S. pilifera* (Maroko) na *S. pneumonaie*, *A. Iwoffii, C. perfringens, B. cereus* (44)*,* zatim eterična ulja *S. cedronella* (Turska) i *S. tomentosa* (Turska) na *B. cereus* (46, 55)*.*

Najčešće ispitivane, a ujedno i najrezistentnije gram-negativne bakterijske vrste u pregledanim radovima bile su *E. coli i P. aeruginosa. P. aeruginosa* nije bila samo najrezistentnija gram-negativna bakterija, nego i generalno najrezistentniji mikroorganizam obuhvaćen ovim pregledom. Ova bakterija je razvila sposobnost preživljavanja u različitim okolinama te je rezistentna na veliki broj klasičnih antibioitika. Može se izolirati iz različitih izvora, od biljaka, životinja, ljudi do medicinske opreme, sapuna, umivaonika i td. Rijetko je dio normalne ljudske flore, ali njezina prisutnost rapidno raste prilikom hospitalizacije (106). Rod *Pseudomonas* je predmet brojnih znanstvenih istraživanja. Razlog tome je njegova velika

sposobnost prilagodbe na temperaturu i količinu hranjivih tvari te na ulazak u polimerni matriks (biofilm) te liječenje infekcija uzrokovanih s *P. aeruginosa* predstavlja sve veći izazov (72). Eterična ulja roda *Salvia* za koje je zabilježeno antimikrobno djelovanje na *P. aeruginosa* bila su *S. mirzayanii* (Turska), *S. multicaulis* (Iran). Djelovanje tih ulja ovisilo je o količini ulja upotrijebljenog u ispitivanju. Djelovanje su pokazala i eterična ulja *S. rubifola* (Libanon) i *S. syriaca* (Turska). S obzirom da je za eterična ulja *S. mirzayanii* i *S. rubifola* u obuhvaćenim radovima ispitivan i kemijski sastav ulja, može se zaključiti da je antimikrobno djelovanje *S. mirzayanii* vezano uz visoki udio oksigeniranih monoterpena, α-terpinenilacetata i 1,8-cineola, dok za eterično ulje *S. rubifola*, u kojem dominiraju ugljikovodici, seskviterpen γ-murolen te monoterpen α-pinen, možemo pretpostaviti jak sinergistički učinak svih zastupljenih sastavnica (22, 7).

E. coli je dio normalne crijevne flore ljudi i životinja, a ipak ona je najčešći uzročnik infekcija mokraćnog trakta, trovanja krvi te jedan od glavnih uzročnika infekcija uzrokovanih kontaminiranom hranom (35), poput termički neobrađenog mesa, nepasteriziranog mlijeka, svježeg voća i povrća te kontaminirane vode (107). Na *E. coli* su posebno dobro djelovanje ispoljila eterična ulja *S. ceratophylla* (Turska), *S. chloroleuca* (Iran), *S. multicaulis* (Turska) te *S. santolinifolia* (Turska), čija je antimikrobna aktivnost također ovisila o količini ulja uzetog u ispitivanje (7, 47). Kao što je već spomenuto za navedena eterična ulja, glavne sastavnice su bile monoterpenski ugljikovodici, koji ne bilježe jako antimikrobno djelovanje, zbog čega se može pretpostaviti da je antimikrobno djelovanje eteričnih ulja bilo posljedica sinergističkog djelovanja svih prisutnih sastavnica. Također, zabilježene su i razlike u antimikrobnom djelovanju, ne samo među različitim biljnim vrstama, nego i kod iste vrste prikupljene na različitom zemljopisnom području i/ ili u različito vrijeme, što potvrđuju i prethodna istraživanja (53).

Osim *E. coli* i *P. aeruginosa* rezistenciju na dva eterična ulja pokazala je i *K. pneumoniae*, koja je normalan dio ljudske i životinjske mikroflore, ali je uzročnik i brojnih infekcija, poput pneumonije, trovanja krvi, infekcija nakon kirurških zahvata, meningitisa te gastroenteritisa uzrokovanog kontaminiranom hranom, poput termički nedovoljno obrađenog mesa (108). Na *K. pneumoniae* značajan antimikrobni učinak ispoljilo je eterično ulje *S. santolinifolia* (Pakistan) (53), za koji se pretpostavlja sinergistički učinak najzastupljenijeg α-pinena te β-kariofilena i drugih oksigeniranih seskvi- i monoterpenena, dok su ostala ulja imala umjeren učinak ili nisu bila djelotvorna protiv ove bakterije.

Najčešće ispitivana među gljivicama bila je kvasnica *C. albicans*, koja je pokazala i najveću rezistenciju na ispitivana eterična ulja roda *Salvia*, a osim nje rezistenciju na određena eterična ulja pokazale su i kvasnica *S. cerevisiae* i plijesan *A. niger*. *C. albicans* je patogena gljivica, uzročnica kandidijaza, infekcija visoke stope morbiditeta i mortaliteta. Iako se *Candida* može normalno nalaziti u usnoj šupljini, probavnom traktu i rodnici, njezino umnožavanje dovodi do upale koja može uzrokovati promjenu normalne flore. 20 različitih vrsta unutar *Candida* roda su uzročnici infekcija i pokazuju visoku rezistenciju na klasične, ali i nove vrste antimikotika (35).

