

©Borgis

\*Anna Kędzia<sup>1</sup>, Aida Kusiak<sup>2</sup>, Barbara Kochańska<sup>3</sup>, Łukasz Lassmann<sup>4</sup>,  
Anna Wojtaszek-Słomińska<sup>5</sup>, Alina Gębska<sup>1</sup>

## Działanie na bakterie tlenowe olejku cedrowego (*Oleum Cedri*)

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Katedra Mikrobiologii, Gdański Uniwersytet Medyczny  
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Anna Kędzia

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Periodontologii i Chorób Błony Śluzowej Jamy Ustnej,  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
Kierownik Zakładu: dr hab. Aida Kusiak, prof. nadzw.

<sup>3</sup>Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej, Gdański Uniwersytet Medyczny  
Kierownik Zakładu: dr hab. Barbara Kochańska, prof. nadzw.

<sup>4</sup>Praktyka Prywatna, Gdańsk

<sup>5</sup>Zakład Ortodoncji, Gdański Uniwersytet Medyczny  
Kierownik Zakładu: dr hab. Anna Wojtaszek-Słomińska

### ACTIVITY OF CEDAR OIL (*OLEUM CEDRI*) ON AEROBIC BACTERIA

#### SUMMARY

This study was aiming to evaluate activity of cedar oil (*Oleum Cedri*) on 34 aerobic bacteria isolated from patients with infections of oral cavity or respiratory tract and 6 references strains. Susceptibility (MIC) was determined two fold dilution method in Mueller-Hinton agar. The inoculums contained 10<sup>5</sup> CFU per spot was seeded with Steers replicator upon the surface of agar containing various concentrations as well as upon that with no oil added (bacterial strains growth control). Incubation was performed in aerobic conditions at 37°C for 24 hours. MIC's values were determined as the lowest concentrations that inhibited visible growth of the tested aerobic bacteria. The results showed, that the more susceptible was Gram-positive cocci and rods. MIC for 28% this strains was = 25.0 mg/ml. The Gram-negative rods were less sensitive (MIC > 25.0 mg/ml). The cedar oil showed moderate activity vs. the tested aerobic bacteria.

KEYWORDS: AEROBIC BACTERIA – ACTIVITY OF  
CEDAR OIL – ORAL CAVITY – RESPIRATORY TRACT  
– INFECTION

#### Wstęp

W regionie Morza Śródziemnego rosną 3 spośród 4 gatunków cedrów z rodziny *Pinaceae* (szpilkowate), w tym *Cedrus libani* (cedr libański) – głównie w Libanie, Syrii i Turcji, *Cedrus braevifolia* (cedr cypryjski) – na Cy-

prze, oraz *Cedrus atlantica* (cedr atlantycki) – w Algierii i Maroku. Natomiast gatunek *Cedrus deodara* (cedr himalajski) jest rozpowszechniony w zachodnich Himalajach, wschodnim Afganistanie, w północnym Pakistanie oraz południowo-zachodnim Tybecie i zachodnim Nepalu. Są to wiecznie zielone drzewa, które zależnie od gatunku różnią się wysokością (od 10 do 60 m), średnicą (do 3 m), długością i zabarwieniem igieł oraz kształtem korony drzewa. Uprawa cedru atlantyckiego w górach Atlasu (na wysokości 1500-2600 m) rozpoczęła się ok. 1840 roku. Jego korona ma charakterystyczny kształt, przypominający piramidę. Wytwarza niebieskozielone igły (do 2,5 cm długości), szyszki cylindryczne (długości od 5 do 8 cm i szerokości od 3 do 5 cm), a także niewielkie nasiona. Drzewo wydziela charakterystyczny, balsamiczny zapach.

