

*Anna Kędzia¹, Andrzej W. Kędzia²

Przeciwbakteryjna aktywność olejku tatarakowego (*Oleum Calami*) wobec bakterii beztlenowych

Antibacterial activity of calamus oil (*Oleum Calami*) against anaerobic bacteria

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

²Klinika Diabetologii Klinicznej i Pielęgniarstwa Pediatricznego, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

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

SUMMARY

Introduction. The plants have been used for many thousands of years in medicine ancient Roma and Egypt. Among usage a herb was calamus. It was importation to Poland probably in XIII age. Calamus to grown on lowlands, on pond and lakes shares. *Acorus calamus* belongs to the family Araceae. The herb having rhizome with many nodes, elongated leaves with intensive smelling. In etheric oil are components as: α - and β -azarone, cyperenone, cyperole, acorine, acorytine, caryophyllene, isoasarone, saflor, eugenol, camphor, geranyl acetate, cyperdone, spathulenol, borneol, linalool and linolenic acid. The oil has various pharmacological and antimicrobial activities.

Aim. The goal of the investigation was to test activity calamus oil against anaerobic bacteria.

Material and methods. The anaerobic bacteria were isolated from oral cavity and upper respiratory tract. The strains of following genera were tested: *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Tannerella*, *Fusobacterium*, *Fingoldia*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*. The data volume 9 reference strains. The concentration the calamus oil (Semifarm) were: 2.0, 1.0, 0.5, 0.25, 0.12 and 0.06 mg/ml. The investigations was carried out using plate dilution technique method in *Brucella* agar supplemented with 5% defibrinated sheep blood, menadione and hemin. Inoculum containing 10^6 CFU per 1 ml was seeded with Steers replicator upon the agar with oil or without the oil (strains growth control). The agar plates was incubated in anaerobic condition in anaerobic jar in mixed of gases (10% CO₂, 10% H₂ i 80% N₂) with palladium catalyst and anaerobiosis indicator, in 37°C for 48 hrs. The MIC was recorded by reading the lowest concentration the inhibited growth of anaerobic bacteria.

Results. The results showed, that the most susceptible from genus of *Bacteroides* were the rods of *Bacteroides uniformis* (MIC \leq 0.06-0.25 mg/ml). The strain *Bacteroides ureolyticus* and *Bacteroides vulgatus* were susceptible to 0.5 mg/ml, and *Bacteroides fragilis* to \geq 20.0 mg/ml. The growth rods from genus *Porphyromonas* was inhibited by concentrations \leq 0.06-0.25 mg/ml. The calamus oil was active against Gram-positive rods in range 0.25-0.5 mg/ml. The growth of *Actinomyces*, *Bifidobacterium* and *Propionibacterium* was inhibited by oil concentration 0.25-0.5 mg/ml. The Gram-positive cocci was susceptible to concentrations with ranges from \leq 0.06 to 1.0 mg/ml. The most susceptible from the cocci was the strains *Parvimonas micra* (MIC $<$ 0.06 mg/ml). The results other authors to confirm that Gram-positive rods are more susceptible to calamus oil than Gram-negative anaerobic bacteria.

Conclusions. The calamus oil was high activity towards tested anaerobic bacteria. The most susceptible among Gram-negative rods was *Bacteroides ureolyticus*, *Porphyromonas asaccharolytica* and *Porphyromonas levii*. Gram-positive cocci were more susceptible on calamus oil than Gram-positive rods. The tested oil demonstrated the more activity towards Gram-positive bacteria than Gram-negative anaerobic rods.

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

STRESZCZENIE

Wstęp. Rośliny były stosowane w medycynie ludowej od tysięcy lat. Wśród używanych ziół był tatarak. Do Polski został sprowadzony prawdopodobnie w XIII wieku. Rośnie on na nizinach, na brzegach stawów i jezior. Zioło wytwarza rozgałęziające się kłącza i wydłużone liście o intensywnym zapachu. W olejku eterycznym występują składniki: α - i β -azaron, cyperenon, cyperol, akoryna, akorytyna, kariofilen, izoazaron, saflor, eugenol, kamfora, octan geranylu, cyperdin, spatulenol, borneol, linalol i kwas linolenowy. Olejek wykazuje różne właściwości farmakologiczne i przeciwdrobnoustrojowe.

