



*UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET NOVI SAD
KLINIČKA MEDICINA*

***ANTIMIKROBNO DEJSTVO CEĐENIH
SOKOVA I EKSTRAKATA PLODOVA
ODABRANOG VOĆA PORODICE
ROSACEAE***

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentori: Prof. dr Ljiljana Suvajdžić i nauč. sar. dr Ivana Čabarkapa

Kandidat: Tamara Krstić

Novi Sad, 2018. godine

UNIVERZITET U NOVOM SADU

MEDICINSKI FAKULTET NOVI SAD

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

<i>Redni broj:</i> <i>RBR</i>	
<i>Identifikacioni broj:</i> <i>IBR</i>	
<i>Tip dokumentacije:</i> <i>TD</i>	<i>Monografska dokumentacija</i>
<i>Tip zapisa:</i> <i>TZ</i>	<i>Tekstualni štampani materijal</i>
<i>Vrsta rada (dipl., mag., dokt.):</i> <i>VR</i>	<i>Doktorska disertacija</i>
<i>Ime i prezime autora:</i> <i>AU</i>	<i>Tamara Krstić</i>
<i>Mentor (titula, ime, prezime, zvanje):</i> <i>MN</i>	<i>dr Ljiljana Suvajdžić, vanredni proesor</i> <i>dr Ivana Čabarkapa, naučni saradnik</i>
<i>Naslov rada:</i> <i>NR</i>	<i>Antimikrobno dejstvo ceđenih sokova i ekstrakata</i> <i>plodova odabranog voća porodice Rosaceae</i>
<i>Jezik publikacije:</i> <i>JP</i>	<i>Srpski (latinica)</i>
<i>Jezik izvoda:</i>	<i>srp. / eng.</i>

<i>Jl</i>	
<i>Zemlja publikovanja:</i> <i>ZP</i>	<i>Republika Srbija</i>
<i>Uže geografsko područje:</i> <i>UGP</i>	<i>Vojvodina</i>
<i>Godina:</i> <i>GO</i>	<i>2018.</i>
<i>Izdavač:</i> <i>IZ</i>	<i>autorski reprint</i>
<i>Mesto i adresa:</i> <i>MA</i>	<i>Novi Sad, Hajduk Veljkova 3</i>

<i>Fizički opis rada:</i> <i>FO</i>	<i>7 poglavlja/ 221 stranica / 3 slike / 144 grafikona /2 tabele/ 1 shema/ 208 referenci / 12 priloga</i>
<i>Naučna oblast:</i> <i>NO</i>	<i>Farmacija</i>
<i>Naučna disciplina:</i> <i>ND</i>	<i>Mikrobiologija</i>
<i>Predmetna odrednica, ključne reči:</i> <i>PO</i>	<i>biljni ekstrakti; sokovi od voća i povrća; Rosaceae; voće; polifenoli; antiinfektivni agensi; antibakterijski agensi; antifungalni agensi; antivirusni agensi</i>
<i>UDK</i>	<i>615.28.07:582.711.71</i> <i>615.33.015.8:615.322.07</i>
<i>Čuva se:</i> <i>ČU</i>	<i>Biblioteka Medicinskog fakulteta, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad</i>
<i>Važna napomena:</i> <i>VN</i>	

<p>Izvod:</p> <p>IZ</p>	<p><i>Nesavesna upotreba antibiotika izazvala je razvoj antimikrobne rezistencije zabrinjavajućih razmera. Porast rezistencije prema konvencionalnim antimikrobicima nametnuo je potrebu pronalaska novih supstanci, koje će biti delotvorne protiv otpornih sojeva. U poslednje četiri decenije, dominira trend da se lekovi i lekovita sredstava prave na bazi prirodnih proizvoda, a naročito biljnog materijala. Hemijski sastav plodova porodice ruža (Rosaceae) upućuje na to da bi određene vrste ove porodice biljaka mogle ispoljavati antimikrobno dejstvo. Plodovi voća porodice Rosaceae istraživani u okviru ove disertacije su: malina (Rubus idaeus), kupina (Rubus fruticosus), trešnja (Prunus avium), višnja (Prunus cerasus) i aronija (Aronia prunifolia). Predmet istraživanja ove doktorske disertacije je antimikrobno tj. antibakterijsko, antigljivično, antialgalno i antivirusno dejstvo sokova i ekstrakata plodova odabranog voća porodice Rosaceae gajenog i prikupljenog na teritoriji Srbije na širok spektar humanih i animalnih patogenih mikroorganizama. Sokovi su dobijeni ceđenjem svežih plodova voća. Ekstrakti su dobijeni iz ostataka voća nakon ceđenja (tropa) metodom dvostruke etanolne ekstrakcije. Nakon ceđenja i ekstrakcije sprovedeno je uparavanje do suva sokova i ekstrakata. HPLC metodom je ispitano prisustvo 23 hemijske komponente u svakom od sokova i ekstrakata. Antimikrobna analiza je sprovedena na 21 mikroorganizmu, od čega su 15 bile bakterije, 2 gljivice, 2 alge i 2 virusi. Od navedenih mikroorganizama 14 je bilo autohtonih izolata, a 7 referentnih sojeva. Ispitivanje antibakterijskog, antifungalnog i antialgalnog dejstva plodova odabranog voća je sprovedeno difuzionom i mikrodilucionom metodom. Analiza antivirusne aktivnosti plodova odabranog voća je sprovedena posmatranjem inhibicije citopatogenog efekta (CPE) virusnih čestica na ćelijsku kulturu. Sve studije su sprovedene u triplikatu. Rezultati hemijske analize su obrađeni statistikom metodom srednje vrednosti, uz računanje standardne devijacije. Eksperimentalno dobijeni podaci u okviru ispitivanja antibakterijskog, antigljivičnog i antialgalnog dejstva su uvršteni u statističku analizu. Metodom aproksimacije je utvrđena tačna koncentracija soka ili ekstrakta koja daje željeni efekat na ispitivani mikroorganizam. Rezultati analize antivirusnog dejstva su statistički obrađeni metodom srednje vrednosti. Kako bi se utvrdio stepen povezanosti rezultata dobijenih u okviru antimikrobnih analiza sa hemijskim supstancama prisutnim u plodovima odabranog voća sprovedena je regresiona analiza za</i></p>
-------------------------	---

svaki pojedinačni slučaj. Antibakterijsko, antiungalno i antialgalno dejstvo sokova i ekstrakata je upoređeno sa istim dejstvima konvencionalnih antimikrobnih lekova. Najveću ukupnu količinu ispitivanih supstanci je sadržao ekstrakt kupine (3965,56 mg/ml), a najmanju ekstrakt trešnje (161,44 mg/ml). Od svih ispitivanih hemijskih supstanci, samo su: antocijani, katehin, galna kiselina i vitamin C, prisutni u svim ispitivanim sokovima i ekstraktima. Sve ispitivane biljke sadrže veću količinu supstanci u ekstraktu, osim kod trešnje, kod koje se veća količina supstanci nalazi u soku. U najvećoj meri su u sokovima i ekstraktima plodova biljaka prisutni antocijani i to najviše kod kupine od ekstrakata, a kod maline od sokova. Antimikrobno (antibakterijsko, antifungalno, antialgalno i antivirusno) dejstvo je dokazano za svaki od sokova i/ili ekstrakata plodova odabranog voća. Po prosečnim vrednostima rezultata dilucione analize antimikrobnog i dejstva na MDBK ćelije, protiv najvećeg broja mikroorganizama najdelotvorniji je bio ekstrakt kupine, a neaktivan ili najslabije aktivan (aktivan u najvećoj koncentraciji) sok trešnje. Prosečne vrednosti antimikrobnog i dejstva na MDBK ćelije su bile u opsegu od 0,71 mg/ml do 100 mg/ml. Sve ispitivane supstance su pokazale antibakterijsku aktivnost u ispitivanim koncentracijama na sve ispitivane bakterije, osim soka maline na Escherichia-u coli i soka aronije na Klebsiella-u pneumoniae. Ekstrakti su bolje delovali u većini slučajeva, uz nekoliko izuzetaka. Sve ispitivane supstance su pokazale antifungalnu aktivnost na Candida-u albicans ATCC 24433, osim soka aronije. Na autohtoni soj Candida-e albicans su delovali samo ekstrakti kupine i trešnje. Ekstrakti su bolje delovali u većini slučajeva, osim kupine na Candida-u albicans ATCC 24433, u kojem je dejstvo soka bilo jednako sa dejstvom ekstrakta. Iako su skoro svi ispitivani sokovi i ekstrakti ispoljili antialgalno dejstvo, na Prototheca-u wickerhamii nisu delovali višnja i sok maline, dok sok aronije nije delovao antialgalno ni na jednu od ispitivanih Prototheca. Ekstrakti su bolje delovali u većini slučajeva, osim maline kod koje je, u oba slučaja, bolje delovao sok. Sve ispitivane supstance su pokazale antivirusnu aktivnost na Bovine herpesvirus i Bovine viral diarrhea virus, kao i toksičnost na MDBK ćelije, osim sokova maline i trešnje, koji su bili neaktivni protiv Bovine herpesvirus-a. Ekstrakti su bolje delovali u većini slučajeva, osim trešnje na MDBK ćelije i Bovine viral diarrhea virus, na koje je jače delovao sok. U potpunosti jednako delovanje soka i

	<p><i>ekstrakta je uočeno kod aronije za sva tri dejstva i maline za toksičnost na MDBK ćelije. Pri ispitivanju difuzionom metodom antibiotik je ispoljio jače dejstvo u odnosu na sokove i ekstrakte, osim ekstrakata kupine, maline i višnje na Trueperella-u pyogenes. Pri ispitivanju dilucionom metodom, dejstvo ekstrakata i sokova na Gram pozitivne bakterije je bilo uporedivo sa dejstvom Streptomicina, dok je dejstvo antibiotika na Gram negativne bakterije bilo jače u odnosu na sokove i ekstrakte, izuzetev jačeg dejstva ekstrakta maline protiv Escherichia-e coli. Nistatin je sve antifungalne i antialgalne efekte na gljivice i alge obuhvaćene istraživanjem ispoljio u manjim koncentracijama u odnosu na ispitivane sokove i ekstrakte. Najpovezanije sa antibakterijskim dejstvom sokova i ekstrakata na odgovarajuće mikroorganizme su bile: kumarinska, ferulna i galna kiselina, katehin. Najveći procenat povezanosti sa antimikrobnom aktivnosti ploda imali su antocijani na Enterococcus faecalis (71,94%). Najmanje povezani sa antimikrobnom aktivnosti na odgovarajuće mikroorganizme su bili: hlorogenska kiselina, kempferol, kumarinska i siringinska kiselina, vitamin C, vanilinska kiselina, epikatehin, katehin, rutin, krisin, elaginska i p-hidroksibenzoeva kiselina. Saznanja dobijena u okviru ove disertacije proširuju obim znanja o antimikrobnom dejstvu voća i predstavljaju osnovicu za svrsishodniju primenu voća kako u ishrani tako i u terapiji. Međutim, dalja istraživanja u smislu proširenja spektra ispitivanih mikroorganizama, antimikrobnih studija pojedinačnih komponenti iz plodova i mehanizama dejstva su potrebna.</i></p>
<p><i>Datum prihvatanja teme od strane Senata:</i></p> <p><i>DP</i></p>	<p><i>14.09.2017.</i></p>
<p><i>Datum odbrane:</i></p> <p><i>DO</i></p>	

<p>Članovi komisije:</p> <p>(ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status)</p> <p>KO</p>	<p><i>predsednik: dr Ružica Igić, redovni proesor, Prirodno-matematički Fakultet, Univerziteta u Novom Sadu</i></p> <p><i>član: dr Neda Mimica-Dukić, redovni proesor, Prirodno-matematički Fakultet, Univerziteta u Novom Sadu</i></p> <p><i>član: dr Tamaš Petrović, naučni savetnik, Naučni institute za veterinarstvo "Novi Sad"</i></p> <p><i>član: dr Vesna Milošević, redovni professor, Medicinski fakultet, Univerziteta u Novom Sadu</i></p> <p><i>član: dr Ana Pilipović, docent, Medicinski fakultet, Univerziteta u Novom Sadu</i></p>
---	---

University of Novi Sad

Faculty

Key word documentation

<i>Accession number:</i> ANO	
<i>Identification number:</i> INO	
<i>Document type:</i> DT	<i>Monograph documentation</i>
<i>Type of record:</i> TR	<i>Textual printed material</i>
<i>Contents code:</i> CC	<i>PhD Thesis</i>
<i>Author:</i> AU	<i>Tamara Krstić</i>
<i>Mentor:</i> MN	<i>PhD Ljiljana Suvajdžić, associate professor</i> <i>PhD Ivana Čabarkapa, research associate</i>
<i>Title:</i> TI	<i>Antimicrobial activity of squeezed juices and fruit extracts of the selected fruit of the Rosaceae family</i>
<i>Language of text:</i> LT	<i>Serbian (latin)</i>
<i>Language of abstract:</i> LA	<i>eng. / srp.</i>
<i>Country of publication:</i>	<i>Republic of Serbia</i>

<i>CP</i>	
<i>Locality of publication:</i> <i>LP</i>	<i>Vojvodina</i>
<i>Publication year:</i> <i>PY</i>	<i>2018.</i>
<i>Publisher:</i> <i>PU</i>	<i>Author reprint</i>
<i>Publication place:</i> <i>PP</i>	<i>Novi Sad, Hajduk Veljkova 3</i>

<i>Physical description:</i> <i>PD</i>	<i>7 chapters/ 3 figures / 144 graphics / 2 tables/ 1 scheme/ 208 references / 12 additional files/ 221 pages</i>
<i>Scientific field</i> <i>SF</i>	<i>Pharmacy</i>
<i>Scientific discipline</i> <i>SD</i>	<i>Microbiology</i>
<i>Subject, Key words</i> <i>SKW</i>	<i>Plant Extracts; Fruit and Vegetable Juices; Rosaceae; Fruit; Polyphenols; Anti-Infective Agents; Anti-Bacterial Agents; Antifungal Agents; Antiviral Agents</i>
<i>UC</i>	<i>615.28.07:582.711.71 615.33.015.8:615.322.07</i>
<i>Holding data:</i> <i>HD</i>	<i>Library of the Faculty of Medicine, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad</i>
<i>Note:</i> <i>N</i>	
<i>Abstract:</i> <i>AB</i>	<i>Nonconscientious use of antibiotics has caused the development of antimicrobial resistance of worrying proportions. The increase in resistance to conventional antimicrobials has imposed a need to find new substances that will be effective against resistant strains. Over the</i>

last four decades, the trend is to medicines and medicinal products be made on the basis of natural products, and especially plant material. The chemical composition of the Rose family (Rosaceae) fruits suggests that certain species of this family of plants may exhibit an antimicrobial effect. The fruits of the Rosaceae family studied in the framework of this dissertation are: Raspberry (Rubus idaeus), Blackberry (Rubus fruticosus), Cherry (Prunus avium), Cherry (Prunus cerasus) and Aronia (Aronia prunifolia). The subject of the research of this doctoral dissertation is antimicrobial ie. antibacterial, antifungal, antialgal and antiviral effects of juices and fruit extracts, of the selected fruit of the Rosaceae family collected on the territory of Serbia, on a wide range of human and animal pathogenic microorganisms. Juices were obtained by the process of squeezing fresh fruits. The extracts were obtained from residues of fruits after extraction (pomace) by the double ethanol extraction method. After squeezing and extraction, evaporation to dryness of juices and extracts was carried out. The presence of 23 chemical components in each of the juices and extracts was examined by the HPLC method. Antimicrobial analysis was carried out on 21 microorganisms, of which 15 were bacteria, 2 fungi, 2 algae and 2 viruses. 14 of these microorganisms were autochthonous isolates and 7 reference strains. The antibacterial, antifungal and antialgal effect of the selected fruit was tested by the diffusion and microdilution method. The analysis of the fruits antiviral activity was carried out by observing the inhibition of cytopathogenic effect (CPE) of viral particles per cell culture. All studies were conducted in triplicate. The results of the chemical analysis were processed by means of a mean value method, with calculation of the standard deviation. The experimentally obtained data within the antibacterial, antifungal and antialgal examination were included in the statistical analysis. The method of approximation was used in order to determine the exact concentration of the juice or extract, which gives the desired effect on the examined microorganisms. The results of the antiviral analysis were statistically processed using the mean value method. In order to determine the degree of correlation of the results obtained in the framework of antimicrobial analysis with the chemical substances present in the fruits of the selected fruit, regression analysis was carried out for each individual case. Antibacterial, antifungal and antialgal effects of juices and extracts are compared with

the same effects of conventional antimicrobial drugs, Streptomycin and Nystatin. The largest total amount of test substances was contained by blackberry extract (3965.56 mg/ ml), and the smallest by extract of sweet cherry (161.44 mg/ ml). Of all the investigated chemicals, only: anthocyanins, catechins, gallic acids and vitamin C were present in all examined juices and extracts. All investigated plants contain a higher amount of substances in the extract, except for sweet cherries, in which a greater amount of substances is present in the juice. In the juices and extracts of fruits anthocyanins are present to the greatest extent, mostly in the blackberry extract, and in raspberry juices. According to the average values of the results of the dilution analysis of the antimicrobial and the effect on the MDBK cell, the most effective was the blackberry extract and the most active inactive (active in the highest concentration) cherry juice against the most numerous microorganisms. The average antimicrobial values and effects on the MDBK cells were in the range of 0.71 mg/ ml to 100 mg/ ml. All investigated substances showed antibacterial activity in the tested concentrations on all examined bacteria, except raspberry juice on Escherichia coli and aronia juice on Klebsiella pneumoniae. Extracts acted better in most cases, with few exceptions. All investigated substances showed antifungal activity on Candida albicans ATCC 24433, except aronia juice. On the autochthonous Candida albicans, only blackberry and sweet cherry extracts were active. Extracts worked better in most cases, except for blackberry on Candida albicans ATCC 24433, in which the effect of the juice was equally efficient as the extract. Although almost all of the examined juices and extracts exhibited an antialgal effect, the sour cherry and raspberry juice did not work on the Prototheca wickerhamii, while the aronia juice did not express antialgal activity to any of tested Prototheca isolates. Extracts worked better in most cases, apart from raspberries, wich juice was stronger in both cases. All investigated substances showed antiviral activity on Bovine herpesvirus and Bovine viral diarrhea virus, as well as the toxicity to MDBK cells, except for raspberry and cherry juices, that were inactive against Bovine herpesvirus. The extracts worked better in most cases, except sweet cherries on MDBK cells and Bovine viral diarrhea virus, whose juice had stronger effect. The equally effective action of juice and extract was observed in aronia for all three effects and raspberries for toxicity to MDBK cells. In the diffusion test, antibiotic showed a

	<p><i>stronger effect than juices and extracts, except for extracts of blackberry, raspberry and sour cherries on Trueperella pyogenes. In a dilution study, the effect of extracts and juices on Gram-positive bacteria was comparable to that of Streptomycin, while the effect of the antibiotic on Gram negative bacteria was stronger than juices and extracts, with exception of the stronger effect of raspberry extract against Escherichia coli. Nystatin has expressed its all antifungal and antialgal effects on fungi and algae included in the study in smaller concentrations compared to the examined juices and extracts. The most consistent with the antibacterial effect of juices and extracts on the appropriate microorganisms were: coumarin, ferulan and gallic acid, catechin. The highest percentage of association with antimicrobial activity of the fruits was given by anthocyanins to Enterococcus faecalis (71.94%). The least related to the antimicrobial activity on the appropriate microorganisms were: chlorogenic acid, champferol, coumarin and saringic acid, vitamin C, vanillic acid, epicatechin, catechin, rutin, chrysin, elaginic and p-hydroxybenzoic acid. The knowledge gained through this dissertation expands the scope of knowledge on antimicrobial activity of fruits and forms the basis for more effective use of fruits in both therapy and nutrition. However, further research in terms of extending the range of examined microorganisms, antimicrobial studies of individual fruits components and mechanisms of action are required.</i></p>
<p>Accepted on Senate on: AS</p>	<p>14.09.2017.</p>
<p>Defended: DE</p>	
<p>Thesis Defend Board: DB</p>	<p><i>President: PhD Ružica Igić, professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad</i></p> <p><i>member: PhD Neda Mimica-Dukić, professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad</i></p> <p><i>member: PhD Tamaš Petrović, scientific advisor, Scientific Veterinary Institute Novi Sad</i></p> <p><i>member: PhD Vesna Milošević, professor, Faculty of Medicine, University of Novi Sad</i></p> <p><i>member: PhD Ana Pilipović, assistant professor, Faculty</i></p>

	<i>of Medicine, University of Novi Sad</i>
--	--

Sadržaj

<i>Lista skraćénica</i>	1
<i>Uvod</i>	1
<i>Opšti deo</i>	3
<i>Problem rezistencije mikroorganizama na antimikrobne lekove</i>	3
<i>Mikroorganizmi</i>	5
<i>Biljke</i>	18
<i>Ciljevi i hipoteze istraživanja</i>	30
<i>Ciljevi</i>	30
<i>Hipoteze</i>	30
<i>Materijali i metode</i>	31
<i>Materijali</i>	31
<i>Biljne vrste</i>	31
<i>Mikroorganizmi</i>	32
<i>Metode</i>	33
<i>Priprema sokova i ekstrakata</i>	33
<i>Analiza hemijskog sastava</i>	34
<i>Analiza antimikrobnog dejstva</i>	35
<i>Rezultati i diskusija</i>	40
<i>Hemijski sastav</i>	40
<i>Kupina</i>	40
<i>Malina</i>	42
<i>Trešnja</i>	44
<i>Višnja</i>	46
<i>Aronija</i>	47
<i>Poređenje hemijskih sastava</i>	48
<i>Antimikrobno dejstvo</i>	51
<i>Antibakterijsko dejstvo</i>	51
<i>Antifungalno dejstvo</i>	126
<i>Antialgalno dejstvo</i>	140
<i>Antivirusno dejstvo</i>	151
<i>Poređenje antimikrobnih dejstava</i>	160
<i>Povezanost hemijskih supstanci i antimikrobnog dejstva</i>	162

<i>Zaključak</i>	167
<i>Hemijski sastav</i>	167
<i>Antimikrobno dejstvo</i>	167
<i>Opšti zaključak</i>	168
<i>Literatura</i>	170
<i>Prilozi</i>	186

Lista skraćénica

WHO-World Health Organization, Svetska Zdravstvena Organizacija

HPLC-High Performance Liquid Chromatography, Tečna Hromatografija Visokih Performansi

MIC-Minimum Inhibitory Concentration, Minimalna Inhibitorna Koncentracija

MBC- Minimum Bactericidal Concentration, Minimalna Baktericidna Koncentracija

MDBK- Madin-Darby Bovine Kidney, Madin-Darby goveđi bubreg, Madin-Darby goveđeg bubrega

ATCC-American Tissue Culture Collection, američka kolekcija tkiva i kultura ćelija

CLSI- Clinical & Laboratory Standards Institute, Institut za kliničke i laboratorijske standarde

MDR- Multi Drug Resistant, rezistentan na nekoliko lekova

SO-suvi ostatak, suvog ostatka

SV-sveže voće, svežeg voća

SmV-smrznuto voće, smrznutog voća

ST-svež trop, svežeg tropa

SvT-sveža težina, sveže težine

K-kupina

M-malina

T-trešnja

V-višnja

A-aronija

e-ekstrakt

s-sok

Ke-kupina ekstrakt

Ks-kupina sok

Me-malina ekstrakt

Ms-malina sok

Te-trešnja ekstrakt

Ts-trešnja sok

Ve-višnja ekstrakt

Vs-višnja sok

Ae-aronija ekstrakt

As-aronija sok

dif-diuziona

dil-diluciona

i sar.-i saradnik, i saradnika, i saradnici, i saradnicima

USA-United States of America, Sjedinjene Američke Države

Sa-Staphylococcus aureus

Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632

MRSA- Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus*

Sag-Streptococcus agalactiae

Re-Rhodococcus equi

Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939

Tp-Trueperella pyogenes

Ah-Arcanobacterium haemolyticum

Ef-Enterococcus faecalis

VRE- Vancomycin-resistant *enterococci*, vankomicin rezistentni *enterococci*

Pa-Pseudomonas aeruginosa

Pa ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145

SE-Salmonella Enteritidis

ST ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028

Ec-Escherichia coli

Kp-Klebsiella pneumoniae

Al-Acinetobacter lwoffii

Ca-Candida albicans

Ca ATCC 24433- *Candida albicans* ATCC 24433

Pw-Prototheca wickerhamii

Pz-Prototheca zopfii

BHV 1-Bovine herpesvirus 1

BVDV-Bovine viral diarrhea virus

R² –koeficijent determinacije

CPE-citopatogeni efekat

Uvod

Rezistencija mikroorganizama na konvencionalne antimikrobike predstavlja jedan od najvećih problema današnje medicine, kao i jednu od najvećih pretnji humanom i animalnom životu (1). Sve od njihovog otkrića tridesetih godina prošlog veka, prisutna je ekspanzija u upotrebi antimikrobnih lekova. Kako upotreba antimikrobika postaje obimnija, razvoj mikroorganizama otpornih na iste postaje veći. Pored toga, uočeno je da neki patogeni razvijaju rezistenciju na antimikrobike mnogo brže nego što se novi antimikrobik javi na tržištu. Stoga se sve više među stanovništvom širi svest o činjenici da dolazi nova, teška era u borbi protiv patogenih mikroorganizama. Nesavesna upotreba ove vrste lekova izazvala je razvoj antimikrobne rezistencije zabrinjavajućih razmera (2,3). Racionalan pristup upotrebi antimikrobika je imperativ u lečenju infekcija. Međutim, umereniji pristup upotrebi antimikrobika nije u potpunosti usvojen među lekarima, veterinarima i farmaceutima. Porast rezistencije prema konvencionalnim antimikrobicima nametnuo je potrebu pronalaska novih supstanci, koje će biti delotvorne protiv otpornih sojeva (4). Ova potraga nije nimalo jednostavna ni laka, ali je neophodna kako bi se sačuvao život na Zemlji, kakav poznajemo. Svojstva željene supstance moraju biti dobro izbalansirana između sposobnosti da deluje mikrobicidno, a da pri tome ne naškodi domaćinu (5). Bilo koje drugo potencijalno korisno dejstvo na makroorganizam daje prednost korišćenju te supstance u odnosu na druge. Većina konvencionalnih lekova, koji se koriste u terapiji infekcija, nemaju nikakve povoljne sporedne efekte na domaćina, dok neki čak imaju i štetne efekte (6).

U poslednje četiri decenije, dominira trend da se lekovi i lekovita sredstava prave na bazi prirodnih proizvoda, a naročito biljnog materijala (7). Dakle, postoji svakodnevna potraga za biljkama koje poseduju antimikrobno dejstvo. Od mnoštva raspoloživih biljaka, najpraktičnije bi bilo koristiti one biljke, a pogotovo njihove delove koji se mogu koristiti u ishrani. Voćne biljne vrste su posebno interesantne za ispitivanje, pre svega zbog svoje: hranjivosti, lake dostupnosti, prijatnog ukusa, ali i neškodljivosti za ljude i životinje. Porodica ruža (*Rosaceae*) je jedna od vrstama najbogatijih i najzastupljenijih porodica biljaka na našem području. U okviru ove porodice veliki ekonomski značaj poseduju ukrasne vrste i voće koje se koristi u ishrani ljudi i životinja. Malina, a uz nju i kupina predstavljaju svojevrsni "brend" naše zemlje zbog čega su odabrane za istraživanja (8,9). Višnja i trešnja su voće, koje se tradicionalno koristi u ishrani i biljnoj medicini našeg stanovništva (10,11). Aronija, iako se odnedavno gaji kod nas, je za kratak vremenski period postala marketinški veoma eksploatisana biljka u koju se polažu mnoge nade sa zdravstvenog i ekonomskog aspekta (12). Zbog svega navedenog je i ova biljka uvrštena u ispitivanje. Hemijski sastav plodova ovih biljaka upućuje na potencijalno antimikrobno dejstvo, jer je za neke od supstanci sadržanih u plodovima ovog voća utvrđeno da imaju antimikrobnu aktivnost (13). Plodovi voća porodice *Rosaceae*, predviđeni ovim istraživanjem, sadrže aktivna jedinjenja od kojih su najznačajniji: flavonoidi, fenolne kiseline i vitamin C (14–19). Ova hemijska

jedinjenja su prepoznata kao antimikrobni agensi u okviru različitih studija (20,21). Sve ove karakteristike su navedene biljke učinile logičnim izborom za dalja ispitivanja (22–25). Sokovi plodova voća su slabije zastupljeni u literaturi kao materije čija je antimikrobna aktivnost testirana, iako se često koriste u ishrani. Stoga bi bilo naučno korisno i tehnološki opravdano istraživati ih. U industriji soka generišu se značajne količine nusproizvoda, koji se uglavnom tretira kao otpadni materijal. Imajući u vidu da ovako dobijeni nusproizvodi predstavljaju značajan izvor bioaktivnih jedinjenja, u današnje vreme poželjno bi bilo fokusirati ispitivanja na mogućnost njihovog iskorišćenja. S obzirom na sve navedeno, kao i na obim popularnosti ovih plodova na svetskom tržištu i u Srbiji, odlučeno je da će se ispitivati antimikrobni efekat sokova i ekstrakata odabranog voća (8,26).

Pored nekoliko ispitivanja koja su bila sprovedena sa sličnim ciljem (27–30), postojala je potreba da: se ispitaju i još neispitani mikroorganizmi obuhvaćeni ovom studijom i precizno utvrdi efektivna koncentracija sokova i ekstrakata odabranog voća, kako na već ispitivane, tako i na neispitivane mikroorganizme sa teritorije Srbije. Stoga, predmet istraživanja ove doktorske disertacije je određivanje hemijskog sastava i antimikrobnog dejstva sokova i ekstrakata plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* (kupine, maline, trešnje, višnje i aronije) gajenog i prikupljenog na teritoriji Srbije na širok spektar (14 autohtonih i 7 referentnih) humanih i animalnih patogenih mikroorganizama.

Opšti deo

Problem rezistencije mikroorganizama na antimikrobne lekove

Rezistencija mikroorganizama označava njihovu neosetljivost prema određenim antimikrobicima. Određene vrste bakterija poseduju prirodnu rezistenciju prema određenim antimikrobicima. Ovakav tip rezistencije se naziva primarna ili urođena. Kao takva, ona je prisutna bez obzira da li je bakterija bila ili nije bila u kontaktu sa odgovarajućim antimikrobikom. Bakterijska rezistencija može nastati kada bakterija: razvije alternativni metabolički put kojim se zaštiti od delovanja antimikrobika, sintetiše odgovarajuće enzime koji sprečavaju dejstvo antimikrobika, promeni veličinu pora u ćelijskom zidu, stekne sposobnost eliminacije antimikrobika iz sopstvene ćelije, izmeni mehanizme antimikrobnog transporta ili izmeni strukturu vezujućeg receptora ili nekog od dejstvenih enzima (31).

U određenom vremenskom periodu, na određene antimikrobike, može se razviti stečena ili sekundarna rezistencija. Rezistencija ovog tipa se javlja kao posledica adaptacije mikroorganizama na antimikrobike. Adaptacija mikroorganizama na antimikrobike predstavlja rezultat njihove neadekvatne primene, odnosno rezultat neadekvatnih doza i dužina trajanja terapija. Poznato je da se na godišnjem nivou utroši od 90-180000000 kg antimikrobika, što je dovoljno za 2500000000 punih tretmanskih doza ili 4 tretmanske doze po svakoj osobi kroz godinu dana. Medicinski i društveni problem antimikrobne rezistencije ogleda se u velikoj potrošnji antibiotika kako u humanoj tako i u veterinarskoj medicini (31). Upotreba antibiotika u veterinarskoj medicini i ishrani životinja radi povećanja telesne mase, potpomaže razvitak rezistentnih sojeva, kao što su multiplo rezistentne *Salmonella-e*, vankomicin rezistentni *Enterococcus* spp. i ciprofloksacin rezistentna *Escherichia coli* (32).

Problem ne predstavljaju mikroorganizmi koji su prirodno rezistentni na određeni antimikrobik. Kod njih se jednostavno koristi antimikrobik koji deluje na svojstva kakva taj mikroorganizam ima. Pretnju predstavljaju mikroorganizmi koji postaju rezistentni na određeni antimikrobik koji je prethodno bio efikasan na njih. To znači da je antimikrobik delovao na neku od struktura koje ima taj mikroorganizam, a zatim je taj mikroorganizam pronašao način na koji će se odbraniti od antimikrobnog sredstva. U terapiji takvih infekcija stvara se „prirodan vakum“, koji nastaje kada efikasni antimikrobik eliminiše senzitivnu floru, pa na mestu infekcije ostaju rezistentni fenotipovi (perzisteri). Kada se rezistentni soj pojavi među senzitivnim sojevima, brzina i efikasnost kojom će se širiti geni rezistencije se ne mogu predvideti.

Kombinovani efekti brzog stepena rasta, visoke koncentracije ćelija, genskih procesa mutacije i selekcije i sposobnost razmene gena uzrok su izuzetno visoke adaptivnosti i evolucije koje se mogu uočiti kod bakterija. Iz tih razloga adaptacija bakterija na antibiotsku okolinu se odvija veoma brzo. Što gradijent evolucije bakterije postaje veći, to pretnja po

život jedinke postaje veća (1). Primer brzog i efikasnog širenja gena rezistencije su stafilokokni β -laktamaza geni. Oni su opisani ubrzo nakon uvođenja penicilina u kliničku upotrebu 1946. godine, a sada su prisutni u skoro 80% populacije *Staphylococcus aureus*-a (1,32).

Rezistencija može biti: unakrsna ili multipla. Unakrsna rezistencija predstavlja pojavu da je jedan mikroorganizam rezistentan na jedan, više ili čitavu grupu antimikrobika. Multipla rezistencija predstavlja pojavu rezistencije mikroorganizma na nekoliko antimikrobika, koji pripadaju različitim grupama antimikrobika, kako po mehanizmu delovanja, tako i po hemijskom sastavu. Multirezistentni patogeni uzročnici su: meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus*, vankomicin rezistentni *Enterococcus*, multirezistentni *Pseudomonas aeruginosa* i enterobakterije koje imaju sposobnost produkcije β -laktamaze proširenog spektra delovanja. Ovakve bakterije su rezistentne na cefalosporine i monobaktame. Pacijenti koji su inficirani multiplo rezistentnim mikrobnim vrstama imaju produženo vreme lečenja bolesti, učestaliju smrtnost, dužu hospitalizaciju. U lečenju ovakvih infekcija zahteva se primena antibiotika druge ili treće generacije, koji su skuplji, vrlo često toksični i na njih se vrlo brzo razvija antimikrobna rezistencija (31).

Postoji zabrinjavajuća rezistencija na cefalosporine treće generacije i fluorohinolone od strane *E. coli* i *Klebsiella-e pneumoniae*, koja u nekim zemljama prelazi čak 50% ispitivanog uzorka. Međutim, još veća nedavno nastala pretnja je rezistencija na karbapeneme, posredovana metalo- β -laktamazama, jer su ovakve bakterije praktično rezistentne na sve raspoložive β -laktamske antibakterijske lekove (33).

Kao što je ranije navedeno, lek izbora pri lečenju infekcija *Staphylococcus aureus*-a je bio penicilin, sve do pojave sojeva koji su sposobni za produkciju β -laktamaza. Izvesni uspesi su ostvareni dodatkom blokatora β -laktamaza (npr. klavulanske kiseline i tazobaktama). Međutim vrlo brzo su se pojavili multiplo rezistentni sojevi ove bakterije, nazvani meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus*-i (MRSA). Oni su dobili ovo ime zahvaljujući svojoj rezistentnosti na meticilin, koja je prva uočena. Karakteristika ovih organizama je bila osetljivost na glikopeptide, kao što su vankomicin i teikoplanin, koji se mogu davati samo parenteralno, a takođe je potreban pažljiv nadzor kako bi se izbegli neželjeni efekti. Nove opcije lečenja meticilin rezistentnog *Staphylococcus aureus*-a su glikopeptidi, linezolid i daptomicin, ali su oni takođe povezani sa problematičnim neželjenim efektima. Većina prijavljenih proporcija MRSA: običan *Staphylococcus aureus* prelazi 20% u svim regionima po Svetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO), pa čak i preko 80% u nekim izveštajima. Visoke MRSA proporcije podrazumevaju povećani rizik za pacijente i potrebu za lekovima druge linije, koji su obično više toksični. Ovakve pojave povećavaju troškove i neželjene efekte, a mogu dovesti i do daljeg razvitka otpornosti stafilokoka i/ili drugih bakterija na antibiotike (33).

Tokom kasnih devedesetih godina prošlog veka i početkom dvehiljaditih, pojavilo se nekoliko klonova *Salmonella* sa višestrukom rezistentnošću, a od tada su se oni proširili širom sveta. Kod *Salmonella enterica* serotip Typhimurium postoji genomski element koji nosi otpornost na pet antimikrobnih sredstava (ampicilin, hloramfenikol, streptomycin, sulfonamidi i tetraciklini). Iako je otpornost *Salmonella* vrsta relativno mala (manja od 5% u većini država koje su izveštavale o rezistenciji), smanjivanje osetljivosti ovih bakterija na oralne lekove, kao što je ciprofloksacin, kao i sve veći broj neuspešnih lečenja, predstavljaju razloge za zabrinutost (33).

Određeni sojevi *Pseudomonas aeruginosa*-e koji poseduju otpornost na cefalosporine širokog spektra, karbapeneme i aminoglikozide su najvažniji uzroci zabrinutosti. Istovremena otpornost na fluorohinolone, polimiksine (kolistin) i tigeciklin, može dovesti do otpornosti na sve poznate lekove (34). Kolistin (polimiksin E), ciklični amfipatski antibiotik, iako poznat po nefrotoksičnosti i neurotoksičnosti, je poslednja mogućnost lečenja protiv multirezistentnog multi drug resistant (MDR) *P. aeruginosa* sojeva klasičnim putem lečenja (35).

Candida je povećala otpornost na azole kao što je flukonazol, standardni antimikotički lek koji je lek izbora u lečenju ovih infekcija u mnogim zemljama, kao i nedavno uvedene antimikotike ehinokandine. Pored rastuće otpornosti ovi lekovi se ne mogu pronaći u svim zemljama. Formulacije amfotericina B su dostupne u mnogim zemljama i manja je otpornost na njega, ali ovaj agens ima veću toksičnost od flukonazola i ehinokandina (33).

Mikrobna rezistencija je dovela do snažnog razvoja novih antimikrobika, čijom primenom se bakterijska rezistencija teži svesti na najmanju moguću meru (31).

