

*Anna Kędzia¹, Elżbieta Holderna-Kędzia²

Skuteczność działania *in vitro* olejku melisowego (*Oleum Melissa*) na bakterie beztlenowe

Effectiveness *in vitro* melissae oil (*Oleum Melissa*) against anaerobic bacteria

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

²Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Poznań

Dyrektor Instytutu: dr hab. inż. Małgorzata Zimmiewska, prof. IWNiRZ

SUMMARY

Introduction. *Melissa officinalis* L. is a member of family Lamiaceae. The plant is widely cultivated in many countries of Asia (Iran, Turkistan), North America, Europe and Poland. It grows to 1 m high. Leaves are green with characteristic smell of lemon and flowers are white or pink. The plant produces essential oil whose components are: neral, geraniol, geranial, β -caryophyllene, thymol, linalol, citronellol, citronellal, geranyl acetate, α -humulene, germacrene D, n-eicosane, didydrocitronellolacetate, 5-cedranone, β -ocimene Z and β -ocimene E. The oil is used in therapy. It showed antiinflammatory and antimicrobial activity towards bacteria, fungi, viruses and insects.

Aim. The aim of this study was to evaluate the activity of melissa oil against anaerobic bacteria.

Material and methods. The bacterial strains were isolated from oral cavity. A total of 32 strains of anaerobes and 8 standard strains were investigated. The melissa oil (Semifarm) was dissolved in DMSO and distilled water to obtain final concentrations of 2.0, 1.0, 0.5, 0.25, 0.12 and 0.06 mg/ml. The inoculum containing 10^5 CFU/spot was seeded with Steers replicator on the surface of agar with or without essential oil (bacterial strains growth control). Incubation was performed in anaerobic conditions in an anaerobic jar, at 37°C for 48 hrs. The MIC was defined as the lowest concentration of melissa oil inhibiting the growth of the tested anaerobes.

Results. The results showed that the melissa oil presented high antibacterial activity against all tested anaerobes. The most susceptible from Gram-positive bacteria were the cocci from the genus of *Finegoldia magna*, *Micromonas micros* and *Peptostreptococcus anaerobius* and Gram-positive rods *Actinomyces odontolyticus* and *Bifidobacterium bivia* (MIC < 0.06 mg/ml). The 92% of Gram-positive bacteria was inhibited in concentrations < 0.06-0.25 mg/ml. From Gram-negative rods the most susceptible was *Bacteroides vulgatus* (MIC < 0.06 mg/ml). The strains from the genus of *Prevotella bivia* and *Prevotella buccalis* were the least sensitive. The minimal inhibitory concentration for these strains was 1.0 mg/ml. But 47% of these strains was inhibited by concentrations in the range < 0.06-0.25 mg/ml.

Conclusions. The melissa oil showed high activity against all tested anaerobic bacteria. The Gram-positive bacteria were the most susceptible to the tested oil than Gram-negative anaerobic rods.

Keywords: anaerobic bacteria, MIC, melissa oil, infection, oral cavity

STRESZCZENIE

Wstęp. *Melissa officinalis* L. należy do rodziny Lamiaceae. Roślina jest hodowana w wielu krajach Azji (Iranie, Turcji), Ameryce Północnej, Europie i w Polsce. Osiąga wysokość ok. 1 m. Ma lśniące zielone liście o charakterystycznym zapachu oraz różowe albo białe kwiaty. Wytwarza olejek eteryczny, którego składnikami są: neral, geraniol, geranial, β -kariofyllen, tymol, linalol, citronelol, cytronelal, octan geranylu, α -humulen, germakran D, n-eikozan, octan didydrocitronelolu, 5-cedranon, β -ocimien Z oraz β -ocimien E. Olejek wykazuje działanie przeciwzapalne i przeciwdrobnoustrojowe wobec bakterii, grzybów, wirusów i owadów.

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

Materiał i metody. Szczepy bakterii zostały wyizolowane z jamy ustnej. Badania objęły 32 szczepy bakterii beztlenowych i 8 szczepów wzorcowych. Bakterie beztlenowe zostały wyhodowane z materiałów pobranych od pacjentów z jamy ustnej. Ocenie wrażliwości poddano 40 szczepów należących do gatunków: *Finegoldia magna* (3), *Micromonas micros* (2), *Peptostreptococcus anaerobius* (1), *Actinomyces odontolyticus* (2), *Propionibacterium acnes* (2), *Propionibacterium granulosum* (2), *Bacteroides fragilis* (2), *Bacteroides ureolyticus* (2), *Bacteroides vulgatus* (1), *Bifidobacterium breve* (1), *Fusobacterium nucleatum* (3), *Fusobacterium necrophorum* (2), *Parabacteroides distasonis* (1), *Prevotella bivia* (1), *Prevotella buccalis* (2), *Prevotella intermedia* (2), *Prevotella loescheii* (1), *Porphyromonas asaccharolytica* (2). Wrażliwość (MIC) wymienionych bakterii beztlenowych na olejek melisowy badano metodą rozcieńczeń w agarze Brucella z dodatkiem 5% krwi baraniej, menadionu i heminy. Olejek rozpuszczano w DMSO (Serva), a następnie w jałowej wodzie destylowanej do uzyskania następujących stężeń: 2,0, 1,5, 1,0, 0,5, 0,25 i 0,06 mg/ml. Użyte hodowle zawierające 10^5 CFU/kroplę nanoszono na powierzchnię agaru aparatem Steersa. Podłoża zawierające olejek oraz bez niego

