

12

Interakcije laškega smilja z mikroorganizmi

Katja Kranjc

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*

Karin Šik Novak

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



© 2025 Katja Kranjc in Karin Šik Novak

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.12>

Uvod

Odpornost mikroorganizmov na protimikrobna sredstva je globalni problem, ki lahko pomembno vpliva na zdravje ljudi, živali in okolja. Pojav in širjenje protimikrobne odpornosti ogrožata učinkovitost zdravil, ki se uporabljajo za zdravljenje nalezljivih bolezni. Poleg tega lahko odpornost na antibiotike v živinoreji prispeva k prenosu odpornih patogenov z živali na človeka preko prehranske verige in okolja. V luči teh izzivov se raziskovalci vse bolj osredotočajo na iskanje novih protimikrobnih učinkovin naravnega izvora, ki bi lahko zmanjšale to tveganje in proti katerim še ni dokazane odpornosti. Rastline iz družine nebinovk predstavljajo obsežno skupino rastlin, ki so znane po svoji uporabi v tradicionalni medicini za zdravljenje različnih bolezni in zdravstvenih težav. Med njimi je tudi laški smilj, katerega uporaba ni tuja pri pospeševanju celjenja ran ter lažšanju simptomov ob vnetju respiratornega in prebavnega trakta. Učinkovitost pripisujejo predvsem vsebnosti bioaktivnih učinkovin, kot so flavonoidi, terpeni in polifenoli. V tem poglavju bomo povzeli rezultate raziskav o protimikrobnem delovanju pripravkov iz laškega smilja in njihovih potencialnih pozitivnih vplivih na sestavo črevesne mikrobne združbe.

Protimikrobni učinek pripravkov iz laškega smilja

Za določanje protimikrobnega učinka laškega smilja *in vitro* se najpogosteje uporabljata (a) metoda redčenja v tekočem mediju in (b) metoda difuzije v agarju (Balouiri idr. 2016). Protimikrobni učinek se določa glede na minimalno inhibitorno koncentracijo (angl. *minimum inhibitory concentration* – MIK) ali minimalno baktericidno koncentracijo (angl. *minimum bactericidal concentration* – MBK). MIK predstavlja najnižjo koncentracijo testirane spojine, ki vidno zavira rast mikroorganizma, MBK pa najnižjo koncentracijo, ki povzroči smrt mikroorganizma (Andrews 2001). Na splošno pri testiranju fitokemikalij velja, da so učinkovita protimikrobna sredstva, če je določena vrednost MIK v razponu od 0,1 do 1,0 mg/mL (Simões idr. 2009). Pri metodi difuzije v agarju, kjer se protimikrobna učinkovitost ocenjuje glede na premer cone inhibicije, pa je opredelitev naslednja: < 10 mm – brez protimikrobnega učinka; 10–15 mm – šibek protimikrobni učinek; 16–20 mm – zmeren protimikrobni učinek; > 20 mm – močan protimikrobni učinek (Pirvu idr. 2014).

Pregled literature kaže, da je primerljivost rezultatov omejena zaradi različnih pristopov k metodologiji testiranja protimikrobne učinkovitosti ter zaradi razlik v izbiri testnih mikroorganizmov. Takšna variabilnost rezultatov poudarja pomen določitve kemijske sestave testiranega pripravka, saj lahko le na ta način zagotovimo njegovo ponovljivo in učinkovito delovanje. Eden ključnih dejavnikov, ki vpliva na kemijsko sestavo in s tem na protimikrobni potencial, je poreklo rastlinskega materiala. Npr., eterična olja laškega smilja s Korzike, ki so bogata z neril acetatom, imajo drugačen protimikrobni profil kot eterična olja iz Bosne, kjer prevladujeta α -pinen in γ -kurkumen (Genčić idr. 2021). Sestava eteričnega olja je odvisna tudi od dela rastline, iz katerega je pripravljeno; v eteričnem olju iz zelenih delov rastline sta bili dominantni spojini neril acetat in α -pinen, v socvetju pa neril acetat in nerol. Eterični olji sta se razlikovali tudi po bioloških aktivnostih; olje iz zelenih delov rastline je imelo višji antioksidativni potencial, medtem ko je eterično olje iz socvetja pokazalo izrazitejšo protimikrobno učinkovitost (Węglarz idr. 2022). Na izkoristek in delež bioaktivnih spojin pomembno vplivajo tudi dejavniki, kot sta sam postopek in pa pogoji priprave končnega izdelka.

Kljub številnim pripravkom iz laškega smilja se največ raziskav protimikrobnega delovanja osredotoča na eterična olja, alkoholne izvlečke in posamezne bioaktivne učinkovine. V preglednici 1 so povzete najnovejše raziskave o testiranju eteričnega olja laškega smilja, vključno

