

*Anna Kędzia¹, Marek Ciecierski², Joanna Wiśniewska², Ewa Kwapisz¹,
Maria Wierzbowska¹

Wrażliwość na preparat Listerine bakterii mikroaerofilnych i tlenowych wyizolowanych z blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych

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

²Oddział Chorób Naczyń i Chorób Wewnętrznych, Szpital Uniwersytecki nr 2, Collegium Medicum
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu
Ordynator Oddziału: dr n. med. Grzegorz Pulkowski

THE SUSCEPTIBILITY TO LISTERINE
MICROAEROPHILIC AND AEROBIC BACTERIA
ISOLATED FROM CAROTID ATHEROSCLEROTIC
PLAQUES

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the activity of the Listerine Fresh Burst (Johnson & Johnson) on 10 strains of microaerophilic bacteria and 18 strains of aerobic bacteria isolated from carotid atherosclerotic plaque and 7 reference strains. Investigation was carried out using the plate dilution technique in Brucella agar, supplemented with 5% defibrinated sheep blood (microaerophilic bacteria) and Mueller-Hinton agar (aerobic bacteria). Inoculum containing 10^5 CFU/spot was seeded with Steers replicator upon surface of respectively agar with and without Listerine (strains growth control). Incubation was performed in anaerobic jars (microaerophilic conditions, with Campy Pak, BBL) and reference of anaerobes strains in anaerobic conditions, at 37°C for 48 hrs. Incubation of aerobic strains was performed in aerobic conditions for 24 hrs at 37°C. The MIC was defined as the lowest concentrations of Listerine that inhibited the growth of tested bacteria. The data showed, that most susceptible to Listerine were the strains of Gram-positive microaerophilic rods (MIC \leq 6.2 mg/ml) and aerobic cocci (MIC $50 \geq$ 200 mg/ml). The Gram-negative rods were less sensitive. The strains of microaerophilic bacteria were inhibited by concentrations \leq 6.2– \geq 200 mg/ml. But the strains of aerobic bacteria were inhibition by \geq 200 mg/ml. The Listerine was more active against Gram-positive tested strains than Gram-negative rods. The results suggest that Listerine could be useful for the supportive the periodontopathies therapy and prophylactic.

KEY WORDS: MICROAEROPHILIC BACTERIA –
AEROBES – LISTERINE – SUSCEPTIBILITY –
ATHEROSCLEROTIC PLAQUE

W jamie ustnej, zależnie od miejsca, występuje od 10^8 do 10^{11} różnych drobnoustrojów w 1 ml. Stanowią one florę fizjologiczną. Ponieważ w sprzyjających warunkach mogą stać się przyczyną zakażeń w obrębie jamy ustnej, uważa się je za drobnoustroje oportunistyczne. We florze fizjologicznej dominują bakte-

rie beztlenowe, natomiast w niższych odsetkach są obecne bakterie mikroaerofilne, kapnofilne i tlenowe. Bakterie te uczestniczą w chorobach przyzębia dzięki zdolności do formowania bakteryjnej płytki nazębnej (ang. *dental plaque*), która może być umiejscowiona zarówno na powierzchni szklivi zębów, jak i pod powierzchnią dziąseł. Bytujące w bakteryjnej płytce nad i poddziąsłowej drobnoustroje mogą być przyczyną nie tylko chorób przyzębia, ale także zapaleń dziąseł, owrzodzeń błony śluzowej oraz ropni okołozębowych. Drobnoustroje te mogą także zaostrzać lub modyfikować przebieg niektórych chorób ogólnoustrojowych, w tym zapalenie wsierdzia, mięśnia sercowego, reumatoidalne zapalenie stawów czy przewlekłą obturacyjną chorobę płuc. Natomiast w przypadku wystąpienia zębopochodnej bakteriemii może dojść do tworzenia ropni różnych narządów (nerek, wątroby, płuc). Zwraca się też uwagę na fakt, że choroba przyzębia przyczynia się do przedwczesnego porodu oraz niskiej masy ciała noworodka.

