

Vážený pan
Daniel Fiala
CEO; SupraMedEx s.r.o.
Štěpánská 1742/27
110 00 Praha 1

Váš dopis zn. / ze dne:

Číslo jednací

Vyřizuje / e-mail:

Místo / datum

Obj. e-mail 17.1.2025

OSB 3/25

Prof. Ivo Sedláček

Brno / 27.1. 2025

ivo@sci.muni.cz

Věc: testy antimikrobiálních účinků vůči patogenu *S. aureus*

Vážený pane Fialo,

dle Vašeho požadavku jsme provedli testování inhibičního účinku dvou dodaných vzorků, extrakt z dřevokazných hub a z bylin, obojí v medu, vůči Vámi požadovanému patogenu (*Staphylococcus aureus* CCM 4516; roztěr L kličkou) metodou modifikovaného spot-testu.

Jelikož jsme neznali koncentraci ani množství předpokládané inhibiční látky ve vzorcích Supramedex Vital (šarže 2024M04V08) a Supramedex Extra (šarže 2024M02V06), tak jsme museli provést několik variant navrženého testování, abychom prokázali „nízkou X vysokou“ koncentraci možné inhibiční látky ve vzorku. Postup experimentů byl následující:

- Jedna plná klička vzorku přenesena do zkumavky s 1 ml fyziologického roztoku, dokonale homogenizovat a vyočkovat 10 µl, 20 µl a 30 µl na Petriho misku s TSA médiem, která byla nejdříve inokulována 100 µl suspenze *S. aureus* (hustota 1. McF); to vše ve třech opakováních; kultivace 24 hod./37 °C.
- Stejný postup byl proveden s homogenizací tří plných kliček v 1 ml fyziologického roztoku a taktéž i pěti plných kliček; opět ve třech opakováních.
- Nakonec jsme otestovali vlastní inhibici vzorku přímo na Petriho misce, opět primárně očkované stejnou koncentrací a množstvím patogena, kdy jsme následně sterilně korkovrtem udělali dvě dírky v agarové matici na misce, jedna o průměru 5 mm a druhá 10 mm a tyto dírky jsme naplnili konkrétním vzorkem. Váhově se obsah 5 mm jamky pohyboval okolo 0,05 g (vzorek Vital) a 0,06 g (vzorek Extra). U 10 mm jamky to bylo zhruba 0,31 g (vzorek Vital) nebo 0,23 g (vzorek Extra); kultivace Petriho misek opět 24 hod./37 °C.

Po 24 hodinové kultivaci misek jsme nezaznamenali žádné potlačení růstu *S. aureus* ani v jednom „kapkovém“ testu a tato metodika se ukázala jako nevhodná.

Antimikrobiální účinek byl prokázán pouze při přímé aplikaci vzorku do jamky v TSA médiu, kdy je patrné částečné potlačení růstu patogena *S. aureus* (zóna zhruba 22 mm od okraje jamky u vzorku Extra a přibližně 20 mm od okraje jamky u vzorku Vital pro jamky s průměrem 10 mm; lepší odečet u 10 mm než průměr 5 mm). Úplné potlačení růstu patogena *S. aureus* CCM 4516 ve velikosti zóny zhruba 2 mm od okraje jamky bylo zaznamenáno u obou vzorků – viz fotky v příloze.

Ještě bych doporučoval otestovat ten vlastní med, zda nemůže ovlivňovat navržené testování.

Těším se na další spolupráci a srdečně zdravím,

Prof. RNDr. Ivo Sedláček, CSc.

vedoucí CCM

Příloha: foto inhibice 5x



Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta

Ústav experimentální biologie, Česká sbírka mikroorganismů

Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, Česká republika

T: +420 549 49 1430, E: ccm@sci.muni.cz, www.sci.muni.cz/ccm