Mikroorganizmi

Bakterije

Gram-negativne bakterije

Grupa po Bergey-u 4: Gram-negativni aerobni do mikroaerofilni štapići i koke Podgrupa 4A

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa pripada rodu *Pseudomonas* porodice Pseudomonadaceae. Jedna je od najotopornijih bakterija. Zbog minimalnih nutritivnih potreba, široko je rasprostranjen u prirodi. Može da kolonizuje kožu i sluznice kao oportunist, dok kod 10% ljudi predstavlja deo normalne flore. Optimalna temperatura rasta mu je 37°C. Na krvnom agaru može da izazove β-hemolizu. Karakterističan miris kolonije na lipu ili ljubičicu potiče od trimetilamina. Oksidaza i katalaza je pozitivan, slabo fermentuje ugljene hidrate. Poseduje fimbrije, koje mogu biti nosioci R-plazmida. Produkuje dva egzopigmenta: piocijanin (plave

boje) i fluorescin (žute boje). Takođe produkuje endotoksin (izaziva eksudaciju i nakupljanje tečnosti) i egzotoksin A (inhibiše sintezu proteina). Mukoidni sojevi luče ekstraćelijsku sluz, koja ima antifagocitno dejstvo. Od enzima poseduje: fosfolipazu (hidrolizuje lecitin i razara eritrocite), proteazu (razara kazein) i elastazu (razgrađuje elastin kornee oka, pluća ili creva) (36).

Može izazvati hemoragične, nekrotične i piogene procese kod svih vrsta sisara i nekih ptica (37). Infekcije su obično oportunističke, koje kod imunokompromitovanih osoba mogu biti smrtonosne. Često izaziva urinarne infekcije i infekcije opekotina i rana, a ređe pneumonije i sepse. U oku izaziva destruktivne infekcije: keratitis i endoftalmitis (36). Naročito je čest postoperativni problem, pogotovo u ortopediji gde izaziva osteomijelitis (1). Sve češće se javlja u bolničkoj sredini kao višestruko rezistentan soj i tada izaziva teške intrahospitalne infekcije (36).

Najefikasnija zaštita je stroga higijena, naročito bolničkih prostorija i sterilizacija medicinskih instrumenata. Terapiju je potrebno vršiti prema rezultatima antibiograma i to sa više lekova, zbog brzog stvaranja rezistencije (37). *Pseudomonas aeruginosa* može pokazati osetljivost prema aminoglikozidima i nekim β -laktamatima (karbenicilinu, ureidopenicilinima, cefalosporinima treće generacije, imipenemu i meropenemu) (36). Ostali lekovi na koje ova bakterija može pokazati osetljivost su aztreonam i noviji hinolonski antibiotici (1).

Acinetobacter lwoffii

Acinetobacter lwoffii pripada rodu *Acinetobacter* porodice Moraxellaceae. Nefermentativan, nepokretan, striktno aerobni mikroorganizam. Katalaza je pozitivan, a oksidaza negativan. Često ima "saćast" raspored u bojenim preparatima. Ubikvitaran je mikroorganizam, ma sposobnost da preživi i na vlažnim i na suvim površinama. Može rasti u širokom temperaturnom opsegu, sa optimalnom temperaturom za većinu kliničkih izolata 33-37°C i niskim pH vrednostima (38). Zbog navedenih karakteristika *Acinetobacter lwoffii* se može pronaći u: smrznutoj hrani, slanini, jajima, pasterizovanom mleku i ribi. Utvrđeno je da *Acinetobacter lwoffii* može da preživi i do 21 dan na suvim površinama. Takođe je otporan na mnoga dezinfekciona sredstva, zračenje i sušenje (39).

Smatra se delom normalne flore vlažnih delova kože i vagine kod nekih žena, a nastanjuje orofarinks i perineum kod 25% populacije. Interesantno je da *Acinetobacter lwoffii* može da zaštiti zdrave osobe od alergija, dok je prisustvo *Acinetobacter*-a *lwoffii* na koži u korelaciji sa niskom stopom učestalosti alergija (38). *Acinetobacter lwoffii* Može izazvati infekcije kod imunokompromitovanih osoba (40). Može biti uzročnik infekcija opekotina i rana, urinarnog sistema, može izazvati gastritis, peritonitis, upalu pluća, endokarditis, bakterijemiju i meningitis. Ima sposobnost stvaranja biofilma, zbog čega se često nalazi na protetskim implantima poput srčanih zalistaka i katetera. Kao oportunistički patogen, otporan na mnoge

lekove, često se izoluje kao uzročnik bolničkih infekcija, pogotovo u jedinicama intenzivne nege.

Acinetobacter lwoffii je otporan na mnoge klase antibiotika, uključujući penicilin, hloramfenikol, a često i aminoglikozide. Dramatičan porast otpornosti na antibiotike *Acinetobacter lwoffii* sojeva je prijavljen od strane Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (Centre for disease control, CDC), a karbapenemi predstavljaju „zlatni standard“ ali i poslednje utočište lečenja infekcija izazvanih ovom bakterijom (38).

Grupa po Bergey-u 5: Fakultativno anaerobni gram-negativni štapići

Podgrupa 1: Porodica Enterobacteriaceae

Salmonella Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium

Salmonella Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium pripadaju rodu *Salmonella* porodice Enterobacteriaceae. Striktno su patogeni mikroorganizmi. Pokretni su zahvaljujući peritrihijalnim flagelama, ali mogu postojati i njihovi nepokretni mutanti. Rastu dobro na većini podloga. Za njihovu identifikaciju se koriste selektivne i diferencijalne podloge na kojima daju kolonije različitih boja. *Salmonella* Enteritidis je soj koji se danas svuda u svetu najčešće izoluje. *Salmonella*-e imaju sposobnost da: fermentuju dekstrozu do kiseline i gasa, proizvode H₂S i koriste citrate kao jedini izvor ugljenika. Oksidaza su negativne, a katalaza pozitivne.

Salmonella Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium sadrže dva antigena: H (flagelarni) i O (somatski). Po Kaufmann-White-ovoj shemi antigenskih struktura *Salmonella* Enteritidis je monofazna, a *Salmonella* Typhimurium je dvofazna. *Salmonella* Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium ne spadaju u otporne mikroorganizme. U spoljnoj sredini i na predmetima mogu preživeti svega nekoliko sati, dok se u vodi i namirnicama mogu zadržati znatno duže, naročito na niskim temperaturama. Temperatura 56°C ubija ove bakterije za 30 min. *Salmonella*-e su osetljive na hlor i hlorne preparate.

Inficiraju domaćina oralnim putem, najčešće kontaminiranom hranom ili vodom. Namirnice koje sadrže ovaj mikroorganizam najčešće su animalnog porekla. Moguće je i interhumano prenošenje infekcije *Salmonella*-ama, ali se ono retko dešava zbog velike infektivne doze (10⁵-10¹⁰ bakterija). Smatra se da su infekcije *Salmonella*-ma „bolesti prljavih ruku“ tj. da se prenose fekalno-oralnim putem, i da 3% obolelih ostaju intestinalne ili urinarne kliconoše. Kod većine nosilaca perzistiraju u bilijarnom traktu, najčešće u žučnoj kesi, pogotovo u prisustvu kamenja (1). *Salmonella* Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium izazivaju salmoneloze. One spadaju u zoonoze i mogu se manifestovati kao: kliconoštvo, fokalne infekcije u plućima, kostima i moždanicama, gastroenteritisi i septikemija. Međutim, najčešće salmoneloze su alimentarne tokso-infekcije (ATI) tj. „trovanja hranom“ (1,36).

U suzbijanju infekcija *Salmonella*-ma najvažnija je primena higijenskih mera u proizvodnji i prometu životnih namirnica, kao i kontrola kliconoša. Danas se u slučajevima trovanja hranom, antibiotici koriste samo kod teških oblika bolesti ili kod komplikacija (septikemija, fokalne infekcije). U većini slučajeva su rehidracija i dijetetska ishrana dovoljne za oporavak.

Iako su ove bakterije dosta osetljive na dezinficijense i antibiotike, učestale su vanbolničke i intrahospitalne infekcije uzrokovane multirezistentnim sojem *Salmonella*-e Typhimurium (36). U antibakterijskoj terapiji mogu se koristiti: hloramfenikol, ampicilin ili trimetoprim-sulfametoksazol i cefalosporini treće generacije. Multipla rezistencija na antibiotike se prenosi plazmidima i predstavlja veliki problem pri lečenju ovih infekcija. Oko 25 % *Salmonella* je rezistentno na ampicilin, a 5% na hloramfenikol, dok je rezistencija na trimetoprim-sulfametoksazol u porastu (1).

Escherichia coli

Escherichia coli pripada rodu *Escherichia* porodice Enterobacteriaceae. Najvažniji je predstavnik normalne rezidentne crevne flore čoveka gram-negativnih bakterija. Ubikvitarna je i jedan je od najčešće izolovanih mikroorganizama u humanoj i veterinarskoj medicini. Fakultativno je anaerobna, pokretna peritriha. Ima fimbrije, koje joj omogućavaju adheziju za epitel. Posедуje: O, H i K antigene, na osnovu kojih se deli u veliki broj serogrupa i serotipova. Najveći patogeni potencijal imaju sojevi koji sadrže K-1 antigen, jer izazivaju septikemiju i meningitis kod novorođenčadi. Produkuje kolicin, materiju koja ima antibakterijsko dejstvo na druge bakterije. Oksidaza je negativna, katalaza i laktaza pozitivna, što je karakteristično za ovu vrstu. Često se dešavaju varijacije između glatkog (smooth, S) i hrapavog (rough, R) oblika bakterija. Spada u otporne bakterije koje mogu mesecima preživeti u vodi, zemlji i raznim predmetima. Otporna je na niske temperature, dok je na visoke temperature umereno osetljiva. Može da izdrži temperaturu 60°C u trajanju 30 min.

Indikator je fekalne kontaminacije vode za piće (36). Put prenosa je fekalno-oralni, hranom, vodom, ali i interpersonalnom kontaktom. Infekcije patogenim sojevima ukazuju na nizak stepen higijene, a u ustanovama kolektivnog smeštaja lako poprimaju epidemijski karakter (1,37). U zavisnosti od kliničke slike bolesti koju uzrokuju, razlikuju se: enteropatogene, enterotoksigene, enteroinvazivne, enterohemoragične, enteroagregativne i difuznoadherentne *Escherichia*-e *coli*. Pored dijarejnih oboljenja, čest je etiološki agens piogenih infekcija urinarnog trakta, meningitisa novorođenčadi i sepse (36), koje se mogu komplikovati diseminovanom intravaskularnom koagulacijom (1).

Profilaksa infekcija izazvanih *Escherichia*-om *coli* podrazumeva primenu mera antiseptice i asepsice (36). U terapiji bolesti izazvanih *Escherichia*-om *coli* primarno mesto zauzima nadoknada vode i elektrolita, potom antibiotici, dijetetski režim ishrane i eubiotici (1). Zbog neujednačenosti u prisustvu plazmida rezistencije (R plazmida), postoje varijacije u

osetljivosti na antimikrobne lekove različitih kliničkih izolata. Kao posledica toga se terapija antibioticima sprovodi isključivo po rezultatima antibiograma (36).

Klebsiella pneumoniae subspecies pneumoniae

Klebsiella pneumoniae pripada rodu *Klebsiella*, porodice Enterobacteriaceae. Ima sve opisane osobine porodice Enterobacteriaceae, kojoj pripada, ali je za razliku od predhodne dve opisane vrste, *Klebsiella pneumoniae* nepokretna. Može biti deo normalne mikroflore kod nekih ljudi, ali je značajan uzročnik oportunističkih infekcija. Većina sojeva ove bakterije poseduje fimbrije koje vrše adherenciju za epitelne ćelije domaćina. *Klebsiella* je izrazito biohemijski aktivna: fermentuje veliki broj ugljenih hidrata stvarajući kiselinu i gas, laktoza je pozitivna, a aktivnošću ureaze učestvuju u oštećenju epitela urinarnog trakta. Široko je rasprostranjena u prirodi, naročito u zemlji, vodi i intestinalnom traktu ljudi i životinja. Poseduje somatske O antigene i polisaharidne kapsularne K antigene, na osnovu kojih se razlikuje više serotipova. Oksidaza je negativna, a katalaza pozitivna.

Obično je uzročnik oboljenja kod hospitalizovanih pacijenata, kod kojih je imunitet već oslabljen. Intrahospitalne infekcije izazvaju multirezistentni sojevi. Glavni vektori prenosa su ruke osoblja, dok se ovakve infekcije ređe prenose preko kontaminirane medicinske opreme. *Klebsiella pneumoniae* najčešće izaziva: lobarnu pneumoniju, bronhopneumoniju, hronične infekcije pluća praćene destruktivnim lezijama i stvaranjem apscesa, infekcije urinarnog trakta, hirurških rana, meningitis i bakteriemiju. Pored toga može izazvati i: infekcije oka, hronične infekcije sluznice orofarinksa, nosa i paranazalnih šupljina. Sojevi koji proizvode enterotoksin mogu izazvati i akutne enterokolitise.

S obzirom na veliku rasprostranjenost *Klebsiella-e pneumoniae* u prirodi i nepostojanja specifičnog programa profilakse za ovu bakteriju, neophodno je sprečiti njeno prenošenje redovnim pranjem ruku i primenom dezinfekcije i sterilizacije u bolničkim uslovima. Svi sojevi poseduju rezistenciju na ampicilin, karbenicilin i tikarcilin, a veliki procenat *Klebsiella-e pneumoniae* nosi plazmide koji determinišu rezistenciju i na brojne druge antibiotike. Stoga je neophodno da se terapija antibioticima sprovodi isključivo prema rezultatima antibiograma (36).

Gram-pozitivne bakterije

Grupa 17 po Bergey-u: Gram pozitivne koke

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus pripada rodu *Staphylococcus* porodice Staphylococcaceae. Spada u fakultativno anaerobne bakterije. Ubikvitaran je mikroorganizam, patogen i za ljude i za životinje, i lako se prenosi sa jednih na druge. Svaka treća osoba ga ima asimptomatski u nosu, kao zdrav kliconoša. Deli se u više od tri ravni deobe, zbog čega u bojenom preparatu ima raspored grozdova. Ime je dobio po svom: grozdastom rasporedu (lat. *Staphylo*, grozd),

okruglom obliku (lat. *coccus*, zrno) i zlatno-žutom pigmentu (lat. *aureus*, zlatan). Čelijski zid *Staphylococcus aureus*-a sadrži protein A, koji služi za izbegavanje reakcije imunološkog sistema i olakšava njegovo širenje u organizmu. Najvažniji enzimi koje produkuje su: koagulaze (koagulišu plazmu), katalaze (razlažu vodonik-peroksid) i laktamaze (razgrađuju β-laktamski prsten penicilina i cefalosporina). Njegovi glavni toksini su: α-toksin (razara čelijsku membranu), leukocidin (oštećuje bela krvna zrnca), eksfolijatin (izaziva deskvamaciju epitelnih ćelija), enterotoksini A-E, H, G i I (kvare namirnice) i toksin koji izaziva sindrom toksičnog šoka (36).

Staphylococcus aureus može biti uzročnik: infekcija, intoksikacija i alimentarnih toksoinfekcija. Po podacima Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization, WHO) svaka osoba bar jednom u životu oboli na jedan od ova tri načina. Infekcije koje izaziva su: furunkul, karbunkul, celulitis, infekcije rana, sinuzitis, otitis media, mastitis porodilja, osteomijelitis, endokarditis i zapaljenje pluća. Intoksikacije su izazvane namirnicama koje sadrže toksine *Staphylococcus aureus*-a, najčešće enterotoksin (1). Sudejstvo infekcije i produkovanog toksina uzrokuje: dermatitis exfoliativa, pemfigus neonatorum, impetigo i sindrom toksičnog šoka.

Prevenција je održavanje higijene, naročito ruku. Terapija su antibiotici (36), a lekovi izbora su penicilinaza rezistentni antibiotici: meticilin, nafcilin, izoksazolil penicilini, a u poslednje dve decenije vankomicin ili antibiotici iz grupe makrolida. Kako se rezistencija na antibiotike ove bakterije može preneti i plazmidskim putem, ona veoma brzo postaje otporna na većinu primenjenih antibiotika. Stoga je potrebno da se terapija izvodi po rezultatima antibiograma. Svi zakoni sveta zabranjuju prisustvo *Staphylococcus aureus*-a u vodi za piće, hrani i lekovima (1).

Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae pripada rodu *Streptococcus* porodice Streptococcaceae. Aglutinira u grupi B po Lancefieldovoj klasifikaciji. Zbog samo jedne ravni deobe i sklonosti da ćerke ćelije ostanu zajedno, u bojenom preparatu formira raspored koji se pod mikroskopom vidi u obliku dužih ili kraćih lanaca. Na krvnom agaru najčešće izaziva β-hemolizu, ali može biti i α i γ hemolitičan. Fakultativni je anaerob (41,42). Ima veliki broj faktora virulencije, od kojih su najvažniji: polisaharidna kapsula bogata sijalnom kiselinom, β-hemolizin i CAMP faktor. Od enzima produkuje: neuraminidaze (razlažu neuraminsku kiselinu), DNK-aze (razlažu DNK) i hijaluronidaze (razlažu komponente vezivnog tkiva). Oksidaza i katalaza je negativan.

Streptococcus agalactiae predstavlja deo normalne flore čoveka, a kolonizuje gastrointestinalni i genitourinarni trakt do 40% zdravih odraslih osoba kao kliconoša (3). Ipak, ova oportunistička bakterija može, u nekim okolnostima, da izazove ozbiljne invazivne infekcije. Takve infekcije su: pneumonije, meningitis i septikemija kod novorođenčadi,

urogenitalne infekcije mlađih žena, a kod starijih ljudi do oboljevanja dovodi pretežno kod imunokompromitovanih pojedinaca. Uglavnom uzrokuje: infekcije urinarnog trakta, infekcije kože i mekog tkiva, ali i bakterijemiju, osteomijelitis, meningitis i endokarditis. Infekcije *Streptococcus*-om *agalactiae* mogu imati ozbiljne komplikacije i veliku stopu mortaliteta, koja kod inficirane novorođenčadi iznosi do 60%. Trudnice često imaju ovu bakteriju u svom genito-urinarnom sistemu, a da pri tome nemaju nikakve simptome infekcije. Ukoliko je prisutan, *Streptococcus agalactiae* iz donjeg reproduktivnog trakta žena može ascendentno inficirati novorođenče (43–45).

Kako bi se izbegla opasnost po novorođenče, potrebno je sprovoditi rutinsku kontrolu svih i lečenje inficiranih trudnica *Streptococcus*-om *agalactiae*. Kod pacijenata koji nisu alergični na penicilin, eritromicin predstavlja antibiotik izbora (46).

Enterococcus faecalis

Enterococcus faecalis pripada rodu *Enterococcus* porodice Enterococcaceae. Fakultativno je anaeroban mikroorganizam. Deo je normalne flore intestinalnog i bilijarnog trakta kod ljudi i životinja. U malom broju se može naći u vagini i uretri. Na krvnom agaru kolonije mogu biti α , β ili γ -hemolitične. Bakterije ove vrste se mogu naći pojedinačno, u parovima ili kraćim lancima. Odlikuje se velikom otpornošću, kako na antibiotike, tako i na uslove sredine. Može opstati na temperaturi 60°C kratak period, a zadržava sposobnost rasta na 10°C i 45°C, u prisustvu 6,5% natrijum hlorida, 40% žuči i pri pH 9,6, što se koristi u dijagnostičke svrhe. Aglutinira u grupi D po Lancefieldovoj, ali ne pripada rodu *Streptococcus*. Od faktora virulencije, najvažniji su: citolizin (deluje toksično na eritrocite), agregaciona supstanca i feromoni (pomažu u razmeni genetskog materijala). Produkuje i enzime: želatinazu i hijaluronidazu (učestvuju u razaranju tkiva). Oksidaza i katalaza je negativan.

Enterococcus faecalis izaziva urinarne infekcije, pogotovo kod pacijenata sa kateterima. Takođe izaziva i infekcije unutar peritonealne šupljine, naročito kod penetracionih trauma (1). Kod imunokompromitovanih osoba dovodi do infekcija bilijarnog trakta, apscesa makih tkiva, kože i infekcija rana. Ova stanja se mogu komplikovati bakterijemijom. Čest je uzročnik endokarditisa, posebno kod osoba sa oštećenim ili veštačkim srčanim zaliscima.

Poslednjih godina je ovaj mikroorganizam, kao izuzetno rezistentan na antibiotike, postao jedan od vodećih uzročnika bolničkih infekcija. Ekspresija receptorskih mesta sa niskim afinitetom vezivanja penicilina omogućava mu rezistenciju na β -laktamske antibiotike (47). Ima sposobnost da koristi već formiranu folnu kiselinu, što mu omogućava rezistenciju na trimetoprim-sulfametoksazol (48). Urođeno je otporan na klindamicin. Sticanje otpornosti izolata *Enterococcus faecalis*-a na vankomicin, ozbiljno otežava lečenje infekcija izazvanih ovim mikroorganizmima, jer su oni često otporni na sve antibiotike koji su delotvorni na vankomicin osetljive sojeve *Enterococcus faecalis*-a. Blaže infekcije se obično leče

ampicilinom ili amoksicilinom. Kombinacija penicilinskih preparata i aminoglikozida se primenjuje u terapiji endokarditisa i bakterijemije. Noviji antibiotici (daptomicin, tigeciklin, kuinupristin-dalfopristin i linezolid) su aktivni protiv mnogih sojeva *Enterococcus faecalis*-a rezistentnih na vankomicin, ali postoje naznake otpornosti i na ove agense (49).

Grupa po Bergey-u 20: Nepravilni, nesporelišujući Gram pozitivni štapići

Trueperella pyogenes

Trueperella pyogenes pripada rodu *Actinomyces* porodice *Actinomycetaceae*. Fakultativni je anaerob i ubikvitarna bakterija. Pod mikroskopom se mogu videti kratki lanci kokoidnih oblika ove bakterije, mada su difteroidni oblici uglavnom najzastupljeniji. Temperaturni raspon rasta joj je 20-40°C, a optimalna temperatura 37°C. Kada se uzgaja na krvnom agaru, pojavljuju se sitne, nepigmentisane, okrugle, slabo konveksne kolonije sa zonom β -hemolize koja može biti dva do tri puta veća u prečniku od kolonije („ β -mala“). Kod pojedinih vrsta, može doći do formiranja mlečno belog zamućenja kolonije. Najznačajniji faktor virulencije je egzotoksin piolizin. On je hemolizin, razlaže polimorfonuklearne leukocite i makrofage, dermatonekrotičan, a primenjen intravenski ili intraperitonealno je smrtonosan za laboratorijske životinje. Drugi faktori virulencije su: neuraminidaze *non H* i *non P* (omogućavaju kolonizaciju domaćina) i kolagen vezujući protein A (odgovoran za vezivanje bakterije za kolagen, fibrinogen i fibronektin). Ova bakterija takođe luči i enzime želatinaze i kazeinaze (razaraju tkiva i pomažu izbegavanje odbrambenog sistema domaćina) i DNK-aze (depolimerizuju DNK ćelija domaćina). Katalaza i oksidaza je negativna.

Dok se kod životinja *Truperella pyogenes* smatra delom normalne flore i oportunističkim patogenom, kod ljudi ova bakterija predstavlja striktni patogen. Infekcije su često rezultat profesionalne ekspozicije farmera. Može da izazove: faringitise, upale rana, septikemije, empijeme, pneumonije, ulcerativne vulvovaginitise, cistitise, endokarditise, meningitise, septične artiritise, ulkus kože, abscese, intraabdominalne infekcije i mastoiditise. Kao i kod životinja, obično se izoluje zajedno sa drugim uzročnicima gnojenja i Gram-negativnim anaerobima, a infekciji obično prethodi mehanička povreda ili kompromitovan imuni status.

Osetljiva je na: sušenje, temperature više od 60°C u trajanju dužem od 15 min, dezinfekciona sredstva i β -laktamate, a rezistentna na sulfonamide. Lečenje uglavnom ne daje zadovoljavajuće rezultate, a stvari se dodatno komplikuju ukoliko je u pitanju mešana infekcija sa anaerobima. U slučajevima kada je to moguće, neophodno je hirurški ukloniti patološki proces (50).

Arcanobacterium haemolyticum

Arcanobacterium haemolyticum pripada rodu *Arcanobacterium* porodice *Actinomycetaceae*. Kolonije *Arcanobacterium haemolyticum*-a su sićušne i β hemolitične („ β -male“), a pod mikroskopom se vide kao pleomorfni oblici. Ubikvitaran je mikroorganizam, dobro

preživljava u spoljnoj sredini, naročito vlažnoj, u detritusima i zemljištu torova i štala. Komensal je respiratornog trakta domaćih životinja. Hrana, naročito ukoliko nije dobro skladištena, može biti izvor zaraze.

Kolonije mogu imati glatku (smooth, S) i hrapavu (rough, R) formu rasta (51). Fosfolipaza D i neuraminidaze su enzimi koje luči. Produkuje hemolizin i eritrogeni toksin, koji može klinički da imitira šarlah, toksialergijske egzanteme i osipne groznice (52). Katalaza i oksidaza je negativan.

Izaziva pretežno bolesti gornjeg respiratornog trakta, ali i kožne ulceracije naročito u tropskim predelima. Uzrokuje faringitis, najčešće kod tinejdžera i mlađih odraslih osoba. Egzantem je u 30% slučajeva povezan sa faringitisom. Peritonozilarni apsces se nekad može javiti kao jedina klinička manifestacija. Ređe izaziva ozbiljne komplikacije, kao što su: sepsa, endokarditis, mešovite infekcije rana, infekcije CNS-a i kavitarne pneumonije.

Pojedini pacijenti koji su primali samo simptomatsku terapiju, spontano su ozdravili u toku dve nedelje. Uprkos brojnim saopštenjima o povlačenju simptoma tri dana po uvođenju penicilinske terapije, mnogi klinički neuspesi su uočeni i kod peroralne terapije penicilinom V i parenteralne terapije penicilinom G. Dugotrajno kliconoštvo zabeleženo je kod pacijenata bez obzira na to da li su tretirani penicilinom ili ne. Uniformna osetljivost *in vitro* i *in vivo* na eritromicin, kvalifikuju eritromicin kao antibiotik izbora za lečenje infekcija *Arcanobacterium haemolyticum*-om (53)

Grupa po Bergey-u 22: Nokardioformni organizmi

Podgrupa 1: Bakterije koje sadrže mikoličnu kiselinu

Rhodococcus equi

Rhodococcus equi pripada rodu *Rhodococcus* porodice Nocardiaceae. Striktно je aerobni i fakultativno intracelularni mikroorganizam. Tolerantan je prema širokom temperaturnom rasponu, mada se ne razmnožava na temperaturi nižoj od 10°C. Prisutan je na svim kontinentima, osim na Antarktiku. Uglavnom se nalazi u gornjem sloju zemljišta i u prašini, a naročito na lokalitetima na kojima se uzgajaju domaće životinje. Može opstati i u slatkovodnim i morskim staništima. U živim organizmima se može naći kod više vrsta sisara, vodenih životinja i ptica. Katalaza je pozitivan, a oksidaza negativan. U roku od 24 h prolazi ciklus od koke do štapića. Sadrži kapsulu koja je polisaharidne prirode i u odnosu na koju je opisano 27 seroloških kapsularnih tipova čija prevalencija varira geografski. Mikolična kiselina, kao sastavni deo ćelijske ovojnice omogućava *Rhodococcus*-u *equi* preživljavanje unutar makrofoga uz formiranje granuloma. Od faktora virulencije poseduje još i holesterol oksidazu i fosfolipazu C („*equi* faktor“). Holesterol oksidaza je karakterističan produkt *Rhodococcus*-a *equi*.

Putevi nastanka infekcije su: inhalacija prašine, konzumiranje kontaminirane vode i hrane ili putem defekata na koži ili sluzokoži. Utvrđeno je da se oko 10% infekcija *Rhodococcus-om equi*, javlja kod pacijenata nakon transplantacije, pre svega kao posledica imunosupresivne terapije. Smatra se da oko dve terćine pacijenata čine osobe obolele od AIDS-a, kod kojih je broj CD4 limfocita manji od 100 ćelija/ μ l. U tim slučajevima je stopa smrtnosti visoka. Klinička slika se manifestuje promenama koje odražavaju poremećaj funkcije aficiranog organa ili organskog sistema, a kao komplikacija može doći i do pojave bakteriemije.

Kombinovana antibiotska terapija prema rezultatima antibiograma je osnova lečenja. Međutim, da bi se infekcija izlečila često je potrebna hirurška drenaža gnojnih kolekcija (54).

Gljivice

Candida albicans

Candida albicans pripada rodu *Candida* porodice Candidaceae. Kvasnica je, uglavnom ovalnog oblika i nije kapsulirana. Raste i na 37°C, ali joj najviše odgovara temperatura 25°C. Osim iz kliničkih uzoraka, izolovana je iz zemljišta, hrane i sa predmeta u bolnicama (55). Deo je normalne flore gastrointestinalnog trakta i često se može naći na koži i sluzokoži vagine i usta. Karakteristično je bele boje. U određenim uslovima kultivacije može proizvoditi pseudohife (izdužene ćelije kvasnica), koje pomažu kvasnici da invadira dublje strukture tkiva nakon kolonizacije epitela. U određenim uslovima rasta može formirati spore za preživljavanje sa debelim ćelijskim zidom, koje se nazivaju hlamidospore (1). Ligandi i receptori sa površine *Candida-e albicans* omogućavaju kolonizaciju ćelija domaćina, dok su proteoliticki enzimi uključeni u proces penetracije tkiva.

Imunološki sistem normalno kontroliše aktivnost *Candida-e albicans*. Međutim, bolest može nastati u slučaju pada odbrambenih snaga domaćina autoinfekcijom ili u slučaju disbioze, koja se najčešće dešava tokom dugotrajne terapije antibioticima. Jedan je od najčešćih izazivača nozokomijalnih infekcija, naročito kod pacijenata na intenzivnoj nezi i u postoperativnom bloku. Najčešći oblici kandidijaze su sledeći: sor (oboljenje sluzokože usne duplje novorođenčeta), vaginitis, onihomikoza (infekcija noktiju) i dermatitis intertriginoznih predela. Do sistemskog oboljenja ovom kvasnicom može doći u slučajevima ozbiljnijeg pada imuniteta usled hronične bolesti, dugotrajene terapije antibioticima ili imunosupresivima. *Candida albicans* je uzročnik 10% svih slučajeva septikemije. Kandidijaza egzofagusa, traheja, bronhija ili pluća, uz pozitivan nalaz antitela na virus HIV-a, predstavlja jedan od indikatora AIDS-a (1).

Prevenciju predstavljaju: očuvanje imunog sistema osobe i izbegavanje sistemske upotrebe antibiotika, kada god je to moguće. Zbog štetnih efekata antimikotika po zdravlje pacijenata, izbegava se parenteralna terapija. Od lekova se najčešće primenjuju: Nistatin, itrakonazol,

amfotericin B, flukonazol, i klotrimazol. Sve češće se javlja rezistencija na antimikotike kod ove kvasnice (24, 26).

Alge

Prototheca wickerhamii i *Prototheca zopfii*

Prototheca wickerhamii i *Prototheca zopfii* pripadaju rodu *Prototheca* porodice Chlorellaceae. Smatraju se mutantima zelenih algi sa nefunkcionalnim hloroplastom. Ubikvitarne su, ali je njihova rasprostranjenost uglavnom vezana za vlažna područja koja sadrže biljnu materiju u raspadanju. Izolovane su iz niza izvora životne sredine uključujući: zemljište, biljke, morsku vodu, tekuću i stajaću slatku vodu. Takođe su izolovane iz kožnih skarifikata, sputuma i fecesa ljudi, kao i niza domaćih i nekih vrsta divljih životinja. Mogu se naći i u kliničkim uzorcima ljudi koji nemaju simptome infekcije (1). Dobro se boje metilenskim-plavim i po Gramu. Jednoćelijski su organizmi ovalnog ili sferičnog oblika. Čelijski zid *Prototheca* građen je od spoljašnje tanje i unutrašnje deblje ovojnice. *Prototheca wickerhamii* i *Prototheca zopfii* ne proizvode kapsulu. Reprodukuj se aseksualno, internalnom septacijom i formiranjem endospora.

Za 24-48 h inkubacije na 25-37°C formiraju vidljive kolonije, koje su kod *Prototheca-e wickerhamii* glatke, bele i slične kvasnicama. Kolonije *Prototheca-e zopfii* su obično veće, nepravilnih ivica i granulirane površine. Obe kolonije se lako skidaju sa podloge, kremaste su konzistencije i izvanredno lako se suspenduju u fiziološkom rastvoru. Koriste glukozu kao izvor ugljenika, a za diferencijaciju dve patogene vrste ključni parametar je asimilacija trehaloze. *Prototheca wickerhamii* je uvek trehaloza pozitivna, a *Prototheca zopfii* negativna.

Do skoro su bile jedini poznati biljni uzročni infekcija ljudi i životinja, a sada je kao potencijalni uzročnik dokazana i jedna hlodela (58). Infekcije izazvane *Prototheca*-ma su retke, ali su zabeležene širom sveta. U organizam dospevaju preko traumatskih lezija kože i mukoznih membrana prilikom ekspozicije kontaminiranoj vodi. Infekcija se ne prenosi sa čoveka na čoveka.

Najteža forma prototekoze je diseminovana ili sistemska prototekoza, opisana kod pacijenata sa drugim osnovnim obolenjem i oslabljenim imunitetom. Ona može početi kao kožna, okularna ili gastrointestinalna infekcija. Zbog hematogene diseminacije uzročnika, bolest se obično komplikuje infekcijom očiju i centralnog nervnog sistema. Infekcije očiju mogu rezultirati glaukomom, ablacijom retine i posledičnim slepilom. Kutana forma prototekoze se manifestuje pojavom: ulcerativnih lezija, krasta i piogranulomatoznog dermatitisa. Lokalizovane kožne infekcije mogu biti pojedinačne ili multiple lezije koje se sporo razvijaju i ne prolaze spontano. Bolest se češće javlja kod pacijenata pod imunosupresivnom terapijom.

Ne postoji definisan farmakološki protokol za terapiju ove retke infekcije. Nekoliko antifungalnih agenasa, kao što su: ketokonazol, itrakonazol, flukonazol i amotericin B, se koristi u terapiji prototekoza. *Prototheca*-e su rezistentne na 5-fluorocitozine (1). Tamo gde je moguće, tretman izbora je hirurška ekscizija, ali je neophodna i terapija antimikrobicima. Kod pacijenata sa lokalizovanom infekcijom se obično postiže izlečenje, dok kod pacijenata sa drugim oboljenjima i imunosupresijom ove alge mogu biti opasne po život. Zabeleženi su i slučajevi intrahospitalnih infekcija kao komplikacije procedura endotrahealne intubacije, peritonealne dijalize i hirurških ortopedskih intervencija (59).

Virusi

DNK virus

Bovine herpesvirus 1

Bovine herpesvirus 1 ili goveđi herpes virus 1 pripada porodici Herpesviridae, a potporodici Alphaherpesvirinae i rodu Varicellovirus (60). Sadrži virusni genom koji se sastoji od dvostrukog lanca DNK. *Bovine herpesvirus 1* je obmotan lipidnim omotačem, kapsomere su poligonalne, a virion je pleomorfan. Virusni glikoproteini koji se nalaze u omotaču na površini virusa igraju važnu ulogu u patogenezi i od značaja su za imunološki odgovor organizma nakon infekcije. Otporan je na uticaje okoline, preživljava u atmosferi, na niskim temperaturama i visokoj relativnoj vlažnosti, a osetljiv je na: organske rastvarače, dezinfekciona sredstva i formalin. Virion sadrži oko 70 proteina od kojih su 11 glikoproteini omotača. Mogu se razlikovati dva podtipa *Bovine herpesvirus*-a 1: *Bovine herpesvirus 1.1*, koji izaziva respiratorna oboljenja i *Bovine herpesvirus 1.2*, koji izaziva oboljenja reproduktivnog trakta, a koji je dodatno podeljen na *Bovine herpesvirus 1.2a* (pretežno uzrokuje abortuse) i *Bovine herpesvirus 1.2b* (uzročnik infektivnog pustuloznog vulvovaginitisa i balanopostitisa).

Goveđi herpes virus 1 je prvenstveno uzročnik kliničkih simptoma, poput: rinotraheitisa, pustularnog vulvovaginitisa i infektivnog pustularnog balanopostitisa. Ovaj virus izaziva i širok spektar drugih kliničkih manifestacija poput abortusa, neplodnosti, konjuktivitisa i encefalitisa. On je, takođe, jedan od najvažnijih patogena uključenih u razvoj respiratornog sindroma kod goveda. Uzrokuje imunosupresiju kod inficiranih goveda, što dovodi do podložnosti sekundarnim virusnim i bakterijskim infekcijama. Glavni izvori infekcije su nazalni eksudati i respiratorne kapljice, genitalni sekreti, seme, fetalne tečnosti i tkiva. Virus se takođe može preneti indirektno putem predmeta i opreme, kao i vazduhom. *Bovine herpesvirus 1* je uzročnik oboljenja goveda koje se javljaju širom sveta. Uzročnik je prenosivih bolesti za koje se smatra da su socio-ekonomski značajne u zemljama u kojima je razvijena međunarodna trgovina životinjama i proizvodima životinjskog porekla. Infekcije uzrokovane *Bovine herpesvirus 1* su uglavnom blage i nisu opasne po život. Međutim, one mogu da izazovu ozbiljne ekonomske gubitke zbog: gubitaka težine, pada u proizvodnji mleka, izostanka steonosti, gubitka ploda-abortusa i ograničenja u međunarodnoj trgovini

stoke. Goveda koja se oporave od akutne infekcije mogu biti veoma štetna po stado, jer ostaju nosioci *Bovine herpesvirus-a 1* tokom čitavog svog života. Stoga je važno kontrolisati bolest kod goveda.

Profilaksu predstavljaju higijenske mere, naročito na farmama. Postoje četiri vrste vakcina protiv *Bovine herpesvirus-a 1*: modifikovana živa, inaktivisana, subjedinična i marker vakcina. Prevalencija *Bovine herpesvirus 1* infekcije se može smanjiti usvajanjem programa vakcinacije na nacionalnom nivou. Osim toga, treba da postoji striktna izolacija inficiranih životinja zajedno sa kontrolom njihovog kretanja inficiranih životinja kako bi se izbegao rizik od ponovnog unošenja *Bovine herpesvirus-a 1* u stada (61).

