

INŠTITUT ZA BIOLOŠKE
RAZISKAVE
"SINIŠA STANKOVI "
Univerza v Beogradu
Bul. despota Stefana 142
Direktor: 011-2078-399
Tel: 1381-11-2078-300
Fax: +381-11-2761-433
www.ibiss.bg.ac.rs
Številka 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
13.02.2017.

POROČILO O PREIZKUŠANJU ANTIBAKTERIJSKE IN ANTIFUNGALNE AKTIVNOSTI

PRIPRAVKA "Herba Sept"

"Baltik Junior"
Beograd
Vukobratova 20 a
Beograd

08.02.2017.

Zadeva: Odgovor na dopis z dne 09. 12. 2016

Podjetje "Baltik Junior" se je obrnilo na Inštitut za biološke raziskave "Siniša Stanković" v Beogradu (v nadaljevanju besedila IBISS), zaradi strokovnega mnenja o morebitnem antibakterijskem in antifungalnem delovanju izdelka "Herba Sept".

Na podlagi pregleda posredovane dokumentacije s strani vlagatelja zahteve ter pregleda literature in izpeljanih laboratorijskih analiz smo sprejeli naslednje

STROKOVNO MNENJE

Vzorec "Herba Sept" je preizkušen na naslednje Gram (+) in Gram (-) bakterije: Pri raziskavi so uporabljene naslednje vrste bakterij: *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 preizkus antifungalne aktivnosti *in vitro* sta uporabljeni *Candida albicans* (IBRS MH4) in *C. krusei* (IBRS 1flac1). Vsi mikroorganizmi so deponirani v Mikoteci Mikološkega laboratorija, Oddelka za rastlinsko fiziologijo, Inštituta za biološke raziskave „Siniša Stankovi“, Univerze v Beogradu. Preizkušani izolati izvirajo iz ustnih votlin pacientov.

Uporabljena je *in vitro* mikrodilucijska metoda (Hanela and Raether, 1988; Sokovi et al., 2010). Pripravek je preizkušen v izvirni koncentrirani obliki ter v štirih oblikah razreditev:

Ir - Herba sept koncentrat

Iir - Herba sept razreditev (1 ml koncentrata + 0.5 ml fiziološke raztopine)

IIir - Herba sept razreditev (1 ml koncentrata + 1 ml fiziološke raztopine)

IVr - Herba sept razreditev (1 ml koncentrata + 2 ml fiziološke raztopine)

Vr - Herba sept razreditev (1 ml koncentrata + 3 ml fiziološke raztopine)

Kot pozitivna kontrola so uporabljeni komercialni antibiotiki: Ospamox, Pancef, Sinalcilin, Klacid, Cefaleksin i Streptomicin, med mikoiki pa Nistatin.

je, da je "Herba Sept" pripravek deloval bakteriostatski in baktericidno oziroma je inhibiral rast ali onemogočil nadaljnjo rast vseh preizkušenih Gram (-) in Gram (+) bakterij ter vrste roda *Candida* (*C. albicans* and *C. krusei*). Pripravek kaže antibakterijsko in antifungalno aktivnost v vseh preizkušanih razreditvah (Tabele 1, Figure 1 in 2).

Pripravek v koncentrirani obliki deluje z najvišjim antibakterijskim potencialom, minimalna inhibicijska koncentracija (MIC) 0.025-0.30 mg/ml in baktericidna koncentracija (MBC) 0.10-0.40 mg/ml. Pri razreditvi II (1 ml pripravka + 0.5 ml fiziološke raztopine) pripravek izkaže dobro antibakterijsko aktivnost (MIC 0.05-0.60 mg/ml, MBC 0.4-0.8 mg/ml). Pri razreditvi III (1 ml pripravka + 1 ml fiziološke raztopine) pripravek prav tako izkaže močno antibakterijsko aktivnost (MIC 0.15-0.40 mg/ml in MBC 0.20-0.80 mg/ml). Pripravek, razredjen v razmerju, 1 ml koncentrata + 2 ml fiziološke raztopine, razreditev IV, izkaže inhibicijsko aktivnost na vse bakterije razen na *S. aureus* (MIC 0.40-0.80 mg/ml). Baktericidna aktivnost je izkazana z 0.80 mg/ml na šest bakterij, na *S. aureus*, *S. aureus MRSA*, *S. salivarius*, *S. sanguis* in *P. aeruginosa* pa pripravek v tem razmerju ni pokazal baktericidne aktivnosti. Pripravek v razreditvi V (1 ml koncentrata + 3 ml fiziološke raztopine) je deloval inhibicijsko na vse bakterije (MIC 0.40-0.80 mg/ml), razen na *S. aureus MRSA* in *S. pyogenes*, baktericidna aktivnost pa je izkazana pri šestih bakterijah (MBC 0.80 mg/ml), do čim na *S. aureus*, *S. aureus MRSA*, *S. pyogenes*, *S. salivarius* in *P. aeruginosa* ni deloval.