Značajno antimikrobno djelovanje na *C. albicans* ispoljila su eterična ulja *S. cedronella* (Turska) i *S. mirzayanii* (Iran), kao i *S. santolinifolia* i *S. palaestina*, čija je uspješnost ovisila o upotrijebljenoj količini ulja za ispitivanje (46, 49, 53). Eterična ulje *S. dicroantha* (Turska) i *S. wiedemanii* (Turska) bila su posebno uspješna protiv *C. glabrata* (46), eterično ulje *S. aramiensis* protiv *C. krusei* (43), dok je eterično ulje *S. palaestina* ispoljilo umjeren antimikrobni učinak protiv *C. vaginalis* (47). Plijesan *A. niger* je bila najosjetljivija na eterično ulje *S. mirzayanii* (Iran) (15), dok je kvasnica *S. cerevisiae* najosjetljivija, osim na *S mirzayanii,* bila osjetljiva i na eterično ulje *S. santolinifolia* (Iran) (15). Moguće je da je antimikrobno

djelovanje eteričnih ulja *S. cedronella, S. dicroantha* i *S. palaestina* uzrokovano visokim sadržajem oksigeniranih mono- i seskviterpena (45). Ostale vrste, poput *C. glabrata, C. krusei* i *C. vaginalis* bile su osjetljive na sva ispitana eterična ulja, stoga se može zaključiti da su eterična ulja vrsta roda *Salvia* pokazala značajan antifungalni potencijal.

Od ispitivanih eteričnih ulja *Thymus* roda među najdjelotvornijim eteričnim uljima prema gram pozitivnim bakterijama bilo je eterično ulje *T. pubescens* biljke prikupljene na području Irana (84), koje je dobru antimikrobnu aktivnost ispoljilo i protiv *S. aureus*, jedne od najrezistenijnih gram-pozitivnih bakterija u obuhvaćenim radovima. Dobro antimikrobno djelovanje može se objasniti visokim sadržajem karvakrola i timola, za koje je prethodnim istraživanjima pokazana jaka antimikrobna aktivnost (9, 94). Osim o količini ulja upotrijebljenog u ispitivanjima, antimikrobna učinkovitost tog eteričnog ulja ovisila je i o vremenu branja biljke te je redovno zabilježena bolja aktivnost za biljni materijal prikupljen tijekom cvatnje u usporedbi s fazom prije cvatnje. Što se kemijskog sastava ovih eteričnih ulja tiče, ulje biljke ubrane prije cvatnje je, iznenađujuće, imalo značajno manji udio karvakrola, nešto veći udio timola te značajno manji udio, gotovo u tragovima, γ-terpinena i p-cimena od eteričnog ulja biljke ubrane tijekom cvatnje. Na temelju ovih rezultata može se zaključiti da je antimikrobno djelovanje eteričnih ulja katkada teško predvidjeti samo na temelju poznatog kemijskog sastava te da u ovom slučaju ono nije ovisilo samo o dominaciji antimikrobno najdjelotvornijih supstanci.

Izuzevši rezistenciju na određene količine eteričnih ulja *T. argaeus* i *T. serpyllum* (78 84), S*. aureus* je bila osjetljiva na većinu ispitanih eterična ulja iz roda *Thymus*, s relativno dobrim vrijednostima zona inhibicija i MIK vrijednosti u usporedbi s kontrolnim antibioticima te se može zaključiti da su ispitana eterična ulja *Thymus* roda posjedovala dobar antimikrobni potencijal protiv ove bakterije.

Eterično ulje *T. pubescens* prikupljenog u Iranu u fazi cvatnje ispoljilo je relativno dobru aktivnost na neke od bakterija iz roda *Bacillus, B. brevis, B. cereus, B. megaterium* i *B. subtilis* (84). Najveća djelotvornost zabilježena je prema *B. subtilis,* što su autori objasnili visokim sadržajem karvakrola i timola. Bakterija *B. megaterium* je pokazala dobru osjetljivost na eterično ulje *T. revolutus* (Turska), kod kojeg je karvakrol zabilježen kao najzastupljenija sastavnica, stoga je pozitivan rezultat bio očekivan (9, 94). Nadalje, posebno dobre rezultate dalo je i eterično ulje *T. eigii* (Turska) s najboljim vrijednostima postignutim za bakteriju *B. brevis,* međutim za ovo eterično ulje nije izvršena kemijska analiza (91).

Što se djelovanja eteričnih ulja roda *Thymus* na ostale ispitivane gram-pozitivne bakterije tiče, najbolje antimkrobno djelovanje na *E. faecalis, L. monocytogenes, M. luteus* i *M. smegmatis* ispoljilo je eterično ulje *T. eigii* (91). Djelovanje eteričnog ulja očekivano je bilo jače ukoliko je u ispitivanju bila upotrijebljena veća količina eteričnog ulja. Također, dobar antimikrobni potencijal ispoljila su i eterična ulja *T. broussonetti* (Maroko) prema *M. luteus* (80), zatim *T. lotocephalus* (Portugal) (81), *T. cappadocicus* (Turska) i *T. pubescens* var. *pubescens* (Turska) na *L. monocytogenes* (82, 83) te eterično ulje *T. revolutus* (Turska) pri određenim količinama ulja prema *L. monocytogenes* i *M. smegmatis* (85).

