

EVALUAREA ACTIVITĂȚII ANTIMICROBIENE ȘI ANTIBIOFILM A UNOR ULEIURI VOLATILE DIN PLANTE APARTINÂND GENULUI *Citrus*

Diana-Mădălina GĂBOREANU^{1,2,3}, Ioana Cristina MARINAȘ¹, Rino RAGNOȘ⁵, Mariana Carmen CHIFIRIUC^{1,2,4}

1. Universitatea din București, Facultatea de Biologie, Splaiul Independenței 91-95, București, 050095; 2. Institutul de Cercetare al Universității din București (ICUB), B.P. Hașdeu, Nr.7, București 050095; 3. Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Științe Biologice, Nr. 296, București 060031; 4. Secția de Științe Biologice a Academiei Române, Academia Română; 5. Faculty of Pharmacy, Sapienza Università di Roma

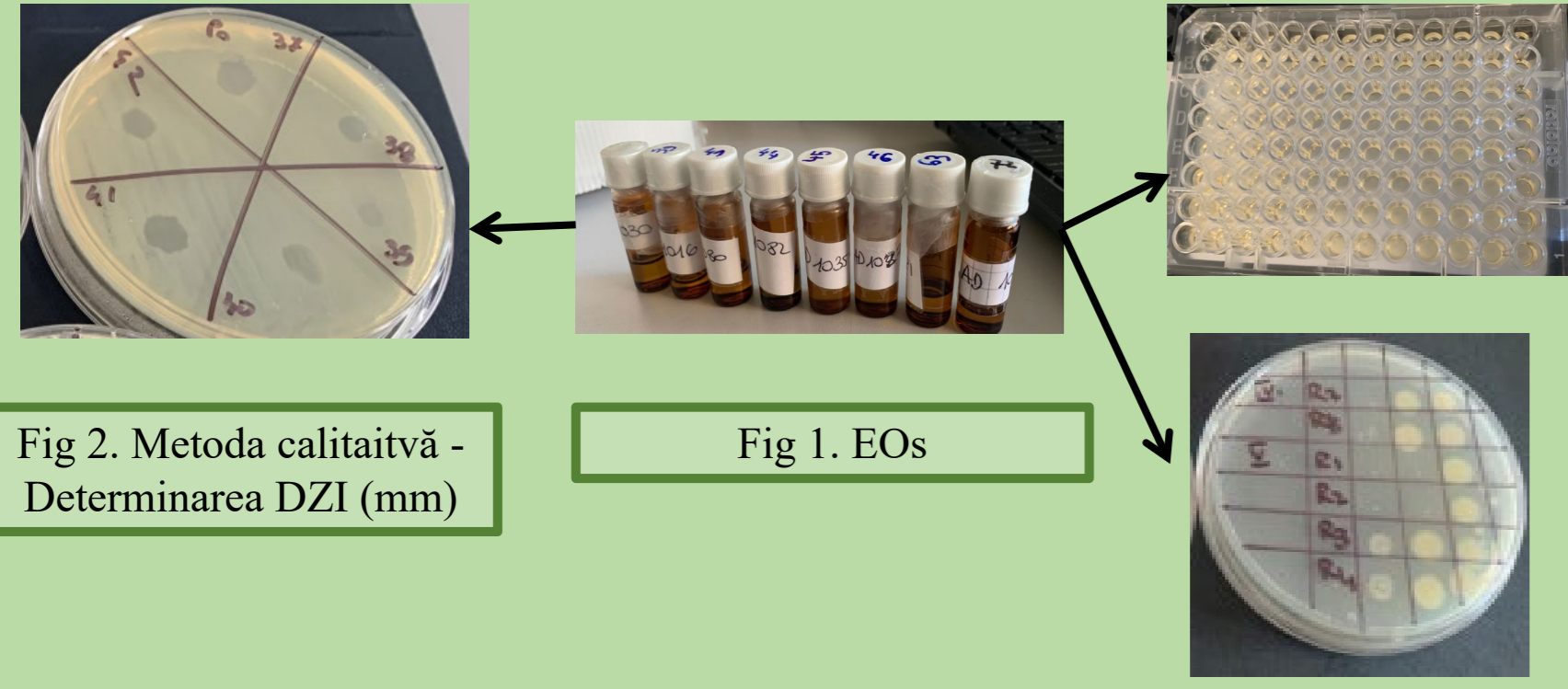
INTRODUCERE

Creșterea numărului de pacienți ce prezintă plăgi cronice și care adesea sunt infectate cu tulpini bacteriene multi-rezistente reprezintă o problemă socială și economică. Este cunoscut faptul că diversitatea și complexitatea compoziției chimice a uleiurilor volatile (EO) stau la baza modulării unei game largi de procese fiziologice, dar și de aplicații biomedicale [1,2]. Prin aplicarea topică și optimizarea concentrațiilor eficiente, EO pot preveni contaminarea microbiană a plăgilor, promovează regenerarea țesuturilor și accelerează vindecarea, oferind o alternativă naturală viabilă la agenții antimicrobieni sintetici [3].

