

Aktywność preparatu Listerine wobec bakterii tlenowych

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

ACTIVITY OF LISTERINE AGAINST AEROBIC BACTERIA

SUMMARY

Antiseptic mouthrinses are well known for their antimicrobial effectiveness and are widely used for the treatment and prevention of oral diseases, particularly plaque-related diseases, such as gingivitis and periodontitis. The essential oil-containing antiseptic mouthrinse, Listerine, was compounded in 1890. The main compounds responsible for its antimicrobial activity are 0.092% eucalyptol, 0.060% methyl salicylate, 0.042% menthol and 0.064% thymol. The aim of this study was to evaluate the effect of the Listerine on aerobic bacteria isolated from oral cavity and upper respiratory tract. A total 35 strains of aerobes isolated from patients and 5 reference strains were tested. The following genera of bacteria were tested: *Staphylococcus* (8 strains), *Enterococcus* (5), *Corynebacterium* (2), *Acinetobacter* (2), *Citrobacter* (2), *Enterobacter* (2), *Escherichia* (4), *Klebsiella* (3), *Pseudomonas* (5), *Proteus* (2) and 5 reference strains from genus: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 and *Escherichia coli* ATCC 25922. Susceptibility (MIC) was determined by the serial dilution method Listerine Fresh Burst (Johnson & Johnson) in Mueller-Hinton agar. Inoculum containing 10^8 CFU/spot was seeded with Steers replicator upon the surface of agar with and without Listerine (strains growth control). Incubation the plates was performed for 24 hrs at 37°C in aerobic conditions. The MIC was defined as the lowest concentrations of herbal product that inhibited growth of aerobes. The results indicated that the most susceptible to Listerine was Gram-positive rods from genus of *Corynebacterium xerosis* (MIC = 100 mg/ml). The most susceptible from Gram-positive cocci were the strains of *Staphylococcus aureus* (MIC = 200 mg/ml). The strains of *Staphylococcus epidermidis* and *Enterococcus faecalis* were less susceptible to Listerine. MIC's for the cocci were to the concentrations from 200 to ≥ 300 mg/ml. The Gram-negative rods were less sensitive too. Only strains of *Acinetobacter baumannii* were sensitive to concentrations 200-300 mg/ml. Remaining tested rods were susceptible to ≥ 300 mg/ml. The Listerine was more active against Gram-positive strains than Gram-negative rods.

KEY WORDS: SUSCEPTIBILITY – AEROBIC BACTERIA – LISTERINE – ORAL CAVITY – UPPER RESPIRATORY TRACT – INFECTIONS

Wstęp

Wśród bakterii flory fizjologicznej jamy ustnej i górnych dróg oddechowych występują różne bakterie tlenowe. Zwykle są one obecne w niskim odsetku

i uważane za drobnoustroje oportunistyczne, które w sprzyjających warunkach powodują zakażenia. Należą one do rodzajów *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Escherichia* i *Micrococcus*. Ich obecność stwierdzono w ślinie, kieszonkach przyzębnych, w bakteryjnej płytce tworzącej się na powierzchni szkliwa, w ubytkach próchnicowych i kanałach korzeniowych zębów. Z badań wynika, że bakterie te mogą uczestniczyć w zakażeniach w obrębie jamy ustnej oraz różnych narządów, być przyczyną bakteriemii i posocznicy. Bytujące w jamie ustnej bakterie beztlenowe, mikroaerofilne i tlenowe, tworzące bakteryjną płytkę nad- i podziąsłową, mogą być czynnikiem etiologicznym stanów zapalnych błony śluzowej jamy ustnej, dziąseł, chorób przyzębia, zakażeń miazgi zębów, próchnicy zębów i halitozy.