(kontrola wzrostu szczepów) inkubowano w aerostatach zawierających mieszaninę gazów: 10% CO₂, 10% H₂ i 80% N₂, katalizator palladowy i wskaźnik beztlenowości, w temperaturze 37°C przez 48 godzin. Za najmniejsze stężenie (MIC) olejku uznano takie, które całkowicie hamowało wzrost testowanych szczepów bakterii beztlenowych.

Wyniki. Uzyskane wyniki wskazują, że olejek melisowy był wysoce aktywny wobec wszystkich testowanych bakterii beztlenowych. Najbardziej wrażliwe okazały się Gram-dodatnie ziarniaki z gatunków: *Fingoldia magna*, *Micromonas micros* i *Peptostreptococcus anaerobius* oraz Gram-dodatnie pałeczki *Actinomyces odontolyticus* i *Bifidobacterium breve* (MIC < 0,06 mg/ml). Wzrost 92% Gram-dodatnich bakterii był hamowany w stężeniach < 0,06-0,25 mg/ml. Spośród Gram-ujemnych pałeczek najbardziej wrażliwą były *Bacteroides vulgatus* (MIC < 0,06 mg/ml). Szczepy z gatunków *Prevotella bivia* i *Prevotella buccalis* wykazały najmniejszą wrażliwość. MIC dla tych szczepów wynosiło 1,0 mg/ml. Jednak 47% badanych szczepów hamowały stężenia olejku w zakresie stężeń < 0,06-0,25 mg/ml.

Wnioski. Olejek melisowy wykazał wysoką aktywność wobec wszystkich testowanych bakterii. Beztlenowe bakterie Gram-dodatnie były bardziej wrażliwe niż bakterie Gram-ujemne.

Słowa kluczowe: bakterie beztlenowe, MIC, olejek melisowy, zakażenie, jama ustna

Wstęp

Melisa lekarska (*Melissa officinalis* z rodziny jasnotowatych – *Lamiaceae*) jest uprawiana w Azji (Iran, Turkiestan), Ameryce Północnej, Europie, a także w Polsce. Roślina ta wymaga gleby żyznej, wilgotnej i zawierającej dużo wapnia. Rośnie do wysokości 1 m. Ma charakterystyczne zielone, sercowato-jajowate, karbowane liście, szarawo owłosione oraz kwiaty białe lub blad różowe, wyrastające w kątach liści. Liście wydzielają charakterystyczny zapach. Zaliczana jest do roślin miiododajnych. Jej właściwości lecznicze były znane od wielu wieków. Prawdopodobnie pierwszy opisał melisę w dziele pt. „Historia plantarum” uczeń Arystotelesa, Theophrast (ok. 370-287 p.n.e.). Roślinę polecali też Pliniusz w „Historii naturalnej” oraz Hipokrates i Dioskurides. Była stosowana przez Paracelsusa (1493-1541), który uważał, że „wszystkie łąki i pastwiska, wszystkie góry i pagórki są aptekami” oraz wskazywał na szerokie możliwości stosowania. Zachęcał do jej użycia w słowach: „esencja z melisy podawana w winie każdego ranka odświeży twoją młodość, wzmocni umysł i odnowi słabnący organizm”. Do Hiszpanii została przywieziona w X wieku przez Arabów. Bardzo szybko została rozpowszechniona przez braci zakonnych, m.in. karmelitów w Zachodniej i Środkowej Europie. Jest to roślina chętnie wykorzystywana przez pszczoły. Według pszczelarzy melisa działa na owady uspokajająco. Już w starożytnej Grecji melisę hodowano jako roślinę miiododajną. Pszczoła miiododajna to *mellita*, a w języku greckim miód nazwany jest *meli*, stąd prawdopodobnie wzięła się nazwa rośliny – melisa. Odznacza się ona cytrynowym zapachem, który zawdzięcza wytwarzanemu w niewielkiej ilości olejkowi eterycznemu (1). Zawiera on szereg składników, w tym: neral, geraniol, geranial, β-kariofyllen, tymol, linalol, citronelol, octan geranylu, α-humulen, germakran D, n-eikozan, octan didydrocitronelolu, 5-cedranon, β-ocimen Z i β-ocimen E (2-8).