Przeprowadzone badania wykazały obecność olejku eterycznego w korze, igłach i nasionach cedru (1-5). Z olejku cedru atlantyckiego wyodrębniono ponad 50 różnych związków (6). Olejek eteryczny obecny w drewnie zawiera przede wszystkim  $\alpha$ - i  $\gamma$ -atanton (odpowiadające za zapach drewna i olejku cedrowego) oraz kadinen (6). Natomiast w oleju cedrowym pochodzącym z igieł przeważają seskwiterpeny, głównie  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -himachaleny (stanowią ok. 70% zawartości olejku) (7). Wśród składników są obecne m.in. cedrol,  $\beta$ -chamigren, longi-

folen-(V4),  $\alpha$ -longipiren, isoleden, di-epi- $\alpha$ -cedren, arisatalen i turneron. W szyszkach drzewa cedrowego stwierdzono obecność abietanianu diterpenów (8). Olejek eteryczny otrzymywany jest na drodze destylacji drewna cedrowego z parą wodną.

Już w czasach starożytnych olejek cedrowy często wykorzystywano do budowy świątyń. Natomiast żywica tego drzewa była używana do balsamowania zmarłych, ze względu na jej właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Nadal z drewna cedrowego wytwarza się deski podłogowe, parkiety, płyty wiórowe i pilśniowe, okna, drzwi oraz ozdobne pudełka. Służy też do budowy łodzi i statków. Olejek eteryczny używany jest w przemyśle kosmetycznym i perfumeryjnym, a także wykorzystywany jest do produkcji repelentów i środków owadobójczych (9, 10).

Olejek z drzewa cedrowego wykazuje właściwości lecznicze (6, 7, 11-13). Jako antyseptyk znalazł zastosowanie w profilaktyce i leczeniu zakażeń dróg oddechowych. Ponadto wykazuje działanie przeciwzapalne, diuretyczne, pobudza wydzielanie żółci i soków trawiennych. Stosowany jest w leczeniu niektórych chorób skóry, w tym trądziku. Przeciwbólowe działanie olejku zostało wykorzystane w terapii chorób reumatycznych (13). Jest też stosowany jako środek przeciwłupieżowy, przeciwłojotokowy i pobudzający porost włosów (8, 14).

W Polsce dostępne są preparaty, których składnikiem jest olejek cedrowy. Są to: Rub-Arom (Hasco-Lek, Polska) oraz Wick Vapo Rub (Procter & Gamble, Niemcy). Maść Rub-Arom zawiera (w 100,0 g): tymol (0,25 g), lewomentol (2,75 g), kamforę racemiczną (5,0 g), olejek cedrowy (0,75 g), olejek eukaliptusowy (1,5 g) i olejek terpentynowy (5,0 g). Preparat stosowany jest do smarowania klatki piersiowej w przebiegach i zakażeniach dróg oddechowych. Jego działanie polega na ułatwianiu oddychania, ponieważ powoduje rozrzedzenie wydzieliny oskrzelowej i usprawnia jej odkrztuszenie. Maść stosowana jest miejscowo także w bólach stawowych, reumatycznych i nerwobólach.

Preparat Wick Vapo Rub zawiera: tymol, mentol, kamforę, olejek eukaliptusowy, olejek terpentynowy, olejek cedrowy i olejek muskatołowy. Stosowany jest w zapaleniach dróg oddechowych, gardła i w katarze. Jest też wykorzystywany do nacierania i inhalacji w terapii przewlekłych nieżytów górnych dróg oddechowych.

W licznych badaniach wykazano przeciwdrobnoustrojowe działanie olejku cedrowego (2, 5, 7, 11, 15-26). Morris i wsp. (18) udowodnili jego aktywność wobec *Staphylococcus aureus* (MIC = 0,5 mg/ml) oraz pałeczek *Corynebacterium* sp., *Escherichia coli* i grzybów z gatunku *Candida albicans* (MIC > 1,0 mg/ml). Z kolei Chabi i wsp. (21) wykazali działanie olejku cedrowego wobec form wegetatywnych i przetrwalników laseczek z gatunku *Bacillus cereus* i *Clostridium*

*botulinum*. Rozwój przetrwalników tych bakterii hamowany był odpowiednio w stężeniach 0,1 i 0,3 mg/ml.

