

*Anna Kędzia¹, Andrzej W. Kędzia²

Przeciwgrzybicza aktywność olejku melisowego (*Oleum Melissa*)

Antifungal activity of Melissa oil (*Oleum Melissa*)

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. UM

SUMMARY

Introduction. A lot of plant produced essential oils, which are applied in prophylaxis and therapy of medicine. Melissa was known and used in I century BC. It produced the oil, which possess following properties: antiarteriosclerotic, anticancer, sedative, antidepressive, antimigraine, antiasthmatic, antirheumatic and antioxidant. Its contain: geraniol, β -caryophyllene, geranial, thymol, neral, geranyl acetate, linalol, citronellol, citronellal and α -humulen. It exhibited antibacterial and antifungal activity.

Aim. The aim of this study was to indicate of susceptibility of yeastlike fungi to melissae essential oil.

Material and methods. The strains of fungi were isolated from oral cavity from patients with candidosis. A total 23 strains of yeastlike fungi from genus of *Candida albicans* (22 strains), *C. glabrata* (5), *C. guilliermondii* (2), *C. humicola* (2), *C. kefyr* (3), *C. krusei* (5), *C. lusitaniae* (2), *C. parapsilosis* (5), *C. tropicalis* (6), *C. utilis* (1) and 9 reference strains were tested. Investigated was carried out using plate dilution technique in Sabouraud's agar. The melissae oil (Semifarm) was dissolved in DMSO and then in aseptic distilled water. Inoculum contain 10^5 CFU per spot was transferred with Steers replicator upon the agar with and without essential oil (strains growth control). The concentrations of melissae oil were: 2.0, 1.0, 0.5, 0.25 and 0.12 mg/ml. Incubation was performed in aerobic conditions in temp. 37°C. Incubation of agar plates were performed in aerobic condition at temp. 37°C, at 24-48 hours. Minimum inhibitory concentration (MIC) was interpreted as the lowest concentrations of melissa oil which inhibited the growth of yeastlike fungi.

Results. The dates indicated that the strains of fungi was susceptible to oil in concentrations 0.25-2.0 mg/ml. The 19 (86%) of strains from genus *Candida albicans* was inhibited in concentrations 0.25-0.5 mg/ml. On the same values of MIC's were susceptible the strains of *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida humicola* (MIC 0.5 mg/ml). The fungi from genus of *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida lusitaniae* and *Candida tropicalis* were less sensitive. The growth of this yeastlike fungi was inhibited by concentrations of melissae oil in range 0.5-2.0 mg/ml. The oil was the lowest active towards genus *Candida lusitaniae* and *Candida utilis*. The MIC for these strains was from 1.0 to 2.0 mg/ml. From all tested genus *Candida* strains 11 (21%) of them was susceptible to melissa oil in range 2.0 mg/ml.

Conclusions. Melissa oil was the most active towards strains of *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida humicola*. The lowest sensitive to oil were the strains from genus *Candida lusitaniae* and *Candida utilis*. The melissa oil characterized a high activity towards all tested strains of yeastlike fungi from genus of *Candida*.

Keywords: oral cavity, yeastlike fungi, melissa oil, antifungal activity

STRESZCZENIE

Wstęp. Wiele roślin wytwarza olejki eteryczne, które są stosowane w profilaktyce i terapii chorób. Melisa była znana i używana już w I wieku p.n.e. Wytwarza olejek, który wykazuje właściwości: przeciwmiażdżycowe, przeciwnowotworowe, uspokajające, przeciwdepresyjne, przeciwmigrenowe, przeciwastmatyczne, przeciwreumatyczne i przeciwutleniające. Zawiera on: geraniol, β -kariofyllen, geranial, tymol, neral, octan geranylu, linalol, cytronelol, citronelal i α -humulen. Wykazuje aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą.

Cel pracy. Badania miały na celu oznaczenie wrażliwości grzybów drożdżopodobnych na olejek melisowy.

