

*Anna Kędzia¹, Elżbieta Holderna-Kędzia²

Ocena działania olejku jałowcowego (*Juniperi aetheroleum*) wobec grzybów drożdżopodobnych

The evaluation activity of juniper oil (*Juniperi aetheroleum*) on yeast-like fungi

¹Emerytowany prof. 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. Juniper has been known and often used in folk medicine since ancient times. The extracts and essential oil of this plant's fruit exhibit anti-inflammatory, antioxidant, anticancer, blood pressure lowering, antiarthritic, antirheumatic activity and are helpful in Alzheimer's disease. Fruits contain essential oil (α -pinene, limonene, β -pinene, terpinen-4-ol, sabinene, β -phellandrene, α -terpinene, myrcene, γ -terpinene); organic acids, flavonoids and tannins. Juniper oil shows antimicrobial activity.

Aim. The aim of this research was evaluating activity of juniper oil against yeast-like fungi isolated from the oral cavity.

Material and methods. The study included 31 strains of fungi belonging to the following species: *Candida albicans* (14 strains), *Candida glabrata* (3), *Candida guilliermondii* (1), *Candida humicola* (1), *Candida kefyr* (2), *Candida krusei* (2), *Candida lusitaniae* (1), *Candida parapsilosis* (3), *Candida tropicalis* (3), *Candida utilis* (1) and 9 reference strains from genus: *C. albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 66032, *C. guilliermondii* ATCC 6260, *C. kefyr*, ATCC 4130, *C. krusei* ATCC 14249, *C. lusitaniae* ATCC 34499, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750 i *C. utilis* ATCC 9958. The susceptibility (MIC) of fungal strains to juniper oil was determined by the method of serial dilution technique in Sabouraud's agar. At first, the oil was diluted in DMSO, then in distilled water. The tested concentrations were: 20.0, 15.0, 10.0, 7.5 and 5.0 mg/ml. The suspension containing 10^5 CFU/per drop was transferred by a Steers replicator to the surface of Sabouraud's agar with or without juniper oil (strains growth control). Incubation was carried out at 37°C for 24-48 hrs under aerobic conditions. The lowest concentration of oil that completely inhibited the growth of the tested yeast-like fungi was taken as the MIC.

Results. The results indicated, that the strains of *Candida guilliermondii* and *C. utilis* were the most sensitive to juniper oil. The growth of these strains was inhibited at a concentration of 10.0 mg/ml. The 2 species of strains *C. glabrata* and *Candida lusitaniae* were sensitive to a concentration of 15.0 mg/ml. The juniper oil was less active against *Candida kefyr* strains (MIC – 7.5-> 20.0 mg/ml). Fungi from genus of *C. krusei*, *Candida parapsilosis* and *C. tropicalis* were susceptible to concentrations in the range 10.0- \geq 20.0 mg/ml. The *Candida albicans* strains were characterized by moderate susceptibility. The growth of the 50% strains was inhibited at concentration 15.0 mg/ml and another 50% strains at 20.0 mg/ml. Of all the yeast-like fungi strains tested only 1 strain was sensitive to the low concentration of 7.5 mg/ml, and another 5 strains to 10.0 mg/ml. The growth of 39% of fungi strains was inhibited at the concentration of 15.0 mg/ml and 42% at concentration 20.0 mg/ml of the oil and more.

Conclusions. *Candida guilliermondii* and *C. utilis* showed the highest sensitivity to juniper oil. The *Candida albicans* strains were characterized by moderate susceptibility. The juniper oil showed the lowest activity against *Candida humicola* species.

Keywords: activity, yeast-like fungi, juniper oil, candidosum, *Candida* species, oral cavity

STRESZCZENIE

Wstęp. Jałowiec był znany i często używany w medycynie ludowej od czasów starożytnych. Wyciągi i olejek eteryczny z owoców tej rośliny wykazują właściwości przeciwzapalne, przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, obniżające ciśnienie krwi, przeciwartretyczne, przeciwreumatyczne i są pomocne w chorobie Alzheimera. W owocach znajdują się: olejek eteryczny (α -pinen, limonen, β -pinen, terpinen-4-ol, sabinen, β -felandren, α -terpinen, myrcen, γ -terpinen), kwasy organiczne, flawonoidy i garbniki. Olejek jałowcowy wykazuje aktywność przeciwdrobnoustrojową.

