



Antibakterijska aktivnost etarskih ulja odabranih lekovitih biljaka na izazivače respiratornih infekcija u pedijatrijskoj populaciji

Antibacterial Acitivity of Essential Oils of Selected Medicinal Plants on the Causative Agents of Respiratory Infections in Pediatric Population

Svetlana Bogdanović¹, Ivana Zlatković¹, Ana Veličković²,
Dobriša Randelović¹, Zvonko Zlatanović¹

¹Toplička akademija strukovnih studija, Odsek za poljoprivredno-prehrambene studije Prokuplje

²Dom zdravlja Medigroup, Kalča, Niš

Apstrakt

Akutne respiratorne infekcije (ARI) su najčešće infektivne bolesti današnjice i predstavljaju razlog za čak 75% propisanih antibiotika u svetu. Iz tog razloga, ARI su odgovorne za pojavu rezistentnosti bakterija na najčešće primenjivane antibiotike.

Cilj je bio ispitivanje potencijalnih antibakterijskih aktivnosti etarskog ulja lekovitih biljaka *Lavandula angustifolia* Mill., *Mentha spicata* L., *Chamomilla recutita* (L.) Raushert, *Salvia officinalis* L., *Urtica dioica* L., sa područja jugoistočne Srbije, na bakterije povezane sa respiratornim infekcijama u pedijatrijskoj populaciji.

Za determinaciju biljnog materijala korišćeni su relevantni, dihotomi ključevi. Ekstrakcija etarskog ulja vršena je aparatom tipa Clevenger, dok je antibakterijska aktivnost ispitivana aromatomogramom, disk-difuzionom metodom. Statistička analiza odrađena je jednofaktorskim ANOVA testom.

Upotreba etarskih ulja može predstavljati alternativno rešenje za borbu protiv bakterija otpornih na više lekova. U našem istraživanju najjače inhibitorno dejstvo pokazalo je ulje *Salvia officinalis* L. prema *Moraxella* sp., dok je najslabije dejstvo pokazalo ulje *Chamomilla recutita* (L.) Raushert prema *Haemophilus* sp. Uopšteno, etarsko ulje *Chamomilla recutita* (L.) Raushert je pokazalo najslabije dejstvo prema svim izolovanim patogenima. Etarska ulja ispitivanih biljaka mogu se koristiti kao potencijalni izvor prirodnih antibakterijskih jedinjenja. Zbog svega navedenog neophodno je dalje istražiti i identifikovati biološki aktivna jedinjenja ispitivanih biljaka.

Ključne reči: etarska ulja, lekovite biljke, respiratorne infekcije

Abstract

Acute respiratory infections (ARI) are the most common infectious diseases today and are the reason for as many as 75% of prescribed antibiotics in the world. For this reason, ARI is responsible for the emergence of bacterial resistance to the most commonly used antibiotics.

The paper aimed to examine the potential antibacterial activities of the essential oil of medicinal plants *Lavandula angustifolia* Mill., *Mentha spicata* L., *Chamomilla recutita* (L.) Raushert, *Salvia officinalis* L., *Urtica dioica* L., from the region of southeastern Serbia, on bacteria associated with respiratory infections in the pediatric population.

Relevant, dichotomous keys were used to determine the plant material. The extraction of the essential oil was performed with a Clevenger-type apparatus, while the antibacterial activity was examined with an aromagram, using the disk-diffusion method. Statistical analysis was performed with a one-factor ANOVA test. The use of essential oils can be an alternative solution to combat multidrug-resistant bacteria. In our research, the oil of *Salvia officinalis* L. showed the strongest inhibitory effect against *Moraxella* sp., while the oil of *Chamomilla Recutita* (L.) Raushert showed the weakest effect against *Haemophilus* sp. In general, the essential oil of *Chamomilla recutita* (L.) Raushert showed the weakest effect against all isolated pathogens.

The essential oil of the investigated plants can be used as a potential source of natural antibacterial compounds. Because of all the above, it is necessary to further investigate and identify the biologically active compounds of the investigated plants.