Badania wskazują na różnice w składzie i zawartości związków, zależnie od regionu geograficznego (strefy klimatycznej), z którego pochodzi roślina (9).

Melisa dzięki wielu właściwościom znalazła zastosowanie w terapii i profilaktyce. Od wieków uznawana jest za środek przeciwskurczowy i stosowana w zaburzeniach przewodzenia pokarmowego. Działanie rozkurczające wykazuje występujący w roślinie olejek eteryczny. Potwierdziły tę aktywność badania przeprowadzone na zwierzętach (10). Natomiast Bolkent i wsp. (11) obserwowali działanie przeciwmiażdżycowe melisy u szczurów z wywołaną u nich wcześniej hiperlipidemią. Zwierzętom podawano przez miesiąc ekstrakt wodny z liści melisy. Autorzy zauważyli znaczne obniżenie poziomu cholesterolu, lipidów, transaminazy asparaginowej alaninowej oraz alkalicznej fosfatazy w surowicy krwi, z równoczesnym podwyższeniem poziomu glutationu w tkankach. Następową też odnowa komórek wątrobowych. Ważną cechą ekstraktów i olejku z melisy jest działanie przeciwutleniające. Na taką aktywność wskazuje szereg autorów (1, 6, 12-17). Wiele wieków temu zwrócono uwagę na jej korzystne działanie w depresji (6, 18). Melisa obecnie stosowana jest jako środek uspokajający, ułatwiający zasypianie oraz neurotropowy (9, 19, 20). Jednak badania nie potwierdzają jednoznacznie tego działania. Sugeruje się, że taka aktywność jest uzależniona od zastosowanej dawki. Wskazują na to wyniki doświadczeń przeprowadzonych na myszach, którym podawano od 1 do 3 mg/kg ekstraktu alkoholowego z melisy, uzyskując lepsze efekty działania po stosowaniu niższej dawki (21).

Melisa ma właściwości rozkurczowe, za które odpowiadają, według sugestii Hose i wsp. (22), neral i geranial, a także cytronelal i β-kariofyllen (6, 22, 23). Właściwości przeciwskurczowe wykazano w badaniach *in vivo*, wykorzystując izolowane jelito kręte świnki morskiej, dwunastnicę szczura oraz aortę królika (6). Prowadzono też doświadczenia nad możliwością zastosowania alkoholowego ekstraktu z melisy w chorobie

Alzheimera (24, 25) u pacjentów w wieku 65-80 lat. Po 4 miesiącach obserwacji stwierdzono znaczną poprawę pamięci i zapamiętywania w porównaniu z grupą kontrolną (24). Dzięki właściwościom rozkurczowym melisa wykazuje korzystne działanie przeciw wrzodom żołądka. Wyciąg z melisy był badany na szczurach, u których wcześniej wywoływano wrzody żołądka za pomocą indometacyny (26). Salvino i wsp. (27) badali działanie przeciwskurczowe u niemowląt, którym podawano przez 1 tydzień ekstrakty z *Matricaria recutita*, *Foeniculum vulgare* i *Melissa officinalis*, uzyskując pożądaną efekt. Stwierdzono, że ekstrakty powodują obniżenie wytwarzania kwasu żołądkowego oraz zwiększają ilość mucyny (27). Ponadto olejek melisowy działa korzystnie w nadczynności tarczycy i niektórych nowotworach (28-30).

Za działanie przeciwnowotworowe odpowiada geraniol, jeden z głównych składników olejku melisowego. Doświadczenia wskazują na chromogenną aktywność geraniolu wobec nowotworów jelita. Działanie polega na niszczeniu komórek nowotworowych wskutek obniżania poziomu białka Bel-2, którego wzrost obserwuje się w początkowym okresie rozwoju procesu nowotworowego (31). Przeprowadzono badania wskazujące na korzystne działanie w przypadku raka wątroby. Badania *in vitro* wykazały, że geraniol hamuje aktywność enzymu 3-hydrokso-3-metyloglutarylo-CoA (HMG-CoA), który uczestniczy w biosyntezie cholesterolu (32). Doświadczenia przeprowadzone na zwierzętach potwierdziły korzystne działanie geraniolu w przypadku różnych nowotworów (28, 33-39). Badania wskazują też, że geraniol zapobiega rozwojowi nowotworów, przyczyniając się do obniżania poziomu markerów nowotworowych (40).

