

©Borgis

*Anna Kędzia¹, Marta Ziółkowska-Klinkosz¹, Adam Włodarkiewicz², Aida Kusiak³,
Andrzej W. Kędzia⁴, Barbara Kochańska⁵

Wrażliwość bakterii beztlenowych na olejek cytrynowy (*Oleum Citri*)

¹Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Katedra Mikrobiologii, Gdański Uniwersytet Medyczny
Kierownik Zakładu: dr hab. Anna Kędzia, prof. nadzw.

²Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej i Stomatologicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny
Kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. Adam Włodarkiewicz

³Katedra i Zakład Periodontologii i Chorób Błony Śluzowej Jamy Ustnej, Gdański Uniwersytet Medyczny
Kierownik Katedry i Zakładu: dr hab. Aida Kusiak, prof. nadzw.

⁴Katedra Pielęgniarstwa Pediatricznego, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu
Kierownik Katedry: dr hab. Andrzej W. Kędzia

⁵Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej, Gdański Uniwersytet Medyczny
Kierownik Katedry i Zakładu: dr hab. Barbara Kochańska, prof. nadzw.

SENSITIVITY ANAEROBIC BACTERIA TO LEMON OIL (OLEUM CITRI)

SUMMARY

Citrus limon L. belongs to family Rutaceae. The lemon tree is an evergreen. It grows 5 to 10 m in height and has light green leaves, white flowers and oval, green to yellow fruits (lemon). The lemon oil exhibits significant antimicrobial effect. More than 40 components have been identified in lemon peel oil. One of the major components present in essential oil is (+)-limonene. Other constituents of oil include citral, α -terpineol, α -pinene, β -pinene, citronellal, linalyl and geranyl acetate, *p*-cymene, γ -pinene, β -myrcene, cumarins, bioflavonoids and pectins. The aim of this study was to determine the antimicrobial activity of lemon oil against anaerobic bacteria, isolated from infections of oral cavity. A total of 48 strains of anaerobes and 4 standard strains were tested. The susceptibility was determined by two-fold agar dilution method in Brucella agar supplemented with 5% defibrinated sheep blood, menadione and hemin. Inoculum containing 10^5 CFU per spot was seeded with Steers replicator upon the surface of agar with oil and without oil (strains growth control). Incubation of the plates was performed in anaerobic conditions in an anaerobic jar at 37°C for 48 h. The MIC was defined as the lowest concentration of the lemon oil inhibiting the growth of anaerobes. The results indicated that the most susceptible to essential oil from Gram-negative bacteria were the strains from the genus *Porphyromonas asaccharolytica* (MIC \leq 2.5 mg/ml) and *Prevotella levii* (MIC \leq 2.5-7.5 mg/ml). The strains from the genus *Fusobacterium necrogenes* and *Bacteroides fragilis* were the least sensitive. The growth of the strains was inhibited by concentrations $>$ 20.0 mg/ml. The tested oil was very active against the Gram-positive anaerobes. The concentrations in the range \leq 2.5-10.0 mg/ml inhibited the growth of all the cocci from the genus *Fingoldia* and *Micromonas*.

But the strains of Gram-positive rods were less sensitive (MIC 10.0-20.0 mg/ml). The Gram-negative anaerobes were less susceptible to lemon oil than Gram-positive bacteria.

KEYWORDS: ANAEROBIC BACTERIA – SUSCEPTIBILITY – ORAL CAVITY – LEMON OIL

Pierwsze wzmianki o cytrynach dotyczą I w. n.e. Przypuszcza się, że pochodzą one z południowo-wschodniej Azji, z Indii lub południa Chin. Uprawy drzew cytrynowych rozpoczęto w Persji i Palestynie na początku XII wieku, a następnie w krajach śródziemnomorskich (1). W XVII w. cytryny stały się słynne dzięki obowiązkowemu, codziennemu picciu soku cytrynowego przez marynarzy w celu zapobiegania skorbutowi (2). Obecnie największe uprawy cytryn są w Stanach Zjednoczonych, głównie w Kalifornii i na Florydzie, a także w Argentynie i Brazylii. W Kalifornii w połowie XIX wieku uruchomiono produkcję soku cytrynowego.