Cel pracy. Celem badań była ocena aktywności olejku tatarakowego wobec bakterii beztlenowych.

Materiał i metody. Szczepy bakterii zostały wyizolowane z jamy ustnej i górnych dróg oddechowych. Badane szczepy należały do następujących rodzajów: *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Tannerella*, *Fusobacterium*, *Finexgoldia*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*. Do badań włączono też 9 szczepów wzorcowych. Zbadano następujące rozcieńczenia olejku tatarakowego (Semifarm): 2,0, 1,0, 0,5, 0,25, 0,12 i 0,06 mg/ml. Doświadczenia przeprowadzono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze *Brucella* z dodatkiem 5% krwi baraniej, menadionu i heminy. Inokulum zawierające 10^6 CFU na kroplę przenoszono aparatem Steersa na powierzchnię agaru z olejkami lub bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Inkubację posiewów prowadzono w anaerostatach wypełnionych mieszaniną gazów (10% CO_2 , 10% H_2 i 80% N_2), z katalizatorem palladowym i wskaźnikiem beztlenowości, w temperaturze 37°C przez 48 godzin. Za MIC przyjęto takie najmniejsze stężenie, które prowadziło do zahamowania wzrostu bakterii beztlenowych.

Wyniki. Wyniki badań wskazują, że najbardziej wrażliwe z rodzaju *Bacteroides* były pałeczki z gatunku *Bacteroides uniformis* (MIC \leq 0,08-0,25 mg/ml). Szczepy *Bacteroides ureolyticus* i *Bacteroides vulgatus* okazały się wrażliwe na 0,5 mg/ml, a *Bacteroides fragilis* na \geq 2,0 mg/ml. Wzrost pałeczek z rodzaju *Porphyromonas* był hamowany przez stężenia \leq 0,06-0,25 mg/ml. Olejek tatarakowy okazał się aktywny wobec Gram-dodatnich pałeczek w zakresie 0,25-0,5 mg/ml. Wzrost szczepów *Actinomyces*, *Bifidobacterium* i *Propionibacterium* był hamowany przez stężenia 0,25-0,5 mg/ml. Gram-dodatnie ziarniaki były wrażliwe na stężenia wynoszące od \leq 0,06 do 1,0 mg/ml. Największą aktywność olejek wykazał wobec szczepów *Parvimonas micra* (MIC $<$ 0,06 mg/ml). Wyniki innych autorów potwierdziły, że Gram-dodatnie pałeczki są bardziej wrażliwe na olejek tatarakowy niż Gram-ujemne bakterie beztlenowe.

Wnioski. Olejek tatarakowy charakteryzował się wysoką aktywnością wobec testowanych bakterii beztlenowych. Największą wrażliwość spośród Gram-ujemnych pałeczek wykazały szczepy *Bacteroides ureolyticus*, *Porphyromonas asaccharolytica* i *Porphyromonas levii*. Gram-dodatnie ziarniaki były bardziej wrażliwe na olejek tatarakowy niż Gram-dodatnie pałeczki. Testowany olejek wykazał większą aktywność wobec Gram-dodatnich bakterii w porównaniu z bakteriami Gram-ujemnymi.

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

Wstęp

Olejki eteryczne znano i ceniono w starożytnym Rzymie i Egipcie. Od wieków były stosowane w lecznictwie przez Indian i Chińczyków (1-4). W Ameryce wykorzystywano je w medycynie ludowej (1, 5, 6). Wśród używanych w różnych celach roślin był też tatarak. Obecnie występuje on w Azji Południowej, na Filipinach, Celebesie, Cejlonie, wyspie Reunion, we wschodnich stanach USA, w Ameryce Południowej, Republice Południowej Afryki, w Australii, a także w Europie. Do Polski prawdopodobnie został sprowadzony w XIII wieku, jednak rozpowszechnił się dopiero w XV-XVI wieku w czasie najazdów Tatarów.