Cel pracy. Celem badań była ocena aktywności olejku jałowcowego wobec grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej.

Materiał i metody. Badania objęły 31 szczepów grzybów drożdżopodobnych należących do następujących gatunków: *Candida albicans* (14 szczepów), *Candida glabrata* (3), *Candida guilliermondii* (1), *Candida humicola* (1), *Candida kefyr* (2), *Candida krusei* (2), *Candida lusitaniae* (1), *Candida parapsilosis* (3), *Candida tropicalis* (3) i *Candida utilis* (1) oraz 9 szczepów wzorcowych z gatunków: *C. albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 66032, *C. guilliermondii* ATCC 6260, *C. kefyr*, ATCC 4130, *C. krusei* ATCC 14249, *C. lusitaniae* ATCC 34499, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750 i *C. utilis* ATCC 9958. Wrażliwość (MIC) szczepów grzybów na olejek jałowcowy oznaczono metodą serjnych rozcieńczeń w agarze Sabourauda. Najpierw

olejek rozcieńczano w DMSO, a potem w jałowej wodzie destylowanej. Badane stężenia wynosiły 20,0; 15,0; 10,0; 7,5 i 5,0 mg/ml. Zawiesinę, zawierającą 10^5 CFU/kroplę, przenoszono aparatem Steersa na powierzchnię agaru Sabourauda, z olejkiem jałowcowym lub bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Inkubację prowadzono w temp. 37°C przez 24-48 godz. w warunkach tlenowych. Najmniejsze stężenie olejku, które całkowicie hamowało wzrost badanych grzybów drożdżopodobnych, przyjęto jako MIC.

Wyniki. Wyniki wskazują, że najbardziej wrażliwe na olejek jałowcowy były szczepy z gatunków *Candida guilliermondii* i *C. utilis*. Wzrost tych szczepów był hamowany w stężeniu wynoszącym 10,0 mg/ml. Szczepy z dwóch gatunków, *Candida glabrata* i *C. lusitaniae*, były wrażliwe na stężenie wynoszące 15,0 mg/ml. Olejek jałowcowy był mniej aktywny wobec szczepów *C. kefyri* (MIC – 7,5 > 20,0 mg/ml). Grzyby z gatunków *C. krusei*, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis* były wrażliwe na stężenia w zakresie 10,0–≥ 20,0 mg/ml. Szczepy *C. albicans* charakteryzowały się średnią wrażliwością. Wzrost 50% szczepów był hamowany w stężeniach wynoszących 15 mg/ml i kolejnych 50% w stężeniach ≥ 20,0 mg/ml. Spośród wszystkich testowanych szczepów grzybów tylko jeden był wrażliwy na niskie stężenie wynoszące 7,5 mg/ml, a kolejnych 5 szczepów na 10,0 mg/ml. Natomiast wzrost 39% szczepów był hamowany w stężeniu 15,0 mg/ml, a 42% przez 20,0 mg/ml olejku i więcej.

Wnioski. Największą wrażliwość na olejek jałowcowy wykazały szczepy *Candida guilliermondii* i *C. utilis*. Szczepy z gatunku *C. albicans* charakteryzowały się średnią wrażliwością. Najniższą aktywność olejek jałowcowy wykazał wobec gatunku *Candida humicola*.

Słowa kluczowe: działanie, grzyby drożdżopodobne, olejek jałowcowy, kandydoza, gatunki *Candida*, jama ustna

Wstęp

Jałowiec był znany starożytnym cywilizacjom. Egipcjanie używali go do przygotowywania ciała zmarłego przy balsamowaniu, wykorzystywano go również w kosmetyce. Od starożytności stosowano niektóre rośliny w terapii oraz w zapobieganiu chorobom (1), a olejków eterycznych w celach leczniczych używali starożytni Egipcjanie, Grecy oraz Aztekowie (2). We Francji i Anglii olejkiem jałowcowym okadzano pomieszczenia w celach ochrony przed zachorowaniem w czasie epidemii duru plamistego i cholery. Obecnie, ekstrakty roślinne i olejki eteryczne są często stosowane w profilaktyce i terapii chorób wywołanych przez bakterie, wirusy i grzyby.