Cytryna zwyczajna (*Citrus limon L.*) z rodziny Rutaceae jest drzewem o wiecznie zielonych liściach, które osiąga 5-10 m wysokości. Wytwarza jasnozielone liście, białe kwiaty i owalne zielone lub żółte owoce. Ze świeżych zewnętrznych owoców cytryn, metodą tłoczenia na zimno, otrzymywany jest olejek cytrynowy (*Oleum citri*). Jest on bezbarwny lub żółty o charakterystycznym, silnym cytrynowym zapachu. Owoce

zawierają polisacharydy, kwasy organiczne (głównie kwas cytrynowy), lipidy, karotenoidy, witaminy (C, B₁, B₂), związki mineralne, flawonoidy, związki goryczowe i pektyny (3). W cytrynach występują znaczne ilości potasu (145 mg na 100 g owocu), bioflawonoidy oraz witamina C (40-50 mg/100 g) (4). Ponadto w soku z cytryny są obecne witaminy A, B₃ oraz wapń (61 mg) (5). Owocnia zawiera olejek eteryczny, flawonoidy (diosmetyna, hesperydyna, luteolina) i związki gorzkie. Olejek cytrynowy (wydajność 0,3-0,7%) zawiera ponad 40 składników. Głównym związkiem jest (+)-limonen (50-90%). W mniejszych ilościach występują: cytral, α -terpineol, α -pinen, β -pinen, citronelal, octan linalylu i geranylu, p-cymen, γ -pinen, β -myrcen, kumaryny, bioflawonoidy i pektyny (6-14). Olejek znalazł szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym i kosmetycznym.

Olejek cytrynowy wykazuje szereg właściwości leczniczych. W medycynie tradycyjnej stosowany jest w celu obniżenia ciśnienia krwi, w zaburzeniach trawienia, zakażeniach dróg oddechowych, przeziębieniach, reumatyzmie, artretyzmie i zakażeniach skóry, szczególnie jako środek przeciwtrądzikowy. Badania kliniczne wykazały jego korzystne działanie w zapobieganiu kamicy nerkowej. Stwierdzono, że po długotrwałym (ponad 3 lata) codziennym picciu 120 ml rozcieńczonego soku cytrynowego uzyskano znaczną redukcję formowania się kamieni nerkowych (15, 16). Doświadczalnie wykazano też przeciwnowotworowe działanie olejku cytrynowego (11, 17-19).

Ponadto badania przeprowadzone w Niemczech w 1980 r. wskazały, że wykazuje on właściwości przeciwutleniające (20). Inni badacze potwierdzili przeciwutleniającą aktywność olejku cytrynowego (8, 21, 22). Wykazano też, że sok z cytryny może obniżyć w surowicy krwi stężenie stosowanej chlorochiny do poziomu poniżej terapeutycznego (23). Ponadto sok z cytryny może podwyższać absorpcję jonów żelaza (24). Nie powinno się go stosować u dzieci oraz u kobiet w ciąży i karmiących. Ponadto, ze względu na obecność w olejku związków kumarynowych, które wywołują nadwrażliwość na promieniowanie słoneczne, po stosowaniu go nie należy przebywać na słońcu. Doświadczalnie wykazano też, że olejek cytrynowy jest skutecznym repelentem przeciw moskitom, które są przenosicielami zarodźca malarii (25).

Wyniki licznych badań wskazują na wysoką przeciwdrobnoustrojową aktywność olejku wobec bakterii, grzybów i wirusów (9, 10, 12, 13, 26-40). Jednak dotychczas przeprowadzone doświadczenia dotyczą przede wszystkim działania tego olejku na bakterie tlenowe i względnie beztlenowe. Brakuje danych na temat aktywności olejku wobec bakterii beztlenowych.

