

*Anna Kędzia¹, Andrzej W. Kędzia²

Skuteczność działania olejku lawendowego (*Oleum Lavandulae*) wobec grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida*

Effectiveness of lavender oil (*Oleum Lavandulae*) against yeastlike fungi from *Candida* species

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.

SUMMARY

Introduction. A number of plants produced of essentials oils, which can utilize in medicine. *Oleum Lavandulae* (Lavender oil) demonstrated antimicrobial effect connected with presence of components such as linalool, linalyl acetate, lavandulol, ocimene, terpinen-4-ol, cyneol, lavandulol acetate, α - i β -pinene, camphen and camphor. Several studies have demonstrated antifungal activity towards filamentous fungi, dermatophytes and some genus of yeastlike fungi.

Aim. The aim of the study was determined activity of lavandulae oil towards yeastlike fungi, from *Candida* species.

Material and methods. A total 44 strains of yeastlike fungi isolated from oral cavity from patients with candidosis and 9 reference strains were tested. The susceptibility of *Candida* strains was determined by means plate dilution technique in Sabouraud's agar. The inoculums contained 10^5 CFU per spot were seeded with Steers replicator upon the agar plate containing lavender oil and without lavender oil (the strains growth control). Incubation the agar plates was performed in aerobic conditions at 37°C for 24-48 hrs. The MIC was defined as the lowest concentrations of oil that completely inhibited growth of tested yeastlike fungi.

Results. The results showed, that all tested fungi were susceptible in concentrations 1.0- \geq 2.0 mg/ml. The most susceptible to lavender oil were strains from the genus *Candida guilliermondii*, *C. lusitaniae* and *C. utilis*. The growth of this fungi was inhibited by concentrations = 1.0 mg/ml. The 8 (38%) strains belonging to the genus of *C. albicans* were sensitive on 1.0 mg/ml. The growth of remaining strains was inhibited by concentrations \geq 2.0 mg/ml. The strain of *C. humicola* was the lowest sensitive (MIC > 2.0 mg/ml). The tested lavender oil characterized a high activity toward date yeastlike fungi. The growth 50% of the strains was inhibited by concentrations of 1.0 mg/ml and others 48% by 2.0 mg/ml.

Conclusions. Lavender oil showed high activity against tested strains of yeastlike fungi. The strains from genus *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* and *C. utilis* were the most susceptible. The oil was the lowest active to the strain from genus *C. humicola*.

Keywords: essential oil, yeastlike fungi, lavender, activity

STRESZCZENIE

Wstęp. Szereg roślin wytwarza olejki eteryczne, które można wykorzystać w medycynie. Olejek lawendowy (*Oleum Lavandulae*) działa przeciwdrobnoustrojowo dzięki obecności składników, takich jak: linalol, octan linalolu, lawandulol, ocymen, terpinen-4-ol, cyneol, octan lawandulolu, α - i β -pinen, kamfen i kamfora. Szereg badań wykazało przeciwwgrzybiczną aktywność tego olejku wobec grzybów pleśniowych, dermatofitów i niektórych gatunków grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida*.

Cel pracy. Celem doświadczeń było oznaczenie aktywności olejku lawendowego wobec grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida*.

Materiał i metody. Ogółem zbadano 44 szczepy grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych od pacjentów z kandydozą jamy ustnej oraz 9 szczepów wzorcowych. Wrażliwość szczepów *Candida* została oznaczona metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Sabourauda. Inokulum zawierające 10^5 CFU na kroplę przenoszono aparatem Steersa na powierzchnię agaru z dodatkiem olejku lawendowego i bez (kontrola wzrostu szczepów). Inkubację posianych płytek prowadzono w warunkach tlenowych, w temperaturze 37°C przez 24-48 godzin. Za MIC przyjęto takie najmniejsze stężenie olejku lawendowego, które całkowicie hamowało wzrost szczepów grzybów drożdżopodobnych.

Wyniki. Wyniki wskazują, że wszystkie badane grzyby drożdżopodobne były wrażliwe w zakresie stężeń 1,0- \geq 2,0 mg/ml. Największą wrażliwość na olejek lawendowy wykazały szczepy z gatunków *Candida guilliermondii*, *C. lusitaniae* i *C. utilis*. Wzrost tych szczepów był hamowany przez olejek w stężeniu 1,0 mg/ml. Z gatunku *C. albicans* 8 (38%) szczepów było wrażliwych na stężenie 1,0 mg/ml.

