

# ANTIBIOTICI IZ PRIRODE

**Lucija Balent (8.c)**

**Rebeka Šarić (8.c)**

Mentor: Sanja Janušić, prof.  
(sanja.janusic@gmail.com)

Čakovec, 05.03.2013.

III. OŠ ČAKOVEC  
IVANA PL. ZAJCA 24  
40 000 ČAKOVEC

## SADRŽAJ

1. SAŽETAK	3
2. OPIS TEME	4
2.1. Fitoterapija	4
2.2. Način djelovanja ljekovitih biljaka	5
2.2.1. Ljekovita svojstva brusnice ( <i>Vaccinium vitis idaea L.</i> )	5
2.2.2. Ljekovita svojstva češnjaka ( <i>Allium sativum L.</i> )	6
2.2.3. Ljekovita svojstva grejpa ( <i>Citrus paradisi L.</i> )	6
2.2.4. Ljekovita svojstva hrena ( <i>Armoracia lapathifolia Gilib.</i> )	7
2.2.5. Ljekovita svojstva kadulje ( <i>Salvia officinalis L.</i> )	7
2.3. Antibiogram	7
3. PRETPOSTAVKE I HIPOTEZE	9
4. MJERENJA I REZULTATI	10
4.1. Materijal	10
4.2. Mjerenja	11
4.2.1. Izrada biljnih tinktura	11
4.2.2. Ispitivanje antibiotskog učinka biljnih tinktura	12
4.2.3. Kontrolni test na alkohol	12
4.2.4. Ispitivanje antibiotskog učinka standardnih antibiotika	13
4.3. Rezultati	14
4.3.1. Rezultati antibakterijskog učinka ispitivanih biljnih tinktura	14
4.3.1.1. Rezultati antibiograma za bakteriju <i>S. Aureus</i> ATCC 25 923	15
4.3.1.2. Rezultati antibiograma za bakteriju <i>E. coli</i> ATCC 25 922	16
4.3.1.3. Rezultati antibiograma za bakteriju <i>S. pyogenes</i>	18
4.3.2. Rezultati kontrolnog testa na alkohol	19
4.3.3. Rezultati antibiograma na standardne antibiotike	20
5. RASPRAVA	22
6. ZAKLJUČCI	23
7. POPIS LITERATURE	24

## 1. SAŽETAK

Sintetički antibiotici su lijekovi koji se najviše propisuju diljem svijeta. Trošenje antibiotika nije bezopasno i može izazvati niz neželjenih posljedica. Zbog toga se sve više koriste biljni lijekovi koji omogućuju liječenje infekcija i upala bez štetnih popratnih pojava. Cilj ovog istraživanja bio je usporediti antibiotsko djelovanje istraživanih biljaka (brusnica, češnjak, hren, grejp, kadulja) na bakterije koje često izazvaju infekcije kože, dišnih ili mokraćnih puteva (*S. aureus* ATCC 25 923, *S. pyogenes* i *E. coli* ATCC 25 922). Isto tako se ovim istraživanjem uspoređivala djelotvornost biljnih i sintetičkih antibiotika. Izrađivane su alkoholne tinkture biljaka u omjeru 1:5, a zatim im je ispitivana antibiotska učinkovitost na odabranim bakterijama. Za dokazivanje antibakterijskog učinka uzoraka korišten je mikrobiološki test - metoda difuzije. Istraživanjem je potvrđeno da postoje biljke s aktivnim sastojcima koji imaju antibakterijsko djelovanje. Neke od istraživanih biljaka pokazale su značajnije antibiotsko djelovanje na bakterije. To su uzorci sjemenki grejpa (*Citrus paradisi* L.), listova brusnice (*Vaccinium vitis idaea* L.), listova kadulje (*Salvia officinalis* L.) i korijena hrena (*Armoracia lapathifolia* Gilib.). Antibakterijska učinkovitost pojedinih biljaka bila je različita u odnosu na ispitivane bakterije. Potvrđena je i pretpostavka da sintetički antibiotici imaju jače djelovanje od biljnih.

## 2. OPIS TEME

Alexander Fleming je otkrićem penicilina 1928. uveo jednu od najvećih promjena u povijesti medicine. Djelotvornost penicilina i sintetički antibiotici razvijeni nakon njega pomogli su da se nekad veoma raširene zaraze učine gotovo potpuno bezopasnima. Od tada upotreba sintetičkih antibiotika sve više raste. U Njemačkoj je njihova upotreba od 1986. do 1995. godine porasla za 28% u klinikama, odnosno za 60% u ambulantama [3]. Razlog je u tome što u nekim slučajevima djeluju brzo i dobro te se stoga koriste i kad to nije potrebno. Često su propisivani već kod bezazlenih bolesti pa su bakterije postale sve otpornije. Bakterije razvijaju otpornost ako se antibiotici koriste neprimjereno ili prekratko pa tako u sljedećem kontaktu s tim antibiotikom mogu neutralizirati njegov utjecaj. Ostale opasnosti od prekomjerne uporabe antibiotika su sve češće alergijske reakcije, uništavanje korisnih bakterija (npr. zdrave crijevne bakterije kao *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium bifidus*) te potiskivanje imunološkog sustava [4]. Iako bez antibiotika ne bismo mogli stati na kraj brojnim bolestima trebali bi se primjenjivati samo kao lijekovi za ozbiljnije bakterijske infekcije, kad je to stvarno neizbježno. U američkim istraživanjima iz 1995. utvrđeno je da je polovica od 110 milijuna recepata za antibiotike bilo neprimjereno bolesti za koju su izdani [3].

### 2.1. FITOTERAPIJA

Danas se sve više govori o blagotvornim učincima ljekovitih biljaka. Mnoge od njih se smatraju prirodnim antibioticima. Sve češće se spominje fitoterapija ili korištenje biljaka u svrhu liječenja. Iako se ljekovito bilje koristi od davnina u liječenju bolesti, fitoterapija je na Zapadu tek u 20. i 21. stoljeću dobila potvrdu u znanosti. Tako danas liječnici u njemačkom zdravstvenom sustavu učestalo propisuju tinkture ljekovitih biljaka umjesto sintetskih lijekova, a u sklopu bolnica se nalaze i odjeli za fitoterapiju koji nadopunjuju klasične metode liječenja [4]. Kada se spomene liječenje biljem prevladava mišljenje da biljka ne može naštetiti. Općenito se preporučuju niske doze koje stvarno neće naškoditi, ali neće niti koristiti. No Paracelsusova izreka „*Hoće li neko sredstvo biti lijek ili otrov ovisi o njegovoj dozi*“ mora se poštivati i u primjeni fitoterapije. Moderna fitoterapija je za razliku od tradicionalne uporabe biljaka točno odredila djelatne tvari i doze, točno navela nuspojave i kontraindikacije. Kao i kod lijekova, kod fitoterapeutika najvažnije je djelovanje, doza i

dužina uzimanja. Na tržištu ima biljnih pripravaka koji će u razumnom roku korištenja poboljšati zdravstveno stanje, ali ga duljim korištenjem mogu ozbiljno narušiti.