Celem badań była ocena wrażliwości na olejek cytrynowy bakterii beztlenowych wyizolowanych z zakażeń w obrębie jamy ustnej.

Materiały i metody badań

Bakterie beztlenowe zostały wyhodowane z materiałów pobranych od pacjentów z chorobami przyzębia, zapaleniem błony śluzowej jamy ustnej i ropniem okołozębowym. Ocenie wrażliwości poddano 48 szczepów należących do rodzajów: *Prevotella* (10 szczepów), *Porphyromonas* (4), *Fusobacterium* (7), *Tannerella* (2), *Parabacteroides* (1), *Bacteroides* (7), *Finegoldia* (3), *Micromonas* (3), *Actinomyces* (5), *Propionibacterium* (4), *Bifidobacterium* (2) oraz 4 szczepy wzorcowe z gatunku: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25585, *Finegoldia magna* ATCC 29328 i *Bifidobacterium breve* ATCC 15700. Badanie wrażliwości (MIC) na olejek cytrynowy (Etja, Elbląg) wymienionych szczepów przeprowadzono metodą rozcieńczeń w agarze Brucella z dodatkiem 5% krwi baraniej, menadionu i heminy. Użyty do badań olejek najpierw rozpuszczano w DMSO (Serva), w celu uzyskania stężenia 100 mg/ml. Dalsze rozcieńczenia były wykonywane w jałowej wodzie destylowanej, w celu uzyskania następujących stężeń: 20,0; 15,0; 10,0; 7,5; 5,0 i 2,5 mg/ml. Odpowiednie rozcieńczenia olejku cytrynowego dodawano do agaru. Zawiesinę zawierającą 10⁵ CFU (jednostek tworzących kolonie) na kroplę наносono na powierzchnię agaru aparatem Steersa. Podłoża z posiewami drobnoustrojów zawierające odpowiednie stężenia olejku oraz bez olejku (podłoża kontrolne) inkubowano w anaerostatach zawierających mieszaninę gazów: 10% CO₂, 10% H₂ i 80% N₂, katalizator palladowy i wskaźnik beztlenowości, w temp. 37°C przez 48 godz. Za MIC przyjęto takie najmniejsze stężenie olejku, które całkowicie hamowało wzrost testowanych szczepów bakterii beztlenowych.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki badań wrażliwości na olejek cytrynowy Gram-ujemnych bakterii beztlenowych zostały zebrane w tabeli 1, Gram-dodatnich beztlenowców w tabeli 2, a szczepów wzorcowych w tabeli 3. Niskie stężenia olejku w zakresie \leq 2,5-10,0 mg/ml hamowały wzrost 32% szczepów Gram ujemnych pałeczek. Największą aktywność olejek wykazał wobec gatunku *Porphyromonas asaccharolytica* (MIC \leq 2,5 mg/ml) i *Prevotella levii* (MIC \leq 2,5-7,5 mg/ml). Inne gatunki należące do wymienionych rodzajów oraz szczepy pałeczek z rodzaju *Fusobacterium*, *Tannerella*, *Parabacteroides* i *Bacteroides* okazały się mniej wrażliwe. Olejek cytrynowy hamował wzrost tych szczepów

Tabela 1. Wrażliwość Gram-ujemnych bakterii beztlenowych na olejek cytrynowy.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC mg/ml					
		≥ 20,0	15,0	10,0	7,5	5,0	≤ 2,5
<i>Prevotella buccalis</i>	3	1	1	1			
<i>Prevotella intermedia</i>	2		1	1			
<i>Prevotella levii</i>	2				1		1
<i>Prevotella loescheii</i>	3	2	1				
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	2						2
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2		1	1			
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	3	2	1				
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	2		2				
<i>Fusobacterium necrogenes</i>	2	2					
<i>Tannerella forsythia</i>	2		1	1			
<i>Parabacteroides distasonis</i>	1		1				
<i>Bacteroides fragilis</i>	2	2					
<i>Bacteroides vulgatus</i>	1			1			
<i>Bacteroides uniformis</i>	2	1		1			
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	2		2				
Gram-ujemne bakterie beztlenowe, ogółem	31	10	11	6	1		3