Wzrost pozostałych grzybów był hamowany przez stężenie $\geq 2,0$ mg/ml. Szczep *C. humicola* okazał się najmniej wrażliwy (MIC $> 2,0$ mg/ml). Badany olejek lawendowy charakteryzował się wysoką aktywnością wobec badanych grzybów drożdżopodobnych. Wzrost 50% tych szczepów był hamowany w stężeniu = 1,0 mg/ml, a pozostałych 48% w 2,0 mg/ml. **Wnioski.** Olejek lawendowy wykazał wysoką aktywność wobec badanych szczepów grzybów drożdżopodobnych. Największą wrażliwością charakteryzowały się szczepy z gatunków *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* i *C. utilis*. Najniższą aktywność olejek wykazał wobec szczepu z gatunku *C. humicola*.

Słowa kluczowe: olejek eteryczny, grzyby drożdżopodobne, lawenda, aktywność

Wstęp

Szereg roślin wytwarza olejki eteryczne, które mają właściwości lecznicze i przeciwdrobnoustrojowe. Swoim działaniem obejmują one różne drobnoustroje, w tym także grzyby drożdżopodobne z rodzaju *Candida* występujące w jamie ustnej człowieka, które uważane są za drobnoustroje oportunistyczne. Badania wykazały, że na błonie śluzowej jamy ustnej dominuje gatunek *Candida albicans*, natomiast rzadko są obecne inne gatunki, tj. *Candida guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* i *C. utilis*.

Chorobotwórczość grzybów jest związana z wytwarzaniem szeregu enzymów, w tym fosfolipazy, lipazy i proteinaz asparaginowych oraz zdolności do tworzenia biofilmu. Obecność warstwy biofilmu przyczynia się do oporności szczepów na antymikotyki. Potwierdziły to badania przeprowadzone przez Chandra i wsp. (1) oraz Ramage i wsp. (2), którzy wykazali zmniejszenie wrażliwości szczepów *Candida* na flukonazol, rzędu 25-400 razy. Natomiast aktywność przeciwbakteryjną olejku lawendowego opisali Okazaki i Oshima (3), Ohno i wsp. (4), Sienkiewicz i wsp. (5), Cavanagh i Wilkinson (6), Roller i wsp. (7) i inni (8-24). Działanie przeciwdrobnoustrojowe wiąże się ze składnikami olejku, który zawiera m.in.: linalol, octan linalolu, lawandulol, ocymen, terpinen-4-ol, cyneol, octan lawandulolu, α - i β -pinen, kamfen i kamforę (20, 23, 25-32). Olejek lawendowy jest stosowany w leczeniu, w tym w zaburzeniach trawienia, migrenie, reumatyzmie, chorobach skóry, nieżytach dróg oddechowych i jako środek uspokajający (19, 34, 35). Ponadto pobudza wydzielanie żółci, działa przeciwbólowo i rozkurczowo (19, 32, 33).

Ze względu na narastanie oporności grzybów drożdżopodobnych na antymikotyki stale poszukuje się nowych środków o dużej skuteczności wobec tych grzybów. Wykazano aktywność olejku lawendowego wobec różnych grzybów, w tym także pleśniowych i dermatofitów (32, 37-46). Natomiast niewiele wiadomo na temat wrażliwości na olejek lawendowy różnych gatunków grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida*.

Cel pracy

Badania miały na celu oznaczenie aktywności olejku lawendowego wobec grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida*.

Materiał i metody

Grzyby drożdżopodobne zostały wyizolowane od pacjentów z kandydozą jamy ustnej. Wymazy posiewano na podłoże Sabourauda, które inkubowano w temperaturze 37°C przez 24-48 godzin w warunkach tlenowych. Identyfikację szczepów przeprowadzono, biorąc pod uwagę morfologię komórek zabarwionych metodą Grama, wygląd kolonii, wzrost szczepu na podłożu CHROMagar *Candida* (Becton Dickinson), cechy biochemiczne (20 AUX bioMérieux), zdolność szczepu do wytwarzania chlamidosporów oraz test filamentacji.

