

ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОШКА ИСТРАЖИВАЊА
„СЕНИША СТАНКОВИЋ“
Универзитет у Београду

Бул. деспота Стефана 142
Директор: 011-2078-399
Тел: 011-2078-300
Факс: 011-2761-433
www.ibiss.bg.ac.rs



INSTITUTE FOR BIOLOGICAL RESEARCH
"SINIŠA STANKOVIĆ"
University of Belgrade

Bul. despota Stefana 142
Director: 011-2078-399
Tel: ++381-11-2078-300
Fax: ++381-11-2761-433
www.ibiss.bg.ac.rs

Број / №

01-2441

Датум / Date

27.12.2016.

**IZVEŠTAJ O ISPITIVANJU ANTIBAKTERIJSKE I ANTIFUNGALNE
AKTIVNOSTI PREPARATA "Herba Sept"**

"Baltik Junior"

23.12.2016., Beograd

Vučičev prolaz 20 a

Beograd

Predmet: Odgovor na dopis od 09. 12. 2016. god.

Preduzeće "Baltik Junior" obratilo se Institutu za biološka istraživanja "Siniša Stanković" u Beogradu (u daljem tekstu IBISS), za stručno mišljenje o potencijalnom antibakterijskom i antifungalnom dejstvu proizvoda "Herba Sept".

Na osnovu pregleda dostavljene dokumentacije od strane samog podnosioca zahteva, kao i pregleda literature i odrađenih laboratorijskih analiza donosimo sledeće

STRUČNO MIŠLJENJE

Uzorak "Herba Sept" ispitavan je na sledeće Gram (+) i Gram (-) bakterije: U istraživanju su korišćene sledeće vrste bakterija: *Streptococcus pyogenes* (IBRS S003), *Streptococcus mutans* (IBRS S001), *Lactobacillus acidophilus* (IBRS L001), *Streptococcus salivarius* (IBRS S006), *Streptococcus sanguis* (IBRS S002), *Pseudomonas aeruginosa* (IBRS P001), *Proteus mirabilis* (clinical isolate), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) i methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 11. Za istraživanje antifungalne aktivnosti *in vitro* korišćena je *Candida albicans* (IBRS MH4) i *C. krusei* (IBRS 1flac1). Svi mikroorganizmi su deponovani u Mikoteci Mikološke laboratorije, Odeljenja za biljnu fiziologiju, Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu. Testirani izolati su poreklom iz usne duplje pacijenata.

Korišćena je *in vitro* mikrodiluciona metoda (Hanela and Raether, 1988; Soković et al., 2010). Preparat je ispitivan u originalnom koncentrovanom obliku kao i u 4 razblaženja:

I_r - Herba sept koncentrat

II_r - Herba sept razblaženje (1 ml koncentrata + 0.5 ml fiziološkog rastvora)

III_r - Herba sept razblaženje (1 ml koncentrata + 1 ml fiziološkog rastvora)

IV_r - Herba sept razblaženje (1 ml koncentrata + 2 ml fiziološkog rastvora)

V_r - Herba sept razblaženje (1 ml koncentrata + 3 ml fiziološkog rastvora)

Kao pozitivna kontrola korišćeni su komercijalni antibiotici: Ospamox, Pancef, Sinalcilin, Klacid, Cefaleksin i Streptomycin, a od mikotika Nistatin.

Utvrđeno je da je "Herba Sept" preparat delovao bakteriostatski i baktericidno, odnosno inhibirao rast ali i onemogućio dalji rast svih ispitivanih Gram (-) i Gram (+) bakterija kao i vrste roda *Candida* (*C. albicans* and *C. krusei*). Preparat je pokazao

antibakterijsku i antifungalnu aktivnost u svim testiranim razblaženjima (Tabele 1, Figure 1 i 2).