Key words: essential oils, medicinal plants, respiratory infections



Uvod

Akutne respiratorne infekcije (ARI) spadaju među deset vodećih uzroka smrti u svetu (1). Predstavljaju najsmrtonosnije bolesti infektivne etiologije i četvrti vodeći uzrok smrtnosti širom sveta (2). Prema dostupnim podacima, ARI su razlog preko 20% svih poseta lekaru, 30% odsutnosti s posla i čak 75% svih propisanih antibiotika (3). Od svih akutnih respiratornih infekcija koje mogu izazvati teže kliničke oblike, najveći broj ljudi umire od influence i pneumonije (4). Postoji nekoliko razloga za veliku učestalost infekcija respiratornog sistema, a najčešći je svakako građa respiratornog sistema, koji je najotvoreniji i u neprekidnoj komunikaciji sa spoljašnjom sredinom, te je na taj način izložen velikom broju mikroorganizama. Sledeći razlog velike učestalosti ovih infekcija nalazi se u brojnosti i prirodi uzročnika. Uzročnici ovih oboljenja mogu biti virusi, bakterije, gljivice ili paraziti. Među njima su najzastupljeniji respiratorni virusi, koji su odgovorni za 85% svih ARI (5). ARI nisu ograničene na respiratorni trakt i imaju sistemske efekte zbog mogućeg širenja infekcije ili mikrobnih toksina, upale i smanjene funkcije pluća (6). ARI su najčešći uzroci i bolesti i smrtnosti u neonatalnom periodu, ali i kod dece mlađe od pet godina, bez obzira na to gde žive ili kakva im je ekonomska situacija (6). Međutim, odnos blage do teške kliničke slike bolesti varira između zemalja sa visokim i niskim prihodima. Pretpostavlja se da je razlog tome razlika u specifičnim etiologijama i faktorima rizika. Težina donjih respiratornih infekcija kod dece mlađe od pet godina je gora u zemljama u razvoju, što rezultira većim brojem slučajeva smrtnosti. Oko 10,8 miliona dece umre svake godine zbog ARI (7). Istraživanja sprovedena poslednjih decenija pokazuju da je 2000. godine 1,9 miliona dece umrlo od ARI, od čega 70% u Africi i jugoistočnoj Aziji (8). Prema procenama Svetske zdravstvene organizacije (SZO) oko 2 miliona dece mlađe od pet godina umre od upale pluća svake godine (9). I pored ovih alarmantnih podataka, jedna od najčešćih dilema u vezi sa ARI jeste primeniti ili ne primeniti antibiotik kod akutne upale gornjih disajnih puteva. Velika upotreba antibiotika u lečenju ARI odgovorna je za pojavu rezistentnosti bakterija na najčešće primenjivane antibiotike (10).

Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita potencijalna antibakterijska aktivnost etarskog ulja lekovitih biljaka *Lavandula angustifolia* Mill., *Mentha spicata* L., *Chamomilla recutita* (L.) Raushert, *Salvia officinalis* L., *Urtica dioica* L., sa područja jugoistočne Srbije, na bakterije povezane sa respiratornim infekcijama u pedijatrijskoj populaciji.

Materijal i metode

Biljni materijal

Nadzemni delovi korišćenih biljaka sakupljeni su u jugoistočnoj Srbiji tokom 2023. godine, u periodu cvetanja biljaka. Materijal je herbarizovan, a herbarski egzemplari su odloženi u herbarijumsku zbirku Odseka za poljoprivredno-prehrambene studije u Prokuplju. Za determinaciju biljnog materijala korišćeni su relevantni, dihotomi ključevi (11) 1964–1980; (12) 1970–1980). Nomenklatura zabeleženih taksona usaglašena je sa Euro+Med database (<http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/query.asp>) (13).

Suvi biljni materijal usitnjavan je u mlinu. Proces hidrodestilacije je izveden pomoću aparata tipa Clevenger (14).

Disk – difuzioni metod

Za potrebe disk – difuzione metode korišćen je aromatoqram. U ovoj metodi etarska ulja difunduju se sa diska u agar (15). Kako bi se utvrdila antimikrobna aktivnost etarskih ulja biljaka, korišćeni su klinički izolati, izazivači respiratornih infekcija kod dece u uzrastu do 12 godina, *Moraxella sp.*, *Haemophilus sp.*, *St. aureus* i *S. pneumoniae*. Suspenziju, zamućenja od 0,5 McFarland-a, čine prekonocne kultura testiranih sojeva mikroorganizama uzgojenih na hranljivom agaru (NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003). Na sterilne Muller-Hinton agar (Torlak) supstrate inokulisano je 0,1 ml svih pripremljenih suspenzija mikroorganizama. Na inokulisanu površinu postavljeni su sterilni celulozni diskovi prečnika 6 mm (Himedia, Milano, Italija). Diskovi su impregnirani sa 10 µl rastvora etarskih ulja. Kao pozitivna kontrola korišćen je disk sa gentamicinom (10 mg/ml). Petrijeve posude su inkubirane na 37°C tokom 24 sata. Odsustvo rasta bakterija rezultira providnim oreolom oko diska koji predstavlja zonu inhibicije. Zone inhibicije predstavljene su u mm. Što je veći prečnik, soj je osetljiviji na dato etarsko ulje. Sva merenja izvedena su u tri ponavljanja.