Badaniom poddano 44 szczepy z następujących gatunków: *Candida albicans* (21 szczepów), *C. glabrata* (4), *C. guilliermondii* (1), *C. humicola* (1), *C. kefyry* (2), *C. krusei* (4), *C. lusitaniae* (1), *C. parapsilosis* (4), *C. tropicalis* (5), *C. utilis* (1) oraz 9 szczepów grzybów wzorcowych, w tym *C. albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 66032, *C. guilliermondii* ATCC 6260, *C. kefyry* ATCC 4130, *C. krusei* ATCC 14249, *C. lusitaniae* ATCC 34499, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750 i *C. utilis* ATCC 9958. Do oznaczenia wrażliwości szczepów na olejek lawendowy (Semifarm) wykorzystano metodę seryjnych rozcieńczeń w agarze Sabourauda. Uwzględniono następujące stężenia olejku: 2,0, 1,0, 0,5, 0,25, 0,12 i 0,06 mg/ml. Zawiesinę, która zawierała 10^5 drobnoustrojów na kroplę, наносono aparatem Steersa na powierzchnię agaru z dodatkiem olejku lub bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Płytki inkubowano w temperaturze 37°C przez 24-48 godzin w warunkach tlenowych. Za MIC przyjęto takie najmniejsze stężenie olejku lawendowego, które całkowicie hamowało wzrost grzybów drożdżopodobnych.

Wyniki i dyskusja

W tabeli 1 zebrano wyniki badania wrażliwości na olejek lawendowy szczepów grzybów

Tab. 1. Wrażliwość badanych szczepów grzybów drożdżopodobnych na olejek lawendowy

Grzyby drożdżopodobne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		≥ 2,0	1,0	0,5	0,25	0,12
<i>Candida albicans</i>	21	13	8			
<i>Candida glabrata</i>	4	2	2			
<i>Candida guilliermondii</i>	1		1			
<i>Candida humicola</i>	1	1				
<i>Candida kefyr</i>	2	1	1			
<i>Candida krusei</i>	4	2	2			
<i>Candida lusitaniae</i>	1		1			
<i>Candida parapsilosis</i>	4	2	2			
<i>Candida tropicalis</i>	5	1	4			
<i>Candida utilis</i>	1		1			
Ogółem	44	22	22			

Tab. 2. Wrażliwość badanych szczepów wzorcowych grzybów drożdżopodobnych na olejek lawendowy

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 kefyr</i> ATCC 4130	1	1				
<i>Candida krusei</i> ATCC 14249	1	1				
<i>Candida lusitaniae</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				

drożdżopodobnych wyizolowanych od pacjentów, a w tabeli 2 szczepów wzorcowych.

Wszystkie oceniane grzyby były wrażliwe na stężenia wynoszące 1,0-≥ 2,0 mg/ml. Spośród badanych szczepów największą wrażliwość wykazały szczepy z gatunków *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* i *C. utilis*.

Ich wzrost był hamowany przez stężenia olejku wynoszące 1,0 mg/ml. Spośród najliczniej reprezentowanych szczepów *C. albicans* 8 (38%) okazało się wrażliwych na 1,0 mg olejku w 1 ml. Pozostałe szczepy wymagały użycia wyższych stężeń (MIC ≥ 2,0 mg/ml). Połowa ocenianych szczepów z gatunków *C. glabrata*,

C. kefir, *C. krusei* i *C. parapsilosis* była wrażliwa na stężenie wynoszące 1,0 mg/ml. W obrębie gatunku *C. tropicalis* 4 szczepy (80%) wymagały do zahamowania wzrostu stężenia olejku w wysokości 1,0 mg/ml. De Rapper i wsp. (13) uzyskali zbliżone do naszych wyniki wrażliwości badanych grzybów drożdżopodobnych. Wartość MIC dla szczepu *C. tropicalis* ATCC 1380 wynosiła 0,75 mg/ml, a dla *C. albicans* ATCC 10231 – 3,0 mg/ml. W innych doświadczeniach, przeprowadzonych przez Serra i wsp. (41), szczep *C. albicans* NCYC 1363 był wrażliwy na 5 mg/ml, a *C. albicans* 135BM2/94 na 3 mg/ml olejku lawendowego. Najmniej wrażliwy okazał się szczep *C. humicola*. Jego wzrost nie był hamowany w zakresie badanych stężeń (MIC = 2,0 mg/ml).

Oceniany przez nas olejek lawendowy charakteryzował się wysoką aktywnością przeciwgrzybiczną. Wzrost 50% testowanych grzybów był hamowany przez stężenie = 1 mg/ml, a kolejnych 48% szczepów przez 2,0 mg/ml olejku.