Najčešće ispitivane, a ujedno i najrezistentnije, gram-negativne bakterijske vrste u obuhvaćenim radovima koji su ispitivali *Thymus* vrste, bile su *E. coli, P. aeruginosa* i *K. pneumoniae*. Najbolje antimikrobno djelovanje na *E. coli* imalo je eterično ulje *T. serpyllum* (Iran), međutim njegovo djelovanje je ovisilo o količini ulja upotrijebljenog u ispitivanju (84). Nadalje, vrlo učinkovita bila su i eterična ulja *T. daensis,* čija se aktivnost također proporcionalno povećavala s upotrijebljenom količinom ulja, te *T. vulgaris* (Tajvan) (80, 86). Razlike u antimikrobnom djelovanju zabilježene su između iste biljne vrste različitog

zemljopisnog porijekla te između iste biljne vrste prikupljene u različitoj fazi cvatnje biljke. U pravilu je veću učinkovitost pokazalo eterično ulje biljke *T. pubescens* (Iran) u fazi cvatnje naspram faze prije cvatnje biljke (84). Kao što je navedeno kod antimikrobnog djelovanja ulja *T. pubescens* na *S. aureus*, s obzirom na kemijski sastav eteričnog biljke ubrane prije cvatnje, odnosno manji udio karvakrola i tek nešto veći udio timola od biljke ubrane prije cvatnje, mogli bi se pretpostaviti drugačiji rezultati. Međutim, i u ovom slučaju razvidno je da antimikrobno djelovanje ne ovisi samo o dominaciji najdjelotvornijih supstanci, već o sinergiji svih prisutnih supstanci.

Razlike u antimikrobnom djelovanju bile su prisutne i prema različitim sojevima iste bakterijske vrste. Tako je eterično ulje *T. serpyllum* (Jordan) bilo učinkovito prema kliničkom i referentnom soju *E. coli*, pri čemu je nešto veću aktivnost na eterično ulje *T. serpyllum* (Jordan) ispoljio klinički soj bakterije (84).

Iako bi se s obzirom na poznatu reistenciju *P. aeruginosa* na veliki broj ispitivanih eteričnih ulja moglo pretpostaviti da je ukupno djelovanje eteričnih ulja roda *Thymus* na tu vrstu bilo relativno slabo, pojedina su eterična ulja ispoljila dobro antimikrobno djelovanje protiv ove gram-negativne bakterije. Primjer za to su eterična ulja *T. cappadocicus* (Turska), *T. fallax* (Turska), *T. migricus* (T. migricus) i *T. maroccanus* (Maroko) (82, 83, 83, 80). Čak su i eterična ulja na koja je bakterija bila rezistentna pri određenim ispitivanim koncentracijama ispoljila dobru antimkrobnu aktivnost, poput *T. argaeus* (Turska) ili *T. pubescens* (Iran) (78, 84). Nadalje, eterična ulja *T. serpyllum* (Jordan) i *T. vulgaris* (Jordan) su nešto bolje rezultate postigla na kliničkom izolatu, nego na referentnom soju bakterije (74).

Na bakteriju *K. pneumoniae* najbolje je djelovalo eterično ulje *T. pubescens* (Iran), čija je učinkovitost ovisila o količini upotrijebljenog ulja, kao i o fazi cvatnje biljke (84). Bolji rezultati

zabilježeni su za biljku ubranu u fazi cvatnje, naspram biljke ubrane prije cvatnje. Isto pravilo zabilježeno je i kod *T. serpyllum* (Iran) (84). Također, dobro antimikrobno djelovanje ispoljilo je i eterično ulje *T. broussonetii* (Maroko) (80), dok je antimikrobno djelovanje eteričnih ulja *T. revolutus i T. serpyllum* ovisilo isključivo o količini upotrijebljenoj u ispitivanju, s rezultatima koji su bili u rasponu od rezistencije bakterije do značajnog antimikrobnog potencijala (85, 84). *K. pneumoniae* je bila rezistentna i na eterično ulje *T. argaeus* (Turska) pri svim ispitanim volumenima (78).

Što se djelovanja eteričnih ulja *Thymus* roda na ostale gram negativne bakterije tiče, gotovo sva su bila učinkovita protiv ispitanih mikroorganizama. Rezistenciju na po jedno eterično ulje pokazale su jedino *P. vulgaris* i *Y. enterocolitica*. Posebno dobar učinak postiglo je eterično ulje *T. revolutus* (Turska) na *P. vulgaris* pri većim ispitanim volumenima (85), zatim eterično ulje *T. maroccanus* (Maroko) na *Salmonella* spp. (80), eterična ulja *T. broussonetii* i *T. maroccanus* na *V. cholerae* (80) te eterična ulja *T. argaeus* i *T. cappadocicus* na bakteriju *Y. enterocolitica* (78, 82).

Među gljivicama, antimikrobno djelovanje eteričnih ulja *Thymus* roda najčešće je bilo ispitivano na kvasnicama *C. albicans, S. cerevisiae*, *C. tropicalis* te plijesan *A. niger,* na koje su eterična ulja roda *Thymus* ispoljila značajno antimikrobno djelovanje. Najbolje djelovanje na *C. albicans*, koje se povećavalo s količinom ulja, pokazalo je eterično ulje *T. daenesis* (Iran) (80). Njegov kemijski sastav nije ispitivan, tako da se ne može povući parelala između antimikrobnog djelovanja i sastava ulja. Nadalje, zabilježena je razlika u antimikrobnom djelovanju eteričnog ulja iz cvijeta i lista biljke *T. mastichina*, s boljim rezultatima za eterično ulje lista, koje je sadržavalo nešto manje količine 1,8-cineola, ali veće količine kamfora i (-)-borneola od cvijeta (81). Relativno uspješno antimikrobno djelovanje na *C. albicans* ispoljila

su i eterična ulja biljke *T. capitatus* (Sardinija) (7), što se može pripisati visokom sadržaju 1,8-cineola i timola, zatim *T. fallax* (Turska) (83), čijim je sastavom dominirala sastavnica karvakrol, za koju je prethodno pokazano antimikrobno djelovanje te *T. pubescens var. pubescens* (Turska) (83), čije se antimikrobno djelovanje može se objasniti visokim sadržajem cis-karvevola (109) i α- tepineola, za koje su prethodna istraživanja također pokazala jaku antimikrobnu aktivnost (7, 95).