Maruzzella i wsp. (20) badali aktywność przeciwdrobnoustrojową olejku cedrowego otrzymanego z drewna i igieł cedru metodą krążkowo-dyfuzyjną. Badany olejek wykazywał aktywność tylko wobec dwóch ocenianych szczepów, a mianowicie *Bacillus subtilis* i *Mycobacterium avium*, dla których strefy zahamowania wzrostu wynosiły odpowiednio: dla wyciągu z igieł – 23 i 70 mm, a dla wyciągu z drewna – 29 i 68 mm. Natomiast szczepy *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* i *Salmonella typhi* nie wykazały wrażliwości na zastosowane stężenia olejku cedrowego (brak strefy zahamowania wzrostu). W doświadczeniach przeprowadzonych przez Derwicha i wsp. (2) wykazano, że Gram-dodatnie bakterie były wrażliwe na stężenia olejku wynoszące 0,68-1,62 mg/ml, a Gram-ujemne pałeczki – w zakresie stężeń od 0,25 do 1,45 mg/ml. W badaniach, które przeprowadzili Hammer i wsp. (16), oceniane przez autorów szczepy okazały się wrażliwe na stężenia olejku cedrowego w granicach od 5,0 do  $\geq$  20 mg/ml. Ponadto metodą krążkowo-dyfuzyjną wykazano, że olejek cedrowy był aktywny wobec paciorkowca z gatunku *Streptococcus mutans*. Strefa zahamowania wzrostu tego szczepu wynosiła 7,42 mm (26).

Olejek cedrowy także hamował wzrost szczepów *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* i *Penicillium expansum* w stężeniach wynoszących od 0,5 do 10 mg/ml (5). Wrażliwość szczepów z gatunku *Aspergillus niger* potwierdziły badania przeprowadzone przez Pawara i wsp. (17) oraz Yousefa i wsp. (24). Olejek cedrowy wykazał również aktywność wobec grzybów drożdżopodobnych (22). Ich wzrost hamowały stężenia w zakresie  $\leq$  3,1- $\geq$  50,0 mg/ml. Natomiast oceniane przez Yosefa i wsp. (24) szczepy z gatunku *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* oraz grzyby z rodzaju *Rhizopus* i *Mucor* okazały się wrażliwe na stężenia olejku wynoszące > 50 mg/ml.

W piśmiennictwie dotyczącym przeciwdrobnoustrojowego działania olejku cedrowego rzadko pojawiają się doniesienia dotyczące bakterii tlenowych i ograniczone są one do niektórych gatunków. Brakuje danych na temat działania tego olejku eterycznego wobec szeregu bakterii tlenowych powodujących zakażenia w obrębie jamy ustnej i układu oddechowego.

### Cel pracy

Celem badań była ocena wrażliwości na olejek cedrowy bakterii tlenowych wyhodowanych z zakażeń jamy ustnej oraz dróg oddechowych.

## Materiał i metody badań

Bakterie tlenowe zostały wyhodowane z materiałów pobranych od pacjentów, u których stwierdzono zakażenie w obrębie jamy ustnej lub górnych dróg oddechowych. Badania objęły łącznie 40 szczepów, z których 34 zostały wyizolowane od pacjentów i należały do następujących gatunków: *Staphylococcus aureus* (6 szczepów), *Staphylococcus epidermidis* (2), *Enterococcus faecalis* (4), *Corynebacterium xerosis* (2), *Acinetobacter baumannii* (3), *Citrobacter freundii* (2), *Escherichia coli* (5), *Klebsiella pneumoniae* (3), *Pseudomonas aeruginosa* (3), *Pseudomonas stutzeri* (2), *Serratia marcescens* (2) oraz 6 szczepów wzorcowych, w tym *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Escherichia coli* ATCC 25922 i *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

Wrażliwość (MIC) bakterii tlenowych na olejek cedrowy (Avicenna oil, Wrocław) oznaczono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Mueller-Hintona. Najpierw olejek rozpuszczano w DMSO (Serva), uzyskując stężenie 100 mg/ml. Dalsze rozcieńczenia były wykonywane w jałowej wodzie destylowanej. Badano następujące stężenia: 3,1; 6,2; 12,5 i 25,0 mg/ml. Zawiesinę zawierającą  $10^5$  CFU na kroplę наносono apa-

ratem Steersa na powierzchnię agaru z odpowiednim stężeniem olejku i bez jego dodatku (kontrola wzrostu szczepów). Podłoża hodowano w warunkach tlenowych, w temp. 37°C przez 24 godz. Jako MIC przyjęto najmniejsze stężenie olejku cedrowego, które całkowicie hamowało wzrost testowanych bakterii tlenowych.