Ważna jest codzienna prawidłowa higiena jamy ustnej, która będzie zapobiegać stanom zapalnym i zakażeniom w obrębie jamy ustnej oraz tworzeniu bakteryjnej płytki nazębnej. Szczotkowanie zębów może nie być wystarczające, i w takiej sytuacji należy je uzupełnić płukaniem jamy ustnej środkiem antyseptycznym. Preparat działający przeciwdrobnoustrojowo może oddziaływać korzystnie, dzięki hamowaniu tworzenia bakteryjnej płytki nazębnej, uniemożliwiając przyleganie bakterii do powierzchni błony śluzowej lub szkliwa, działaniu bakteriobójczemu lub bakteriostatycznemu.

Stale poszukuje się nowych związków, które mogą być stosowane jako antyseptyki jamy ustnej, działające przeciwzapalnie i aktywnie wobec różnych drobnoustrojów, szczególnie patogennych dla tkanek przyzębia. Powinny one nie tylko w znacznym stopniu zredukować obecną bakteryjną płytkę nazębną, a także uniemożliwiać jej tworzenie. Środki te powinny być skuteczne w niewielkich stężeniach, działać przeciwzapalnie i wykazywać aktywność wobec różnych drobnoustrojów, szczególnie patogennych dla tkanek przyzębia. Do płukania jamy ustnej wykorzystuje się, m.in.: pochodne chlorheksydyny, czwartorzędowe zasady amoniowe, związki uwalniające tlen, jodofory, pochodne fenolu, wyciągi roślinne, olejki eteryczne i niektóre enzymy (1-16).

Do często stosowanych antyseptyków należy Listerine (17-28). Jego skład został ustalony w 1890 r. Preparat zawiera 0,092% eukaliptolu, 0,060% salicylanu metylu, 0,042% mentolu i 0,064% tymolu. Badania kliniczne wykazały, że Listerine redukuje obecność na powierzchni zębów bakteryjną płytkę lub hamuje jej tworzenie (18, 21-24, 28-30). Działa skutecznie w przypadku stanów zapalnych błony śluzowej jamy ustnej i dziąseł (21, 22, 24, 28, 30, 31). Obecne w preparacie pochodne fenolowe wykazują aktywność przeciwbakteryjną. Stwierdzono, że mechanizm działania składników preparatu polega na uszkodzeniu ściany komórkowej, denaturacji białek i wycieku składników komórki na zewnątrz, co prowadzi do jej lizy (29, 32).

Z badań wynika, że zawarty w preparacie Listerine eukaliptol (1,8-cyneol) jest głównym składnikiem olejku eukaliptusowego (zawartość ok. 70%). Wykazuje on działanie przeciwbakteryjne, przeciwprzerotniakowe, przeciwzapalne i przeciwutleniające (33-37). Kolejny składnik – salicylan metylu, jest uzyskiwany z olejku starzeli rozslanej *Gaultheria procumbens*, olejek wintergreen) i wykazuje aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec wielu bakterii (38, 39). Tymol jest głównym składnikiem olejku tymiankowego (zawartość ok. 50-80%) i olejków eterycznych wytwarzanych przez różne gatunki roślin z rodziny *Lamiaceae*. Wykazuje silne działanie przeciwdrobnoustrojowe, obejmując zarówno bakterie, jak i grzyby (40-44). Natomiast mentol jest głównym składnikiem olejku występującego w liściach mięty pieprzowej, a także w innych roślinach z rodziny *Lamiaceae*. Charakteryzuje się silnym działaniem przeciwdrobnoustrojowym (45-50).

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa Listerine została wykazana głównie na podstawie przeprowadzonych badań klinicznych, w których oceniano obniżenie się liczby niektórych bakterii lub grzybów obecnych w bakteryjnej płytce nazębnej. Nieliczne badania przeprowadzone *in vitro*, wskazują na działanie tego preparatu na wybrane drobnoustroje, jednak rzadko na drobnoustroje pochodzące z jamy ustnej, czy dróg oddechowych.

Cel pracy

Celem badań było oznaczenie wrażliwości na Listerine bakterii tlenowych wyizolowanych z zakażeń w obrębie jamy ustnej i górnych dróg oddechowych.