Tatarak zwyczajny (*Acorus calamus* L.) należy do rodziny *Araceae* (Obrazkowate). Rośnie na nizinach, na brzegach stawów i jezior. Roślina wytwarza grube kłącza o charakterystycznym intensywnym zapachu, które rozgałęziają się i pełzną. Liście są wydłużone, mieczowate, barwy zielonej i osiągają do 1 m wysokości. Kwiaty zielonożółtawe zebrane w kolby mają korzenny zapach.

Kłącze tataraku znalazło zastosowanie w lecznictwie. Wykazuje działanie napotne, wzmacnia wydzielanie enzymów trawiennych i zapobiega niestrawności. Jest stosowane w zapaleniu zatok i górnych dróg oddechowych, reumatyzmie, zaburzeniach żołądkowych, jelitowych i krążenia. Ponadto pobudza szpik kostny do zwiększonego wytwarzania erytrocytów. Stosowany jest zewnętrznie w formie okładów oraz do przemywania ran. Poza tym jako przyprawa jest używany do aromatyzowania słodkich potraw oraz jako dodatek do sosów, pieczeni i zupy rybnej. Tatarak

wykorzystuje się do wytwarzania syropów, konfitur oraz cukierków. W terapii stosowane są ekstrakty z kłącza oraz olejek eteryczny. Ekstrakt wchodzi w skład takich preparatów leczniczych, jak: Gastro, Gastrochol, Gastrin, Urogran, Calmagina, Wikalina, Dentosept oraz Dentosept A.

Olejek tatarakowy zawiera szereg składników, w tym: α - i β -azaron, cyperenon, cyperol, akorynę, akorytynę, kariofilen, izoazaron, saflor, eugenol, kamforę, octan geranylu, cyperdin, spatulenol, borneol, linalol i kwas linolenowy (5, 7-15).

Olejek ma właściwości przeciwzapalne, przeciwbólowe, przeciwskurczowe, przeciwpadaczkowe, przeciw cukrzycowe, neuroochronne i immunosupresyjne (4, 10, 11). Ponadto przyspiesza gojenie ran, wykazuje aktywność wobec robaków i insektów i jest inhibitorem acetylocholino (4, 11, 14). Działa też przeciwutleniająco, przeciwartretycznie, przeciwreumatycznie i przeciwnowotworowo oraz osłaniająco na komórki wątroby (8, 16, 17). Badania wykazały, że olejek tatarakowy ma aktywność przeciwdrobnoustrojową (4, 5, 11, 16-32). Brakuje jednak danych na temat oddziaływania olejku na bakterie beztlenowe.

Cel pracy

Celem badań jest ocena wrażliwości na olejek tatarakowy bakterii beztlenowych wyizolowanych z zakażeń jamy ustnej i górnych dróg oddechowych.

Materiał i metody

Bakterie beztlenowe zostały wyizolowane z jamy ustnej i górnych dróg oddechowych. Badane szczepy

należały do następujących rodzajów: *Bacteroides* (8 szczepów), *Parabacteroides* (1), *Prevotella* (4), *Porphyromonas* (7), *Tannerella* (4), *Fusobacterium* (4), *Finegoldia* (3), *Parvimonas* (1), *Peptostreptococcus* (3), *Actinomyces* (2), *Bifidobacterium* (3) i *Propionibacterium* (3). Do badań włączono też 9 szczepów wzorcowych z gatunków: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482, *Porphyromonas asaccharolytica* ATCC 38128, *Porphyromonas levii* ATCC 29147, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25585, *Finegoldia magna* ATCC 29328, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337, *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 i *Propionibacterium acnes* ATCC 11827.

