

*Anna Kędzia¹, Andrzej W. Kędzia², Joanna Wiśniewska³

Przeciwbakteryjne działanie olejku rozmarynowego (*Oleum Rosmarini*) na bakterie beztlenowe

Antibacterial effects of rosemary oil (*Oleum Rosmarini*) on anaerobic bacteria

¹Emerytowany profesor dr hab. n. med. Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

²Katedra Auksologii Klinicznej i Pielęgniarstwa Pediatricznego, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik Katedry: dr hab. n. med. Andrzej W. Kędzia, prof. nadzw.

³Oddział Chorób Naczyń i Chorób Wewnętrznych, Szpital Uniwersytecki Nr 2, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu
Ordynator Oddziału: dr n. med. Grzegorz Pulkowski

SUMMARY

Introduction. *Rosmarinus officinalis* L. a member of family Lamiaceae is widely found in many countries of North Africa, America and Europa. It grown to 2-3 m high. The plant produced of essential oils. The composition of rosemary oil based on genotype, climate, geography, and method of preparation. The major constituents of the oil are 1-8 cineole, α -pinene, camphene, α -terpineol, borneol, camphor, β -myrcene, geraniol, eugenol, p-cymen, linalool, rosmarinic acid and caffeic acid. Rosmarinic acid is well adsorbed from gastrointestinal tract and from the skin. The oil is used in medicine as an anti-inflammation, anticancer, analgesic, antidiabetic, antiulcerogenic, hepatoprotective, antirheumatic, antiepileptic, diuretic and anti Alzheimer disease. The extracts and essential oil have antimicrobial activity towards bacteria, fungi, viruses and insects.

Aim. The goal of this work was to test the antimicrobial activity of rosmarinic oil on anaerobic bacteria.

Material and methods. The bacterial strains were isolated from oral cavity. A total 33 strains of anaerobic bacteria isolated from patients and 6 reference strains were investigated. The susceptibility (MIC) was determined by the two-fold of plate dilution method in Brucella agar supplemented with 5% defibrinated sheep blood, menadione and hemin. The rosmarinic oil (Semifarm) was dissolved at first in DMSO and afterwards in distilled water. Concentrations of oil used were 0.06, 0.12, 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/ml. The inoculum containing 10^6 CFU/per spot was seeded with Steers replicator upon the surface of agar with oil and without the oil (the strains growth control). Incubation the plates was performed in anaerobic conditions in anaerobic jar, at 37°C for 48 hrs. The MIC was defined as the lowest concentrations of rosmarinic oil that completely inhibited the growth of tested anaerobic bacteria.

Results. The results indicated that the tested bacteria were high sensitive to the essential oils. The most susceptible from Gram-negative bacteria were the rods from genus of *Porphyromonas asaccharolytica*, *Prevotella levii* and *Bacteroides uniformis* (MIC \leq 0.06 mg/ml). The strains from genus *Prevotella buccalis* and *Bacteroides vulgatus* were less sensitive (MIC = 0.5 mg/ml). Remained Gram-negative rods were susceptible to the oil in concentrations in range from 0.5 to 1.0 mg/ml. The rosmarinus oil was more effective against the Gram-positive bacteria. The most susceptible from the cocci were strains from the genus of *Peptostreptococcus anaerobius* and *Parvimonas micros* (MIC 0.25- \leq 0.06 mg/ml) and from rods Gram-positive rods genus of *Actinomyces viscosus* and *Bifidobacterium breve* (MIC 0.12- \leq 0.06 mg/ml).

Conclusions. The results indicated that the rosmarinic oil showed high antibacterial activity against all tested anaerobic bacteria. The more susceptible to oil were the Gram-positive bacterial strains than Gram-negative anaerobic rods.

Keywords: anaerobic bacteria, rosemary oil, susceptibility, oral cavity

STRESZCZENIE

Wstęp. *Rosmarinus officinalis* L. z rodziny Lamiaceae jest często hodowany w wielu krajach Północnej Afryki, Ameryki i Europy. Osiąga wysokość 2-3 m. Roślina wytwarza olejek eteryczny. Skład olejku rozmarynowego zależy od genotypu, klimatu i regionu geograficznego. Głównymi składnikami olejku są: 1-8-cyneol, α -pinen, kamfen, α -terpineol, borneol, kamfora, β -myrcen, geraniol, eugenol, p-cymen, linalol, kwas rozmarynowy i kwas kawowy. Olejek rozmarynowy dobrze wchłania się z przewodu pokarmowego i ze skóry. Jest on stosowany w medycynie jako środek przeciwpalny, przeciwnowotworowy, przeciwbólowy, przeciwcukrzycowy, przeciwrzodowy, działający ochronnie na wątrobę, przeciwreumatyczny, przeciwpadaczkowy, diuretyczny i w chorobie Alzheimera. Ekstrakt i olejek eteryczny wykazują aktywność wobec bakterii, grzybów, wirusów i owadów.