Spośród grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida*, zakażenia powoduje głównie gatunek *Candida albicans*. Zwykle są to szczepy odporne na stosowane najczęściej antymykotyki. Ich wrażliwość na leki wiąże się z wytwarzaniem przez te grzyby różnych czynników wirulencji. Są to m.in. enzymy: fosfataza zasadowa, lipaza esterazowa, fosfataza kwaśna, aryloamidaza, fosfohydrolaza naftolowa (3-6). Przeprowadzone przez różnych autorów badania wskazują, że olejek jałowcowy działa na szereg bakterii chorobotwórczych (7-21). Za przeciwdrobnoustrojową aktywność jałowca odpowiadają zawarte w owocach związki chemiczne, wśród których są obecne: α -pinen, limonen, β -pinen, terpinen-4-ol, sabinen, β -felandren, α -terpineol, myrcen, γ -terpinen, kwasy organiczne, flawonoidy i garbniki (2, 7, 10, 15, 22-25). Otrzymywane z szyszkojagód jałowca wyciągi oraz olejek eteryczny są stosowane w celu obniżenia ciśnienia krwi, w zaburzeniach pracy jelit, otyłości, w artretyzmie, reumatyzmie, chorobach skóry oraz dróg oddechowych i moczowych (7, 15, 18, 22, 26, 27). Badania wskazują też na działanie przeciwzapalne, przeciwutleniające, przeciwnowotworowe oraz obniżające poziom

cholesterolu we krwi (8, 15, 27-34). Ponadto jałowiec obniża poziom wytwarzanego β -amyloidu, co wpływa na poprawę pamięci, szczególnie u pacjentów z chorobą Alzheimera (35).

Cel pracy

Celem badań było oznaczenie wrażliwości na olejek jałowcowy grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej.

Materiał i metody

Grzyby drożdżopodobne wykorzystane do doświadczeń zostały wyizolowane z jamy ustnej pacjentów, u których stwierdzono kandydozę. Pobrane wymazy posiewano na podłoże Sabourauda, które inkubowano w temp. 37°C przez 24-48 godz. w warunkach tlenowych. Identyfikację wyhodowanych szczepów przeprowadzono, uwzględniając morfologię komórek, wygląd kolonii na podłożu CHROMagar (Bio Rad), cechy biochemiczne oznaczone testem API AUX (bioMérieux), zdolność szczepu do filamentacji i wytwarzania chlamydosporów. Oznaczeniu wrażliwości poddano 31 szczepów grzybów drożdżopodobnych, należących do następujących gatunków: *Candida albicans* (14 szczepów), *C. glabrata* (3), *C. guilliermondii* (1), *C. humicola* (1), *C. kefyri* (2), *C. krusei* (2), *C. lusitaniae* (1), *C. parapsilosis* (3), *C. tropicalis* (3) i *C. utilis* (1). Badaniami objęto też 9 szczepów wzorcowych z gatunków: *C. albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 66032, *C. guilliermondii* ATCC 6260, *C. kefyri*, ATCC 4130, *C. krusei* ATCC 14249, *C. lusitaniae* ATCC 34499, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750 i *C. utilis* ATCC 9958. Wrażliwość szczepów grzybów na olejek jałowcowy (Avicenna Oil, Wrocław) oznaczono, wykorzystując metodę seryjnych rozcieńczeń w agarze Sabourauda. Olejek najpierw rozcieńczano w DMSO,

a potem w jałowej wodzie destylowanej, uzyskując następujące stężenia: 20,0; 15,0; 10,0; 7,5 i 5,0 mg/ml. Następnie zawiesinę zawierającą 10^5 CFU/kroplę nanoszono aparatem Steersa na powierzchnię agaru Sabourauda, z olejkiem jałowcowym lub bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Hodowlę posiewów prowadzono w temp. 37°C przez 24-48 godz. w warunkach tlenowych. Najmniejsze stężenie olejku, które całkowicie hamowało wzrost badanych grzybów drożdżopodobnych, przyjęto jako MIC.