Badania przeprowadzono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Brucella z dodatkiem 5% krwi baraniej, menadionu i heminy. Olejek tatarski (Semifarm) rozpuszczano w DMSO (Serva), a następnie w wodzie destylowanej, w celu uzyskania badanych stężeń: 2,0, 1,0, 0,5, 0,25, 0,12 i 0,06 mg/ml. Hodowlę drobnoustrojów zawierającą 10⁶ CFU na kroplę przenoszono aparatem Steersa na powierzchnię podłoża z dodatkiem badanego olejku lub bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Inkubację posiewów prowadzono w anaerostatach wypełnionych mieszaniną gazów (10% CO₂, 10% H₂ i 80% N₂), z katalizatorem palladowym i wskaźnikiem beztlenowości, w temperaturze 37°C przez 48 godzin. Za najmniejsze stężenie hamujące uznano takie, które prowadziło do całkowitego zahamowania wzrostu testowanych szczepów bakterii beztlenowych.

Wyniki i dyskusja

Wyniki uzyskane w przeprowadzonych badaniach zostały zamieszczone w tabelach 1-3. Z przedstawionych danych wynika, że spośród rodzaju *Bacteroides* szczepy należące do gatunku *Bacteroides uniformis* okazały się najbardziej wrażliwe. Wzrost tych bakterii był hamowany przez olejek w zakresie ≤ 0,06-0,25 mg/ml. Szczepy z gatunków *Bacteroides ureolyticus* i *Bacteroides vulgatus* okazały się wrażliwe na najwyższe stężenia olejku wynoszące 0,5 mg/ml. Najniższą aktywność olejku wykazał wobec Gram-ujemnych pałeczek z gatunku *Bacteroides fragilis* (MIC ≥ 2,0 mg/ml). Niższą wrażliwością charakteryzowały się także szczepy z gatunków *Prevotella bivia*, *Prevotella loescheii* i z rodzaju *Fusobacterium*. Ich wzrost był hamowany przez olejek w stężeniu 0,5 mg/ml. Kolejne Gram-ujemne pałeczki, należące do gatunków *Tannerella forsythia* i *Parabacteroides distasonis*, wymagały użycia olejku tatarskiego w stężeniach w zakresie 0,5-1,0 mg/ml. Natomiast wzrost pałeczek z rodzaju *Porphyromonas* był hamowany przez olejek tatarski w zakresie ≤ 0,06-0,25 mg/ml.

Spośród badanych Gram-dodatnich bakterii beztlenowych wyższą wrażliwością na olejek tatarski charakteryzowały się szczepy ocenianych Gram-dodatnich ziarniaków. W niskich stężeniach (MIC ≤ 0,06-0,25 mg/ml) olejek hamował wzrost 43% tych szczepów. Tylko 1 szczep, z gatunku *Peptostreptococcus anaerobius*, był

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

| 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> | 4 | | | | 3 | | 1 |
| <i>Bacteroides ureolyticus</i> | 2 | | | 2 | | | |
| <i>Bacteroides vulgatus</i> | 1 | | | 1 | | | |
| <i>Parabacteroides distasonis</i> | 1 | | 1 | | | | |
| <i>Prevotella bivia</i> | 1 | | | 1 | | | |
| <i>Prevotella loescheii</i> | 3 | | | 3 | | | |
| <i>Porphyromonas asaccharolytica</i> | 4 | | | | 2 | 1 | 1 |
| <i>Porphyromonas levii</i> | 3 | | | | 1 | 1 | 1 |
| <i>Tannerella forsythia</i> | 4 | | 1 | 3 | | | |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 2 | | | 2 | | | |
| <i>Fusobacterium necrophorum</i> | 2 | | | 2 | | | |
| Gram-ujemne bakterie beztlenowe ogółem | 28 | 1 | 2 | 14 | 6 | 2 | 3 |

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

| 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 micra</i> | 1 | | | | | | 1 |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> | 3 | | 1 | 1 | | | 1 |
| Gram-dodatnie ziarniaki beztlenowe ogółem | 7 | | 1 | 3 | 1 | | 2 |
| <i>Actinomyces odontolyticus</i> | 1 | | | 1 | | | |
| <i>Actinomyces viscosus</i> | 1 | | | | 1 | | |
| <i>Bifidobacterium breve</i> | 3 | | | 2 | 1 | | |
| <i>Propionibacterium acnes</i> | 1 | | | | 1 | | |
| <i>Propionibacterium granulosum</i> | 2 | | | 1 | 1 | | |
| Gram-dodatnie pałeczki ogółem | 8 | | | 4 | 4 | | |
| Bakterie beztlenowe łącznie | 15 | | 1 | 7 | 5 | | 2 |