Najodpornejši bakteriji na preizkušani izdelek sta *S. aureus* in *S. aureus MRSA*. Najobutljivejša bakterija na inkubanje preizkušenega pripravka je *S. salivarius*. Ugotovljeno je, da je ta pripravek v vseh oblikah razreditve deloval celo na najodpornejše Gram (-) bakterije, med njimi tudi na *Pseudomonas aeruginosa*, ki velja za eno izmed najodpornejših in najbolj rezistentnih bakterij (Soković et al., 2010).

Preizkušeni antibiotiki so izkazali močno antibakterijsko učinkovitost na vse preizkušene bakterije, z izjemo Ospamoksa, ki ni izkazal aktivnosti na *S. aureus MRSA*, *S. pyogenes* in *S. sanguis*; Pancefa, ki ni deloval baktericidno na *S. aureus*, *S. aureus MRSA* in *P. aeruginosa*; Sinalcilin pa ni deloval na *S. sanguis* v preizkušenih koncentracijah (0.0005-0.50 mg/ml) (Tabela 1, Figura 1 in 2).

Pripravek je v koncentrirani obliki in pri razreditvi II izkazal boljšo aktivnost v primerjavi z antibiotiki Sinacilin in Ospamoks na bakterije *S. aureus* in *S. sanguis*.

Preizkušeni vzorec je pri vseh razreditvah deloval inhibicijsko (0.15-0.060 mg/ml) in fungicidno (0.40-0.80 mg/ml) na tretirane kvasovke *Candida albicans* in *Candida krusei*. "Herba Sept" pripravek je z enako intenziteto deloval na obe vrsti roda *Candida*.

Nistatin, ki je uporabljen kot kontrola, je izkazal inhibicijsko aktivnost 0.002-0.0007 mg/ml in fungicidno na 0.003-0.0015 mg/ml. Preizkušeni pripravek je izkazal slabšo aktivnost v primerjavi s komercialnim zdravilom.

Upoštevajo, da je v zadnjih letih pogostost rezistence mikroorganizmov na obstoječe sintetične antibiotike vse večja ter toksičnost komercialnih pripravkov na ljudske celice, obstaja potreba za novimi polsintetičnimi ali naravnimi antimikrobnimi agensi, ki nimajo škodljivega učinka na zdravje ljudi.

V zvezi s tem ter na podlagi pregleda literature in izpeljane *in vitro* analize se lahko izpelje naslednji **zaključek**.

Preizkušeni pripravek „Herba Sept“ je izkazal dobro antibakterijsko in antifungalno aktivnost. Lahko sklenemo, da pripravek v vseh oblikah razreditve izkaže močno antimikrobno aktivnost in da se lahko uporablja v različnih razmerjih razreditve (1:1, 1:2, 1:3), pri tem pa še vedno obdrži dober antimikrobni potencial.

Uporaba izdelka „Herba Sept“ je upravičena pri preprečitvi različnih bakterijskih in glivičnih vnetij, ki so povzročena z zgoraj omenjenimi vrstami. Lastnosti tega izdelka ter dejstvo, da je pojav rezistence na naravne pripravke precej manjša, govorijo v prilog takšnemu 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
Znanstvena svetovalka
Mikološki laboratorij IBISS

Dr Pavle Pavlović
Znanstvena svetovalka
Direktor IBISS

Pri raziskavi so uporabljene naslednje vrste bakterij: *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 preizkus antifungalne aktivnosti *in vitro* sta uporabljeni *Candida albicans* (IBRS MH4) in *C. krusei* (IBRS 1flac1). Vsi mikroorganizmi so deponirani v Mikoteki Mikološkega laboratorija, Oddelka za rastlinsko fiziologijo, Inštituta za biološke raziskave „Siniša Stankovi“, Univerze v Beogradu.

Pri preizkusu so uporabljene naslednje razred itve pripravka Herba sept :

Ir - Herba sept koncentrat

IIr - Herba sept razred itev (1 ml koncentrata + 0.5 ml fiziološke raztopine)

IIIr - Herba sept razred itev (1 ml koncentrata + 1 ml fiziološke raztopine)

IVr - Herba sept razred itev (1 ml koncentrata + 2 ml fiziološke raztopine)

Vr - Herba sept razred itev (1 ml koncentrata + 3 ml fiziološke raztopine)

Razpredelnica 1. Antimikrobno u inkovanje preizkušene pripravka 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
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	0.00 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	0.00 2	0.0007
	MBK	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.00 3	0.0015

- ne u inkuje na preizkušene mikroorganizme

nt - ni preizkušeno