z uporabljenimi metodami in glavnimi ugotovitvami. Raziskave kažejo, da so ključne učinkovine eteričnega olja, ki prispevajo k protimikrobnemu delovanju, neril acetat, α -pinen in γ -kurkumen (Šovljanski idr. 2024). Nekatere raziskave poročajo o večji učinkovitosti eteričnega olja proti po Gramu pozitivnim bakterijam v primerjavi s po Gramu negativnimi. Slednje pripisujejo razlikam v sestavi celične stene bakterij ter prisotnosti oksigeniranih monoterpenov v eteričnem olju, kot sta nerol in geraniol (Djihane idr. 2017; Mollova idr. 2020; Węglarz idr. 2022; Zheljazkov idr. 2022). Tudi Mastelic idr. (2005) navajajo, da ima terpenoidna frakcija eteričnega olja, ki vsebuje geraniol, geranil in neril acetat, močnejši protimikrobni učinek kot frakcija neoksisogeniranih terpenov. Protimikrobni učinek eteričnega olja se je pokazal v zvezi s številnimi medicinsko pomembnimi mikroorganizmi, vključno z bakterijami *Staphylococcus aureus* in na meticilin odpornim *S. aureus* (angl. *methicillin-resistant S. aureus* – MRSA), *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Haemophilus influenzae* idr. (preglednica 1). To nakazuje potencial laškega smilja kot učinkovite alternative ali dopolnitve terapijam pri okužbah, ki jih povzročajo tudi proti antibiotikom odporni bakterijski sevi. Eterično olje laškega smilja iz Francije, ki je vsebovalo visok delež neril acetata (32,7–33,8 %) in γ -kurkumena (11,6–14,2 %), se je pokazalo za učinkovito pri zaviranju tvorbe biofilma *S. aureus* na različnih površinah, ki prihajajo v stik s hrano. To je ključnega pomena, saj z zunajceličnimi polisaharidi obdani mikroorganizmi izkazujejo večjo odpornost proti dejavnikom okolja in protimikrobnim sredstvom. Aplikacija eteričnega olja je poleg tega uspešno zavirala rast bakterij *E. coli* in *S. aureus* na zelenjavi, kar nakazuje njegov potencial za izboljšanje varnosti živil in preprečevanje okužb, povezanih s hrano (Cui idr. 2016). Med predstavniki kraljestva gliv je bil protimikrobni učinek eteričnega olja največkrat testiran na kvasovki *Candida albicans*, vendar se rezultati raziskav precej razlikujejo. Razlike v rezultatih pripisujejo različni kemijski sestavi eteričnih olj, različnim eksperimentalnim pogojem in testiranim sevom (Šovljanski idr. 2024).

Poleg eteričnega olja se je protimikrobna učinkovitost pokazala tudi za hidrolat laškega smilja. Njegov učinek ni bil omejen zgolj na neposredno zaviranje rasti, temveč tudi na preprečevanje adhezije s hrano prenosljivih patogenih bakterij (Bezek idr. 2022). V kmetijsko-živilskem sektorju se cvetovi laškega smilja lahko uporabljajo za začinjjanje in aromatiziranje živil, kot so pekovski izdelki in brezalkoholne pijače, ter kot naravni

konzervans. Raziskave so pokazale protimikrobni učinek na potencialne povzročitelje kvarjenja živil, kot so bakterije *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* in *P. aeruginosa*), glivi *Aspergillus niger* in *Alternaria alternata* (Djihane idr. 2017) ter insekti (*Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae)) (Conti idr. 2010). Izvlečki laškega smilja, pripravljene s topili, kot sta dietil eter ali etanol, so se pokazali za učinkovite pri zaviranju rasti *S. aureus*, MRSA in kariogene bakterije *Streptococcus mutans*. Poleg tega so imeli izvlečki zaviralni učinek na delovanje encimov, ki veljajo za pomembne virulentne dejavnike (koagulaza, DNAza, termonukleaza in lipaza) (Nostro idr. 2001; Nostro idr. 2004). Metanolni izvlečki rastlinskega materiala iz Kalabrije in s Sardinije so, podobno kot eterično olje, pokazali večjo učinkovitost proti po Gramu pozitivnim bakterijam in glivam (Tundis idr. 2005). Raziskave prav tako potrjujejo protimikrobni učinek posameznih izoliranih frakcij. Derivati stirilpironov in kinske kisline, derivata aminofloroglucinola, derivat acetofenona ter ursolna kislina, pridobljeni iz metanolnega izvlečka, so se izkazali za učinkovite proti bakterijam *P. aeruginosa* in *S. epidermidis* (D'Abrosca idr. 2013; D'Abrosca 2016). Med testiranimi fenolnimi spojinami, ki vključujejo kumarate, benzofurane, pirone in heterodimerne floriglucinoles, so se samo slednji pokazali za učinkovite proti MRSA (Taglialatela-Scafati idr. 2013). Kot učinkovit tradicionalni pripravek se je pokazal tudi poparek, saj je preprečil prehajanje bakterije *Salmonella infantis* skozi celični monosloj Caco-2, kar nakazuje potencial laškega smilja pri zaščiti črevesne sluznice pred okužbami (Kramberger idr. 2024). Čeprav redkeje, v literaturi zasledimo tudi protivirusno delovanje izvlečkov laškega smilja (Nostro idr. 2003) ter učinkovin, kot je arzanol (Appendino idr. 2007).

Učinki čaja iz smilja na črevesno mikrobno združbo

Ena izmed najpomembnejših ločnic med človekovim zunanjim in notranjim okoljem je naš prebavni trakt, v katerem se takoj po rojstvu oblikuje kompleksna mikrobna združba (Moeller idr. 2018). Za naše zdravje je vzajemen odnos s črevesno mikrobno združbo zelo pomemben, saj ta ohranja integriteto črevesne stene (Salvucci 2016), uravnava prebavo, sintezo in absorpcijo številnih hranil ter presnovkov. Črevesno mikrobno združbo lahko spreminjamo z intervencijami, kot je transplantacija zdrave mikrobne združbe posameznikom z različnimi boleznimi, poleg tega pa tudi s spremembo prehrane in prehranskega statusa (Zmora idr. 2019). Poleg spremenjenega vnosa makrohranil (Wu idr. 2011) lahko na sestavo črevesne mikrobne združbe vplivamo z vnosom prebiotikov,