U fitoterapiji se biljka rijetko koristi u svom svježem obliku, onako kako je pronađena u prirodi jer su svježe biljke vrlo osjetljive i sklone fermentaciji i procesima truljenja. Biljna droga može se iscrpiti vodom, vodenom parom, 70%-tnim etanolom ili nekim biljnim uljem. Eterična ulja citrusa i svježi sokovi biljaka dobivaju se tiještenjem. Svježe iscjeđeni sokovi moraju se koristiti odmah. Količina ovisi o vrsti ljekovite biljke pa može iznositi pola do dvije šalice na dan (npr. za brusnicu) ili 2 ml soka u pola čaše mlake vode tri puta na dan (npr. za češnjak, grejp). Tekući alkoholni ekstrakti biljaka (tinkture, močevine) su vrlo učinkoviti kao biljne kapi koje se uzimaju samostalno ili kao dodatak piću i hrani. Ukoliko nije drugačije propisano, piju se tri puta dnevno po 25 kapi u pola čaše mlake vode. Tinkture imaju rok trajanja minimalno jednu godinu, a moraju se čuvati u tamnim bočicama, zaštićeni od svjetlosti te na hladnom [4].

## 2.2. NAČIN DJELOVANJA LJEKOVITIH BILJAKA

Mnoge ljekovite biljke u sebi sadrže aktivne ljekovite tvari koje djeluju baktericidno (sprječavaju rast i razmnožavanje bakterija i ubijaju ih) ili bakteriostatski (sprječavaju rast i razmnožavanje bakterija). Većina ljekovitih biljaka sadrži više djelotvornih sastojaka, a prevladavajuća djelotvorna tvar određuje područje primjene. Ta tvar ciljano djeluje u našem organizmu na određena tkiva, organe ili funkcije tako što pojačava obrambenu snagu, podupire funkciju organa ili sustava ili potiče liječenje [3].

### 2.2.1. Ljekovita svojstva brusnice (*Vaccinium vitis idaea L.*)

Brusnica se može konzumirati svježa, kao čaj ili sok. Znanstvenici kažu kako je dovoljno piti jednu čašu soka od brusnice na dan da bi se spriječile sve infekcije mokraćnog sustava [1]. Prema najnovijim znanstvenim istraživanjima najljekovitiji sastojak brusnice je arbutin koji djeluje kao antibiotik i diuretik, a nalazi se u listovima brusnice. Stoga pripravci od listova brusnice imaju značajniju primjenu od plodova brusnice u liječenju upala mokraćnih putova izazvanih bakterijom *Escherichia coli* te infekcija gljivicom *Candida* [3]. Prirodni ekstrakt brusnice djeluje antibiotski na bakterije, bez opasnosti na razvoj otpornosti organizma prema lijeku ili pojavljivanja gljivica, koje su posljedica čestih uzimanja

antibiotika. Brusnice nisu samo efikasne u liječenju infekcija mokraćnog sustava, već su dobre i za smanjenje lošeg kolesterola u krvi, liječenje čira na želucu, smanjenje rizika od srčanih bolesti i očuvanje zubi [2].

### **2.2.2. Ljekovita svojstva češnjaka (*Allium sativum* L.)**

Češnjak je kao protuupalno sredstvo bio poznat još kod starih Grka, Rimljana i drevnih Egipćana. Upotrebljavali su ga za liječenje rana, upala i tumora. U oba svjetska rata češnjak je spasio tisuće života spriječivši infekcije rana. Zdrobljenog su ga stavljali na rane. Novija istraživanja pokazuju da sok češnjaka može usporiti rast ili uništiti više od 60 vrsta gljivica te više od 20 vrsta bakterija. Učestalim jedenjem svježeg češnjaka uspješno se borimo i protiv virusnih zaraznih bolesti, naročito protiv gripe [1]. Pokazao se odličnim i u smanjivanju kolesterola u krvi te se proučavao zbog svojih antikancerogenih svojstava. Ulje češnjaka sadržava sumporni spoj pod nazivom alicin koji mu daje antimikrobna svojstva. Preporučuje se za liječenje bronhitisa, prehlade, kašlja, povišene tjelesne temperature, grlobolje, kao i u slučajevima sklonosti infekcijama. Jednako je učinkovit i u prevenciji i u liječenju, međutim da bi bio učinkovit mora se koristiti u velikim dozama [4].

### **2.2.3. Ljekovita svojstva grejpa (*Citrus paradisi* L.)**

Grejp je najjači raspoloživi prirodni antibiotik koji uništava širok spektar mikroba, uključujući viruse, bakterije i gljivice. Najviše aktivnih tvari sadrže sjemenke grejpa koje se koriste u obliku tinktura. Uporaba grejpa zapravo počela u poljoprivrednoj industriji, i to za zaustavljanje širenja plijesni na pohranjenim poljoprivrednim proizvodima. Zbog jakih antiseptičkih svojstava bio je i u uporabi u bolnicama za čišćenje kirurške opreme, a u bazenima se upotrebljavao umjesto klora. Preporučuje se za sve vrste upala, površinske rane i kožne čireve (uzročnik je bakterija *Staphilococcus aureus*) te za ispiranje kod vaginalnih upala, ali i kao sprej za nos kod upala gornjih dišnih puteva. Pomaže kod prehlada i gripa, crijevnih infekcija i upala mokraćnih puteva. Uvijek ga treba uzeti razrijeđenog (u vodi ili soku) jer u suprotnom može naštetiti sluznicama i koži. Kod duljeg uzimanja, u prehranu treba uvrstiti probiotike kako bi nadomjestili dobre bakterije u crijevima koje će on također ukloniti [4].