RNK virus

Bovine viral diarrhea virus

Bovine viral diarrhea virus ili virus goveđe virusne dijareje pripada familiji Flaviviridae, rodu Pestivirus (60). On je RNK virus, obavijen kapsulom i sferičnog je oblika (62). Genom ovog virusa se sastoji od linearnog, pozitivnog, jednolančanog RNK molekula (63). Na osnovu razlika u nukleotidnim sekvencama u 5'NCR molekula RNK i antigenskim osobinama *Bovine viral diarrhea virus* se može podeliti na: *Bovine viral diarrhea virus 1* i *Bovine viral diarrhea virus 2* i druge genotipove *Bovine viral diarrhea virus-a* koji su većinom izolovani iz divljih životinja (64). Različite životinje mogu biti domaćini ovog virusa, uključujući: ovce, koze, bivole i divlje preživare, ali primarni domaćini su goveda. *Bovine viral diarrhea virus* je prisutan je širom sveta, gde god se gaji neka od životinja koja može biti izvor zaraze (65).

U odnosu na umnožavanje i efekte prilikom umnožavanja *Bovine viral diarrhea virus-a* u kulturi ćelija razlikuju se citopatogeni i necitopatogeni biotipovi virusa. Necitopatogeni biotipovi ne indukuju smrt ćelija u kojima se kultivišu, dok citopatogeni biotipovi oštećuju ćelije izazivajući citopatogeni efekat (CPE) (64). Oba biotipa mogu izazvati bolest kod goveda. Međutim, u prirodi normalno cirkuliše necitopatogeni biotip virusa, koji je uzročnik više od 95% *Bovine viral diarrhea virus* infekcija. Perzistentne infekcije, blage forme bolesti, reproduktivni poremećaji ali i teži oblici akutne infekcije uzrokovani su necitopatogenim biotipom virusa (66). Citopatogeni biotip virusa nastaje kao rezultat mutacije necitopatogenog biotipa virusa u perzistentno inficiranoj životinji. Nastankom citopatogenog biotipa virusa kod perzistentno inficirane životinje se razvija bolest sluznica sa smrtnošću 100%. Ovaj virus se smatra jednim od ekonomski najštetnijih uzročnika zaraznih bolesti u stočarskoj industriji. Odlikuje se visokom prevalencijom, perzistencijom i teškim kliničkim posledicama (65). *Bovine viral diarrhea virus* može uzrokovati subkliničke infekcije i blagu dijareju, ali isto tako i: fatalno oboljenje nazvano bolest sluzokože, akutne teške dijareje, supresiju imuniteta, trombocitopenije, hemoragičnu dijatezu, reproduktivne poremećaje koji uključuju izostanak koncepcije, rano pobađenje i abortuse, kao i kongenitalne abnormalnosti kod teladi (67). Perzistentno (trajno) inficirane

životinje su najvažniji izvor ovog virusa, iako je izvor zaraze i akutno inficirana stoka. Virus se prenosi putem direktnog kontakta, telesnih sekreta i ekskreta (68).

Najefikasnije sredstvo za prevenciju i kontrolu *Bovine viral diarrhea virus* je eliminacija perzistentno inficiranih životinja i prevencija rađanja inficiranih teladi. To zahteva istovremeno sprovođenje: laboratorijskog testiranja i uklanjanja perzistentno inficiranih životinja, monitoring ostalih životinja u zapatu uz ili bez primene vakcinacije i uz primenu strogih programa biosigurnosti. Kako tretman inficiranih životinja nije raspoloživa opcija (67), kontrola, prevencija i naponi za iskorenje ove bolesti moraju se sprovesti od strane stočarske industrije (69), kao i pojedinačnih uzgajivača (70,71).

Biljke

Porodica Rosaceae

Ova porodica pripada carstvu biljaka (Plantae), razdelu Magnoliophyta, klasi Magnoliopsida, podklasi Magnoliidae, nadredu Rosanae i redu Rosales (72).

Predstavnici ove porodice mogu biti drveće, žbunovi, šiblje ili zeljaste višegodišnje, ređe jednogodišnje biljke. Listovi su im obično naizmenično raspoređeni, a mogu biti jednostavni ili složeni. Zalisci uvek postoje na ovim biljkama, a ponekad srastaju sa lisnom drškom. Mogu ostati trajno ili kod nekih vrsta otpadaju. Cvetovi su im obično aktinomorfni, najčešće dvopolni, jednopolni ili polietski. Oni su pojedinačni ili grade cimozne, grozdaste, metličaste ili glavičaste cvasti. Cvetni omotač kod biljaka iz porodice *Rosaceae* je najčešće dvojan. Cvetovi imaju po: pet čašičnih listića, koji su najčešće jednostavni, a ponekad imaju i spoljnu čašicu i pet listića krunice, sa kojima atlerniraju. Krunični listići su poređani kao i čašični po obodu cvetne lože. Pri osnovi su suženi, a mogu biti beli ili obojeni. Pripadnici ove porodice obično imaju mnogo prašnika, koji se takođe nalaze po obodu cvetne lože. Prašnički konci su slobodni, a najčešće su končasti. Tučak je izgrađen iz jedne ili više karpela. Plodnik može biti: podcvetan, sredcvetan ili nadcvetan. Imaju jedan ili dva anatropna semena zametka. Plodovi biljaka ove porodice su: orašice ahenije, suve koštunice, zbirne orašice ili zbirne koštunice (73).

Porodica *Rosaceae* je 19. po veličini porodica biljaka. U ovu porodicu se ubraja više od 100 rodova i 3000 vrsta. Ona sadrži mnoge popularne i omiljene vrste velikog ekonomskog značaja. Najviše se koriste jestivi plodovi i ukrasne biljke, a prerađevine biljaka ove porodice se koriste i u obliku biljnih lekova (74).

Rod Rubus L. 1753.

Ovaj rod pripada porodici *Rosaceae*, subporodici *Rosoideae*, (75). Biljke ovog roda mogu biti: perene, zeljaste ili žbunaste. Stabla su im obično sa trnjem, koje je uspravno (76). Lišće ovih biljaka je najčešće složeno: perasto, prstasto ili u obliku stopala sa 3-7 listića, koji su po

obodu nazubljeni. Priperci su jajasti, lencetasti ili končasti, slobodni ili usko spojeni s lisnom drškom. Cvetovi su pojedinačni ili skupljeni u manje ili više bogate, grozdaste ili metličaste cvasti. Cvetovi su dvopolni i obično petočlani. Ovim biljkama je hipancijum zaravnjen, sa velikom, konveksnom cvetnom ložom. Nemaju spoljašnju čašicu, a krunica im može biti: crvena, purpurna, ružičasta ili bela. Imaju mnogo prašnika, kao i oplodnih listića. Gineceum je nadcvetan, a stubići obično otpadaju. Oplodni listići (karpele) i plodovi su na ravnoj ili udubljenoj cvetnoj loži. Plod najčešće predstavlja labavo spojena glavica jednosemenih koštunica. Pojedinačni plodići (koštunice) su udruženi i obrazuju zbirni plod (73,77).

Rod *Rubus* sadrži preko 700 vrsta. Kako su mnoge biljke ovog roda vrlo polimorfne, neke forme ili podvrste mogu biti klasifikovane kao vrste, pa im broj, po nekim autorima, može narasti čak do oko 3000. Većina vrsta ovog roda je kosmopolitskog rasprostranjenja. Naročito su bogato zastupljene u severnoj hemisferi, a u tropskim oblastima se sreću u planinskim predelima (73). Najveći proizvođači biljaka iz ovog roda su Kina i Severna Amerika. Etnobotaničke informacije o upotrebi plodova, lišća, korenja kao i celih biljaka *Rubus*-a mogu se pratiti do pre 2000-3000 godina u Evropi, Severnoj Americi i Aziji. U svetu se ranije vrednost ovih biljaka smatrala malom, ali je u Kini pre oko dve hiljade godina bilo primećeno njihovo lekovito dejstvo. Pored lekovitih vrsta, u ovom rodu postoje i ekološki značajne biljke. Veruje se da su značajne za očuvanje vode i tla, kao i za ulepšavanje životne sredine. Rod *Rubus* se smatra resursom malih voćnih biljaka, lekovitih biljaka i biljaka značajnih sa ekološkog stanovišta (78). Lekovite biljke ovog roda imaju širok spektar farmakoloških efekata, uključujući antimikrobne, antiinflamatorne, antitumorne, antioksidativne, antialergijske, hepatoprotektivne i antinociceptivne efekte (79).

Kupina (*Rubus fruticosus* L. 1753)

Stabla kupine su: šibolika, puzeća, granata, ovalna, glatka i pepeljasta, a retko mogu imati i kratke žlezde. Na stablima može biti manji ili veći broj slabih, kratkih, uspravnih trnova. Listovi ove biljke su trodeli, dlakavi sa obe strane. Terminalni listići su jajasti iz tri režnja, oštro zašiljeni, srcasti i često grubo dvojno testerasti. Lateralni listići su često sastavljeni od dva režnja. Lisne drške kupine su žljebovite, a zalisci su im jajasto lancetasti. Cvast je gronja, sastavljena iz 2-5 cvetova, koji se nalaze na vrhu izdanka, ili u pazuhu gornjih listova. Cvetne drške su: dugačke, sa kratkim dlakama, finim žlezdama i retkim trnjem. Prečnik cvetova iznosi 2-2,5 cm. Čašični listići su: priljubljeni uz plod, jajasto lancetasti, kratko zašiljeni, sivozeleno dlakavi. Oni imaju beli obod i kratke žlezde. Krunični listići su: krupni, jajasti, eliptični ili skoro ovalni, beli. Prašnici su: zeleni, jednake dužine sa zelenkastim stubićem. Plodovi ovih biljaka su krupne crne do pepeljasto sive zbirne koštunice, koje se nalaze u grupama 2-20 i labavo su spojene.

Kupina se vrlo često nalazi po brdima i planinskim predelima i to na: utrinama, pašnjacima, proplancima i proređenim šumama. Rasprostranjena je širom Evrope, uključujući: Veliku Britaniju, Skandinaviju do 63° severne širine, zapadnu Aziju, Altaju i Persiju. U Srbiji je

najviše rasprostranjena po: pobrđu Kopaonika, Golije, Stare planine i Homolja (73). Plod ove biljke ima: medicinsku, kozmetičku i nutritivnu vrednost. On je bogat izvor vrednih hranljivih, kao i bioaktivnih sastojaka terapijskog interesa, što naglašava značaj ove biljke kao funkcionalne hrane. Pored toga što se koristi kao sveže voće, može se upotrebljavati i kao sastojak u kuvanim jelima, salatama i pekarskim proizvodima. Plodovi kupine, pored hranljivih svojstava, poseduju i različite farmakološke aktivnosti kao što su: antimikrobne, antioksidantne, antikancerogene, antiinflamatorne, antidijabetičke i antidijarejne (80).

Malina (*Rubus idaeus* L. 1753.)

Izdanci ove biljke izbijaju iz adventivnih pupoljaka korena. Stablo je uspravno, valjkasto, visoko 1-1,5 m, pepeljasto, često sa mnogobrojnim trnjem. Listovi su obično: perasto složeni, sa 5-7 listića ili nekad tročlani, sa gornje strane glatki, a sa donje strane obrasli belim dlakama. Terminalni listić je jajast ili duguljasto jajast, a ponekad može biti plitko usečen. Zalisci su končasti ili dlakavi. Cvetovi su: dvopolni, petočlani, većinom oboreni naniže, skupljeni u cimozne cvasti na vrhu izdanka ili u pazuhu gornjih listova. Čašični listići su: uzani, obrnuto jajasti, duguljasto zaoštreni, beli i goli. Prašnici ove biljke su uspravni i bele su boje. Plodovi su zbirne koštunice crvene ili narandžaste boje obrasli maljama (73,76,77).

Prirodno raste po šumama, utrinama ili proplancima, a vrlo često na požarištima. Sreće se širom Evrope i u umerenim oblastima Azije i Severne Amerike. U Srbiji najviše raste na: Kopaoniku, Goliji, Jastrepцу, Staroj planini i drugim planinama i brdima.

Pored toga što se malina prikuplja i prerađuje sa prirodnih staništa, sve je veći broj veštački podignutih malinjaka različitih hibrida. Neki od kultivisanih varijeteta nemaju trnje, neki imaju prosto lišće, a svi uglavnom imaju veoma ukusne i krupne plodove (73).

Pored antimikrobnih osobina, plodovi malina su pokazali i druge korisne bioaktivnosti, kao što su: antioksidativne, antiinflamatorne, antiproliferativne i antineurodegenerativne (27).

Rod *Prunus* L. 1737.

Ovaj rod pripada porodici *Rosaceae*, subporodici *Prunoideae* (75). Neke vrste roda *Prunus* rastu autohtono (samoniklo) u Srbiji, dok se veliki broj gaji kao značajne voćne vrste.

Predstavnici ovog roda su uglavnom listopadno ili retko, zimzeleno drveće i žbunje. Grančice mogu biti: obrasle trnovima ili bez njih. Lišće ovih biljaka je prosto, obično nazubljeno ili testerasto, sa peteljkom koja ponekad na sebi nosi žlezdice, duguljasto, veličine od nekoliko do 15 cm, listopadno ili zimzeleno. Cvetovi su pojedinačni ili češće u grozdovima, gronjama ili štitovima. Cveta pre ili u toku listanja. Cvetovi su petočlani, sa ružičastim ili belim krupnim kruničnim listićima. Ove biljke imaju jedan tučak koji je sredcvetan i deset ili više prašnika. Plod je koštunica, koja može biti okruglasta ili pljosnata, sa sočnim ili suvim mezokapom. Veličina ploda iznosi od 0,5-10 cm (73).

Zabeleženo je da rod *Prunus* ima interesantna biološka svojstva kao što su: sedativna, antiinflamatorna, antihiperlipidemična, antitumoralna i antioksidativna (81).

Višnja (*Prunus cerasus* L. 1753.)

Višnja je žbun ili nisko drvo, visoko 2,5-9 m sa dosta nepravilnom krošnjom i krivudavim deblom i granama, koje daje izdanke iz korenja. Kora višnje je debela i tamnosmeđa. Na kori ove biljke se dugo zadržavaju krupne, poprečno stojeće lenticеле, a ljušti se u tankim slojevima. Grančice su: vrlo tanke, mrko-sive, gole, manje-više viseće, sa kratkorastima. Lišće je: dugo 5-8 (-12) cm, široko 3-6 cm, eliptično do izduženo objajasto, zašiljeno na vrhu, suženo na osnovi, na licu golo, sjajno, na naličju bleđe i bez sjaja, golo ili samo u mladosti malo dlakavo, čvrsto, po obodu prosto ili dvostruko tupo testerasto nazubljeno, sa žlezdicom na vrhu zubaca. Peteljke su duge 1-3 cm, manje viseće nego kod trešnje i obično bez žlezdica. Zališće višnje je: linearno, dugo do 6 mm i žlezdasto nazubljeno. Cvetovi su: beli, široki do 3 cm, imaju zvonasta cvetišta i gole peteljke, duge 2-3 cm. Po 2-4 cveta je skupljeno u štitiće, sa nekoliko sitnih listića pri osnovi. Plod višnje je koštunica, koja može biti okruglasta ili spljoštena. Ona je široka 1-1,5 cm u prečniku, ružičasta, crvena ili crna. Sočni mezokarp se ne odvaja od endokarpa (koštice). Endokarp ploda je okruglast ili jajast, širok do 1 cm u prečniku. Plodovi su manje ili više kiselkastog ukusa (73,76,77).

Ova biljka dobro uspeva na bogatom, hranljivom i bazičnom zemljištu, koje je lako rastresito (peskovite glinuše), a raste i na peskovitim zemljištima. Za njen rast pogodnija su suva zemljišta od vlažnih. Predeli gde raste su obično topli i suvi, odnosno dovoljno sunčani položaji u pojasu hrastova. Višnja je poreklom iz Male Azije i jugoistočne Evrope. Gaji se: na severu do oko 68° severne geografske širine, u Norveškoj, zapadnom Sibiru, srednjoj Aziji, gotovo celoj Evropi i Severnoj Americi. Kod nas se razne sorte ove biljke gaje gotovo u celoj zemlji (73).

Pored antimikrobnih osobina, plodovi višnje su pokazali i druge korisne bioaktivnosti, kao što su: antioksidativne, imunomodulatorne (82), antineurodegenerativne (83), antiinflamatorne, antiproliferativne i antikancerogene (84).

Trešnja (*Prunus avium* L. 1755.)

Drvo trešnje je visine 10-20 (-30) m, ima široko kupastu krošnju, dobro izraženo deblo, dosta retke horizontalne grane i srcasto korenje. Deblo ima sjajnu, sivosmeđu koru, koja se može ljuštiti u horizontalnim tankim trakama i na kojoj se dugo zadržavaju lenticеле. Grančice trešnje su gole, žuto ili crvenosmeđe. Listovi su sjajni, a po obliku mogu biti: jajasti, eliptični ili objajasti. Dugi su 8-15 cm, široki 4-7 cm, zašiljeni na vrhu i klinasti ili okruglasti pri osnovi. Obod listova je obično dvostruko testerast, sa žlezdicom na vrhu zubaca. Naličje listova je dlakavo po celoj površini ili samo po nervima, a ređe golo. Lisne peteljke su duge 2-5 cm i tanke, sa obično 2 žlezdice u gornjem delu. Zališće trešnje je linearno, žlezdasto nazubljeno i dugo do 1 cm. Ova biljka ima štitaste cvasti sa 2-6 cvetova. Cvetovi su: široki

2,5-3 cm, beli, a pri precvetavanju mogu biti ružičaste boje. Cvetište je zvonasto, a cvetne peteljke su duge 2-6 cm i gole.

Plod trešnje je koštunica. Ona je okruglasta, bez pepeljki, sa prečnikom 7-18 mm, kremkasto žute, tamno crvene ili skoro crne boje, sa sočnim mezokarpom. Endokarp ploda po obliku može biti okruglast ili jajast. On je gladak i dug do 8 mm. Plodovi su uglavnom slatkog do gorkog ukusa (73,76,77).

Trešnja je biljna vrsta koja prirodno raste na dubokom, rastresitom i plodnom zemljištu, dovoljno toplom i bogatom bazama. Ona je mezofilna vrsta, koja prilično podnosi zasenu. Obično se, kao samonikla, javlja stablimično primešana u raznim šumama hrastovog i donjeg bukovog pojasa, i u mezofilnim fitocenoza. Ova biljka se može sresti i u daleko suvljim tipovima šuma, odnosno na plićem toplom zemljištu. Rasprostranjena je po većem delu Evrope, izuzev: severnih, istočnih i mediteranskih predela, Krimu i Kavkazu. U Srbiji je rasprostranjena u svim šumskim predelima kao stablimično primešana vrsta, a ponekad se može naći na poljoprivrednom zemljištu kao ostatak nedavno iskrčenih šuma. Gajene sorte trešnje se nalaze naročito oko Grocke i Subotice, a inače su prisutne širom Srbije.

Plod se koristi svež ili prerađen u ishrani (slatko, kompot, džem), a plodne peteljke za čaj. Trešnja je medonosna vrsta (73). Tvrdi se da su slatki voćni sokovi trešnje odgovorni za njen antioksidantni potencijal. Pored toga, trešnja se koristi u prevenciji kardiovaskularnih bolesti, raka i drugih bolesti povezanih sa oksidativnim stresom. Poznat je antitumorski, kao i antineurodegenerativni potencijal ove biljke (85).

Rod Aronia Medik. 1789.

Aronija je listopadni žbun, koji naraste najčešće 80-200 cm. Ima od jedne do više od dvadeset grana, uspravnih i glatkih. Kora je sive ili smeđe boje. Stabljika nema kratkih grančica i nerazgranata je. Lišće je listopadno, jednostavno. Sporedni listići su perzistentni, usko trouglasti, sa žlezdama po obodu. Peteljke su prisutne. Oblik listova je eliptičan do okrugao sa zašiljenim vrhom. Dužina listova je 2,5-7,5 (-18) cm. Struktura listova je membranozna, a ivice su ravne. Cvasti su bočne i naizgled terminalne, sadrže 5-12 (-20) cvetova. Listići su svedeni na žlezde. Brakteole se smanjuju na žlezde. Cvetne drške su prisutne. Cvetovi sadrže cvetni omotač i epiginozni androecijum. Prečnik cvetova je 12-20 mm. Čašičnih listića ima 5, uspravni su i trouglasti. Latica ima 5, bele su do blede ružičaste boje i eliptičnog oblika. Paršnika ima 16-22, jednake dužine kao latice. Ima 5, terminalnih, izrazitih i dlakavih karpela, a ovula 2. Plodovi su bobice, crvene, ljubičaste ili crne, okruglaste sa zašiljenim vrhom, prečnika 6-9 (-11) mm, glatki ili prekriveni slabim dlačicama. Karpela je kljunasta (86). Bujnog je rasta, a rezanjem se oblikuje u manji grm. Lako formira rizome i može da formira male kolonije na neagresivan način (87).

Poreklom je s istoka Severne Amerike, a dosta je rasprostranjen u Rusiji, Finskoj i Švedskoj. Najčešće obitava u vlažnim šumama i močvarama (88-91). Često se gaji i kao ukrasna biljka.

Aronije su bobičasto voće, slično borovnici, otporno na niske temperature, mraz i zimu. Mogu da prežive temperature i do -47°C , zbog čega se često nazivaju i sibirski borovnica. Takođe je otporno i na sušu, insekte, zagađenja i bolesti.

Ovaj rod sadrži dve, a po nekim autorima tri vrste: crnu *Aronia melanocarpa*-u, crvenu *Aronia arbutifolia*-u i ljubičastu *Aronia prunifolia*-u. Plodovi Aronija su u vidu malih okruglih bobica prečnika 4-6 mm, boje od crvene-crne, koje su jedini pouzdani parametar za utvrđivanje vrste. Aronije su entomofilne i alofilične. Razni insekti su pronađeni na ili u cveću, uključujući mrave, bumbare i dr. Međutim, na osnovu opštih zapažanja, primarni polinirajući agensi su verovatno male pčele (92).

Aronije se koriste u ishrani (sok, vino i džem i kao aroma za bezalkoholna pića) i kao ukrasna biljka zbog njene boje listova (86). Žbunovi roda *Aronia* su tradicionalno korišćeni u američkoj medicini za lečenje prehlada. Plodovi aronije pokazuju: antioksidativno, antidijabetično, kardioprotektivno, antimutageno, antiproliferativno, antikancerogeno, hepatoprotektivno i antimikrobno dejstvo (93).

Aronija (*Aronia prunifolia* (Marshall) Rehder 1938)

Aronia prunifolia se smatra hibridnom vrstom, koja se po karakteristikama nalazi između crne *Aronia melanocarpa* i crvene *Aronia arbutifoliae*. Hardin je zaključio da su ove dve vrste prilično različite, a da *Aronia* \times *prunifolia* teži da prikriva granice između njih, što čini njenu identifikaciju veoma teškom. Hromatografskom analizom sve tri vrste ustanovljeno je da *Aronia prunifolia* sadrži veliki procenat jedinstvenih komponenti, što potkrepljuje njeno hibridno poreklo. Ova vrsta Aronije je agamospermna, što pomaže u njenoj stabilizaciji i može objasniti zašto je ovaj hibrid bio u mogućnosti da se proširi čak i izvan granica dometa druge dve vrste (92). Aronija je listopadni grm, visine 2-3 metra. Listovi su: ovalni, tamnozeleno boje, dok u jesen postaju crvenkasti, rub lista je nazubljen. Po 10-15 (30) belih, aktinomorfni cvetova su grupisani u cvasti. *Aronia* \times *prunifolia* (Marshall) Rehder nazvana je još i „ljubičasta aronija“, jer ima plodove tamnoljubičaste do crne boje. Oni su široki 7-10 mm i veoma otporni. Lišće i grane su prekrivene dlakama dok je biljka mlada, a obično postaju glatki u zrelosti (94).

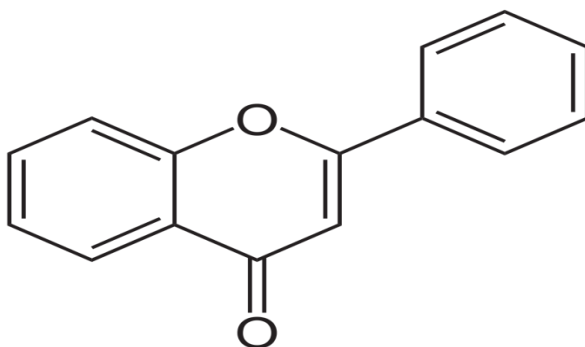
Bioaktivna jedinjenja biljaka

Većina bioaktivnih komponenata nađenih u malini, kupini, trešnjoj, višnji i aroniji su: fenolna jedinjenja i vitamin C. U fenolna jedinjenja spadaju: polifenoli, koji pripadaju grupi flavonoida, i fenolne kiseline (95,96).

Flavonoidi

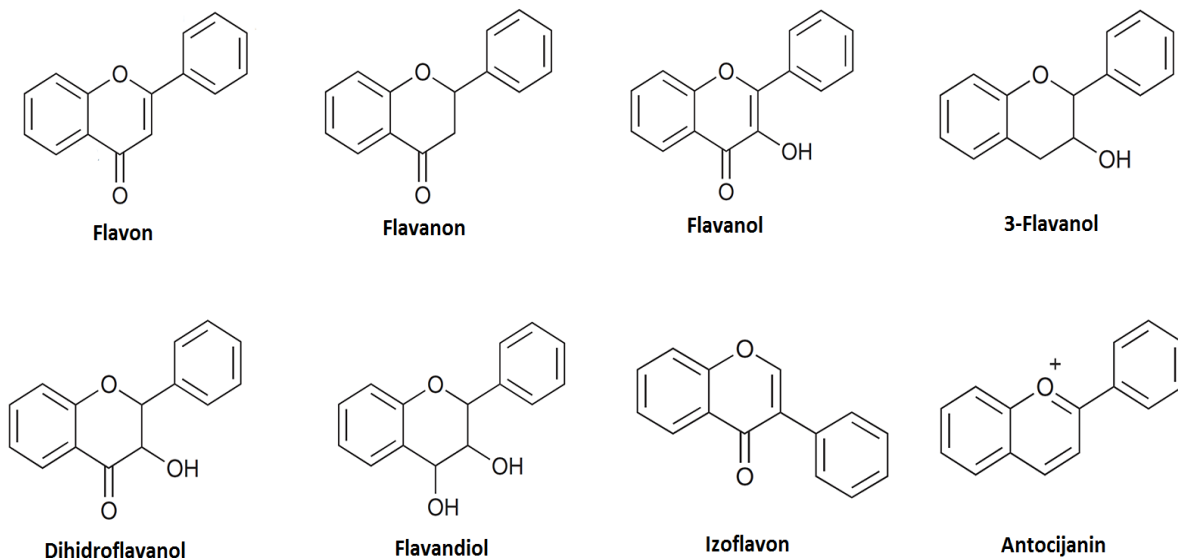
Flavonoidi predstavljaju najveću grupu hemijski srodnih polifenolnih jedinjenja, koja sadrži preko 3000 biljnih jedinjenja. U osnovi molekula flavonoida se nalazi 2-fenil-benzo- γ -piron (flavon). Nalaze se u ćelijskom soku, vakuolama epidermalnih i ćelijama mezofila. Ne mogu

se sintetisati u organizmu čoveka ili životinje, stoga ih je potrebno unositi ishranom (97). Ako se 2-fenilhromon posmatra kao osnovna struktura flavonoidnih aglikona, moguće je izvršiti podelu na osnovu stepena oksidacije centralnog piranovog prstena. Na taj način se mogu podeliti na: antocijanidine, izoflavone, izoflavanone, flavone, flavonole, dihidroflavonole, flavanone, flavane, flavanole, flavandiole, halkone, dihidrohalkone i aurone. U prirodi postoji veliki broj derivata flavonoidnih aglikona, oni se međusobno razlikuju po supstinentima aromatičnih prstenova. U biljkama se ova jedinjenja nalaze kao slobodna ili konjugovana sa šećernom komponentom tj. u obliku glikozida. Oni su biljni pigmenti ili kopigmenti i obično su koncentrisani u epidermalnim ćelijama biljaka. Antocijani mogu biti crvene, plave i raznih nijansi ljubičaste boje, u zavisnosti od pH vrednosti sredine u kojoj se nalaze. Nastaju iz tri aktivirana acetata i derivata cimetne kiseline, preko halkona. Zatim dolazi do ciklizacije osnovnog piranovog prstena i formiranja molekula flavanona, iz kojeg se transformacijama formiraju ostali tipovi flavonoidnih molekula (98). Predstavnicima ove grupe jedinjenja su: katehini, miricetin, rutin, krisin, kvercetin, epikatehin, luteolin, izoramnetin, kempferol i antocijani.



Slika 1. Osnovna hemijska struktura flavonoidnih aglikona

(<http://www.abcpharmus.com.br/crisina-500mg-p143>)



Slika 2. Hemijske strukture različitih vrsta flavonoidnih aglikona

(<http://www.dolcevitaonline.it/i-flavonoidi-e-la-cannabis/>)

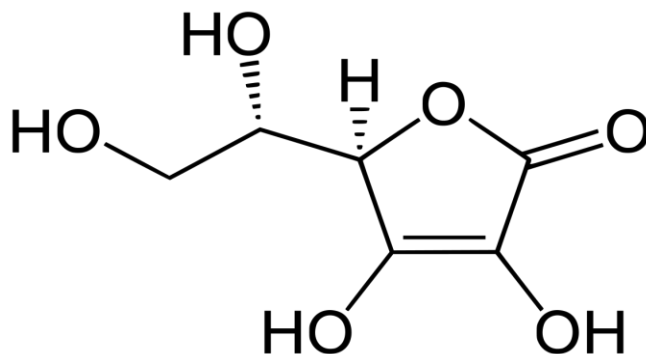
Fenolne kiseline

Pod pojmom fenolne kiseline su obuhvaćena jedinjenja koja sadrže najmanje jednu karboksilnu i jednu fenolnu grupu, pa se nazivaju još i fenolkarbonske kiseline. Kao i većina prirodnih fenola i fenolkarbonske kiseline nastaju iz acetata, biosintetskim putem preko šikiminske kiseline. Pod pojmom fenolkarbonskih kiselina se podrazumevaju derivati: benzoeve i cimetine kiseline. U tkivu biljaka se ovakva jedinjenja pojavljuju u oblicima: slobodnih kiselina, alkohola ili aldehida odgovarajućih kiselina, estara sa odgovarajućim alifatičnim alkoholima, odnosno voćnim kiselinama, depsida kiselina, heterozida i/ili acetilovanih flavonoida. Predstavnici ove grupe jedinjenja su: galna, p-hidroksibenzoeva, protokatehinska, vanilinska, siringinska, gentisinska, kumarinska, ferulna, kafena (99), sinapinska, hlorogenska i elaginska kiselina (100).

Vitamin C

Vitamin C je po hemijskoj strukturi L enantiomer askorbinske kiseline tj. L-askorbat. On je slaba šećerna kiselina. Askorbat predstavlja jon askorbinske kiseline, koji može biti vezan za vodonični jon kada formira askorbinsku kiselinu, ili za metalni jon, formirajući mineralni askorbat. L-askorbat je redukujući agens, koji se pri obavljanju svoje funkcije konvertuje u oksidovani oblik L-dehidroaskorbat. Ukoliko se ova reakcija odvija u telu čoveka, L-dehidroaskorbat se može zatim ponovo prevesti u aktivnu L-askorbatnu formu uz pomoć glutaciona (101).

Ovaj vitamin je esencijalan za pravilno funkcionisanje organizma, jer ima važnu ulogu u brojnim fiziološkim i biohemijskim procesima koji se dešavaju u telu. Sposobnost da stvaraju vitamin C imaju pojedine biljke i životinje. Čovek i životinje koje nemaju ovu sposobnost su primorani da ga unose putem hrane. Nedostatak ovog vitamina u organizmu izaziva disfunkcionalnost, koja se manifestuje bolešću skorbutom (101). Po WHO preporučene dnevne doze vitamina C iznose: od 25 mg za novorođenčad do 6 meseci starosti, 30 mg za decu uzrasta od 7 meseci do 6 godina, 35 mg za decu od 7 do 9 godina, 40 mg za adolescente (10-18 godina starosti) i 45 mg za odrasle. Povećane potrebe za vitaminom C imaju trudnice i dojilje koje bi trebale da unose 55 i 70 mg ovog vitamina dnevno, respektivno (102).



Slika 3. Hemijska struktura vitamina C

(<http://www.orientjchem.org/vol30no1/comparative-study-of-adsorption-isotherms-of-vitamin-c-on-multi-wall-and-single-wall-carbon-nanotube/>)

Antimikrobna aktivnost bioaktivnih jedinjenja

Flavonoidi

S obzirom da se sinteza flavonoida od strane biljaka odvija: kao odgovor na različite infekcije, ne bi trebalo da čudi što flavonoidi pokazuju efikasnost protiv širokog spektra mikroorganizama (103). Antibakterijska, antifungalna, antialgalna i antivirusna aktivnost flavonoida su posebno ispitane, dokzane i dokumentovane u velikom broju istraživanja.

Tako, Orhan i sar. su opisali aktivnost dve različite grupe flavonoida protiv: *Pseudomonas aeruginosa-e*, *Acinetobacter-a baumannii*, *Staphylococcus aureus-a*, *Candida-e krusei* i *Herpes simplex virus-a 1* i *Parainfluenza-3 virus-a* (104).

Alcaraz i sar. su utvrdili aktivnost tri grupe prirodnih i veštačkih flavonoida na MRSA, kao i povezanost strukturnih karakteristika sa antistafilokoknim dejstvom (105).

Cushine i Lamb su u dve studije opisali mehanizme dejstava flavonoida, sinergizam određenih flavonoida sa poznatim hemoterapeuticima, kao i dejstvo ove grupe jedinjenja na intoksikaciju α -toksinom *Staphylococcus aureus-a* (106,107).

Arima i sar. su dokazali ispitivanjima sprovedenim na *Bacillus cereus*-u i *Salmonella*-i Enteritidis da flavonoidi udruženi daju jači antibakterijski efekat, nego kada deluju pojedinačno (108). Do istog zaključka da rutin sam ne poseduje antibakterijsko dejstvo, ali da doprinosi dejstvu drugih flavonoida su došli i Amin i sar. Oni su dokazali da flavonoidi mogu sami, ali i u kombinaciji jedni sa drugima, oštetiti membranu MRSA, kao i da mogu pojačati dejstvo komercijalnih antibiotičkih lekova putem aditivnog efekta ili sinergizma (109).

Buzzini i sar. su dokazali antifungalno dejstvo flavonoida na: *Candida spp.*, *Clavispora spp.*, *Cryptococcus spp.*, *Filobasidiella spp.*, *Issatchenkia spp.*, *Pichia spp.*, *Kluyveromyces spp.*, *Saccharomyces spp.*, *Yarrowia spp.* i antialgalno na *Prototheca spp.* (110).

Fenolne kiseline

Za određene fenolne kiseline je dokazano da imaju antimikrobno dejstvo. Antibakterijsku aktivnost fenolnih kiselina na: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*-u, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* i *Bacillus subtilis*, antifungalnu na: *Candida albicans* i *Candida parapsilosis* i antivirusnu aktivnost na: *Herpes simplex virus 1* i *Parainfluenza virus 3* su opisali Ozelik i sar. Antialgalnu aktivnost flavonoida i fenolnih kiselina na *Selenastrum capricornutum* opisali su D'abrosca i sar. (111).

Vitamin C

Antibakterijska, antifungalna i antivirusna aktivnost vitamina C su dokumentovane u literaturi. Zimmerman i sar. su opisali aktivnost bakra i askorbinske kiseline na *Serratia marescens* (112). Inhibitorno dejstvo iste kiseline na *Candida albicans* opisali su i Van Hauwenhuyse i sar. (113). Jače antivirusno dejstvo dehidroaskorbinske kiseline u odnosu na askorbinsku kiselinu na *Herpes simplex virus 1*, *Influenza virus A* i *Polio virus 1* opisali su Furuya i sar. (114). Međutim, u dostupnoj literaturi nisu pronađeni podaci o antialgalnoj aktivnosti vitamina C.

Mehanizmi antimikrobnog dejstva bioaktivnih jedinjenja

Flavonoidi

Istraživanja flavonoida su dokazala da se njihova direktna antibakterijska aktivnost može zasnivati na jednom od pet mehanizma. Mehanizmi antibakterijskog dejstva flavonoida uključuju: oštećenje citoplazemske membrane (uzrokovano perforacijom i/ili smanjenjem fluidnosti membrane, kao i stvaranjem vodonik peroksida), inhibiciju sinteze nukleinskih kiselina (uzrokovanu inhibicijom topoizomeraze i/ili dihidrofolat reduktaze), inhibiciju energetskog metabolizma (uzrokovanu inhibicijom NADH-citohrom c reduktaze i inhibicijom ATP sintaze), inhibiciju sinteze ćelijskog zida (uzrokovanu inhibicijom d-alanin-d-alanin ligaze) i inhibiciju sinteze ćelijske membrane (uzrokovanu inhibicijom FabI, FabZ,

Rv0636 ili KAS III) (107). Njihova antibakterijska aktivnost se temelji verovatno na njihovoj sposobnosti da stvaraju komplekse sa ekstracelularnim i rastvorljivim proteinima, kao i sa zidovima bakterijskih ćelija. Pretpostavlja se da ciljna mesta za flavonoide predstavljaju površinski izloženi adhezini ćelije, polipeptidi ćelijskog zida i enzimi vezani za membrane (103).

Antialgalna aktivnost flavonoida se temelji na njihovoj sposobnosti da inhibišu klijanje spora biljnih patogena (115). Na osnovu antialgalnog dejstva flavonoida, smatra se da oni mogu biti efikasni u borbi protiv gljivičnih patogena (20,115). Utvrđeno je da kvercetin modulira gene za sintezu masnih kiselina, koje su specifične za gljivične ćelije, što ga čini dobrim kandidatom za antifungalni agens (116).

Predloženi antivirusni mehanizmi delovanja flavonoida uključuju: inhibiciju virusnih enzima (DNK polimeraze, reverzne transkriptaze i proteinaze) i vezivanje za virusnu nukleinsku kiselinu ili virusne kapsidne proteine (20).