Preglednica 1 Protimikrobni učinek eteričnega olja iz laškega smilja

Avtor, leto	Namen raziskave in glavne sestavine EO	Metodologija	Mikroorganizem	Ugotovitve/rezultati
Zeremski idr. (2024)	Določiti protimikrobni učinek EO, pridobljenega od pridelovalcev iz Srbije: γ-kurkumen (13,11–19,98 %), α-pinen (9,75–14,45 %), ar-kurkumen (5,8–14,0 %)	Metoda difuzije v agarju z diski	<i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 13311, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>B. cereus</i> ATCC 11778, <i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115, <i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763, <i>C. albicans</i> ATCC 10231, <i>Penicillium aurantiogriseum</i> ATCC 16025, <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Protimikrobni učinek za testirane vzorce je bil od 19,67 do 10,0 mm. EO, bogato z γ-kurkumenom, α-pinenom in ar-kurkumenom, je imelo tako <i>in vitro</i> kot <i>in silico</i> protimikrobni potencial. Na osnovi simulacij sta se neril acetat in α-selenin pokazala kot morebitna inhibitorja histidin-kinaze KdpD.
Petrović idr. (2024)	Določiti kemijsko sestavo in protimikrobni učinek EO, pripravljenega iz rastlin s poreklom iz Hrvaške: α-pinena (21,04 %), γ-kurkumena (14,89 %), neril acetata (6,23 %)	Metoda difuzije v agarju z diski	<i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>C. albicans</i> ATCC 10231	Protimikrobni učinek EO je bil pokazan samo proti <i>S. aureus</i> , s cono zbristritve 9–12 mm.
Zheljazkov idr. (2022)	Določiti kemijsko sestavo in protimikrobni učinek EO, pripravljenega iz rastlin s poreklom iz Francije, Bosne in Hercegovine in s Korzike Prevladujoče spojine v EO iz Francije: neril acetat (14,87 %), β-himakalen (9,9 %), D-limonen (5,23 %); v EO iz Bosne: α-pinen (13,74 %), β-himakalen (10,8 %), δ-kadinen (5,51 %); v EO iz Korzike: neril acetat (12,37 %), β-himakalen (10,99 %), D-limonen (4,92 %)	Metoda difuzije v agarju z diski	<i>S. aureus</i> CCM 4223, <i>E. faecalis</i> CCM 4224, <i>Streptococcus pneumoniae</i> CCM 4501, <i>P. aeruginosa</i> CCM 1959, <i>Yersinia enterocolitica</i> CCM 5671, <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> CCM 3807, <i>C. albicans</i> CCM 8186, <i>Candida krusei</i> CCM 8271, <i>Candida tropicalis</i> CCM 8223	Protimikrobni učinek na mikroorganizme je bil v razponu od 2,33 do 14,67 mm. Po Gramu pozitivne bakterije so bile občutljivejše na EO kot po Gramu negativne bakterije ali glive.
Servi in Servi (2022)	Določiti kemijsko sestavo in protimikrobni učinek komercialnih EO iz Srbije: neril acetat (15,6%), α-pinen (11,5%), γ-kurkumen (11,3%)	Določanje MIK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču	<i>E. coli</i> ATCC 14169, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 19659, <i>B. cereus</i> ATCC 14579, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	EO proti <i>E. coli</i> ni bilo učinkovito, MIK za <i>S. aureus</i> in <i>P. aeruginosa</i> je bila 5 µg/mL ter za <i>Bacillus subtilis</i> in <i>B. cereus</i> 10 µg/mL.

Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Avtor, leto	Namen raziskave in glavne sestavine EO	Metodologija	Mikroorganizem	Ugotovitve/rezultati
Balázs idr. (2022)	Določiti kemijsko sestavo, protimikrobni in protiadhezivni učinek komercialnega EO iz Madžarske: neril acetat (21,2 %), α-kurkumen (15,9 %)	Določanje MIK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču	<i>Haemophilus influenzae</i> DSM 4690, <i>Haemophilus parainfluenzae</i> DSM 8978, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Streptococcus pneumoniae</i> DSM 20566	Najobčutljivejša na EO sta bila oba seva vrste bakterij <i>Haemophilus aeruginosa</i> (MIK = 0,625 mg/mL). EO je znižal nastanek biofilma pri vseh sevih vsaj za 52,63 %.
Węglarz idr. (2022)	Določiti kemijsko sestavo, antioksidativni in protibakterijski učinek EO, pripravljenih iz rastlin s poreklom iz centralne Evrope: neril acetat (16,4 - 20,3 %), nerol (4,5-15,7 %), α-pinen (4,1-10,4 %)	Določanje MIK in MBK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču in nacepljanjem na trdno gojišče	<i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, na metilcin odporen <i>S. aureus</i> ATCC 43300	Na splošno so bile po Gramu pozitivne bakterije občutljivejše v primerjavi s po Gramu negativnimi, z največjo občutljivostjo <i>S. aureus</i> ATCC 25923 (MIK = 1; MBK = 16 mg/mL). Protimikrobni učinek EO iz socvetja je bil močnejši v primerjavi z EO, pridobljenim iz rastline.
Aćimović idr. (2021)	Določiti kemijsko sestavo, protimikrobni in protiadhezivni učinek EO, pripravljenega iz rastlin s poreklom iz Srbije: γ-kurkumen (13,6 %), β-selinen (12,2 %), α-pinen (11,8 %)	Določanje MIK in MBK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču	<i>E. coli</i> ATCC 8739, <i>E. coli</i> ATCC 10536, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076, <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028, <i>Klebsiella aerogenes</i> ATCC 13048, <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315, <i>B. cereus</i> ATCC 11778, <i>Bacillus spizizenii</i> ATCC 6633, <i>E. faecalis</i> ATCC 29212, <i>L. monocytogenes</i> ATCC 19111, <i>Listeria innocua</i> ATCC 33090, <i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119, <i>Rhodococcus equi</i> ATCC 6939, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	Protimikrobni učinek EO je bil zelo nizek ali pa ga ni bilo, pri čemer so bile vrednosti MIK in MBK za vse po Gramu negativne bakterije višje od 454,50 µL/mL.

Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Avtor, leto	Namen raziskave in glavne sestavine EO	Metodologija	Mikroorganizem	Ugotovitve/rezultati
Genčić idr. (2021)	Oceniti povezavo med sestavo ter protimikrobnim in protivnetnim učinkom štirih komercialnih EO iz Belgije, Francije in Srbije: neril acetat (9,2–35,0 %), α-pinen (1,7–19,9 %), γ-kurkumen (10,0–16,8 %)	Določanje MIK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču	<i>B. cereus</i> ATCC 11778, <i>E. faecalis</i> ATCC 19433, <i>Sarcina lutea</i> ATCC 9431, <i>S. aureus</i> ATCC 6538, <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228, <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606, <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048, <i>E. coli</i> ATCC 8739, <i>Salmonella enterica</i> ATCC 13076, <i>C. albicans</i> ATCC 10231	EO iz Srbije sta se pokazala kot učinkovita proti <i>S. aureus</i> (MIK = 0,6 mg/mL). EO, bogato z monoterpeni, je bilo manj učinkovito (MIK ≥ 5 mg/mL). Vsa testirana EO so bila učinkovitejša proti po Gramu pozitivnim bakterijam. Učinkovitost proti <i>C. albicans</i> je bila nižja (MIK = 2,5–5 mg/mL).
Mollova idr. (2020)	Določiti kemijsko sestavo in protimikrobni učinek pripravljenih EO s poreklom rastlin iz Francije ter Bosne in Hercegovine: neril acetat (3,8–33,9 %), α-pinen (1,9–20,8 %), γ-kurkumen (8,8–16,5 %)	Metoda difuzije v agarju	<i>S. aureus</i> ATCC 6538, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, <i>E. coli</i> ATCC 8739, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027, <i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763, <i>C. albicans</i> ATCC 10231, <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, <i>Fusarium moniliforme</i> (klinični izolat)	EO s poreklom iz Bosne je bilo učinkovito samo proti <i>Aspergillus brasiliensis</i> . EO s poreklom iz Francije je bilo učinkovito proti nekaterim po Gramu pozitivnim sevom in proti <i>Aspergillus brasiliensis</i> (18,0 mm).

Legenda: *B. cereus* – *Bacillus cereus*; *C. albicans* – *Candida albicans*; *C. jejuni* – *Campylobacter jejuni*; *E. faecalis* – *Enterococcus faecalis*; *E. coli* – *Escherichia coli*; EO – eterično olje; *L. monocytogenes* – *Listeria monocytogenes*; MBK – minimalna bakterična koncentracija; MIK – minimalna inhibitorna koncentracija; *P. aeruginosa* – *Pseudomonas aeruginosa*; *S. cerevisiae* – *Saccharomyces cerevisiae*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *S. epidermidis* – *Staphylococcus epidermidis*.

ki lahko vplivajo na presnovo maščob in homeostazo glukoze gostitelja ter izboljšajo črevesno disbiozo, kar je bilo pokazano pri miših z debelostjo (Sung idr. 2017). Poparki laškega smilja in peščenega smilja so bogati s polifenolnimi spojinami, ki delujejo kot prebiotiki, saj so odporni na prebavo gostitelja in jih lahko fermentirajo črevesni mikroorganizmi (Plamada in Vodnar 2021). Povezava med črevesno mikrobno združbo in prebiotiki je dvosmerna, saj prebiotiki vplivajo na njeno sestavo, hkrati pa omogočajo nadaljnjo presnovo polifenolov in tvorbo bioaktivnih spojin (Fraga idr. 2019). Intervencije, usmerjene v sestavo črevesne mikrobne združbe, se zdijo obetaven pristop za izboljšanje presnovnega zdravja, povezanega z debelostjo.

Učinki na raznolikost črevesne mikrobne združbe

V klinični raziskavi pri posameznikih z vsaj dvema komponentama presnovnega sindroma smo ugotovili, da je štiritedenska intervencija z uživanjem 2 dL čaja iz laškega ali peščenega smilja na dan pomembno vplivala na spremembe v sestavi črevesne mikrobne združbe (Petelin idr. 2022). Čeprav sta splošna struktura in pestrost črevesne mikrobne združbe preiskovancev tekom štiritedenske intervencije ostali stabilni, se je po uživanju obeh vrst smilja rahlo, a pomembno zmanjšala α -raznolikost črevesne mikrobne združbe, določena s Shannonovim indeksom. Podobno so ugotovili Natalia S. Klimenko idr. (2018) pri kratkotrajni spremembi prehrane z nizkim vnosom prehranskih vlaknin, ki je vplivala na zmanjšano α -raznolikost. V nasprotju s klinično raziskavo Ane Petelin idr. (2022), pri kateri se je zmanjšana α -raznolikost pojavila hkrati z znižanjem ravni provnetnih bioznačevalcev, pa so drugi raziskovalci ugotovili povezavo med zmanjšano biotsko raznovrstnostjo v črevesju in različnimi boleznimi, ki so povezane z debelostjo (Le Chatelier idr. 2013).