Cel pracy. Celem pracy była ocena przeciwdrobnoustrojowej aktywności olejku rozmarynowego wobec bakterii beztlenowych izolowanych z jamy ustnej.

Materiał i metody. Szczepy bakterii zostały wyizolowane z jamy ustnej. Badania objęły 33 szczepy bakterii beztlenowych pochodzących od pacjentów oraz 6 szczepów referencyjnych. Wrażliwość (MIC) została oznaczona metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze *Brucella* z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej, menadionu i heminy. Olejek rozmarynowy był najpierw rozpuszczony w DMSO, a następnie w jałowej wodzie destylowanej. Badane stężenia olejku wynosiły 0,06, 0,12, 0,25, 0,5, 1,0 i 2,0 mg/ml. Inokulum zawierające 10^6 CFU na kroplę наносzono aparatem Steersa na powierzchnię agaru, z dodatkiem olejku lub bez jego dodatku (kontrola wzrostu szczepów). Inkubację podłoży prowadzono w warunkach beztlenowych w anaerostatach, w temp. 37°C przez 48 godz. Za MIC uznano takie najmniejsze stężenie olejku rozmarynowego, które całkowicie hamowało wzrost badanych bakterii beztlenowych.

Wyniki. Wyniki badań wskazują, że testowane bakterie były wysoce wrażliwe na olejek rozmarynowy. Największą wrażliwość spośród Gram-ujemnych bakterii wykazały pałeczki z gatunków *Porphyromonas asaccharolytica*, *Prevotella levii* i *Bacteroides uniformis* (MIC \leq 0,06 mg/ml). Mniejszą aktywność wykazał olejek wobec szczepów z gatunków *Prevotella buccalis* i *Bacteroides vulgatus* (MIC = 0,5 mg/ml). Pozostałe Gram-ujemne pałeczki okazały się wrażliwe na stężenia olejku w zakresie od 0,5 do 1,0 mg/ml. Olejek rozmarynowy był bardzo aktywny wobec większości Gram-dodatnich bakterii. Spośród ziarniaków najbardziej wrażliwe okazały się szczepy z gatunków *Peptostreptococcus anaerobius* i *Parvimonas micros* (MIC 0,25- \leq 0,06 mg/ml), a z pałeczek gatunki *Actinomyces viscosus* i *Bifidobacterium breve* (MIC 0,12- \leq 0,06 mg/ml).

Wnioski. Wyniki badań wskazują, że olejek rozmarynowy wykazał wysoką aktywność wobec wszystkich ocenianych beztlenowców. Bardziej wrażliwe na olejek były szczepy Gram-dodatnich bakterii niż Gram-ujemnych pałeczek.

Słowa kluczowe: bakterie beztlenowe, olejek rozmarynowy, wrażliwość, jama ustna

Wstęp

Wiele roślin od wieków było wykorzystywanych w celach leczniczych i kulinarnych. Wskazują na to wykopaliska z terenów starożytnego Egiptu, Grecji czy Chin. Pierwsze badania roślin przeprowadził grecki uczyony Arystoteles (384-322 p.n.e.). Szereg informacji o lekach roślinnych znajduje się też w dziele Herodota z Helikarnasu (485-425 p.n.e.). Natomiast chiński cesarz Shen-Nung (ok. 2800 p.n.e.), uważany za ojca chińskiego lecznictwa, opracował zielnik, w którym zamieścił opisy na temat uprawy i stosowania rosnących w Chinach ziół. Księga ta została uzupełniona i wydana przez Tao Hung Jinga (1597 n.e.) Działanie niektórych roślin leczniczych opisali też inni badacze, w tym Hipokrates (460-377 p.n.e.), Dioskurides (I w n.e.), Galen (131-201) i Avicenna (980-1037). Stosowanie ziół w różnych chorobach zalecał szwajcarski przyrodnik Paracelsus (1493-1541). Natomiast polski przyrodnik i lekarz Szymon Syreński (1540-1611) napisał podręcznik ziołolecznictwa.

Rozmaryn lekarski (*Rosmarinus officinalis*) jest zielonym krzewem z rodziny jasnowiątych (*Lamiaceae*) (1-4). Rośnie w klimacie śródziemnomorskim, na Maderze, Azorach i Wyspach Kanaryjskich, w Tunezji, Portugalii, Maroku, Algierii, ale także w Iranie, Meksyku i Ameryce Północnej (1-5). W Polsce jest hodowany, najczęściej w doniczkach, jako roślina ozdobna. Osiąga wysokość 2-3 m. Wymaga gleby o dużej zawartości wapnia. Na czterokanciastej łodydze wyrastają naprzemianległe, wąskie, wydłużone lancetowato liście z podwiniętym brzegiem barwy ciemnozielonej, o powierzchni gładkiej ze spodem kutnerowatym. Wytwarza białe

kwiaty o 5-ząbkowym kielichu. Rozmaryn zaliczany jest do roślin miododajnych.