Materiały i metody

Bakterie tlenowe zostały wyizolowane z materiałów pobranych od pacjentów z różnymi zakażeniami jamy ustnej i górnych dróg oddechowych. Ocenie wrażli-

wości poddano 35 szczepów bakterii wyhodowanych od pacjentów, w tym *Staphylococcus* (8 szczepów), *Enterococcus* (5), *Corynebacterium* (2), *Acinetobacter* (2), *Citrobacter* (2), *Enterobacter* (2), *Escherichia* (4), *Klebsiella* (3), *Pseudomonas* (5) i *Proteus* (2) oraz 5 szczepów wzorcowych z gatunków: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 i *Escherichia coli* ATCC 25922.

Wrażliwość (MIC) wymienionych bakterii tlenowych oznaczono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Muellera-Hintona (50). Preparat Listerine Fresh Burst (Johnson & Johnson) dodawano do podłoża, uzyskując następujące stężenia: 300, 200, 100, 50, 25, i 12,5 mg/ml. Zawiesinę zawierającą 10⁵ drobnoustrojów (CFU) na kroplę, наносono aparatem Steersa na powierzchnię podłoża z dodatkiem odpowiedniego rozcieńczenia preparatu i na podłoże bez preparatu (kontrola wzrostu drobnoustrojów). Podłoża zostały poddane inkubacji w warunkach tlenowych w temp. 37°C przez 24 godz. Za najmniejsze stężenie hamujące (MIC) uznano takie rozcieńczenie Listerine, które całkowicie hamowało wzrost testowanych bakterii tlenowych.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki badań wrażliwości na Listerine wyhodowanych z zakażeń bakterii tlenowych zamieszczono w tabeli 1, a szczepów wzorcowych w tabeli 2. Wyniki wskazują, że Gram-dodatnie mączugowce tlenowe z gatunku *Corynebacterium xerosis* odznaczały się największą wrażliwością na preparat. Wzrost tych pałeczek hamowały stężenia preparatu wynoszące 100 mg/ml. Wysoką wrażliwością charakteryzowały się też Gram-dodatnie ziarniaki. Szczepy gronkowców z gatunku *Staphylococcus aureus* były wrażliwe na stężenie preparatu w wysokości 200 mg/ml, a *Staphylococcus epidermidis* w zakresie stężeń od 200 do 300 mg/ml. W tych samych stężeniach preparat hamował wzrost szczepów z gatunku *Enterococcus faecalis*.

Wyniki badań Filoche i Sissons (48) także wskazują na większą wrażliwość Gram-dodatnich pałeczek, należących do gatunku *Lactobacillus plantarum*, na Listerine (MIC = 12,5 mg/ml), w porównaniu z testowanymi przez tych autorów Gram-dodatnimi ziarniakami z gatunku *Streptococcus mutans* (MIC = 50 mg/ml). Natomiast Aneja i wsp. (7) oceniali wrażliwość na preparat Listerine ziarniaków z gatunku *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus mutans* metodą krążkowo-dyfuzyjną i wykazali większą wrażliwość gronkowców (strefa zahamowania

Tabela 1. Wrażliwość na preparat Listerine 35 szczepów bakterii tlenowych.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC w mg/ml					
		≥ 300	200	100	50	25	12,5
Gram-dodatnie:							
<i>Staphylococcus aureus</i>	5		5				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	1	2				
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	1	4				
<i>Corynebacterium xerosis</i>	2			2			
Gram-ujemne:							
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	1	1				
<i>Citrobacter freundii</i>	2	2					
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	2					
<i>Escherichia coli</i>	4	4					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	3					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3					
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	2	2					
<i>Proteus vulgaris</i>	2	2					
Bakterie tlenowe ogółem	35	21	12	2			