Tabela 2. Wrażliwość Gram-dodatnich bakterii beztlenowych na olejek cytrynowy.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC mg/ml					
		≥ 20,0	15,0	10,0	7,5	5,0	≤ 2,5
<i>Finegoldia magna</i>	3			2			1
<i>Micromonas micros</i>	3			1		1	1
Gram-dodatnie ziarniaki beztlenowe, ogółem	6			3		1	2
<i>Actinomyces israelii</i>	2		1	1			
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	2		1	1			
<i>Actinomyces viscosus</i>	1		1				
<i>Propionibacterium acnes</i>	2		2				
<i>Propionibacterium granulosum</i>	2	1	1				
<i>Bifidobacterium breve</i>	2		2				
Gram-dodatnie pałeczki beztlenowe ogółem	11	1	8	2			
Gram-dodatnie bakterie beztlenowe, łącznie	17	1	8	5		1	2

Tabela 3. Wrażliwość szczepów wzorcowych na olejek cytrynowy.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC mg/ml					
		≥ 20,0	15,0	10,0	7,5	5,0	≤ 2,5
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	1	1					
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	1			1			
<i>Finegoldia magna</i> ATCC 29328	1			1			
<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC 15700	1			1			

w stężeniach wynoszących od 10,0 do 20,0 mg/ml i wyższych. Najniższą aktywność olejek wykazał wobec szczepów z gatunku *Fusobacterium necrogenes* i *Bacteroides fragilis* (MIC > 20,0 mg/ml).

Spośród Gram-dodatnich bakterii beztlenowych największą wrażliwością charakteryzowały się szczepy ziarniaków z gatunku *Finegoldia magna* i *Micromonas micros* (MIC ≤ 2,5-10,0 mg/ml). Niższą aktywność olejek wykazał wobec szczepów Gram-dodatnich pałeczek (MIC 10,0-≥ 20,0 mg/ml), z wyjątkiem szczepów z rodzaju *Actinomyces* i *Bifidobacterium*, które okazały się nieznacznie bardziej wrażliwe na testowany olejek eteryczny (MIC w zakresie 10,0-15,0 mg/ml), niż rodzaj *Propionibacterium* (MIC ≥ 20,0 mg/ml).

Wyniki wskazują, że Gram-dodatnie bakterie beztlenowe były bardziej wrażliwe na testowany olejek cytrynowy w porównaniu z Gram-ujemnymi beztlenowcami. Niskie stężenie olejku w zakresie ≤ 2,5-10,0 mg/ml hamowały wzrost 32% Gram-ujemnych bakterii i 47% szczepów Gram-dodatnich bakterii beztlenowych, w tym połowy ocenianych szczepów ziarniaków. W badaniach przeprowadzonych przez Hammera i wsp. (38) oraz Yousefa i wsp. (40), dotyczących aktywności olejku cytrynowego wobec bakterii tlenowych i względnie beztlenowych, także Gram-dodatnie bakterie z gatunku *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* i *Bacillus subtilis* okazały się bardziej wrażliwe (MIC 3,1-20,0 mg/ml), niż Gram-ujemne pałeczki, tj. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Serratia marcescens* (MIC 20,0-50,0 mg/ml).

Wnioski

- Olejek cytrynowy wykazał największą aktywność wobec szczepów bakterii beztlenowych z gatunku *Porphyromonas asaccharolytica*, *Prevotella levii*, *Finegoldia magna* i *Micromonas micros*.
- Najniższą wrażliwością charakteryzowały się szczepy z gatunku *Fusobacterium necrogenes* i *Bacteroides fragilis*.

- Olejek cytrynowy wykazał wyższą aktywność wobec Gram-dodatnich bakterii w porównaniu z Gram-ujemnymi bakteriami beztlenowymi.