#### **2.2.4. Ljekovita svojstva hrena (*Armoracia lapathifolia* Gilib.)**

Ljekovite i djelotvorne tvari pohranjene su u korijenu biljke. Koriste se najčešće u svježem stanju. Korijen se u jesen može pospremiti u podrumima, u vlažnom pijesku. Korijen hrena sadrži jaka eterična ulja, koja kod ribanja izazivaju suženje i kihanje te niz drugih aktivnih tvari koje imaju vrlo široku primjenu. Hren pospješuje izlučivanje mokraćne, brzo smanjuje upalu mjehura, smiruje upalu debelog crijeva, ublažava kašalj. Bogatstvo vitamina C iz hrena sprječava i liječi skorbut. U pučkoj medicini ima vrlo široku primjenu, bilo kuhan u vodi ili svježe nariban. [5].

#### **2.2.5. Ljekovita svojstva kadulje (*Salvia officinalis* L.)**

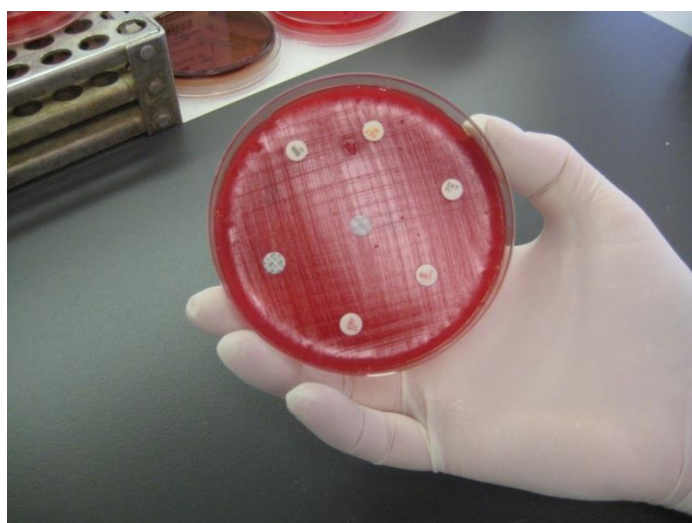
Postoje mnogi podaci o upotrebi kadulje kao začinske i ljekovite biljke od najstarijih civilizacija. Ime *salvia* potječe od latinskog *salvare* što znači spasiti. Rimljani su je nazivali svetom travom, a koristili su je kao ljekoviti napitak [2]. Danas se njezina antiseptična svojstva koriste za djelotvorno grgljanje kod grlobolja uključujući i streptokoknu anginu (uzročnik je bakterija *Streptococcus pyogenes*). Izvrstan je lijek za upale usta (upale desni i usne sluznice te afti), djelotvorna je protiv gljivica, potiče obranu organizma, smanjuje stvaranje znoja i liječi rane [4]. Kod primjene treba biti oprezan stoga što kadulja ima eterična ulja koja djeluju uspavljujuće ili čak dovode do opijenosti. Veće količine djeluju toksično pa se ne smije upotrebljavati stalno, a uopće se ne smije koristiti u trudnoći i za vrijeme dojenja [3].

### **2.3. ANTIBIOGRAM**

Antibiogram je rezultat ispitivanja osjetljivosti mikroorganizma (bakterija) na antibiotike. Izradi antibiograma prethodi izolacija i identifikacija uzročnika infekcije. Najčešće se u mikrobiološkim laboratorijima provodi disk difuzijska metoda. Ova metoda je jednostavna za izradu, jeftina, brzo daje potrebne podatke (već za 24 sata nakon izolacije i identifikacije bakterija) i omogućava ispitivanje osjetljivosti izolata na više antibiotika istovremeno. Suspenzija ispitivanog soja bakterija nanosi se na krutu hranjivu podlogu (slika 1), zatim se na površinu podloge postavljaju diskovi filter papira s impregniranim antibioticima određene koncentracije (slika 2).



**Slika 1** - Nanošenje bakterijskog soja *S. pyogenes* na Müller-Hintonov agar



**Slika 2** – Diskovi filter papira s impregniranim različitim antibioticima

Slijedi inkubacija kroz 18 - 24 sata u termostatu na 36°C. Kroz to se vrijeme antibiotik raširi iz diska u agar. Bakterije će rasti u okolini diska ovisno o svojoj osjetljivosti na antibiotik. Što je soj osjetljiviji na antibiotik to će se oko diska pojaviti veća zona inhibicije rasta bakterija [6].



### 3. PRETPOSTAVKE I HIPOTEZE

U medijima često reklamiraju razne biljne pripravke prikladne za sprječavanje ili liječenje bolesti. Mnoge od njih koristimo u svakodnevnom životu u pripremi jela ili kao začine, a zapravo su izvor raznih aktivnih tvari s antimikrobnim učinkom.

Došao je kraj vremenu u kojem se slijepo vjerovalo sintetičkim antibioticima. I medicinski udžbenici upozoravaju nas da trošenje antibiotika nije bezopasno. Iako su sintetički antibiotici lijekovi koji se još uvijek najviše propisuju diljem svijeta, sve češće se primjenjuju opreznije i savjesnije. Danas se zna da prečesta upotreba sintetičkih antibiotika dovodi do pojave novih visokootpornih bakterija. Poznati su i mnogi neželjeni učinci sintetičkih antibiotika kao što su: pojava gljivica na koži i sluznicama, alergije, uništavanje korisnih crijevnih bakterija, teža apsorpcija vitamina i minerala, bolesti bubrega i dr. U potrazi za mogućom zamjenom sve se više koriste biljni lijekovi jer omogućuju uravnotežen i prirodan način liječenja zaraza i upala bez neželjenih popratnih pojava.

Osnovni je cilj ovog istraživanja bio usporediti antibakterijsko djelovanje istraživanih biljaka (brusnica, češnjak, hren, grejp, kadulja) na bakterije koje često izazvaju infekcije kože, dišnih ili mokraćnih puteva (*S. aureus* ATCC 25 923, *S. pyogenes* i *E. coli* ATCC 25 922). Isto se tako ovim istraživanjem željela usporediti djelotvornost biljnih i standardnih antibiotika.

Na osnovi podataka iz literature očekuje se pozitivan antibakterijski učinak ispitivanih biljaka.