Preparat u koncentrovanom obliku deluje sa najvećim antibakterijskim potencijalom, minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) od 0.025-0.30 mg/ml i baktericidna koncentracija (MBC) od 0.10-0.40 mg/ml. U razblaženju II (1 ml preparata + 0.5 ml fiziološkog rastvora) preparat je pokazao dobru antibakterijsku aktivnost (MIC 0.05-0.60 mg/ml, MBC 0.4-0.8 mg/ml). U razblaženju III (1 ml koncentrata + 1 ml fiziološkog rastvora) preparat takođe pokazuje jaku antibakterijsku aktivnost (MIC 0.15-0.40 mg/ml i MBC 0.20-0.80 mg/ml). Preparat razblažen u odnosu, 1 ml koncentrata + 2 ml fiziološkog rastvora, razblaženje IV, pokazuje inhibitornu aktivnost na sve bakterije sem na *S. aureus* (MIC 0.40-0.80 mg/ml). Baktericidna aktivnost je ispoljena sa 0.80 mg/ml na šest bakterija, dok na *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *S. salivarius*, *S. sanguis* i *P. aeruginosa* preparat u ovom odnosu nije pokazao baktericidnu aktivnost. Preparat u razblaženju V (1 ml koncentrata + 3 ml fiziološkog rastvora) delovao je inhibitorno na sve bakterije (MIC 0.40-0.80 mg/ml) sem na *S. aureus* MRSA i *S. pyogenes*, dok je baktericidna aktivnost ispoljena na šest bakterija (MBC 0.80 mg/ml), a na *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *S. pyogenes*, *S. salivarius* i *P. aeruginosa* nije delovao.

Najotpornije bakterije na ispitivani proizvod su *S. aureus* i *S. aureus* MRSA. Najosetljivija bakterija na dejstvo ispitivanog preparata je *S. salivarius*. Utrvrđeno je da je ovaj preparat u svim razblaženjima delovalo čak i na najotpornije Gram (-) bakterije, među njima *Pseudomonas aeruginosa*, koja važi za jednu od najotpornijih i najrezistentnijih bakterija (Soković et al., 2010).

Ispitivani antibiotici pokazali su jak antibakterijski efekat na sve testirane bakterije, sa izuzetkom; Ospamoksa koje nije pokazao aktivnost na *S. aureus* MRSA, *S. pyogenes* i *S. sanguis*; Pancefa koji nije delovao baktericidno na *S. aureus*, *S. aureus* MRSA i *P. aeruginosa*; Sinacilin nije delovao na *S. sanguis* u ispitivanim koncentracijama (0.0005-0.50 mg/ml) (Tabela 1, Figura 1 i 2).

Preparat je u koncentrovanom obliku i u razblaženju II pokazao bolju aktivnost od antibiotika Sinacilin i Ospamoks na bakterije *S. aureus* i *S. sanguis*.

Testirani uzorak je u svim razblaženjima delovao inhibitorno (0.15-0.060 mg/ml) i fungicidno (0.40-0.80 mg/ml) na tretirane gljivice *Candida albicans* i *Candida krusei*. "Herba Sept" preparat delovao je jednakim intenzitetom na obe vrste roda *Candida*.

Nistatin koji je korišćen kao kontrola je pokazao inhibitornu aktivnost od 0.002 -0.0007 mg/ml i fungicidnu na 0.003-0.0015 mg/ml. Ispitivani preparat pokazao je slabiju aktivnost od komercijalnog leka.

Uzimajući u obzir da je u poslednjih nekoliko godina učestalost rezistencije mikroorganizama na postojeće sintetičke antibiotike sve veća, kao i toksičnost komercijalnih preparata na humane ćelije, javlja se potreba za novim polusintetskim ili prirodnim antumikrobnim agensima koji nemaju štetnog efekta na zdravlje ljudi.

S tim u vezi kao i na osnovu pregleda literature i odrađene *in vitro* analize može se izvesti sledeći **zaključak**.

Ispitivani preparat "Herba Sept" pokazao je dobru antibakterijsku i antifungalnu aktivnost. Može se zaključiti da preparat u svim razblaženjima pokazuje jaku antimikrobnu aktivnost i da se može koristiti i u nekoliko razblaženja (1:1, 1:2, 1:3) pri čemu još uvek zadržava dobar antimikrobni potencijal.

Opravdavno je korišćenje proizvoda "Herba sept" u prevenciji raznih bakterijskih i gljivičnih infekcija izazvanih gore pomenutim vrstama. Osobine ovog proizvoda, kao i činjenica da je pojava rezistencije na prirodne preparate znatno manja, idu u prilog ovom zaključku.

Reference:

Hanel H. and Raether W. (1988): A more sophisticated method of determining the fungicidal effect of water-insoluble preparations with a cell harvester, using miconazole as an example. *Mycoses* 31, 148-154.