Badacze brazylijscy zbadali działanie cytotoksyczne i przeciwutleniające olejku melisowego. De Sousa i wsp. (28) wykazali, że działanie przeciwutleniające polega na redukcji 1,1-difenylo-2-pikrylo-hydrazylu (DPPH). Natomiast na aktywność cytotoksyczną wskazują doświadczenia przeprowadzone na hodowlach komórkowych nowotworów ludzkich, w tym A 549 (płuc), MCF-7 (sutka), Caco-2 (jelit), HL60 i K562 (białaczki) oraz hodowli nowotworu powodującego czerniaka u myszy B16F10. Uzyskane wyniki wykazują, że olejek melisowy w stężeniu wynoszącym 500 $\mu\text{g/ml}$ hamował w 74-94% rozwój wymienionych komórek nowotworów ludzkich i zwierzęcych (28).

Od lat liście melisy wykorzystywane są w leczeniu nadczynności tarczycy. Takie działanie potwierdziły badania zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, w których ekstrakt z liści hamował odpowiedź komórek tarczycy na TSH (29, 30). Ekstrakty z melisy wykazują działanie uspokajające i stosowane są w stanach niepokoju i napięcia,

spowodowanych różnymi czynnikami (20, 21, 23). Dzięki temu melisa może być wykorzystywana jako środek przeciwmigrenowy (24, 41). Stwierdzono też działanie przeciwwzpalne i przeciwbólowe ekstraktów z liści melisy. Przeciwwzpalną aktywność uzyskiwano po ich podaniu w dawce 200 i 400 mg/kg masy ciała (42). Ponadto olejek eteryczny i jego niektóre składniki wykazują korzystne działanie w cukrzycy, przyczyniając się do obniżania poziomu glukozy w surowicy krwi (43, 44).

Melisa znalazła także zastosowanie w przemyśle perfumeryjnym i kosmetycznym (1, 6). Dzięki przyjemnemu zapachowi ekstrakty z melisy używane są do konserwowania żywności, tj. pikle, pieprz i oliwki, oraz różnych napojów (1). Badania wykazały też, że zarówno ekstrakty, jak i olejek z melisy działają przeciwdrobnoustrojowo, obejmując bakterie (2, 3, 13, 14, 45-56), grzyby (57-60), wirusy (61, 62) i owady (5, 63). Ze względu na szereg korzystnych właściwości *Melissa officinalis* jest stosowana w lecznictwie. Jako środek uspokajający jest składnikiem mieszanek ziołowych, takich jak: Melisana, Nervinol, Bobofen, Bobonisan, Cardiobonisan, Nervinum, Nervosan, Nervobonisan, Neurosina, Cardioflos oraz granulatu Nervogran. Ekstrakty z melisy zawierają preparaty: Nervosol, Nervosol K, Amarosol, Aromatol, Cravisol, Melisana Klosterfrau, Meliherp, Melis-Tonic, Melisal forte, Melised, Nervinolum, Sodomix i 50 Plus. Olejek jest składnikiem kapsułek Nervomix i Nervobonisol, a także tabletek Melisa, Relana i tabletek uspokajających. Ponadto olejek melisowy wykorzystywany jest do inhalacji oraz kompresów, kąpiele i masaży.

Badania wielu autorów wskazują na znaczną aktywność olejku melisowego wobec różnych bakterii chorobotwórczych. Jednak brakuje publikacji dotyczących działania tego olejku na bakterie beztlenowe występujące w jamie ustnej.

Cel pracy

Celem badań była ocena aktywności olejku melisowego wobec bakterii beztlenowych wyizolowanych z jamy ustnej.

Materiał i metody

Wymazy pobrane z jamy ustnej pacjentów posiewano na powierzchni podłoża wzbogaconego oraz podłożu wybiórczych, które hodowano w warunkach beztlenowych. Bakterie identyfikowano zgodnie z obowiązującymi zasadami. Do oceny wrażliwości wykorzystano łącznie 40 szczepów, w tym 32 szczepy bakterii beztlenowych i 8 szczepów wzorcowych. Należały one do gatunków: *Fingoldia magna* (3), *Micromonas micros* (2), *Peptostreptococcus anaerobius* (1), *Actinomyces odontolyticus* (2), *Propionibacterium acnes* (2), *Propionibacterium*