Tabela 2. Wrażliwość na preparat Listerine 5 szczepów wzorcowych bakterii tlenowych.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC w mg/ml					
		≥ 300	200	100	50	25	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1		1				
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1	1					
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	1		1				
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	1	1					
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1	1					

wzrostu szczepu wynosiła 16,3 mm) w porównaniu z paciorkowcami *S. mutans* (strefa zahamowania wzrostu szczepu odpowiadała 13,6 mm). Z kolei badane przez Da Silva i wsp. (25) wyizolowane z jamy ustnej szczepy paciorkowców z gatunku *S. mutans* oraz 4 szczepy wzorcowe z gatunków *Streptococcus salivarius* ATCC 7073, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus oralis* ATCC 10557 i *Lactobacillus casei* ATCC 9595, okazały się niewrażliwe na preparat (nie uzyskano stref zahamowania wzrostu metodą krążkowo-dyfuzyjną).

W prezentowanych badaniach aktywność Listerine wobec Gram-ujemnych pałeczek była niższa. Stężenia

hamujące wzrost większości testowanych szczepów wynosiły 300 i powyżej 300 mg/ml. Tylko jeden szczep pałeczki z gatunku *Acinetobacter baumannii* wykazał wrażliwość na stężenie wynoszące 200 mg/ml. Natomiast Gram-dodatnie bakterie beztlenowe okazały się bardziej wrażliwe na Listerine (na stężenia wynoszące 100-200 mg/ml było wrażliwych 87% szczepów) niż Gram-ujemne pałeczki (w zakresie stężeń 200-300 mg/ml było wrażliwych 17% szczepów). Warto zaznaczyć, że stężenia preparatu hamujące wzrost badanych drobnoustrojów były od 3 do 10-krotnie niższe od stosowanych w praktyce stężeń użytkowych preparatu.

Wnioski

1. Największą aktywność preparat Listerine wykazał wobec Gram-dodatnich bakterii tlenowych.
2. Najbardziej wrażliwe okazały się szczepy Gram-dodatnich pałeczek z gatunku *Corynebacterium xerosis*.
3. Spośród Gram-dodatnich ziarniaków największą wrażliwość wykazały szczepy z gatunku *Staphylococcus aureus*.
4. Gram-ujemne pałeczki charakteryzowały się niższą wrażliwością na preparat Listerine.
5. Bakterie wykazały wrażliwość na stężenia od 3 do 10-krotnie niższe od stosowanych w praktyce stężeń użytkowych preparatu.