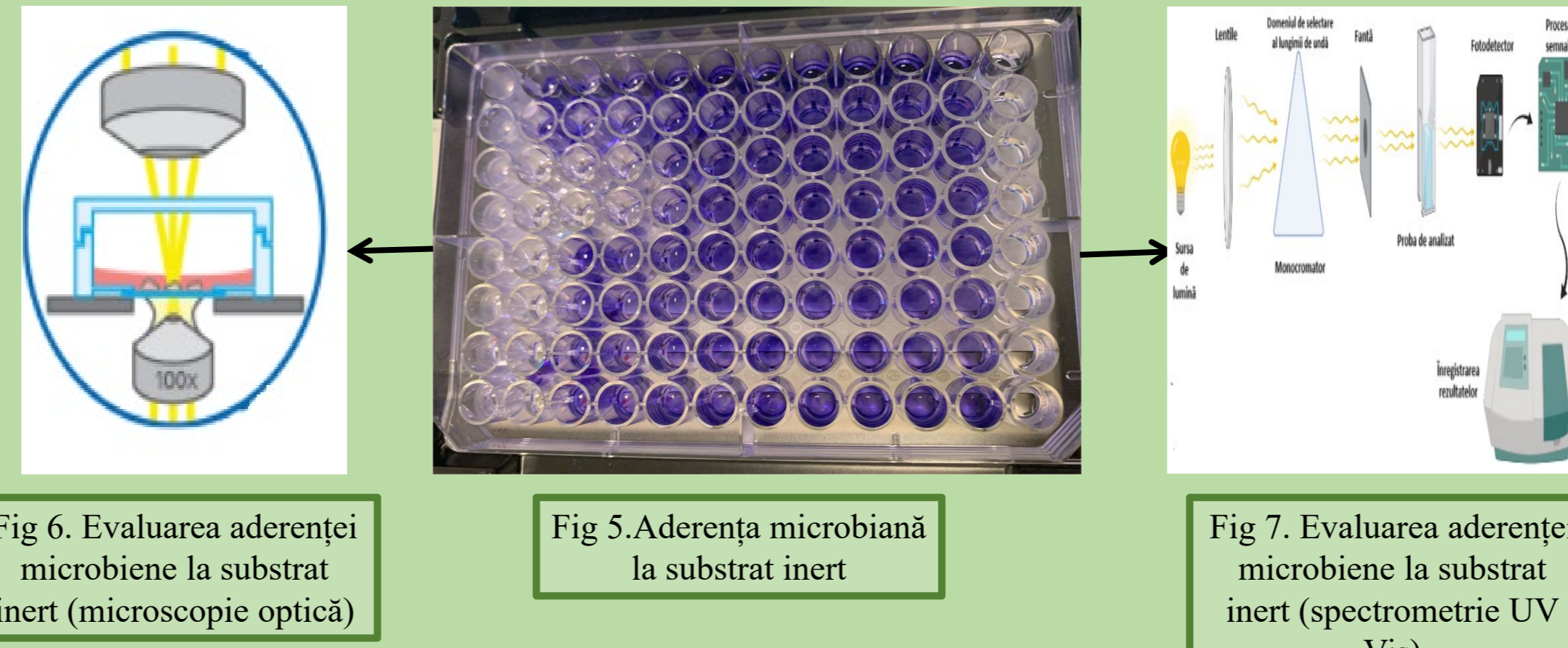
Scopul studiului: Evaluarea activității antimicrobiene și antibiofilm a 8 uleiuri volatile din plante aparținând genului *Citrus* asupra a 5 tulpini microbiene, în vederea selectării concentrațiilor optime active pentru dezvoltarea unor noi formulări topice.