## Wyniki badań i ich omówienie

Uzyskane wyniki badań wrażliwości na olejek cedrowy bakterii tlenowych wyhodowanych od pacjentów zestawiono w tabeli 1, a szczepów wzorcowych w tabeli 2. Spośród 14 szczepów Gram-dodatnich ziarniaków, tylko 3 (25%) szczepy z gatunku *Staphylococcus aureus* były wrażliwe na stężenie wynoszące 25 mg/ml. Wzrost pozostałych ocenianych szczepów, w tym z gatunku *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* i *Enterococcus faecalis*, nie był hamowany w zakresie ocenianych stężeń. Szczepy te wymagały użycia olejku eterycznego w stężeniach > 25,0 mg/ml.

Podobnie, testowane szczepy maczugowców były wrażliwe na olejek cedrowy w stężeniach wynoszących  $\geq 25,0$  mg/ml. Z kolei szczepy oceniane przez Morrisa i wsp. (18) były wrażliwe na znacznie niższe stężenia olejku cedrowego, hamując wzrost testowanych gronkowców z gatunku *Staphylococcus aureus* w stężeniu 0,5 mg/ml, a szczepów *Corynebacterium* sp. oraz *Esche-*

**Tabela 1.** Wrażliwość na olejek cedrowy (*Oleum Cedri*) 34 szczepów bakterii tlenowych wyizolowanych z zakażeń jamy ustnej i dróg oddechowych.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		> 25,0	25,0	12,5	6,2	3,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	3	3			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	2				
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	4				
<i>Corynebacterium xerosis</i>	2	1	1			
Gram-dodatnie bakterie tlenowe ogółem	14	10	4			
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	3				
<i>Citrobacter freundii</i>	2	2				
<i>Escherichia coli</i>	5	5				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	3				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3				
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	2	2				
<i>Serratia marcescens</i>	2	2				
Gram-ujemne bakterie tlenowe ogółem	20	20				
Bakterie tlenowe łącznie	34	30	4			

**Tabela 2.** Wrażliwość na olejek cedrowy (*Oleum Cedri*) 6 szczepów wzorcowych bakterii tlenowych.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		> 25,0	25,0	12,5	6,2	3,1
<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>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	1	1				
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1	1				
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	1	1				

*richia coli* w stężeniu  $\geq 1$  mg/ml. Z naszych badań wynika, że spośród badanych bakterii tlenowych, szczepy bakterii Gram-dodatnich były bardziej wrażliwe na olejek (12% szczepów wrażliwych na 25,0 mg/ml) niż pałeczki Gram-ujemne (MIC > 25,0 mg/ml).

### Wnioski

1. Olejek cedrowy wykazał umiarkowaną aktywność wobec badanych bakterii tlenowych wyizolowanych z zakażeń jamy ustnej i dróg oddechowych.
2. Olejek cedrowy był najmniej aktywny wobec ocenianych szczepów pałeczek Gram-ujemnych.
3. Wyższą wrażliwość na badany olejek cedrowy wykazały szczepy bakterii Gram-dodatnich w porównaniu z pałeczkami Gram-ujemnymi.