Nadalje, *C. tropicalis* se pokazala osjetljivom na ispitana eterična ulja s najboljim rezultatima za eterično ulje *T. vulgaris* (Iran) (90) i *T. revolutus* (Turska) (85). Aktivnost potonjeg ovisila je o količini uzetoj u ispitivanje pa je pri većim upotrijebljenim količinama ulje ispoljilo umjeren antimikrobni učinak, a pri manjoj količini nije bilo aktivno. Antimikrobna aktivnost tog ulja može se pripisati visokom sadržaju karvakrola, čije je antimikrobno djelovanje zabilježeno prethodnim istraživanjima. Kvasnica *S. cerevisiae* je bila osjetljiva na pojedina eterična ulja. Tako je eterično ulje biljke *T. vulgaris* prikupljene u Mađarskoj pokazalo dobar učinak prema dva soja kvasnice, za koje nisu zabilježene značajne razlike u rezultatima (92). Također, uspješnu antimikrobnu aktivnost pokazalo je eterično ulje *T. eigii* (91). Nije poznato koja je sastavnica odgovorna za djelovanje. Nadalje, plijesan *A. niger* je reagirala velikom osjetljivošću na ispitivana eterična ulja, s posebno velikim zonama inhibicije za eterična *T. daenesis i T. vulgaris* (Iran) (80, 90).

Osim kemijskog sastava i antimikrobnog djelovanja, posebna pažnja obratila se na moguće nuspojave eteričnih ulja rodova *Salvia* i T*hymus*. Za eterično ulje *S. officinalis* zabilježena je hepatotoksičnost pri koncentraciji iznad 200 nl/ml, dok je pri koncentraciji od 120 µg/ml zabilježena smanjena vijabilnost stanica. Informacije vezane za djelovanje i sigurnost

eteričnog ulja tijekom trudnoće i laktacije nedostaju (110). Nadalje, kod oralne uporabe biljke *S. miltiorrhiza* nekoliko studija zabilježilo je nuspojave poput vrtoglavice, glavobolje, alergije, blagih gastrointestinalnih problema te trombocitopenije, međutim podaci o sigurnosti i nuspojavama uporabe eteričnog ulja nedostaju. Studije rađene na miševima nisu pokazale toksičnost, ali zabilježeno je moguće međudjelovanje s pojedinim lijekovima, poput varfarina, zbog čega je potreban dodatan oprez prilikom njegove konzumacije zbog mogućeg pojačanog antikoagulativnog djelovanja (110). Također, za uporabu *S. hispanica* (*S. columbariae*) nedostaju informacije o toksičnosti biljke, ali je zabilježeno međudjelovanje s varfarinom, stoga treba obratiti pažnju kod uporabe ovih i drugih antikoagulativnih lijekova. Za nuspojave i toksičnost eteričnog ulja *T. vulgaris* nedostaju znanstveni podaci, međutim nisu zabilježene mutagene aktivnosti. Kod uporabe timijana među zabilježenim nuspojavama naveden je kontaktni dermatitis (110).

Na temelju rezultata obuhvaćenih ovim radom može se zaključiti da su eterična *ulja Salvia* i *Thymus* rodova imala značajan antimikrobni potencijal na široki raspon gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija i gljivica. S obzirom da su u ispitivanjima obuhvaćeni mikroorganizmi koji su uzrokom raznih učestalih oboljenja, ispitivana eterična ulja mogu se razmatrati i kao dio novih formulacija za njihovo tretiranje. Uzme li se u obzir i da su ispitivana eterična ulja bila djelotvorna protiv nekih od najčešćih uzročnika kvarenja hrane (rodova *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Saccharomyces* i drugih) te na brojne toksikogene bakterije u namirnicama (poput *E. coli, B. cereus, S. aureus* i *S. faecalis*) (111), uporaba ispitivanih eteričnih ulja može se razmotriti kod konzerviranja prehrambenih proizvoda. Također, njihova uporaba može biti od interesa kozmetičkoj industriji, kojoj je mikrobiološka čistoća proizvoda jedan od glavnih problema, s obzirom da mikrobiološki kontaminirani proizvodi ne

samo da uzrokuju promjenu konzistencije, boje, separaciju faza emulzije i mirisa (112), nego predstavljaju i rizik od infekcija (113, 114). Uzme li se u obzir i činjenica da se uporabom kozmetičkih proizvoda pojavljuje sve više alergija, koje se sve češće vežu uz uporabu sintetskih konzervansa (115), traženje novih rješenja u sredstvima prirodnog porijekla, poput eteričnih ulja, nameće se kao logično rješenje (114, 116, 117). Prednost djelovanja eteričnih ulja nad sintetskim konzervansima i antimikrobnim lijekovima jeste sinergistički učinak raznih sastavnica, protiv kojih je teže razviti mehanizme rezistencije (6).

