

**ISTITUTO DI RICERCHE
BIOLOGICHE
"SINIŠA STANKOVI "**
Universita' di Belgrado
Via Bulevar despota Stefana, 142
Direktor: 011-2078-399
Tel: 011-2078-300
Fax: 011- 2078-433
www.ibiss.bg.ac.rs
N. 01-318



**INSTITUTE FOR BIOLOGICAL
RESEARCH
"SINIŠA STANKOVI "**
University of Belgrade

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

**RELAZIONE DI RICERCA
DELL'ATTIVITA' ANTIBATTERICA ED ANTIFUNGINA DEL PREPARATO
"HERBA SEPT"**

08/02/2017

"Baltik Junior"
Via Vu i ev prolaz, 20a
Belgrado

Oggetto: Risposta alla lettera del 09/12/2016

La ditta "Baltik Junior si era rivolta all'Istituto di Ricerche Biologiche "Siniša Stankovi " di Belgrado (in seguito: IRBSS) per richiedere il parere professionale sull'effetto antibatterico ed antifungino del prodotto "Herba Sept".

Vista la documentazione presentata dal richiedente, nonche' esaminata la bibliografia ed analisi laboratoriche elaborate, riportiamo il seguente

PARERE PROFESSIONALE

Il campione di "Herba Sept" e' stato esaminato su seguenti batteri Gram + e Gram -: Nella ricerca sono stati usati seguenti tipi di batteri: *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* (isolato clinico), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e meticilina resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) 11. Per la ricerca di attivita' antifungina *in vitro* e' stata utilizzata *Candida albicans* (IBRS MH4) e *C. krusei* (IBRS Iflacl). Tutti i microorganismi sono stati depositati presso la micoteca del Laboratorio micologico del Reparto di Fisiologia Vegetale dell'Istituto di Ricerche Biologiche "Siniša Stankovi", Universita' di Belgrado. Gli isolati testati provengono dal cavo di un paziente.

E' stato utilizzato metodo di microdiluzione *in vitro* (Hanela e Raether, 1988; Sokovi et al, 2010). Il preparato e' stato esaminato nella forma originale concentrata, nonche' in 4 diluizioni:

Id - Herba sept concentrato

IId - Herba sept diluizione (1 ml concentrato + 0.5 ml soluzione fisiologica)

IIId - Herba sept diluizione (1 ml concentrato + 1 ml soluzione fisiologica)

IVd - Herba sept diluizione (1 ml concentrato + 2 ml soluzione fisiologica)

Vd - Herba sept diluizione (1 ml concentrato + 3 ml di soluzione fisiologica)

Per il controllo positivo sono stati utilizzati gli antibiotici commerciali: ospamox, pancef, sinalcilina, klacid, cefaleksina e streptomicina ed il micotico nistatina.

E' stato stabilito che il preparato "Herba Sept" ha avuto un effetto batteriostatico e battericida, cioe' ha inibito, ma anche reso impossibile la crescita di tutti i batteri Gram negativi e Gram positivi, nonche' quei del genere *Candida* (*C. albicans* e *C. krusei*). Il preparato ha dimostrato l'attivita' antibatterica e antifungina in tutte le diluizioni testate (tabella 1, figure 1 e 2).

Nella sua forma concentrata il preparato ha piu' alto potenziale antibatterico, concentrazione inibitoria minima (MIC) di 0.025-0.30 mg/ml e concentrazione battericida minima (MBC) di 0.10-0.40 mg/ml. Nella diluizione II (1 ml preparato + 0.5 ml soluzione fisiologica) il preparato ha dimostrato una buona attivita' antibatterica (MIC 0.05-0.60 mg/ml, MBC 0.4-0.8 mg/ml). Nella diluizione III (1 ml concentrato + 1 ml soluzione fisiologica) il preparato dimostra anche una forte attivita' antibatterica (MIC 0.15-0.40 mg/ml e MBC 0.20-0.80 mg/ml). Il preparato diluito in proporzione: 1 ml concentrato + 2 ml soluzione fisiologica, diluizione IV, dimostra attivita' inibitoria su tutti i batteri, tranne *S. aureus* (MIC 0.40-0.80 mg/ml). L'attivita' battericida e' stata dimostrata con 0.80 mg/ml su sei batteri, mentre su *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *S. salivarius*, *S. sanguis* e *P. aeruginosa* il preparato in questa proporzione non ha dimostrato alcuna attivita' battericida. Il preparato in diluizione V (1 ml concentrato + 3 ml soluzione fisiologica) ha avuto un effetto inibitorio su tutti i batteri (MIC 0.40-0.80 mg/ml) tranne *S. aureus* MRSA e *S. pyogenes*, mentre l'attivita' battericida si e' dimostrata su sei batteri (MBC 0.80 mg/ml), e su *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *S. pyogenes*, *S. salivarius* e *P. aeruginosa* non ha avuto alcun effetto.