Učinki na črevesno mikrobno združbo na ravni debel

Po intervenciji z laškim smiljem smo opazili značilno nižjo zastopanost debela Proteobacteria, s čimer bi lahko potencialno razložili znižanje ravni provnetnih bioznačevalcev, saj višjo zastopanost debela Proteobacteria opazimo pri številnih boleznih z vnetnim fenotipom (Rizzatti idr. 2017). Poleg debela Proteobacteria sta najpomembnejši debli, vključeni v presnovo prehranskih vlaknin in polifenolov, Bacteroidota in Firmicutes (Candela idr. 2010). Po intervenciji z laškim in s peščenim smiljem smo opazili značilno znižanje relativne zastopanosti določenih rodov iz debela Firmicutes. Polifenoli in njihovi presnovki naj bi vplivali na zmanjšano

zastopanost bakterij iz debla Firmicutes v črevesju ter s tem na povišanje razmerja med debloma Bacteroidota in Firmicutes (Rastmanesh 2011). Poleg tega so ugotovili, da je bilo razmerje Firmicutes/Bacteroidota pri posameznikih z debelostjo višje kot pri posameznikih z normalno telesno maso (Koliada idr. 2017); ugotovitve nakazujejo, da bi morda lahko smilj na ta način vplival na izgubo telesne mase. Podobno so ugotovili pri zeliščnih pripravkih in funkcionalnih živilih proti debelosti, ki naj bi vplivali na višjo zastopanost debla Bacteroidota (in rodov *Akkermansia*, *Lactobacillus* in *Bacteroides*) ter nižjo zastopanost debla Firmicutes in nižje razmerje med debloma Firmicutes in Bacteroidota (Lyu idr. 2017).

Učinki na črevesno mikrobno združbo na ravni rodov

Po intervenciji z laškim smiljem smo opazili nižjo zastopanost rodov *Ruminococcaceae* uncultured in *Lachnospiraceae* UCG-001, za katera so ugotovili, da sta povezana s telesno maščobo in z višjim ITM (Gomez-Arango idr. 2016; Pataky idr. 2016). Po drugi strani pa smo po intervenciji opazili nižjo zastopanost bakterij iz rodu *Clostridiales vadin BB60*, ki proizvajajo kratkoverižne maščobne kisline (angl. *short chain fatty acids*) (Harrison idr. 2018), za katere je bilo pokazano, da so negativno povezane z debelostjo, dislipidemijo in inzulinsko rezistenco pri miših (Gao idr. 2009); pri ženskah pa so ugotovili njihovo negativno povezavo z indeksom telesne mase, s telesno maso in z obsegom pasu (Gao idr. 2020). Po intervenciji s peščenim smiljem smo opazili nižjo zastopanost rodov *Lachnospiraceae* UCG-010, *Blautia* in *Ruminococcaceae Incertae sedis*. Čeprav bakterije iz družine Lachnospiraceae proizvajajo kratkoverižne maščobne kisline, ki so ugodne za naše zdravje, so bili različni rodovi povezani z različnimi prebavnimi in drugimi boleznimi. Znano je, da rod *Blautia* spodbuja izločanje provnetnih citokinov v gostiteljskih celicah (Tuovinen idr. 2013) in je povezan z dolgoverižnimi triacilgliceroli, moteno presnovo glukoze ter s sladkorno boleznijo tipa 1 (Kostic idr. 2015). Nižjo zastopanost rodu *Blautia* so opazili tudi po intervenciji z izvlečkom iz črnega čaja in rdečega vina v črevesnem ekosistemu *in vitro* (Kemperman idr. 2013). Bakterije iz družine Lachnospiraceae (predvsem *Blautia*) in bakterije iz rodu *Ruminococcaceae Incertae sedis* imajo ključno vlogo pri presnovi neprebavljivih ogljikovih hidratov (Costabile idr. 2017). Čeprav ima produkcija kratkoverižnih maščobnih kislin koristne učinke (Koh idr. 2016), pa višji vnos ogljikovih hidratov prispeva k višjemu energijskemu vnosu in vpliva na serumske ravni glukoze na tešče. Poleg tega smo po intervenciji s peščenim smiljem opazili tudi nižjo zastopanost

rodov *Christensenellaceae* R-7 in *Faecalibacterium*, ki naj bi imela ugodne učinke na gostitelja, kar bi lahko pojasnilo močnejši protivnetni učinek po intervenciji z laškim smiljem v primerjavi s peščenim smiljem. Rod *Faecalibacterium* je ključen pri produkciji protivnetnih spojin (Lopez-Siles idr. 2017; Quévrain idr. 2016) in njegova zastopanost je znižana pri različnih vnetnih boleznih (Walters idr. 2014). Negativna povezava med rodом *Christensenellaceae* in indeksom telesne mase pa je bila prepoznana kot kazalnik pomembne povezave med črevesnim mikrobiomom in presnovnimi boleznimi (Lozano idr. 2022).