## 4. MJERENJA I REZULTATI

### 4.1. MATERIJAL

- ispitivane biljke: 1. brusnica (*Vaccinium vitis idaea L.*) – plod
- 2. brusnica (*Vaccinium vitis idaea L.*) - list
- 3. češnjak (*Allium sativum L.*) – lukovica
- 4. hren (*Armoracia lapathifolia Gilib.*) - korijen
- 5. grejp (*Citrus paradisi L.*) - sjemenke
- 6. kadulja (*Salvia officinalis L.*) - list
- pribor za ekstrakciju biljnog materijala (skalpel, ribež, tarionik s tučkom, staklene čaše, cjedilo)
- precizna laboratorijska vaga
- 70% etanol
- sterilne bočice od 10 ml
- gotove hranjive podloge (*Müller-Hintonov* agar, krvni i beskrvni)
- sterilna mikrobiološka ušica (eza)
- čisti sojevi bakterija *Streptococcus pyogenes* , *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922
- termostat
- flomasteri
- fotoaparati

## 4.2. MJERENJA

Istraživanje je provedeno u školskom praktikumu i Mikrobiološkom laboratoriju Županijske bolnice Čakovec. U školskom su praktikumu izrađeni uzorci biljnih tinktura potrebne za daljnje istraživanje. U Mikrobiološkom laboratoriju rađeno je sa standardiziranim gotovim uzorcima patogenih (neinfektivnih) bakterija. Za osobnu zaštitu u radu korištene su: zaštitne kute, zaštitne sterilne rukavice te su se primjenjivala sredstva za dezinfekciju ruku nakon rada s patogenim bakterijama.

### 4.2.1. Izrada biljnih tinktura

Tinkture su izrađene u školskom praktikumu (slike 3 i 4). Za sve biljke korišten je isti postupak izrade tinktura. Ispitivana je biljka usitnjena te prelivena 70% etanolom u omjeru 1:5 (npr. 5g suhih listova brusnice i 25g etanola, 5g sjemenki grejpa i 25 g etanola). Biljke su se natapale u etanolu 5 dana, nakon čega su procijeđene i filtrirane. Pripremljene otopine spremljene su u sterilne plastične bočice od 10 ml. Tako pripremljene tinkture čuvane su u hladnjaku.

Izrađene su tinkture od suhih listova kadulje (*Salvia officinalis L.*), od suhih listova i suhih plodova brusnice (*Vaccinium vitis idaea L.*), režnjeva svježeg češnjaka (*Allium sativum L.*), korijena hrena (*Armoracia lapathifolia gilib.*) i sjemenki grejpa (*Citrus paradisi L.*).



Slike 3 i 4 – Izrada biljnih tinktura

### 4.2.2. Ispitivanje antibiotskog učinka biljnih tinktura

Prilikom izvođenja mikrobiološkog testa korištena je metoda difuzije. Korišteni su umjetno uzgojeni, čisti sojevi bakterija *Streptococcus pyogenes* (BHS „A“), *Staphylococcus*

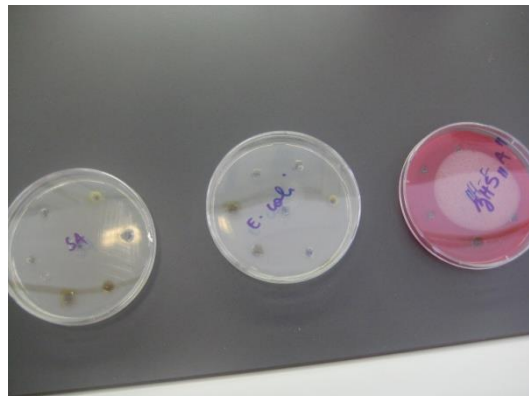
*aureus* ATCC 25 923 (SA) i *Escherichia coli* ATCC 25 922 (*E. coli*). Kao podloga u Petrijevim zdjelicama korišten je Müller-Hintonov krvni agar za bakteriju *S. pyogenes* te beskrvni Müller-Hintonov agar za *E. coli* i *S. aureus*.

Na odgovarajućoj su hranjivoj podlozi sterilnom bakteriološkom ušicom napravljene rupice promjera 6 mm, a zatim je određeni soj bakterije (inokulum u sterilnoj fiziološkoj otopini) nasaden brisom na površinu agara (slika 5). U rupice su ukapane po dvije kapi priređenih biljnih tinktura (slika 6). Prethodno su brojevima označena mjesta na petrijevim zdjelicama (prema popisu biljaka u poglavlju 3.1. Materijal).

Sve Petrijeve zdjelice stavljene su u termostat (na 36 °C, 24 sata), a nakon toga su provjereni rezultati i izmjerene zone inhibicije rasta bakterija. Isti postupak ponovljen je još tri puta u razmaku od dvadeset i četiri sata.



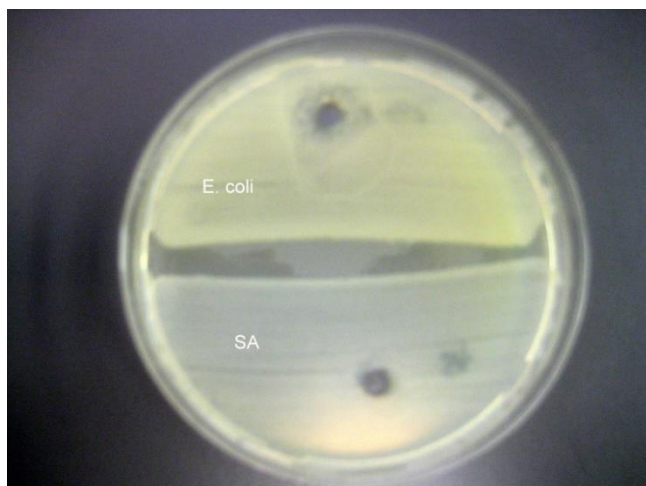
*Slika 5* – Nasađivanje bakterijskog soja



*Slika 6* – Podloge nakapane s tinkturama

#### 4.2.3. Kontrolni test na alkohol

Napravljeni su kontrolni uzorci. Na podlogu s ispitivanim sojevima bakterija ukapan je 70% etanol koji je korišten za izradu tinktura. Željelo se dokazati da alkohol nije čimbenik zbog kojeg nastaju zone inhibicije rasta (slika 7). Petrijeve zdjelice stavljene su u termostat (na 36 °C, 24 sata), a nakon toga su provjereni rezultati.