Piśmiennictwo

- Brud W, Konopacka J. Pachnąca apteka. Wyd. Pagina, Warszawa 1998.
- Carpenter J. The food and pharmacy. Bantam Publ, NY 1988.
- Ranganna S, Govindarjan VS, Ramana KV. Citrus fruits-varieties, chemistry, technology and quality evaluation. Part II. Chemistry, technology and quality evaluation. A chemistry. Crit Rev Food Sci Nutr 1983; 18(4):313-36.
- King CG. The isolation of vitamin C from lemon juice. Fed Proc 1979; 38(13):2681-3.
- Murray M. The healing power of herbs. Rocklin, Prima Publ Co, CA. 1993.
- Fisher K, Phillips CA. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro in food systems. J Appl Microbiol 2006; 101:1232-40.
- Lee J-H, Lee J-S. Chemical composition and antifungal activity of plant essential oils against *Malassezia furfur*. Kor J Microbiol Biotechnol 2010; 38(3):315-21.
- Bertuzzi G, Tirillini B, Angeloni P i wsp. Antioxidative action of *Citrus limonum* essential oil on skin. Eur J Med Plants 2013; 3(1):1-9.
- Belletti N, Ndagijimana M, Sisto C i wsp. Evaluation of the antimicrobial activity of *Citrus* essences on *Saccharomyces cerevisiae*. J Agric Food Chem 2004; 52:6932-8.
- Dimic GR, Kocic-Tanackov SD, Jovanov OO i wsp. Antibacterial activity of lemon, caraway and basil extracts on *Listeria* Spp. APTEFF 2012; 43:239-46.
- Jomaa S, Rahmo A, Alnori AS i wsp. The cytotoxic effects of essential oil of Syrian *Citrus limon* peel on human colorectal carcinoma cell line (Lim 1863). Middle East J Cancer 2012; 3(1):15-21.
- Seak BJ, Kim S-S, Lee J-A i wsp. Chemical composition and biological activities of essential oils extracted from Korea endemic *Citrus* species. J Microbiol Biotechnol 2008; 18(1):74-9.
- Kirbaslar FG, Tavman A, Dulger B i wsp. Antimicrobial activity of Turkish *Citrus* peel oils. Pak J Bot 2009; 41(6):3207-12.
- Kochnar KP. Dietary spices in health and diseases (II). Indian J Phys Pharmacol 2008; 52(4):327-58.
- Kang DE, Sur RL, Haleblan GE i wsp. Long-term lemonade based dietary manipulation in patients with hypocitraturic nephrolithiasis. J Urol 2007; 177(4):1358-62.
- Saltzer MA, Low RK, McDonald i wsp. Dietary manipulation with lemonade to treat hypocitraturic calcium nephrolithiasis. J Urol 1996; 156(3):907-9.
- Pavia M, Pileggi C, Nobile CG i wsp. Association between fruit and vegetable consumption and oral cancer: a meta-analysis of observation studies. Am J Clin Nutr 2006; 83(5):1126-34.
- Manners GD. *Citrus* limonoids: analysis bioactivity and biomedical prospects. J Agric Food Chem 2007; 55(21):8285-94.
- Yan HC, Hong P, Yu ZZ i wsp. Evaluation of antioxidant and antitumor activities of lemon essential oil. J Med Plants Res 2010; 4(18):1910-5.
- Ogata S, Miyake Y,