Fenolne kiseline

Glavni činioc antibakterijske aktivnosti fenolnih kiselina je njihova reakcija sa DNK. Tako antibakterijsko dejstvo fenolnih kiselina može biti rezultat potencijalne mutagene aktivnosti ovih jedinjenja i drugih mehanizama, koji uključuju i genotoksičnost (13). U studiji sprovedenoj od strane Borges i sar., detaljno je dokazano i opisano antibakterijsko dejstvo ovih kiselina. Galna i ferulna kiselina su dovele do nepovratnih promena u svojstvima membrane bakterijske ćelije (naelektrisanju, intra i ekstracelularnoj propustljivosti i fizičko-hemijskim svojstvima). Oštećenje membrane je sprovedeno smanjenjem njene hidrofobnosti, smanjenjem negativnog površinskog napona i nastankom lokalnih ruptura ili formiranjem pora u membrani bakterijske ćelije, uz posledično curenje esencijalnih intracelularnih sastojaka. Sve ovo je dovelo do baktericidnog efekta na bakterijske ćelije (117). U studiji izvedenoj na flavonoidima i fenolnim kiselinama uočeno je da je intenzitet i raznovrsnost ćelijskih morfoloških promena (gubitka jednog sloja ćelijske membrane, granulacije, citoplazmatske vakuolizacije, istezanja i suženja ekstenzija, kao i zatamnjenja ivica ćelija) postajao očigledniji sa sve većim koncentracijama tih jedinjenja (118). Inhibicija konidne klijavosti i formacije apresorijuma *Magnaporthe grisea*-e, zapažena je od strane galne kiseline. Ona, prema Ahn i sar., deluje na signalizacioni put vezan za cAMP, koji reguliše formiranje apresorijuma u *Magnaporthe grisea*-i (119).

O antialgalnoj aktivnosti fenolnih kiselina nisu pronađeni relevantni podaci u dostupnoj literaturi.

Galna kiselina inhibiše vezivanje i penetraciju virusa u ćeliju, a takođe poseduje i virucidne sposobnosti (120).

Vitamin C

Pored posrednog antimikrobnog dejstva vitamina C u organizmu čoveka kroz poboljšanje njegove imunološke funkcije (121,122), kao mogući mehanizam antibakterijskog dejstva askorbinske kiseline navodi se njeno antagonističko dejstvo sa magnezijumom na mestima njegovog vezivanja u ćelijskom zidu, ćelijskoj membrani ili ribozomima (123).

Askorbinska kiselina inhibira aktivnost *Candida-e albicans* pomoću molekularnog kola preko koga utiče na Hph90-zavisnu morfogenezu *Candida-e albicans*, koja uključuje transkripcioni regulator Upc2. Askorbinska kiselina može blokirati GdA-zavisni produženi rast obnavljanjem normalnih nivoa ergosterola na način koji zavisi od Upc2 (113).

O antialgalnoj aktivnosti vitamina C nisu pronađeni relevantni podaci u dostupnoj literaturi.

Iako askorbinska kiselina slabo inhibira umnožavanje virusa, dehidroaskorbinska kiselina, pokazuje mnogo jaču antivirusnu aktivnost od nje. Štaviše, dodavanjem 1 mM Fe³⁺, koji oksidiše askorbinsku kiselinu do dehidroaskorbinske kiseline, a takođe povećava stopu formiranja hidroksilnih radikala od strane askorbinske kiseline, snažno se pojačava antivirusna aktivnost askorbinske kiseline, čak do nivoa značajno većeg od nivoa antivirusne aktivnosti dehidroaskorbinske kiseline (114).

U *in vitro* studijama dokazano je da askorbinska kiselina deluje na veliki broj virusa, oštećuje nukleinske kiseline bakteriofaga i izaziva inaktivaciju reverzne transkriptaze HIV-a. Ispitivanja sprovedena na ćelijama inficiranim virusima su pokazala uticaj askorbinske kiseline na: replikaciju i transformišući potencijal virusa stabilizacijom izmenjenog stanja ispitivanih ćelija, produkciju virusa pod uticajem hemijskih induktora, inhibiciju stvaranja sincicijuma, supresiju stvaranja virusa u inficiranim ćelijama i stabilnost reverzne transkriptaze u ekstracelularnim virusnim česticama (124).

Ciljevi i hipoteze istraživanja

Ciljevi

Rezultati istraživanja ove doktorske disertacije treba da doprinesu širem razumevanju efekata sokova i ekstrakata plodova voćnih vrsta iz porodice *Rosaceae* na mikroorganizme i u tom smislu su postavljeni sledeći ciljevi:

1. Hemijska analiza vitamina C i polifenolnih jedinjenja u sokovima i ekstraktima plodova odabranog voća porodice *Rosaceae*
2. Ispitivanje antibakterijskih efekata sokova i ekstrakata plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* na izabrane bakterije
3. Ispitivanje antifungalnih efekata sokova i ekstrakta plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* na izabrane gljivice
4. Ispitivanje antialgalnih efekata sokova i ekstrakta plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* na izabrane alge
5. Ispitivanje antivirusnih efekata sokova i ekstrakta plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* na izabrane viruse


Hipoteze

1. Sokovi i/ili ekstrakti plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* sadrže vitamin C i potentna polifenolna jedinjenja za koja je poznato da ispoljavaju antimikrobno dejstvo
2. Sokovi i/ili ekstrakti plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* ispoljavaju potencijalno antibakterijsko dejstvo protiv ispitivanih bakterija
3. Sokovi i/ili ekstrakti plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* ispoljavaju potencijalno antifungalno dejstvo protiv ispitivanih gljivica
4. Sokovi i/ili ekstrakti plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* ispoljavaju potencijalno antialgalno dejstvo protiv ispitivanih algi
5. Sokovi i/ili ekstrakti plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* ispoljavaju potencijalno antivirusno dejstvo protiv ispitivanih virusa

Materijali i metode**Materijali****Biljne vrste**

Pregled i determinacija biljnog materijala je sprovedena na Departmanu za Biologiju i Ekologiju Prirodno matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu. Determinisani materijal je kolektovan u Voucher collection Herbariuma BUNS (Herbarijuma Departmana za Biologiju i Ekologiju). Vaučer brojevi ispitivanih biljnih uzoraka kao i determinisane biljne vrste korišćene u istraživanju prikazane su u Tabeli 1.

Tabela 1. Podaci o ispitivanim biljnim vrstama

		HERBARIUM Universitatis studiorum Neoplantensis				
Vaučer broj	Vrsta	Porodica	Lokalitet	Datum kolektovanja	Legator	Determinator
2-2129	<i>Prunus cerasus</i> L. 1753	<i>Rosaceae</i>	Srbija, Novi Sad, Klisa	18.01.2016.	Tamara Krstić	Milica Rat
2-2130	<i>Prunus avium</i> (L.) L. 1755	<i>Rosaceae</i>	Srbija, Lipolist	18.01.2016.	Tamara Krstić	Milica Rat
2-2131	<i>Rubus fruticosus</i> agg.	<i>Rosaceae</i>	Srbija, Lipolist	18.01.2016.	Tamara Krstić	Milica Rat
2-2132	<i>Rubus idaeus</i> L. 1753	<i>Rosaceae</i>	Srbija, Lipolist	18.01.2016.	Tamara Krstić	Milica Rat
2-2133	<i>Aronia prunifolia</i> (Marshall) Rehder 1938	<i>Rosaceae</i>	komercijalni uzorak	18.01.2016.	Tamara Krstić	Milica Rat

Mikroorganizmi

Odabir mikroorganizama

Odabir mikroorganizama je sproveden tako da se obuhvati širok spektar humanih i animalnih patogena, koji uključuju Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije, gljivice, alge i viruse. U eksperimentu su obuhvaćeni osnovni uzročnici intrahospitalnih infekcija (MRSA, VRE, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* i *Acinetobacter lwoffii*) i do sada neispitani sojevi (*Rhodococcus equi*, *Trueperella pyogenes*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Prototheca wickerhamii*, *Prototheca zopfi*). U ispitivanje je takođe uključen i *Streptococcus agalactiae*, koji nanosi ogromne ekonomske štete u uzgoju mlečnih krava, a u patologiji neonatusa, trudnica i mlađih žena sve više dobija na značaju. Zbog uporedivosti, sledljivosti i ponovljivosti rezultata u ispitani uzorak su uključeni i sledeći referentni sojevi: *Staphylococcus aureus* ATCC 11632, *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145), a takođe su uključena i dva referentna soja virusa: *Bovine herpesvirus* tip 1 i *Bovine viral diarrhea virus*.

Tabela 2. Poreklo ispitivanih mikroorganizama

Mikroorganizam	Poreklo
Bakterije	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nos pacijenta
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 11632	LGC Standards GmbH, Nemačka
<i>Rhodococcus equi</i>	Oko pacijenta
<i>Rhodococcus equi</i> ATCC 6939	LGC Standards GmbH, Nemačka
<i>Trueperella pyogenes</i>	Uterus krave
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	Guša tinejdžera
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Vagina pacijentkinje
<i>Enterococcus faecalis</i>	Rana pacijenta
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Stomak pacijenta
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	LGC Standards GmbH, Nemačka
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rana pacijenta

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	LGC Standards GmbH, Nemačka
<i>Escherichia coli</i>	Stomak pacijenta
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pluća pacijenta
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Pluća pacijenta
Gljivice	
<i>Candida albicans</i>	Vagina pacijentkinje
<i>Candida albicans</i> ATCC 24433	LGC Standards GmbH, Nemačka
Alge	
<i>Prototheca wickerhamii</i>	Usta pacijenta
<i>Prototheca zopfii</i>	Vime krave
Virusi	
<i>Bovine herpesvirus 1</i> TN-1	American Bio Research, USA
<i>Bovine viral diarrhea virus</i> genotip 1 NADL	National Veterinary Service Laboratory, USA

Metode

Priprema sokova i ekstrakata

Sokovi su dobijeni ceđenjem predhodno opranih plodova, uz pomoć porculanskog tučka koji su potom kroz sterilnu gazu postavljenu na Büchner-ov levak u staklenu bocu, a odmah potom upareni do suva na rota-vaporu RV10 Digital V, IKA.

Ekstrakti su dobijeni obradom tropa plodova. Trop predstavlja ostatke plodova nakon ceđenja soka. Ekstrakcija je sprovedena rastvorom koji je sadržao: 80% etanola, 19,95% sterilne vode i 0,05% sirćetne kiseline. Od svakog uzorka odmereno je po 300 g tropa i ekstrahovano po dva puta. Prva ekstrakcija tropa je izvedena u erlenmajeru sa 300 ml ekstrakcionog rastvora tokom 30 min na sobnoj temperaturi pri čemu je korišten šejker KS 501 Digital, IKA pri brzini 3500 rpm. Ekstrakt je izdvojen filtriranjem sadržaja erlenmajera kroz stakleni levak i kvantitativnu filtrir hartiju u staklenu bocu. Odmah nakon toga, trop preostao na filtrir-hartiji je prebačen u novi erlenmajer u kojem je sprovedena druga ekstrakcija, sa 150 ml ekstrakcionog rastvora tokom 15 min takođe na sobnoj temperaturi na šejkeru pri brzini 3500 rpm. Sadržaj erlenmajera je potom filtriran kroz stakleni levak i kvantitativnu filtrir hartiju i na taj način izdvojen drugi ekstrakt. Dobijeni ekstrakti su

sjedinjani, a potom upareni do suva na rota-vaporu. Dobijeni ekstrakti su čuvani u frižideru na temperaturi 2°C. Za potrebe testova antimikrobne aktivnosti za dalja razblaženja uzoraka sokova i ekstrakata je korišćena sterilna voda.

Analiza hemijskog sastava

Analiza hemijskog sastava sokova i ekstrakata voća je sprovedena uz primenu metoda tačne hromatografije visokih performansi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Analiza polifenola i analiza vitamina C je sprovedena u svakom uzorku pojedinačno prema metodologiji opisanoj od strane Šaponjac i sar. (125–127). Rastvori uzoraka i rastvarači su pre analize filtrirani kroz membranske filtere veličine pora 0,45 µm (Millipore, Bedford, MA). Referentne supstance i uzorci su rastvoreni u 50% metanolu.

Hemijska analiza vitamina C i polifenola je izračunata kao srednja vrednost tri merenja odgovarajuće supstance, a izražena u mg/100 g suvog ostatka (SO) ispitivanog uzorka, uz određivanje standardne devijacije za svaku ispitivanu hemijsku supstancu.

Analiza polifenolnih jedinjenja

Identifikacija i kvantifikacija fenola je sprovedena za sve uzorke pojedinačno na isti način. Uzorci su analizirani Shimadzu Prominence (Shimadzu, Kyoto, Japan) hromatografskim sistemom, koji se sastoji od LC-20AT binarne pumpe, CTO-20A termostata i SIL-20A autosemplera povezanog sa SPD-20AV UV/Vis detektorom (Shimadzu, Kyoto, Japan). Razdvajanje je sprovedeno na Luna C-18 RP koloni, 5 µm, 250 x 4,6 mm (Phenomenex, Torrance, CA, USA) sa C-18 zaštitnom kolonom, 4 x 30 mm (Phenomenex, Torrance, CA, USA). Hromatogrami su snimljeni korišćenjem različitih talasnih dužina za pojedinačne komponente: 280 nm za hidoksibenzoeve kiseline (galnu, protokatehinsku, p-hidoksibenzoevu i vanilinsku kiselinu), katehin, epikatehin, kafenu i elaginsku kiselinu; 320 nm za hidoksicinaminske kiseline (hlorogensku, kumarinsku, gentizinsku, feruličnu i sinapinsku kiselinu) i 520 nm za antocijanine. Antocijanini su kvantifikovani korišćenjem cijanidin hlorida kao standarda. Dve mobilne faze, A (acetonitril) i B (1% mravlja kiselina) su korištene pri protoku brzine 1 ml/min sa sledećim gradientnim profilima: 0-10 min od 10-25% B; 10-20 min linearni rast do 60% B, a od 20-30 min linearni rast do 70% B, praćen vraćanjem na inicijalnih 10% B u trajanju 10 min sa dodatnih 5 min ekvibracionog vremena.

Analiza vitamina C

Sadržaj vitamina C u uzorcima je ispitan pomoću Shimadzu Prominence (Shimadzu, Kyoto, Japan) hromatografskog sistema sa UV/Vis detektorom pri čemu je određivan redukovani oblik vitamina C. Rastvori uzoraka su pripremani u bidestilovanoj vodi, koja odgovara HPLC kvalitetu. Standard vitamina C (J.T.Baker, Deventer, Netherlands) i uzorci su rastvarani/ekstrahovani 3%-nim rastvorom meta-fosforne kiseline, koja je rastvarana u 8%-tnom rastvoru sirćetne kiseline. Razdvajanje vitamina C izvršeno je na Nucleodur Sphinx RP

koloni (250 mm x 4 mm, 5 µm prečnik čestica; Machery Nagel, Germany) koja je zaštićena odgovarajućom C-18 pretkolumnom. Hromatogrami su snimljeni na talasnoj dužini od 265 nm. Rastvor amonijum acetata, koncentracije 0,1 mol/l (pH 5,1) korišćen je kao pokretna faza u HPLC analizi. Protok pokretne faze je bio 0,4 ml/min, a temperatura kolone 37°C. Analize su trajale 10 min. Obrada podataka je izvršena u LC Solution Software (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Analiza antimikrobnog dejstva

Pojmom antimikrobna aktivnost obuhvaćeno je: antibakterijsko, antifungalno, antialgalno i antivirusno dejstvo. Ispitana je aktivnost soka i ekstrakta plodova voća protiv odabranih bakterijskih, fungalnih, algalnih i virusnih organizama, patogenih za ljude i/ili životinje.

Zbog sličnosti u načinu kultivisanja analize antibakterijskog, antifungalnog i antialgalnog dejstva su sprovedene na isti način, dok su razlike u biološkim svojstvima uslovile da se virusi ispituju na drugačiji način, što je i urađeno u ovoj studiji.

Analiza antibakterijskog, antifungalnog i antialgalnog dejstva

Antibakterijska, antialgalna i antifungalna aktivnost su ispitivane difuzionom i dilucionom metodom. Difuziona metoda je sprovedena po metodologiji opisanoj od strane Balouiri i sar. (128), a diluciona metoda određivanja antimikrobne osetljivosti mikroorganizama prema smernicama Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) (129–132).

Razlike u prirodi ispitivanih mikroorganizama, uslovile su modifikacije navedenih metoda, kako bi se što preciznije ispitala antimikrobna aktivnost sokova i ekstrakata. Modifikacije su se ogledale u korišćenju različitih: kontrola, podloga za rast mikroorganizama, vremena i temperatura inkubacije. Kontrola za ispitivanje bakterijske osetljivosti je bio Streptomycin (Streptomycin sulfat, prašak za infuziju, Galenika a.d., Srbija) u dvostrukim razblaženjima u rasponu koncentracija od 3,125 mg/ml do 0,006103515625 mg/ml. Za ispitivanje gljivične i algalne osetljivosti korišten Nistatin (Nystatin, tablete, Hemofarm a.d., Srbija) u dvostrukim razblaženjima u rasponu koncentracija od 0,390625 mg/ml do 0,0030517578125 mg/ml. Negativnu kontrolu za sva tri ispitivanja predstavljao je fiziološki rastvor. Kao čvrsta hranljiva podloga u obe metode korišten je Mueller-Hinton za bakterijske vrste, dok je za gljivice i alge korišten Sabouraud dekstrozni agar. U ispitivanju mikrodilucionom metodom je kao tečna podloga korišten Tioglikolat bujon za bakterije, dok je za gljivice i alge korištena tečna Sabouraud podloga. Sve podloge su kupljene u Institutu Torlak, Beograd i pripremljene po uputstvima proizvođača (133). Temperatura inkubacije na čvrstoj podlozi bakterija i algi je iznosila 37°C, a gljivica 25°C. Vreme inkubacije na čvrstoj podlozi bakterija je iznosilo 24 h, gljivica 48 h, a algi 78 h.

Ispitivani ekstrakti i sokovi su ispitivani dvostrukim razblaženjima u rasponu koncentracija od 100 mg/ml do 0,1953125 mg/ml. Iste koncentracije uzoraka ekstrakata i sokova

ispitivanih biljaka, kao i odgovarajućih kontrola su korištene i u difuzionoj i u dilucionoj metodi, a sva razblaženja su sprovedena sterilnom vodom.

Priprema mikrobnih suspenzija

U cilju dobijanja komprabilnih rezultata, optička gustina (optical density, OD) suspenzija je podešena do gustine koja je odgovarala MacFarland (McF) standardu 0,5 ($\sim 1 \times 10^8$ CFU/ml) korištenjem spektrofotometra Agilent 8453 UV-Vis. Suspenzije mikroorganizama su pripremane u fiziološkom rastvoru. Poređenje sa 0,5 McF standardom je prvo sprovedeno *ad oculi*. Zatim je gustina proveravana spektrofotometrom na talasnoj dužini 625 nm. Da bi se dobila gustina 0,5 McF izmerena apsorbancija je morala biti u opsegu od 0,08 do 0,1. Ukoliko je apsorbancija bila veća od 0,1, suspenzija je razblaživana fiziološkim rastvorom, a ukoliko je apsorbancija bila manja od 0,08 suspendovano je još mikroorganizama, kako bi se postigla željena gustina. Pripremljene suspenzije odgovarajuće gustine su razblažene 1:100, a zatim je takva suspenzija razblaživana još u odnosima 1:1000, 1:10000 i 1:100000. Svako razblaženje je u količini od 100 μ l naneto na po jednu Petri ploču sa odgovarajućom podlogom, inkubirano na odgovarajućoj temperaturi u toku vremena potrebnog za rast ispitivanog mikroorganizma. Nakon toga je evaluacija broja mikroorganizama, koji su formirali kolonije (colony forming units, CFU) iz suspenzija, sprovedena brojanjem kolonija izraslih na površini odgovarajuće podloge.

Difuzioni metod

Bakterijska suspenzija 0,5 McF razblažena fiziološkim rastvorom u razmeri 1:100 je ujednačeno razlivena po površini odgovarajuće podloge, u cilju postizanja semikonfluentnog porasta. Inokulisane podloge su potom ostavljene na sobnoj temperaturi 30 min. Nakon toga su metalnim bušačem u podlozi izbušeni radijalni bunarčići prečnika 5 mm u rasporedu koncentričnih krugova. U bunarčiće su do postizanja konveksiteta (80 μ l) pojedinačno inokulisane test supstance (sokovi, ekstrakti, kontrole) u opadajućim koncentracijama. Svaki bunarčić je bio udaljen 1 cm od kraja Petri ploče i 2 cm od susednog bunarčića. Inokulisane ploče su potom inkubirane u odgovarajućim vremenskim intervalima i temperaturama. Nakon inkubacije rezultati su određeni merenjem prečnika zona inhibicija. Antimikrobna aktivnost u vidu prečnika zona inhibicija je merena lenjirom, a predstavlja srednju vrednost dva merenja.

Dilucioni metod

U svaki od bunarčića sa zaobljenim dnom mikrotitar ploče (Spektar, Čačak) je inokulisano po: 100 μ l suspenzije ispitivajućeg mikroorganizma gustine 0,5 McF, 50 μ l odgovarajuće tečne podloge i 50 μ l ispitivane supstance (soka ili ekstrakta), u odgovarajućem razblaženju.

Uporedo sa test supstancama postavljana su i dva kontrolna testa.

1. Test kontrole sterilnosti je izveden u cilju isključenja bilo kakvih onečišćenja supstanci, rastvarača ili podloge. Bunarčići ove kontrole su sadržali: 50 μ l rastvora ispitivane supstance, 50 μ l odgovarajuće tečne podloge i 100 μ l fiziološkog rastvora.

2. Test kontrole validnosti je izveden u cilju utvrđivanja broja mikroorganizama koji bi se razvili bez efekata ispitivanih supstanci. Kontrola validnosti medijuma služi za praćenje vijabilnosti soja i kompetentnosti medijuma da podrži njegov rast. Ona takođe služi da se utvrdi u kojoj meri je supstanca inhibisala rast mikroorganizama, tako što se broj CFU dobijenih iz test bunarčića poredi sa brojem CFU dobijenih iz bunarčića sa odgovarajućom kontrolom vijabilnosti. Bunarčići ove kontrole su sadržali: 50 μ l fiziološkog rastvora, 50 μ l odgovarajuće tečne podloge i 100 μ l standardizovane mikrobne suspenzije.

Nakon inokulacije mikrotitar ploča mikrotitar ploče su termostahirane 24 h na 37°C. Nakon završene inkubacije, sadržaj svakog bunarčića mikrotitar ploče je razblažen fiziološkim rastvorom u razmeri 1:100 i 1:10000. Po 100 μ l smeše iz svakog bunarčića (nerazblaženih, razblaženih 1:100 i 1:10000) je zasejano na po jednu Petri ploču prečnika 90 mm sa Muller-Hinton podlogom. Ploče su potom inkubirane u odgovarajućim vremenskim intervalima i temperaturama. Nakon inkubacije sprovedeno je određivanje broja CFU. Kvantifikacija rezultata je izvedena poređenjem broja preživelih mikroorganizama iz svakog eksperimentalnog bunarčića. Procenat preživelih mikroorganizama je izračunat u odnosu na broj mikroorganizama inokulisanih u bunarčić, a čija vrednost je dobijena određivanjem broja CFU izraslih iz kontrole validnosti.

Računanje rezultata

Na osnovu dobijenih eksperimentalnih rezultata, korišćenjem softverskog paketa Excel (Microsoft Office 2007), generisani su grafikoni koji pokazuju zavisnost procenta preživelih mikroorganizama u odnosu na odgovarajuću efektivnu koncentraciju ispitivane supstance ili leka. Funkcija, koja je korišćena da poveže eksperimentalne rezultate, određena je korišćenjem Power trend dodatka iz Microsoft Excel programa. Aproksimacija dobijenih rezultata je izračunata za čitav opseg koncentracija test supstance, što je omogućilo utvrđivanje efikasnosti koncentracija koje nisu bile obuhvaćene eksperimentalnim radom. Antimikrobna aktivnost ispitivana difuzionom metodom je izražena kao minimalna inhibitorna koncentracija (minimal inhibitory concentration, MIC) 80. Rezultati antimikrobne aktivnosti ispitane difuzionom metodom rezultati su izraženi: MIC80, MIC90, MIC99, minimalna baktericidna koncentracija (minimal bactericidal concentration, MBC) i Break point ispitivanih supstanci. Sve izračunate vrednosti su se odnosile na farmakološke, a ne epidemiološke parametre. Stoga, MIC-e 80, 90 i 99 podrazumevaju da je 80%, 90% i 99% od 100% inokulisanih mikroorganizama redukovano, respektivno. MBC podrazumeva da je 99,9% od 100% inokulisanih mikroorganizama redukovano. Break point vrednost podrazumeva da su svi mikroorganizmi uneti u eksperimentalni bunarčić u potpunosti

eliminirani. Svi efekti ispitivanih supstanci na mikroorganizme su iskazani u mg/ml ispitivane supstance.

Analiza antivirusnog dejstva

Utvrđivanje antivirusnog dejstva sokova i ekstrakata voća je sprovedeno po metodologiji klasičnog virus neutralizacionog testa sa kombinacijom modifikacija metode po Nikolaeva-Glomb i sar., Vimalanathan i sar. i Benencia i sar. (134–136). Virus neutralizacionim testom je određivana sposobnost sokova i ekstrakata da inhibišu umnožavanje virusa na kulturi ćelija, koje je posmatrano kao inhibicija razvoja citopatogenog efekta virusa na kulturu ćelija.

Početna koncentracija ekstrakta i sokova voća je bila 100 mg suvog ekstrakta ili soka/1 ml podloge za rast kultura ćelija EagleMEM with Hepes (Sigma-Aldrich, St. Luis, USA). Razređenja ekstrakata ili sokova su napravljena u posebnoj mikrotitar ploči sa 96 bunarčića za pripremu uzoraka. U bunarčiće kolona od 2 do 11 (od A do H reda) je prethodno stavljeno po 100 µl podloge. Razređenja ekstrakata ili sokova su postavljana su u bunarčiće i titrirana do razređenja 1:1024 (Shema 1.). U bunarčiće kolone 1 (u koje prethodno nije stavljena podloga) stavljeno je po 200 µl razređenja ekstrakata ili sokova sa podlogom. Svaki uzorak je testiran u duplikatu tj. jedan ekstrakt ili sok sa istim virusom u istim koncentracijama je ponavljan u dva reda (npr. uzorak E1 nanet u bunarčiće A1 i B1, uzorak E2 u bunarčiće C1 i D1 itd.), a zatim je sadržaj bunarčića kolone 1 titriran prenošenjem po 100 µl mešavine razređenja ekstrakata ili sokova u bunarčiće narednih kolona (od 2 do 11 u kojima je bilo prethodno stavljeno po 100 µl podloge kako je prethodno opisano) do bunarčića u koloni 11. Iz kolone 11 je, na kraju, odstranjeno po 100 µl mešavine. Na ovaj način su dobijena dvostruka razređenja ekstrakata i sokova u podlozi za kulturu ćelija (od razređenja 1:2 do 1:1024) u količini od 100 µl po bunarčiću. Zatim je u test bunarčiće redova od A do H kolona 1 do 11 stavljeno po 100 µl suspenzije ispitivanog virusa. Suspenzije su sadržale TCID₅₀ virusa, a titar ispitivanog virusa je utvrđivan Spearman-Karber metodom (137). Pozitivnu kontrolu (kontrolu aktivnosti virusa) su činili bunarčići redova A do D kolone 12 u koje je takođe stavljano po 100 µl suspenzije sa 100 TCID₅₀ odgovarajućeg virusa (*Bovine herpesvirus 1* ili *Bovine viral diarrhoea virus*) i 100 µl podloge za rast kultura ćelija. Negativnu kontrolu su činili bunarčići kolone 12 redova E do H u koje je stavljano po 100 µl podloge. Nakon postavljanja razređenja uzoraka, virusa i kontrola sve je inkubirano 2 h na 37°C. Nakon inkubacije, svi sadržaji bunarčića sa ploče za razređivanje ekstrakata i sokova su inkubirani sa virusom u količini od 200 µl su preneti po istom rasporedu u bunarčiće ploče sa prethodno postavljenim i izraslim ćelijama MDBK (Madin-Darby Bovine Kidney, LGC standarda, Velika Britanija, iz banke kultura ćelija ATCC (American Tissue Culture Collection–Ames, Iowa, USA) u 75% konfluentnom monosloju na dnu bunarčića (138). MDBK ćelije su bile stare 24 h i sa njih je odstranjena podloga za rast ćelija pre nanošenja ispitujućih materijala i kontrola. Nakon toga su ploče zalepljene samolepljivom folijom. Sve to je inkubirano 72 h u termostatu na 37°C sa svakodnevnom opservacijom. Nakon inkubacije pod svetlosnim mikroskopom su posmatrana oštećenja ćelija u vidu citopatogenog

efekta nastalog umnožavanjem virusa. Antivirusna aktivnost je izračunata kao srednja vrednost tri merenja i izražena u mg/ml kao koncentracija uzorka koja neutrališe aktivnost virusa.

Shema 1. Shematski prikaz mikrotitar ploče sa razblaženjima za antivirusnu analizu

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	U1+P	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	+
B	U1+P	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	+
C	U2+P	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	+
D	U2+P	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	+
E	U3+P	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	-
F	U3+P	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	-
G	U4+P	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	-
H	U4+P	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	-

U1,2,3,4-uzorak 1,2,3,4, P-podloga, 1:2-1:1024-razblaženja odgovarajućeg uzorka, +- pozitivna kontrola ispitujućeg virusa, - - negativna kontrola ispitujućeg uzorka

Kako ne postoji antivirusik koji se koristi u lečenju infekcija *Bovine herpesvirus*-om i *Bovine viral diarrhoea virus*-om nije rađena kontrola antivirusicima, već je pozitivnu kontrolu predstavljalo dejstvo virusa na ćelije, a negativnu fiziološki rastvor.

Rezultati i diskusija

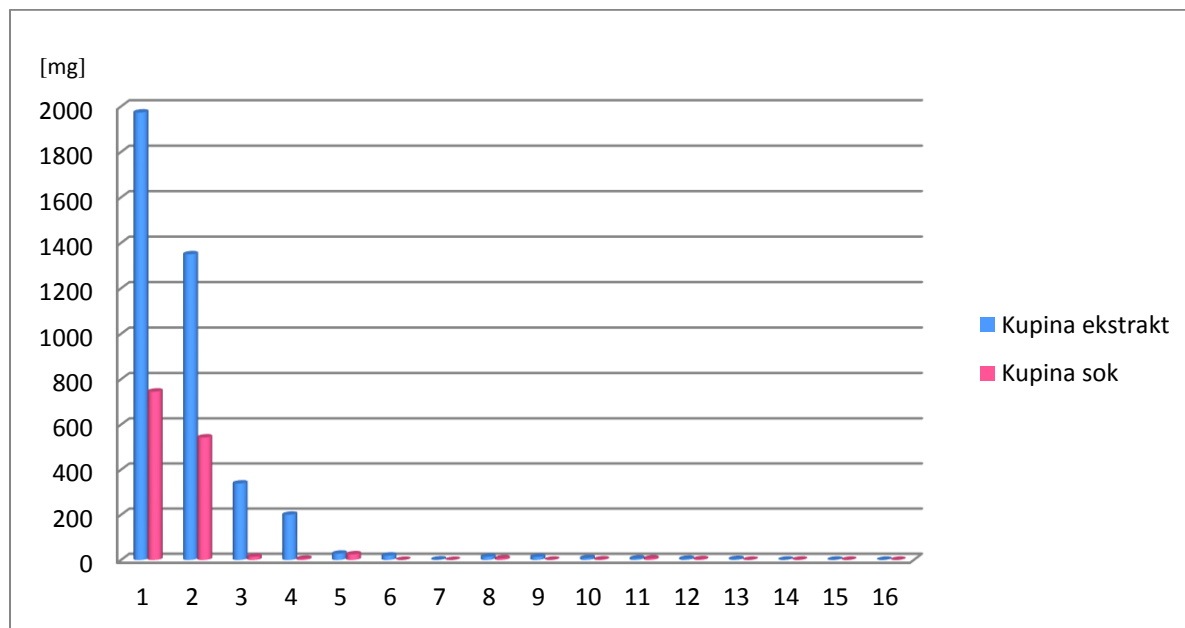
Hemijski sastav

Rezultati HPLC analize ekstrakata i sokova su prikazani u Prilogu 1., a njihovi hromatogrami u Prilogu 2. Usporedna analiza rezultata hemijskog sastava ekstrakata i sokova dobijenih u okviru ove disertacije sa rezultatima iz literaturnih podataka ukazuje na postojanje sličnosti, ali i razlika u pogledu kvalitativnog i kvantitativnog hemijskog sastava ispitivanih uzoraka. Pomenute razlike u hemijskom sastavu istih vrsta se mogu objasniti ukoliko se uzmu u obzir svi faktori koji imaju uticaja na biosintezu bioaktivnih jedinjenja kao što su klimatski, sezonski i geografski uslovi, fenofaza u kojoj se biljke nalaze prilikom sakupljanja biljnog materijala, način obrade uzoraka kao i sama tehnika ekstrakcije.

Kupina

Primenjenim HPLC analizama u ekstraktu i soku kupine je identifikovano 16 jedinjenja. Rezultati analize hemijskog sastava polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku kupine su prikazani na grafiku 1. Kao najzastupljenija jedinjenja u ekstraktu i soku ploda kupine identifikovani su: antocijani (ekstrakt 1973,13 mg/100 g SO, sok 745,59 mg/100 g SO) i katehini (ekstrakt 1349,65 mg/100 g SO, sok 542,88 mg/100 g SO).

Grafik 1. Hemijski sastav polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku kupine



1-Ukupni antocijani, 2-Katehin, 3-Protokatehinska kiselina, 4-p-Hidroksibenzoeva kiselina, 5-Galna kiselina, 6-Hlorogenska kiselina, 7-Vanilinska kiselina, 8-Vitamin C, 9-Miricetin, 10-Rutin, 11-Krisin, 12-Kumarinska kiselina, 13-Ferulna kiselina, 14-Kvercetin, 15-Elaginska kiselina, 16-Kafena kiselina, 17-Gentisinska kiselina, 18-Epikatehin, 19-Siringinska kiselina, 20-Sinapinska kiselina, 21-Luteolin, 22-Izorametnin, 23-Kempferol

Komparacijom hemijskog sastava ekstrakta i soka kupine, utvrđeno je da ekstrakt kupine sadrži veću količinu polifenola (antocijani, katehin, protokatehinska kiselina, p-hidroksibenzoeva, galna, hlorogenska i vanilinska kiselina, vitamin C, miricetin, rutin, kumarinska, ferulna i elaginska kiselina) u odnosu na sok kupine. Sadržaj krisina, kvercetina i kafene kiseline, u ispitivanim uzorcima je bio ujednačen (6,41 mg/100 g SO, 1,17 mg/100 g SO i 0,43 mg/100 g SO). Najveće razlike u sadržaju polifenola su zabeležene između p-hidroksibenzoeve kiseline, protokatehinske kiseline i miricetina, čija količina je bila 38,4, 24 i 19,6 puta veća u ekstraktu, respektivno. Hlorogenska kiselina je detektovana samo u ekstraktu kupine u količini 19,35 mg/100 g SO, dok je u soku u potpunosti odsutna. Prisustvo gentisinske kiseline, epikatehina, siringinske i sinapinske kiseline, luteolina, izoramnetina i kempferola nije ustanovljeno ni u ekstraktu ni u soku.