*Slika 7* – Alkohol nanešen na podlogu s *Escherichiom coli* i *Staphylococcus aureus*

#### 4.2.4. Ispitivanje antibiotičkog učinka standardnih antibiotika

Na hranjive podloge s nasadenim sojevima ispitivanih bakterija stavljeni su diskovi filter papira impregnirani standardnim antibioticima kako bi se mogla usporediti učinkovitost ispitivanih biljnih tinktura sa standardnim antibioticima (slika 8). Nisu korišteni isti standardni antibiotici za sve tri vrste bakterija, već oni koji se za pojedini soj najčešće koriste u praksi. Podloge su stavljene u termostat (na 36 °C, 24 sata), a nakon toga su provjereni rezultati i izmjerene zone inhibicije rasta bakterija. Postupak je ponovljen još tri puta.



*Slika 8* - Nanošenje diskova s impregniranim standardnim antibioticima

## 4.3. REZULTATI

### 4.3.1. Rezultati antibakterijskog učinka ispitivanih biljnih tinktura

Rezultati antibakterijskog učinka biljnih tinktura ploda i lista brusnice, režnjeva češnjaka, sjemenki grejpa, korijena hrena i listova kadulje dobiveni su mjerenjem promjera zona inhibicije rasta bakterija (izraženo u mm). Ukupno su provedena po četiri mjerenja za sve ispitivane uzorke tinktura na tri vrste bakterija: *Staphylococcus aureus* ATCC 25 923, *Escherichia coli* ATCC 25 922 te *Streptococcus pyogenes*.

Svi dobiveni rezultati prikazani su u tablici 1.

**Tablica 1** – Rezultati mjerenja promjera zona inhibicije ispitivanih uzoraka izraženo u mm

VRSTA BAKTERIJE	BROJ MJERENJA	BILJNE TINKTURE (promjer zone inhibicije u mm)					
		plod brusnice	list brusnice	lukovica češnjaka	korijen hrena	sjemenke grejpa	list kadulje
<i>S. aureus</i> ATCC 25 923	1	0	19	0	0	26	15
	2	0	24	0	0	28	14
	3	0	15	0	0	22	13
	4	0	19	0	0	26	14
	SREDNJA VRIJEDNOST	0	19.3	0	0	25.5	14
<i>E. coli</i> ATCC 25 922	1	0	15	0	5	16	0
	2	0	16	0	4	17	0
	3	0	13	0	5	17	0
	4	0	14	0	6	15	0
	SREDNJA VRIJEDNOST	0	14.5	0	5	16.3	0
<i>S. pyogenes</i>	1	0	16	0	0	20	15
	2	0	15	0	0	22	15
	3	0	16	0	0	22	12
	4	0	16	0	0	21	14
	SREDNJA VRIJEDNOST	0	15.8	0	0	21.3	14

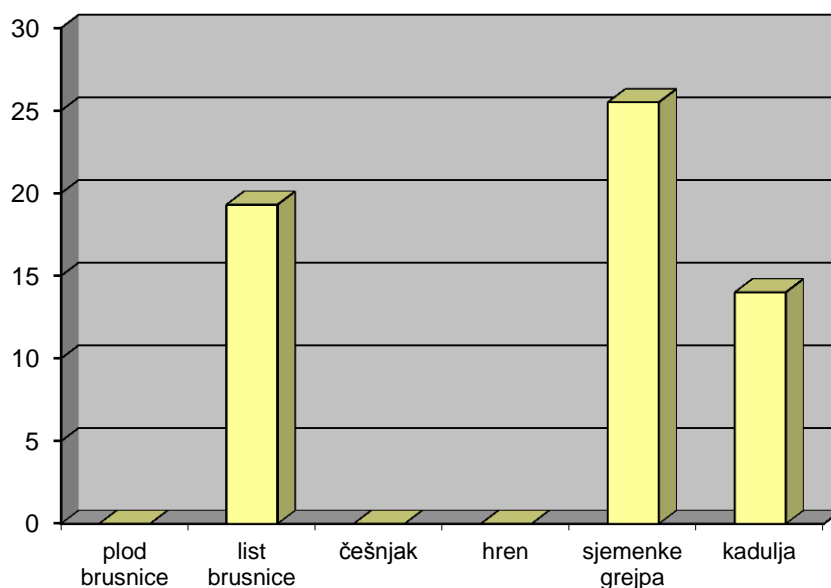
#### 4.3.1.1. Rezultati antibiograma za bakteriju *S. aureus* ATCC 25 923

Mjerenjem promjera zone inhibicije rasta na antibiogramima za bakteriju *S. aureus* ATCC 25 923 izračunata je srednja vrijednost svakog ispitivanog uzorka. Pojedinačni rezultati prikazani su u tablici 1. Srednje vrijednosti iznose 0 mm za plod brusnice, 19.3 mm za list brusnice, 0 mm za lukovicu češnjaka, 0 mm za korijen hrena, 25.5 mm za sjemenke grejpa i 14 mm za list kadulje.

Prema srednjim vrijednostima svih provedenih mjerenja najbolji antibiotski učinak na bakteriju *S. aureus* ATCC 25 923 ima tinktura sjemenki grejpa, zatim lista brusnice i lista kadulje. Ostale biljne tinkture nisu dale pozitivne rezultate ni u jednom od četiri provedena mjerenja (slika 9, grafikon 1).



