

INSTITUTO DE
INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS
„SINIŠA STANKOVIĆ“
Universidad de Belgrado
Bul. Despota Stefana 142
Director: 011-2078-399
Tel. 011-2078-300
Fax. 011-2078-433
www.ibiss.bg.ac.rs



INSTITUTE FOR BIOLOGICAL
RESEARCH
„SINIŠA STANKOVIĆ“
University of Belgrade

Bul. despota Stefana 142
Director: 011-2078-399
l: 011-2078-300
Fax: 011- 2078-433
www.ibiss.bg.ac.rs
Fecha: 13.02.2017.

No. 01-318

**INFORME SOBRE EL ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y
ANTIFÚNGICA DEL PRODUCTO “Herba Sept“**

“Baltik Junior”

08.02.2017, Belgrado

Vucev prolaz 20a

Belgrado

Asunto: Respuesta a la carta con fecha de 09.12.2016

La empresa **“Baltik Junior”** recurrió al Instituto de Investigaciones Biológicas “Sinisa Stankovic” de Belgrado (en adelante, IBISS) para obtener el dictamen especialista sobre los posibles efectos antibacterianos y antifúngicos del producto “Herba Sept“.

Vista la documentación presentada por el mismo solicitante, y de acuerdo con la bibliografía consultada y los análisis de laboratorio realizados, emitimos el presente

DICTAMEN ESPECIALISTA

La muestra "Herba Sept " ha sido analizada utilizando las siguientes bacterias Gram-positivas y Gram-negativas: En la investigación se emplearon las siguientes especies bacterianas: *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* (aislado clínico), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) 11. Para el estudio de la actividad antifúngica in vitro se utilizó *Candida albicans* (IBRS MH4) y *C. krusei* (IBRS 1flac1). Todos los microorganismos se depositaron en la micoteca del Laboratorio de Micología del Departamento de Fisiología Vegetal del Instituto de Investigaciones Biológicas "Sinisa Stankovic", Universidad de Belgrado. Los aislados ensayados proceden de la cavidad bucal de los pacientes.

Se ha utilizado el método de microdilución *in vitro* (Hanela and Raether, 1988; Sokovic et al, 2010). El producto fue ensayado en concentración original y en 4 diluciones:

Ir - concentrado Herba Sept

IIr – dilución Herba Sept (1 ml de concentrado + 0,5 ml de solución salina)

IIIr - dilución Herba Sept (1 ml de concentrado + 1 ml de solución salina)

IVr – disolución Herba Sept (1 ml de concentrado + 2 ml de solución salina)

Vr - disolución Herba Sept (1 ml del concentrado + 3 ml de solución salina)

Como control positivo se emplearon antibióticos comerciales: Ospamox (amoxicilina), Pancef (cefixima), Sinacilin (amoxicilina), Klacid (claritromicina), Cefalexina y Estreptomina, y de los antimicóticos, Nistatina.

Se ha determinado que la preparación “Herba Sept“ produjo una acción bacteriostática y bactericida, es decir, ha inhibido el crecimiento, y además, ha impedido el crecimiento adicional de todas las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas ensayadas, así como de las especies del género *Candida* (*C. albicans* y *C. krusei*). La preparación mostró una actividad antibacteriana y antifúngica en todas las diluciones ensayadas (Cuadro 1, Figuras 1 y 2).

La preparación en forma concentrada actúa con el máximo potencial antibacteriano, la concentración inhibitoria mínima (MIC) de 0,025 a 0,30 mg/ml y la concentración bactericida mínima (MBC) de 0.10 a 0.40 mg/ml. En la dilución II (1 ml de preparación + 0,5 ml de solución salina) el producto mostró buena actividad antibacteriana (MIC 0,05-0,60 mg/ml, MBC 0,4-0,8 mg/ml). En la dilución III (1 ml de concentrado + 1 ml de solución salina) el producto también mostró una fuerte actividad antibacteriana (MIC 0.15 – 0.40 mg/ml y MBC 0.20 – 0.80 mg/ml). La preparación diluida en la proporción 1 ml de concentrado + 2 ml de solución salina, la dilución IV, muestra una actividad inhibitoria frente a todas las bacterias, con excepción de *S. aureus* (MIC (0,40 - 0,80 mg/ml). La actividad bactericida se demostró con 0,80 mg/ml en seis bacterias, mientras que en *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *S. salivarius*, *S. sanguis*, y *P. aeruginosa*, el producto no mostró la actividad bactericida en esta proporción. La preparación en la dilución V (1 ml de concentrado + 3 ml de solución salina) ha tenido un efecto inhibitor sobre todas las bacterias (MIC 0,40 - 0,80 mg/ml), excepto en *S. aureus* MRSA y *S. pyogenes*, mientras que la actividad bactericida fue demostrada en seis bacterias (MBC 0,80 mg/ml), pero no tuvo ningún efecto sobre *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *S. pyogenes*, *S. salivarius*, y *P. aeruginosa*.