Materiał i metody. Szczepy grzybów zostały wyizolowane z jamy ustnej pacjentów ze stwierdzoną kandydozą. Ogółem badaniom poddano 53 szczepy grzybów drożdżopodobnych z gatunków: *Candida albicans* (22 szczepy), *C. glabrata* (5), *C. guilliermondii* (2), *C. humicola* (2), *C. kefyr* (3), *C. krusei* (5), *C. lusitaniae* (2), *C. parapsilosis* (5), *C. tropicalis* (6) i *C. utilis* (1) oraz 9 szczepów wzorcowych. Doświadczenia przeprowadzono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Sabourauda. Olejek melisowy (Semifarm) rozpuszczono najpierw w DMSO (Serva), a potem w jałowej wodzie destylowanej. Zawiesinę zawierającą 10^5 CFU na kroplę przenoszono aparatem Steersa na powierzchnię agaru z dodatkiem lub bez olejku (kontrola wzrostu szczepów). Użyte stężenia wynosiły: 2,0, 1,0, 0,5, 0,25 i 0,12 mg/ml. Inkubację posiewów prowadzono w warunkach tlenowych w temp. 37°C przez 24-48 godzin. Za najmniejsze stężenie (MIC) uznano takie, które hamowało wzrost testowanych szczepów grzybów drożdżopodobnych.

Wyniki. Wyniki wskazują, że szczepy grzybów były wrażliwe na olejek melisowy w zakresie stężeń 0,25-2,0 mg/ml. Spośród gatunku *Candida albicans* wzrost 19 (86%) szczepów był hamowany przez stężenia 0,25-0,5 mg/ml. Na te same wartości MIC wykazały wrażliwość szczepy *Candida glabrata* i *Candida humicola* (MIC 0,5 mg/ml). Grzyby z gatunków: *Candida kefir*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* i *C. tropicalis* okazały się mniej wrażliwe. Wzrost tych grzybów był hamowany przez stężenia olejku melisowego w zakresie 0,5-2,0 mg/ml. Najniższą skuteczność olejek wykazał wobec szczepów *Candida lusitaniae* i *Candida utilis*. Stężenia hamujące wzrost tych szczepów wynosiły od 1,0 do 2,0 mg/ml. Ze wszystkich ocenianych szczepów z rodzaju *Candida* tylko 11 (21%) było wrażliwych na olejek melisowy w stężeniu wynoszącym 2,0 mg/ml.

Wnioski. Olejek melisowy wykazał największą aktywność wobec szczepów *Candida albicans*, *C. glabrata* i *C. humicola*. Najmniej wrażliwe na olejek były szczepy z gatunków *Candida lusitaniae* i *Candida utilis*. Olejek melisowy charakteryzował się wysoką aktywnością wobec wszystkich testowanych szczepów grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida*.

Słowa kluczowe: jama ustna, grzyby drożdżopodobne, olejek melisowy, aktywność przeciwgrzybicza

Wstęp

Wiele roślin wytwarza olejki eteryczne, które wykazują właściwości lecznicze i znajdują zastosowanie w terapii. Melisa była znana i uprawiana już w I wieku p.n.e. Do Polski prawdopodobnie sprowadzili ją włoscy zakonnicy (1). Paracelsus (1493-1541) wytwarzał różne płyny zawierające ekstrakty z melisy, które nazywał eliksirami życia. Natomiast angielski pisarz John Evelyn (1620-1706) opisał tę roślinę, zwracając uwagę na jej korzystne oddziaływanie na pamięć, zapobieganie melancholii (2). Avicenna (980-1017) polecał melisę w chorobach serca (3, 4).

Melisa w stanie naturalnym występuje w Azji Centralnej, Iranie, Ameryce Północnej oraz Europie, w regionie Morza Śródziemnego (1, 5). Obecnie melisa w postaci ziela, ekstraktów i olejku stosowana jest w medycynie oraz wykorzystywana w kosmetyce, przemyśle perfumeryjnym, a także jako dodatek do żywności. Doświadczalnie wykazano, że olejek ma właściwości przeciwmiażdżycowe, przeciwskurczowe, przeciwutleniające, przeciwbólowe i przeciwnowotworowe (6-16). Jest też używany w leczeniu nadczynności tarczycy (17, 18). Ponadto wykazuje działanie uspokajające, przeciwdepresyjne, przeciwestmatyczne, przeciwreumatyczne i przeciwutleniające (1, 3, 14, 16, 19-21). Stosowany jest jako łagodny środek przeciwmigrenowy (22, 23). W wielu doświadczeniach potwierdzono jego korzystne właściwości przeciwutleniające (19, 24-35).