Szereg publikacji wskazuje na związek między chorobami przyzębia i chorobami układu krążenia, szczególnie z miażdżycą tętnic i zawałem mięśnia sercowego (1-8). Przeprowadzone doświadczenia potwierdzają, że przewlekłe zakażenia wywołane przez bakterie czy wirusy mogą przyczyniać się zarówno do powstawania, jak i do podtrzymywania rozwoju miażdżycy. Wyniki badań potwierdzają powiązanie chorób przyzębia z rozwojem miażdżycy tętnic. Z użyciem różnych technik wykryto w blaszkach miażdżycowych obecność wielu drobnoustrojów, które występowały w kieszonkach przyzębnych u tych samych pacjentów. Wśród Gram-ujemnych bakterii dominowały między innymi pałeczki beztlenowe i mikroaerofilne, tj. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, *Eikenella*

corrodens, *Prevotella nigrescens* i *Campylobacter rectus* (1, 2, 5-13). Ponadto z przeprowadzonych badań wynika, że w blaszkach miażdżycowych mogą też być obecne drobnoustroje tlenowe i względnie beztlenowe, w tym niektóre pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* (np. *Escherichia coli*), z rodzaju: *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Lactobacillus* i *Corynebacterium*, a także ziarniaki z rodzaju *Staphylococcus* i *Streptococcus* (2, 14-21).

U pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi ważne jest zarówno postępowanie profilaktyczne, jak i terapia w przypadku chorób przyzębia, w celu zapobiegania różnym powikłaniom, szczególnie w miażdżycy tętnic. W tych przypadkach ważna jest codzienna prawidłowa higiena jamy ustnej, aby uniknąć zakażeń w obrębie jamy ustnej, a także stosowanie preparatów uniemożliwiających tworzenie bakteryjnej płytki nazębnej. W konsekwencji działanie to zapobiega powstawaniu chorób przyzębia i ich następstwom. Dlatego często stosowane są leki roślinne, które zawierają różne wyciągi ziołowe, olejki eteryczne lub wyosobnione z roślin substancje czynne. Preparaty te wykazują skuteczną aktywność przeciwzapalną i przeciwdrobnoustrojową, a równocześnie charakteryzują się niewielkim działaniem niepożądanym oraz dobrą tolerancją, co jest istotnie ważne w przypadku pacjentów w starszym wieku, którzy zwykle przyjmują równocześnie kilka różnych leków. Wśród częściej stosowanych antyseptyków jamy ustnej występuje preparat Listerine, który zawiera eukaliptol, salicylan metylu, tymol i mentol.

Z przeprowadzonych badań klinicznych wynika, że płukanie preparatem Listerine hamuje tworzenie się bakteryjnej płytki nazębnej, a także obniża liczbę bakterii w niej obecnych (21-26). Przeciwdrobnoustrojowe działanie preparatu wiąże się z zawartością pochodnych fenolowych. Mechanizm ich przeciwbakteryjnego działania polega na uszkodzeniu ściany komórkowej, denaturacji białek, a także wycieku na zewnątrz komórki cytoplazmy oraz ważnych dla życia składników komórki, co w konsekwencji prowadzi do lizy bakterii (22).

Płukanie jamy ustnej preparatem Listerine zapobiega też agregacji drobnoustrojów i ich rekolonizacji w obrębie bakteryjnej płytki nazębnej, przyczyniając się do obniżenia jej masy. Ponadto badania wykazały, że olejki eteryczne mogą penetrować biofilm bakteryjny utworzony w różnych okolicach jamy ustnej, doprowadzając do giniecia drobnoustrojów nie tylko w jego warstwie zewnętrznej, ale i głębiej (21-23, 27-30). Wyniki nielicznych badań mikrobiologicznych wskazują na przeciwdrobnoustrojową aktywność Listerine, która obejmuje niektóre bakterie, w tym

beztlenowe, grzyby drożdżopodobne i wirusy (23, 28, 31-33). Natomiast brakuje danych na temat działania preparatu na bakterie mikroaerofilne i tlenowe.

Cel pracy

Celem badań była ocena wrażliwości na preparat Listerine bakterii mikroaerofilnych i tlenowych wyizolowanych z blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych.

Materiał i metody

Skład i przeciwdrobnoustrojowe działanie preparatu Listerine Fresh Burst (Johnson & Johnson) przedstawiono w tabeli 1.

Bakterie mikroaerofilne oraz tlenowe wykorzystane w badaniach zostały wyizolowane z 30 blaszek miażdżycowych umiejscowionych w tętnicach szyjnych. Materiały pobrano z zachowaniem aseptyki do jałowych pojemników z odpowiednim podłożem transportowym od pacjentów poddanych zabiegowi udrażniania wspomnianych tętnic.