Wyniki

Uzyskane wyniki badań wrażliwości grzybów drożdżopodobnych na olejek jałowcowy zostały zamieszczone w tabeli 1, a szczepów wzorcowych w tabeli 2. Największą aktywność olejek jałowcowy wykazał na szczepy z gatunków *Candida guilliermondii* i *C. utilis*. Ich wzrost był hamowany w stężeniu wynoszącym 10,0 mg/ml. Szczepy kolejnych dwóch gatunków, *C. glabrata* i *C. lusitaniae*, były wrażliwe na stężenie wynoszące 15,0 mg/ml. Wartości MIC dla grzybów *C. kefyr* wynosiły od 7,5 do > 20,0 mg/ml. Wobec gatunków *C. krusei*, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis* olejek jałowcowy był aktywny w stężeniach w zakresie 10,0- \geq 20,0 mg/ml. Natomiast szczepy z gatunku *C. albicans*, które stanowiły najliczniejszą badaną grupę grzybów i zwykle dominują w zakażeniach, charakteryzowały się średnią wrażliwością. Do zahamowania wzrostu wymagały one użycia stężeń wynoszących 15,0 mg/ml (39%) oraz 20,0 mg olejku na ml lub więcej (> 20,0 mg/ml). Wyniki przeprowadzonych badań

wskazują, że spośród wszystkich testowanych szczepów tylko jeden (3%) okazał się wrażliwy na 7,5 mg olejku jałowcowego/ml. Na kolejne stężenie wynoszące 10,0 mg/ml wrażliwość wykazało 5 (16%) szczepów. Olejek jałowcowy w stężeniu wynoszącym 15,0 mg/ml działał wobec 12 (39%) grzybów. Natomiast 13 (42%) szczepów wymagało do zahamowania wzrostu użycia stężeń wynoszących 20,0 mg olejku w 1 ml lub więcej.

Wielu badaczy potwierdziło aktywność olejku jałowcowego w działaniu na grzyby drożdżopodobne, wykorzystując do badania wrażliwości technikę seryjnych rozcieńczeń (14, 17, 36-40) lub metodę krążkowo-dyfuzyjną (7, 13, 15, 41-43), uzyskując 15 cm strefę zahamowania wzrostu (42). Wartości MIC dla testowanych grzybów wynosiły 10,0 mg/ml (7), a 20,0 mg/ml dla szczepu *C. albicans* (14). W innym doświadczeniu olejek jałowcowy okazał się aktywny wobec grzybów z gatunku *C. albicans* w zakresie 3,4-9,0 mg/ml (38). Otrzymane przez powyższych autorów wyniki są zbieżne z uzyskanymi przez nas. Niektóre badania wykorzystujące technikę MIC (17) lub metodę krążkowo-dyfuzyjną (41) wykazały brak aktywności olejku jałowcowego wobec szczepów *C. albicans*.

Wnioski

1. Największą wrażliwość na olejek jałowcowy wykazały szczepy *Candida guilliermondii* i *C. utilis*.
2. Szczepy z gatunku *C. albicans* charakteryzowały się średnią wrażliwością na badany olejek.
3. Najniższą aktywność olejek jałowcowy wykazał wobec gatunku *C. humicola*.