Piśmiennictwo

1. Mc Bain AJ, Bartolo RG, Catrewick CE i wsp. Effect of a chlorhexidine gluconate containing mouthwash on the vitality and antimicrobial susceptibility of *in vitro* bacterial ecosystems. *Appl Environm Microbiol* 2003; 69(8):4770-6. 2. Gomez BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME i wsp. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endodont J* 2001; 34:424-8. 3. Malicka B, Ziętek M, Grzebieluch W. Zastosowanie chlorheksydyny w stomatologii. *Dent Med Probl* 2005; 42(3):497-505. 4. Lofti M, Vosonghosseini S, Ranjkesh B i wsp. Antimicrobial efficacy of nanosilver, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate against *Enterococcus faecalis*. *Afr J Biotechnol* 2011; 10(35):6799-803. 5. Haffajee AD, Yaskell T, Socransky SS. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and chlorhexidine mouthrinse. *J Am Dent Assoc* 2008; 139:606-11. 6. Kim DS, Kim J, Choi KK i wsp. The influence of chlorhexidine on the remineralization of demineralized dentine. *J Dent* 2011; 39:855-62. 7. Aneja KR, Joshi R, Sharma C. The antimicrobial potential of ten often used mouthwashes against four dental caries pathogens. *Jundishapur J Microbiol* 2010; 3(1):15-27. 8. Otten MPT, Busscher HJ, van der Mei HC i wsp. Retention of antimicrobial activity in plaque and saliva following mouthrinse use *in vivo*. *Caries Res* 2010; 44:459-64. 9. Marsh PD. Microbiological aspect of the chemical control of plaque and gingivitis. *J Dent Res* 1992; 71:1431-8. 10. Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc* 2006; 137(12):1649-57. 11. Konopka T. Triklosan z kopolimerem w kontroli płytki podziąsłowej i zapalenia przyzębia. *Czas Stomatol* 2008; 61(3):203-11. 12. Chomyszyn-Gajewska. Triklosan/kopolimer a zdrowie jamy ustnej. *Czas Stomatol* 2008; 61(3):171-9. 13. Akande OO, Alada ARA, Aderinokun GA i wsp. Efficacy of different brands of mouth rinses on oral bacterial load count in healthy adults. *Afric J Biomed Res* 2004; 7:125-8. 14. Rawlinson A, Pollington S, Walsh TF i wsp. Efficacy of two alcohol-free cetylpyridinium chloride mouthwashes – a randomized double-blinding crossover study. *J Clin Periodontol* 2008; 35:230-5. 15. Riep BG, Bernimoulin JP, Barnett ML. Comparative antiplaque effectiveness of an essential oil and an amine fluoride/stannous fluoride mouthrinse. *J Clin Periodontol* 1999; 26:164-8. 16. Teles RP, Teles FRF. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz Oral Res* 2009; 23(Spec Iss. 1):39-48. 17. Okuda K, Adachi M, Iijima K. The efficacy of antimicrobial mouth rinses in oral health care. *Bull Tokyo Dent Coll* 1998; 39(1):7-14. 18. Skiba M, Kusa-Podkańska M, Wysockińska-Miszczuk C. Preparat Listerine w codziennej profilakty-