Ocenie wrażliwości poddano łącznie 28 drobnoustrojów, w tym 10 szczepów bakterii mikroaerofilnych, które należały do następujących gatunków: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (3 szczepy), *Campylobacter rectus* (2), *Eikenella corrodens* (2), *Rothia dentocariosa* (3) oraz 4 szczepy wzorcowe z gatunków: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Prevotella loescheii* ATCC 15930, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25585 i *Porphyromonas levii* ATCC 29147, a także 18 szczepów bakterii tlenowych wyhodowanych od pacjentów, w tym *Staphylococcus aureus* (1 szczep), *Staphylococcus epidermidis* (3), *Streptococcus sanguinis* (2), *Pseudomonas aeruginosa* (1), *Pseudomonas* spp. (2), *Acinetobacter* spp. (3), *Escherichia coli* (1)

Tabela 1. Skład i działanie preparatu Listerine Fresh Burst.

Składniki preparatu	Stężenie składnika w preparacie (%)	Działanie lecznicze
Eukaliptol (1,8-cyneol)	0,092	przeciwbakteryjne, przeciwgrzybiczne, przeciwpierwotniakowe, przeciwzapalne, przeciwutleniające
Salicylan metylu	0,060	przeciwdrobnoustrojowe wobec szeregu bakterii
Tymol	0,064	przeciwdrobnoustrojowe wobec bakterii i grzybów, przeciwzapalne
Mentol	0,042	przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne

oraz 5 szczepów wzorcowych z gatunków: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 i *Escherichia coli* ATCC 25922.

Wrażliwość (MIC) wymienionych bakterii mikroaerofilnych na preparat Listerine oznaczono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Brucella z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej, a bakterii tlenowych – w agarze Muellera-Hinton. Do badań użyto następujących stężeń Listerine: 6,2, 12,5, 25, 50, 100 i 200 mg/ml. Inokulum wynoszące 10^5 CFU na kroplę nanoszono aparatem Steersa na powierzchnię odpowiedniego dla danych bakterii agaru, zawierającego odpowiednie stężenia Listerine. Podłoże, które nie zawierało badanego preparatu, stanowiło kontrolę wzrostu szczepów. Hodowlę posiewów bakterii mikroaerofilnych oraz podłoży kontrolnych prowadzono w temp. 37°C, w anaerostatach zawierających Campy Pak (BBL), w warunkach beztlenowych przez 48 godzin. Natomiast hodowlę bakterii tlenowych prowadzono w temp. 37°C przez 24 godziny w warunkach tlenowych. Za MIC uznawano takie najmniejsze rozcieńczenie preparatu, które hamowało wzrost testowanych szczepów bakterii.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki badań wrażliwości na Listerine bakterii mikroaerofilnych wyizolowanych z blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych oraz szczepów wzorcowych zamieszczono w tabeli 2, a szczepów bakterii tlenowych i szczepów wzorcowych – w tabeli 3. Spośród testowa-

nych bakterii mikroaerofilnych największą wrażliwość wykazały Gram-ujemne pałeczki z gatunku *Campylobacter rectus* (MIC \leq 6,2 mg/ml). Niższą wrażliwością charakteryzowały się szczepy z gatunku *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Ich wzrost hamowały stężenia preparatu wynoszące 6,2-100 mg/ml. Najmniejszą aktywność wykazał Listerine wobec szczepów z gatunku *Eikenella corrodens* (MIC \geq 200 mg/ml). Natomiast wysoką wrażliwością na preparat charakteryzowały się Gram-dodatnie pałeczki z gatunku *Rothia dentocariosa*. Wzrost tych szczepów hamowały stężenia preparatu wynoszące \leq 6,2 mg/ml.

W tabeli 3 zamieszczono wyniki badań wrażliwości na Listerine szczepów bakterii tlenowych wyhodowanych od pacjentów oraz 3 szczepów wzorcowych. Wyniki wskazują, że szczepy Gram-dodatnich ziarniaków z gatunku *Streptococcus sanguinis* charakteryzowały się największą wrażliwością. Ich wzrost hamowały stężenia wynoszące od 50 do 100 mg/ml.

Filoché i Sissons (34) udowodnili, że szczepy testowanych przez nich paciorkowców z gatunku *Streptococcus mutans* wykazały zbliżoną do naszej wrażliwość na Listerine. Wzrost tych szczepów był hamowany przez stężenia wynoszące 50 mg/ml. W innych badaniach, przeprowadzonych przez Da Silva i wsp. (33), pochodzące z jamy ustnej paciorkowce z gatunku *Streptococcus mutans* oraz oceniane 4 szczepy wzorcowe należące do gatunków: *Streptococcus salivarius* ATCC 7073, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus oralis* ATCC 10557 oraz

Tabela 2. Wrażliwość szczepów bakterii mikroaerofilnych i szczepów wzorcowych na preparat Listerine.