Wnioski

1. Olejek lawendowy odznaczał się wysoką aktywnością wobec badanych grzybów drożdżopodobnych.
2. Największą wrażliwością charakteryzowały się szczepy z gatunków *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* i *C. utilis*.
3. Najniższą aktywność olejek wykazał wobec szczepu z gatunku *C. humicola*.

Piśmiennictwo

1. Chandra J, Kuhu DM, Mukherjee PK i wsp. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development architecture, and drug resistance. *J Bacteriol* 2001; 183(5):385-94.
2. Ramage G, Vande Walle K, Wickes BL i wsp. Standardized method for *in vitro* antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:2475-9.
3. Okazaki K, Oshima S. Antibacterial activity of higher plants (XXIV). Antimicrobial effect of essential oils (5). *J Pharm Soc Japan* 1953; 73:344-7.
4. Ohno T, Kita M, Yamaoka Y i wsp. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2003; 6(3):207-15.
5. Sienkiewicz M, Łysakowska M, Cieciewicz J i wsp. Antibacterial activity of thyme and lavender essential oils. *Med Chem* 2011; 7(6):674-89.
6. Cavanagh HMA, Wilkinson JM. Lavender essential oil: review. *Austral Infect Control* 2005; 10(1):35-7.
7. Roller S, Ernest N, Buckle J. The antimicrobial activity of high-necrodane and other lavender oils on methicillin-sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* (MSSA and MRSA). *J Altern Complement Med* 2009; 15(3):275-9.
8. Fabio A, Cermellic 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.
9. Moon T, Wilkinson JM, Cavanagh HMA. Antibacterial activity of essential oils, hydrosols and plant extracts from Australian grown *Lavandula* spp. *Int J Aromather* 2006; 16:9-14.
10. Soković M, Gamočlija J, Marin PD i wsp. Antibacterial effect of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in vitro* model. *Molecules* 2010; 15:7532-46.
11. Ouedrhiri W, Mouyr B, Harki ELH. Synergistic antimicrobial activity of two binary combinations of majoram, lavender, and wild thyme essential oils. *Int J Food Propert* 2017; 20(12):3149-58.
12. 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* 2003; 47:565-73.
13. de Rapper S, Kamatou G, Viljoen A i wsp. The *in vitro* antimicrobial activity of *Lavandula angustifolia* essential oil in combination with other aroma therapeutic oils. *Exp Based Compl Altern Med* 2013; 852049.
14. Bosnić T, Softić D, Grujić-Vasić J. Antimicrobial activity of some essential oils and major constituents of essential oils. *Acta Medica Acad* 2006; 35:19-22.
15. Janssen AM, Chin NLJ, Schffer JJC i wsp. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. *Pharm Weekbl Sci Ed* 1986; 8:289-92.
16. Maruzzella JC, Sicurella NA. Antibacterial activity of essential oil vapors. *J Am Pharm Assoc* 1960; 49:692-4.
17. Di Pasqua R, De Reo V, Villiani 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):139-42.
18. Rota C, Carramiñana JJ, Burillo J. *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected pathogens. *J Food Prot* 2004; 57(6):1252-6.
19. Kędzia B. Olejki eteryczne i preparaty olejkowe w leczeniu chorób wewnętrznych. *Wiad Ziel* 2000; 1:1-8.
20. Nikšić H, Kovač-Bešović E, Makarević E i wsp. Antiproliferative, antimicrobial, and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil. *J Health Sci* 2017; 7(1):35-43.
21. Fathima F, Priya V, Geetha RV. Evaluation of antimicrobial activity of lavender oil against selected bacterial pathogens: an *in vitro* study. *J Chem Pharm Res* 2015; 7(12):624-6.
22. Alexa E, Dancin C, Radulov I i wsp. Phytochemical screening and biological activity of *Mentha piperita* L. and *Lavandula angustifolia* Mill. extracts. *Anal Cell Pathol (Amst)* 2018; 2018: 2678924.
23. Puchalska H, Janeczko Z. Content and composition of the volatile oil obtained from lavender (*Lavandula angustifolia* L.) flowers cultivated in Gołcza region in Małopolska province. *Herba Pol* 2003; 49(1-2):11-6.
24. Adimi LZ, Guechi A, Laidoudi O i wsp. Comparative study: The antibacterial activity of Melissa in relationships to other plants in the region of Setif Algeria. *Europ Sci J* 2015; 11(18):282-9.
25. Adarzyńska-Skwirzyńska M, Swarczewicz M, Dobrowolska A. The potential of use lavender from vegetable waste as effective antibacterial and sedative agents. *Med Chem* 2014; 4:734-7.