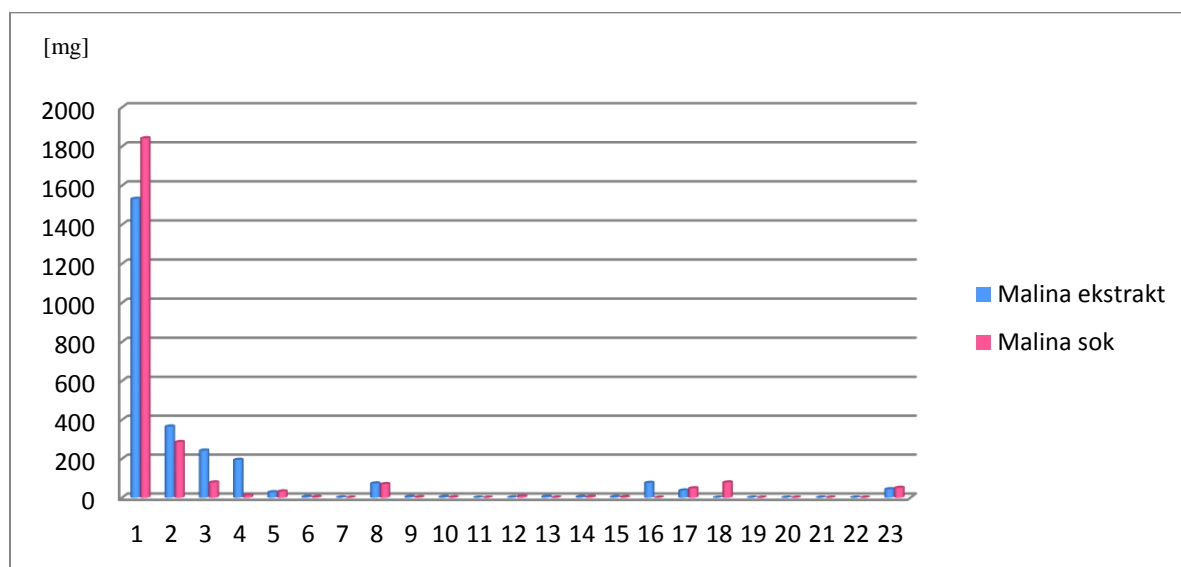
Sadržaj antocijana u ekstraktu kupine je iznosio 1973,13 mg/100 gSO. Nasuprot prikazanim rezultatima Milenković i sar., koji su ispitivanjem metanolnih ekstrakata kupine ustanovili 8 puta manju koncentraciju ovog polifenola (240,819 mg/100 g SO)(139), još niža vrednost antocijana 149,12 mg/100 g ustanovljena je od strane Vulić i sar. (140). Najniža vrednost antocijana je pronađena (50,95 i 102,31 mg/100 g SO) u ekstraktima dve sorte kupine Čačanska bestrna i Thornfree od strane Stajčić i sar. (141). Sadržaj elaginske kiseline utvrđen od strane Đurić i sar. za sortu Tayberry je bio 52 puta, a za Čačansku bestrnu 1,76 puta veći u odnosu na sadržaj elaginske kiseline prisutan u ekstraktu kupine ispitivanom u okviru ove disertacije (142). Slično tome, u sedam sorti kupine (Black Satin, Dirksen Thornless, Chester Thornless, Thornfree, Čačanska Bestrna, Loch Ness i Navaho), koje su ispitivali Milošević i sar., je pronađeno 2,4-3 puta više askrorbinske kiseline (143), nego u ekstraktu i 5-6,5 nego u soku ispitivanom u okviru ovog istraživanja. U istraživanjima sprovedenim od strane Ivanović i sar., u okviru kojih je postupak ekstrakcije sproveden zakišeljnim apsolutnim etanolom i ultrasonifikacijom, količina antocijana je iznosila 1380 mg/100 g SO, a u soku 70 mg/100 g SO (144), što predstavlja nižu vrednost u odnosu na rezultate dobijene u okviru ove doktorske disertacije. U etil-acetatnom ekstraktu divlje kupine Mitić i sar. su takođe utvrdili manju količinu antocijana 106,353 mg/100 g svežeg voća (SV) (145). Od ostalih medijuma korištenih za ekstrakciju, najčešće se pominju ekstrakti metanola. U istraživanju acetonskog i metanolnog ekstrakta kupine, sprovedenim od strane Pavlović i sar., takođe je detektovana niža količina antocijana. Analizom ekstrakta kupine ustanovljeno je prisustvo većih koncentracija galne, protokatehinske, hlorogenske i kumarinske kiseline, kao i rutina i krisina u poređenju sa rezultatima dobijenim u istraživanju sprovedenom od strane Pavlović i sar. (0,105, 0,253, 0,769, 0,048, 2,732 i 0,065 mg/100 g SO, respektivno). Dok su rezultati navedenih autora bili veći za: kafenu kiselinu (0,616 mg/100 g SO), luteolin (0,01 mg/100 g SO) i kempferol (0,029 mg/100 g SO) u odnosu na rezultate dobijene u okviru ove disertacije (0,43 mg/100 g SO za kafenu kiselinu i izostanak luteolina i kempferola). Ukupna elaginska kiselina je u metanolnom i acetonskom ekstraktu, ispitivanim u istraživanju navedene grupe autora, iznosila 60,29 i 118,57 mg/100 g smrznutog voća (SmV), respektivno (146). To je više nego 1,05 mg/100 g SO, koliko je dokazano u etanolnom ekstraktu ovog

istraživanja. U metanolnom ekstraktu divlje kupine, Radovanović i sar. su dokazali siringinsku kiselinu i epikatehin, koji nisu detektovani u etanolnom ekstraktu ove disertacije. U istom istraživanju su navedeni autori, takođe, dobili i viši rezultat za rutin (22,77 mg/100 g SO) u odnosu na 8,02 mg/100 g SO etanolnog ekstrakta ove studije. Nasuprot tome, rezultati hemijskog sastava ekstrakta ove disertacije su bili viši za: galnu (27,74 mg/100 gSO), kafenu (0,43 mg/100 g SO) i kumarinsku kiselinu (5,12 mg/100 g SO), kao i za katehin (1349,65 mg/100 g SO) i kvercetin (1,17 mg/100 g SO) u odnosu na rezultate Radovanovića i sar. (13,798 mg/100 g SV, 0,33 mg/100 g SV, kumarična kiselina nije bila prisutna u uzorku i 0,409 mg/100 g SV, respektivno) (147). Milivojević i sar. su u metanolnim ekstraktima dve sorte kupine dokazali 79 i 68,8 mg/100 g SO vitamina C, kempferola 0,188 i 0,154 mg/100 g SO i 3,54 i 3,09 mg/100 g SO elaginske kiseline, što je više nego u ekstraktu ispitivanom u okviru ove disertacije. Dok su rezultati ove disertacije za miricetin (13,75 mg/100 g SO ekstrakt) i kvercetin (1,17 mg/100 g SO) viši nego rezultati navedenih autora, 0,102 i 0,031 mg/100 g SO za miricetin, 0,03 i 0,042 mg/100 g SO za kvercetin. Hlorogenska kiselina je bila prisutna u ekstraktu ispitivanom u okviru ove disertacije u količini 19,35 mg/100 g SO, dok u uzorcima Milivojevića i sar. nije detektovana (148).

Malina

Rezultati analize hemijskog sastava polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku maline su prikazani na grafiku 2.

Grafik 2. Hemijski sastav polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku maline



1-Ukupni antocijani, 2-Katehin, 3-Protokatehinska kiselina, 4-p-Hidroksibenzoeva kiselina, 5-Galna kiselina, 6-Hlorogenska kiselina, 7-Vanilinska kiselina, 8-Vitamin C, 9-Miricetin, 10-Rutin, 11-Krisin, 12-Kumarinska kiselina, 13-Ferulna kiselina, 14-Kvercetin, 15-Elaginska kiselina, 16-Kafena kiselina, 17-Gentisinska kiselina, 18-Epikatehin, 19-Siringinska kiselina, 20-Sinapinska kiselina, 21-Luteolin, 22-Izoramnatin, 23-Kempferol

Najzastupljenije ispitivane supstance u ekstraktu i soku maline bile su: antocijani (ekstrakt 1531,56 mg/100 g SO, sok 1841,79 mg/100 g SO), katehin (ekstrakt 365,7 mg/100 g SO, sok 285,73 mg/100 g SO) i protokatehinska kiselina (ekstrakt 241,74 mg/100 g SO, sok 78,02 mg/100 g SO). Najveće razlike između ekstrakta i soka su zabeležene u sadržaju: epikatehina (u ekstraktu 78,02 mg/100 g SO, a u soku odsutan), kafene (u soku 75,86 mg/100 g SO, a u ekstraktu odsutna) i ferulne kiseline koja je bila 8 puta više zastupljena u ekstraktu. Krisin, siringinska i sinapinska kiselina nisu bili prisutni ni u ekstraktu, ni u soku. U ekstraktu takođe nisu bili prisutni ni epikatehini, a u soku vanilinska, kafena kiselina ni izoramnetin.

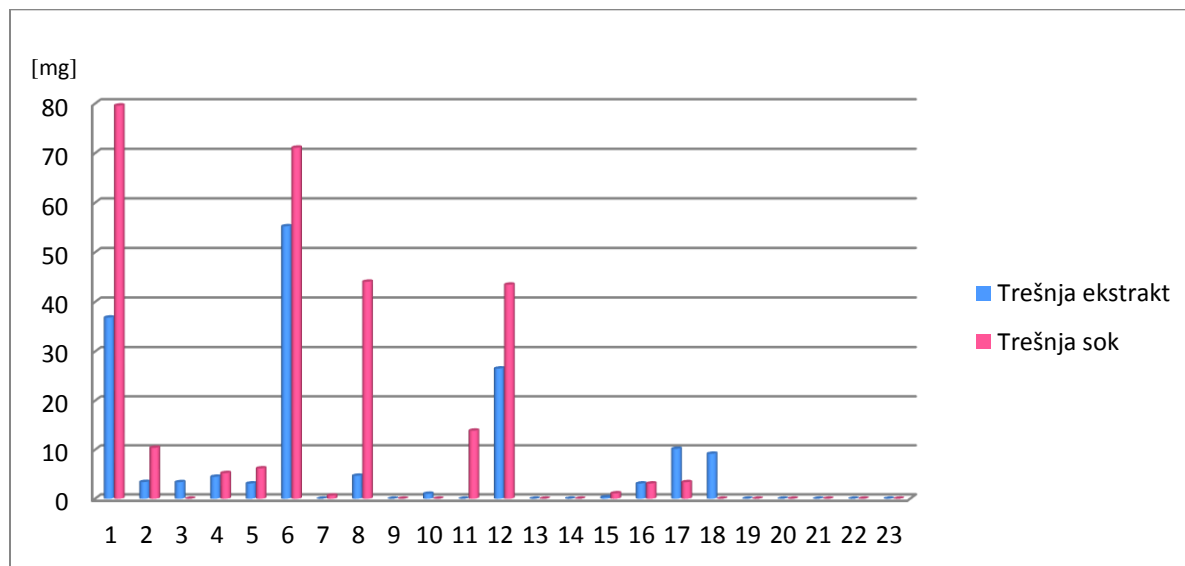
Vulić i sar. su dokazali 65,21 mg antocijana u 100 g svežeg tropa (ST) maline (140), dok su Stajčić i sar. u dve različite sorte (Willamete i Meeker) dokazali 43,29 i 47,34 mg antocijana/100 g sveže težine (SvT) respektivno (141). Rezultati obe grupe naučnika su manji od rezultata ove studije za antocijane u ekstraktu 1531,56 i soku 1841,79 mg/100 g SO. Najveća količina vitamina C koju su Milivojević i sar. dokazali u šest ispitivanih vrsta maline (Willamette, Meeker, Malahat, Tulameen, Chilliwack i Glen Ample) bila je 52,3 mg/100 g za sortu Chilliwack (149). Leposavić i sar. su među pet ispitivanih sorti maline (Meeker, Latham, K81-6, Tulameen i Willamete), prikupljenih u različitim vremenskim periodima, najveću količinu antocijana dokazali za sortu K81-6 (1010 mg/l) (150). Miletić i sar. su u Willamete i Meeker sortama potpuno zrelih malina dokazali: 29,2 mg/100 g SvT i 25,1 mg/100 g SvT elaginske kiseline, 1,1 mg/100 g SvT kvercetina i 6,1 mg/100 g galne kiseline (151). Rezultati dobijeni u okviru ove disertacije su viši od rezultata ovih autora za sve navedene supstance, osim za elaginsku kiselinu za koju su niži približno 8,5 puta. Nekoliko grupa naučnika je plodove različitih sorti maline ekstrahovalo metanolom zakišljenim HCl-om. Tako su, Ivanović i sar. u metanolnim ekstraktima zakišljenim 1% HCl-om, dobijenim iz četiri ispitivane vrste maline (Meeker, Polana, Willamete i Malling Promise) dokazali 25,1, 19,3, 47,6 i 16,2 mg antocijana/100 g SvT (152). Dragišić i sar. su u metanolnim ekstraktima zakišljenim HCl-om dve sorte maline (Autumn Bliss i Polka) pronašli 11,95 i 10,56 mg/100 g SvT antocijana i 42,9 i 38,4 mg/100 g SvT vitamina C, respektivno (153). Milivojević i sar. su za metanolne ekstrakte sorti Willamete, Meeker i divlje maline zakišljene HCl-om dobili 40,9, 44,3, 56,1 mg vitamina C/100 g, 0,026, 0,031, 0,25 mg miricetina/100 g, 0,24, 0,040, 0,013 mg kempferola/100 g, 0,071, 0,037, 0,082 mg kvercetina/100 g, 0,2, 0,52, 1,27 mg elaginske kiseline /100 gi 0,313, 0,132, 0,141 mg antocijana/100 g, respektivno. Navedeni autori nisu pronašli hlorogensku kiselinu u svojim uzorcima (148), dok je ona bila prisutna i u ekstraktu i u soku ispitivanom u okviru ove disertacije. Za razliku od ostalih naučnika koji su koristili HCl, Čestojević-Simin i sar. su metanolne ekstrakte malina sorti Willamete i Meeker zakiselili 0,05% sirćetnom kiselinom i dobili veće količine antocijana (232 mg/100 g i 428 mg/100 g) (27). Međutim, rezultati etanolnog ekstrakta ispitivanog u okviru ove disertacije su viši u kategorijama svih navedenih supstanci. Pavlović i sar. su u acetonskim i metanolnim ekstraktima maline pronašli antocijane u količinama: 20,63 i 28,54 mg/100 g SmV u sorti Meeker, 1,74 i 5,39 mg/100 g SmV u sorti Žuti Meeker, 40,26 i 56,18 mg/100 g SmV u sorti Tulameen, 29,5 i 89,34

mg/100 g SmV u sorti Willamette Valjevo, 46,52 i 85,61 mg/100 g SmV u sorti Willamette Arilje i 27,12 i 50,5 mg/100 g SmV u sorti Willamette Zlatibor. U metanolnim ekstraktima malina različitih sorti su dokazali i sledeće supstance u opsezima: galna kiselina 0,031-0,052 mg/100 g SmV, protokatehinska kiselina 0,072-0,223 mg/100 g SmV, hlorogenska kiselina 0-0,018 mg/100 g SmV, kafena kiselina 0,245-1,065 mg/100 g SmV, kumarinska kiselina 0,326-1,792 mg/100 g SmV, rutin 0-0,364 mg/100 g SmV, luteolin 0-0,1 mg/100 g SmV, kempferol 0-0,112 mg/100 g SmV, krisin 0,085-0,188 mg/100 g SmV i elaginska kiselina 12,86-99,86 mg/100 g SmV (146). Rezultati etanolnog ekstrakta ispitivanog u okviru ove disertacije su bili veći za: antocijane, galnu, protokatehinsku, kafenu, hlorogensku kiselinu i rutin. Količina kumarinske kiseline u etanolnom ekstraktu (1,23 mg/100 g SO) se uklapa u opseg vrednosti dobijen u istraživanju Pavlovića i sar. Luteolin i elaginska kiselina su u etanolnom ekstraktu ove studije bili prisutni u manjoj količini od maksimalnih vrednosti dobijenih od strane Pavlovića i sar. za metanolni ekstrakt maline. Krisin u etanolnom ekstraktu ove studije uopšte nije bio prisutan, dok je u studiji navedenih naučnika dokazan. Sadržaj elaginske kiseline u acetonskom ekstraktu iste studije je bio veći u odnosu na sadržaj u etanolnom ekstraktu ispitivanom u okviru ove disertacije. Četvorostruku ekstrakciju maline etil-acetatom, a zatim rastvaranje suvog ostatka u metanolu sprovedli su Mitić i sar. Takav rastvor maline je sadržao 18,084 mg antocijana/100 g SvT (145), što je skoro 85 puta manje nego u etanolnom ekstraktu ove studije.

Trešnja

Rezultati analize hemijskog sastava polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku trešnje su prikazani na grafiku 3.

Grafik 3. Hemijski sastav polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku trešnje



1-Ukupni antocijani, 2-Katehin, 3-Protokatehinska kiselina, 4-p-Hidroksibenzoeva kiselina, 5-Galna kiselina, 6-Hlorogenska kiselina, 7-Vanilinska kiselina, 8-Vitamin C, 9-Miricetin, 10-Rutin, 11-Krisin, 12-Kumarinska kiselina, 13-Ferulna kiselina, 14-Kvercetin, 15-

Elaginska kiselina, 16-Kafena kiselina, 17-Gentisinska kiselina, 18-Epikatehin, 19-Siringinska kiselina, 20-Sinapinska kiselina, 21-Luteolin, 22-Izoramnetin, 23-Kempferol

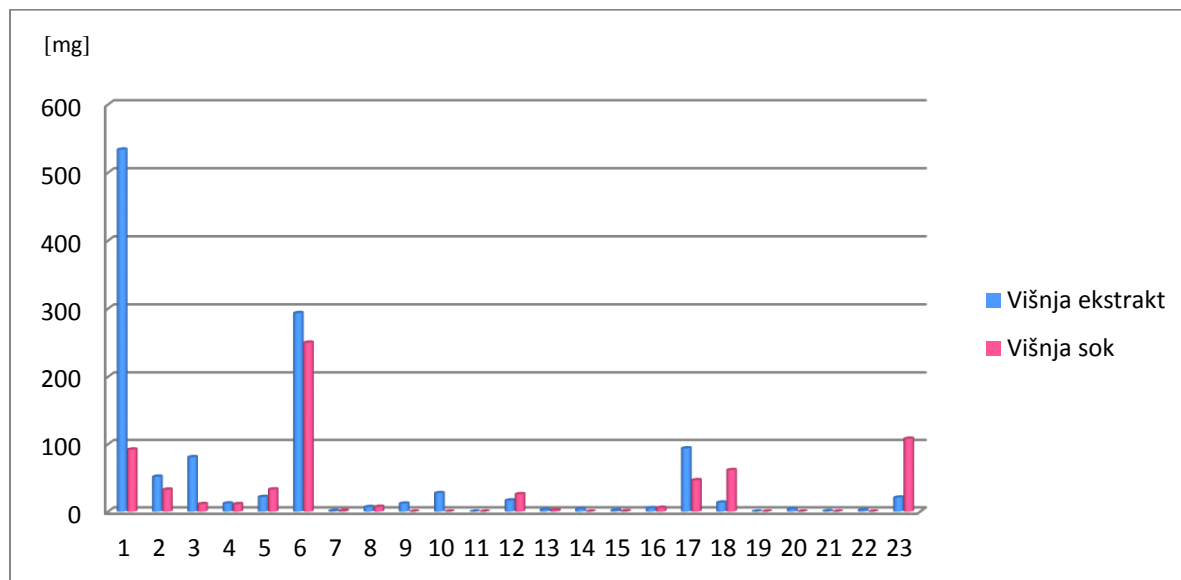
Najzastupljenije ispitivane supstance u ekstraktu i soku trešnje su: hlorogenska kiselina (ekstrakt 55,26 mg/100 g SO, sok 71,11 mg/100 g SO) i antocijani (ekstrakt 36,84 mg/100 g SO, sok 79,61 mg/100 g SO). Ekstrakt trešnje je sadržao veće koncentracije: protokatehinske kiseline, rutina, gentisinske kiseline i epikatehina u odnosu na sok trešnje. Veće koncentracije: antocijana, katehina, p-hidroksibenzoeve, galne, hlorogenske, vanilinske kiseline, vitamina C, krisina, kumarinske i elaginske kiseline bile su prisutne u soku u odnosu na ekstrakt trešnje. Kafena kiselina je u jednakoj količini (3,1 mg/100 g SO) bila prisutna u ekstraktu i soku trešnje. Najveće razlike u sadržaju ispitivanih supstanci su zabeležene za: krisin (u soku 13,89 mg/100 g SO, a u ekstraktu odsutan), epikatehin (u ekstraktu 9,17 mg/100 g SO, a u soku odsutan) i elaginsku kiselinu (4 puta veća količina u soku u odnosu na ekstrakt trešnje). Miracetin, ferulna kiselina, kvercetin, siringinska, sinapinska kiselina, luteolin, izoramnetin i kempferol nisu bili prisutni ni u ekstraktu, ni u soku. U ekstraktu takođe nisu bili prisutni ni: vanilinska kiselina i krisin, a u soku: protokatehinska kiselina, rutin i epikatehin.

Akšić i sar. su dokazali da različite sorte trešnji iz južno-istočne Srbije sadrže antocijane u opsegu 0,013-0,076 mg/l, a vitamin C u opsegu 3,32-7,82 mg/100 g. Vrednosti dobijene u okviru ove disertacije za antocijane su veće i iznose 36,84 mg/100 g u ekstraktu i 79,61 mg/100 g u soku (154). Količina vitamina C u etanolnom ekstraktu ove studije (4,68 mg/100 g SO) odgovara opsegu vrednosti dobijenom u istraživanju Akšića i sar., dok je u soku veća i iznosi 44,07 mg/100 g SO. U regionu su trešnju ispitivali i Milinović u Hrvatskoj i Petković u Republici Srpskoj. Milinović i sar. su poredili dve sorte trešnji, Kordia i Regina i utvrdili da opseg vrednosti za hlorogensku kiselinu 1,02-1,90 mg/100 g SvT, a za antocijane 17,53-39,85 mg/100 g SvT (155). Sadržaj hlorogenske kiseline je veći i u soku i u ekstraktu ove disertacije, dok sadržaj antocijana u ekstraktu odgovara opsegu vrednosti dobijenom od strane navedenih autora, a za sok je veći. Petković i sar. su u metanolnim ekstraktima dve sorte trešanja B i R dokazali vrednosti antocijana 1366 mg/100 g SvT i 52,76 mg/100 g SvT, respektivno (156). Vrednosti niže od sorte B su dobijene i za sok i za ekstrakt, dok je sadržaj antocijana u sorti R bio niži u odnosu na sok, a viši u odnosu na sadržaj antocijana u ekstraktu ispitanom u okviru ove disertacije. Prvulović i sar. su utvrdili da dva genotipa trešnje (Szomolyai Gombolyii i Valerij Cskalov) imaju 16,86 i 33,25 mg antocijana/100 g svežeg biljnog materijala, respektivno (157). Rezultati ekstrakta i soka ovog istraživanja su bili približno duplo veći u odnosu na rezultate navedenih autora i iznosili 36,84 mg/100 g i 79,61 mg/100 g, respektivno. Ista grupa autora je u drugoj studiji ispitivala još 17 varijeteta trešnje (Sándor, Katalin, Kavics, Rita, Margit, Peter, Linda, Aida, Alex, Carmen, Sunburst, Summit, New Star, Burlat (Bigarreau Burlat), Germerdorf 3, Hedelfinger i Majeve rana) i utvrdila 20-69 mg antocijana/100 g SO (158). Rezultati antocijana ove disertacije za ekstrakt odgovaraju prikazanom opsegu vrednosti, dok su rezultati soka bili ponovo viši od vrednosti Prvulović i sar.

Višnja

Rezultati analize hemijskog sastava polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku višnje su prikazani na grafiku 4.

Grafik 4. Hemijski sastav polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku višnje



1-Ukupni antocijani, 2-Katehin, 3-Protokatehinska kiselina, 4-p-Hidroksibenzoeva kiselina, 5-Galna kiselina, 6-Hlorogenska kiselina, 7-Vanilinska kiselina, 8-Vitamin C, 9-Miricetin, 10-Rutin, 11-Krisin, 12-Kumarinska kiselina, 13-Ferulna kiselina, 14-Kvercetin, 15-Elaginska kiselina, 16-Kafena kiselina, 17-Gentisinska kiselina, 18-Epikatehin, 19-Siringinska kiselina, 20-Sinapinska kiselina, 21-Luteolin, 22-Izoramnetin, 23-Kempferol

Najzastupljenije ispitivane supstance ekstrakta višnje bile su: antocijani (533,79 mg/100 g SO), hlorogenska kiselina (293,57 mg/100 g SO) i gentisinska kiselina (93,82 mg/100 g SO). U soku višnje su bili najzastupljeniji: hlorogenska kiselina (250,11 mg/100 g SO), kempferol (108,11 mg/100 g SO) i antocijani (92,07 mg/100 g SO). Ekstrakt višnje je sadržao veće količine: antocijana, katehina, protokatehinske, p-hidroksibenzoeve, hlorogenske kiseline, miricetina, rutina, ferulne kiseline, kvercetina, elaginske, gentisinske, sinapinske kiseline, luteolina i izoramnetina u odnosu na sok višnje. Sok višnje je sadržao više: galne, vanilinske kiseline, vitamina C, kumarinske kiseline, kafene kiseline, epikatehina i kempferola u odnosu na ekstrakt višnje. Najveće razlike u sadržaju ispitivanih supstanci su zabeležene za: rutin (u ekstraktu 27,46 mg/100 g SO, a u soku nije prisutan), miricetin (u ekstraktu 11,97 mg/100 g SO, a u soku nije prisutan) i protokatehinsku kiselinu (7 puta veća količina u ekstraktu). Krisin i siringinska kiselina nisu bili prisutni ni u ekstraktu ni u soku. U soku takođe nisu bili prisutni ni: miricetin, rutin, kvercetin, sinapinska kiselina, luteolin i izoramnetin.

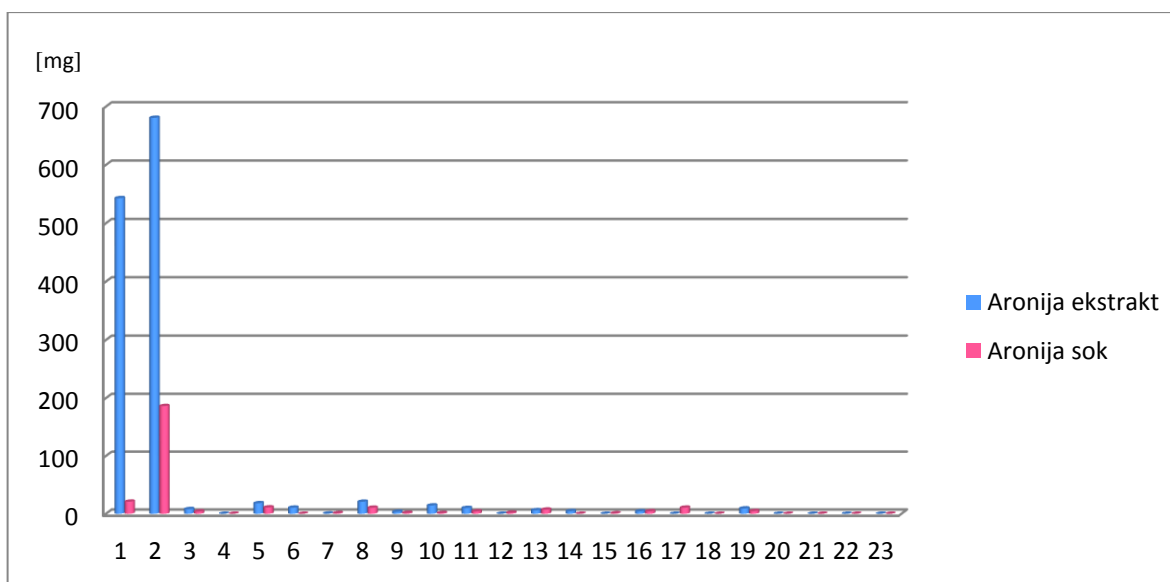
Mitić i sar. su dokazali antocijane u višnji u količini 92,957 mg/100 g SvT (145), što je manje nego u ekstraktu (533,79 mg/100 g SO) i približno koliko u soku višnje ispitivanom u okviru ove disertacije (92,07 mg/100 g SO). U dve sorte višnje (Érdi bőtermő i Kántorjánosi), Prvulović i sar. su pronašli 38,18 i 51,16 mg antocijana/100 g SvT, respektivno (157). Mitić i

sar. su ispitivali tri sorte višnje (Marela, Oblačinska i Cigančica) i zaključili da se sadržaj antocijana povećava tokom vremena (39,02-45,24 mg/100 g SvT, 54,14-81,55 mg/100 g SvT i 55,76-66,72 mg/100 g SvT) (159). Međutim, obradom plodova višnje na način opisan u Materijalima i metodama, dobijene su veće vrednosti antocijana u ekstraktu i soku ove studije u odnosu na rezultate navedenih autora (533,79 i 92,07 mg/100 g SO). Isto tako, pet različitih načina obrade ploda višnje (bez tretmana, tretirana vitaminom C, tretirana limunskom kiselinom, tretirana kalijummetabisulfitom i tretirana rastvorom bentonitne gline) u ispitivanju Markovića i sar. su rezultirali sledećim opsegom vrednosti antocijana 0,0068-0,368 mg/cm³ (160), što je takođe manje od rezultata ove disertacije dobijenih za sok i ekstrakt. Sadržaj antocijana u soku višnje su istraživali Mitić i sar. i Repajić i sar. i pronašli veće količine (261,61-430,09 mg/l i 464 mg/100 g SO) u odnosu na količinu antocijana u soku višnje ovog istraživanja (92,07 mg/100 g SO) (161,162).

Aronija

Rezultati analize hemijskog sastava polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku aronije su prikazani na grafiku 5.

Grafik 5. Hemijski sastav polifenola i vitamina C u ekstraktu i soku aronije



1-Ukupni antocijani, 2-Katehin, 3-Protokatehinska kiselina, 4-p-Hidroksibenzoeva kiselina, 5-Galna kiselina, 6-Hlorogenska kiselina, 7-Vanilinska kiselina, 8-Vitamin C, 9-Miricetin, 10-Rutin, 11-Krisin, 12-Kumarinska kiselina, 13-Ferulna kiselina, 14-Kvercetin, 15-Elaginska kiselina, 16-Kafena kiselina, 17-Gentisinska kiselina, 18-Epikatehin, 19-Siringinska kiselina, 20-Sinapinska kiselina, 21-Luteolin, 22-Izoramnatin, 23-Kempferol

Najzastupljenije ispitivane supstance u ekstraktu i soku aronije su bili: katehin (ekstrakt 680,65 mg/100 g SO, sok 186,3 mg/100 g SO) i antocijani (ekstrakt 542,93 mg/100 g SO, sok 20,91 mg/100 g SO). Ekstrakt u odnosu na sok aronije je sadržao veće količine: antocijana, katehina, protokatehinske, galne, hlorogenske kiseline, vitamina C, miricetina, rutina, krisina, kvercetina i siringinske kiseline. Sok aronije je sadržao veće količine:

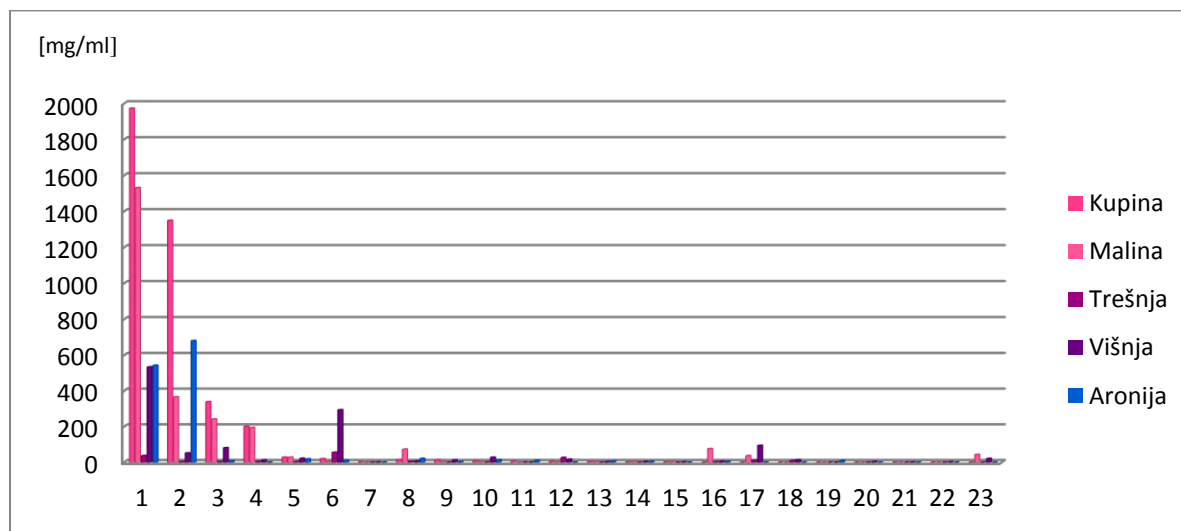
vanilinske, kumarinske, ferulne, elaginske i gentisinske kiseline u odnosu na ekstrakt aronije. Sok i ekstrakt aronije su sadržali istu količinu (4,23 mg/100 g SO) kafeine kiseline. Najveće razlike u sadržaju ispitivanih supstanci u soku i ekstraktu su zabeležene za: antocijane (26 puta veća količina u ekstraktu), rutin (12 puta veća količina u ekstraktu), gentisinsku kiselinu (10,52 mg/100 g SO u soku, dok u ekstraktu nije prisutna) i hlorogensku kiselinu (10,5 mg/100 g SO u ekstraktu, a u soku nije prisutna). P-hidroksibenzoeva kiselina, epikatehin, sinapinska kiselina, luteolin, izoramnetin i kempferol nisu bili prisutni ni u soku ni u ekstraktu. U ekstraktu takođe nisu bili prisutni ni: kumarinska, elaginska i gentisinska kiselina, a u soku: hlorogenska kiselina i kvercetin.

Sadržaje antocijana u zakišeljanim metanolnim ekstraktima aronije su utvrđivali: Taheri i sar., Rugina i sar. i Bräunlich i sar. Prve dve grupe autora su dokazale manji (0,321 mg/100 g SO i 366,16 mg/100 g SvT), a treća grupa veći sadržaj antocijana (737,3 mg/100 g SvT) u odnosu na količinu antocijana prisutnu u ekstraktu ovog istraživanja (542,93 mg/100 g SO) (93,163,164).

Poređenje hemijskih sastava

Rezultati analiza hemijskog sastava polifenola i vitamina C u ekstraktima: kupine, maline, višnje, trešnje i aronije su prikazani na grafiku 6.

Grafik 6. Hemijski sastav polifenola i vitamina C u ekstraktima svog ispitivanog voća

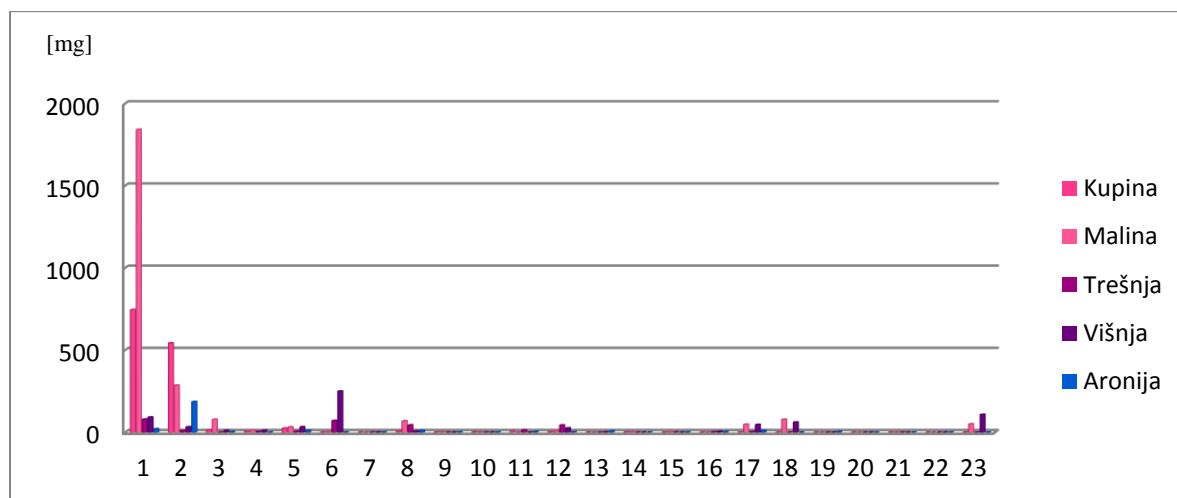


1-Ukupni antocijani, 2-Katehin, 3-Protokatehinska kiselina, 4-p-Hidroksibenzoeva kiselina, 5-Galna kiselina, 6-Hlorogenska kiselina, 7-Vanilinska kiselina, 8-Vitamin C, 9-Miricetin, 10-Rutin, 11-Krisin, 12-Kumarinska kiselina, 13-Ferulna kiselina, 14-Kvercetin, 15-Elaginska kiselina, 16-Kafena kiselina, 17-Gentisinska kiselina, 18-Epikatehin, 19-Siringinska kiselina, 20-Sinapinska kiselina, 21-Luteolin, 22-Izoramnetin, 23-Kempferol

Od svih ispitivanih uzoraka, ekstrakt kupine je sadržao najveću ukupnu količinu ispitivanih supstanci (3965,56 mg/100 g SO), a ekstrakt trešnje najmanju (161,44 mg/100 g SO). Najveću količinu ukupnih antocijana sadržao je ekstrakt kupine (1973,13 mg/100 g SO).

Ukupni antocijani ekstrakta maline (1531,56 mg/100 g SO) i katehin ekstrakta kupine (1349,65 mg/100 g SO) su takođe bili prisutni u znatnim količinama. Ekstrakti višnje i aronije su imali približne vrednosti antocijana (533,79 i 542,93 mg/100 g SO). Najmanju količinu antocijana sadrži ekstrakt trešnje 36,84 mg/100 g SO. Katehina i protokatehinske kiseline je takođe najviše bilo u ekstraktu kupine (1349,65 i 338,83 mg/100 g SO), a najmanje u ekstraktu trešnje (3,41 i 3,38 mg/100 g SO). P-hidroksibenzoeva kiselina je isto tako u najvećoj meri bila prisutna u ekstraktu kupine, a u najmanjoj u ekstraktu aronije, u kojem je nije bilo. Ekstrakt maline i ekstrakt kupine su sadržali skoro istu količinu galne kiseline (27,79 i 27,74 mg/100 g SO), dok su ostali ekstrakti sadržali manje količine, a najmanje galene kiseline bilo je sadržano u ekstraktu trešnje (3,1 mg/100 g SO). Hlorogenska kiselina je u najvećoj količini bila sadržana u ekstraktu višnje (293,57 mg/100 g SO), a najmanjoj u ekstraktu maline (4,15 mg/100 g SO). Vanilinske kiseline i miricetina nije bilo u ekstraktu trešnje, a u ekstraktu kupine ih je bilo u najvećoj količini (1,96 i 13,75 mg/100 g SO). Vitamin C je u najvećoj količini bio prisutan u ekstraktu maline 72,99 mg/100 g SO, a u najmanjoj u ekstraktu trešnje 4,68 mg/100 g SO. Ekstrakt višnje je sadržao najviše rutina 14,31 mg/100 g SO, dok je ekstrakt trešnje, sa 1 mg/100 g SO, imao najmanju količinu rutina. Krisin je bio prisutan samo u ekstraktima kupine i aronije (6,41 i 10,01 mg/100 g SO). Ekstrakt trešnje je sadržao najviše kumarinske kiseline, koja nije bila prisutna u ekstraktu aronije. Ekstrakt trešnje nije sadržao ferulnu kiselinu i kvercetin, koji su u najvećoj meri bili zastupljeni u ekstraktu aronije (6,16 i 4,49 mg/100 g SO). Elaginske i kafene kiseline je bilo najviše u ekstraktu maline (3,51 i 75,86 mg/100 g SO). U ekstraktu aronije elaginska kiselina nije bila prisutna, a najmanja količina kafene kiseline se nalazila u ekstraktu kupine (0,43 mg/100 g SO). Određene materije su pronađene samo u nekim od sokova i/ili ekstrakata. Tako je epikatehin bio prisutan samo u ekstraktima trešnje i višnje, dok je gentsinska kiselina bila prisutna još i u ekstraktu maline. Siringinska kiselina je bila prisutna samo u ekstraktu aronije, a sinapinska u ekstraktu višnje. Samo ekstrakti maline i višnje su sadržali: luteolin, izoramnetin i kempferol.

Rezultati analiza hemijskog sastava polifenola i vitamina C u sokovima: kupine, maline, višnje, trešnje i aronije su prikazani na grafiku 7. Od ispitivanih uzoraka sokova, sok kupine je sadržao najveću ukupnu količinu ispitivanih supstanci (1354,62 mg/100 g SO), a sok aronije najmanju (269,44 mg/100 g SO). Najveću količinu ukupnih antocijana imao je sok maline (1841,79 mg/100 g SO), a najmanju količinu antocijana sadržao je sok aronije 20,91 mg/100 g SO. Katehina je bilo najviše u soku kupine (542, 88 mg/100 g SO), a najmanje u soku trešnje (10,4 mg/100 g SO).