W lecznictwie wykorzystuje się liście rośliny, z których przygotowuje się ekstrakty lub olejek eteryczny (6-10). Badania wykazały, że rozmaryn i zawarte w nim związki zapobiegają powstawaniu wolnych rodników ponadtlennokowych, hydroksylowych i azotynowych (9-12). Stwierdzono, że skład chemiczny olejku eterycznego zależy od genotypu, regionu geograficznego, klimatu oraz metody otrzymywania (13). W ekstraktach głównie są obecne fenolowe diterpeny, a wśród nich: karnozol, kwas karnozowy oraz kwas rozmarynowy. Doświadczenia przeprowadzone na zwierzętach wykazały, że oddziałują one przeciwwzapalnie, przeciwnowotworowo, przeciwukrzycowo, ochronnie na komórki wątroby, zapobiegają powstawaniu wrzodów żołądka i jelit oraz posiadają aktywność przeciwdrobnoustrojową (1, 6, 14-25). Ponadto wykorzystywane są jako środki przeciwbólowe, przeciwreumatyczne, diuretyczne, przeciwpadaczkowe i przeciwastmatyczne (4, 23, 26-29). Otrzymywany z rozmarynu olejek eteryczny zawiera głównie: 1-8-cyneol, α -pinen, kamfen, α -terpineol, borneol, kamforę, β -myrcen, geraniol, eugenol, p-cymen, linalol, kwas rozmarynowy i kwas kawowy (4, 10, 25, 30-33). Zwrócono też uwagę na przeciwutleniające właściwości rozmarynu, które polegają na zapobieganiu tworzeniu się wolnych rodników oraz unieczynnieniu wcześniej utworzonych, a także uczestnictwu w dalszym przekształcaniu się ich w nieszkodliwe związki (2, 7, 9, 10, 18, 21, 34-40). Ponadto badania wykazały, że kwas rozmarynowy powoduje stabilizację błon komórkowych, a także stanowi ochronę przed szkodliwym oddziaływaniem

promieniowania UV oraz reaktywnych form tlenu i wolnych rodników (7). Ponadto działa uspokajająco na ośrodkowy układ nerwowy (7, 41). Poprawia zdolności poznawcze u osób z demencją i chorobą Alzheimera (4, 7, 23, 41-46). Stwierdzono też, że składniki olejku eterycznego wykazują aktywność przeciwalergiczną i immunomodulującą (47). Badania *in vitro* wykazały wpływ olejku rozmarynowego na aktywność osteoklastów i wzrost gęstości tkanki kostnej (48). Przeprowadzone doświadczenia udowodniły, że ekstrakty i olejek są dobrze wchłaniane z przewodu pokarmowego i przez skórę (49). Czynne związki występujące w rozmarynie nie tracą aktywności po połączeniu ich z niektórymi antybiotykami (8). Zarówno ekstrakty z liści rozmarynu, jak i olejek eteryczny działają na bakterie, grzyby, wirusy i owady (1, 3, 6, 7, 13, 21, 32, 35, 36, 38, 50-62).

Przeprowadzone dotychczas badania najczęściej dotyczyły oddziaływania olejku na bakterie tlenowe i względnie beztlenowe, rzadziej działania na bakterie beztlenowe.

Cel pracy

Celem pracy była ocena działania olejku rozmarynowego (*Oleum rosmarini*) na bakterie beztlenowe pochodzące z jamy ustnej.

Materiał i metody

Bakterie beztlenowe zostały wyizolowane od pacjentów z różnymi zakażeniami w obrębie jamy ustnej. Pobrane materiały były posiewane na powierzchni podłoża wzbogaconego oraz wybranych podłoży wybiórczych dla beztlenowców. Hodowlę posiewów prowadzono przez 10 dni w anaerostatach zawierających 10% CO₂, 10% H₂ i 80% N₂, katalizator palladowy i wskaźnik warunków beztlenowych, w temp. 37°C. Następnie oceniono ich cechy morfologiczne, fizjologiczne i biochemiczne, wykorzystując testy API 20A (BioMérieux) oraz zdolność wytwarzania z glukozy kwasów tłuszczowych (od C₁ do C₆), kwasu mlekowego, bursztynowego i fumarowego oraz naturalnej fluorescencji kolonii w świetle UV.