- Yamamoto K i wsp. Apoptosis induced by the flavonoid from lemon fruit (*Citrus limon* Burm. F.) and its metabolites in HL-60 cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000; 64(5):1075-8.
21. Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrshimzadeh ML. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 *Citrus* species peels and tissues. *Pak J Pharm Sci* 2009; 22(3):277-81.
22. Lopes Campelo LM, de Alameida AAC, Mendes de Freitas RL i wsp. Antioxidant and antinociceptive effects of *Citrus limon* essential oils in mice. 2011; 19:1-9.
23. Mahmoud BM, Ali HM, Homeida MM i wsp. Significant reduction in chloroquine bioavailability following coadministration with the Sudanese beverages Aradaib, Karkadi and Lemon. *J Antimicrob Chemother* 1994; 35(5):1005-9.
24. Ballot D, Baynes RD, Bothwell TH. The effect of fruit juices and fruits on the absorption of iron from a rice meal. *Br J Nutr* 1987; 57(3):331-43.
25. Oshaghi MA, Ghalandari R, Vatandoost H i wsp. Repellent effects of extracts and essential oils of *Citrus limon* (*Rutaceae*) and *Melissa officinalis* (*Labiatae*) against main malaria vector *Anopheles stephensi* (*Diptera: Culicidae*). *Iran J Publ Health* 2003; 32(4):47-52.
26. Sharma R, Chandra S, Singh A. Essential oils against lipophilic yeast like fungus. *Int J Pharm Biol Arch* 2012; 3(1):63-8.
27. Verma RK, Chaurasia L, Kumar M. Antifungal activity of essential oils against oils selected building fungi. *Ind J Nat Prod Res* 2011; 2(4):448-51.
28. Nannapaneni R, Muthaiyan A, Grandall PG i wsp. Antimicrobial activity of commercial *Citrus*-based natural extracts against *Escherichia coli* 0157:H7 isolates and mutant strains. *Foodborne Pathogens Dis* 2008; 5(5):695-9.
29. Vinda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J i wsp. Antibacterial activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), greipfruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *J Food Saf* 2008; 28:567-76.
30. Al-Marini A., Saour G, Hamound R. *In vitro* antibacterial effects of five oil extracts intramacrophage *Brucella abortus* 544. *Iran J Med Sci* 2012; 37(2):119-25.
31. Elumalai K, Krishnappa K, Neelakhadan T. Antibacterial activity of six essential oils against pathogenic bacteria. *Int J Rec Sci Res* 2010; 1:21-7.
32. Yadav N, Yadav B, Yadav S i wsp. Study of antimicrobial activity of natural plant oils against bacterial species isolated from hospital sample. *Int J Pharm Biol Arch* 2012; 3(4):789-91.
33. Sharmeen R, Hosain N, Rahman M i wsp. *In vitro* antibacterial activity of herbal aqueous extract against multidrug resistant *Klebsiella* sp. isolated from human clinical samples. *Int Curr Pharm J* 2012; 1(6):133-7.
34. Jeff-Agboola YA, Onifade AK, Akinyele BJ i wsp. *In vitro* antifungal activities of essential oil from Nigerian medicinal plants against toxigenic *Aspergillus flavus*. *J Med Plants Res* 2012; 6(23):4048-56.
35. Pandey RR, Dubey RC, Saini S. Phytochemical and antimicrobial studies on essential oils of some aromatic plants. *Afr J Biotechnol* 2010; 9(28):4364-8.
36. Dabbah R, Edwards VM, Moats WA. Antimicrobial action of some *Citrus* fruit oils on selected food-borne bacteria. *Appl Microbiol* 1970; 19(1):27-31.
37. Kędzia B, Hołderna-Kędzia E. Badanie wpływu olejków eterycznych na bakterie, grzyby i dermatofity chorobotwórcze dla człowieka. *Post Fitoter* 2007; 2:71-7.
38. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999; 86:985-90.
39. Chao S, Young G, Oberg C i wsp. Inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by essential oils. *Flavour Fragr J* 2008; 23:444-9.
40. Yousef RT, Tawil GG. Antimicrobial activity of volatile oils. *Pharmazie* 1980; 35:698-701.

otrzymano/received: 15.01.2013
zaakceptowano/accepted: 28.02.2013

Adres/address:

*dr hab. Anna Kędzia, prof. nadzw.
Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Katedra Mikrobiologii
Gdański Uniwersytet Medyczny
ul. Do Studzienki 38, 80-227 Gdańsk
tel.: +48 (58) 349-21-85
e-mail: anak@gumed.edu.pl