5. ZAKLJUČAK

Obrađena znanstvena istraživanja pokazala su značajan antimikrobni potencijal eteričnih ulja raznih biljnih vrsta rodova *Salvia* i *Thymus* zastupljenih diljem svijeta na široki raspon gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija i gljivica. Djelovanje eteričnih ulja bilo je uspješnije na gram-pozitivne bakterije i gljivice, nego na gram-negativne bakterije, ali antimikrobni rezultati su zabilježeni na neke od najrezistentnijih gram-negativnih bakterija, poput *P. aeruginosa*. Kemijski sastav eteričnih ulja, kao i antimikrobno djelovanje, ovisili su o zemljopisnom porijeklu i uvjetima rasta biljke, razdoblju branja, odnosno fazi cvatnje biljke te biljnom organu iz kojeg je izolirano eterično ulje. Antimikrobno djelovanje eteričnih ulja može se pripisati djelovanju najzastupljenijih sastavnica, ali i sinergističkom učinku svih prisutnih sastavnica, uključujući i one prisutne u minimalnoj količini. Ispitana eterična ulja mogu se uzeti u obzir kao alternativa sintetskim konzervansima za prehrambene, kozmetičke i farmaceutske proizvode, međutim treba uzeti u obzir i njihovu moguću toksičnost i sigurne doze za primjenu u prehrambenim, kozmetičkim ili farmaceutskim proizvodima. Zato su potrebne daljnje detaljno osmišljene studije o stabilnosti, toksičnosti i sigurnosti ispitanih eteričnih ulja.

6. LITERATURA

1. Kuštrak D. Farmakognozija fitofarmacija. Golden Marketing - Tehnička Knjiga; 2005.
2. Van de Braak SAAJ, Leijten GCJJ. Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries; 1999, str. 116.
3. Bauer K, Garbe D. Common Fragrance and Flavor Materials. Preparation, Properties and Uses. VCH Verlagsgesellschaft; 1985.
4. Packiyasothy EV, Kyle S. Antimicrobial properties of some herb essential oils. Food Aust 2002; 54 (9): 384–387.
5. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. Food Chem Toxicol 2007; 46:446–475.
6. Marković S. Fitoaromaterapija. Centar Cedrus; 2005.
7. Cosentino S, Tuberoso CIG, Pisano B i sur. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. Lett Appl Microbiol 1999; 29: 130–135.
8. Marino M, Bersani C, Comi G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. Int J Food Microbiol 2001; 67: 187-195.
9. Lattaoui N, Tantaoui-Elaraki A. Individual and combined antibacterial activity of the main components of three thyme essential oils. Rivista Italiana EPPOS 1994; 13:13–19.
10. Lis-Balchin M, Deans SG. Bioactivity of selected plant essential oils against Listeria monocytogenes. J Appl Bacteriol 1997; 82:759–762.

11. Baardseth P. Effect of selected antioxidants on the stability of dehydrated mashed potatoes. Food Addit Contam 1989; 6:201–207.
12. Ames BM. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. Science 1983; 221:1256–1263.
13. Reische DW, Lillard DA, Eintenmiller RR. Antioxidants in food lipids - Chemistry, Nutrition and Biotechnology. Marcel Dekker; 1998, str. 423–448.
14. Tepe B, Eminagaoglu O, Akpulat HA, Aydin E. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and S. *verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm Food Chem 2007; 100:985-989.
15. Sonboli A, Babakhani B, Mehrabian AR. Antimicrobial Activity of Six Constituents of Essential Oil from *Salvia*. Z Naturforsch 2006; 61:160-164.
16. Watt JM, Breyer-Brandwijk MG. The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. Being an account of their medicinal and other uses, chemical composition, pharmacological effects and toxicology in man and animal. E. and S. Livingstone; 1962, str. 525.
17. Perry NB, Anderson RE, Brennan NJ i suradnici. Essential oils from dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. J Agric Food Chem 1999; 47(5):2048-54.
18. Abu-Irmaileh BE, Afifi FU. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. J Ethnopharmacol 2003; 89:193–7.
19. El-Sayed NH, Khalifa TI, Ibrahim MT, Mabry TJ. Constituents from *Salvia triloba*. Fitoterapia 2001; 72:850–3.

20. Oran SA, Al-Eisawi DM. Checklist of medicinal plants in Jordan. Dirasat 1998; 25:84–111.
21. Cardile V, Russo A, Formisano C i sur. Essential oils of *Salvia bracteata* and *Salvia rubifolia* from Lebanon: Chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells. J Ethnopharmacol 2009; 126:265–272.
22. Fu Z, Wang H, Hu X, Sun Z, Han C. The Pharmacological Properties of *Salvia* Essential Oils. J App Pharm Sci 2013; 3(7):122-127.
23. Papageorgio VP. GLC-MS Computer Analysis of the Essential oil of *Thymus capitatus*. Planta Med 1980; 40:29–33
24. Gonçalves GMS, Bottaro M, Nilson AC. Effect of the *Thymus vulgaris* essential oil on the growth of *Streptococcus mutans.* Rev Ciênc Farm Básica Apl 2011; 32(3):375-380.
25. Santurio JMS, Santurio DF, Pozzatti P, Moraes C, Franchin PR, Alves SH. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* entérica de origem avícola. Ciênc Rural 2007; 37(3): 803-8.
26. Tambić Andrašević A. Kontrola rezistencije bakterija na antibiotike u Hrvatskoj. Infektološki glasnik 2009; 29 (4):145–150.
27. World Health Organisation (WHO): Antimicrobial resistance. *Available at: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/. Acessed February 25, 2015*.
28. World Health Organisation (WHO): World Health Statistics. *Available at:* http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671_eng.pdf?ua=1. *Acessed February 04, 2015*.
29. Hogberg LD, Heddini A, Cars O. The global need for effective antibiotics: Challenges and recent advances. Trends Pharmacol Sci 2010, 31(11):509–515.