granulosum (2), *Bacteroides fragilis* (2), *Bacteroides ureolyticus* (2), *Bacteroides vulgatus* (1), *Bifidobacterium breve* (1), *Fusobacterium nucleatum* (3), *Fusobacterium necrophorum* (2), *Parabacteroides distasonis* (1), *Prevotella bivia* (1), *Prevotella buccalis* (2), *Prevotella intermedia* (2), *Prevotella loescheii* (1), *Porphyromonas asaccharolytica* (2). Jako kontrolne użyto następujące szczepy wzorcowe: *Actinomyces odontolyticus* ATCC 17929, *Finegoldia magna* ATCC 29328, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337, *Propionibacterium acnes* ATCC 11827, *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25585 oraz *Parabacteroides distasonis* ATCC 8503. Wrażliwość (MIC) wymienionych bakterii beztlenowych na olejek melisowy (Semifarm) badano metodą rozcieńczeń w agarze Brucella z dodatkiem 5% krwi baraniej, menadionu i heminy. Olejek był najpierw rozpuszczany w DMSO (Serva), a następnie w jałowej wodzie destylowanej. Do badań wykorzystano następujące stężenia: 2,0, 1,5, 1,0, 0,5, 0,25, 0,12 i 0,06 mg/ml. Użyta zawiesina bakterii zawierała 10⁵ CFU/kroplę i była наносzona na powierzchnię agaru aparatem Steersa. Podłoża zawierające olejek oraz bez jego dodatku (kontrola wzrostu szczepów) inkubowano w anaerostatach, zawierających mieszaninę gazów: 10% CO₂, 10% H₂ i 80% N₂, katalizator palladowy i wskaźnik beztlenowości, w temperaturze 37°C przez 48 godzin. Za najmniejsze stężenie (MIC) olejku uznano takie, które całkowicie hamowało wzrost testowanych szczepów bakterii beztlenowych.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki, zebrane w tabelach 1 i 2, wskazują, że olejek melisowy był wysoce aktywny wobec wszystkich badanych bakterii beztlenowych. Najbardziej wrażliwe okazały się Gram-dodatnie ziarniaki z gatunków *Finegoldia magna*, *Micromonas micros* i *Peptostreptococcus anaerobius* oraz Gram-dodatnie pałeczki *Actinomyces odontolyticus* i *Bifidobacterium breve* (MIC < 0,06 mg/ml). Wzrost 92% szczepów bakterii Gram-dodatnich był hamowany w stężeniach < 0,06-0,25 mg/ml. Pozostałe gatunki bakterii beztlenowych z rodzajów *Bacteroides*, *Fusobacterium* i *Porphyromonas* wykazały niższą wrażliwość (MIC w zakresie 1,0- < 0,06 mg/ml). Spośród pałeczek Gram-ujemnych najbardziej wrażliwe były pałeczki *Bacteroides vulgatus* (MIC < 0,06 mg/ml). Szczepy z gatunków *Prevotella bivia* i *Prevotella buccalis* wykazały najmniejszą wrażliwość. Olejek melisowy hamował ich wzrost w stężeniu wynoszącym 1,0 mg/ml.

Doświadczeniami objęto też bakterie rosnące przy dostępie tlenu. Wyniki tych badań wskazują na zróżnicowaną wrażliwość drobnoustrojów na użyty olejek lub ekstrakty z melisy. Iauk i wsp. (52) oceniali ekstrakt metanolowy z melisy i okazało się, że bakterie beztlenowe powodujące choroby przyzębia są znacznie bardziej odporne niż bakterie tlenowe. Do zahamowania wzrostu (z wyjątkiem dwóch szczepów z gatunku *Prevotella melaninogenica*) wymagane były stężenia w zakresie 2-16 mg/ml. Di Pasqua i wsp. (53) oceniali działanie olejku melisowego

Tab. 1. Wrażliwość (MIC) na olejek melisowy 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>	2				1		1
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	2		1		1		
<i>Bacteroides vulgatus</i>	1						1
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	3			2			1
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	2			2			
<i>Parabacteroides distasonis</i>	1				1		
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	2				2		
<i>Prevotella bivia</i>	1		1				
<i>Prevotella buccalis</i>	2		2				
<i>Prevotella intermedia</i>	2		1		1		
<i>Prevotella loescheii</i>	1		1				
Gram-ujemne bakterie beztlenowe ogółem	19		6	4	6		3

Tab. 2. Wrażliwość (MIC) na olejek melisowy Gram-dodatnich bakterii beztlenowych

Drobnoustroje	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						3
<i>Parvimonas micra</i>	2						2
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1						1
Gram-dodatnie beztlenowe ziarniaki ogółem	6						6
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	2						2
<i>Bifidobacterium breve</i>	1						1
<i>Propionibacterium acnes</i>	2				1		1
<i>Propionibacterium granulosum</i>	2		1		1		
Gram-dodatnie pałeczki beztlenowe ogółem	7		1		2		4
Gram-dodatnie bakterie beztlenowe łącznie	13		1		2		10
Gram-ujemne bakterie beztlenowe ogółem	19		6	4	6		3
Bakterie beztlenowe łącznie	32		7	4	8		13