### Piśmiennictwo

1. Aberchane M, Fechtal M, Chaouch A. Analysis of Moroccan Atlas cedarwood oil (*Cedrus atlantica* Manetti). *J Essent Oil Res* 2004; 16:542-7. 2. Derwich E, Benziane Z, Boukir A. Chemical composition and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil *Cedrus atlantica*. *Int J Agric Biol* 2010; 12:381-5. 3. Runeberg J. The chemistry of the order *Cupressales*. 30. Heartwood constituents of *Juniperus cedrus*. Webb and Benth. *Acta Chem Scand* 1960; 14:1991-4. 4. Pilo C, Runeberg J. The chemistry of the order *Cupressales*. 25. Heartwood constituents of *Juniperus chinensis* L. *Acta Chem Scand* 1960; 14:350-8. 5. Rhafouri R, Strani B, Zair T i wsp. Chemical composition antibacterial and antifungal activities of *Cedrus atlantica* (Endl.) Manettiex Carriere seeds essential oil. *Mediterr J Chem* 2014; 315:1034-43. 6. Edris AE. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oil their individual volatile constituents: A review. *Phytother Res* 2007; 21:308-23. 7. Krauze-Baranowska M, Skwierawska J, Poblócka L. Właściwości lecznicze cedrów – historia i współczesność. *Post Fitoter* 2003; 1:2-5. 8. Barrero AF, Quilez de Moral JF, Herrador MM i wsp. Abietane diterpenes from the cones of *Cedrus atlantica*. *Phytochem* 2005; 66:105-11. 9. Trongtokit Y,

Rongsriyam Y, Komalamisra N i wsp. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytother Res* 2005; 19:303-9. 10. Lamiri A, Lhaloui S, Benjilali B i wsp. Insecticidal effect of essential oils against Hessian fly, *Mamestra destructor* (Say). *Field Crops Res* 2001; 71:9-15. 11. Paun G, Zrira S, Bautakiout A i wsp. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from Moroccan aromatic herbs. *Rev Roum Chim* 2013; 58(11-12):891-7. 12. Cleveland DEH. *Acne vulgaris*. *Can Med Assoc J* 1928; 18(3):261-6. 13. El Beyrouthy M, Arnold N, Delelis-Dusollier A i wsp. Plant used as remedies anti-rheumatic and antineuralgic in the traditional medicine in Lebanon. *J Ethnopharmacol* 2008; 120:315-34. 14. Hay IC, Jamieson M, Ormerod AD. Randomized trial of aromatherapy. Successful treatment for alopecia areata. *Arch Dermatol* 1998; 134(11):1349-52. 15. Kędzia B, Hołderna-Kędzia E. Badanie wpływu olejków eterycznych na bakterie, grzyby i dermatofity chorobotwórcze dla człowieka. *Post Fitoter* 2007; 2:71-7. 16. Hammer KA, Carson CE, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999; 86:985-90. 17. Pawar VC, Thaker VS. *In vitro* efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses* 2006; 49:316-23. 18. Morris JA, Khettry A, Srith EW. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *J Am Oil Chem Soc* 1979; 56:995-8. 19. Kędzia A. Działanie olejku cedrowego (*Oleum Cedri*) na bakterie beztlenowe. *Post Fitoter* 2009; 2:71-6. 20. Maruzzella JC, Sicurella NA. Antibacterial activity of essential oil vapor. *J Am Pharm Assoc* 1960; 49:692-4. 21. Chabi A, Ababouch LH, Belasri K i wsp. Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* and *Clostridium botulinum* 62 A spores by essential oils. *Food Microbiol* 1977; 14:162-74. 22. Kędzia A. Ocena wrażliwości na olejek cedrowy (*Oleum Cedri*) grzybów drożdżopodobnych. *Post Fitoter* 2010; 1:9-12. 23. Inouye S, Uchida K, Abe S. Vapor activity of 72 essential oils against *Trichophyton mentagrophytes*. *J Infect Chemother* 2006; 12:210-6. 24. Yousef RT, Tawil G. Antimicrobial activity of volatile oils. *Pharmazie* 1980; 35H:698-701. 25. Probu-seenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. *BCM Compl Alternat Med* 2006; 6:39-46. 26. Kumar L, Chaudhari D, Arun B i wsp. Antimicrobial activity of commercially available essential oils against *Streptococcus mutans*. *J Contemp Dent Pract* 2012; 13(1):71-4.

otrzymano/received: 02.07.2015  
zaakceptowano/accepted: 29.07.2015

Adres/address:  
\*prof. dr hab. Anna Kędzia  
ul. Małachowskiego 5/5, 80-262 Gdańsk-Wrzeszcz  
e-mail: anak@gumed.edu.pl