30. Tenover FC, McGowan JE. Reasons for the Emergence of Antibiotic Resistance. Am J Med Sci 1996; 311(1):9-16
31. Kalenić S, Hammerschlag MR, Zinner SH, Young LS, Ortiz-Neu C. Sexually transmitted diseases/ *Chlamydia* and occular infectious. U: New considerations for macrolides, azalides, streptogramins and ketolides. Marcel Decker Inc., 2000; 517-533.
32. Tambić Andrašević A, Tambić T, Kalenić S, Janković V. Surveillance for Antimicrobial Resistance in Croatia. Emerg Infec Dis 2002; 8(1):14-18.
33. Daglia, M. Polyphenols as antimicrobial agents. Curr Opin Biotec 2011; 23:174–181.
34. Simoes M, Bennett RN, Rosa EA. Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. Natu Prod Rep 2009; 26(6):746–757.
35. World Health Organisation (WHO): Antimicrobial resistance, Global Report on Surveillance. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1. *Acessed February 25, 2015*.
36. Nabavi SM, Marchese A, Izadi M, Curti V, Daglia M, Nabavi SF. Plants belonging to the genus Thymus as antibacterial agents: From farm to pharmacy. Food Chem 2015; 173:339–347
37. Guenther E. The Essential Oils. D. Van Nostrand Co. Inc.; 1948, str. 427.
38. Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. Lett Appl Microb 1993; 16:49– 55.
39. Boyle W. Spices and essential oils as preservatives. Amer Perfumer and Essential Oil Rev 1955; 66:25– 28.

40. Haznedaroglu MZ, Karabay NU, Zeybek U. Antibacterial activity of *Salvia tomentosa* essential oil. Fitoterapia 2001; 72:829-831.

41. Özcan M, Erkemen O. Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. Eur Food Res Technol 2001: 212(6):658-660.

42. Pandit VA, Shelef LA. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Food Microbiol 1994; 11(1):57-63.

43. Kelen M, Tepe B. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. Bioresource Technol 2008; 99:4096–4104.

44. Alim A, Goze I, Goze HM, Tepe B, Serkedjieva J. *In vitro* antimicrobial and antiviral activities of the essential oil and various extracts of *Salvia cedronella* Boiss. J Med Plant Res 2009;. 3(5): 413-419.

45. Yousefzadia M, Sonboli A, Ebrahimic SN, Hashemis SH. Antimicrobial Activity of Essential Oil and Major Constituents of *Salvia chloroleuca.* Z Naturforsch 2008; 63: 37D-340.

46. Kunduhoglu B, Kurkcuoglu M, Duru ME, Baser KCB. Antimicrobial and anticholinesterase activities of the essential oils isolated from *Salvia dicroantha* Stapf., *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Freyn and Bornm.) Bornm. and *Salvia wiedemannii* Boiss. J Med Plant Res 2011; 5(29):6484-6490.

47. Al-Howiriny TA. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia palaestina* Bentham growing in Saudi Arabia. Saudi Pharm J 2007; 15:218-223.

48. Skała E, Kalemba D, Wajs A i sur. *In vitro* Propagation and Chemical and Biological Studies of the Essential Oil of *Salvia przewalskii* Maxim. Z Naturforsch 2007; 62: 839-848.

49. Kamatou GPP, Viljoen AM, Gono-Bwalya AB. The in vitro pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species. J Ethnopharmacol 2005; 102(3):382-390.
50. Nadir M, Rasheed M, Sherwani SK, Kazmi SU, Ahmad VU. Chemical and antimicrobial studies on the essential oil from *Salvia santolinifolia* Boiss. Pak J Pharm Sci 2013; 26:39-52.
51. Džamić A, Soković M, Ristić M, Grujović-Jovanović S, Vukojević J, Marin PD. Chemical composition and antifungal activity of *Salvia sclarea* (Lamiaceae) essential oil. Arch Biol Sci 2008; 60(2):233-237.
52. Ulukanli Z, Karabörklü S, Cenet M, Sagdic O, Ozturk I, Balcilar M. Essential oil composition, insecticidal and antibacterial activities of Salvia tomentosa Miller. Med Chem Res 2013; 22:832-840.
53. Lakušić BS, Ristić MS, Slavkovska VN, Stojanović DLj, Lakušić DV. Variations in essential oil yields and compositions of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) at different developmental stages. Bot Serb 2013; 37(2):127-139.
54. Natali F, Siculella L, Salvati S, Gnoni GV. Oleic acid is a potent inhibitor of fatty acid and cholesterol synthesis in C6 glioma cells. J Lipid Res 2007; 48:1966-1975.
55. Ahn Y, Lee S, Okubo T, Kim M. Antignawing factor of crude oil derived from *Thujopsis dolabrata* S. et Z. var. *hondai* sawdust against mice. J Chem Ecol 1995; 21:263-271.
56. Sillam-Dusses D, Semon E, Moreau C i suradnici. Neocembrene A, a major component of the trailfollowing pheromone in the genus *Prorhinotermes* (Insecta, Isoptera, Rhinotermitidae). Chemoecology 2009; 15: 1-6.
57. Sefidkon F, Khajavi MS. Chemical composition of essential oil of two *Salvia* species from Iran: *Salvia verticillata* L. and *Salvia santolinifolia* Boiss. *Flavour.* Frag J 1999; 14:77-78.