Statistička analiza

Jednofaktorska ANOVA je statistički test koji se koristi da bi se utvrdilo da li postoje značajne razlike između srednjih vrednosti dve ili više nezavisnih grupa. Ukoliko se utvrdi postojanje značajnih razlika između grupa, post-hoc testovima se utvrđuje koje su to grupe koje se značajno razlikuju.

Rezultati i diskusija

Antibiotici postaju sve neefikasniji protiv rezistentnih bakterija. Upotreba etarskih ulja može predstavljati alternativno rešenje za borbu protiv bakterija otpornih na više lekova. S tim u vezi, u ovom radu istraživan

je antimikrobni uticaj etarskih ulja odabranih biljaka na kliničke izolate najčešćih uzročnika respiratornih infekcija kod dece u uzrastu do 12 godina. Rezultati ove studije predstavljeni su u Tabeli 1. Postojanje razlika u antimikrobnom dejstvu etarskih ulja ispitano je jednofaktorskom ANOVA metodom. Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija. Između ispitivanih grupa ne postoji statistička značajnost.

Sva ispitivana etarska ulja disk-difuzionom metodom pokazala su bakteriostatsku aktivnost. Najjače inhibitorno dejstvo pokazalo je ulje *Salvia officinalis* L. prema *Moraxella* sp., dok je najslabije dejstvo pokazalo ulje *Chamomilla recutita* (L.) Raushert prema *Haemophylus* sp. Uopšteno, etarsko ulje *Chamomilla recutita* (L.) Raushert je pokazalo najslabije dejstvo prema svim izolovanim patogenima. Etarsko ulje *Salvia officinalis* L. imalo je najbolje dejstvo prema svim ispitivanim patogenima, sem prema *Haemophylus* sp. na koje je najbolje delovalo ulje *Mentha spicata* L. (slika 1).

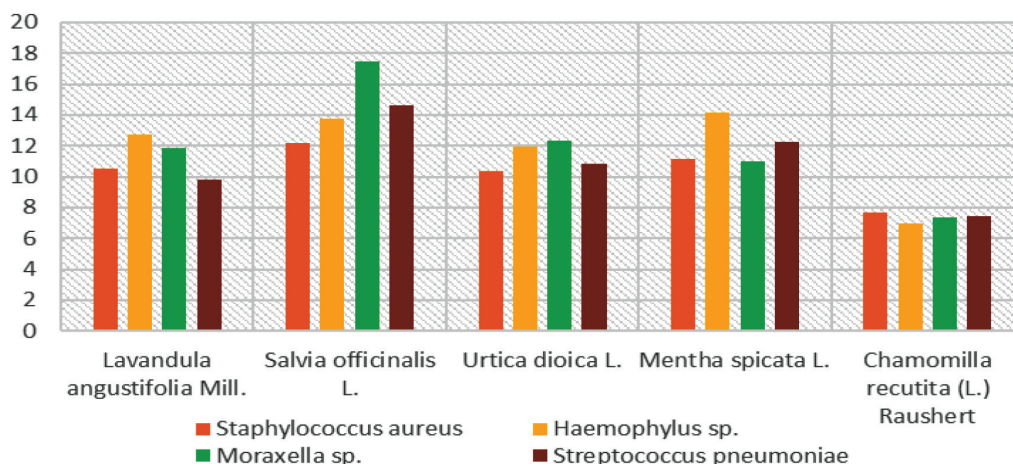
U studiji koja je sprovedena od strane Soković et al. (16) *Salvia officinalis* L. imala je najslabije antimikrobno dejstvo u odnosu na ostala ispitivana ulja. Etarsko ulje *Urtica dioica* L. najjaču aktivnost je imalo prema *Moraxella* sp. (12,33 mm), dok je najslabiju imalo prema *Staphylococcus aureus* (10,33 mm). U radu Ramtin et al. (17) etarsko ulje *Urtica dioica* L. je imalo zonu inhibicije od 18 mm. *Mentha spicata* L. je pokazala bolje dejstvo u odnosu na etarska ulja *Urtica dioica* L., *Lavandula angustifolia* Mill. i *Chamomilla recutita* (L.) Raushert, što je u skladu sa istraživanjima Zaidi & Dahiya (18).

Zaključak

Rezultati ove studije su pokazali da se etarska ulja ispitivanih biljaka mogu koristiti kao potencijalni izvor prirodnih antibakterijskih jedinjenja. Zbog svega navedenog neophodno je dalje istražiti i izvršiti identifikaciju biološki aktivnih jedinjenja ispitivanih biljaka.