MATERIALE ȘI METODE

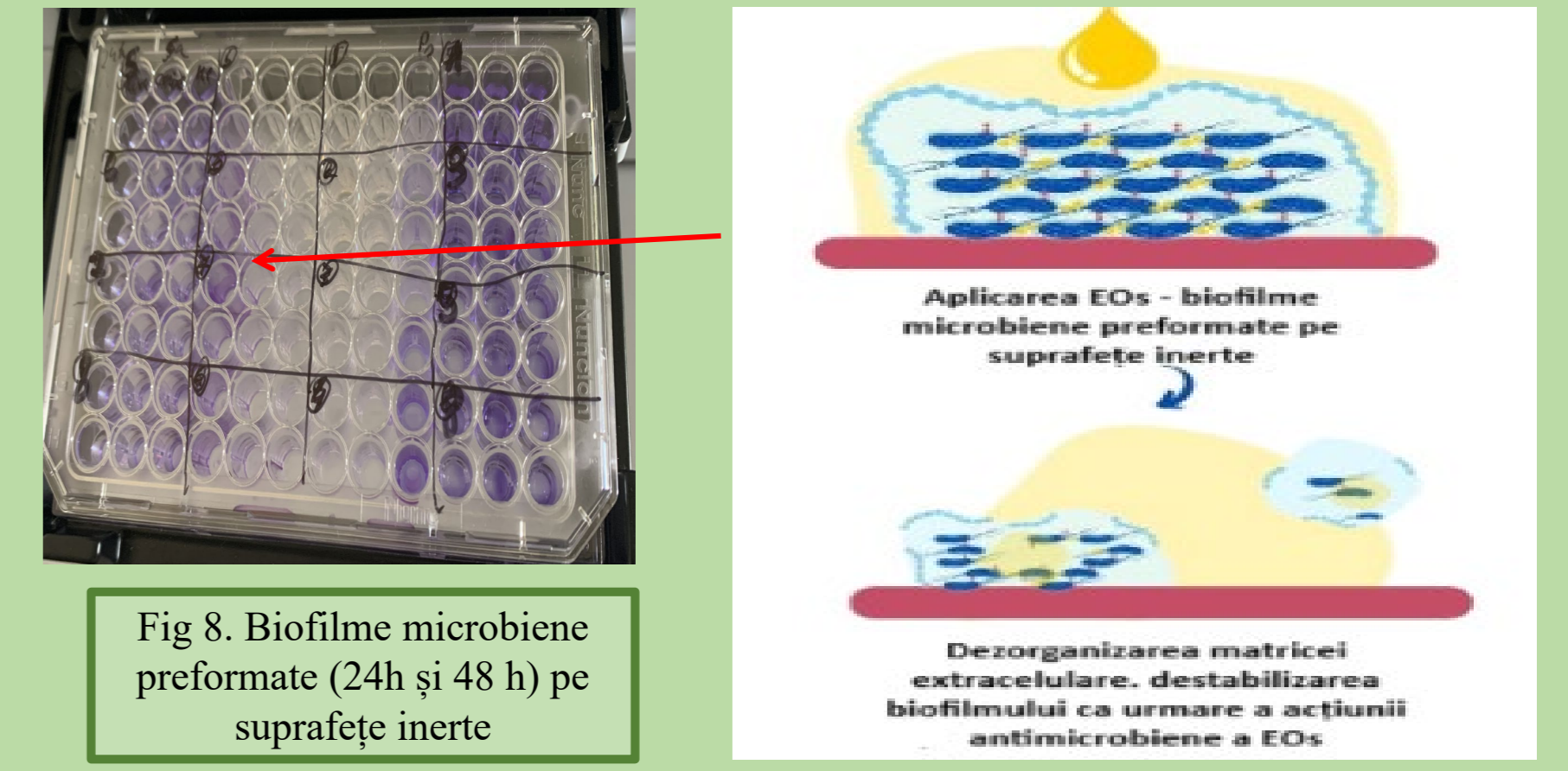
Evaluarea activității antimicrobiene prin metode calitative și cantitative



Evaluarea aderenței microbiene la substrat prin metoda microtitrării și prin microscopie optică



Evaluarea influenței EO asupra biofilmelor microbiene preformate pe suprafețe inerte



REZULTATE ȘI DISCUȚII

Tablel 1. Activitatea antimicrobiană a EO quantificată prin stabilirea concentrațiilor CMI, CMIA, CMB, și a diametrului zonei de inhibare a creșterii