Badania objęły 33 szczepy z rodzajów *Porphyromonas* (1 szczep), *Prevotella* (8), *Bacteroides* (6), *Parabacteroides* (1), *Tannerella* (1), *Fusobacterium* (4) i po 6 szczepów Gram-dodatnich ziarniaków i Gram-dodatnich pałeczek oraz 6 szczepów wzorcowych należących do gatunków: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Porphyromonas asaccharolytica* ATCC 29743, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Fingoldia magna* ATCC 29328, *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 i *Propionibacterium acnes* ATCC 11827. Ocenę wrażliwości (MIC) wymienionych wyżej

bakterii na olejek rozmarynowy (Semifarm) przeprowadzono metodą rozcieńczeń w agarze Brucella, który zawierał 5% krwi baraniej, menadion i heminę. Użyty do badań olejek najpierw rozpuszczono w DMSO (Serva) do uzyskania stężenia 100 mg/ml, a następnie w jałowej wodzie destylowanej. Zbadano rozcieńczenia wynoszące: 2,0, 1,5, 1,0, 0,5, 0,25, 0,12 i 0,06 mg/ml olejku w podłożu. Użyte inokulum zawierające 10⁶ CFU na kroplę przenoszono na powierzchnię podłoża aparatem Steersa. Kontrolę wzrostu szczepów stanowiło podłoże niezawierające olejku. Hodowlę podłoży prowadzono w anaerostatach zawierających mieszaninę gazów: 10% CO₂, 10% H₂ i 80% N₂, katalizator palladowy i wskaźnik beztlenowości, w temp. 37°C przez 48 godzin. Za najmniejsze stężenie hamujące (MIC) przyjęto takie rozcieńczenie olejku, które całkowicie hamowało wzrost ocenianych bakterii beztlenowych.

Wyniki i omówienie

W tabeli 1 zostały zebrane wyniki wrażliwości na olejek rozmarynowy Gram-ujemnych bakterii beztlenowych, w tabeli 2 Gram-dodatnich ziarniaków i pałeczek, a w tabeli 3 szczepów wzorcowych. Spośród Gram-ujemnych bakterii najbardziej wrażliwe okazały się gatunki *Porphyromonas asaccharolytica*, *Prevotella levii* i *Bacteroides uniformis*. Zahamowanie wzrostu tych bakterii powodowały niskie stężenia, wynoszące ≤ 0,06 mg/ml. Niższą wrażliwością charakteryzowały się szczepy Gram-ujemnych pałeczek z gatunków *Prevotella buccalis* i *Bacteroides vulgatus*. Wartości MIC dla tych drobnoustrojów wynosiły 0,5 mg/ml. Pozostałe szczepy wymagały do zahamowania wzrostu stężeń olejku w granicach od 0,5 do 1,0 mg/ml.

Wśród Gram-dodatnich ziarniaków największą wrażliwość wykazały szczepy *Peptostreptococcus anaerobius* i *Parvimonas micros* (MIC 0,25-≤ 0,06 mg/ml). Gram-dodatnie pałeczki z gatunków *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces odontolyticus* i *Bifidobacterium breve* do zahamowania wzrostu wymagały użycia olejku w zakresie 0,5-≤ 0,06 mg/ml. Natomiast pozostałe badane pałeczki z rodzajów *Actinomyces* i *Propionibacterium* były wrażliwe na wyższe stężenia wynoszące 1,0 mg/ml.

Olejek rozmarynowy hamował wzrost 16 (48,5%) spośród wszystkich ocenianych bakterii beztlenowych w zakresie 0,5-≤ 0,06 mg/ml. Pozostałe szczepy były wrażliwe na stężenie w wysokości 1,0 mg/ml. Natomiast Crotiani i wsp. (71) wykazali, że wzrost szczepów z rodzaju *Bifidobacterium* był hamowany przez stężenia wynoszące > 2,0 mg/ml. Nasz szczep był bardziej wrażliwy (MIC = 0,12 mg/ml).

Tab. 1. Wrażliwość Gram-ujemnych bakterii beztlenowych na olejek rozmarynowy

Bakterie beztlenowe	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)					
		2,0	1,0	0,5	0,25	0,12	≤ 0,06
<i>Bacteroides fragilis</i>	1		1				
<i>Bacteroides uniformis</i>	2						2
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	2		2				
<i>Bacteroides vulgatus</i>	1			1			
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2		2				
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	2		1	1			
<i>Parabacteroides distasonis</i>	1		1				
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1						1
<i>Prevotella bivia</i>	1		1				
<i>Prevotella buccalis</i>	1			1			
<i>Prevotella intermedia</i>	4		2	2			
<i>Prevotella levii</i>	1						1
<i>Prevotella loescheii</i>	1		1				
<i>Tannerella forsythia</i>	1		1				
Gram-ujemne bakterie beztlenowe ogółem	21		12	5			4

Tab. 2. Wrażliwość Gram-dodatnich bakterii beztlenowych na olejek rozmarynowy

Bakterie beztlenowe	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)					
		2,0	1,0	0,5	0,25	0,12	≤ 0,06
<i>Finegoldia magna</i>	3		2				1
<i>Parvimonas micros</i>	1				1		
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	2						2
Gram-dodatnie ziarniaki beztlenowe	6		2		1		3
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1			1			
<i>Actinomyces viscosus</i>	1						1
<i>Propionibacterium acnes</i>	1		1				
<i>Propionibacterium granulosum</i>	2		2				
<i>Bifidobacterium breve</i>	1					1	
Gram-dodatnie pałeczki	6		3	1		1	1
Bakterie beztlenowe łącznie	33		17	6	1	1	8