Wymienione wyżej działanie lecznicze melisa zawdzięcza obecności szeregu związków chemicznych. W składzie wytwarzanego olejku eterycznego występują m.in.: geraniol, β -kariofyllen, geranial, tymol, neral, octan geranylu, linalol, cytronelol, citronelal i α -humulen (3, 6, 14, 19, 36-45). Olejek melisowy oraz niektóre jego składniki wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową (1, 3, 33, 37, 46-58). Publikacje najczęściej dotyczą wrażliwości bakterii na ten olejek. Brakuje danych na temat jego aktywności wobec grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej.

Cel pracy

Badania miały na celu ocenę działania olejku melisowego na różne gatunki grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej pacjentów chorych na kandydozę.

Materiał i metody badań

Badaniom poddano 53 szczepy grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej pacjentów, u których stwierdzono kandydozę. Szczepy należały do następujących gatunków: *Candida albicans* (22 szczepy), *C. glabrata* (5), *C. guilliermondii* (2), *C. humicola* (2), *C. kefir* (3), *C. krusei* (5), *C. lusitaniae* (2), *C. parapsilosis* (5), *C. tropicalis* (6) i *C. utilis* (1). Do badań włączono także 9 szczepów wzorcowych, w tym z gatunków: *C. albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 66032, *C. guilliermondii* ATCC 6260, *C. kefir* ATCC 4130, *C. krusei* ATCC 14249, *C. lusitaniae* ATCC 34499, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750 i *C. utilis* ATCC 9958. Wrażliwość wymienionych szczepów na olejek oznaczano metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Sabourauda. Olejek melisowy (Semifarm) rozpuszczono w DMSO (Serva), a następnie w jałowej wodzie destylowanej. Sporządzano następujące rozcieńczenia: 2,0, 1,0, 0,5, 0,25 i 0,12 mg/ml. Użyta zawiesina, zawierająca 10^5 CFU/kroplę, była przenoszona aparatem Steersa na powierzchnię agaru Sabourauda z dodatkiem olejku melisowego lub bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Podłoża z posiewami hodowano przez 24-48 godzin, w temperaturze 37°C w warunkach tlenowych. Za MIC uznano takie najmniejsze stężenie olejku melisowego, które całkowicie powodowało zahamowanie wzrostu badanych szczepów grzybów drożdżopodobnych.

Wyniki i dyskusja

Uzyskane wyniki aktywności olejku melisowego wobec grzybów drożdżopodobnych zostały zamieszczone w tabeli 1, a szczepów wzorcowych w tabeli 2. Olejek

Tab. 1. Aktywność olejku melisowego wobec szczepów grzybów drożdżopodobnych

Grzyby drożdżopodobne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		2,0	1,0	0,5	0,25	0,12
<i>Candida albicans</i>	22	3		17	2	
<i>Candida glabrata</i>	5			3	2	
<i>Candida guilliermondii</i>	2	1			1	
<i>Candida humicola</i>	2			2		
<i>Candida kefyry</i>	3	1	1	1		
<i>Candida krusei</i>	5	1	3	1		
<i>Candida lusitanae</i>	2	1	1			
<i>Candida parapsilosis</i>	5	1	2	2		
<i>Candida tropicalis</i>	6	2	3	1		
<i>Candida utilis</i>	1	1				
Ogółem	53	11	10	27	5	

Tab. 2. Aktywność olejku melisowego wobec szczepów grzybów drożdżopodobnych

Grzyby drożdżopodobne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		2,0	1,0	0,5	0,25	0,12
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	1			1		
<i>Candida glabrata</i> ATCC 66032	1			1		
<i>Candida guilliermondii</i> ATCC 6260	1			1		
<i>Candida kefyry</i> ATCC 4130	1		1			
<i>Candida krusei</i> ATCC 14243	1		1			
<i>Candida lusitanae</i> ATCC 34499	1		1			
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	1			1		
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	1		1			
<i>Candida utilis</i> ATCC 9958	1		1			

hamował wzrost wszystkich badanych szczepów w zakresie 0,25-2,0 mg/ml. Z najliczniej reprezentowanego gatunku grzybów, a mianowicie *Candida albicans*, aż 19 (86%) szczepów było wrażliwych na stężenia 0,25-0,5 mg/ml. Te same stężenia hamowały wzrost szczepów z gatunku *Candida glabrata*, a stężenia 0,5 mg/ml szczepów z gatunku *Candida humicola*.