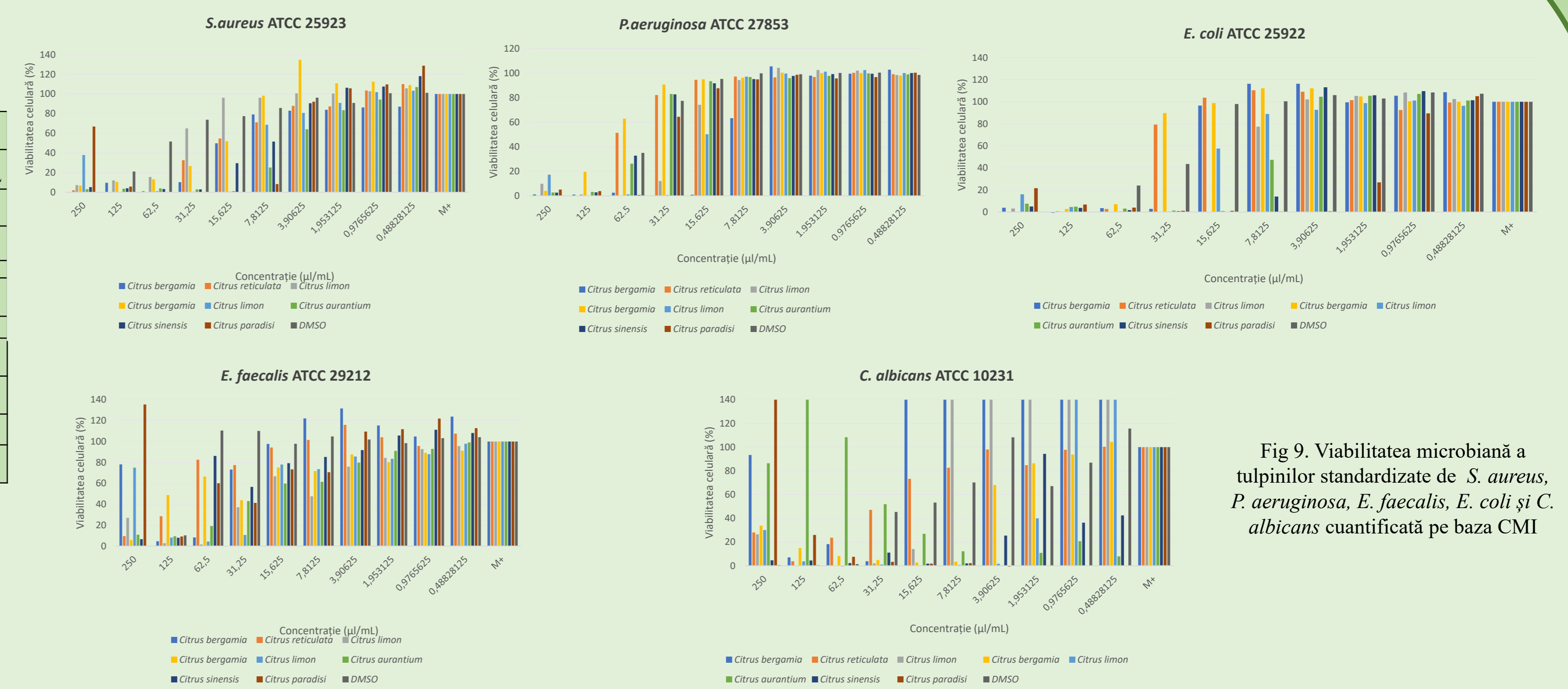
Ulei volatil	<i>S. aureus</i> ATCC 25923			<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853			<i>E. coli</i> ATCC 25922			<i>E. faecalis</i> ATCC 29212			<i>C. albicans</i> ATCC 10231								
	DZI mm	CMI μL/mL	CMIA μL/mL	CMB μL/mL	DZI mm	CMI μL/mL	CMIA μL/mL	CMB μL/mL	DZI mm	CMI μL/mL	CMIA μL/mL	CMB μL/mL	DZI mm	CMI μL/mL	CMIA μL/mL	CMB μL/mL					
<i>Citrus bergamia</i> *	NA	62.5	31.25	125	6.50±0.71	15.63	15.63	15.63	-	31.25	31.25	62.5	5.50±0.71	62.5	125	125	14.50±0.71	31.25	62.5	125	
<i>Citrus reticulata</i> *	-	62.5	31.25	250	5.00±0.00	125	125	125	10.00±0.00	62.5	62.5	125	3.00±0.00	250	125	250	6.00±0.00	125	125	250	
<i>Citrus limon</i> *	-	250	62.5	250	8.50±0.71	62.5	62.5	62.5	13.50±2.12	15.63	15.63	31.25	6.00±0.00	62.5	62.5	125	7.50±0.50	0.50	31.25	31.25	31.25
<i>Citrus bergamia</i>	NA	250	62.5	250	3.50±0.71	250	250	>250	5.50±0.71	62.5	62.5	125	4.50±0.71	250	125	250	14.50±0.71	7.81	125	<15.63	
<i>Citrus aurantium</i>	7.50±3.54	15.63	15.62	31.25	5.50±0.71	31.25	31.25	62.5	13.00±1.41	31.25	31.25	<31.25	6.00±1.41	62.5	31.25	62.5	11.00±1.41	3.91	7.81	7.81	7.81
<i>Citrus sinensis</i> *	-	31.25	31.25	125	2.00±0.00	125	125	250	9.50±0.71	15.63	7.81	15.625	4.50±0.71	125	>250	250	9.00±0.00	7.81	7.81	15.63	
<i>Citrus paradisi</i> *	-	15.63	7.8125	15.625	6.00±1.41	62.5	62.5	62.5	19.50±0.71	3.91	125	7.8128	16.00±1.41	125	>250	>250	10.50±1.50	<0.46	<0.49	<0.49	
DMSO	NA	250	250	>250	NA	125	125	>250	NA	125	125	>250	NA	250	250	>250	NA	125	125	>250	