Tab. 3. Wrażliwość szczepów wzorcowych bakterii beztlenowych na olejek rozmarynowy

Bakterie beztlenowe	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)					
		2,0	1,0	0,5	0,25	0,12	≤ 0,06
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	1		1				
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	1		1				
<i>Fingoldia magna</i> ATCC 29328	1		1				
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827	1		1				
<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC 15700	1			1			

Szereg doświadczeń przeprowadzonych z bakteriami tlenowymi wskazuje na aktywność olejku wobec tych bakterii. Inouye i wsp. (62) badali działanie olejku (MIC) wobec niektórych bakterii tlenowych wyizolowanych z dróg oddechowych. Stwierdzili, że szczep *Haemophilus influenzae* ATCC 33391 był wrażliwy na 3,2 mg/ml, a *Staphylococcus aureus* ATCC 12344, *Staphylococcus aureus* FDA 209P JC i *Escherichia coli* NIHJ IC wymagały użycia wyższych stężeń. Bosnic i wsp. (63) wykazali aktywność olejku, oceniając wartości MIC i MBC dla szczepów *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*. Kolejni autorzy (64) wykorzystując metodę krążkowo-dyfuzyjną, zbadali działanie olejku na szczepy *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mutans*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* i *Listeria monocytogenes*. Strefy zahamowania wzrostu tych bakterii wokół krążków wynosiły od 3 do 17 mm. Fabio i wsp. (65) stosując powyższą technikę, wykazali wrażliwość *Streptococcus pyogenes* (strefa zahamowania wzrostu wynosiła 7-25 mm), *Streptococcus agalactiae* (20), *Streptococcus pneumoniae* (6), *Staphylococcus aureus* (5), *Haemophilus influenzae* (25), *Klebsiella pneumoniae* (6) i *Stenotrophomonas maltophilia* (5). Hammer i wsp. (66) badali działanie olejków eterycznych uzyskanych z 13 roślin, w tym także olejku rozmarynowego, na 10 różnych drobnoustrojów. Olejek rozmarynowy hamował wzrost *Aeromonas subria* w stężeniu 5,0 mg/ml, a pozostałe szczepy hamowane były w stężeniach wyższych, w tym *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* i *Candida albicans* w stężeniu 10,0 mg/ml, *Klebsiella pneumoniae* w stężeniu 20,0 mg/ml, a *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* i *Salmonella typhimurium* w stężeniu $\geq 20,0$ mg/ml.

Inni autorzy (67) wykazali aktywność olejku wobec szczepów *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*,

Enterobacter aerogenes i *Pseudomonas aeruginosa*. Strefy zahamowania wzrostu wynosiły od 5 do 17 mm. Największą wrażliwość wykazały ziarniaki z gatunku *Staphylococcus aureus*. Niższa aktywność dotyczyła Gram-ujemnych pałeczek (strefy od 5 do 12 mm). Serban i wsp. (68) dla szczepów *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Candida albicans* uzyskali zahamowanie strefy wzrostu odpowiednio w granicach 12, 15 i 15 mm. Prabuseenivasan i wsp. (36) wykazali, że olejek rozmarynowy w różnych rozcieńczeniach (1:1, 1:5, 1:10 i 1:20) hamował wzrost szczepów *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* i *Klebsiella pneumoniae*. W badaniach innych autorów (69) szczep *Staphylococcus aureus* FDA 209P był wrażliwy na 0,5 mg/ml. Plant i Stephen (70) uzyskali aktywność olejku wobec szczepów *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* oraz brak działania w przypadku *Escherichia coli* i *Serratia marcescens*. W kolejnych badaniach (71) różne gatunki szczepów z rodzaju *Bifidobacterium* były wrażliwe na stężenia olejku > 2 mg/ml. Natomiast brak aktywności wobec bakterii z gatunków *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Salmonella enteritidis* wykazali Kloucek i wsp. (72).

Wyniki większości badań wskazują, że Gram-dodatnie bakterie były bardziej wrażliwe na olejek rozmarynowy niż Gram-ujemne. Nasze badania także to potwierdzają. Niskie stężenia olejku wynoszące $\leq 0,06$ - $0,25$ mg/ml hamowały wzrost 19% szczepów Gram-ujemnych pałeczek oraz 67% szczepów Gram-dodatnich ziarniaków i 50% Gram-dodatnich pałeczek. Maruzzella i Ligouri (73) wykazali z kolei działanie olejku wobec 15 różnych gatunków grzybów. Strefy zahamowania wzrostu wynosiły od 1 do 10 mm (73). W innych badaniach olejek rozmarynowy nie wykazał aktywności wobec szczepów dermatofitów z gatunku *Trichophyton mentagrophytes* (74, 75).