Zmanjšana zastopanost bakterijskih rodov, ki proizvajajo protivnetno kratkoverižno maščobno kislino butirat, bi lahko oslabilo integriteto črevesne stene. Intervencija s peščenim smiljem ni imela učinka na serumske ravni zonulina in njegovi učinki na vnetne biooznačevalce so bili šibkejši v primerjavi z laškim smiljem, verjetno zaradi pomembnejšega znižanja relativne zastopanosti specifičnih rodov iz debla Firmicutes, ki proizvajajo kratkoverižne maščobne kisline. Po drugi strani pa se je zastopanost rodov *Prevotella* 9 in *Parabacteroides* po intervenciji s peščenim smiljem povišala, a razlika ni bila statistično značilna. Bakterije iz vrste *Prevotella* so bile pozitivno povezane s produkcijo kratkoverižne maščobne kisline propionata, ki ima pomembno vlogo pri znižanju serumskega holesterola in vpliva na zmanjšano jetrno lipogenezo (Chambers idr. 2015); nižje ravni triacilglicerolov in jetrnih encimov po intervenciji s peščenim smiljem smo opazili tudi v klinični raziskavi. Spremembe v sestavi črevesne mikrobne združbe, ki jih je nemogoče označiti le kot dobre ali slabe, poudarjajo kompleksnost črevesnega mikrobioma. Poleg tega je bil učinek na črevesno mikrobno združbo po intervenciji relativno skromen, kar je pričakovano glede na veliko variabilnost med posamezniki in glede na kratko trajanje intervencije.

Zaključek

Za zaključek lahko povzamemo, da se je protimikrobna učinkovitost pripravkov iz laškega smilja pokazala v zvezi s širokim spektrom mikroorganizmov, vključno z na antibiotike odpornimi bakterijami. Poleg eteričnega olja protimikrobni potencial izkazujejo tudi alkoholni izvlečki, hidrolat in posamezne bioaktivne učinkovine. Raziskave nakazujejo tudi koristi laškega smilja v kmetijsko-živilskem sektorju, kjer se uporablja kot začimba in lahko hkrati služi kot naravni konzervans. Kljub obetavnim rezultatom pa je primerljivost med raziskavami otežena zaradi variabilnosti v kemijski sestavi in metodologiji testiranja končnega produkta ter

tudi v izbiri testnega mikroorganizma. Poleg protimikrobnega učinka imajo poparki laškega in peščenega smilja učinek na sestavo črevesne mikrobne združbe ter delujejo kot prebiotiki. Njunj učinki na regulacijo telesne mase bi bili lahko tesno povezani z njunim učinkom na črevesno mikrobno združbo, a v zvezi s tem je potrebnih več dolgoročnih raziskav.

Viri

- Aćimović, M., J. Ljujić, J. Vulić idr. 2021. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oil from Serbia: Chemical Composition, Classification and Biological Activity; May It Be a Suitable New Crop for Serbia?« *Agronomy* 11 (7): 1282.
- Andrews, J. M. 2001. »Determination of Minimum Inhibitory Concentrations.« *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48 (1): 5–16.
- Appendino, G., M. Ottino, N. Marquez idr. 2007. »Arzanol, an Anti-Inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol α -Pyrone from *Helichrysum italicum* ssp. *microphyllum*.« *Journal of Natural Products* 70 (4): 608–612.
- Balázs, V. L., R. Filep, F. Répás idr. 2022. »Immortelle (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don) Essential Oil Showed Antibacterial and Biofilm Inhibitory Activity Against Respiratory Tract Pathogens.« *Molecules* 27 (17): 5518.
- Balouiri, M., M. Sadiki in S. Koraichi Ibensouda. 2016. »Methods for *in vitro* Evaluating Antimicrobial Activity: A Review.« *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 (2): 71–79.
- Bezek, K., K. Kramberger in D. Barlič-Maganja. 2022. »Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Hydrosol.« *Antibiotics* 11 (8): 1017.
- Candela, M., S. Maccaferri, S. Turrone, P. Carnevali in P. Brigidi. 2010. »Functional Intestinal Microbiome, New Frontiers in Prebiotic Design.« *International Journal of Food Microbiology* 140 (2): 93–101.
- Chambers, E. S., A. Viardot, A. Psichas idr. 2015. »Effects of Targeted Delivery of Propionate to the Human Colon on Appetite Regulation, Body Weight Maintenance and Adiposity in Overweight Adults.« *Gut* 64 (11): 1744–1754.
- Conti, B., A. Canale, A. Bertoli, F. Gozzini in L. Pistelli. 2010. »Essential Oil Composition and Larvicidal Activity of Six Mediterranean Aromatic Plants Against the Mosquito *Aedes Albopictus* (Diptera: Culicidae).« *Parasitology Research* 107 (6): 1455–1461.
- Costabile, A., T. Bergillos-Meca, P. Rasinkangas, K. Korpela, W. M. de Vos in G. R. Gibson. 2017. »Effects of Soluble Corn Fiber Alone or in Synbiotic Combination with *Lactobacillus rhamnosus* GG and the Pilus-Deficient