Grafik 7. Hemijski sastav polifenola i vitamina C u sokovima svog ispitivanog voća

1-Ukupni antocijani, 2-Katehin, 3-Protokatehinska kiselina, 4-p-Hidroksibenzoeva kiselina, 5-Galna kiselina, 6-Hlorogenska kiselina, 7-Vanilinska kiselina, 8-Vitamin C, 9-Miricetin, 10-Rutin, 11-Krisin, 12-Kumarinska kiselina, 13-Ferulna kiselina, 14-Kvercetin, 15-Elaginska kiselina, 16-Kafena kiselina, 17-Gentisinska kiselina, 18-Epikatehin, 19-Siringinska kiselina, 20-Sinapinska kiselina, 21-Luteolin, 22-Izorametin, 23-Kempferol

Sok maline je sadržao najveću količinu protokatehinske kiseline (78,02 mg/100 g SO), dok ona u soku trešnje nije bila prisutna. P-hidroksibenzoeva kiselina je takođe u najvećoj meri bila prisutna u soku maline (12,11 mg/100 g SO), a u najmanjoj u soku aronije, u kojem je nije bilo. Sok višnje je bio nabogatiji galnom kiselinom (32,88 mg/100 g SO), koje je najmanje bilo u soku trešnje (6,19 mg/100 g SO). Hlorogenska kiselina je bila sadržana samo u soku višnje, trešnje i maline (250,11, 71,11 i 3,24 mg/100 g SO, respektivno). Vanilinske kiseline je najviše bilo u soku višnje (1,07 mg/100 g SO), a u soku maline je nije bilo. Vitamin C je bio najzastupljeniji u soku maline (69,37 mg/100 g SO), a najmanje zastupljen u soku kupine (6,73 mg/100 g SO). Rutina i miricetina je bilo samo u sokovima: aronije (1,48 i 1,16 mg/100 g SO), kupine (0,7 i 2,09 mg/100 g SO) i maline (2,22 i 1,83 mg/100 g SO). Krisin je bio prisutan samo u sokovima: kupine, trešnje i aronije (6,41, 13,89 i 4,11 mg/100 g SO). Sok i ekstrakt trešnje su sadržali najviše kumarinske kiseline (43,49 mg/100 g SO), koja je u najmanjoj količini bila prisutna u soku aronije (1,84 mg/100 g SO). Sok trešnje nije sadržao ferulnu kiselinu i kvercetin. Ferulna kiselina je u najvećoj meri bila zastupljena u soku aronije (7,2 mg/100 g SO). Dok je kvercetin bio zastupljen samo u sokovima maine i kupine (4,05 i 1,17 mg/100 g SO). Sok maline je sadržao najveću količinu elaginske kiseline (2,94 mg/100 g SO), dok uošte nije sadržao kafenu kiselinu. Najmanje elaginske kiseline je bilo u soku višnje (0,46 mg/100 g SO), dok je sok kupine sadržao približnu količinu iste (0,47 mg/100 g SO). Najveću količinu kafene kiseline je sadržao sok višnje (5,64 mg/100 g SO). U soku maline je bilo najviše gentisinske kiseline (48,15 mg/100 g SO), dok u soku kupine ona nije bila prisutna. Epikatehin i kempferol su bili prisutni samo u sokovima maline i višnje. Sinapinske kiseline i izoramnetina nije bilo ni u jednom od sokova, dok je siringinska kiselina prisutna samo u soku aronije, a luteoin u soku maline.

Antimikrobno dejstvo

Većina konvencionalnih antibiotika pokazuje efekte pri koncentracijama od 10 µg/ml, dok se izolovana jedinjenja prirodnog porekla smatraju potentnim ukoliko pokazuju inhibitorno dejstvo u koncentracijama do 100 µg/ml (165). Međutim, kako se voće ispitivano u okviru ove disertacije koristi u ishrani u velikim količinama, smatra se da svaka antimikrobna aktivnost u konzumnim dozama predstavlja povoljan rezultat (28,166).

Antibakterijsko dejstvo

Rezultati testiranja antibakterijske aktivnosti sprovedenog difuzionom metodom su prikazani u Prilogu 3., dok su rezultati testiranja antibakterijske aktivnosti sprovedenog dilucionom metodom prikazani u Prilogu 4.

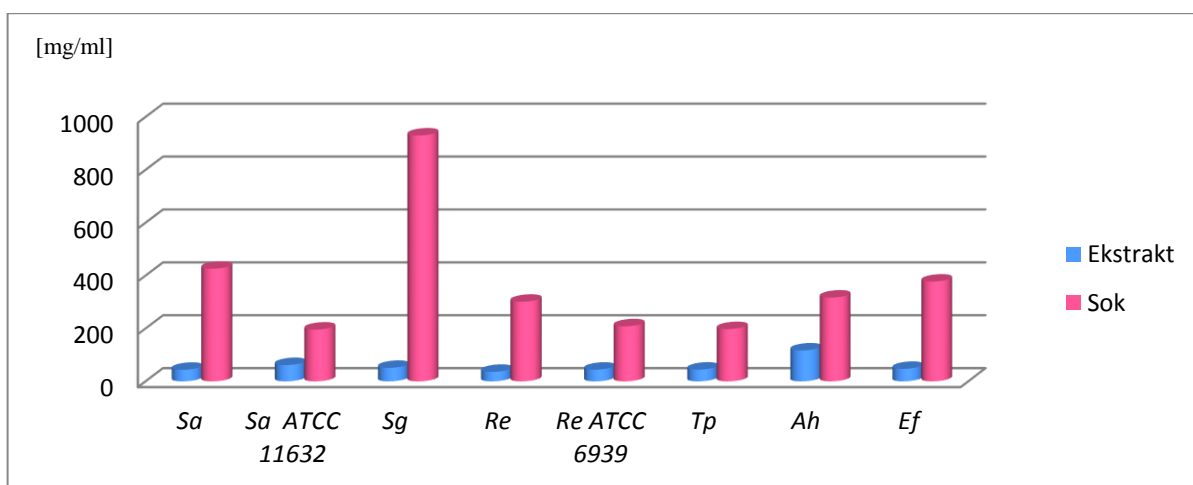
Kupina

Testiranja sprovedena difuzionom i dilucionom metodom pokazuju da je ekstrakt ispoljio dejstvo protiv bakterija u manjim koncentracijama u odnosu na sok. Ovakvi rezultati odgovaraju prethodno utvrđenom hemijskom sastavu, koji pokazuje da su ispitivane bioaktivne supstance prisutne u većim količinama u ekstraktu u odnosu na sok. Zanimljivo je da je dilucionom metodom dokazano jednako dejstvo ekstrakta i soka na *Rhodococcus equi*, dok je difuziona pokazala 19,5 puta jače dejstvo ekstrakta u odnosu na sok. Takođe je rezistentnost *Escherichia-e coli* i *Klebsiella-e pneumoniae* na sok dokazana difuzionom metodom, dok je diluciona pokazala Break point u dozama 21,9 mg/ml i 13,9 mg/ml soka na iste bakterije, respektivno.

Difuziona

Gram-pozitivne bakterije su bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta u odnosu na dejstvo soka.

Grafik 8. Dejstvo ekstrakta i soka kupine protiv gram-pozitivnih bakterija ispitivano difuzionom metodom

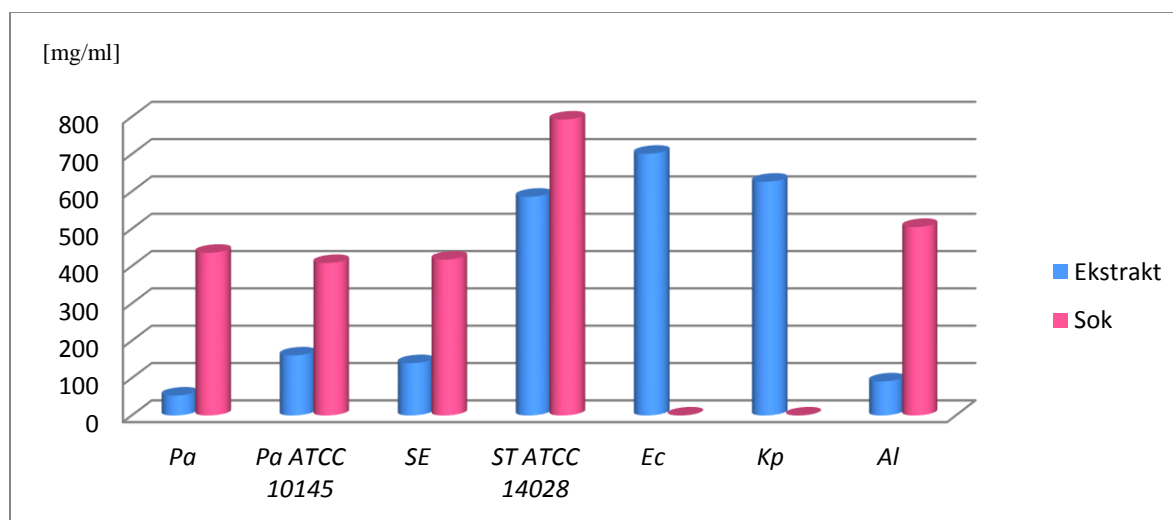


Sa-Staphylococcus aureus, *Sa* ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re* ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Najjače dejstvo ekstrakt kupine je ispoljio protiv *Rhodococcus-a equi* (35,94 mg/ml), a najslabije protiv *Arcanobacterium haemolyticum-a* (116,71 mg/ml). Sok je najjače delovao protiv *Staphylococcus aureus-a* ATCC (11632) 195,64 mg/ml), a najslabije protiv *Streptococcus-a agalactiae* (929,83 mg/ml). MIC-e 80 ekstrakta i soka kupine protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 8.

Gram negativne bakterije su bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta u odnosu na dejstvo soka.

Grafik 9. Dejstvo ekstrakta i soka kupine protiv gram-negativnih bakterija ispitivano difuzionom metodom



Pa-Pseudomonas aeruginosa, *Pa* ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *SE-Salmonella* Enteritidis, *ST* ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Ec-Escherichia coli*, *Kp-Klebsiella pneumoniae*, *Al-Acinetobacter baumannii*

Najjače dejstvo ekstrakt je ispoljio protiv *Pseudomonas aeruginosa-e* (53,34 mg/ml), a najslabije protiv *Escherichia-e coli* (701,11 mg/ml). Sok je najjače delovao protiv *Pseudomonas aeruginosa-e* ATCC 10145 (408,48 mg/ml), a najslabije protiv *Salmonella-e* Typhimurium ATCC 14028 (792,82 mg/ml), dok na *Escherichia-u coli* i *Klebsiella-u pneumoniae* nije ispoljio nikakvo dejstvo pri ispitivanju difuzionom metodom. MIC-e 80 ekstrakta i soka kupine protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 9.

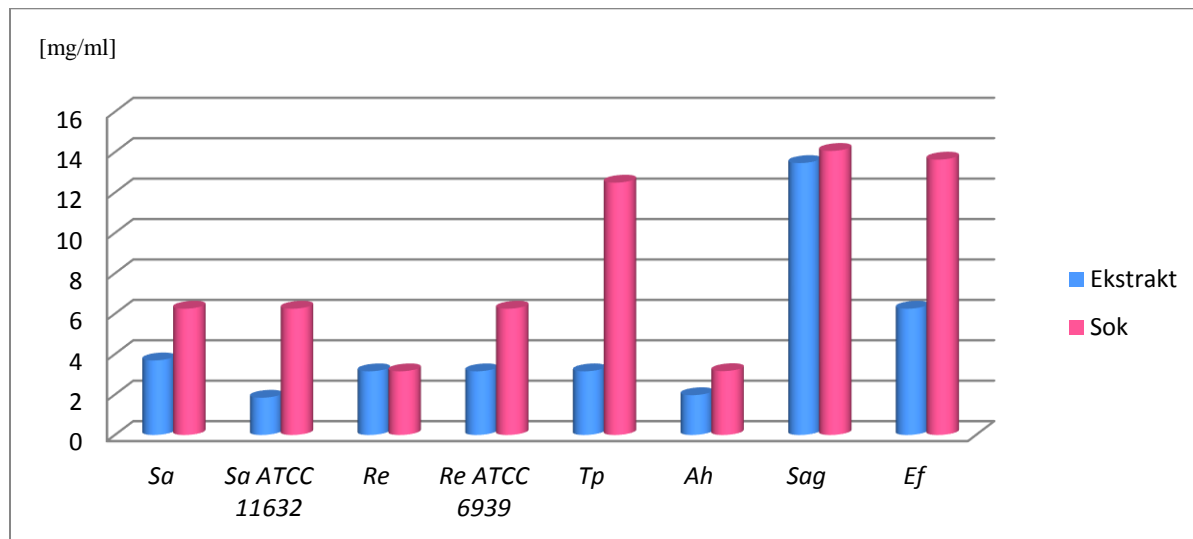
Antimikrobno dejstvo metanolnog ekstrakta kupine difuzionom metodom je ispitivano u okviru nekoliko studija. Tako je ekstrakt kupine u istraživanjima sprovedenim od strane Radovanovića i sar. pokazao slabiju efikasnost protiv *Escherichia-e coli*, *Pseudomonas aeruginosa-e*, *Salmonella-e* Enteritidis i *Staphylococcus aureus-a* u odnosu na ekstrakt ispitivan u okviru ovog istraživanja. Nasuprot istraživanju Radanovića i sar. u okviru kojeg je

zabeležen izostanak aktivnosti ekstrakta protiv *Klebsiella-e pneumoniae*, ekstrakt kupine u okviru ove doktorske disertacije je pokazao efikasnost na pomenuti soj. Razlike u rezultatima mogu poticati od razlika u medijumima i načinima ekstrakcije, kao i razlika u geografskim poreklima ispitivanih biljaka (147). Riaz i sar. su dokazali MIC-e metanolnog ekstrakta kupine, koje su iznosile 1000 µg na *Escherichia-u coli* i 20 µg na *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa-u*. Rezultati dobijeni u okviru ove disertacije za iste bakterije su iznosili 43,71, 701,1 i 53,34 mg/ml, respektivno. Obe studije pokazuju da su potrebne veće količine ekstrakta da bi se ispoljilo dejstvo na *Escherichia-u coli* u odnosu na *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa-u*. Uzrok tome je verovatno veći stepen rezistencije *Escherichia-e coli* u odnosu na druge dve ispitivane vrste. Međutim, MIC-e dobijene u okviru ove disertacije su veće od rezultata dobijenih u istraživanju navedenih autora. Ovakvi rezultati se mogu objasniti istim mehanizmom antibakterijskog dejstva supstanci sadržanih u kupinama, a različitom senzitivnošću bakterijskih sojeva poreklom iz Srbije i Pakistana (167). Yiğit i sar. su ispitivali i metanolni i vodeni ekstrakt kupine i dokazali dejstvo na *Staphylococcus aureus* (20 mm zona inhibicije), što je niže od rezultata dobijenih za ekstrakt i sok ovog istraživanja. Takođe, niti vodeni niti metanolni ekstrakt navedenih autora nisu pokazali dejstvo na *Escherichia-u coli* i *Pseudomonas aeruginosa-u*, dok rezultati dobijeni u okviru ove disertacije dokazuju dejstvo ekstrakta i soka na obe bakterijske vrste (168).

Diluciona

Gram pozitivne bakterije su bile seznizivnije na ekstrakt u svim slučajevima, osim MIC 80 za *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Streptococcus agalactiae* i *Enterococcus faecalis* i MIC 90 za *Streptococcus agalactiae*, gde su efektivne koncentracije za sok i ekstrakt bile jednake i MIC 80 za *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus aureus* ATCC 11632, za koje je sok ispoljio dejstvo u manjim koncentracijama u odnosu na ekstrakt. Izuetak je takođe bio i autohtoni soj *Rhodococcus-a equi*, koji je identično reagovao na prisustvo soka i ekstrakta (Break point je bio izazvan u koncentracijama 3,15 mg/ml, MBC 3,06 mg/ml, MIC 99 2,34 mg/ml, MIC 90 0,16 mg/ml, a MIC 80 0,01 mg/ml).

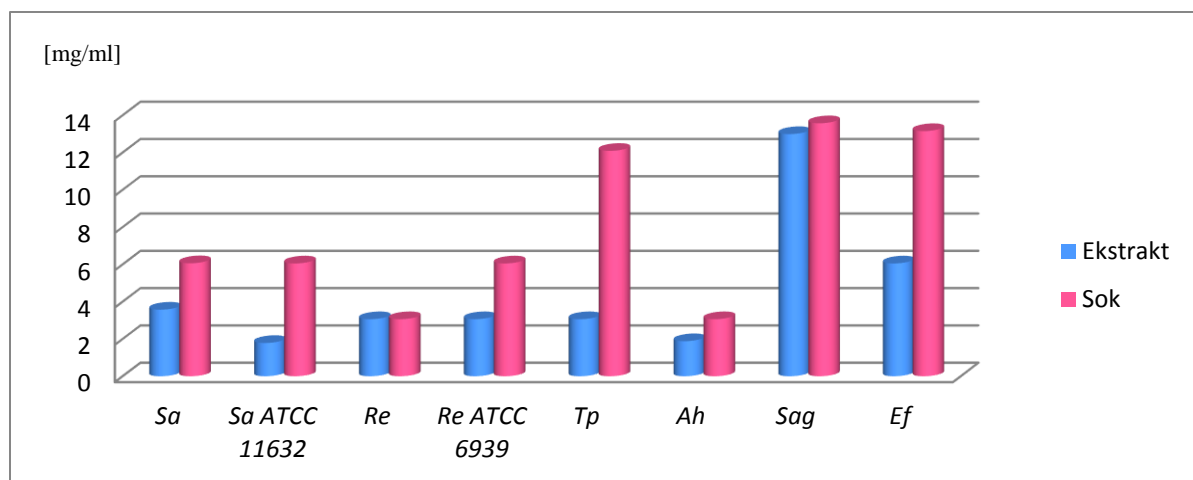
Grafik 10. Break point koncentracije ekstrakta i soka kupine na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Ekstrakt kupine je Break point efekte postigao u rasponu koncentracija od 1,84 mg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 11632) do 13 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*). Najniža koncentracija pri kojoj je postignut Break point soka kupine iznosila je 3,1 mg/ml (*Rhodococcus equi* i *Arcanobacterium haemolyticum*) a najviša 13,6 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Streptococcus-a agalactiae* (13 mg/ml ekstrakt, 13,6 mg/ml sok), a najveća za *Trueperella-u pyogenes* (3,1 mg/ml ekstrakt, 12,1 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka kupine protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 10.

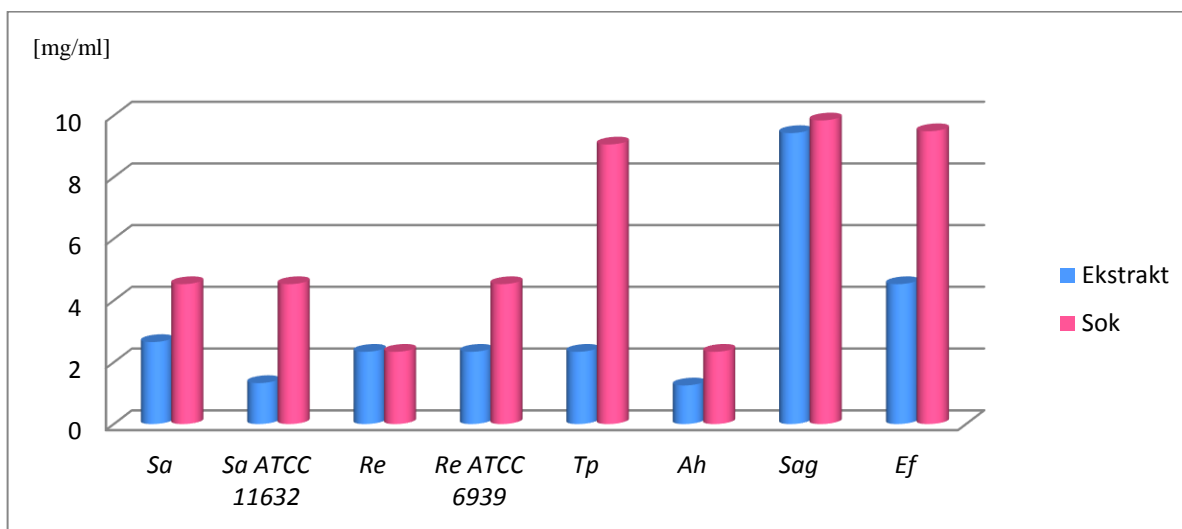
Grafik 11. MBC-e ekstrakta i soka kupine na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Ef-Enterococcus faecalis*

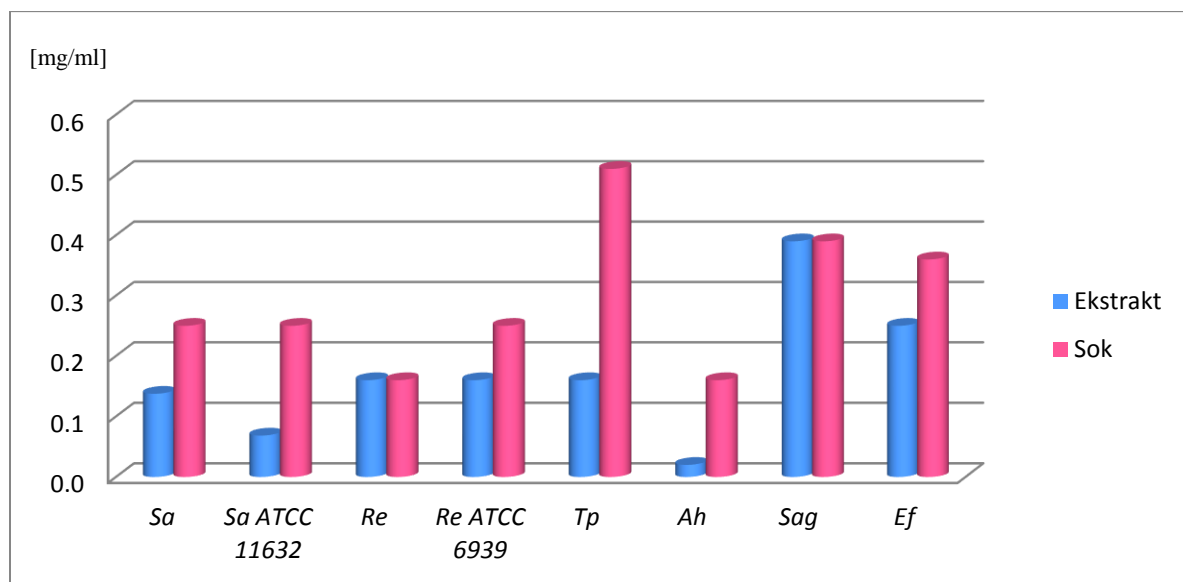
MBC-e ekstrakta su bile u opsegu od 1,78 mg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 11632) do 12,99 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*). Najniža MBC soka je iznosila 3,06 mg/ml (*Arcanobacterium haemolyticum*), a najviša 13,15 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Streptococcus-a agalactiae* (12,99 mg/ml ekstrakt, 13,57 mg/ml sok), a najveća protiv *Trueperella-e pyogenes* (3,06 mg/ml ekstrakt, 12,09 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka kupine protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 11.

Grafik 12. MIC-e 99 ekstrakta i soka kupine na testirane gram-pozitivne bakterije



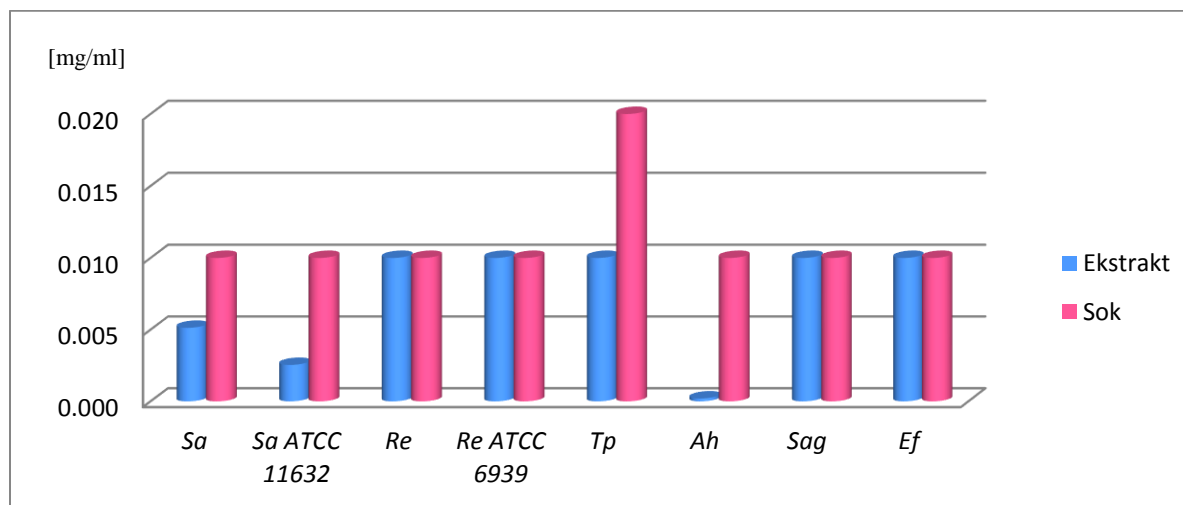
Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Najmanja MBC ekstrakta je uočena za *Arcanobacterium haemolyticum* (1,25 mg/ml), a najveća za *Streptococcus agalactiae* (9,43 mg/ml). Sok je isti efekat izazvao u najmanjoj koncentraciji 2,34 mg/ml (*Rhodococcus equi* i *Arcanobacterium haemolyticum*), a u najvećoj 9,84 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Streptococcus-a agalactiae* (9,43 mg/ml ekstrakt, 9,84 mg/ml sok), a najveća protiv *Trueperella-e pyogenes* (2,34 mg/ml ekstrakt, 9,06 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka kupine protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 12.

Grafik 13. MIC-e 90 ekstrakta i soka kupine na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Najmanja MIC 90 ekstrakta je iznosila 0,02 mg/ml (*Arcanobacterium haemolyticum*), a najveća 0,39 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*). Najmanja MIC 90 soka je iznosila 0,16 mg/ml (*Arcanobacterium haemolyticum* i *Rhodococcus equi*), a najveća 0,51 mg/ml (*Trueperella pyogenes*). Najmanja razlika u MIC-ama 90 je uočena u dejstvu ekstrakta i soka na *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 (0,2 mg/ml ekstrakt, 0,25 mg/ml sok), a najveća na *Trueperella*-u *pyogenes* (0,16 mg/ml ekstrakt, 0,51 mg/ml sok). MIC-e 90 ekstrakta i soka kupine protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 13.

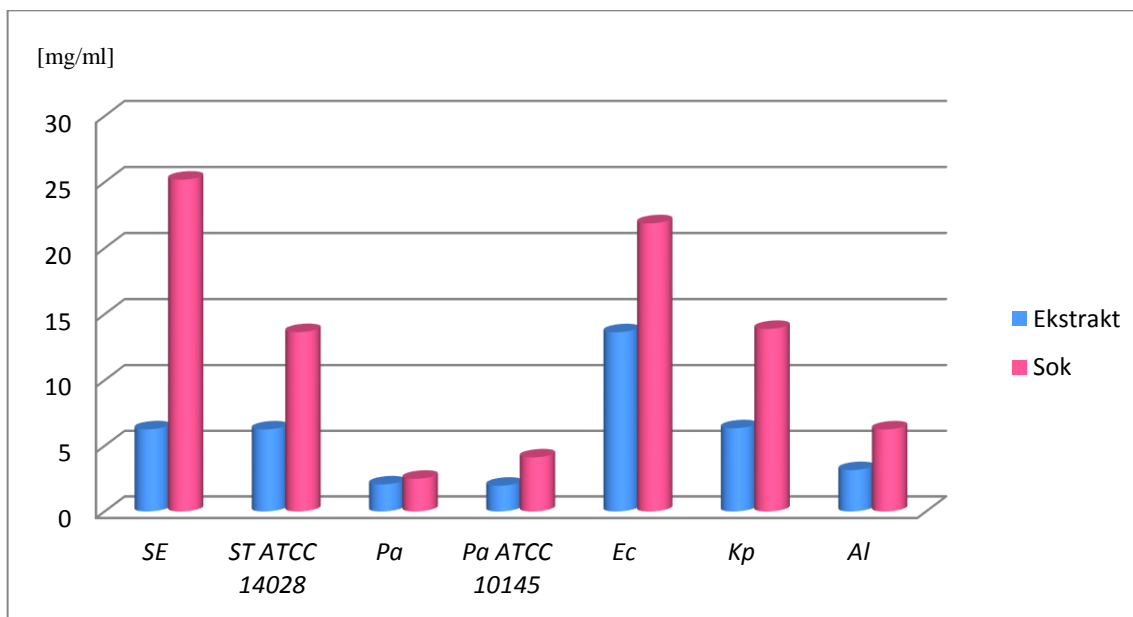
Grafik 14. MIC-e 80 ekstrakta i soka kupine na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Najmanja MIC 80 ekstrakta je dokazana na *Arcanobacterium haemolyticum* i iznosila 0,0002 mg/ml, a najveća 0,01 mg/ml na *Rhodococcus equi*, *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Trueperella-u pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* i *Enterococcus faecalis*. MIC-e 80 soka su na sve ispitivane Gram-pozitivne bakterije iznosile 0,01 mg/ml, osim na *Trueperella-u pyogenes* na koju je iznosila 0,02 mg/ml. Najveća razlika u MIC-ama 80 je uočena u dejstvu ekstrakta i soka na *Arcanobacterium haemolyticum* (0,0002 mg/ml ekstrakt, 0,01 mg/ml sok), a najmanja na *Staphylococcus aureus* (0,0051 mg/ml ekstrakt, 0,01 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka kupine protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 14.

Gram-negativne bakterije su bile senzitivnije na ekstrakt, osim u slučajevima MIC 80 na *Salmonella-u* Enteritidis, *Salmonella-u* Typhimurium ATCC 14028, *Klebsiella-u pneumoniae* i *Acinetobacter lwoffii*, za koje su MIC-e 80 ekstrakta i soka bile jednake.

Grafik 15. Break point koncentracije ekstrakta i soka kupine na testirane gram-negativne bakterije

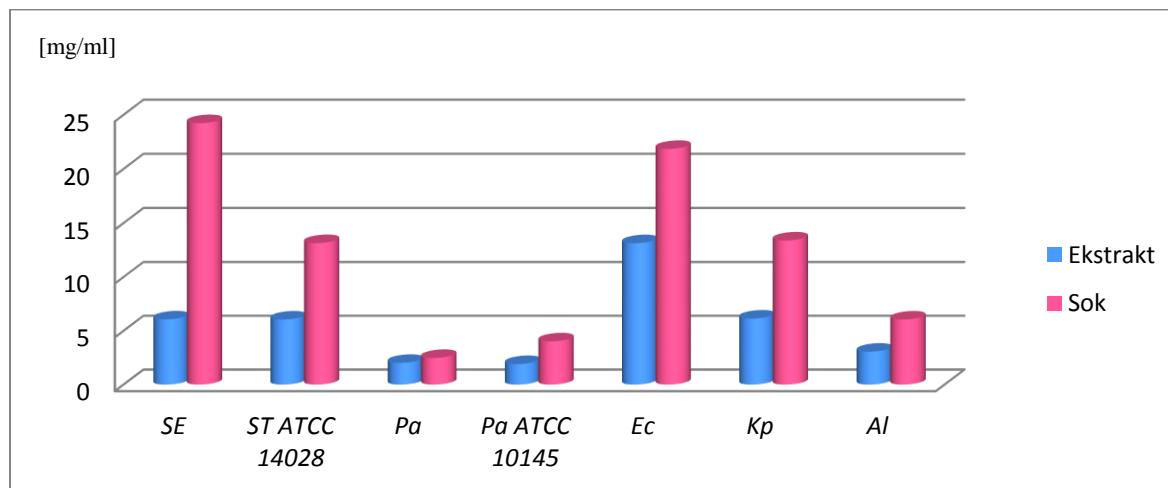


SE-*Salmonella* Enteritidis, ST ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, Pa ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, Ec-*Escherichia coli*, Kp-*Klebsiella pneumoniae*, Al-*Acinetobacter lwoffii*

Ekstrakt je najefikasniji bio na *Pseudomonas aeruginosa-u* ATCC 10145, gde je Break point efekat izazvan pri koncentraciji 1,96 mg/ml, a najmanje efikasan na *Escherichia-u coli* sa 13,63 mg/ml potrebnih za Break point. Sok je Break point izazvao u najmanjoj koncentraciji 2,49 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa-u*, a u najvećoj 25,18 mg/ml na *Salmonella-u* Enteritidis. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je na *Pseudomonas aeruginosa-u* (2,06 mg/ml ekstrakt, 2,49 mg/ml sok), a najveća na *Salmonella-u* Enteritidis

(6,26 mg/ml ekstrakt, 25,18 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka kupine protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 15.

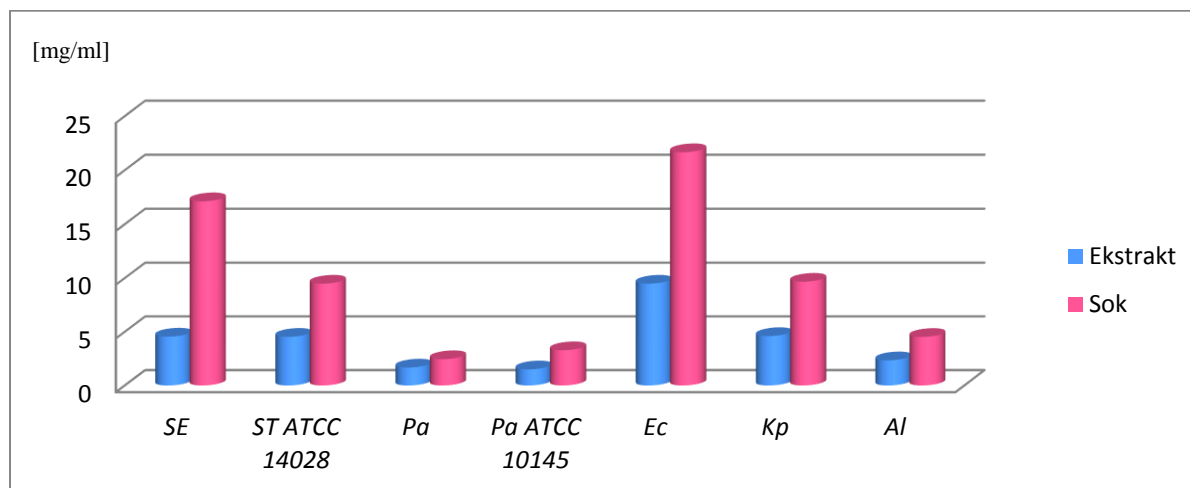
Grafik 16. MBC-e ekstrakta i soka kupine na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffi

Najmanja MBC ekstrakta je bila 1,91 mg/ml i utvrđena na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145, a najveća 13,14 mg/ml na *Escherichia*-u *coli*. MBC-e soka su bile u opsegu od 2,48 mg/ml dokazanih na *Pseudomonas aeruginosa*-u do 24,23 mg/ml na *Salmonella*-u Enteritidis. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Pseudomonas aeruginosa*-e (2,02 mg/ml ekstrakt, 2,48 mg/ml sok), a najveća protiv *Salmonella*-e Enteritidis (6,06 mg/ml ekstrakt, 24,23 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka kupine protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 16.

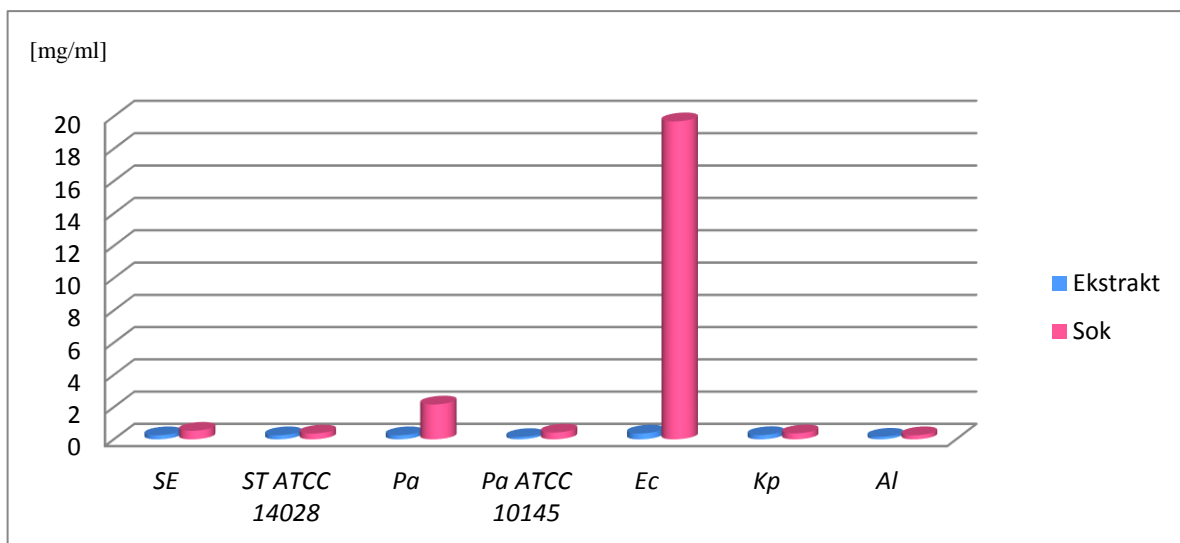
Grafik 17. MIC-e 99 ekstrakta i soka kupine na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

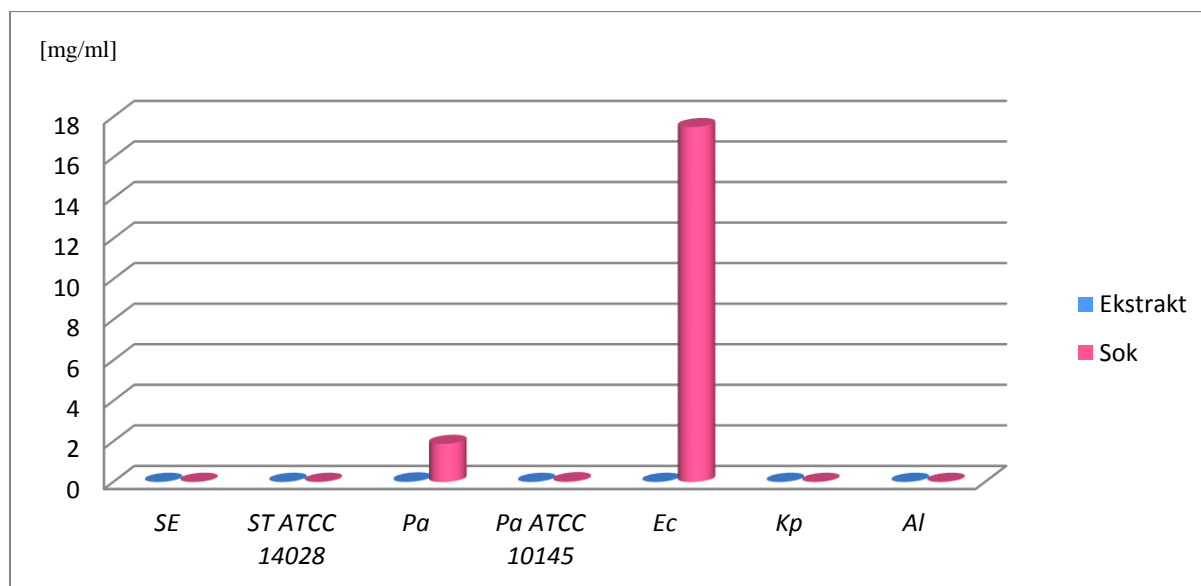
Najmanja MIC 99 ekstrakta je bila 1,50 mg/ml i dokazana na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145, a najveća 9,48 mg/ml na *Escherichia*-u *coli*. MIC-e 99 soka su bile u opsegu od 2,34 mg/ml na *Acinetobacter lwoffii* do 21,66 mg/ml na *Escherichia*-u *coli*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Pseudomonas aeruginosa*-e (1,67 mg/ml ekstrakt, 2,45 mg/ml sok), a najveća protiv *Salmonella*-e Enteritidis (4,55 mg/ml ekstrakt, 17,12 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka kupine protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 17.