**Slika 9** - Antibiogram *S. aureus* ATCC 25 923 na ispitivane biljne tinkture



**Grafikon 1** - Usporedba srednjih vrijednosti promjera zona inhibicije za *S. aureus* ATCC 25 923

#### 4.3.1.2. Rezultati antibiograma za bakteriju *E. coli* ATCC 25 922

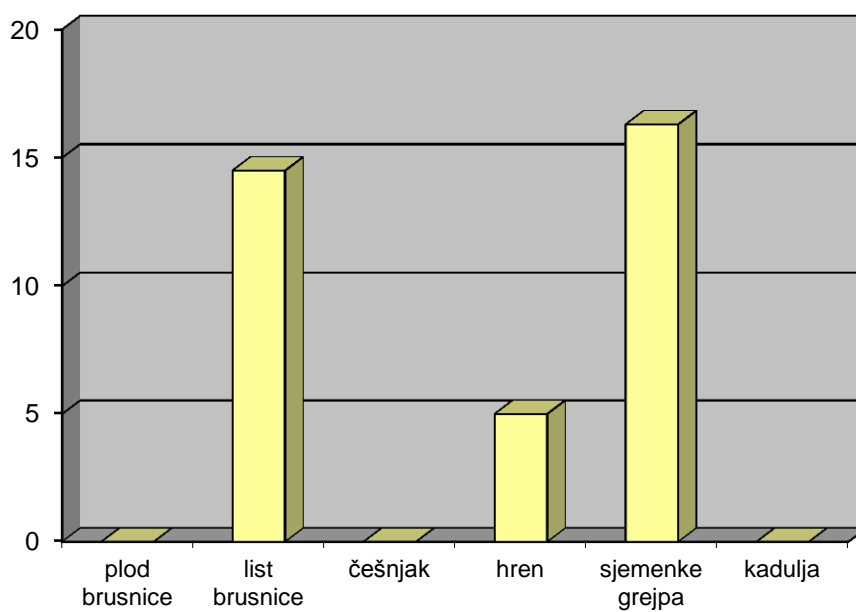
Mjerenjem promjera zone inhibicije rasta na antibiogramima za bakteriju *E. coli* ATCC 25 922 izračunata je srednja vrijednost svakog ispitivanog uzorka. Pojedinačni rezultati prikazani su u tablici 1. Srednje vrijednosti iznose 0 mm za plod brusnice, 14.5 mm za list brusnice, 0 mm za lukovicu češnjaka, 5 mm za korijen hrena, 16.3 mm za sjemenke grejpa i 0 mm za list kadulje.

Prema srednjim vrijednostima svih provedenih mjerenja najbolji antibiotički učinak na bakteriju *E. coli* ATCC 25 922 ima tinktura sjemenki grejpa, zatim lista brusnice te korijena hrena. Ostale biljne tinkture nisu dale pozitivne rezultate ni u jednom od četiri provedena mjerenja (slika 10, grafikon 2).





**Slika 10** – Antibiogram *E. coli* ATCC 25 922 na ispitivane biljne tinkture

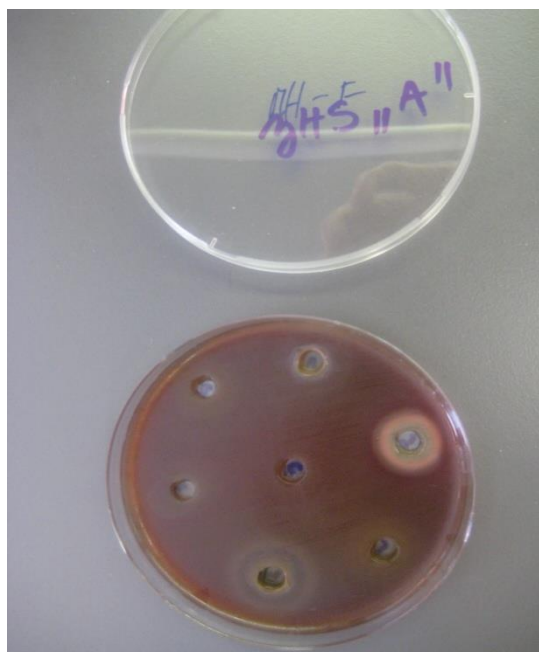


**Grafikon 2** - Usporedba srednjih vrijednosti promjera zona inhibicije za *E. coli* ATCC 25 922

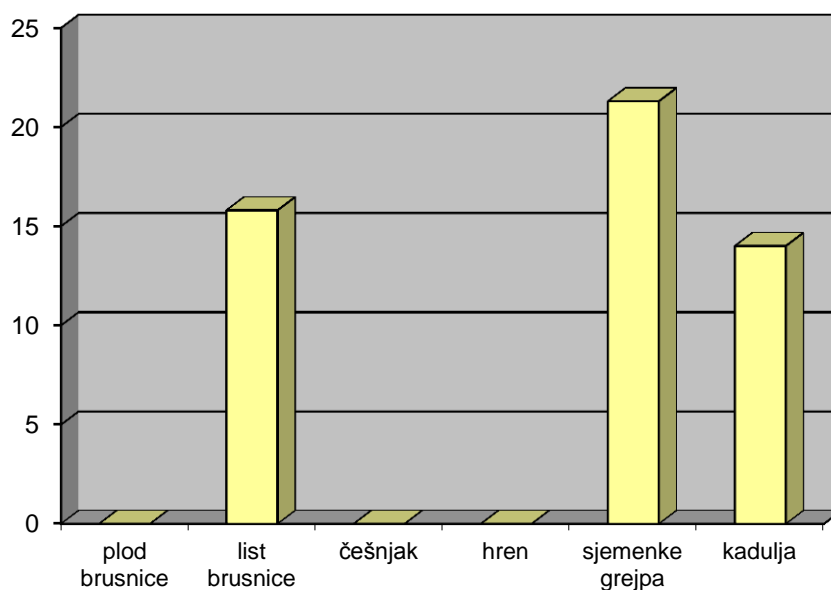
#### 4.3.1.3. Rezultati antibiograma za bakteriju *S. pyogenes*

Pojedinačni rezultati antibiograma za bakteriju *S. pyogenes* prikazani su u tablici 1. Srednje vrijednosti iznose 0 mm za plod brusnice, 15.8 mm za list brusnice, 0 mm za lukovicu češnjaka, 0 mm za korijen hrena, 21.3 mm za sjemenke grejpa i 14 mm za list kadulje.

Prema srednjim vrijednostima svih provedenih mjerenja najbolji antibiotički učinak na bakteriju *S. pyogenes* ima tinktura sjemenki grejpa, zatim lista brusnice te lista kadulje. Ostale biljne tinkture nisu dale pozitivne rezultate (slika 11, grafikon 3).



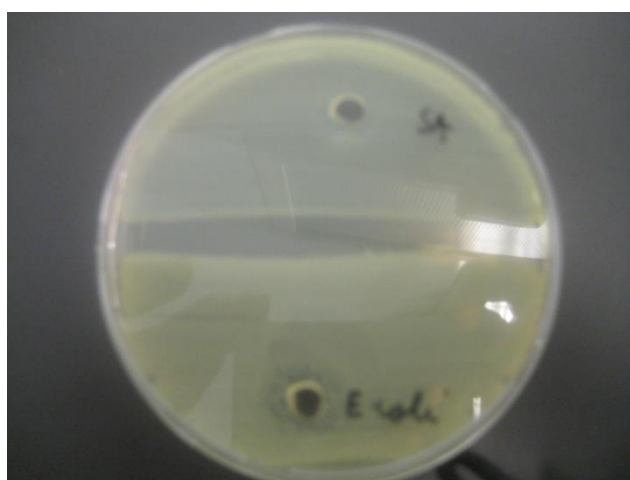
**Slika 11** – Antibiogram *S. pyogenes* na biljne tinkture



**Grafikon 3** - Usporedba srednjih vrijednosti promjera zona inhibicije za *S. pyogenes*

#### 4.3.2. Rezultati kontrolnog testa na alkohol

Kontrolni test, antibiogram u kojem se na podloge s ispitivanim vrstama bakterija nanosio 70%-tni etanol ne pokazuje zone inhibicije što znači da nema utjecaje na rezultate s uzorcima biljnih tinktura (slika 12).