Bakterie mikroaerofilne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące (MIC w mg/ml)					
		$\geq 200,0$	100,0	50,0	25,0	12,5	$\leq 6,2$
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	3		1	1			1
<i>Campylobacter rectus</i>	2						2
<i>Eikenella corrodens</i>	2	2					
<i>Rothia dentocariosa</i>	3						3
Bakterie mikroaerofilne ogółem	10	2	1	1			6
Szczepy wzorcowe							
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	1	1					
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25585	1	1					
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	1						1
<i>Prevotella loescheii</i> ATCC 15930	1		1				

Tabela 3. Wrażliwość szczepów bakterii tlenowych i szczepów wzorcowych na preparat Listerine.

Bakterie tlenowe	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące (MIC w mg/ml)					
		≥ 200,0	100,0	50,0	25,0	12,5	≤ 6,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	5	1				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	2	1				
<i>Streptococcus sanguinis</i>	2		1	1			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1					
<i>Pseudomonas</i> spp.	2	2					
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	3					
<i>Escherichia coli</i>	1	1					
Bakterie tlenowe ogółem	18	14	3	1			
Szczepy wzorcowe							
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1	1					
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	1	1					
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1	1					

Gram-dodatnia pałeczka z gatunku *Lactobacillus casei* ATCC 9595, nie wykazały wrażliwości na preparat. Natomiast szczepy z gatunku *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus mutans* badane przez Aneję i wsp. (32) okazały się wrażliwe na Listerine. Oceniali oni aktywność preparatu metodą krążkowo-dyfuzyjną i wykazali, że szczepy gronkowców charakteryzowały się większą wrażliwością niż paciorkowce. Strefa zahamowania wzrostu szczepów w przypadku *Staphylococcus aureus* wynosiła 16,3 mm, a *Streptococcus mutans* 13,6 mm. Natomiast testowane przez nas szczepy Gram-ujemnych pałeczek okazały się mniej wrażliwe na Listerine. Stężenia hamujące wzrost tych bakterii wynosiły ≥ 200 mg/ml.

Z przeprowadzonych badań wynika, że preparat Listerine był bardziej aktywny wobec testowanych bakterii Gram-dodatnich – zarówno mikroaerofilnych, jak i tlenowych (MIC 50–≥ 200 mg/ml), w porównaniu z bakteriami Gram-ujemnymi (MIC ≥ 200 mg/ml). Warto też zaznaczyć, że stężenia preparatu hamujące wzrost badanych bakterii były 5-20-krotnie niższe od stosowanych w praktyce stężeń użytkowych.

Wnioski

1. Największą aktywność preparat Listerine wykazał wobec Gram-dodatnich bakterii, zarówno mikroaerofilnych, jak i tlenowych.

2. Najwyższą wrażliwością charakteryzowały się szczepy z gatunku *Rothia dentocariosa* i *Streptococcus sanguinis*.

3. Preparat wykazał niższą aktywność wobec testowanych Gram-ujemnych pałeczek.

4. Badane bakterie były wrażliwe na stężenia 5-20-krotnie niższe od stosowanych w praktyce stężeń użytkowych.

Piśmiennictwo

1. Aquino AR, Lima KC, Paiva MS i wsp. Molecular survey of atheromatous plaques for presence of DNA from periodontal bacterial pathogens, archea and fungi. *J Periodontal Res* 2011; 46(3):303-9. 2. Padilla EC, Lobos GO, Jure OG i wsp. Isolation of periodontal bacteria from blood samples and atheromas in patients with atherosclerosis and periodontitis. *Rev Med Chil* 2007; 135(9):118-24. 3. Zaremba M, Górka R, Suwalski P i wsp. Periodontitis as a risk factor of coronary heart diseases? *Adv Med Sci* 2006; 51 (suppl. 1):34-9. 4. Padilla C, Lobos O, Hubert E i wsp. Periodontal pathogens in atheromatous plaque isolated from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 2006; 41(40):350-3. 5. Demmer RT, Papapanou PN, Jacobs DR i wsp. Evaluating clinical disease epidemiology study (Invest). *BMC Med Res Methodol* 2010; 10(2):115-20. 6. Rath SK, Mukherjee M, Kaushik R i wsp. Periodontal pathogens in atheromatous plaque. *Ind J Pathol Microbiol* 2014; 57(2):259-64. 7. Spahr A, Klein E, Khuseynova N i wsp. Periodontal infections and coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2006; 166:554-9. 8. Meurman JH, Sanz M, Janket SJ. Oral health, atherosclerosis and cardiovascular disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15(6):403-13. 9. Zaremba M, Górka R, Suwalski D. Ocena występowania bakterii związanych z chorobą przyzębia w blaszce miażdżycowej naczyń wieńcowych. *Czas Stomatol* 2005; 58(2):293-311. 10. Ha-