Tab. 3. Wrażliwość (MIC) na olejek melisowy 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>Actinomyces odontolyticus</i> ATCC 17929	1						1
<i>Finegoldia magna</i> ATCC 29328	1						1
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	1						1
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827	1				1		
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	1				1		
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 8482	1						1
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25583	1						1
<i>Parabacteroides distasonis</i> ATCC 8503	1				1		

wobec bakterii tlenowych. W tych badaniach wzrost szczepów *Lactococcus garvieae*, *Escherichia coli* ATCC 35150, *Salmonella typhimurium* ATCC 6994 i *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 był hamowany w stężeniach > 10 mg/ml. Inni autorzy wykorzystując technikę krążkowo-dyfuzyjną, używając różnych stężeń olejku, także uzyskali strefy zahamowania wzrostu szeregu ocenianych

bakterii tlenowych, w tym *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella shigae* i *Legionella pneumophila* (2, 3, 45, 47-49, 56). Z naszych badań wynika, że olejek melisowy działał wobec różnych beztlenowców i był bardziej skuteczny w niskich stężeniach (wynoszących 0,25- < 0,06 mg/ml)

wobec Gram-dodatnich bakterii niż Gram-ujemnych bakterii beztlenowych. Olejek hamował odpowiednio wzrost 92 i 47% tych szczepów.

Wnioski

1. Największą wrażliwość na olejek melisowy wykazały szczepy z gatunków *Finegoldia magna*, *Micromonas micros*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Actinomyces odontolyticus* i *Bifidobacterium breve* (MIC < 0,06 mg/ml).
2. Najmniej aktywny był olejek wobec Gram-ujemnych pałeczek *Prevotella bivia* i *Prevotella buccalis* (MIC < 1,0 mg/ml).
3. Gram-dodatnie bakterie okazały się bardziej wrażliwe na olejek melisowy niż Gram-ujemne bakterie beztlenowe.

Piśmiennictwo

1. Bahtiyar B, Cosage B. The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its components and using fields. J Facult Agric 2006; 21(1):116-21.
2. Abdellatif F, Boudjella H, Zitouni A i wsp. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. EXCLIJ 2014; 13:772-81.
3. Rostani H, Kazemi M, Shafiei S. Antibacterial activity of *Lavandula officinalis* and *Melissa officinalis* against some human pathogenic bacteria. Asian J Biochem 2012; 7(3): 133-142.
4. Patora J, Majda T, Góra J i wsp. Variability in the content and composition of essential oil from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) cultivated in Poland. Acta Pol Pharm Drug Res 2013; 60(5):395-400.
5. Koliopoulos G, Pitarokin D, Kioulos E i wsp. Chemical composition and larvicidal evaluation of mentha, salvia and melissa essential oils against the West Nile Virus mosquito *Culex pipiens*. Parasitol Res 2010; 107(2):327-35.
6. Moradkhani H, Sargsyan E, Bibak H i wsp. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. J Med Plant Res 2010; 4(25):2753-9.
7. Hancianu M, Aprotsoaie AC, Gille E i wsp. Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of essential oil of *Melissa officinalis* L. from Romania. Rev Med-Chir Soc Med Natur 2008; 112(3):843-7.
8. Adinne J, Piri K, Karami O. Essential oil component in flower of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Am J Biochem Biotechnol 2008; 4(3):277-8.
9. Sorensen JM. *Melissa officinalis*. Int J Aromather 2000; 10(1-2):7-15.
10. Nartowska J. Melisa lekarska – wieki tradycji i nowe możliwości. Panacea 2006; 3(16):8-11.