Niższą aktywność wykazał olejek melisowy wobec szczepów z gatunków: *Candida kefyry*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida parapsilosis* oraz *Candida tropicalis*, charakteryzujących się wysoką opornością na mykostatyki. Wymienione gatunki były wrażliwe na stężenia olejku wynoszące 0,5- 2,0 mg/ml. Najniższą wrażliwość wykazały gatunki: *Candida lusitanae* oraz

Candida utilis. Ich wzrost był hamowany w zakresie stężeń wynoszących 1,0-2,0 mg/ml. Badania wykazały, że na niskie stężenia olejku w zakresie 0,25-0,5 mg/ml wrażliwość wykazało 69% testowanych szczepów, a na kolejne stężenie wynoszące 1,0 mg/ml było wrażliwych 19% grzybów drożdżopodobnych. Natomiast pozostałe szczepy wymagały do zahamowania wzrostu użycia stężeń w wysokości 2,0 mg/ml.

W licznych badaniach potwierdzono skuteczność działania olejku melisowego wobec grzybów drożdżopodobnych oraz grzybów pleśniowych (37, 48, 50, 53-56). Donaldson i wsp. (50) wykorzystując metodę rozcieńczeniową, uzyskali zahamowanie wzrostu szczepów *Candida albicans* w stężeniach 0,31-0,42 µg/ml. Natomiast szczep *Candida albicans* testowany przez Abdellatifa i wsp. (37) był wrażliwy na stężenie olejku równe 3 µg/ml. W badaniach kolejnych

autorów (48) olejek melisowy wykazał aktywność wobec szczepów grzybów drożdżopodobnych, w tym z gatunku *C. albicans* w stężeniach wynoszących 15-30 µl/ml. Szczepy grzybów ocenianych w naszych badaniach okazały się mniej wrażliwe. Do zahamowania wzrostu wymagały użycia olejku melisowego w stężeniach w zakresie 0,5-2,0 mg/ml.

Wnioski

1. Największą aktywność olejek melisowy wykazał wobec szczepów *Candida albicans*, *Candida glabrata* i *Candida humicola*.
2. Najmniej wrażliwe na olejek melisowy okazały się szczepy *Candida lusitanae* i *Candida utilis*.
3. Olejek melisowy charakteryzował się wysoką aktywnością wobec testowanych szczepów grzybów drożdżopodobnych.

