

**INSTITUT POUR LES
RECHERCHES
BIOLOGIQUES
« SINIŠA STANKOVI »**

Université de Belgrade
Boulevard Despota Stefana 12
Directeur : 011-2078-399
Tél : 011-2078-300
Fax : 011-2078-433
www.ibiss.bg.ac.rs
Numéro : **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
Date : le **13/02/2017**

**RAPPORT D'ESSAIS DES ACTIVITÉS ANTIBACTÉRIENNES ET ANTIFONGIQUES
DE LA PRÉPARATION « Herba Sept»**

« Baltik Junior »

Le 08/02/2017, Belgrade

**Vu i ev prolaz 20 a
Belgrade**

Objet : Réponse à votre courrier du 09/12/2016

L'entreprise "**Baltik Junior**" s'est adressée à l'Institut pour les recherches biologiques "Siniša Stanković " à Belgrade (dans le texte ci-après IBISS), pour avoir un avis d'expert sur les effets potentiels antibactériens et antifongiques du produit "**Herba Sept**".

Sur la base de l'examen des documents présentés par le demandeur lui-même, et de l'examen de la littérature et d'analyses précises en laboratoire nous rendons le suivant

AVIS D'EXPERT

L'échantillon de « Herba Sept » a été testé aux bactéries Gram (+) et Gram (-) suivantes : Pendant la recherche, des espèces bactériennes suivantes ont été utilisées : *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) et *Staphylococcus aureus* (MRSA) 11 résistante à la méthicilline. Pour les recherches de l'activité antifongique *in vitro* a été utilisée la *Candida albicans* (IBRS MH4) et *C. krusei* (IBRS 1 flacl). Tous les microorganismes ont été déposés en Mycothèque du Laboratoire mycologique, au Département de physiologie végétale de l'Institut pour les recherches biologiques „Siniša Stankovi“, de l'Université de Belgrade. Les isolés testés proviennent de la cavité buccale des patients.

La méthode utilisée est la méthode *in vitro* de micro-dilution (Hanela and Raether, 1988; Sokovi et al., 2010). La préparation a été testée dans sa forme originale concentrée, ainsi que dans 4 dilutions :

Ir - Herba sept concentré

IIr - Herba sept dilution (1 ml de concentré + 0.5 ml de solution physiologique)

IHr - Herba sept dilution (1 ml de concentré + 1 ml de solution physiologique)

IVr - Herba sept dilution (1 ml de concentré + 2 ml de solution physiologique)

Vr - Herba sept dilution (1 ml concentré + 3 ml de solution physiologique)

Comme contrôle positif des antibiotiques commerciaux suivants ont été utilisés : Ospamox, Pancef, Sinalcilin, Klacid, Céphaléxine et Streptomycine, et Nystatine comme mycotique.

Il a été constaté que la préparation « Herba Sept » a agi comme bactériostatique et bactéricide, elle a inhibé la croissance, mais a aussi empêché la croissance de toutes les bactéries Gram (-) et Gram (+) ainsi que des espèces du genre *Candida* (*C. albicans* and *C. krusei*). La préparation a montré une activité antibactérienne et antifongique dans toutes les dilutions testées (Tableau 1, Figure 1 et 2).

Dans sa forme concentrée, la préparation agit avec son plus grand potentiel antibactérien, la concentration inhibitrice minimale (MIC) est de 0.025-0.30 mg/ml et la concentration bactéricide (MBC) est de 0.10-0.40 mg/ml. En dilution II (1 ml de concentré + 0.5 ml de solution physiologique) la préparation a montré une bonne activité antibactérienne (MIC 0.05-0.60 mg/ml, MBC 0.4-0.8 mg/ml). En dilution III (1 ml de concentré + 1 ml de solution physiologique) la préparation montre aussi une forte activité antibactérienne (MIC 0.15-0.40 mg/ml et MBC 0.20-0.80 mg/ml). La préparation diluée dans un rapport de 1 ml de concentré + 2 ml de solution physiologique, la dilution IV, montre une activité inhibitrice sur toutes les bactéries, sauf sur *S. aureus* (MIC 0.40-0.80 mg/ml). L'activité bactéricide est exprimée avec 0.80 mg/ml sur six bactéries, alors que sur *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *S. salivarius*, *S. sanguis* et *P. aeruginosa*, la préparation dans ce rapport de concentré n'a pas montré une activité bactéricide. En dilution V (1 ml de concentré + 3 ml de solution physiologique), la préparation avait une activité inhibitrice sur toutes les bactéries (MIC 0.40-0.80 mg/ml) sauf sur *S. aureus* MRSA et *S. pyogenes*, alors que l'activité bactéricide est exprimée sur six bactéries (MBC 0.80 mg/ml), et la préparation n'a pas agi sur *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *S. pyogenes*, *S. salivarius* et *P. aeruginosa*.