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

| 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>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 8482 | 1 | | | 1 | | | |
| <i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ATCC 38128 | 1 | | | | 1 | | |
| <i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147 | 1 | | | | 1 | | |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25585 | 1 | | | 1 | | | |
| <i>Finegoldia magna</i> ATCC 29328 | 1 | | | 1 | | | |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337 | 1 | | 1 | | | | |
| <i>Bifidobacterium breve</i> ATCC 15700 | 1 | | | | 1 | | |
| <i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827 | 1 | | | | 1 | | |

wrażliwy na wyższe stężenie wynoszące 1,0 mg/ml. Natomiast wzrost Gram-dodatnich pałeczek olejek hamował w zakresie 0,25-0,5 mg/ml. Przeprowadzone badania wykazały, że Gram-dodatnie pałeczki były bardziej wrażliwe w porównaniu z Gram-ujemnymi pałeczkami.

Z doświadczeń innych autorów wynika, że olejek tatarakowy wykazuje działanie na bakterie, grzyby drożdżopodobne i grzyby pleśniowe (6, 9, 21, 33-39). Dane przedstawione przez Kasture i wsp. (21) wskazują na aktywność olejku wobec szpitalnych szczepów Gram-ujemnych pałeczek *Escherichia coli*,

Enterobacter aerogenes, Gram-dodatnich pałeczek *Bacillus subtilis* i *Bacillus megaterium* oraz Gram-dodatnich ziarniaków z gatunku *Staphylococcus aureus*. McGaw i wsp. (11) opisali oddziaływanie β -azaronu wobec bakterii, takich jak: *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 oraz *Staphylococcus aureus* ATCC 12600. W tych badaniach wrażliwość wykazały szczepy *Bacillus subtilis* ATCC 6051 (MIC 0,78 mg/ml) i *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 (MIC 1,56 mg/ml). W doświadczeniach Balakumbahana i wsp. (5) wartość MIC dla szczepów *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis* wynosiła 0,25 mg/ml, a dla *Escherichia coli* 0,5 mg/ml. W badaniach Ahmada i wsp. (40) przeprowadzonych techniką krążkowo-dyfuzyjną uzyskane strefy zahamowania wzrostu dotyczyły szczepów *Salmonella paratyphi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*. Wykorzystując tę samą metodę, Shreelaxmi

i wsp. (19) wykazali działanie wobec *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Mucor* sp., *Aspergillus* sp. i *Penicillium* sp. Ponadto aktywność olejku tatarakowego przeciw różnym gatunkom bakterii także udowodniono w innych doświadczeniach (22-26, 29, 30, 38).

Wnioski

1. Olejek tatarakowy charakteryzował się wysoką aktywnością wobec testowanych bakterii bez-tlenowych.
2. Największą wrażliwość spośród Gram-ujemnych pałeczek wykazały szczepy *Bacteroides ureolyticus*, *Porphyromonas asaccharolytica* i *Porphyromonas levii*.
3. Gram-dodatnie ziarniaki były bardziej wrażliwe na olejek tatarakowy niż Gram-dodatnie pałeczki.
4. Testowany olejek wykazał większą aktywność wobec Gram-dodatnich bakterii w porównaniu z bakteriami Gram-ujemnymi.