- raszthy VI, Zambon JJ, Trivisan M i wsp. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol* 2000; 71:1554-60. **11.** Carvini F, Sambi V, Moter A i wsp. Molecular detection of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in carotid and aortic atheromatous plaques by FISH: report of two cases. *J Med Microbiol* 2005; 54:93-6. **12.** Kozarov EV, Dorn BR, Shelburne CE i wsp. Human atherosclerotic plaque contains viable invasive *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:17-8. **13.** Schenkein HA, Barbour SE, Berry CR i wsp. Invasion of human vascular endothelial cells by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* via the receptor for platelet activation factor. *Infect Immunol* 2000; 68:3416-9. **14.** Van Buskirk JJ, Kirsch WM, Kleyer DL i wsp. Aminomalonic acid: identification in *Escherichia coli* and atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(3):722-5. **15.** Koren O, Spor A, Felin J i wsp. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108 (suppl. 1):4592-8. **16.** Casalta JP, Fournier PE, Habib G i wsp. Prosthetic valve endocarditis caused by *Pseudomonas luteola*. *BMC Infect Dis* 2005; 5:82. **17.** Desai JA, Husain SF, Islam O i wsp. Carotid artery stent infection with *Streptococcus agalatae*. *Neurology* 2010; 74:344-9. **18.** Kocazeybek E, Ozder A, Kucukoglu S i wsp. Raport of a case with polymicrobial endocarditis related to multiresistant strains. *Chemother* 2002; 48:316-19. **19.** Chiu B. Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques. *Am Heart J* 1999; 138:534-6. **20.** Ott SJ, El Mokhtari NE, Musfeldt M i wsp. Detection of diverse bacterial signatures in atherosclerotic lesions of patients with coronary heart disease. *Circulation* 2006; 113:929-37. **21.** Skiba M, Kusa-Podkańska M, Wysokińska-Miszczuk C. Preparat Listerine w codziennej profilaktyce chorób tkanek przyzębia – wstępne badania kliniczne. *Mag Stomatol* 2005; 7-8:16-9. **22.** Osso D, Kanani N. Antiseptic mouth rinses: An update on comparative effectiveness, risk and recommendations. *J Dent Hyg* 2013; 87(1):10-8. **23.** Errin M, Pili FMG, Tuveri E i wsp. Oil essential mouthwashes antibacterial activity against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: A comparison between antibiofilm and antiplanktonic effects. *Int J Dent* 2013; 23:1-12. **24.** Bercy P, Lasserre J. Susceptibility to various oral antiseptics of *Porphyromonas gingivalis* W83 within a biofilm. *Adv Ther* 2007; 24(6):1181-91. **25.** Kasuga Y, Ikenoya H, Okuda K. Bactericidal effects of mouth rinses on oral bacteria. *Bull Tokyo Dent Coll* 1997; 38(4):297-302. **26.** Cinffreda L, Boylan R, Scherer W i wsp. An *in vivo* comparison of antimicrobial activities of four commercial mouthwashes. *J Clin Dent* 1994; 5(4):103-5. **27.** Stoeken JE, Paraskevas S, Van der Weifdeh GA. The long-term effect of mouth rinse containing essential oils on dental plaque and gingivitis: A systematic review. *J Periodontol* 2007; 78(7):1218-28. **28.** Fine DH, Furgang D, Barnett ML. Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planktonic and biofilm forms of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol* 2001; 28:897-700. **29.** Ouhayaun JP. Penetrating the plaque biofilm: impact of essential oil mouthwash. *J Clin Periodontol* 2003; 30 (suppl. 5):10-12. **30.** Ramberg P, Furuichi Y, Lindhe J i wsp. A model for studying the effects of mouthrinses on *de novo* plaque formation. *J Clin Periodontol* 1999; 19(7):509-20. **31.** Ziółkowaska-Klinkosz M, Kędzia A. Aktywność preparatu Listerine wobec bakterii tlenowych. *Post Fitoter* 2014; 1:10-8. **32.** Aneja KR, Joshi R, Sharma C. The antimicrobial potential of ten often used mouthwashes against four dental caries pathogens. *Junishapur J Microbiol* 2010; 3(1):15-27. **33.** Da Silva NB, Aleksandia 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. **34.** Filoche SK, Sissons SK. Antimicrobial effects of essential oils combination with chlorhexidine digluconate. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20:221-5.

otrzymano/received: 10.04.2015
zaakceptowano/accepted: 24.04.2015

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