58. Javidnia K, Miri R, Soltani M, Gholami M, Khosravi AR. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oils of six Iranian *Salvia* species. Chem Nat Compd 2008; 44:654-658.

59. Özen HC, Toker Z, Ertekin AS. Essential oil composition of two *Salvia* species from Turkey. AFS, Adv Food Sci 2004; 26:32–34.

60. Amiri H. Quantitative and qualitative changes of essential oil of *Salvia bracteata* Bank et Sol. in different growth stages. DARU-Journal of Faculty of Pharmacy 2007; 15:79–82.

61. Fraternale D, Giamperi L, Bucchini A i suradnici. Composition and antifungal activity of essential oil of *Salvia sclarea* from Italy. Chem Nat Comp 2005; 41(5):604-606.

62. Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chem 2005; 90: 333–340.

63. Sikkema J, De Bont JAM, Poolman B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. J Biol Chem 1994M 269 (11): 8022–8028.

64. Santos FS, Novales MGM. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. Curr Opin Biotech 2012; 23(2): 136-141.

65. Živić M. Akutni bakterijski rinosinusitis. Acta Med Median 2004; 43:65-70.

66. Janssen AM, Scheffer JJ, Baerheim-Svendsen A. Antimicrobial activities of essential oils: a 1976–1986 literature review. Aspects of the test methods. Planta Med 1987; 53:395–8.

67. Cotter PD, Hill C. Surviving The Acid Test: Responses of Gram-Positive Bacteria on Low pH. Microbiol Mol Biol R 2003; 67(3):429-453.

68. Mylotte JM, McDermott C, Spooner J. Prospective study of 114 consecutive episodes of *Staphylococcus aureus* bacteria. Rev Infec Dis 1987; 9; 981-1907.

69. Gordon RE, Tlaynes WC, Pang HNC. TIe genus *Bacillus.* Agricultural Handbook No. 427. USDA; 1973, str. 283.
70. Gould D, Ron AC. Gram-negative bacteria. The challenge of preventing cross-infection in hospital wards: a review of the literature. J Clin Nurs 2007; 3(6):339-345.
71. Singh R, Chandra R, Bose M, Luthra PM, Antibacterial activity of *Curcuma longa* rhizome extract on pathogenic bacteria. Curr Scien 2000; 83(6): 737-740.
72. Gužvinec M, Butić I, Jelić M, Bukovski S, Lucić S, Tambić Andrašević A. Rezistencija na antibiotike u bakterije *Pseudomonas aeruginosa*. Infektološki glasnik 2012; 32(2):71-80.
73. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet 2001; 358:135-138.
74. Abu-Darwish MS, Al-Ramamneh EAD, Kyslychenko VS, Karpiuk UV. The antimicrobial activity of essential oils and extracts of some medicinal plants grown in Ash-shoubak region – South of Jordan. Pak J Pharm Sci 2012; 25(1):239-246.
75. Al-Bakri AG, Othman G, Afifi FU. Determination of the antibiofilm, antiadhesive, and anti-MRSA activities of seven *Salvia* species. Pharmacognosy Magazine 2010; 6(24):264-270.
76. Karatas H, Ertekin S. Antimicrobial activities of the essential oils of four *Salvia* species from Turkey. J Med Plant Res 2010; 4(12):1238-140.
77. Uniyal V, Saxena S, Bhatt RP. Screening of some essential oils against *Trichosporon* species. J Enivron Biol 2013; 34:17-22.
78. Sagdic O, Ozkan G, Aksoy A, Yetim H. Bioactivities of essential oil and extract of *Thymus argaeus*, Turkish endemic wild thyme. J Sci Food Agric 2009; 89:791-795.
79. Belaqziz R, Harrak R, Romane A, Oufdou K, Eifels MA. Antimicrobial and Insecticidal Activities of the Endemic *Thymus broussonetti* Boiss. and *Thymus maroccanus* Ball. Rec Nat Prod 2010; 4(4):230-237.

80. Fadli M, Saad A, Sayad S i suradnici. Antibacterial activity *of Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection – bacteria and their synergistic potential with antibiotics. Phytomedicine 2012; 19: 464– 471.
81. Faleiro ML, Miguel MG, Ladeiro F i suradnici. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. Lett Appl Microbiol 2003; 36:35-40.
82. Albayrak S, Aksoy A. Essential oil composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Thymus cappadocicus* Boiss. J Food Process Pres 2013; 37:605-614.
83. Küçükbay FZ, Kuyumcu E, Çelen S, Azaz AD, Arabaci T. Chemical Composition of the Essential Oils of Three *Thymus* Taxa from Turkey with Antimicrobial and Antioxidant Activities. Rec Nat Prod 2014; 8(2):110-120.
84. Rasooli I, Mirmostafa SA. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential oils. Fitoterapia 2002; 73:244-250.
85. Karaman S, Digrak M, Ravid B, Ilcim A. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. J Ethnopharmacol 2001; 76:183-186.
86. Tsai ML, Lin CC, Lin WC, Yang CH. Antimicrobial, Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Essential Oils From Five Selected Herbs. Rec Nat Prod 2010; 4(4): 230-237.
87. Ahmad A, Vuuren S, Viljoen A. Unravelling the Complex Antimicrobial Interactions of Essential Oils — The Case of *Thymus vulgaris* (Thyme). Molecules 2014; 19(3):2896-2910.
88. Reddy MVB, Angers P, Gosselin A, Arul J. Caracetrization and use of essential oils from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. Phytochemistry 1998; 47(8):1515-1520.