Piśmiennictwo

1. Giliani AU, Shah AJ, Ahmad M i wsp. Antispasmodic effect of *Acorus calamus* Linn. Is mediated through calcium channel blockade. *Phytother Res* 2006; 20:1080-4.
2. Wu HS, Zhu DF, Zhou CX i wsp. Inulin sensitizing activity of ethyl acetate fraction of *Acorus calamus* L. *in vitro* and *in vivo*. *J Ethnopharmacol* 2009; 123:288-92.
3. Lee MH, Chen YY, Tsai JW i wsp. Inhibitory effect of β -asarone, a component of *Acorus calamus* L. essential oil, on inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 cell. *Food Chem* 2011; 126:1-7.
4. Ganajewala D, Srivastava AK. An update on chemical composition and bioactivities of *Acorus* species. *Asian J Plant Sci* 2011; 10(3):182-9.
5. Balakumbahan R, Rajamani K, Kumanan K. *Acorus calamus*: An overview. *J Med Plants Res* 2010; 4(25):2740-5.
6. Acuna UM, Atha DE, Ma J i wsp. Antioxidant capacities of ten edible North American plants. *Phytother Res* 2002; 16:63-5.
7. Imam H, Riaz Z, Azhar M i wsp. Sweet flag (*Acorus calamus* Linn.). An incredible medical herb. *Int J Green Pharm* 2013; 7:288-96.
8. Parki A, Chaubey P, Prakash O i wsp. Season variation in essential oil compositions and antioxidant properties of *Acorus calamus* L. accessions. *Medicines* 2017; 4:81-94.
9. Stimson J, Aswathy C, Sruthy T. Formulation and evaluation of *Acorus calamus* gel for topical candidiasis. *Indoam J Pharm Res* 2016; 6(4):5324-30.
10. Kour G, Sharma AK, Dash S i wsp. Vacha (*Acorus calamus* Linn.): A variable medicinal plant. *Int J Ayurveda Pharma Res* 2014; 2(8):1-11.
11. McGaw LJ, Jager AK, van Staden J. Isolation of β -asarone, an antibacterial and antihelmintic compounds from *Acorus calamus* in South Africa. *South Afr J Bot* 2002; 2(68):31-5.
12. Chandra D, Prasad K, Kohling G i wsp. Essential oil composition of *Acorus calamus* from District-Pithoragarh Urrarakhand, India. *WJPR* 2015; 4(9):1158-66.
13. Maronglu B, Piras A, Porcedda S i wsp. Chemical composition of the essential oil and supercritical CO₂ extract of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. and of *Acorus calamus* L. *J Agric Food Chem* 1995; 53(20):7939-43.
14. Mukherjee PK, Kumar V, Mal M i wsp. *In vitro* acetylcholinesterase inhibitory activity of the essential oil from *Acorus calamus* and its main constituents. *Planta Med* 2007; 73:283-5.
15. Raina VK, Srivastava SK, Syamasunder KV. Essential oil composition of *Acorus calamus* L. from the lower region of the Himalayas. *Flavour Fragr J* 2003; 18:18-20.
16. Muchtaromah B, Ahmad M, Koestanti ES i wsp. Phytochemicals, antioxidant and antifungal properties of *Acorus calamus*, *Curcuma mangga* and *Allium sativum*. *Vet Med Int Conf* 2017; 93-104.
17. Funde SG. Phytochemicals evaluation, anticancer, antioxidant and antimicrobial activity of *Acorus calamus* different solvent extracts. *J Chem Pharm Res* 2015; 7(6):495-504.
18. Devi AS, Bawankar R, Babu S. Current status on biological activities of *Acorus calamus* – a review. *Int J Pharm Pharmaceut Sci* 2014; 6(10):66-71.
19. Shreelaxmi, Sharanagouda H, Ramachandra CT i wsp. Antimicrobial activity of supercritical fluid extracted *Acorus calamus* oil against different microbes. *J Pharmacogn Phytochem* 2018; 7(3):2836-40.
20. Tasleem A, Mateen A, Waheed MA i wsp. Antimicrobial activity of some herbal drugs used in unani system of medicine. *Int J Herbal Med* 2015; 2(15):27-30.
21. Kasture A, Patel S, Chauhan J i wsp. *In vitro* antimicrobial effect of essential oil from leaf and rhizome of various accessions of *Acorus calamus* Linn., and its phytochemical screenings. *Eur J Med Plants* 2015; 9(2):1-13.