Tabela 1. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja disk-difuzionom metodom

Etarsko ulje	<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	<i>Salvia officinalis</i> L.	<i>Urtica dioica</i> L.	<i>Mentha spicata</i> L.	<i>Chamomilla recutita</i> (L.) Raushert	Sig
Mikroorganizam	Zona inhibicije u mm					
<i>Staphylococcus aureus</i>	10.53 \pm 0.64	12.17 \pm 0.29	10.33 \pm 0.29	11.16 \pm 1.04	7.67 \pm 0.76	.000
<i>Haemophylus</i> sp.	12.73 \pm 1.55	13.73 \pm 0.83	11.93 \pm 0.12	14.17 \pm 0.29	6.93 \pm 0.12	.000
<i>Moraxella</i> sp.	11.83 \pm 1.04	17.5 \pm 1.5	12.33 \pm 0.58	11.00 \pm 1.00	7.33 \pm 0.58	.000
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	9.8 \pm 0.2	14.6 \pm 0.92	10.8 \pm 0.8	12.26 \pm 1.47	7.47 \pm 0.61	.000



Slika 1. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja prema delovanju

Literatura

- World Health Organization. The top 10 causes of death. World Health Organization; 2020 [pristupljeno 30.05.2023.]. Dostupno na: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- Calderaro A, Buttrini M, Farina B, Montecchini S, De Conto F, Chezzi C. Respiratory Tract Infections and Laboratory Diagnostic Methods: A Review with A Focus on Syndromic Panel-Based Assays. *Microorganisms* 2022; 10(9): 1856.

3. World Health Organization. Acute respiratory infections: the forgotten pandemic: Communiqué from the International Conference on Acute Respiratory Infections, held in Canberra, Australia, 7-10 July 1997. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2(1): 2-4.
4. Bagić M. Obilježja i ishodi sindroma teške akutne respiratorne infekcije kao pokazatelji teških oblika influence. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet. 2018.
5. Niederman MS, Torres A. Respiratory infections. *Eur Respir Rev* 2022; 31: 220150.
6. Simoes EAF, Cherian T, Chow J, et al. Acute Respiratory Infections in Children. In: *Disease Control Priorities in Developing Countries*. 2nd ed. The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, Washington (DC); 2006.
7. Black RE, Morris SS, Bryce J. Where and Why Are 10 Million Children Dying Every Year? *Lancet* 2003; 361(9376): 2226-34.
8. Williams BG, Gouws E, Boschi-Pinto C, Bryce J, Dye C. Estimates of Worldwide Distribution of Child Deaths from Acute Respiratory Infections. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 25-32.
9. Bryce J, Boschi-Pinto C, Shibuya K, Black RE; WHO Child Health Epidemiology Reference Group. WHO Estimates of the Causes of Death in Children. *Lancet* 2005; 365: 1147-52.
10. Cars O, Mölsted S, Melander A. Variation in antibiotic use in the European Union. *Lancet* 2001; 357: 1851-3.
11. Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA (eds). 1964-1980: *Flora Europaea*, I-V. Cambridge University Press, London.
12. Josifović, M. (ed) (1970-1980): *Flora of Serbia I-X*. SANU, Belgrade Interpretation Manual of European Union Habitats. 1999. version EUR 15/2.
13. Euro+Med 2006: Euro+Med Plant Base - the information resource for Euro Mediterranean plant diversity. Published on the Internet <http://www2.bgbm.org/EuroPlusMed/>
14. *European Pharmacopoeia*, 8th ed. vol 1. Ph. Eur. 8.1. Strasbourg: Council of Europe (EDQM); 2013.
15. Boukhatem MN, Ferhat MN, Kameli A, Saidi F, Taibi H, Djamel T. Potential application of thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential oil as antibacterial drug in aromatherapy. *Int J Innov Appl Stud* 2014; 8(4): 1418-31.
16. Soković M, Marin PD, Brkić D, van Griensven D, L.J.L.D. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria. *Food*. 2007;1.
17. Ramtin M, Massiha A, Khoshkholgh-Pahlaviani MRM, Issazadeh K, Assmar M, Zarrabi S. Evaluation of the antibacterial activities of essential oils of *Iris pseudacorus* and *Urtica dioica*. *Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS)* 2014; 16 (3): 35-9.
18. Zaidi S, Dahiya P. In vitro antimicrobial activity, phytochemical analysis and total phenolic content of essential oil from *Mentha spicata* and *Mentha piperita*. *Int Food Res J* 2015; 22 (6): 2440-5.