89. Arraiza MP, Arrabal C, Lopez JV. Seasonal variation of essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis*) grown in Castilla – La Mancha (central Spain). Not Bot Horti Agrobo 2012; 40(2):106-108.
90. Behbahani MH, Ghasemi Y, Khoshnoud MJ, Faridi P, Moradli G, Najafabady NM. Volatile oil composition and antimicrobial activity of two Thymus species. Phcog J 2013; 5:77-79.
91. Toroglu S. In vitro antimicrobial activity and antagonistic effect of essential oils from plant species. J Environ Biol 2007; 28(3):551-559.
92. Schelz S, Molnar J, Hohmann J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. Fitoterapia 2006; 77:279-285.
93. Dušan F, Marian S, Katarina D, Dobroslava B. Essential oils—their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. Toxicol in Vitro 2006 (20):1435–1445.
94. Gergis V, Spilotis V, Poulos C. Antimicrobial activity of essential oils from Greek *Sideritis* species. Pharmazie 1990; 45: 70.
95. Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol 2000; 88: 308-316.
96. Ross SA, El-Keltawi NE, Megalla S. Antimicrobial activity of some Egyptian aromatic plants. Fitoterapia 1980; 51:201–205.
97. Onawunmi GO, Ysak WA, Ogunlana EO. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. J Ethnopharmacol 1984; 12:279–286.
98. Farag RS, Daw ZY, Hewedi FM, El-Baroty GSA. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. J Food Protect 1989; 52:665–667.
99. Lemos TLG, Matos FJA, Alencar JW i suradnici. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. Phytoter Res 1990; 4(2):82–84.

100. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Lett Appl Microbiol 1998; 26(2):118–122.

101. Didry N, Dubreuil L, Pinkas M. Antimicrobial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. Pharmazie 1993; 48:301–304.

102. Johansson L, Thulin P, Low DE, Norrby-Teglund A. Getting under the Skin: The Immunopathogenesis of *Streptococcus pyogenes* Deep Tissue Infections. Clin Infect Dis 2010; 51(1):58-65.

103. FoodSafety.gov: Staphylococcus. Available at: http://www.foodsafety.gov/poisoning/causes/bacteriaviruses/staphylococcus/. *Accessed April 03, 2015.*

104. Hong HA, Huang JM, Khaneja R, Hiep LV, Urdaci MC, Cutting SM. The safety of *Bacillus subtilis* and *Bacillus indicus* as food probiotics. J Appl Microbiol 2008; 105:510-520.

105. Majhenič AČ. Enterococci: yin – yang microbes. Mljekarstvo 2006; 56(1):5-20.

106. Lister PH, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa: c*linical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev 2009; 22(4):582-610.

107. FoodSafety.gov: *E. coli*. Available at: http://www.foodsafety.gov/poisoning/causes/bacteriaviruses/ecoli/. *Accessed April 03, 2015.*

108. Centres for Disease and Control Prevention: *Klebsiella pneumoniae* in Healthcare Settings. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2772362/. *Accessed April 03, 2015.*

109. Abdullah IH, Farooq A, Muhammad S, Muhammad A, Roman P. Chemical Composition, and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil of Spearmint (*Mentha spicata* L.) From Pakistan. J Essential Oil Res 2010; 22:78-84.

110. Lexi-comp Online.

Available at: http://online.lexi.com/crlsql/servlet/crlonline. *Acessed April 7, 2015.*

111. Duraković S, Delaš F, Duraković L. Moderna mikrobiologija namirnica – knjiga druga. Sveučilišni udžbenik. Kugler d.o.o.; 2002, str.216-217.

112. Kunicka-Styczynska A, Sikora M, Kalemba D. Antimicrobial activity of lavander, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems. J Appl Microbiol 2009; 107:1903-1911.

113. Wong S, Street D, Delgado SI, Klontz KC. Recalls of foods and cosmetics due to microbial contamination reported to the U.S. Food and Drug Administration. J Food Prot 2000; 63:1113–1116.

114. Nostro A, Cannatelli MA, Morelli I, Cioni PL, Bader A, Marino A, Alonzo V. Preservative properties of *Calamintha officinalis* essential oil with and without EDTA. Lett Appl Microbiol 2002; 35:385–389.

115. De Groot AC. Fatal attractiveness: the shady side of cosmetics. Clin Dermatol 1998; 16:167–169.

116. Maccioni AM, Anchisi C, Sanna A, Sardu, Dessi S. Preservative systems containing essential oils in cosmetic products. Int J Cosmet Sci 2002; 24:53–59.

117. Seo SB, Ryu CS, Ahn GW i suradnici. Development of natural preservative system using the mixture of chitosanInula helenium L. extract. Int J Cosmetic Sci 2002; 24: 195–206.