Grafik 18. MIC-e 90 ekstrakta i soka kupine na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja MIC 90 ekstrakta je bila 0,14 mg/ml i dokazana na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145, a najveća 0,36 mg/ml na *Escherichia*-u *coli*. MIC-e 90 soka su bile u opsegu od 0,16 mg/ml na *Acinetobacter lwoffii* do 19,69 mg/ml na *Escherichia*-u *coli*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028 i *Klebsiella*-e *pneumoniae* (0,25 i 0,26 mg/ml ekstrakt, a 0,36 i 0,37 mg/ml sok), a najveća protiv *Escherichia*-e *coli* (0,36 mg/ml ekstrakt, 19,69 mg/ml sok). MIC-e 90 ekstrakta i soka kupine protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 18.

Grafik 19. MIC-e 80 ekstrakta i soka kupine na testirane gram-negativne bakterije

SE-*Salmonella* Enteritidis, ST ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, Pa ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, Ec-*Escherichia coli*, Kp-*Klebsiella pneumoniae*, Al-*Acinetobacter lwoffii*

MIC-e 80 ekstrakta su iznosile 0,01 mg/ml na sve bakterije, osim na *Pseudomonas aeruginosa*-u na koju je iznosila 0,03 mg/ml. MIC-e 80 soka su bile u opsegu od 0,01 mg/ml na *Salmonella*-u Enteritidis, *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* i *Acinetobacter lwoffii* do 19,69 mg/ml na *Escherichia coli*. Osim MIC 80 koje su bile jednake za ekstrakt i sok, najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145 (0,01 mg/ml ekstrakt, 0,04 mg/ml sok), a najveća na *Escherichia coli* (0,01 mg/ml ekstrakt, 17,50 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka kupine protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 19.

Djipa i sar. su dokazali da je vodeni ekstrakt kupine delotvoran protiv: *Enterococcus faecalis*-a ATCC 29212, *Staphylococcus aureus*-a ATCC 25923, *Staphylococcus aureus*-a 104 MC, *Staphylococcus aureus*-a 105 MC, *Escherichia coli* MC i *Salmonella*-e Enteritidis MC u dozama većim od 1 mg/ml (169). Rezultati ove disertacije za Break point, MBC-u i MIC-u 99 na iste bakterijske vrste su takođe veći od 1 mg/ml. Radovanović i sar. su dokazali da su MIC i MBC vrednosti metanolnog ekstrakata kupine za *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*-u, *Salmonella*-u Enteritidis i *Klebsiella pneumoniae* iste i iznose 0,5, 0,25, 0,0625 i 0,5 mg/ml, dok se za *Staphylococcus aureus* razlikuju, pa je MIC 0,0625 µg/ml, a MBC 0,12 mg/ml (147). Odgovarajući rezultati dobijeni u okviru ove studije su za: *Staphylococcus aureus* MIC 80 0,02 mg/ml, MBC 1,93 mg/ml, *Salmonella*-u Enteritidis MIC 80 0,01 mg/ml, MBC 6,06 mg/ml, *Pseudomonas aeruginosa*-u MIC 80 0,03 mg/ml, MBC 2,02 mg/ml, *Escherichia coli* MIC 80 0,01 mg/ml, MBC 13,14 mg/ml i *Klebsiella pneumoniae* MIC 80 0,01 mg/ml, MBC 6,14 mg/ml. Ukratko, MIC-e 80 ove disertacije su

manje, a MBC-e veće u odnosu na MIC-e i MBC-e dobijene u istraživanju navedenih autora za sve ispitivane vrste. Razlike u rezultatima mogu poticati od različitog načina detekcije MBC i MIC koncentracija. Naime, u istraživanju ove disertacije svaka bakterija izrasla na Petri pločama je brojana ili je detektovan izostanak rasta bakterija, dok su Radovanović i sar. rezultate detektovali spektrofotometrijski. Yiğit i sar. su dokazali dejstvo vodenog i metanolnog ekstrakta na *Staphylococcus aureus* (168), a Ordogh i sar. izostanak dejstva. Rezultati Ordogh i sar. pokazuju da je samo sok kupine ispoljio antibakterijsko dejstvo na ovu bakteriju (170). Rezultati dobijeni u okviru ove disertacije pokazuju antibakterijsku aktivnost i ekstrakta i soka kupine protiv *Staphylococcus aureus*-a. Ni jedan od ekstrakata (vodeni i metanolni) kupine prema Yiğit i sar. ne pokazuje dejstvo protiv *Escherichia-e coli* i *Pseudomonas aeruginosa-e*. Nasuprot tome, po rezultatima Krischa i sar., sok kupine je inhibisao rast manje od 25% unetih bakterija *Escherichia-e coli*, a metanolni ekstrakt više od 75% (171). Rezultati ove disertacije takođe pokazuju jaču aktivnost ekstrakta u odnosu na sok protiv *Escherichia-e coli*. Dejstvo soka kupine na *Escherichia-u coli*, potvrđuju i Yang i sar. u ispitivanju soja O157:H7. Istom studijom navedeni autori su dokazali da sok kupine značajno inhibiše i rast *Salmonella-e Typhimurium* (172). Rezultati ove disertacije takođe pokazuju aktivnost soka kupine protiv *Salmonella-e Typhimurium* ATCC 14028.

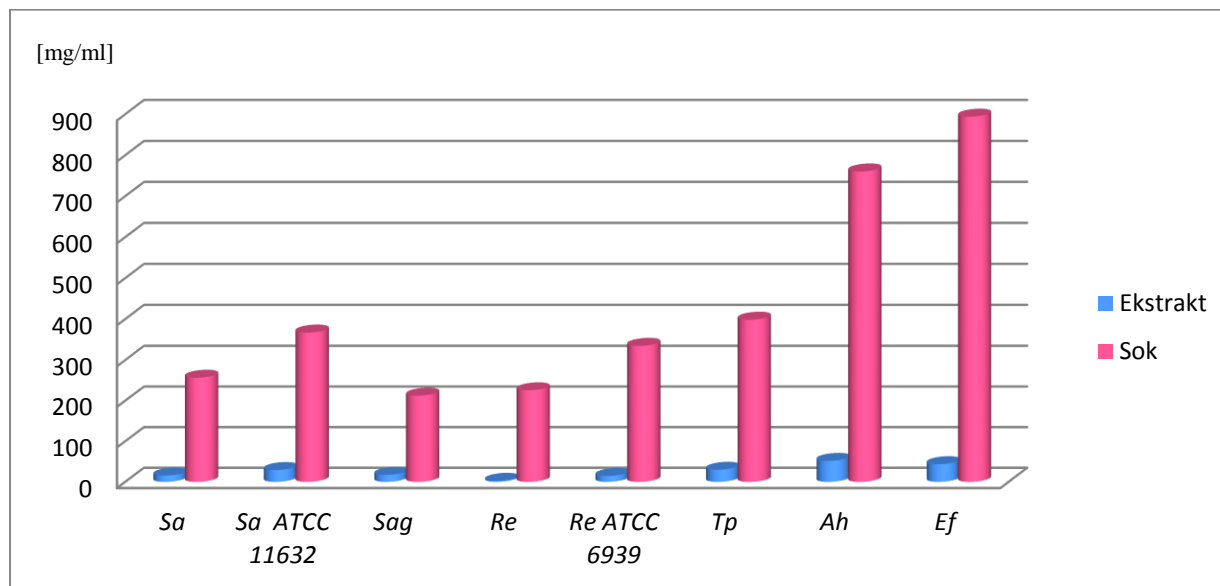
Malina

Rezultati dobijeni difuzionom metodom pokazuju da je ekstrakt ispoljio jače antibakterijsko dejstvo na ispitivane sojeve. Rezultati dilucionom metodom potvrđuju ovakva saznanja, osim za *Rhodococcus equi* kod kojeg je sok sve efekte izazvao u manjim koncentracijama u odnosu na ekstrakt. Takođe su MIC-e 99 *Trueperella-e pyogenes* i *Enterococcus faecalis*-a bile niže za sok, dok su sve ostale MIC-e 99 bile niže za ekstrakt. Sve MIC-e 90 i 80 su bile niže za sok, osim: MIC-e 80 i 90 na *Pseudomonas aeruginosa-u* i *Klebsiella-u pneumoniae*, MIC 80 na *Pseudomonas aeruginosa-u* ATCC 10145 i *Streptococcus agalactiae* koje su bile niže za ekstrakt. MIC 90 na *Streptococcus agalactiae* je bila jednaka za sok i ekstrakt. Pri ispitivanju difuzionom metodom uočen je izostanak dejstva soka na: *Escherichia-u coli* i *Klebsiella-u pneumoniae*. Pri ispitivanju dilucionom metodom je izostanak dejstva soka na *Escherichia-u coli* potvrđen, a antibakterijsko dejstvo soka na *Klebsiella-u pneumoniae* utvrđeno u visokim koncentracijama. Uzrok ovakvih rezultata bi mogao biti hemijski sastav ekstrakta i soka, koji je veoma raznovrstan.

Difuziona

Gram pozitivne bakterije su bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta u odnosu na dejstvo soka.

Grafik 20. Dejstvo ekstrakta i soka maline protiv gram-pozitivnih bakterija ispitivano difuzionom metodom

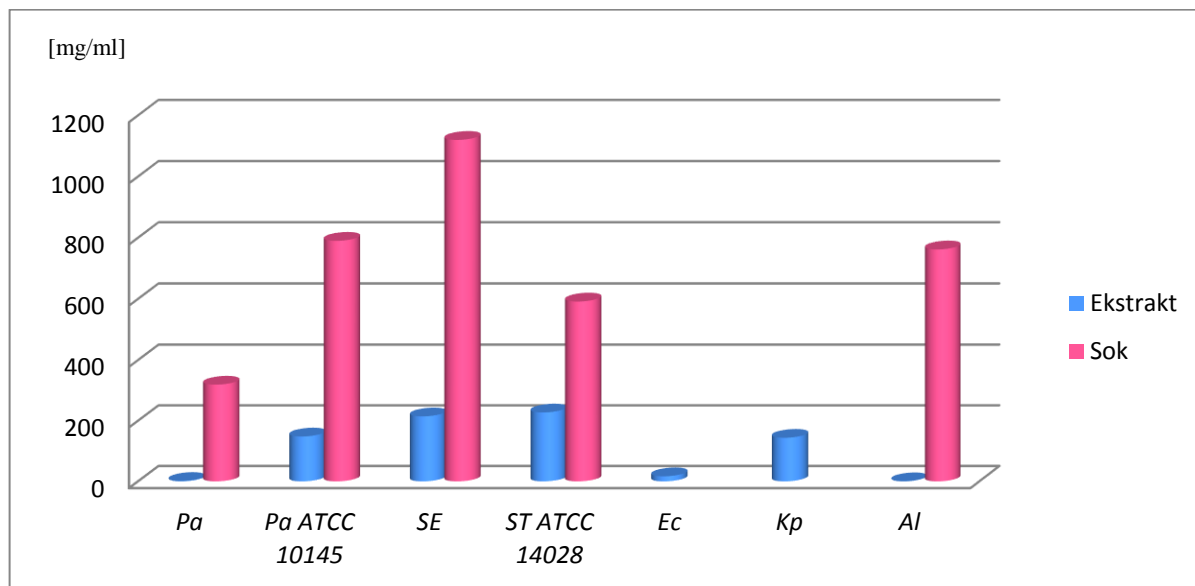


Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Ef-Enterococcus faecalis*

MIC-e 80 ekstrakta su bile u rasponu od 2,52 mg/ml za *Rhodococcus equi*, do 51,67 mg/ml za *Arcanobacterium haemolyticum*. MIC-e 80 soka su bile u rasponu od 212,21 mg/ml za *Streptococcus agalactiae* do 893,91 mg/ml za *Enterococcus faecalis*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Streptococcus-a agalactiae* (17,16 mg/ml ekstrakt, 212,21 mg/ml sok), a najveća protiv *Rhodococcus-a equi* (2,52 mg/ml ekstrakt, 225,49 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka maline protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 20.

Gram negativne bakterije su takođe bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta u odnosu na dejstvo soka. MIC-e 80 ekstrakta su bile u rasponu od 0,44 mg/ml na *Acinetobacter lwoffii*, do 227,47 mg/ml na *Salmonella-u Typhimurium ATCC 14028*.

Grafik 21. Dejstvo ekstrakta i soka maline protiv gram-pozitivnih bakterija ispitivano difuzionom metodom



Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, *Pa* ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *SE*-*Salmonella* Enteritidis, *ST* ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Ec*-*Escherichia coli*, *Kp*-*Klebsiella pneumoniae*, *Al*-*Acinetobacter lwoffii*

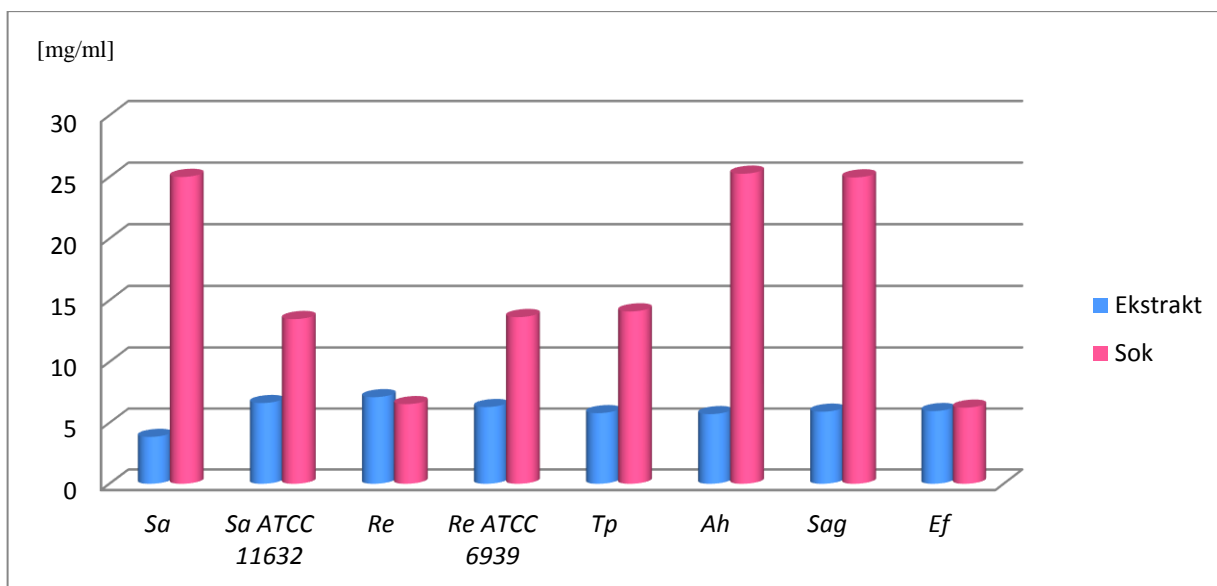
Sok nije ispoljio dejstvo na *Escherichia*-u *coli* i *Klebsiella*-u *pneumoniae*. MIC-e 80 su bile u rasponu od 319,2 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa*-u do 1119,95 mg/ml na *Salmonella*-u Enteritidis. Najmanja razlika u koncentracijama ekstrakta i soka koje izazivaju delovanje, uočena je protiv *Salmonella*-e Enteritidis (214,48 mg/ml ekstrakt, 1119,95 mg/ml sok), a najveća protiv *Acinetobacter*-a *lwoffii* (0,44 mg/ml ekstrakt, 761,92 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka maline protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 21.

Rezultati Velićanske i sar. pokazuju aktivnost metanolnog ekstrakta celog ploda i tropa maline u koncentracijama 50 mg/ml na: *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 (16 i 48,5 mm), *Pseudomonas aeruginosa*-u (16 i 24 mm), *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 27853 (14,25 i 25 mm), *Escherichia*-u *coli* ATCC 10536 (15,5 i 34,32) i *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028 (16,5 i 35,5 mm), respektivno (30). Ekstrakt ispitivan u okviru ove disertacije je inhibirao rast bakterija u zonama inhibicije prečnika 7 mm u koncentracijama: 28,99 mg/ml na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632, 1,44 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa*-u, 148,21 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145, 16,77 mg/ml na *Escherichia*-u *coli* i *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028 227,47 mg/ml. Dejstvo etanolnog ekstrakta ovog ekstrakta je jače u odnosu na dejstvo metanolnog ekstrakta celog ploda i tropa protiv *Pseudomonas aeruginosa*-e i metanolnog ekstrakta celog ploda protiv *Escherichia*-e *coli*, a slabije protiv ostalih ispitivanih mikroorganizama. Velićanski i sar. su takođe utvrdili da je najrezistentnija vrsta bila *Escherichia coli* (29). Na rezistentnost ove bakterijske vrste ukazuju i nalazi ove disertacije, jer je bila rezistentna na

dejstvo soka, dok je pri dejstvu ekstrakta bila druga po rezistentnosti, odmah nakon *Pseudomonas aeruginosa*-e ATCC 10145. Različit antimikrobni potencijal ekstrakta iste sorte maline ispitivan u ove dve studije može se objasniti razlikama u: geografskom poreklu malina, vremenu žetvi, načinima čuvanja i ekstrakcije (metanolom ili etanolom), što može usloviti razlike u hemijskim sastavima ekstrakata. Rauha i sar. su dokazali slabu antibakterijsku aktivnost metanolnog rastvora acetonskog ekstrakta maline protiv *Staphylococcus aureus*-a DSM 20231 i *Escherichia-e coli* ATCC 8739 (173). Studija izvršena u okviru ove disertacije je pokazala manju efikasnost, jer je kod nas blaga antibakterijska aktivnost protiv ova dva patogena postignuta pri koncentracijama većim od 1 mg/ml tj. na *Staphylococcus aureus* 15,45 mg/ml, a na *Escherichia-u coli* 16,77 mg/ml. U ispitivanju sprovedenom od strane Puupponen-Pimie i sar. acetonski ekstrakt maline je u koncentracijama 16, 35, 70 i 140 mg/ml inhibirao rast bakterija u zonama inhibicija prečnika 14, 17, 17 i 18 mm *Escherichia-e coli*, 17, 18, 19 i 20 mm *Escherichia-e coli* CM 871, dok na *Enterococcus faecalis* E-203 nije ispoljio dejstvo (13). Difuzionom metodom sprovedenom u okviru ove disertacije utvrđene su sledeće MIC 80 vrednosti ekstrakta i soka na: *Escherichia-u coli* 16,77 mg/ml i izostanak dejstva soka, *Salmonella-u* Enteritidis 214,48 i 1119,95 mg/ml i *Enterococcus faecalis* 43,49 i 893,91 mg/ml, respektivno. Iz navedenih podataka se može zaključiti da je aktivnost acetonskog ekstrakta bliža vrednostima etnolnog ekstrakta pri ispitivanju na *Escherichia-u coli*, dok je pri ispitivanju na *Enterococcus faecalis* acetonski ekstrakt bio bliži soku ispitivanom u okviru ove disertacije. U oba slučaja sok i etanolni ekstrakt su ispoljili jače dejstvo u odnosu na acetonski ekstrakt. Razlike u rezultatima, pored ostalih, mogu poticati od razlika u hemijskoj prirodi sredstava korišćenih za ekstrakciju, kao i različitih rastvarača. Ordogh i sar. su dokazali izostanak atibakterijske aktivnosti soka, vodenog i metanolnog ekstrakta tropa maline na *Staphylococcus aureus* (170). Nasuprot tome, studija Ryan i sar. je pokazala antibakterijsko dejstvo soka maline na *Staphylococcus aureus*, kao i na *Escherichia-u coli*, *Salmonella-u* Typhimurium, *Salmonella-u* Enteritidis i *Enterococcus faecalis* (7). Studija izvršena u okviru ove disertacije je takođe dokazala dejstvo soka maline protiv svih navedenih bakterijskih vrsta.

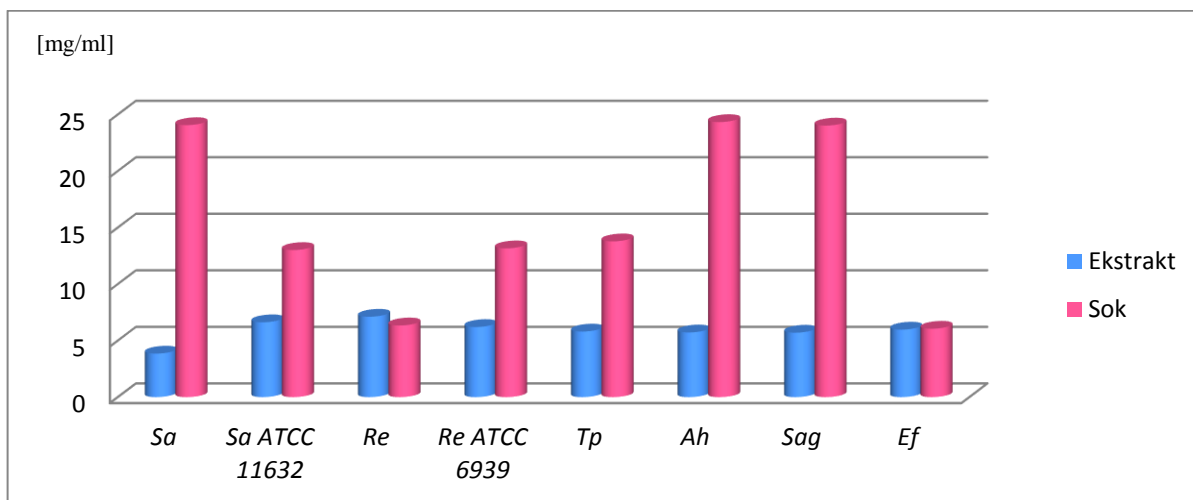
Diluciona

Gram pozitivne bakterije su bile osetljivije na ekstrakt u smislu Break point-a i MBC-e, osim *Rhodococcus-a equi* na koji je sok jače delovao. Niže MIC-e 99 soka u odnosu na ekstrakt su utvrđene na: *Rhodococcus equi*, *Trueperella-u pyogenes* i *Enterococcus faecalis*, dok je na ostale Gram-pozitivne bakterije ekstrakt delovao u nižim MIC-ama 99. MIC 90 i MIC 80 su bile niže za sok u odnosu na ekstrakt na sve Gram-pozitivne bakterije, osim na *Streptococcus agalactiae*. Nižu MIC-u 90 na ovu bakteriju je ispoljio ekstrakt, dok su MIC-e 80 ekstrakta i soka bile jednake.

Grafik 22. Break point koncentracije ekstrakta i soka maline na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

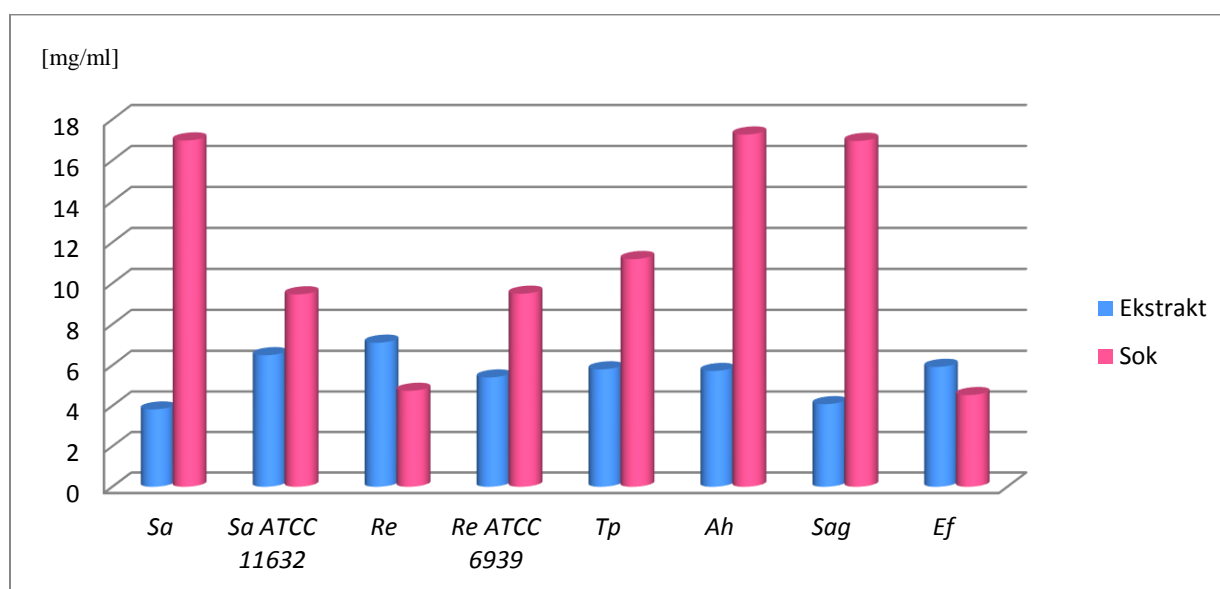
Ekstrakt je Break point efekat izazvao u rasponu koncentracija od 3,85 mg/ml na *Staphylococcus aureus* do 7,11 mg/ml na *Rhodococcus equi*. Sok je Break point izazvao u najmanjoj koncentraciji 6,25 mg/ml na *Streptococcus agalactiae*, a u najvećoj 25,27 mg/ml na *Arcanobacterium haemolyticum*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Enterococcus faecalis*-a (5,97 mg/ml ekstrakt, 6,25 mg/ml sok), a najveća protiv *Staphylococcus aureus*-a (3,85 mg/ml ekstrakt, 25,01 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka maline protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 22.

Grafik 23. MBC-e ekstrakta i soka maline na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

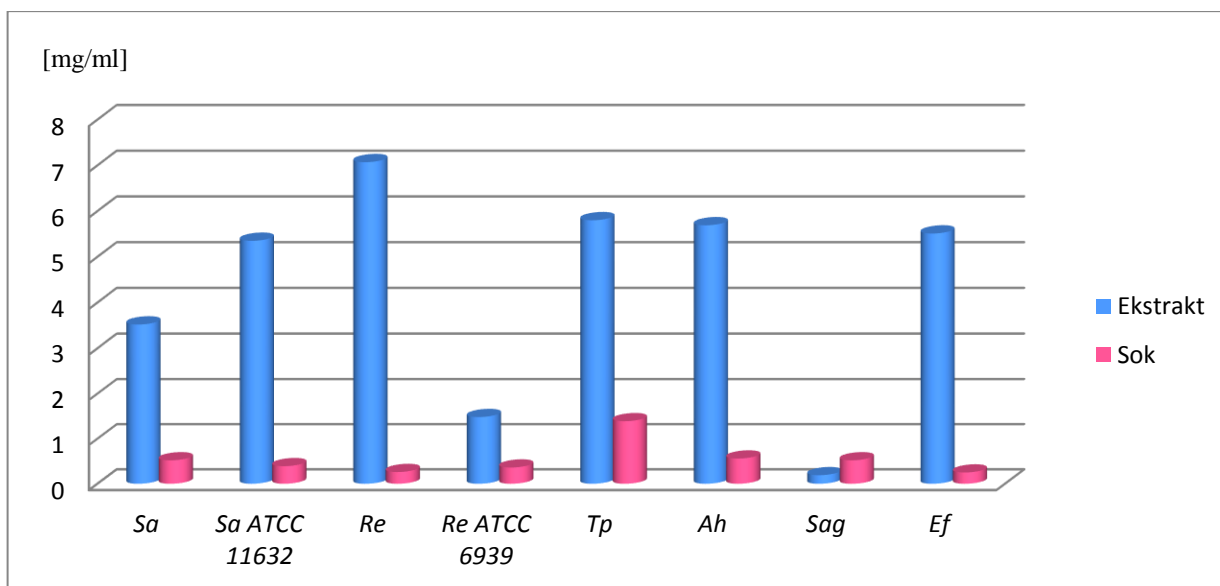
Najmanja i najveća MBC ekstrakta su bile iste kao i koncentracije ekstrakta koje izazivaju Break point efekat (3,85 mg/ml na *Staphylococcus aureus* i 7,11 mg/ml na *Rhodococcus equi*). MBC-e soka su bile u opsegu od 6,05 mg/ml na *Enterococcus faecalis* do 24,33 mg/ml na *Arcanobacterium haemolyticum*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka maline uočena je protiv *Enterococcus faecalis*-a (5,97 mg/ml ekstrakt, 6,05 mg/ml sok), a najveća protiv *Staphylococcus aureus*-a (3,85 mg/ml ekstrakt, 24,06 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka maline protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 23.

Grafik 24. MIC-e 99 ekstrakta i soka maline na testirane gram-pozitivne bakterije



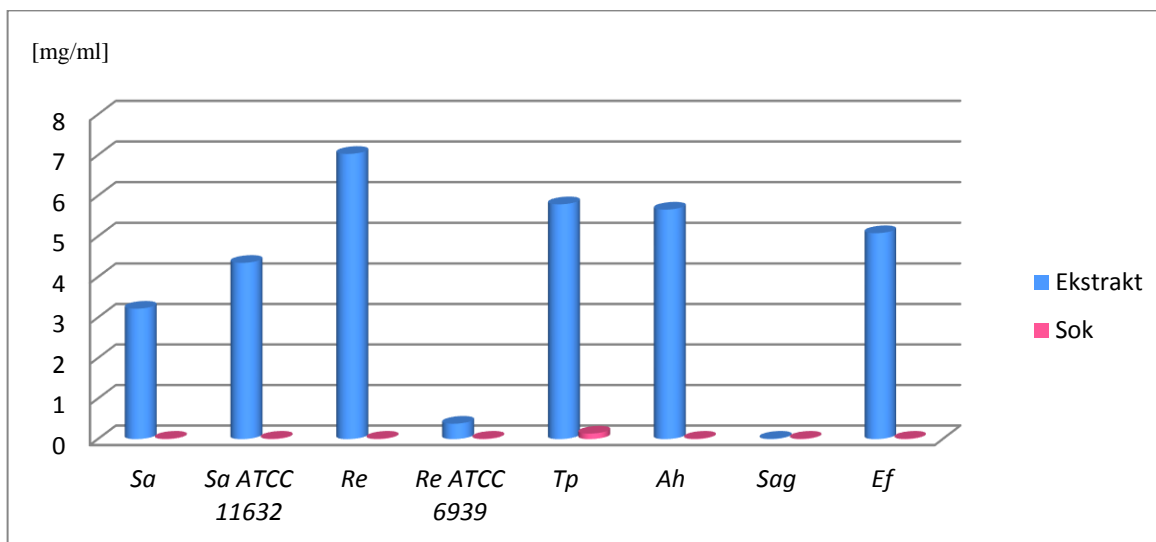
Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Najmanja MIC 99 ekstrakta je bila 3,82 mg/ml (*Staphylococcus aureus*), a najveća 7,1 mg/ml (*Rhodococcus equi*). MIC-e 99 soka su se kretale u opsegu od 4,53 mg/ml na *Enterococcus faecalis* do 17,26 mg/ml na *Arcanobacterium haemolyticum*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka maline uočena je protiv *Enterococcus faecalis*-a (5,92 mg/ml ekstrakt, 4,53 mg/ml sok), a najveća protiv *Staphylococcus aureus*-a (3,82 mg/ml ekstrakt, 16,97 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka maline protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 24.

Grafik 25. MIC-e 90 ekstrakta i soka maline na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Najmanja MIC 90 ekstrakta maline je bila 0,19 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 7,07 mg/ml (*Rhodococcus equi*). MIC-e 90 soka su bile u opsegu od 0,25 mg/ml na *Enterococcus faecalis* do 1,39 mg/ml na *Trueperella-u pyogenes*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Streptococcus-a agalactiae* (0,19 mg/ml ekstrakt, 0,52 mg/ml sok), a najveća protiv *Rhodococcus-a equi* (7,07 mg/ml ekstrakt, 0,26 mg/ml sok). MIC-e 90 ekstrakta i soka maline protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 25.

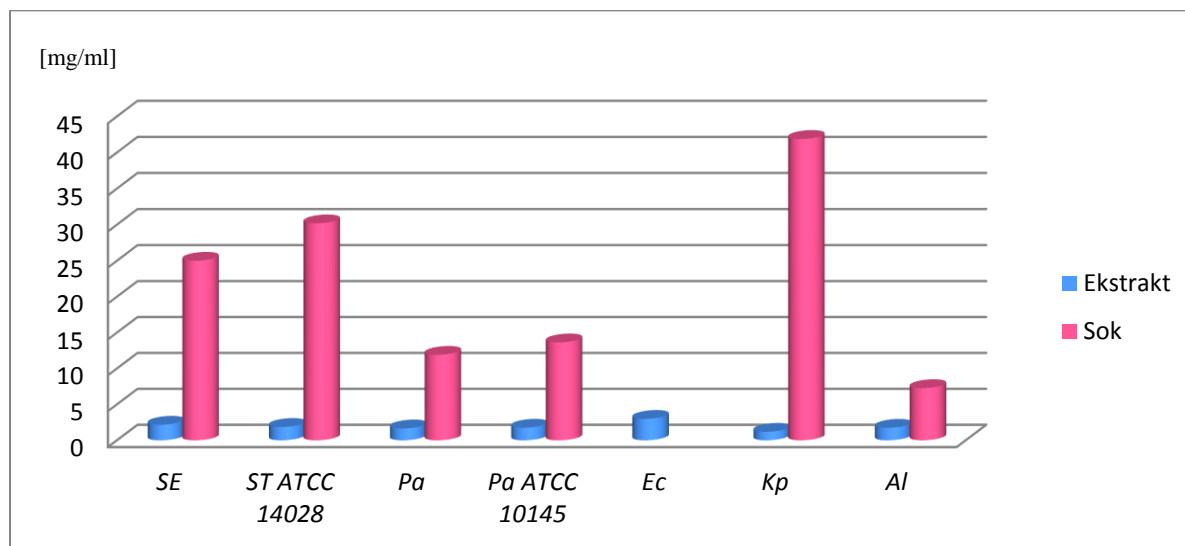
Grafik 26. MIC-e 80 ekstrakta i soka maline na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-Staphylococcus aureus, *Sa* ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, *Re-Rhodococcus equi*, *Re* ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Najmanja MIC 80 ekstrakta je bila 0,009 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 7,03 mg/ml (*Rhodococcus equi*). Sve MIC-e 80 soka su iznosile 0,01 mg/ml, osim na *Trueperella*-u *pyogenes* na koju je iznosila 0,14 mg/ml. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939 (0,009 mg/ml ekstrakt, 0,01 mg/ml sok), a najveća protiv *Rhodococcus*-a *equi* (7,03 mg/ml ekstrakt, 0,01 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka maline protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 26.

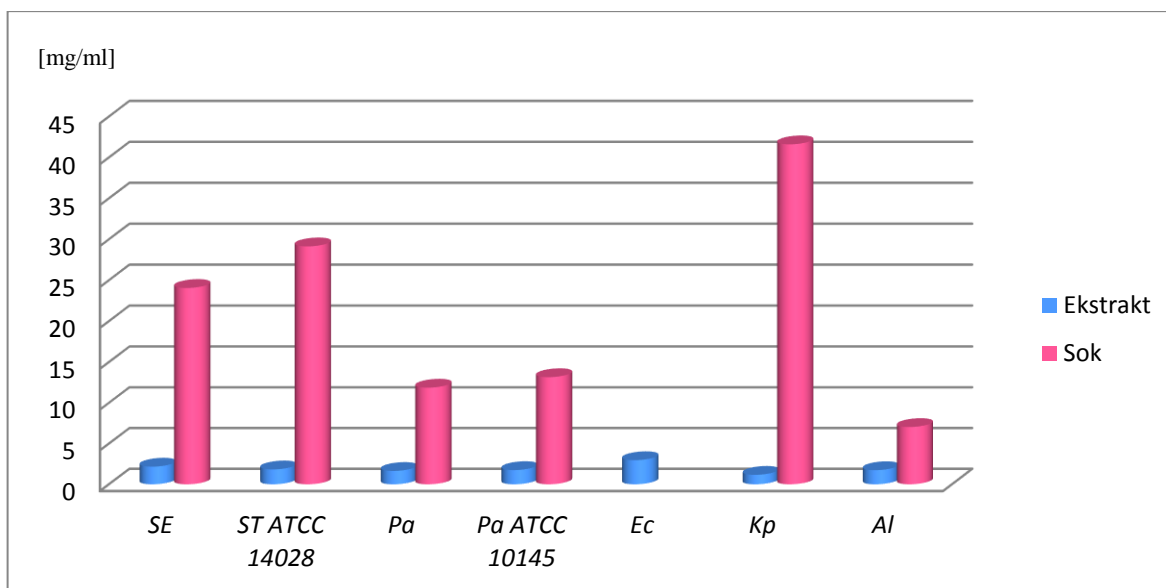
Gram negativne bakterije su bile senzitivnije na ekstrakt, osim MIC 80 i 90 na *Acinetobacter lwoffii*, *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145 i *Salmonella*-u Enteritidis, kao i MIC-e 80 na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028, gde je sok ispoljio jače dejstvo. Pri ispitivanju dilucionom metodom sok nije ispoljio antibakterijsko dejstvo na *Escherichia*-u *coli*.