Les bactéries les plus résistantes au produit testé sont *S. aureus* et *S. aureus* MRSA. La bactérie la plus sensible à l'effet du produit testé est *S. salivarius*. Il a été constaté que cette préparation a même agi, dans toutes les dilutions, sur les plus résistantes bactéries Gram (-), parmi lesquelles *Pseudomonas aeruginosa*, considérée comme l'une des plus résistantes bactéries (Sokovi et al., 2010).

Les antibiotiques testés ont montré un fort effet antibactérien sur toutes les bactéries testées, excepté Ospamoksa qui n'a montré aucune activité sur *S. aureus* MRSA, *S. pyogenes* et *S. sanguis* ; Pancef qui n'a pas agi comme bactéricide sur *S. aureus*, *S. aureus* MRSA et *P. aeruginosa* ; Sinalcilin n'a pas agi sur *S. sanguis* dans les concentrés testés (0.0005-0.50 mg/ml) (Tableau 1, Figure 1 et 2).

Dans sa forme concentré est en dilution II, la préparation a montré une meilleure activité que les antibiotiques Sinaciline et Ospamox sur les bactéries *S. aureus* et *S. sanguis*.

L'échantillon soumis aux essais a eu, dans toutes les dilutions, un effet inhibiteur (0.15-0.060 mg/ml) et antifongique (0.40-0.80 mg/ml) sur les champignons traités *Candida albicans* et *Candida krusei*. La préparation "**Herba Sept**" a agi avec la même intensité sur les deux espèces du genre *Candida*.

La Nistatyne, utilisée comme contrôle, a montré son activité inhibitrice en 0.002 - 0.0007 mg/ml et fongicide en 0.003-0.0015 mg/ml. La préparation testée a montré une activité plus faible que le médicament commercial.

Prenant en compte que dans ces dernières années, la fréquence de la résistance des microorganismes aux antibiotiques synthétiques existants augmente, ainsi que la toxicité des préparations commerciales sur les cellules humaines, il y a besoin de nouveaux agents semi-synthétiques ou des agents naturels antimicrobiens qui n'ont aucun effet nocif sur la santé humaine.

À cet égard, ainsi que sur la base de la littérature utilisée et les analyses réalisés *in vitro*, la conclusion suivante peut être faite :

La préparation testée "Herba Sept" a montré une bonne activité antibactérienne et antifongique. On peut en conclure que dans toutes ses dilutions, la préparation montre une forte activité antimicrobienne et qu'elle peut être utilisée dans plusieurs dilutions (1:1, 1:2, 1:3), en conservant toujours un bon potentiel antimicrobien.

L'utilisation du produit "Herba sept" est justifiée dans la prévention de différentes infections bactérienne fongiques provoquées par les espèces mentionnées ci-dessus. Les caractéristiques de ce produit, ainsi que le fait que l'émergence de la résistance aux produits naturels est nettement plus faible, vont en faveur de cette décision.

Références :

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 lija 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

Dr Marina Sokovi – Signé
Conseiller scientifique
Laboratoire mycologique IBISS

Dr Pavle Pavlovi - Signé
Conseiller scientifique
(Cachet de l'Institut)

Dans les recherches ont été utilisées les espèces bactériennes suivantes : *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) et *Staphylococcus aureus* (MRSA) 11 résistante à la méthicilline. Pour les activités antifongiques *in vitro* a été utilisée la bactérie *Candida albicans* (IBRS MH4) et *C. krusei* (IBRS 1flac1). Tous les microorganismes sont déposés en Mycothèque du Laboratoire mycologique du Département pour la physiologie végétale de l'Institut pour les recherches biologiques „Siniša Stankovi“, l'Université de Belgrade.

Pendant les essais, les dilutions suivantes de la préparation Herba sept ont été utilisées :

Ir - Herba sept concentré

Ilr - Herba sept dilution (1 ml de concentré + 0.5 ml de solution physiologique)

IHr - Herba sept dilution (1 ml de concentré + 1 ml de solution physiologique)

IVr - Herba sept dilution (1 ml de concentré + 2 ml de solution physiologique)

Vr - Herba sept dilution (1 ml concentré + 3 ml de solution physiologique)

Tableau 1. Activité antimicrobienne de la préparation Herba sept (mg/ml) soumise aux essais

		<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
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	0.04 5	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
cefaleksi n	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
	MBK	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.003	0.0015

- il n'y a pas d'effet sur les microorganismes testés
nt – non testé