*În cazul tulpinii de *C. albicans* ATCC 10231 au fost efectuate diluții de 1 la 10 corespunzătoare uleiurilor volatile

Tulpina microbiana	Uleiul volatil cel mai eficient	CMI (μL/mL)	Control pozitiv
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>Citrus limon</i>	62.5	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Citrus bergamia</i>	62.5	
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. paradisi</i>	15.63	

Fig 10. Evaluarea aderenței microbiene la substrat inert prin microscopie optică

Evaluarea activității antimicrobiene prin metode calitative și cantitative



Evaluarea aderenței microbiene la substrat inert prin metoda microtitrării și prin microscopie optică

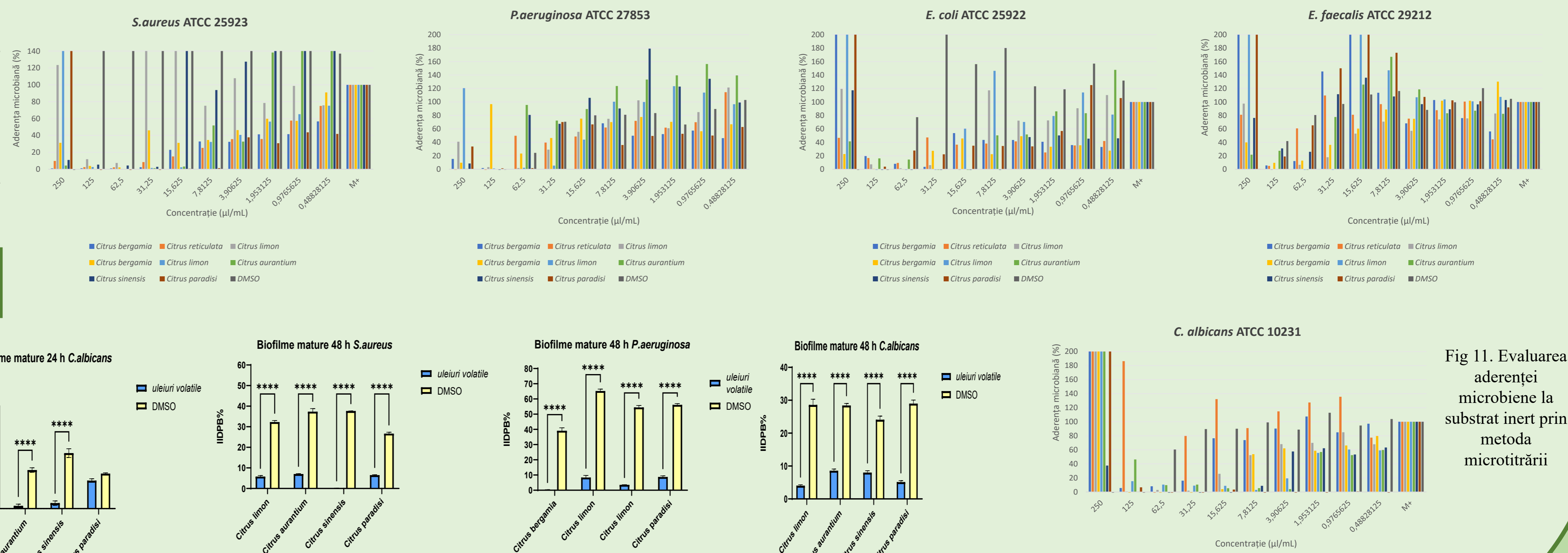


Fig 11. Evaluarea aderenței microbiene la substrat inert prin metoda microtitrării