22. Manikandan S, Devi RS, Srikuma R i wsp. *In vitro* antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of *Acorus calamus*. *Int J Appl Biol Pharmt Technol* 2010; 1(3):1073-5.
23. Devi A, Ganajewa D. Antimicrobial activity of *Acorus calamus* (L.) rhizome and leaf extract. *Acta Biol Szeged* 2009; 51(1):45-9.
24. Khatri P, Jamolagni P, Sindhu A i wsp. Antimicrobial potential of important medicinal plants of India. *Int J Microb Resource Technol* 2016; 3(1):301-8.
25. Kumar V, Singh R, Joshi V. Antimicrobial activity of rhizome extract of *Acorus calamus* against different microorganisms. *Octa J Biosci* 2014; 2(1):59-63.
26. Bhuraneswari R, Balasundaram C. Antibacterial activity of *Acorus calamus* and some of its derivatives against fish pathogen *Aeromonas hydrophila*. *J Med Plant Res* 2009; 3(7):538-47.
27. Kim WJ, Hwang KH, Kim TJ i wsp. Major constituents and antimicrobial activity of Korean herb *Acorus calamus*. *Nat Prod Res* 2011; 25(3):1278-81.
28. Phongpaichit S, Pujenjob N, Rakachaisirikul V i wsp. Antimicrobial extract of *Acorus calamus* Linn. Songklanakarin. *J Sci Technol* 2005; 27 (suppl. 2):517-23.
29. Kunar SS, Akram AS, Ahmed TSF i wsp. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of the ethanolic extract of *Acorus calamus* rhizome. *Orient J Chem* 2010; 26(1):223-7.
30. Radušiene J, Pečinlyte D, Judentienne A. Volatile constituents of *Acorus calamus* and their antimicrobial activity. *Acta Horti* 2008; 765(4):35-42.
31. Bogun J, Sohrab H, Yousef M i wsp. *In vitro* antifungal activity of azaron isolated from rhizome extract of *Acorus calamus* L. *Pakistan J Biol Sci* 2004; 7:1376-9.
32. Katesan R, Karnppiah PS, Arumugam G i wsp. β -asarone exhibits antifungal activity by inhibitory ergosterol biosynthesis in *Aspergillus niger* ATCC 16888. *Peoc Natl Acad Sci India. Sect B, Biol Sci* 2017; 1-12.
33. Subha TS, Gnanamani A. *Candida* biofilm perfusion using active fraction of *Acorus calamus*. *J Animal Plant Sci* 2009; 4(2):363-71.
34. Liu XC, Zhou LG, Lin ZL i wsp. Identification of insecticidal constituents of the essential oil of *Acorus calamus* rhizomes against *Liposcelis bostrychophila* Badinell. *Molecules* 2013; 18:5684-96.
35. Chandra D, Prasad K, Kohli G i wsp. Antifungal activity of *Swertia ciliata* (family *Araceae*) and *Viola serpens* (family *Violaceae*) from Pithoragarh Uttarakhand Himalays, India. *J Mad Plants Studies* 2017; 5(6):6-10.
36. Rawal P, Adhikari RS, Danu K i wsp. Antifungal activity of *Acorus calamus* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 2015; 4(1):710-5.
37. Pawar VC, Thaker US. *In vitro* efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses* 2006; 49:316-23.
38. Prabussenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Compl Altern Med* 2006; 6:39-46.
39. Khan BM, Bakht J, Khan W. Rhizome extracts of *Acorus calamus*: Antifungal, antiyeast, antioxidant and HPCL quantification. *J Bangladesh Pharmacol* 2017; 12:44-50.
40. Ahmad T, Mateen A, Waheed MA i wsp. Antimicrobial activity of some herbal drugs used in unani system of medicine. *Int J Herbal Med* 2014; 2(5):27-30.

Konflikt interesów**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 10.01.2019

zaakceptowano/accepted: 16.01.2019

Adres/address:

*prof. dr hab. n. med. Anna Kędzia

ul. Małachowskiego 5/5

80-262 Gdańsk Wrzeszcz

e-mail: anak@gumed.edu.pl