- Derivative GG-PB12 on Fecal Microbiota, Metabolism, and Markers of Immune Function: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Study in Healthy Elderly (Saimes Study).« *Frontiers in Immunology* 8:1443.
- Cui, H., W. Li, C. Li in L. Lin. 2016. »Synergistic Effect Between *Helichrysum italicum* Essential Oil and Cold Nitrogen Plasma Against *Staphylococcus aureus* Biofilms on Different Food-Contact Surfaces.« *International Journal of Food Science and Technology* 51 (11): 2493–2501.
- D'Abrosca, B., E. Buommino, P. Caputo idr. 2016. »Phytochemical Study of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Spectroscopic Elucidation of Unusual Amino-Phlorogucinols and Antimicrobial Assessment of Secondary Metabolites from Medium-Polar Extract.« *Phytochemistry* 132 (5): 86–94.
- D'Abrosca, B., E. Buommino, G. D'Angelo idr. 2013. »Spectroscopic Identification and Anti-Biofilm Properties of Polar Metabolites from the Medicinal Plant *H. italicum* against *Pseudomonas Aeruginosa*.« *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 21 (22): 7038–46.
- Djihane, B., N. Wafa, S. Elkhamsa, J. P. De Haro, M. Angeles Esteban in M. M. Zerroug. 2017. »Chemical Constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oil and Their Antimicrobial Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria, Filamentous Fungi and *Candida Albicans*.« *Saudi Pharmaceutical Journal* 25 (5): 780–787.
- Fraga, C. G., K. D. Croft, D. O. Kennedy in F. A. Tomás-Barberán. 2019. »The Effects of Polyphenols and Other Bioactives on Human Health.« *Food and Function* 10 (2): 514–528.
- Gao, B., M. Zhong, Q. Shen idr. 2020. »Gut Microbiota in Early Pregnancy Among Women with Hyperglycaemia vs. Normal Blood Glucose.« *BMC Pregnancy and Childbirth* 20 (1): 284.
- Gao, Z, J. Yin, J. Zhang idr. 2009. »Butyrate Improves Insulin Sensitivity and Increases Energy Expenditure in Mice.« *Diabetes* 58 (7): 1509–1517.
- Genčić, M. S., J. M. Aksić, M. Z. Živković Stošić idr. 2021. »Linking the Antimicrobial and Anti-Inflammatory Effects of Immortelle Essential Oil with Its Chemical Composition: The Interplay Between the Major and Minor Constituents.« *Food and Chemical Toxicology* 158:112666.
- Gomez-Arango, L. F., H. L. Barrett, H. D. McIntyre idr. 2016. »Connections Between the Gut Microbiome and Metabolic Hormones in Early Pregnancy in Overweight and Obese Women.« *Diabetes* 65 (8): 2214–2223.
- Harrison, C. A., D. Laubitz, C. L. Ohland idr. 2018. »Microbial Dysbiosis Associated with Impaired Intestinal Na⁺/H⁺ Exchange Accelerates and Exacerbates Colitis in Ex-Germ Free Mice.« *Mucosal Immunology* 11 (5): 1329–1341.

- Kemperman, R. A., G. Gross, S. Mondot idr. 2013. »Impact of Polyphenols from Black Tea and Red Wine/Grape Juice on a Gut Model Microbiome.« *Food Research International* 53 (2): 659–669.
- Klimenko, N. S., A. V. Tyakht, A. S. Popenko idr. 2018. »Microbiome Responses to an Uncontrolled Short-Term Diet Intervention in the Frame of the Citizen Science Project.« *Nutrients* 10 (5): 576.
- Koh, A., F. De Vadder, P. Kovatcheva-Datchary in F. Bäckhed. 2016. »From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites.« *Cell* 165 (6): 1332–1345.
- Koliada, A., G. Syzenko, V. Moseiko idr. 2017. »Association Between Body Mass Index and Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in an Adult Ukrainian Population.« *BMC Microbiology* 17 (1): 120.
- Kostic, A. D., D. Gevers, H. Siljander idr. 2015. »The Dynamics of the Human Infant Gut Microbiome in Development and in Progression Toward Type 1 Diabetes.« *Cell Host and Microbe* 17 (2): 260–273.
- Kramberger, K., K. Bezek Kranjc, Z. Jenko Pražnikar, D. Barlič-Maganja in S. Kenig. 2024. »Protective Capacity of *Helichrysum italicum* Infusion Against Intestinal Barrier Disruption and Translocation of *Salmonella* Infantis.« *Pharmaceuticals* 17 (10): 1398.
- Le Chatelier, E., T. Nielsen, J. Qin idr. 2013. »Richness of Human Gut Microbiome Correlates with Metabolic Markers.« *Nature* 500 (7464): 541–546.
- Lopez-Siles, M., S. H. Duncan, L. J. Garcia-Gil in M. Martinez-Medina. 2017. »Faecalibacterium Prausnitzii: From Microbiology to Diagnostics and Prognostics.« *The ISME Journal* 11 (4): 841–852.
- Lozano, C. P., L. R. Wilkens, Y. B. Shvetsov idr. 2022. »Associations of the Dietary Inflammatory Index with Total Adiposity and Ectopic Fat Through the Gut Microbiota, LPS, and C-Reactive Protein in the Multiethnic Cohort-Adiposity Phenotype Study.« *American Journal of Clinical Nutrition* 115 (5): 1344–1356.
- Lyu, M., Y.-F. Wang, G.-W. Fan, X.-Y. Wang, S.-Y. Xu in Y. Zhu. 2017. »Balancing Herbal Medicine and Functional Food for Prevention and Treatment of Cardiometabolic Diseases Through Modulating Gut Microbiota.« *Frontiers in Microbiology* 8:2146.
- Mastelic, J., O. Politeo, I. Jerkovic in N. Radosevic. 2005. »Composition and Antimicrobial Activity of *Helichrysum italicum* Essential Oil and Its Terpene and Terpenoid Fractions.« *Chemistry of Natural Compounds* 41 (1): 35–40.
- Moeller, A. H., T. A. Suzuki, M. Phifer-Rixey in M. W. Nachman. 2018. »Transmission Modes of the Mammalian Gut Microbiota.« *Science* 362 (6413): 453–457.