Wnioski

1. Olejek rozmarynowy wykazał największą aktywność wobec szczepów Gram-ujemnych bakterii beztlenowych z gatunków *Porphyromonas asaccharolytica*, *Prevotella levii* i *Bacteroides uniformis*.
2. Gram-dodatnie ziarniaki i Gram-dodatnie pałeczki charakteryzowały się stosunkowo wysoką wrażliwością na olejek rozmarynowy.
3. Bardziej wrażliwe na olejek rozmarynowy okazały się szczepy bakterii Gram-dodatnich w porównaniu z bakteriami Gram-ujemnymi.

Piśmiennictwo

1. Hamidpour R, Hamidpour S, Elias G. *Rosmarinus officinalis* (Rosemary): A novel therapeutic agent for antioxidant, antimicrobial, anticancer, antidiabetic, antidepressant, neuroprotective, anti-inflammatory, and anti-obesity treatment. *Biomed J Sci Tech Res* 2017; 1(4):1-6.
2. Kasparaviciene G, Ramananskiene K, Savickas A i wsp. Evaluation a total phenolic content and antioxidant activity of different *Rosmarinus officinalis* L. ethanolic extracts. *Biologia* 2013; 59(1):39-44.
3. Celiktas OY, Hames Kocabas EE, Bedir E i wsp. Antimicrobial activities of metanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem* 2007; 100(2):553-9.
4. Habtemarian S. The therapeutic potential of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) diterpenes for Alzheimer's disease. *Evid Based Compl Altern Med* 2016; Article JD 2680409 (1-14).
5. Petiwala SM, Puthenveetil AG, Johnson JJ. Polyphenols from Mediterranean herb rosemary (*Rosmarinus officinalis*) for prostate cancer. *Front Pharmacol* 2013; 4:29.
6. Kowalska K, Olejnik A. Rozmaryn – roślina zielarska o potencjale terapeutycznym. *Post Fitoter* 2010; (2):114-22.
7. Fecka I, Mazur A, Cisowski W. Kwas rozmarynowy, ważny składnik terapeutyczny niektórych surowców roślinnych. *Post Fitoter* 2002; (1-2):20-5.
8. Ribeiro DS, Melo DB, Guimaraes AG. Avaliacao do deo essentials de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistencia bacteriana. *Ciencias Agrarias, Londrina* 2012; 33(2):687-96.
9. Celiktas OY, Bedir E, Sukan FV. *In vitro* antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chem* 2007; 101:1474-81.
10. Al-Sereiti MR, Abu-Amer KM, Sen P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian J Exp Biol* 1999; 37:124-30.
11. Posadas SJ, Caz V, Largo C i wsp. Protective effect of supercritical rosemary extract, *Rosmarinus officinalis* on antioxidants of major organs of aged rats. *Exp Gerontol* 2009; 44:383-9.
12. Ho SC, Tsai TH, Tsai PJ i wsp. Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food Chem Toxicol* 2008; 46:921-8.
13. Isman MB, Wilson JA, Bradbury R. Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*) against larvae of *Pseudaletia unipuncta* and *Trichoplusia* in relation to their chemical compositions. *Pharm Biol* 2008; 46(1-2):82-7.
14. Tronsillas P, Calliste CA, Allais DP i wsp. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chem* 2003; 80:399-407.
15. Altinier G, Sosa S, Aquino RP i wsp. Characterization of topical anti-inflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. *J Agric Food Chem* 2007; 55:1718-23.
16. Cheung S, Tai J. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. *Oncol Rep* 2007; 17:1525-31.
17. Singletary KW. Rosemary extract and carnosol stimulate rat liver glutathione-S-transferase and quinone reductase activities. *Cancer Lett* 1996; 100:139-44.
18. Bakirel T, Bakirel U, Ustuner Leles O i wsp. *In vitro* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxanal-diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol* 2008; 116:64-7.
19. Dias PC, Foglio MA, Possenti A i wsp. Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. *J Ethnopharmacol* 2000; 69:57-62.
20. Alkofahi A, Atta AH. Pharmacological screening of the anti-ulcerogenic effects of some Jordania medical plants in rats. *J Ethnopharmacol* 1999; 67:341-5.
21. Petersen M, Simmonds MS. Rosmarinic acid. *Phytochem* 2003; 62(2):121-5.
22. Koleilat M, Raafat K, El-Lakany A i wsp. Designing monographs of *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* L. Two Libanese species with significant medical potentials. *Pharmacognosy J* 2017; 9(4):452-74.
23. Waggas AM, Balawi AE. Neurophysiological study on possible protective effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves extract in male albino rats treated with acrylamide. *Am-Eurasian J Sci Res* 2008; 3(2):163-71.
24. Ibarra A, Cases J, Roller M i wsp. Carnosic acid-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and improves cholesterol levels and glycaemia in mice a high-fat diet. *Brit J Nutr* 2011; 106(8):1182-9.
25. Raskovic A, Milanovic J, Pavlovic N i wsp. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Compl Altern Med* 2014; 14:225-34.
26. EL-Din RAS, EL-Shahat AE, Elmanasy RA. An electron microscopic study of the antifertility potential of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in male albino rats. *Int J Morphol* 2012; 30(2):666-72.
27. Haloui M, Loudec L, Michael JB i wsp. Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaureum erythraea*. *J Ethnopharmacol* 2000; 71:465-72.
28. Mulinaccia N, Innocentia M, Ballumoria M i wsp. Storage method, drying processes and phenolic fraction of rosemary leaves. An HPLC/DAD/MS study. *Talanta* 2011; 85:167-78.
29. Seyedemadi P, Rahnema M, Bigdeli MR i wsp. The neuroprotective effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) hydro-alcoholic extract on cerebral ischemic tolerance in experimental stroke. *Iranian J Pharm Res* 2016; 15(4):875-83.
30. Wolski T, Hołderna-Kędzia E, Ludwiczak A. Ocena składu chemicznego oraz aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków eterycznych i preparatów galenowych otrzymywanych z liści rozmarynu i szalwii lekarskiej. *Post Fitoter* 2001; (4):6-11.