11. Bolkent S, Yanardag R, Karabmluf-Bulan O i wsp. Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study. Ethnopharmacol 2005; 14:391-8.
12. Carvalho de Sousa A, Gattass CR, Alviano DS i wsp. *Melissa officinalis* L. essential oils: antitumor and antioxidant activities. J Pharm Pharmacol 2004; 56(5):677-81.
13. Mencherini T, Picerno P, Scesa C i wsp. Triterpene, antioxidant, and antimicrobial compounds from *Melissa officinalis*. J Nat Prod 2007; 70(12):1889-904.
14. Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M i wsp. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (*Lamiaceae*) essential oil. Agric Food Chem 2004; 52(9):2485-9.
15. Marongiu B, Porcedda S, Piras A i wsp. Antioxidant activity of supercritical extract of *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* and *Melissa officinalis* subsp. *indora*. Phytother Res 2004; 18(10):789-92.
16. Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M i wsp. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (*Lamiaceae*) essential oil. Acta Pol Pharm 2003; 60(6):467-70.
17. Meftahizade H, Sargyan E, Moradkhani H. Investigation of antioxidant capacity of *Melissa officinalis* L. essential oils. J Med Plant Res 2010; 4(14):1391-5.
18. Tavares AC, Pimento MC, Goncalves MT. Micropropagation on *Melissa officinalis* L. thought proliferation of axillary shoots. Plant Cell Rep 1996; 15:441-4.
19. Hefendehl. Zusammensetzung des aetherischen oils von *Melissa officinalis* L. sekundare veränderungen der olkcomposition. Arch Pharm 1970; 303:345-57.
20. Soulimani R, Fleurentin J, Mortier F i wsp. Neurotropic action of the hydroalcohols extracts of *Melissa officinalis* in the mouse. Planta Med 1991; 57:151-9.
21. Wagner H, Sprinkmeyer I. Pharmacological aspekt of spilit. Dtsch Apothek Zeit 1973; 113(30):1159-66.
22. Hose M, Erman F, Helski G. Ontogenic variation of essential leaf oil of *Melissa officinalis* L. Pharmazie 1997; 52:247-53.
23. Werker J. Function of essential oil secretion glandular hairs in aromatic plants of the *Lamiaceae*. A review. Flavour Fragr J 1993; 8:249-55.
24. Valnet J. Aromatherapy. 11th ed. Maloine, Paris 1990; 242-6.
25. Alkondzadeh S, Nooroonian M, Mohamadi M i wsp. *Melissa officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized, placebo controlled trial. Food Prot Apr 2004; 6(4):625-32.
26. Khayyal MT, el-Ghazaly MA, Kenaway SA i wsp. Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination. Arzneimittelforsch 2001; 51(7):545-53.
27. Salvino F, Cresi F, Castagno E i wsp. A randomized double-blind placebo controlled trial of a standardized extract of *Matricaria recutita*, *Foeniculum vulgare* and *Melissa officinalis* (ColiMil) in the treatment of breast colicky infants. Phytother Res 2005; 19(4):335-40.
28. De Sousa AC, Alviano DS, Blank AF i wsp. *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. J Pharm Pharmacol 2004; 56:677-81.
29. Aufmolk M, Amir SM, Winterhoff H i wsp. Inhibition by certain plants extracts of the blinding and adenylate cyclase stimulatory effect of bovine thyreotropin in human thyroid membranes. Endocrinol 1984; 115:527-34.
30. Aufmolk M, Ingmar JC, Kubota K i wsp. Extracts and auto-oxidized constituents of certain plants inhibit the receptor-binding and biological activity of graves. Immunoglobulins. Endocrinol 1985; 116(5):1687-93.
31. Veira A, Heidor R, Carolozo MT i wsp. Efficacy of geraniol but not of β -ionone or their combination for the chemoprevention of rat cancer carcinogenesis. Braz J Med Biol Res 2011; 44(6):538-45.