Soković M., Glamočlija J., Marin D.P., Brkić D., van Griensven L.J.L.D (2010): Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an *In Vitro* Model, *Molecules*, 15, 7532-7546

Dr Marina Soković



Naučni savetnik

Mikolška laboratorija IBISS



Dr Pavle Pavlović
Naučni savetnik
Direktor IBISS

U istraživanju su korišćene sledeće vrste bakterija: *Streptococcus pyogenes* (IBRS S003), *Streptococcus mutans* (IBRS S001), *Lactobacillus acidophilus* (IBRS L001), *Streptococcus salivarius* (IBRS S006), *Streptococcus sanguis* (IBRS S002), *Pseudomonas aeruginosa* (IBRS P001), *Proteus mirabilis* (clinical isolate), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) i meticilin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) 11. Za istraživanje antifungalne aktivnosti *in vitro* korišćena je *Candida albicans* (IBRS MH4) i *C. krusei* (IBRS Iflac1). Svi mikroorganizmi su deponovani u Mikoteci Mikološke laboratorije, Odeljenja za biljnu fiziologiju, Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu.

U testu su korišćena sledeća razblaženja preparata Herba sept:

Ir - Herba sept koncentrat

IIr - Herba sept razblaženje (1 ml koncentrata + 0.5 ml fiziološkog rastvora)

IIIr - Herba sept razblaženje (1 ml koncentrata + 1 ml fiziološkog rastvora)

IVr - Herba sept razblaženje (1 ml koncentrata + 2 ml fiziološkog rastvora)

Vr - Herba sept razblaženje (1 ml koncentrata + 3 ml fiziološkog rastvora)

Tabela 1. Antimikrobno dejstvo testiranog preparata Herba sept (mg/ml).

		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> MRSA	<i>L.</i> <i>acidophi</i> <i>lus</i>	<i>S.</i> <i>mutans</i>	<i>S.</i> <i>pyogene</i> <i>s</i>	<i>S.</i> <i>salivariu</i> <i>s</i>	<i>S.</i> <i>sanguis</i>	<i>P.</i> <i>mirabilis</i>	<i>P.</i> <i>aerugino</i> <i>sa</i>	<i>C.</i> <i>albicans</i>	<i>C.</i> <i>krusei</i>
Herba sept Ir	MIK	0.20	0.30	0.20	0.30	0.30	0.025	0.075	0.10	0.20	0.15	0.15
	MBK/ MFK	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.10	0.10	0.20	0.40	0.40	0.40
Herba sept II r	MIK	0.60	0.40	0.30	0.30	0.30	0.05	0.20	0.30	0.60	0.20	0.30
	MBK/ MFK	0.80	0.80	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.80	0.40	0.40
Herba sept IIIr	MIK	0.40	0.30	0.40	0.30	0.40	0.20	0.15	0.40	0.40	0.30	0.30
	MBK/ MFK	0.80	0.40	0.80	0.40	0.80	0.40	0.20	0.80	0.80	0.40	0.40
Herba sept IVr	MIK	-	0.80	0.60	0.60	0.60	0.40	0.40	0.60	0.40	0.60	0.60
	MBK/ MFK	-	-	0.80	0.80	0.80	-	-	0.80	-	0.80	0.80
Herba sept Vr	MIK	0.80	-	0.60	0.40	-	0.80	0.40	0.60	0.80	0.60	0.60
	MBK/ MFK	-	-	0.80	0.80	-		0.80	0.80	-	0.80	0.80
streptomycin	MIK	0.08	0.10	0.04	0.02	0.04	0.01	0.02	0.10	0.15	-	-
	MBK	0.16	-	0.08	0.04	0.08	0.02	0.04	0.20	0.20		
ospamox	MIK	0.045	-	0.002	0.006	0.50	0.001	-	0.03	0.09	nt	nt

	MBK	0.06	-	0.004	0.008	-	0.002	-	0.06	0.12	nt	nt
pancef	MIK	0.50	0.50	0.06	0.006	0.045	0.004	0.12	0.06	0.50	nt	nt
	MBK	-	-	0.12	0.008	0.06	0.008	0.50	0.12	-	nt	nt
sinacilin	MIK	0.045	0.25	0.002	0.09	0.35	0.35	-	0.006	0.20	nt	nt
	MBK	0.06	0.50	0.004	0.12	0.50	0.50	-	0.008	0.25	nt	nt
klacid	MIK	0.002	0.015	0.0005	0.0005	0.25	0.0005	0.015	0.0005	0.004	nt	nt
	MBK	0.03	0.03	0.001	0.001	0.50	0.001	0.03	0.001	0.008	nt	nt
cefaleksin	MIK	0.06	0.12	0.003	0.004	0.001	0.0005	0.25	0.02	0.08	nt	nt
	MBK	0.12	0.50	0.004	0.008	0.002	0.001	0.50	0.03	0.12	nt	nt
nistatin	MIK	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.002	0.0007
	MFK	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.003	0.0015

- nema dejstva na testirane mikroorganizme

nt – nije testirano