31. Angioni A, Barra A, Cereti E i wsp. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of (*Rosmarinus officinalis* L.). J Agric Food Chem 2004; 52:3530-5.
32. Holderna-Kędzia E, Kędzia B, Mścisz A. Poszukiwanie wyciągów roślinnych o wysokiej aktywności antybiotycznej. Post Fitoter 2009; (1):3-11.
33. Korrer W. Konstitution Und Vorkommen Der Organischen Pflanzenstoffe, Birkhauser Verlag, Basel 1985.
34. Laura PF, Garzon MT, Vincente M. Relationship between the antioxidant capacity and effected of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols on membrane phospholipid order. J Agric Food Chem 2010; 58(1):161-71.
35. Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I i wsp. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., *Lamiaceae*) essential oils. Agric Food Chem 2007; 55:7879-85.
36. Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Compl Altern Med 2006; 6:39-46.
37. Yesil-Celiktas O, Nartop P, Gurel P i wsp. Determination of phenolic content and antioxidant activity of extracts obtained from *Rosmarinus officinalis* calli. J Plant Phys 2007; 164(11):1531-42.
38. Zaonali Y, Bouzaine T, Boussaid M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. Food Chem Toxicol 2010; 48(11):3144-52.
39. Munne-Bosch S, Alegre J, Schwarz K. The formation of phenolic diterpenes in *Rosmarinus officinalis* L. under Mediterranean climate. Eur Food Res Technol 2010; 210(4):263-7.
40. Ozlem YC, Pinar N, Aynur G i wsp. Determination of phenolic content and antioxidant activity of extracts obtained from *Rosmarinus officinalis* calli. J Plant Phys 2007; 164:1536-42.
41. Machado DG, Bettio LEB, Cunha MP i wsp. Antidepressant-like effect of *Rosmarinus officinalis* in mice: involvement of the monoaminergic system. Progress Neuro-Psychopharmacol Biol Psych 2009; 33:642-50.
42. Machado DG, Cunha MP, Neis VB i wsp. Antidepressant-like effect of fractions essential oils, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. Food Chem 2013; 136(2):999-1005.
43. Orhan I, Aslam S, Kartal S i wsp. Inhibitory effects of Turkish *Rosmarinus officinalis* L. on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. Food Chem 2008; 108(2):663-8.
44. Adewusi EA, Moodley N, Steenkamp V. Medicinal plants with cholinesterase inhibitory activity: A Review. African J Biotechnol 2010; 9(49):8257-76.
45. Ożarowski M, Mikołajczak PŁ, Bogacz A i wsp. *Rosmarinus officinalis* L. leaf extract improves memory impairment and affects acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in rat brain. Fitoter 2013; 91:262-71.
46. Omri AE, Han J, Yamada P i wsp. *Rosmarinus officinalis* polyphenols activate cholinergic activities in PC 12 cells through phosphorylation of ERK 1/2. J Ethnopharmacol 2010; 131(2):451-8.
47. Juhas S, Bukovska A, Cikos S i wsp. Anti-inflammatory effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil in mice. Acta Vet Brno 2009; 78:121-7.
48. Working PK, Bus JS, Hamm TE. Reproductive effects of inhaled methyl chloride in the Male Fischer 344 rat. II Spermatogonial toxicity and sperm quality. Toxicol Appl Pharmacol 1985; 77(1):144-57.
49. Nabavi SF, Tenore GC, Daglia M i wsp. The cellular protective effects of rosmarinic acid: from bench to bedside. Curr Neurovasc Res 2015; 12(1):98-105.
50. Cavaleanti YW, Almeida L, Padilha W. Anti-adherent activity of *Rosmarinus officinalis* essential oil on *Candida albicans*: an AEM analysis. Rev Odonto Cienc 2011; 26(2):139-44.
51. Gachkar L, Yadegari D, Rezaei B i wsp. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chem 2007; 102(3):898-904.
52. Oluwatuyi M, Kaatz GW, Gibbons S. Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. Phytochem 2004; 65(24):3249-54.
53. Marinas I, Grumezescu AM, Savinc C i wsp. *Rosmarinus officinalis* essential oil as antibiotic potentiator against *Staphylococcus aureus*. Nano Bio Sci 2012; 25(1):274-6.
54. Pintore G, Usai M, Bradesi P i wsp. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils Sardinia and Corsica. Flavour Fragr J 2002; 17(1):15-9.
55. 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.
56. Janssen AM, Chin NLJ, Scheffer JJC i wsp. Screening for antimicrobial activity of some oils by the agar overlay technique. Pharm Weekblad Sci Ed 1986; 8:289-92.
57. Cuellar Cuellar A, Rahma HY. Evaluation of the field and the antimicrobial activity of the essential oils from: *Eucalyptus globulus*, *Cymbopogon citratus* and *Rosmarinus officinalis* in Mbarara District (Uganda). Rev Colombiana Anim 2009; 1(2):240-9.
58. Arnal-Schnebel B, Hadji-Minaglou F, Peroteau J-F i wsp. Essential oils in infections gynecological disease: a statistical study of 658 cases. Int J Aromather 2004; 14:197-207.
59. Sienkiewicz M, Łysakowska M, Pastuszka M i wsp. The potential of use basil and rosemary essentials oils as effective antibacterial agents. Molecules 2013; 18:9334-51.
60. Nostro A, Cellini L, Di Bartolomeo S i wsp. Antibacterial effect of plant extracts against *Helicobacter pylori*. Phytother Res 2005; 19:198-202.
61. Inouye S, Takizawa T, Yamaguchi H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. J Antimicrob Chemother 2001; 47:565-73.
62. Inouye S, Yamaguchi H, Talizawa T. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method. J Infect Chemother 2001; 7:251-4.
63. Bosnic T, Softic D, Grujic-Vasic J. Antimicrobial activity of some essential oils and major constituents of essential oils. Acta Med Academ 2006; 35:19-22.
64. Tarranum A, Malhotra UR, Ghildiyal A. Antimicrobial activity of plants (*Cinnamomum zeylanicum*, *Cedrus deodora*, *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis*) essential oils against some bacteria and fungi strains. Octa J Biosci 2014; 2(1):49-52.
65. Fabio A, Cermeli C, Fabio G i wsp. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. Phytother Res 2007; 21:374-7.
66. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J Appl Microbiol 1999; 86:985-90.
67. Rossi P-G, Berti L, Panighi J i wsp. Antibacterial action of essential oils from Corsica. J Essent Oil Res 2007; 19:176-82.