Piśmiennictwo

1. Nurzyńska-Wierdak R. Melisa lekarska (*Melissa officinalis* L.) – skład chemiczny i aktywność biologiczna. *Ann Horticult* 2013; 23(1):25-35.
2. Joukar S, Zarisfi Z, Sepehri G i wsp. Efficacy of *Melissa officinalis* is suppressing ventricular arrhythmias following ischemia – reperfusion of the heart: A comparison with amiodarone. *Med Princ Pract* 2014; 23:340-5.
3. Bahtiyarca Bağdat R, Coşge B. The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its compounds and using fields. *J Fac Agric OMU* 2006; 21(1):116-21.
4. Anonymous 2003. Microsoft Encarta Encyclopedia 1993-2003. Microsoft Corporation.
5. Astmgil A. Sifah Bitkiler. Tima Yaymalari, Istanbul 2001; 352.
6. Moradkhanani 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. Bolkent S, Yanardag R, Karambmkif-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.
8. Carvalho de Sousa A, Garrass CR, Alviano DS i wsp. *Melissa officinalis* L. essential oils: antitumor and antioxidant activities. *J Pharm Pharmacol* 2004; 56(5):677-81.
9. 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* (Coli Mil) in the treatment of breast colicky infants. *Phytother Res* 2005; 19(4):335-40.
10. Veira A, Heidor R, Carolozo M i wsp. Efficacy of geraniol but not of β-ionone of their combination for the chemoprevention of rat cancer carcinogenesis. *Braz J Med Biol Res* 2011; 44(6):538-45.
11. Shoft SM, Grummer M, Yatrin MB i wsp. Concentration-dependent increase of murine p338 and b16 population doubling time by the acyclic monoterpene geraniol. *Cancer Res* 1991; 51:37-42.
12. Ahmad ST, Arjumad W, Seth A i wsp. Premedical renal cancer chemopreventive efficacy of geraniol by modulation of multiple molecular pathways. *Toxicol* 2011; 290:69-81.
13. Bounihi A, Hajjajaj G, Anamer R i wsp. *In vitro* potential anti-inflammatory activity of *Melissa officinalis* L. essential oil. *Adv Pharmacol Sci* 2013. Art. ID 102759:1-7.
14. Chizzola R, Lohwasser V, Franz C. Biodiversity within *Melissa officinalis* L.: Variability of bioactive compounds in a cultivated collection. *Molecules* 2008; 23:294-306.
15. Moradi MT, Karimi A, Alidadi S i wsp. *In vitro* anti-adenovirus activity, antioxidant potential and total phenolic compounds of *Melissa officinalis* L. (lemon balm) extract. *Int J Pharmacogn Phytochem Res* 2016; 8:1471-7.
16. Corocho M, Barros L, Calhella RC i wsp. *Melissa officinalis* L. decoctions as functional beverages. A bioactive approach and chemical characterization. *Food Funct* 2015; 6:2240-8.
17. Aufmolk M, Amir SM, Winterhoff H i wsp. Incubation by contain plants extracts of the blinding and adenylate cyclase stimulatory effect of bovine thyrotropin in human thyroid membranes. *Endocrinol* 1984; 115:527-34.
18. 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. *Immunoglobul Endocrinol* 1985; 116(5):1687-94.
19. Miraj S, Azizi N, Kiani S. A review of chemical compounds and pharmacological effects of *Melissa officinalis* L. *Pharm Lett* 2016; 8(6):229-37.
20. Emamghoreishi M, Telebianpour MS. Antidepressant effect of *Melissa officinalis* in the forced swimming test. *DARU* 2009; 17(1):42-7.
21. Beloued A. *Plantes medicinales d'Algérie* (p134) Alger: Office des Publications Universitaires 2009.
22. Valnet J. *Aromatherapy*. Maloine, Paris 1990; 242-6.
23. Blumenthal M, Goldberg A, Brickman J. *Herbal Medicine Expanded Commission E. Monographs*. Newton MA. *Integrate Med Commun* 2000; 123:230-2.
24. De Sousa AC, Alviano DS, Blank AF i wsp. *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumor and antioxidant activities. *Pharm Pharmacol* 2004; 56:677-81.
25. Meftahizade H, Sargsyan E, Moradkhanani H. Investigation of antioxidant capacity of *Melissa officinalis* L. essential oils. *J Med Plant Res* 2010; 4(14):1391-5.