I batteri piu' resistenti al prodotto esaminato sono *S. aureus* e *S. aureus* MRSA. Il batterio piu' sensibile all'effetto del preparato esaminato e' *S. salivarius*. E' stato stabilito che questo preparato in tutte le sue diluizioni ha avuto un effetto anche sui piu' resistenti batteri Gram -, tra cui *Pseudomonas aeruginosa*, uno di piu' forti e piu' resistenti (Sokovi et al., 2010).

Gli antibiotici testati hanno dimostrato un forte effetto antibatterico su tutti i batteri testati, tranne ospamox, il quale non ha dimostrato alcuna attivita' su *S. aureus* MRSA, *S. pyogenes* e *S. sanguis*; poi pancef il quale non ha avuto un effetto battericida su *S. aureus*, *S. aureus* MRSA e *P. aeruginosa*; poi sinalcilina non ha avuto un effetto su *S. sanguis* nelle concentrazioni testate (0.0005-0.50 mg/ml) (tabella 1, figure 1 e 2).

Il preparato in concentrato e in diluizione II ha dimostrato una migliore attivita' degli antibiotici sinacilina e ospamox sui batteri *S. aureus* e *S. sanguis*.

Il campione testato ha avuto un effetto inibitorio in tutte le diluizioni (0.15-0.060 mg/ml) nonché quello fungicida (0.40-0.80 mg/ml) sui funghi trattati *Candida albicans* e *Candida krusei*. Il preparato "**Herba Sept**" ha avuto effetto di intensità uguale su tutti e due i tipi del genere *Candida*.

La nistatina utilizzata per controllo ha dimostrato l'attività inibitoria di 0.002 -0.0007 mg/ml e fungicida di 0.003-0.0015 mg/ml. Il preparato testato ha dimostrato un'attività inferiore del farmaco commerciale.

Visto che negli ultimi alcuni anni la frequenza di resistenza dei microorganismi agli antibiotici sintetici è sempre maggiore, nonché la tossicità di preparati commerciali a cellule umane, si sta creando la necessità di agenti semisintetici o antimicrobici naturali senza effetto dannoso alla salute umana.

Premesso questo e studiata la bibliografia e eseguita l'analisi *in vitro* si può fare la seguente **conclusione**.

Il preparato testato "Herba Sept" ha dimostrato una buona attività antibatterica ed antifungina. Si può concludere che il preparato in tutte le sue diluizioni dimostra l'attività antimicrobica forte e può essere utilizzato in alcune diluizioni (1:1, 1:2, 1:3) mantenendo sempre un buon potenziale antimicrobico.

È assolutamente giustificato uso del prodotto "Herba sept" per prevenire diverse infezioni batteriche e fungine causate dalle specie soprannominate. Le qualità di questo prodotto, nonché il fatto che il fenomeno di resistenza ai preparati naturali è notevolmente minore, è in favore di questa conclusione.

Bibliografia:

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.

Sokovi M, Glamo ilija J, Marin D.P, Brki 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.

DdR Marina Sokovi

Associato di Ricerca del Laboratorio Micologico IRBSS

DdR

Pavle Pavlovi

Associato di Ricerca

Direttore IRBSS, firma m.p.

TIMBRO

IRBSS

Nella ricerca sono stati usati seguenti tipi di batteri: *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* (isolato clinico), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e metilina resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) 11. Per la ricerca di attività antifungina *in vitro* è stata utilizzata *Candida albicans* (IBRS MH4) e *C. krusei* (IBRS lflacl). Tutti i microorganismi sono stati depositati presso la Micoteca del Laboratorio Micologico del Reparto di Fisiologia Vegetale dell'Istituto di Ricerche Biologiche "Siniša Stankovi ", Università di Belgrado.

Per il test sono state usate le seguenti diluizioni del preparato Herba sept :

Id - Herba sept concentrato

IId - Herba sept diluizione (1 ml concentrato + 0.5 ml soluzione fisiologica)

IIId - Herba sept diluizione (1 ml concentrato + 1 ml soluzione fisiologica)

IVd - Herba sept diluizione (1 ml concentrato + 2 ml soluzione fisiologica)

Vd - Herba sept diluizione (1 ml concentrato + 3 ml di soluzione fisiologica)

Tabella 1 Effetto antimicrobico del preparato testato 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 Id	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 IId	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 IIId	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 IVd	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 Vd	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
streptomicina	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
synacilina	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
cephalexina	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

- senza effetto ai microorganismi testati

nt – non testato