Tab. 1. Wrażliwość grzybów drożdżopodobnych na olejek jałowcowy

Grzyby drożdżopodobne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		$\geq 20,0$	15,0	10,0	7,5	5,0
<i>Candida albicans</i>	14	7	7			
<i>Candida glabrata</i>	3		3			
<i>Candida guilliermondii</i>	1			1		
<i>Candida humicola</i>	1	1				
<i>Candida kefyr</i>	2	1			1	
<i>Candida krusei</i>	2	1		1		
<i>Candida lusitaniae</i>	1		1			
<i>Candida parapsilosis</i>	3	1	1	1		
<i>Candida tropicalis</i>	3	2		1		
<i>Candida utilis</i>	1			1		
Grzyby drożdżopodobne ogółem	31	13	12	5	1	

Tab. 2. Wrażliwość szczepów wzorcowych grzybów drożdżopodobnych na olejek jałowcowy

Grzyby drożdżopodobne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		≥ 20,0	15,0	10,0	7,5	5,0
<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 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		

Piśmiennictwo

- Jones FA. Herbs – useful plants. Their role in history and today. Eur J Gastroenterol Hepatol 1996; 8:1227-32.
- Prada-López I, Quintas V, Álvarez-Fernández i wsp. *In situ* substantivity of the essential oils in the oral cavity. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Wyd. A. Méndez-Vilas. www.forma-tex.info.microbiology 4/vol. 2/1112-22.
- Borstt A, Fluid AC. High levels of hydrolytic enzymes secreted by *Candida albicans* isolates involved in respiratory infections. J Med Microbiol 2003; 52:971-4.
- Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. Trends Microbiol 2001; 9:327-35.
- Ghannoun MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. Clin Microbiol Rev 2000; 13:122-43.
- De Bernardis F, Sullivan PA, Cassone A. Aspartyl proteases of *Candida albicans* and their role in pathogenicity. Med Mycol 2001; 39:303-13.
- Pepeljnjak S, Kosalec I, Kalodera Z i wsp. Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., Cupressaceae). Acta Pharm 2005; 55:417-22.
- Fernandez A, Cock JE. The therapeutic properties of *Juniperus communis* L.: antioxidant capacity, bacterial growth inhibition, anticancer activity and toxicity. Pharmacogn J 2016; 8(3):273-80.
- Filipowicz N, Ochocka JR. Jałowiec pospolicie *Juniperus communis* L. popularna lecznicza roślina olejkowa. Post Fitoter 2008; (1):26-31.
- Angioni A, Barra A, Russo MT i wsp. Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. J Agric Food Chem 2003; 51(10):3073-8.
- Hartman G, Coetzee JC. Two US practitioners' experience of using essential oils for wound care. J Wound Care 2002; 11(8):317-20.
- Bruneton J. Farmacognosia, Zaragoza: Ed. Acribia. 2001; 390-1.
- Glišić SB, Milojević SZ, Dimitrijević SL i wsp. Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus communis* L. and a composition with some commercial antibiotics. J Serb Chem Sci 2007; 72(4):311-20.
- Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extract. J Appl Microbiol 1999; 86:985-90.
- Majewska E, Kozłowska M, Kowalska D i wsp. Characterization of the essential oil from cone-berries of *Juniperus communis* L. (Cupressaceae). Herba Pol 2017; 63(3):48-55.
- Johnston WH, Karchesy JJ, Constantine GH i wsp. Antimicrobial activity of some Pacific Northwest woods against anaerobic bacteria and yeast. Phytother Res 2001; 15(7):586-8.
- Webster D, Tascherean P, Belland RJ i wsp. Antifungal activity of medicinal plant extracts: preliminary screening studies. J Ethnopharmacol 2008; 115:140-6.
- Mahady GB, Pendland SL, Stoia A i wsp. *In vitro* susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. Phytother Res 2005; 19(11):988-91.
- Jimenes-Arellanes A, Meckes M, Ramirez R i wsp. Activity against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in mexican plants used to treatment respiratory diseases. Phytother Res 2003; 17:903-8.
- Haziri A, Faiku F, Mehmeti A i wsp. Antimicrobial properties of the essential oil of *Juniperis communis* (L.) growing wild in east part of Kosovo. Am J Pharmacol Toxicol 2013; 8(3):128-33.