ce chorób tkanek przyzębia – wstępne badania kliniczne. *Mag Stomatol* 2005; (7-8):16-9. 19. Fine DH, Furgang D, Sinatra K i wsp. *In vivo* antimicrobial effectiveness of an essential oil-containing mouth rinse 12 h after a single use of 14 days' use. *J Periodontol* 2005; 35:335-40. 20. Konopka T, Kozłowski Z, Karolewska E. Clinical evaluation of Listerine in full-mouth disinfection. *Dent Forum* 2006; 1(34):15-20. 21. Sharma N, Charles CH, Lynch MC i wsp. Adjunctive benefit of an essential oil-containing mouthrinse in reducing plaque and gingivitis in patients who brush and floss regularly. A six month study. *J Am Dent Assoc* 2004; 135:496-504. 22. Charles CH, Sharma NC, Galustians HJ i wsp. Comparative efficacy of an antiseptic mouthrinse and an antiplaque, antigingivitis dentifrice. A six month trial. *J Am Dent Assoc* 2001; 132:670-75. 23. Pitten FA, Splieth C, Kramer A. Prophylactic and therapeutic application of antimicrobial agents in the oral cavity. *Pharmazie* 2000; 55(9):635-9. 24. Ross NM, Nankodi SM, Mostler KL i wsp. Effect of rinsing time on antiplaque-antigingivitis efficacy of Listerine. *J Clin Periodontol* 1993; 20(4):279-81. 25. Da Silva NB, Aleksandria AK, De Lima AL i wsp. *In vitro* antimicrobial activity of mouth washes and herbal products against dental biofilm-forming bacteria. *Contemp Clin Dent* 2012; 3(3):302-5. 26. Seymour R. Additional properties and uses of essential oils. *J Clin Periodontol* 2003; 30(Suppl. 5):19-21. 27. Netuschil L, Weiger R, Preisler R i wsp. Plaque bacteria counts and vitality during chlorhexidine, meridol and listerine mouthrinses. *Eur J Oral Sci* 1995; 103(6):355-61. 28. Wu CD, Savitt ED. Evaluation of the safety and efficacy over-the-counter oral hygiene products for the reduction and control of plaque and gingivitis. *Periodontol* 2002; 28:91-105. 29. Walker CB. Microbiological effects of mouthrinses containing antimicrobials. *J Clin Periodontol* 1988; 15(8):499-505. 30. Barnett ML. The role of therapeutic antimicrobial mouthrinses in clinical practice. Control of supragingival plaque and gingivitis. *J Am Dent Assoc* 2003; 134:699-703. 31. Sekino S, Ramberg P. The effect of a mouth rinse containing phenolic compounds on plaque formation and developing gingivitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32:1083-7. 32. Fine DH, Furgang D, Lieb R i wsp. Effect of sub-lethal exposure to an antiseptic mouthrinse on representative plaque bacteria. *J Clin Periodontol* 1996; 23:444-51. 33. Ben Marzoug HN, Bouajila J, Eunajar M i wsp. *Eucalyptus (gracilis, oleosa, salubris, and salmonophloia)* essential oils: their chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities. *J Med Food* 2010; 13(4):1005-12. 34. Henry ER, Worthington T, Conway BR i wsp. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. *J Antimicrobial Chemother* 2009; 64:1219-25. 35. Firatli E, Unal T, Onan U i wsp. Antioxidative activities of some chemotherapeutics. A possible mechanism in reducing gingival inflammation. *J Clin Periodontol* 1994; 21:680-83. 36. Karlovic Z, Anic J, Miletic J i wsp. Antibacterial activity of halothane, eucalyptol and orange oil. *Acta Stomat Croat* 2000; 34(3):307-9. 37. Bosnic T, Softic D, Grujic-Vasic J. Antimicrobial activity of some essential oils. *Acta Med Acad* 2006; 35:19-22. 38. Le Grant F, George G, Akoka S. Natural abundance ZH-ERETCNMR authentication of the origin of methyl salicylate. *J Agric Food Chem* 2005; 53(13):5125-9. 39. Nikolic M, Markovic T, Mojovic M i wsp. Chemical composition and biological activity of *Gaultheria procumbens* L. essential oil. *Ind Crops Prod* 2013; 49(13):561-7. 40. Manthela CS, Singh KK, Gupta VK. Synthesis and *in vitro* antibacterial activity of thymol and carvacrol derivatives. *Acta Pol Pharm – Drug Res.* 2010; 67(4):375-80. 41. Burt SA, Vlieland R, Haagsman HP i wsp. Increase in activity of essential oil compounds carvacrol and thymol against *Escherichia coli* 0157:H7 by addition of food stabilizers. *J Food Protect* 2005; 68(5):919-26. 42. Sokovic M, Glamoclija J, Marin PD

i wsp. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in vitro* model. *Molecules* 2010; 15:7532-46. **43.** Nostro A, Roccaro AS, Bisignano G i wsp. Effect of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J Med Microbiol* 2007; 56:519-23. **44.** Shapiro S, Meier A, Guggenheim B. The antimicrobial activity of essential oils and essential oil components towards oral bacteria. *Oral Microbiol J* 1994; (9):202-8. **45.** Al-Bazaz FA, Al-Casey M. Effects of method crystal aqueous extracts on salivary streptococci and mutans streptococci in comparison to chlorhexidine gluconate (*in vivo* study). *J Bagh Coll Dentistry* 2011; 23(2):119-23. **46.** Afra Ben A, Combes S, Preziosi-Belloy L

i wsp. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Lett Appl Microbiol* 2006; 43:149-54. **47.** Kazemi M, Rostami H, Shafiei S. Antibacterial and antifungal activity of some medical plants from Iran. *J Plant Sci* 2012; 7(2):55-66. **48.** Filoche SK, Sissons SK. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20:221-5. **49.** Morris JA, Khettry A, Seitz EW. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *J Am Oil Chem Soc* 1975; 56:595-603. **50.** National Committee for Clinical Laboratory Standards/NCCLS: Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically. Approved standards 7th ed. CLSI document M7-A7. Wayne, PA. CLSI. 2006.

otrzymano/received: 03.02.2014
zaakceptowano/accepted: 04.03.2014

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