26. Koksal E, Bursal E, Dikici E i wsp. Antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves. *J Med Plant Res* 2011; 5(2):217-22.
27. Dias MJ, Baros L, Sousa MJ i wsp. Systematic comparison of nutraceuticals and antioxidant potential of cultured *in vitro* and *Melissa officinalis* samples. *Food Chem* 2012; 50:1866-73.
28. Husain AL, Auwar F, Iqbal T i wsp. Antioxidant attributes of four *Lamiaceae* essential oils. *Pak J Bot* 2011; 43(2):1315-21.
29. Ribeiro M, Bernardo-Gil M, Esquerrel M i wsp. *Melissa officinalis* L.: Study of antioxidant activity in supercritical residues. *J Supercrit* 2001; 211:51-60.
30. Kamdem JP, Adeniran A, Boligon AA i wsp. Antioxidant activity genotoxicity and cytotoxicity evaluation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) ethanolic extract. Its potential role in neuroprotection. *Ind Crops Prod* 2013; 51:26-34.
31. Peteira RP, Fachinetto R, de Souza Prestes A i wsp. Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citrates*. *Neurochem Res* 2009; 34:973-83.
32. Dastmalchi K, Dorman HD, Oinonen PP i wsp. Chemical composition and *in vitro* antioxidant activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *Food Sci Technol* 2008; 413:391-400.
33. Mabbrouki H, Duarte CMM, Akretche DE. Estimation of total phenolic contents *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts of *Melissa officinalis* L. *Arabian J Sci Eng* 2018; 43:3349-57.
34. Popova A, Dalemska Z, Mihaylova D i wsp. *Melissa officinalis* L. – GC profile and antioxidant activity. *Int J Pharmacogn Phytochem Res* 2016; 8(4):634-8.
35. Sentkowska A, Biesaga M, Pyrzyńska K. Polyphenolic composition and antioxidative properties of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract affected by different brewing processes. *Int J Food Prop* 2014; 18:2009-14.
36. Teherpour AA, Maroofi H, Rafie Z i wsp. Chemical composition analysis of the essential oil of *Melissa officinalis* L. from Kurdistan, Iran by HS/SPME method and calculation of the biophysicochemical coefficients of the components. *Nat Prod Res* 2012; 26(2):152-60.
37. 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.
38. Patora J, Majda T, Góra J i wsp. Variability in the content and composition of essential oil from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) cultured in Poland. *Acta Polon Pharm Drug Res* 2013; 60(5):395-400.
39. 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.
40. 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.
41. Hanecianu M, Aprotosoae AC, Gille E i wsp. Chemical composition and *in vitro* *Melissa officinalis* L. from Romania. *Rev Med-Chirurg* 2008; 112(3):843-7.
42. Yoo G, Lee ILK, Park S i wsp. Optimization of extraction conditions for phenolic acids from the leaves of *Melissa officinalis* L. using response surface methodology. *Pharmacogn Mag* 2018; 14(54):155-61.
43. Mrlíanová M, Tekel'ova D, Felklová M i wsp. The influence of the harvest cut height on the quality of the herbal drugs *Melissae folium* and *Melissae herba*. *Planta Med* 2002; 68(2):178-80.
44. Mokhtarzadeh S, Demitrici B, Goger G i wsp. Characterization of volatile compounds in *Melissa officinalis* L. under *in vitro* conditions. *J Ess Oil Res* 2017; 29(4):299-303.
45. Hollá M, Svajdlénka E, Tekel J i wsp. Composition of the essential oil from *Melissa officinalis* L. cultivated in Slovak Republic. *J Ess Oil Res* 1977; 9(4):481-4.
46. Rostami R, Kazemi M. Antibacterial activity of *Lavandula officinalis* and *Melissa officinalis* against some human pathogenic bacteria. *Asian J Biochem* 2012; 7(3):133-42.
47. Klúga A, Teyentjeva M, Kántor A i wsp. Antibacterial activity of *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita*, *Origanum vulgare* L. and *Malva mauritiana* against bacterial microflora isolated from fish. *Adv Res Life Sci* 2017; 1(1):75-80.
48. 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.
49. Bosnić T, Softić D, Grujić-Vasić J. Antimicrobial activity of some essential oils and major constituents of essential oils. *Acta Med Acad* 2006; 35:19-22.
50. Donaldson JR, Warner SL, Cates RG i wsp. Assessment of antimicrobial activity of four essential oils when using dilution and diffusion methods. *Pharm Biol* 2005; 43(8):687-95.
51. Gutierrez J, Barry-Rayan C, Bourke P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int J Food Microbiol* 2008; 124:91-7.
52. Škrinjar MM, Nemet NT. Antimicrobial effects of species and herbs essential oils. *APTEFF* 2009; 40(1):195-209.
53. Czerwińska E, Szparaga A. Antibacterial and antifungal activity of plant extracts. *Ann Set Environ Prot* 2015; 17:209-29.
54. Lee SO, Choi GJ, Jang KS i wsp. Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soilborne plant pathogenic fungi. *Plant Pathol J* 2007; 23(2):97-102.
55. Budzyńska A, Sadowska B, Lipowczan G i wsp. Activity of selected essential oil against *Candida* spp. strains, evaluation of new aspects of their specific pharmacological properties with special reference to *Lemon balm*. *Adv Microbiol* 2013; 3:317-25.
56. Lee JH, Lee JS. Chemicals composition and antifungal activity of plant essential oils against *Malassezia furfur*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 2010; 38(3):315-21.
57. Naghsh N, Doudi M, Nikbakht Z. Investigation between alcoholic extract and essential oil of *Melissa officinalis* L. new in growth inhibition of *E. coli*. *Zahedan J Res Med Sci* 2013; 15(8):42-5.
58. Canadanović-Burnet J, Cetković G, Djilas S i wsp. Radical scavenging, antibacterial, and antiproliferative activities of *Melissa officinalis* L. extracts. *J Med Food* 2008; 11(1):133-43.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 03.12.2019

zaakceptowano/accepted: 20.01.2020

Adres/address:

*prof. dr hab. n. med. Anna Kędzia

ul. Małachowskiego 5/5

80-262 Gdańsk-Wrzeszcz

e-mail: anak@gumed.edu.pl