- Mollova, S., H. Fidan, D. Antonova idr. 2020. »Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Subspecies Essential Oils.« *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 44 (4): 371–378.
- Nostro, A., M. A. Cannatelli, G. Crisafi, A. D. Musolino, F. Procopio in V. Alonzo. 2004. »Modifications of Hydrophobicity, *in vitro* Adherence and Cellular Aggregation of *Streptococcus mutans* by *Helichrysum italicum* Extract.« *Letters in Applied Microbiology* 38 (5): 423–427.
- Nostro, A., G. Bisignano, M. A. Cannatelli, G. Crisafi, M. P. Germanò in V. Alonzo. 2001. »Effects of *Helichrysum italicum* Extract on Growth and Enzymatic Activity of *Staphylococcus Aureus*.« *International Journal of Antimicrobial Agents* 17 (6): 517–520.
- Nostro, A., M. A. Cannatelli, A. Marino idr. 2003. »Evaluation of Antiherpesvirus-1 and Genotoxic Activities of *Helichrysum italicum* Extract.« *The New Microbiologica* 26 (1): 125–128.
- Pataky, Z., L. Genton, L. Spahr idr. 2016. »Impact of Hypocaloric Hyperproteic Diet on Gut Microbiota in Overweight or Obese Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Pilot Study.« *Digestive Diseases and Sciences* 61 (9): 2721–2731.
- Petelin, A., K. Šik Novak, M. Hladnik idr. 2022. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench Infusion Consumption Affects the Inflammatory Status and the Composition of Human Gut Microbiota in Patients with Traits of Metabolic Syndrome: A Randomized Comparative Study.« *Foods* 11 (20): 3277.
- Petrović, L., M. Skorić, B. Šiler idr. 2024. »Patterns of Genetic Variation of *Nepeta Nuda* L. from the Central Balkans: Understanding Drivers of Chemical Diversity.« *Plants* 13 (11): 1483.
- Pirvu, L., C. Hlevca, I. Nicu in C. Bubueanu. 2014. »Comparative Studies on Analytical, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of a Series of Vegetal Extracts Prepared from Eight Plant Species Growing in Romania.« *Journal of Planar Chromatography* 27 (5): 346–356.
- Plamada, D., in D. C. Vodnar. 2021. »Polyphenols-Gut Microbiota Interrelationship: A Transition to a New Generation of Prebiotics.« *Nutrients* 14 (1): 137.
- Quévrain, E., M. A. Maubert, C. Michon idr. 2016. »Identification of an Anti-Inflammatory Protein from *Faecalibacterium Prausnitzii*, a Commensal Bacterium Deficient in Crohn's Disease.« *Gut* 65 (3): 415–425.
- Rastmanesh, R. 2011. »High Polyphenol, Low Probiotic Diet for Weight Loss Because of Intestinal Microbiota Interaction.« *Chemico-Biological Interactions* 189 (1–2). <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.10.002>.

- Rizzatti, G., L. R. Lopetuso, G. Gibiino, C. Binda in A. Gasbarrini. 2017. »Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases.« *BioMed Research International* 2017:9351507.
- Salvucci, E. 2016. »Microbiome, Holobiont and the Net of Life.« *Critical Reviews in Microbiology* 42 (3): 485–494.
- Servi, E. Y., and H. Servi. 2022. »Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Helichrysum arenarium* (Roth) G. Don Commercial Essential Oil from Serbia.« *Natural Products and Biotechnology* 2 (1): 14–22.
- Simões, M., R. N. Bennett in E. A. S. Rosa. 2009. »Understanding Antimicrobial Activities of Phytochemicals against Multidrug Resistant Bacteria and Biofilms.« *Natural Product Reports* 26 (6): 746–757.
- Sung, M. M., T. T. Kim, E. Denou idr. 2017. »Improved Glucose Homeostasis in Obese Mice Treated with Resveratrol is Associated with Alterations in the Gut Microbiome.« *Diabetes* 66 (2): 418–425.
- Šovljanski, O., M. Ćimović, A. Tomić idr. 2024. »Antibacterial and Antifungal Potential of *Helichrysum arenarium* (Roth) G. Don Essential Oil.« *Antibiotics* 13 (8): 722.
- Taglialatela-Scafati, O., F. Pollastro, G. Chianese idr. 2013. »Antimicrobial Phenolics and Unusual Glycerides from *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum*.« *Journal of Natural Products* 76 (3): 346–353.
- Tundis, R., G. A. Statti, F. Conforti idr. 2005. »Influence of Environmental Factors on Composition of Volatile Constituents and Biological Activity of *Helichrysum arenarium* (Roth) Don (Asteraceae).« *Natural Product Research* 19 (4): 379–387.
- Tuovinen, E., J. Keto, J. Nikkilä, J. Mättö in K. Lähteenmäki. 2013. »Cytokine Response of Human Mononuclear Cells Induced by Intestinal Clostridium Species.« *Anaerobe* 19:70–76.
- Walters, W. A., Z. Xu in R. Knight. 2014. »Meta-Analyses of Human Gut Microbes Associated with Obesity and IBD.« *FEBS Letters* 588 (22): 4223–4233.
- Węglarz, Z., O. Kosakowska, E. Pióro-Jabrucka idr. 2022. »Antioxidant and Antibacterial Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. from Central Europe.« *Pharmaceuticals* 15 (6): 735.
- Wu, G. D., J. Chen, C. Hoffmann idr. 2011. »Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes.« *Science* 334 (6052): 105–108.
- Zeremski, T., O. Šovljanski, V. Vukić idr. 2024. »Combination of Chromatographic Analysis and Chemometric Methods with Bioactivity Evaluation of the Antibacterial Properties of *Helichrysum italicum* Essential Oil.« *Antibiotics* 13 (6): 499.

- Zheljazkov, V. D., I. Semerdjieva, E. Yankova-Tsvetkova idr. 2022. »Chemical Profile and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. and *Helichrysum italicum* (Roth.) G. Don.« *Plants* 11 (7): 951.
- Zmora, N., J. Suez in E. Elinav. 2019. »You Are What You Eat: Diet, Health and the Gut Microbiota.« *Nature Reviews: Gastroenterology and Hepatology* 16 (1): 35–56.