21. Krůmal K, Kubátková N, Večea Z i wsp. Antimicrobial properties and chemical composition of liquid and gaseous phases of essential oils. *Chem Pap* 2015; 69(8):1084-92.
22. Dahmane D, Dob T, Chelghoum C. Chemical composition of essential oils of *Juniperus communis* L. obtained by hydrodistillation and microwave-assisted hydrodistillation. *J Mater Environ Sci* 2015; 6(5):1253-9.
23. Raal A, Kanut M, Orav A. Animal variation of yield and composition of yield and of common juniper (*Juniperus communis* L.) branches from Estonia. *Baltic Forestry* 2010; 16(1):50-6.
24. Chatzopoulou PS, Katsiotis ST. Chemical investigation of the leaf oil of *Juniperus communis* L. *J Essent Oil Res* 1993; 5:603-7.
25. Marongin B, Porcedda S, Piras A i wsp. Extraction of *Juniperus communis* L. spp. Nana Wild extraction oil by supercritical carbon oxide. *Flavour Fragr J* 2006; 21:148-54.
26. De Matteis Tortora M. Some plants described by *Dioscorides* for the treatment of renal disease. *Am J Nephrol* 1994; 14:418-22.
27. Bais S, Prashar Y. Identification and characterization of Amentoflavone from six species of *Juniperus* against H₂O₂ induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes. *Res J Phytochem* 2015; 9(2):41-55.
28. Lantto TA, Laakso I, Dorman HJD i wsp. Cellular stress and p-53-associated apoptosis by *Juniperus communis* L. berry extract treatment in the Human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Int J Mol Sci* 2016; 17(7):113-8.
29. Han X, Parker TL. Antiinflammatory activity of Juniper (*Juniperus communis*) berry essential oil in human dermal fibroblasts. *Cogent Med* 2017; 4:13062000 (1-7).
30. Wei A, Shibamoto T. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. *J Agric Food Chem* 2007; 55(5):1737-42.
31. Stoilova I, Wanner JKR, Jirovetz L i wsp. Chemical composition and antioxidant properties of juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. *Bulg J Agric Sci* 2014; 20(2):227-34.
32. Hóferi M, Stoilova I, Schmidt E i wsp. Chemical composition and antioxidant properties of juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism. *Antioxidants-Basel* 2014; 3:81-98.
33. Šojić B, Tomović V, Jokanović M i wsp. Antioxidant activity of *Juniperus communis* L. essential oil in cooked pork sausages. *Czech J Food Sci* 2017; 31:189-93.
34. Akdogan M, Koyn A, Ciris M i wsp. Anti-hypercholesterolemic activity of *Juniperus communis* Lynn oil rats: A biochemical and histopathological investigation. *Biomed Res* 2012; 23(3):321-8.
35. Cioanca O, Mircea C, Trifan A i wsp. Improvement of amyloid-β – induced memory deficits by *Juniperus communis* L. volatile oil in a rat model of Alzheimer's disease. *Farmacia* 2014; 62(3):514-20.
36. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D i wsp. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem Toxicol* 2008; 46:446-75.
37. Kun E. Determination of antimicrobial activity essential oils as additives to develop biologically degradable polymeric packaging. *Mat Sci Engin* 2012; 37(2):59-63.
38. Kalembe D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem* 2003; 10:813-29.
39. Lee SO, Choi GJ, Jang KS i wsp. Antifungal activity of five plant essential oils as antifungal against postharvest and soilborne plant pathogenic fungi. *Plant Pathol J* 2007; 23(2):97-103.
40. Consentino S, Barra A, Pisano B i wsp. Composition and antimicrobial properties of Sardinian *Juniperus* essential oils against food borne pathogens and spoilage microorganism. *J Food Protect* 2003; 66(7):1288-91.
41. Maruzzella JC, Liguori L. *In vitro* antifungal activity of essential oils. *J Am Pharm Assoc* 1956; 47(4):250-4.
42. Janssen AM, Ahin NLJ, Scheffer JJC i wsp. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay techniques. *Pharm Weekblad Sci Ed* 1986; 8:289-92.
43. Schelz Z, Molnar J, Hohmann J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoter* 2006; 77:279-85.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów
None

otrzymano/received: 05.10.2020

zaakceptowano/accepted: 19.10.2020

Adres/address:

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