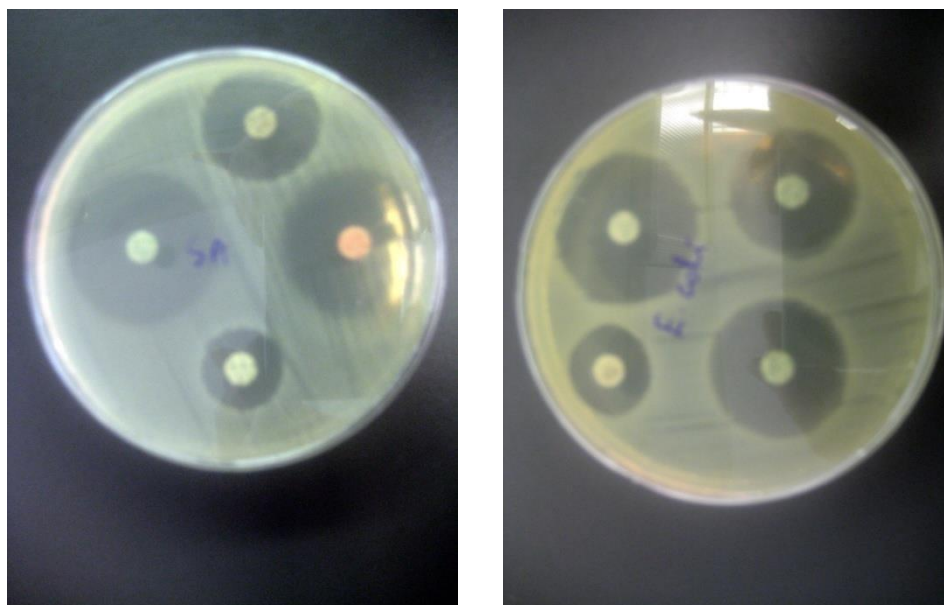
**Slika 12** – Djelovanje alkohola na *S. aureus* ATCC 25 923 i *E. coli* ATCC 25 922

### 4.3.3. Rezultati antibiograma na standardne antibiotike

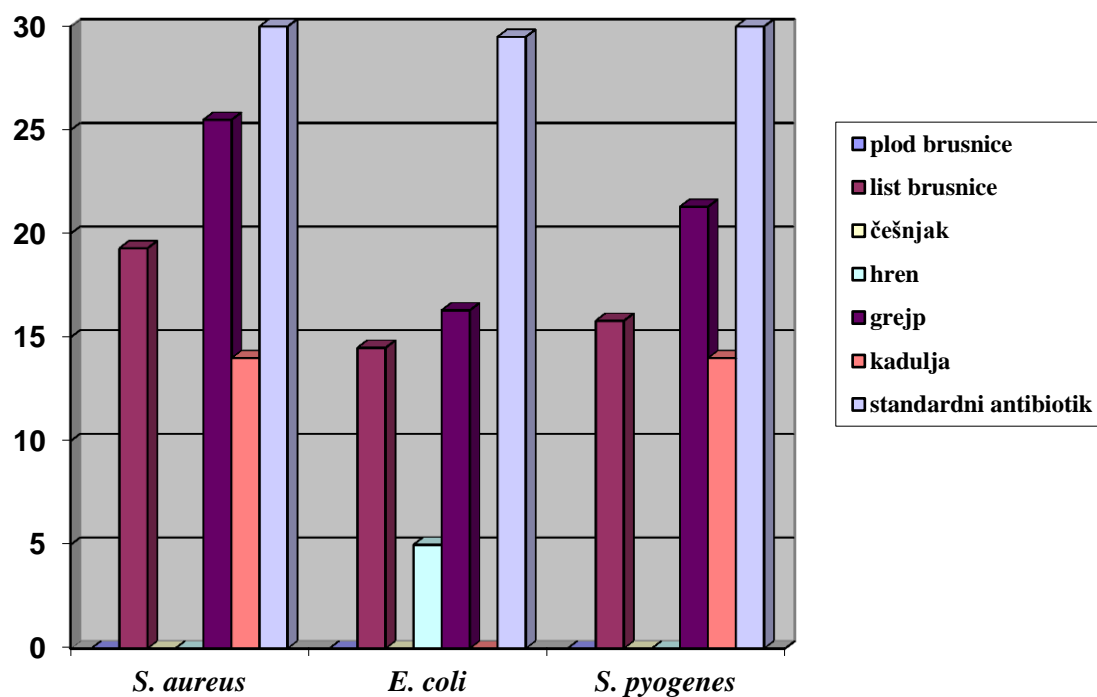
Prema provedenim mjerenjima najbolji antibiotički učinak na bakteriju *S. aureus* ATCC 25 923 ima standardni antibiotik cefaleksin sa prosječnom zonom inhibicije od 30 mm, zatim klindamicin čija srednja vrijednost zone inhibicije iznosi 28.5 mm, gentamicin s 23.5 mm i penicilin s najmanjom zonom inhibicije od 15.3 mm. Za *E. coli* ATCC 25 922 izmjerene su srednje vrijednosti zona inhibicije: gentamicin 24.5 mm, cefaleksin 24.3 mm, sulotrim 29.5 mm i nitrofurantoin 21.8 mm. Na *S. pyogenes* najbolje djeluje standardni antibiotik penicilin sa zonom inhibicije od 30 mm, zatim klindamicin 23 mm, eritromicin 26 mm i azitromicin 28 mm (tablica 2, slike 13 i 14).