Evaluată influența EO asupra biofilmelor microbiene preformate pe suprafețe inerte

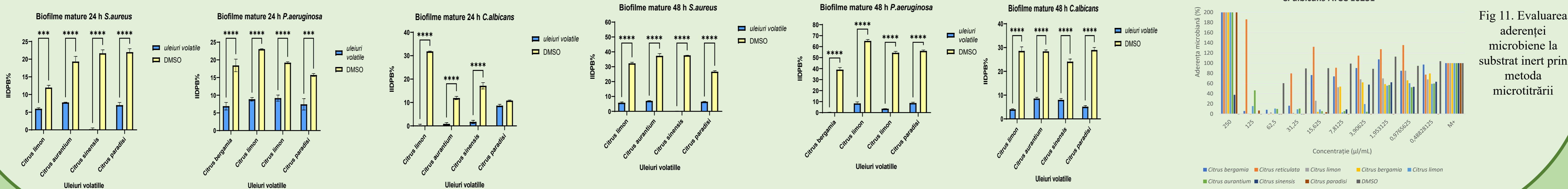


Fig 12. Reprezentarea grafică a biofilmelor mature dezvoltate în 24 h și 48 h la substrat inert și tratate cu concentrații 2 CMI de ulei volatil de citrice și DMSO

MULȚUMIRI

Această lucrare a fost realizată cu sprijinul MRID, proiect nr. 23020101(SIA-PRO), contract nr 7N/2022

Referințe:
1. Agarwal P., Sehgalhollahi Z., Kamal M., Dhyani A., Shrivastava A., Singh K.K., et al. 2022. Citrus Essential Oils in Aromatherapy: Therapeutic Effects and Mechanisms. Antioxidants, 11, 2374.
2. Brah A. S., Armah F. A., Obaah C., Akwety S. A., & Adokoh C. K. 2023. Toxicity and therapeutic applications of citrus essential oils (CEO); a review. Int. J. Food Prop., 26(1), 301–326
3. González-Mas M.C., Rambla J.L., López-Gresa M.P., Blázquez M.A., and Granel A., 2019. Volatile Compounds in Citrus Essential Oils: A Comprehensive Review. Front. Plant Sci. 10:12.

CONCLUZII

Studiul de față demonstrează că uleiurile volatile de citrice conțin principii active cu activitate antimicrobiană și anti-biofilm, care variază în funcție de concentrație și de tulpinile microbiene testate. Astfel, uleiurile volatile de *Citrus bergamia*, *Citrus reticulata*, *Citrus limon*, *Citrus aurantium*, *Citrus sinensis* și *Citrus paradisi* au prezentat spectru larg de activitate antimicrobiană, incluzând tulpinile bacteriene Gram- pozitive, Gram-negative, dar și tulpina levurică *C. albicans* ATCC 10231. Aderența microbiană a tulpinilor analizate a fost inhibată variabil, în funcție de uleiul volatil utilizat, asocierile cele mai eficiente fiind: *C. bergamia* - *S. aureus* ATCC 25923, *C. limon*, *C. aurantium* - *E. faecalis* ATCC 29212, *C. reticulata*, *C. aurantium*, *C. sinensis* - *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. limon*, *C. bergamia*, *C. limon*, *C. aurantium*, *C. sinensis* - *E. coli* ATCC 25922 și *C. reticulata*, *C. paradisi* - *C. albicans* ATCC 10231. Reducerea semnificativă a biofilmului matur de *S. aureus* ATCC 25923 și *P. aeruginosa* ATCC 27853, a fost cuantificată la 24h, respectiv 48h, dezvoltarea biofilmului de *S. aureus* fiind complet eradicată de uleiul volatil de *C. sinensis*. Uleiul volatil de *C. limon*, a condus la eradicarea biofilmului de 48h de *C. albicans* ATCC 10231. Aceste rezultate preliminare evidențiază potențialul EO de citrice pentru dezvoltarea formulărilor topice destinate tratării plăgilor infectate, vizând atât inhibarea creșterii microbiene, cât și formarea și eradicarea biofilmului.