32. Shoff SM, Grummer M, Yatvin MB i wsp. Concentration-dependent increase of murine p388 and b16 population doubling time by the acyclic monoterpene geraniol. *Cancer Res* 1991; 51:37-42.
33. Cordozo MT, de Conti A, Ong TP. Chemoprotective effects of β -ionone and geraniol during rat hepatocarcinogenesis promotion: distinguishing actions on cell proliferation, apoptosis, HMGC α reductase, and RhoA. *J Nat Biochem* 2011; 22:130-5.
34. Jin X, Sun J, Miao X i wsp. Inhibitory effects of geraniol in combination with gemcitabine on proliferation of BXPc-3 human pancreatic cancer cells. *J Int Med Res* 2013; 41(4):993-1001.
35. Kim SH, Bae HC, Park EJ i wsp. Geraniol inhibits prostate cancer growth by targeting cell cycle and apoptosis pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 407:129-34.
36. Kim SH, Park EJ, Lee CR i wsp. Geraniol induces cooperative interactions of apoptosis and autophagy to elicit cell death in PC-3 prostate cancer cells. *Int J Oncol* 2012; 40:1683-90.
37. Vinothkumar V, Manoharan S, Sindhu G i wsp. Geraniol modulates cell proliferation, apoptosis, inflammation, and angiogenesis during 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Mol Cell Biochem* 2012; 368:17-25.
38. Manachran S, Vasantha Selvan M. Chemoprotective potential of geraniol in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) induced skin carcinogenesis in swiss mice. *J Environ Biol* 2012; 33:256-60.
39. Cho M, So I, Chun J i wsp. The antitumor effects of geraniol: modulation of cancer hallmark pathways (Review). *Int J Oncol* 2016; 48(5):1772-82.
40. Ahmad ST, Arjumand W, Seth A i wsp. Preclinical renal cancer chemopreventive efficacy of geraniol by modulation of multiple molecular pathways. *Toxicol* 2011; 290:69-81.
41. Blumenthal M, Goldberg A, Brinkmann J. *Herbal Medicine Expanded Commission E Monographs*. Newton, Integrate Med Communications 2000; 123:230-2.
42. Bounihi A, Hajjaj G, Anamer R i wsp. *In vitro* potential anti-inflammatory activity of *Melissa officinalis* L. essential oil. *Adv Pharmacol Sci* 2013, Article ID 101759,1-7.
43. Chung MJ, Cho S-Y, Bhulayn MJH i wsp. Anti-diabetic effects on lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil on glucose and lipid-regulating enzymes in type 2 diabetic mice. *Brit J Nutr* 2010; 104(2):180-8.
44. Babukumar S, Vinothkumar V, Saykaranayanan C i wsp. Geraniol, a natural monoterpene, ameliorates hyperglycemia by attenuating the key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol* 2017; 55(1):1442-9.
45. Nagahsh N, Doudi M, Nikhakht Z. Investigation between alcoholic extract and essential oil *Melissa officinalis* L. New in growth inhibition of *E. coli*. *Zahedan J Res Med Sci* 2013; 15(8):42-5.
46. Admini LZ, Guechi LO, Loidoudi O i wsp. Comparative study: The antibacterial activity of *Melissa officinalis* in relation to other plants in the Region of Setif, Algeria. *Eur Sci J* 2015; 11(18):282-9.
47. Gelmini F, Testa C, Agioletti S i wsp. Essential oils in the environmental bacteria control: The *Legionella pneumophila* case. *J Compl Med Altern Healthcare* 2017; 2(1). doi: 10.19080/CMAH.2017.02.555577.
48. Khorhidi M. Antibacterial activity of the essential oil of *Melissa officinalis* L. against some important food-borne pathogenic and antibiotic resistant bacteria. *Ind J Fund Appl Life Sci* 2015; 5(53):1951-7.
49. Ertürk O. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extract from eleven spice plants. *Biologia, Bratislava* 2006; 61(3):275-8.
50. Abu-Shanab B, Adwan G, Jarrbar N. Antibacterial activity of four plant extracts used in Palestine in folkloric medicine against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Turk J Biol* 2006; 30:195-8.
51. 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.
52. Iauk L, Lo Bue AM, Milazzo I i wsp. Antibacterial activity of medicinal plant extract against periodontopathic bacteria. *Phytother Res* 2003; 17:599-604.
53. Di Pasqua R, De Feo V, Villani F i wsp. *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean *Apiaceae*, *Verbenaceae* and *Lamiaceae* against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Ann Microbiol* 2005; 55(2):139-43.
54. Larrondo JV, Agut M, Calvo-Torras MA. Antimicrobial activity of essence from *Labiates*. *Microbios* 1995; 82(332):171-2.
55. Canadanovic-Brunet J, Cetkovic G, Djilas S i wsp. Radical scavenging, antibacterial, and antiproliferative activities of *Melissa officinalis* L. extracts. *J Med Food* 2008; 11(1):133-43.
56. Stanojevic D, Comic LJ, Stefanovic O i wsp. *In vitro* synergistic antibacterial activity of *Melissa officinalis* L. and some preservatives. *Soanish J Agric Res* 2010; 8(1):109-15.
57. Czerwińska E, Szparaga A. Antibacterial and antifungal activity of plant extracts. *Ann Set Environ Prot* 2015; 17:209-29.
58. Kędzia B, Holderna-Kędzia E. Badania wpływu olejków eterycznych na bakterie, grzyby i dermatofity chorobotwórcze dla człowieka. *Post Fitoter* 2007; (2):71-7.
59. Lima ALA, Pere ALAL, Sousa JP i wsp. Antifungal activity of geraniol on *Candida albicans* isolates of Pediatric Clinic Importance. *Int J Pharmacol Phytochem Res* 2017; 9(4):581-6.
60. Leite MCA, De Brito Bezerra AP, de Sousa JP i wsp. Investigating the antifungal activity and mechanism(s) of geraniol against *Candida albicans* strains. *Med Mycol* 2015; 53:275-84.
61. Mazzanti G, Battinelli L, Pompeo C i wsp. Inhibitory activity of *Melissa officinalis* L. extracts on *Herpes simple virus* type 2 replication. *Nat Prod Res* 2008; 22(16):1433-40.
62. Schnitzler P, Schumacher A, Astani A i wsp. *Melissa officinalis* oil effects infectively of enveloped herpesviruses. *Phytomed* 2008; 15(9):734-40.
63. Barros LA, Yamanaka AR, Silva LE i wsp. *In vitro* larvicidal activity of geraniol and citronellal against *Contraecaecum* sp. (*Nematoda: Anisakidae*). *Braz J Med Res* 2009; 42(10):918-20.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów
None

otrzymano/received: 03.07.2019

zaakceptowano/accepted: 26.08.2019

Adres/address:

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