**Tablica 2** – Rezultati mjerenja promjera zona inhibicije uzoraka standardnih antibiotika u mm

VRSTA BAKTERIJE	BROJ MJERENJA	STANDARDNI ANTIBIOTICI (promjer zone inhibicije u mm)							
		penicilin	gentamicin	klindamicin	cefaleksin	sulotrim	eritromicin	nitro-furantoin	azitromicin
<i>S. aureus</i> ATCC 25 923	1	16	24	28	30	-	-	-	-
	2	14	22	29	30	-	-	-	-
	3	15	24	28	29	-	-	-	-
	4	16	24	29	31	-	-	-	-
	SREDNJA VRIJEDNOST	15.3	23.5	28.5	30	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25 922	1	-	25	-	25	30	-	22	-
	2	-	23	-	23	28	-	21	-
	3	-	25	-	24	30	-	21	-
	4	-	25	-	25	30	-	23	-
	SREDNJA VRIJEDNOST	-	24.5	-	24.3	29.5	-	21.8	-
<i>S. pyogenes</i>	1	30	-	23	-	-	26	-	28
	2	29	-	21	-	-	24	-	27
	3	30	-	23	-	-	25	-	28
	4	31	-	24	-	-	26	-	29
	SREDNJA VRIJEDNOST	30	-	22.8	-	-	25.3	-	28



*Slike 13 i 14* – Djelovanje standardnih antibiotika na *S. aureus* ATCC 25 923 i *E. coli* ATCC 25 922



*Grafikon 4* - Usporedba promjera zona inhibicije prirodnih i najdjelotvornijeg ispitivanog standardnog antibiotika na ispitivane sojeve bakterija

## 5. RASPRAVA

Iako su u literaturi pronađeni podaci koji govore da ispitivane biljke (brusnica - *Vaccinium vitis idaea* L.; češnjak - *Allium sativum* L.; hren - *Armoracia lapathifolia* Gilib.; grejp - *Citrus paradisi* L., kadulja - *Salvia officinalis* L.) imaju antibiotsko djelovanje, u istraživanju nisu dobiveni svi očekivani rezultati. Samo neke biljke potvrdile su navode iz literature. Najbolje rezultate na svim ispitivanim sojevima bakterija (*S. aureus* ATCC 25 923, *E. coli* ATCC 25 922 i *S. pyogenes*) dale su sjemenke grejpa i listovi brusnice (za plod brusnice nismo dobili pozitivan rezultat). Nešto slabiji učinak obje biljke imaju na *E. coli* (uzročnika upale mokraćnog sustava). Tinktura lista kadulje je pokazala djelotvornost samo na bakterijama *S. aureus* ATCC 25 923 i *S. pyogenes*, dok na *E. coli* ATCC 25 922 nije djelovala. Iako je korijen hrena pokazao antibiotsko djelovanje na bakteriju *E. coli*, rezultat zone inhibicije je toliko malen može biti zanemaren. Češnjak nije dao očekivane rezultate niti na jednom ispitivanom uzorku.

Najdjelotvornijima su se u literaturi, ali i u istraživanju pokazale sjemenke grejpa. One imaju značajno bolje antibakterijsko djelovanje od lista brusnice pri djelovanju na bakterije *S. aureus* ATCC 25 923 i *S. pyogenes*, a manja razlika postoji pri djelovanju na *E. coli*. U odnosu na kadulju sjemenke grejpa su izrazito jakog antibiotskog djelovanja. Najveća razlika postoji u djelovanju na *E. coli* jer kadulja nije pokazala pozitivan rezultat.

Listovi brusnice su, iako slabijeg djelovanja od sjemenki grejpa, dali bolje rezultate od listova kadulje. Prema literaturi kadulja ima izrazita antiseptična svojstva te se spominje kao izvrstan lijek protiv grlobolje, no u našem je istraživanju bolji učinak na uzročnika upale grla (*S. pyogenes*) pokazala brusnica.

Uspoređujući rezultate zone inhibicije za ispitivane biljke i standardne antibiotike utvrđeno je da neke vrste standardnih antibiotika imaju slabije djelovanje na bakteriju *S. aureus* od ispitivanih biljaka. Tako u našem istraživanju sjemenke grejpa pokazuju bolje rezultate od penicilina i gentamicina, a brusnica samo od penicilina. Na bakterije *E. coli* i *S. pyogenes* standardni antibiotici imaju puno jači učinak od naših biljnih tinktura.

## 6. ZAKLJUČCI

Analizirajući rezultate istraživanja došli smo do sljedećih zaključaka:

1. Istraživanjem je potvrđeno da postoje biljke s aktivnim sastojcima koji imaju antibakterijsko djelovanje.
2. Od svih ispitivanih biljaka značajnije antibakterijsko djelovanje pokazale su sjemenke grejpa (*Citrus paradisi L.*), listovi brusnice (*Vaccinium vitis idaea L.*), listovi kadulje (*Salvia officinalis L.*) i korijen hrena (*A Armoracia lapathifolia Gilib.*).
3. Sjemenke grejpa i listovi brusnice pokazali su antibakterijsku djelotvornost na sve ispitivane vrste bakterija: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 i *Streptococcus pyogenes*.
4. Listovi kadulje pokazali su antibakterijsku djelotvornost na bakterije *S. aureus* i *S. pyogenes*.
5. Korijen hrena ima vrlo slabo antibakterijsko djelovanje i to samo na bakteriju *E. coli*.
6. Sjemenke grejpa pokazale su najveću djelotvornost na sve ispitivane bakterije.
7. Plod brusnice i češnjak nisu pokazali antibakterijsko djelovanje na ispitivane bakterije.
8. Biljni antibiotici imaju uglavnom slabije antibakterijsko djelovanje od standardnih.

## 7. POPIS LITERATURE

- [1] Carper J., 2000. Hrana čudesni lijek, LEO-COMMERCE d.o.o., Rijeka, str. 428 – 454.
- [2] Grlić Lj., 1986. Enciklopedija samoniklog jestivog bilja, ITRO August Cesarec, Zagreb, str. 249 – 265.
- [3] Mohring W., 2000. Antibiotici iz prirode, Mozaik knjiga, Zagreb, str. 4- 48.
- [4] McKenna J., 2009. Prirodni antibiotici, Mozaik knjiga, Zagreb, str. 17-30, 75-105.
- [5] Willfort R., 1989: Ljekovito bilje i njegova upotreba, Mladost, Zagreb.
- [6] Trishler-Čeke Z. Primjenjena mikrobiologija za liječnike obiteljske medicine <http://www.snz.unizg.hr/edz/ordinacija/Mikrobiologija/antibiogram.htm>; Odjel za mikrobiologiju, Zavod za javno zdravstvo županije Vukovarsko-Srijemske, Vinkovci. Pristupljeno 25.siječnja 2012.