68. Serban ES, Jonescu M, Matinca D i wsp. Screening of the antibacterial and antifungal activity of eight volatile essential oils. *Farmacia* 2011; 59(3):440-6.
69. Kędzia B, Hołderna-Kędzia E. Badanie wpływu olejków eterycznych na bakterie, grzyby i dermatofity chorobotwórcze dla człowieka. *Post Fitoter* 2007; (2):71-7.
70. Plant J, Stephen B. Evaluation of the antibacterial activity of a sizeable set of essential oils. *Med Aromat Plants* 2015; 4(2):185-90.
71. Crotiani F, Biavati B, Alessandrini i wsp. Growth inhibition of essential oils and other antimicrobial agents towards *Bifidobacteria* from dental caries. 27th Int Symp on Essential Oils. Vienna 1996; 40-4.
72. Kloucek P, Smid J, Frankowa A i wsp. Fast screening method for assessment of antimicrobial activity of essential oils in vapor phase. *Food Res Intern* 2011; 5:1-5.
73. Maruzzella JC, Ligouri L. The *in vitro* antifungal activity of essential oils. *J Am Pharm Assoc* 1956; 47(4):250-4.
74. Inouye S, Uchida K, Abe S. Vapour activity of 72 essential oils against a *Trichophyton mentagrophytes*. *J Infect Chemother* 2006; 12:210-6.
75. Inouye S, Uchida K, Abe S. Volatile composition and vapour activity against *Trichophyton mentagrophytes* of 36 aromatic herbs cultivated in Chichibu district in Japan. *Intern J Aromather* 2006; 16:159-68.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 11.02.2018

zaakceptowano/accepted: 28.04.2018

Adres/address:

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