26. Rostami H, Kazemi M, Shafiei S. Antibacterial activity of *Lavandula officinalis* and *Melissa officinalis* against human pathogenic bacteria. *Asian J Biochem* 2012; 7:10.
27. Caputo L, Fatima-Souza L, Alloisio S i wsp. *Coriandrum sativum* and *Lavandula angustifolia* essential oils: chemical composition and activity on central nervous system. *Int J Molecular Sci* 2016; 17:1-12.
28. Prusinowska R, Śmigielski KB. Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.). A review. *Herba Pol* 2014; 60(2):56-66.
29. Hui L, He L, Huan L i wsp. Chemical composition of lavender essential oils and its antioxidant activity. *Afric J Microbiol Res* 2010; 4(4):309-13.
30. Hassanpourayhdan MB, Hassani A, Vojodi L i wsp. Essential oil constituents of *Lavandula officinalis* Chaix. from Northwest Iran. *Chemia* 2011; 22(3):167-71.
31. Tullio V, Nostro A, Mandras N i wsp. Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods. *J Apl Microbiol* 2007; 102:1544-50.
32. Cavanagh HM, Wilkinson JM. Biological activities of lavender essential oils. *Phytother Res* 2002; 16:301-8.
33. Hawrelak JA, Gattley T, Meyers SP. Essential oils in the treatment of intestinal dysbiosis; A preliminary *in vitro* study. *Altern Med Rev* 2009; 14(4):380-4.
34. Field T, Diego M, Hernandez-Rief M i wsp. *Lavender fragrance* cleansing gel effects on relaxation. *Int J Neuro Sci* 2005; 115(2):207-22.
35. Lin PW, Chan WC, Ng BF i wsp. Efficacy of aromatherapy (*Lavandula angustifolia*) as a intervention for agitated behaviours in Chinese older persons with dementia: cross-over randomized trial. *Int J Geriatric Psych* 2007; 22:405-10.
36. Inouye S, Watanabe M, Nishiyama Y i wsp. Antisporulating and respiration-inhibiting effects of essential oils on filamentous fungi. *Mycoses* 1998; 41:403-10.
37. D'Auria FD, Tecca M, Strippoli V i wsp. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelium form. *Med Mycol* 2005; 43(5):391-6.
38. Lee SO, Choi GJ, Jang KS i wsp. Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soil-borne plant pathogenic fungi. *Plant Pathol J* 2007; 23(2):97-102.
39. Felšöciová S, Kačániová M, Horská E i wsp. Antifungal activity of essential oils against selected terverticillate penicillia. *Ann Agric Environ Med* 2015; 22(1):38-42.
40. Inouye S, Tsouruoka T, Watanabe M i wsp. Inhibitory of essential oils on epical growth of *Aspergillus fumigatus*. *Mycoses* 2000; 43:17-23.
41. Serra E, Hidalgo-Bastida A, Verran J i wsp. Antifungal activity of commercial essential oils and biocides against *Candida albicans*. *Pathogens* 2018; 7(15):1-12.
42. Moon T, Wilkinson JM, Cavanagh HMA. Antibacterial activity of essential oils, hydrosols and plant extracts from Australian grown *Lavandula* spp. *Int J Aromather* 2006; 16:9-14.
43. Abed KF. Antimicrobial activity of essential oils of some medicinal plants from Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci* 2007; 14(1):53-60.
44. Inouye S. Laboratory evaluation of gaseous essential oils. Part 1. *Int J Aromather* 2003; 13(2-3):95-107.
45. Čonková VP, Marcínčáková D, Sinelska Z. Antifungal effect of selected essential oils on *Malassezia pachydermatis* growth. *Folia Veterin* 2018; 62(2):67-72.
46. Cassella S, Cassella JP, Smith I. Synergistic antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils against dermatophyte infection. *Int J Aromather* 2002; 12(1):2-15.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 10.01.2020

zaakceptowano/accepted: 24.02.2020

Adres/address:

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