Las bacterias más resistentes al producto ensayado son *S. aureus* y *S. aureus* MRSA. La bacteria más susceptible a los efectos del producto ensayado es *S. salivarius*. Se comprobó que esta preparación produjo efectos en todas las diluciones, incluso en las bacterias Gram-negativas más resistentes, entre ellas, la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, que se considera una de las bacterias más inmunes y más resistentes (Sokovic et al, 2010).

Los antibióticos ensayados mostraron un fuerte efecto antibacteriano en todas las bacterias analizadas, con excepción de Ospamox que no mostró actividad en *S. aureus* MRSA, *S. pyogenes* y *S. sanguis*; de Pancef (cefixima) que no tuvo efecto bactericida sobre *S. aureus*, *S. aureus* MRSA y *P. aeruginosa*; Sinacilin (Amoxicilina) que no tuvo ningún efecto sobre *S. sanguis* en las concentraciones ensayadas (0.0005 - 0,50 mg/ml) (Cuadro 1, Figura 1 y 2). La preparación en concentración y en dilución II mostró mejor actividad que los antibióticos Sinacilin (amoxicilina) y Ospamox en *S. aureus* y *S. sanguis*.

La muestra de ensayo en todas las diluciones ha tenido un efecto inhibitor (0,15 - 0,060 mg/ml) y fungicida (0,40 - 0,80 mg/ml) sobre los hongos tratados *Candida albicans* y *Candida krusei*. El producto "Herba Sept" actuó con la misma intensidad en ambas especies del género *Candida*.

La Nistatina, que se ha utilizado como control, mostró una actividad inhibitora de 0.002 a 0.0007 mg/ml y una actividad fungicida de 0.003 a 0.0015 mg/ml. La preparación de ensayo mostró una actividad más débil que el fármaco comercial.

Teniendo en cuenta que en los últimos años ha incrementado la resistencia de los microorganismos a los antibióticos sintéticos existentes, así como la toxicidad de los productos comerciales sobre las células humanas, surge la necesidad del desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos semi-sintéticos o naturales que no tienen ningún efecto adverso sobre la salud humana.

En este sentido, y en base a la consulta de la bibliografía y los ensayos in vitro realizados, se deduce lo siguiente:

La preparación analizada "Herba Sept" ha mostrado una buena actividad antibacteriana y antifúngica. Se puede concluir que la preparación en todas las diluciones ha mostrado una fuerte actividad antimicrobiana y que se puede utilizar en varias diluciones (1:1, 1:2, 1:3) siguiendo conservando un buen potencial antimicrobiano.

Es razonable utilizar el producto "Herba Sept" en la prevención de diversas infecciones bacterianas y fúngicas causadas por las especies antes mencionadas. Las características de este producto, y el hecho de que la aparición de resistencia a los productos naturales es significativamente más baja, apoyan esta conclusión.

Referencias bibliográficas:

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.

Sokovic M., Glamoclija J., Marin D.P., Brkic 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

Marina Sokovic (fdo.)

Asesor Científico

Laboratorio de Micología IBISS

Dr. Pavle Pavlovic (fdo.)

Asesor Científico

Director de IBISS

En la investigación se emplearon las siguientes especies bacterianas: *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* (aislado clínico), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) 11. Para el análisis de la actividad antifúngica in vitro se utilizó *Candida albicans* (IBRS MH4) y *C. krusei* (IBRS 1flac1). Todos los microorganismos se depositaron en la micoteca del Laboratorio de Micología del Departamento de Fisiología Vegetal del Instituto de Investigaciones Biológicas "Sinisa Stankovic", Universidad de Belgrado.

En el ensayo se utilizaron las diluciones del producto Herba Sept , como sigue:

Ir - concentrado Herba Sept

IIr – dilución Herba Sept (1 ml de concentrado + 0,5 ml de solución salina)

IIIr - dilución Herba Sept (1 ml de concentrado + 1 ml de solución salina)

IVr – disolución Herba Sept (1 ml de concentrado + 2 ml de solución salina)

Vr - disolución Herba Sept (1 ml del concentrado + 3 ml de solución salina)

Cuadro 1. Efecto antimicrobiano del producto ensayado Herba Sept (mg/ml).

		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> MRSA	<i>L. acidophilus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. 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 IIr	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
Estreptomina	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
synacylin	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	0.00 2	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
Cefalexina	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
Nistatina	MIK	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.002	0.0007
	MBK	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.003	0.0015

- - no tiene ningún efecto sobre los microorganismos analizados

- nt - no ensayado