Grafik 27. Break point koncentracije ekstrakta i soka maline na testirane gram-negativne bakterije



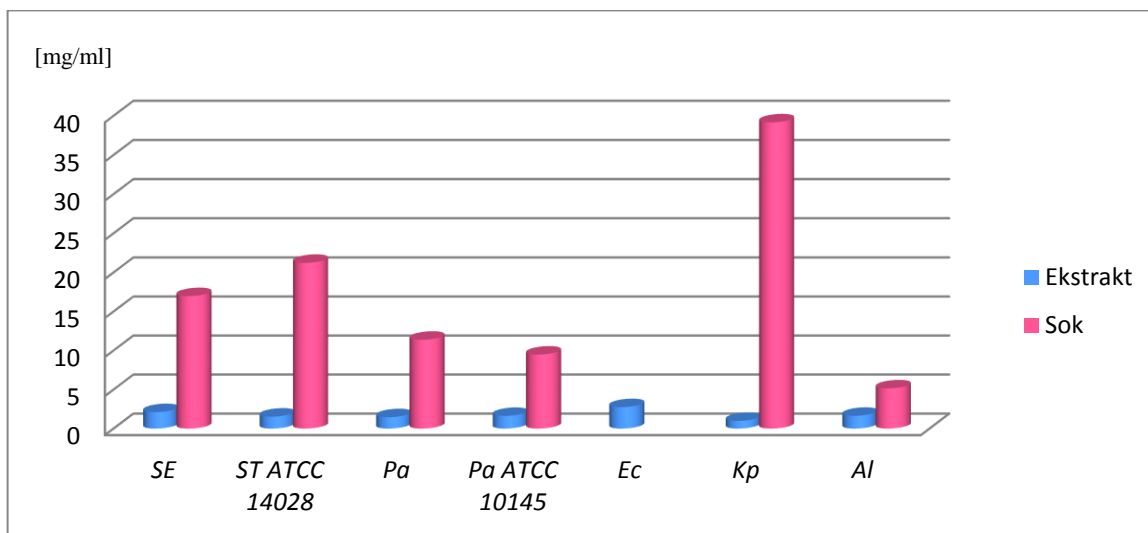
SE-*Salmonella* Enteritidis, ST ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, Pa ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, Ec-*Escherichia coli*, Kp-*Klebsiella pneumoniae*, Al-*Acinetobacter lwoffii*

Ekstrakt je Break point efekat izazvao u rasponu koncentracija od 1,18 mg/ml na *Klebsiella*-u *pneumoniae* do 2,99 mg/ml na *Escherichia*-u *coli*. Sok je Break point izazvao u najmanjoj koncentraciji 7,27 mg/ml na *Acinetobacter lwoffii*, a u najvećoj 41,88 mg/ml na *Klebsiella*-u *pneumoniae*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Acinetobacter*-a *lwoffii* (1,74 mg/ml ekstrakt, 7,27 mg/ml sok), a najveća protiv *Klebsiella*-e *pneumoniae* (1,18 mg/ml ekstrakt, 41,88 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka maline protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 27.

Grafik 28. MBC-e ekstrakta i soka maline na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

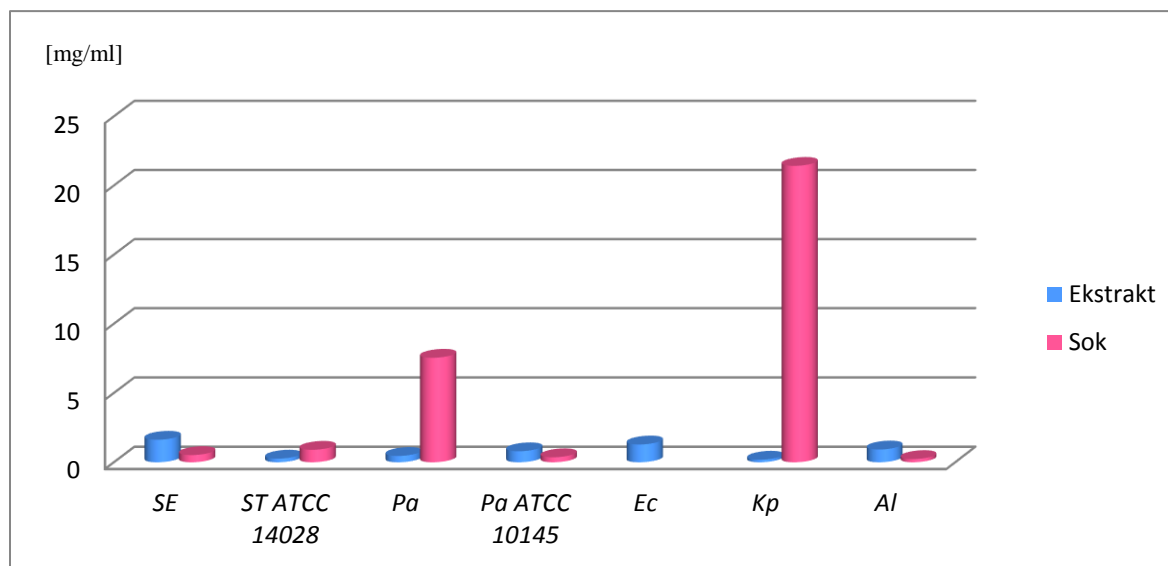
Najmanja MBC ekstrakta je bila 1,16 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*), a najveća 2,96 mg/ml (*Escherichia coli*). MBC-e soka su bile u opsegu od 7,03 mg/ml na *Acinetobacter lwoffii* do 41,6 mg/ml na *Klebsiella-u pneumoniae*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Acinetobacter-a lwoffii* (1,73 mg/ml ekstrakt, 7,03 mg/ml sok), a najveća protiv *Klebsiella-e pneumoniae* (1,16mg/ml ekstrakt, 41,6 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka maline protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 28.

Grafik 29. MIC-e 99 ekstrakta i soka maline na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

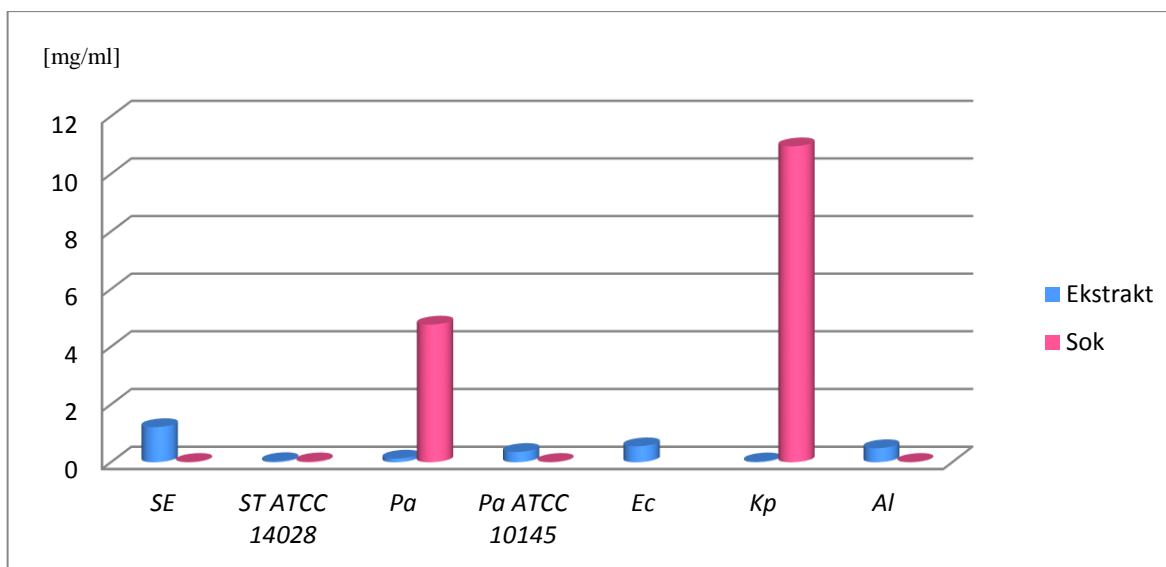
Najmanja MIC 99 ekstrakta je bila 0,98 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*), a najveća 2,74 mg/ml (*Escherichia coli*). MIC-e 99 soka su bile u opsegu od 5,15 mg/ml na *Acinetobacter lwoffii* do 39,16 mg/ml na *Klebsiella-u pneumoniae*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Acinetobacter-a lwoffii* (1,64 mg/ml ekstrakt, 5,15 mg/ml sok), a najveća protiv *Klebsiella-e pneumoniae* (0,98 mg/ml ekstrakt, 39,16 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka maline protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 29.

Grafik 30. MIC-e 90 ekstrakta i soka maline na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja MIC 90 ekstrakta je bila 0,18 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*), a najveća 1,62 mg/ml (*Salmonella Enteritidis*). MIC-e 90 soka su bile u opsegu od 0,23 mg/ml na *Acinetobacter lwoffii* do 7,54 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa-u*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Pseudomonas aeruginosa-e* ATCC 10145 (0,74 mg/ml ekstrakt, 0,36 mg/ml sok), a najveća protiv *Salmonella-e* Enteritidis (1,62 mg/ml ekstrakt, 0,52 mg/ml sok). MIC-e 90 ekstrakta i soka maline protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 30.

Grafik 31. MIC-e 80 ekstrakta i soka maline na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja MIC 80 ekstrakta je bila 0,03 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*), a najveća 1,22 mg/ml (*Salmonella* Enteritidis). MIC-e 80 soka su bile u opsegu od 0,01 mg/ml na: *Salmonella*-u Enteritidis, *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145 i *Acinetobacter lwoffii* do 10,96 mg/ml na *Klebsiella*-u *pneumoniae*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028 (0,04 mg/ml ekstrakt, 0,03 mg/ml sok), a najveća protiv *Klebsiella*-e *pneumoniae* (0,03 mg/ml ekstrakt, 10,96 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka maline protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 31.

U studiji izvedenoj od strane Četojević-Simin i sar. je ispitivana antimikrobna aktivnost metanolnog ekstrakta maline sorte Meeker, koja je takođe korištena i u ovom istraživanju. Rezultati su izraženi u vidu MIC i MBC vrednosti, koje iznose: 0,29 i 0,39 mg/ml na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632, 0,29 i 0,39 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa*-u, 0,29 i 0,39 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 27853, 0,59 i 0,78 mg/ml na *Escherichia*-u *coli*, 0,39 i 0,78 mg/ml na *Salmonella*-u *sp.* i 0,39 i 0,78 mg/ml na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028, respektivno (27). Istraživanje u okviru ove disertacije je sprovedeno na nekoliko istih i sličnih bakterija, pri čemu su rezultati za MIC 90 i MBC iznosili: 5,35 i 6,62 mg/ml na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632, 0,46 i 1,64 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa*-u, 0,79 i 1,74 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145, 1,28 i 2,96 mg/ml na *Escherichia*-u *coli*, 1,62 i 2,16 mg/ml na *Salmonella*-u Enteritidis i 0,26 mg/ml i 1,83 mg/ml na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028. Efektivne koncentracije ekstrakta ovog istraživanja su za sve bakterije bile više od rezultata navedenih autora, osim MIC-e 90 na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028. Razlike u rezultatima se mogu

tumačiti drugačijim načinom ekstrakcije plodova, eksperimentalnom tehnikom i načinom računanja rezultata. Antibakterijski efekat soka, vodenog i metanolnog ekstrakta maline su ispitivali Krisch i sar. Dokazali su da je najjače dejstvo protiv *Escherichia-e coli* ispoljio sok, nešto slabije metanolni ekstrakt, a da je najslabije delovao vodeni ekstrakt (171). Upravo suprotno pokazuju rezultati ove disertacije na istu bakterijsku vrstu, jer sok nije delovao, a ekstrakt jeste protiv ispitivanog soja *Escherichia-e coli*. Razlika u rezultatima se mogu tumačiti činjenicom da su korišteni autohtoni izolati, koji se razlikuju po osteljivosti kako među sobom tako i u odnosu na referentni izolat *Salmonella-u Typhimurium ATCC 14028*. Takođe, na aktivnost može uticati i način obrade, razlike u sredstvu za ekstrakciju, kao i eventualne razlike u hemijskom sastavu biljaka, koje su sakupljene u različitim vremenima na različitim teritorijama. U drugoj studiji Krish i sar. je dokazano da metanolni ekstrakt maline umanjuje rast *Salmonella-e Typhimurium* i *Escherichia-e coli* za više od 50%, a da vodeni ekstrakt umanjuje rast istih bakterija za manje od 25% (174). Ovakvi rezultati odgovaraju nalazima dobijenim u okviru ove disertacije, koji pokazuju veću aktivnost ekstrakta u odnosu na sok protiv *Salmonella-e Typhimurium ATCC 14028* i *Escherichia-e coli*. Za razliku od prethodno navedenih studija, Vulić i sar. su ispitivali antibakterijsko dejstvo metanolnog ekstrakta zamrznutih malina. Rezultate su izrazili kao MIC i MBC vrednosti: 4,7 i 6,3 mg/ml na *Staphylococcus aureus ATCC 11632*, 25 i 37,5 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa-u*, 50 i 62,5 mg/ml na *Escherichia-u coli ATCC 25922*, obe koncentracije >50 mg/ml *Escherichia-u coli*, 50 i 62,5 mg/ml na *Salmonella-u sp.* i 50 i 62,5 mg/ml na *Salmonella-u Typhimurium ATCC 14028*, respektivno (28). MIC 90 i MBC ekstrakta ove disertacije na *Staphylococcus aureus ATCC 11632* su bile slične rezultatima istraživanja Vulića i sar. i iznosile su 5,35 i 6,62 mg/ml. Rezultati ispitivanja sprovedenog na ostale bakterije su bili niži i iznosili: 0,46 i 1,64 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa-u*, 0,79 i 1,74 mg/ml na *Pseudomonas aeruginosa-u ATCC 10145*, 1,28 i 2,96 mg/ml na *Escherichia-u coli* i 1,62 i 2,16 mg/ml na *Salmonella-u Enteritidis*. Najverovatnije je proces zamrzavanja malina, pored ostalih uzroka (drugačijih načina ekstrakcija, osetljivosti sojeva, računanja i tumačenja rezultata), uzrokovao razlike u rezultatima. Puupponen-Pimia i sar. su takođe ispitivali antibakterijsku aktivnost zamrznutih plodova maline i fenolnog ekstrakta maline. Dejstvo protiv *Salmonella-e Typhimurium E-981151* i *Staphylococcus aureus-a E-70045* su dokazali u koncentracijama 2 mg/ml liofilizata i 1 mg/ml ekstrakta (166). Etanolni ekstrakt ispitivan u okviru ove disertacije je na *Staphylococcus aureus-a ATCC 11632* delovao slabije od liofilizata i ekstrakta (6,63 i 6,49 mg/ml), a na *Salmonella-u Typhimurium E-981151* jače od liofilizata (0,04 mg/ml), a slabije od ekstrakta (1,86 mg/ml) pri odgovarajućim efektima. Razlike u rezultatima najverovatnije potiču od razlika u načinu pripreme uzoraka, kao i od nejednake osteljivosti različitih referentnih sojeva na supstance prisutne u ekstraktu maline. Puupponen-Pimia i sar. su takođe ispitivali i antibakterijsko dejstvo acetonskog ekstrakta maline, koji je pri koncentraciji 1 mg/ml pokazao inhibiciju *Escherichia-e coli* 50 i *Enterococcus-a faecalis E-203* i veoma snažnu inhibiciju *Escherichia-e coli CM 871* (13). U okviru ove disertacije je takođe dokazano dejstvo ekstrakta protiv *Enterococcus-a faecalis* i

Escherichia-e coli. Koncentracije etanolnog ekstrakta potrebne za dejstvo protiv *Enterococcus-a faecalis* su bile veće oko 5 puta u odnosu na koncentraciju ispitivanu od strane navedenih autora. Nasuprot tome, opseg koncentracija u kojima je dokazana antibakterijska aktivnost etanolnog ekstrakta na *Escherichia-u coli* iznosi 0,55-2,98 mg/ml, što odgovara 1 mg/ml koji su dokazali Puupponen-Pimie i sar. Ovako bliski rezultati su iznenađujući, jer su sprovedeni različiti načini ekstrakcije, testirani sojevi različite osetljivosti i rezultati tumačeni na drugačije načine.

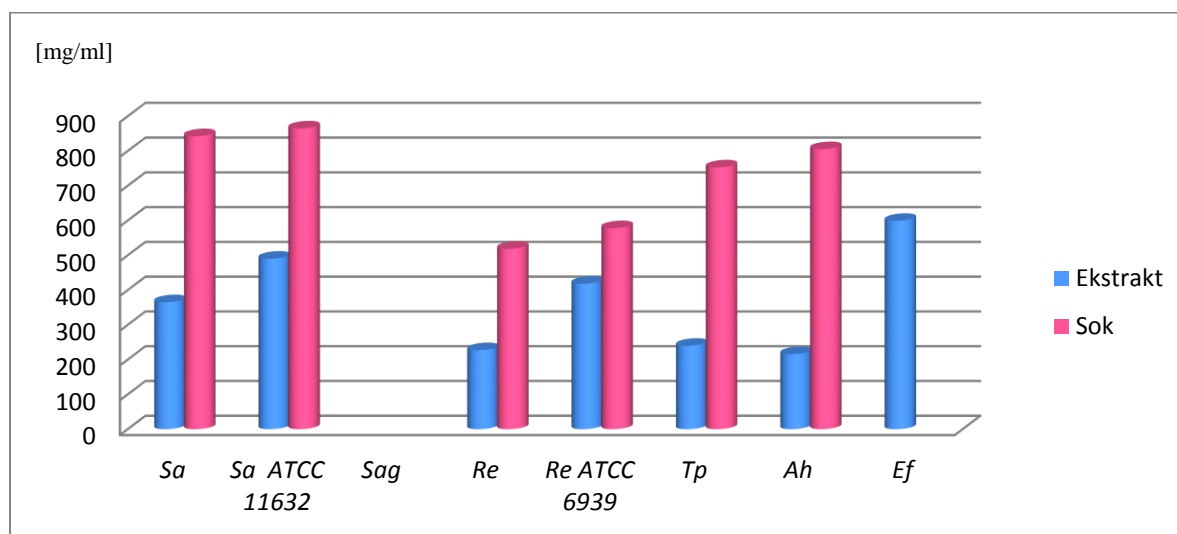
Trešnja

Rezultati dobijeni difuzionom metodom pokazuju da je ekstrakt delovao na sve bakterije u manjim koncentracijama u odnosu na sok. Isto je uočeno i pri dilucionoj metodi, osim na *Rhodococcus equi* (Break point i MBC) i *Trueperella-u pyogenes* (Break point, MBC i MIC 99) kod kojih je sok jače reagovao, kao i MIC-e 80 *Staphylococcus aureus-a* i *Streptococcus-a agalactiae* koje su bile jednake za ekstrakt i za sok. Prethodno utvrđen hemijski sastav pokazuje da je većina ispitivanih supstanci bila prisutna u većim količinama u soku u odnosu na ekstrakt. Stoga, je verovatno da su supstance prisutne u većoj količini u ekstraktu antibakterijski potentnije. Izostanak dejstva i ekstrakta i soka na *Streptococcus agalactiae* dokazan je difuzionom metodom, dok je dilucionom metodom dokazano dejstvo trešnje na ovu bakteriju (6,26 i 25,14 mg/ml Break point ekstrakta i soka). Sok takođe nije delovao na: *Enterococcus faecalis*, *Salmonella-u Typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella-u pneumoniae* i *Acinetobacter lwoffii* pri ispitivanju difuzionom metodom, a na *Pseudomonas aeruginosa-u* i *Pseudomonas aeruginosa-u* ATCC 10146 pri ispitivanju dilucionom metodom. Break point vrednosti soka dobijene dilucionom metodom na: *Enterococcus faecalis*, *Salmonella-u Typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella-u pneumoniae* i *Acinetobacter lwoffii* su iznosile 27,98, 112,82, 60,75 i 111,74 mg/ml, respektivno. MIC-e 80 soka na *Pseudomonas aeruginosa-u* i *Pseudomonas aeruginosa-u* ATCC 10146 pri ispitivanju difuzionom metodom su iznosile 647,93 i 822,39 mg/ml, respektivno. Dokazani rezultati se mogu objasniti razlikama u načinima izvođenja ispitivanja. Najjače dejstvo ekstrakta utvrđeno difuzionom metodom je dokazano protiv *Arcanobacterium haemolyticum-a* (MIC 80 215,6 mg/ml), a dilucionom protiv *Streptococcus-a agalactiae* (Break point 6,26 mg/ml). Nasuprot tome, najslabije dejstvo ekstrakta utvrđeno difuzionom metodom je dokazano protiv *Klebsiella-e pneumoniae* (MIC 80 603,45 mg/ml), a dilucionom protiv *Trueperella-e pyogenes* (Break point 32,57 mg/ml). Najjače dejstvo soka utvrđeno difuzionom metodom je dokazano protiv *Rhodococcus-a equi* (MIC 80 518,56 mg/ml), a dilucionom protiv *Rhodococcus-a equi* ATCC 6939 (Break point 20,16 mg/ml). Najslabije dejstvo soka utvrđeno difuzionom metodom je dokazano protiv *Klebsiella-e pneumoniae* (MIC 80 603,45 mg/ml), a dilucionom protiv *Salmonella-e Typhimurium* ATCC 14028 (Break point 112,82 mg/ml).

Difuziona

Gram pozitivne bakterije su bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta u odnosu na dejstvo soka. Najmanja MIC 80 ekstrakta je iznosila 215,6 mg/ml (*Arcanobacterium haemolyticum*), a najveća 599 mg/ml (*Enterococcus faecalis*).

Grafik 32. Dejstvo ekstrakta i soka trešnje protiv gram-pozitivnih bakterija ispitivano difuzionom metodom

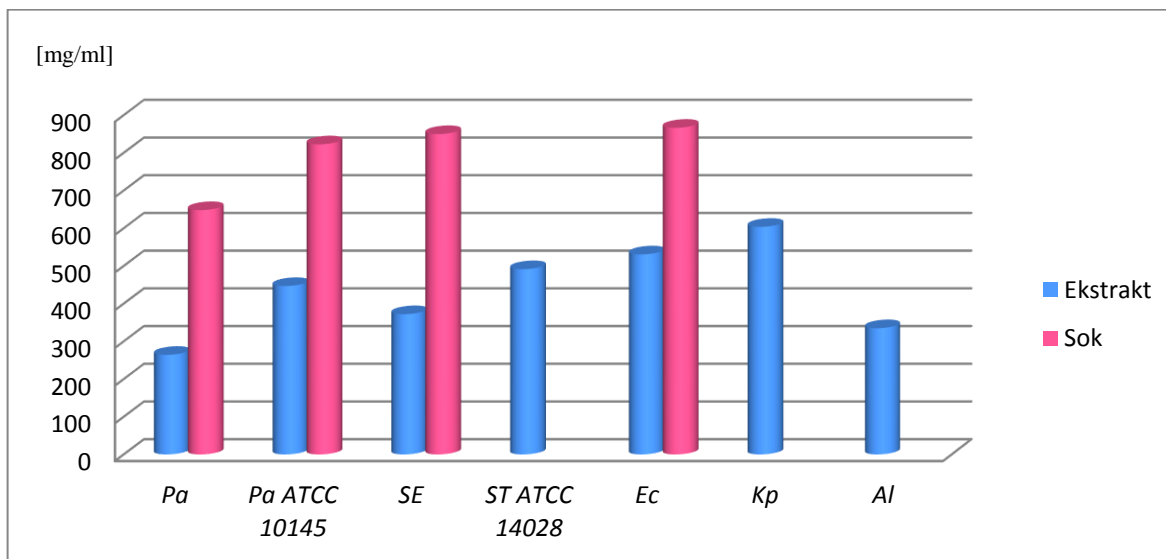


Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Ef-*Enterococcus faecalis*

MIC-e 80 soka se bile u opsegu od 518,56 mg/ml na *Rhodococcus equi* do 864,91 mg/ml na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632. Najmanja razlika u MIC-ama 80 ekstrakta i soka uočena je na *Rhodococcus equi* ATCC 6939 (418,3 mg/ml ekstrakt, 13,6 mg/ml sok), a najveća na *Arcanobacterium haemolyticum* (215,6 mg/ml ekstrakt, 805,38 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 32.

Gram negativne bakterije su bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta u odnosu na dejstvo soka. Najmanja Break point koncentracija ekstrakta je iznosila 6,26 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 24,99 mg/ml (*Enterococcus faecalis*).

Grafik 33. Dejstvo ekstrakta i soka trešnje protiv gram-negativnih bakterija ispitivano difuzionom metodom



Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, *Pa* ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *SE*-*Salmonella* Enteritidis, *ST* ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Ec*-*Escherichia coli*, *Kp*-*Klebsiella pneumoniae*, *Al*-*Acinetobacter lwoffii*

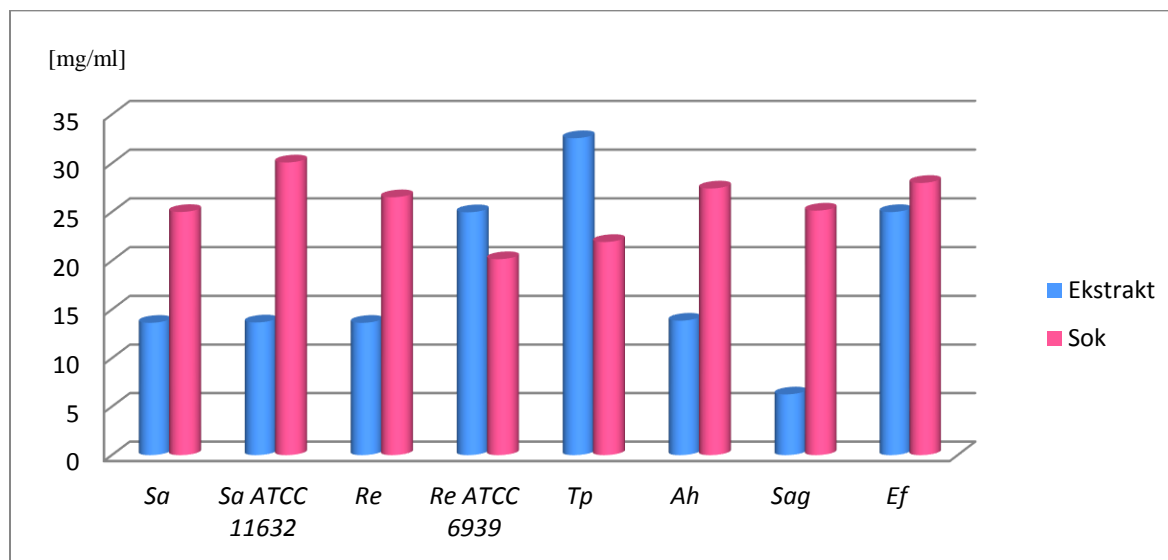
MBC-e soka su bile u opsegu od 20,16 mg/ml na *Rhodococcus equi* ATCC 6939 do 30,08 mg/ml na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Escherichia-e coli* (530,45 mg/ml ekstrakt, 866,23 mg/ml sok), a najveća protiv *Pseudomonas aeruginosa-e* (264,05 mg/ml ekstrakt, 647,93 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 33.

Hanbali i sar. su opisali snažnu antibakterijsku aktivnost soka, metanolnog ekstrakta soka i metanolnog ekstrakta tropa trešnje na *Enterococcus* grupe D i autohtoni i ESBL soj *Escherichia-e coli*, a slabu na *Streptococcus* grupe B. Neaktivnost vodenog ekstrakta tropa je zabeležena protiv Gram-pozitivnih bakterija, dok je na autohtoni i ESBL soj *Escherichia-e coli* dokazana snažna inhibicija. Rezultati ove disertacije takođe pokazuju dejstvo ekstrakta i soka protiv *Escherichia-e coli*, kao i dejstvo ekstrakta protiv *Enterococcus faecalis-a*. Nasuprot rezultata navedenih autora, u ovoj studiji je uočeno dejstvo izostanak dejstva soka protiv *Enterococcus faecalis-a*, kao i neaktivnost soka i ekstrakta protiv *Streptococcus-a agalactiae*. Metanolni ekstrakt soka je, po Hanbaliju i sar., ispoljio i slabu atenuaciju na *Klebsiella-u pneumoniae* (175). Sok ispitivan u okviru ove disertacije nije ispoljio dejstvo na *Klebsiella-u pneumoniae*, dok ekstrakt jeste. Razlike u rezultatima, najverovatnije u najvećoj meri potiču od različitih načina ekstrakcije, izvođenja eksperimenta, kao i razlika u osetljivosti ispitivanih sojeva.

Diluciona

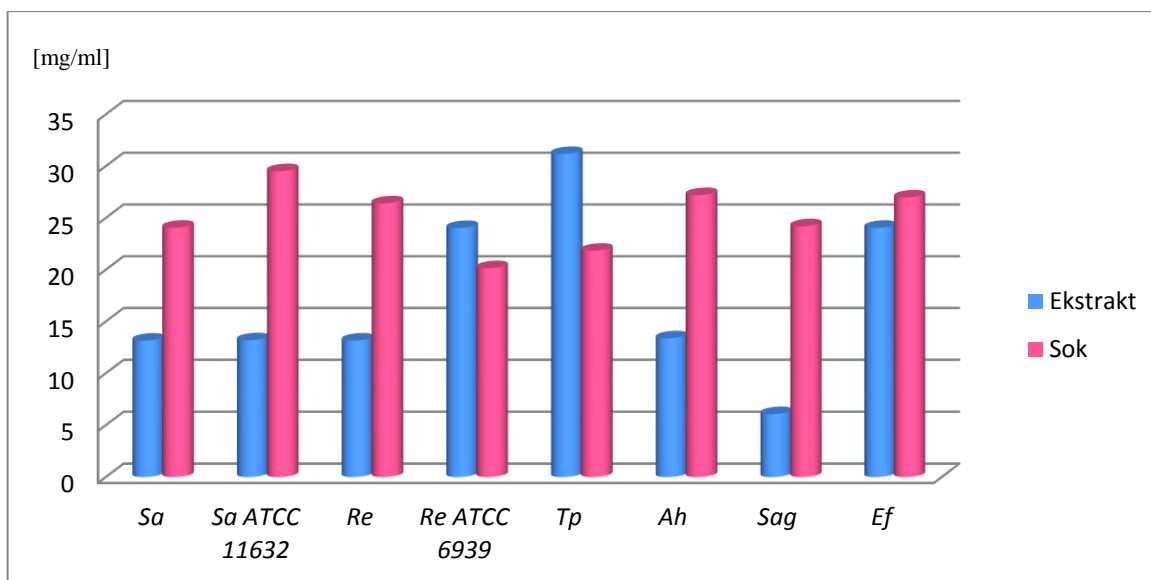
Gram pozitivne bakterije su, pri poređenju Break point koncentracija, bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta, osim *Rhodococcus-a equi* ATCC 6939 i *Arcanobacterium haemolyticum-a*, koji su bili senzitivniji na dejstvo soka. Najmanja koncentracija ekstrakta koja je izazvala Break point je iznosila 6,26 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 24,99 mg/ml (*Enterococcus faecalis*).

Grafik 34. Break point koncentracije ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-pozitivne bakterije



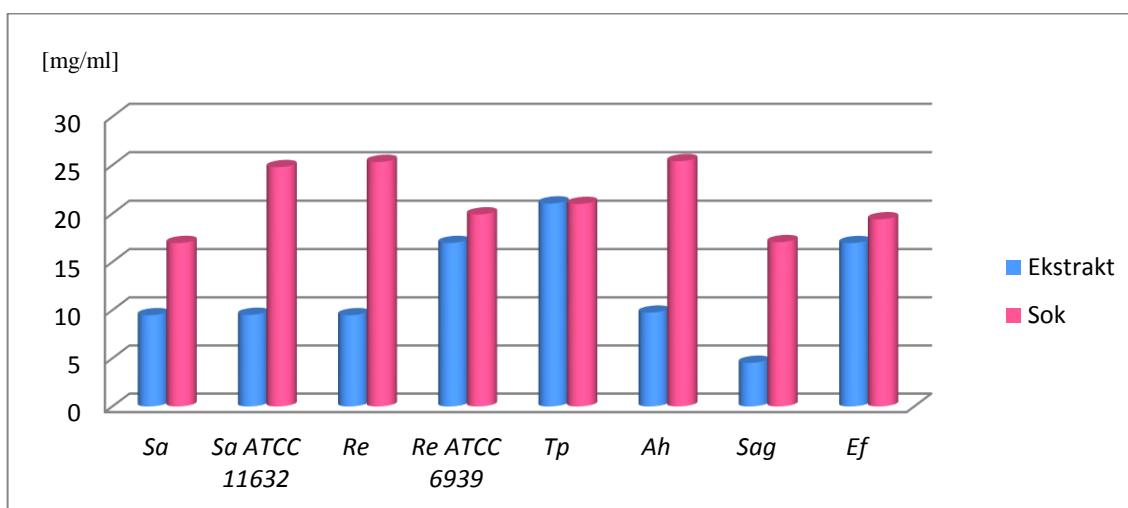
Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Break point koncentracije soka su bile u opsegu od 20,16 mg/ml (*Rhodococcus equi* ATCC 6939) do 30,08 mg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 11632). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena protiv *Enterococcus-a faecalis* (24,99 mg/ml ekstrakt, 27,98 mg/ml sok), a najveća protiv *Streptococcus-a agalactiae* (6,26 mg/ml ekstrakt, 25,14 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 34.

Grafik 35. MBC-e ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

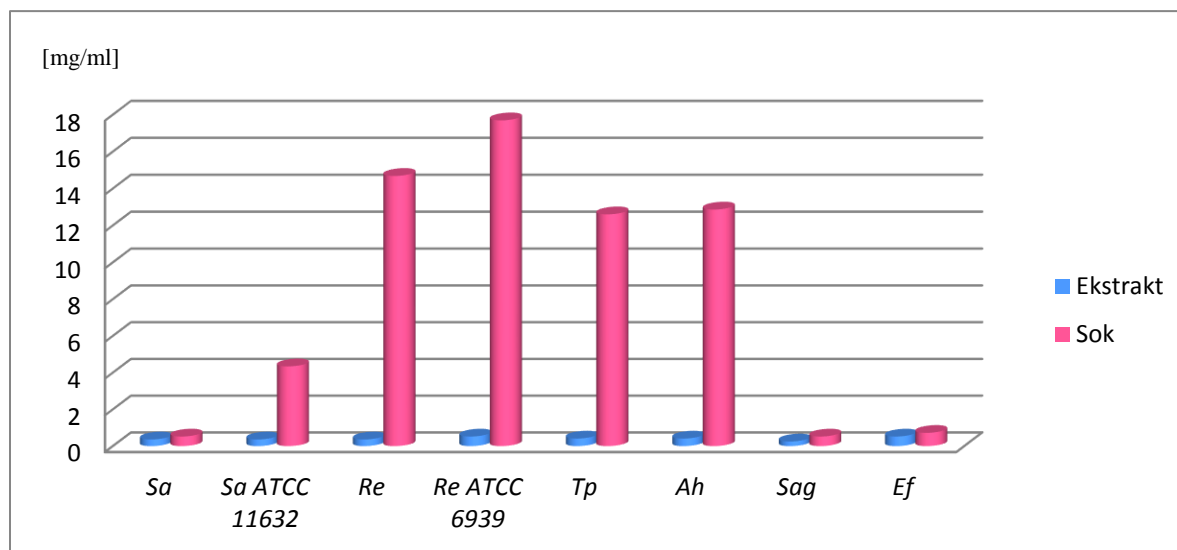
Najmanja MBC ekstrakta je iznosila 6,06 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 24,04 mg/ml (*Enterococcus faecalis*). MBC-e soka su bile u opsegu od 20,14 mg/ml (*Rhodococcus equi ATCC 6939*) do 29,51 mg/ml (*Staphylococcus aureus ATCC 11632*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Enterococcus-a faecalis* (24,04 mg/ml ekstrakt, 26,97 mg/ml sok), a najveća protiv *Streptococcus-a agalactiae* (6,06 mg/ml ekstrakt, 24,19 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 35.

Grafik 36. MIC-e 99 ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

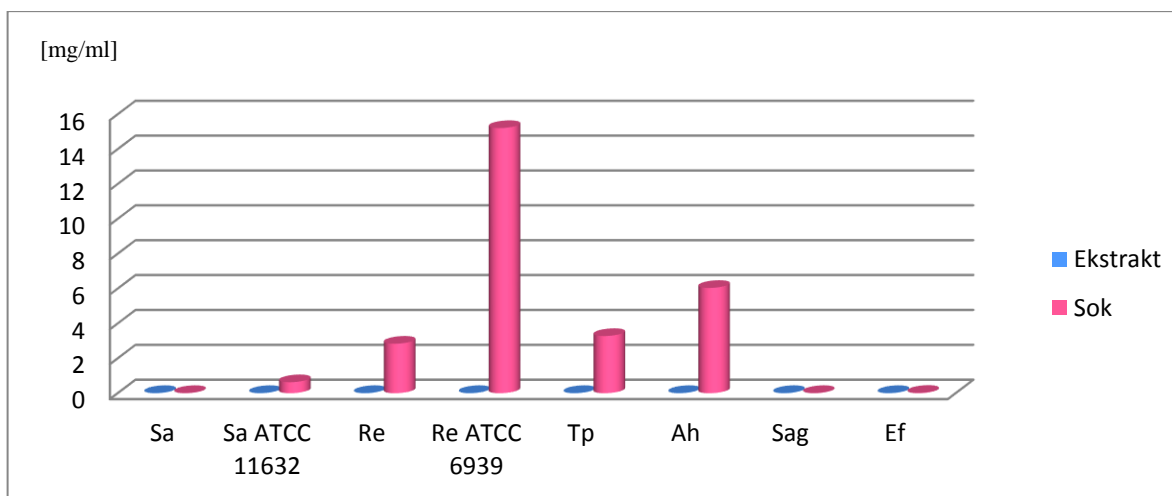
Najmanja MIC 99 ekstrakta je iznosila 4,53 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 16,96 mg/ml (*Rhodococcus equi ATCC 6939*). MIC-e 99 soka su bile u opsegu od 16,96 mg/ml (*Staphylococcus aureus*) do 25,33 mg/ml (*Rhodococcus equi*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena protiv *Trueperella-e pyogenes* (21,04 mg/ml ekstrakt, 20,99 mg/ml sok), a najveća protiv *Streptococcus-a agalactiae* (4,53 mg/ml ekstrakt, 17,05 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 36.

Grafik 37. MIC-e 90 ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

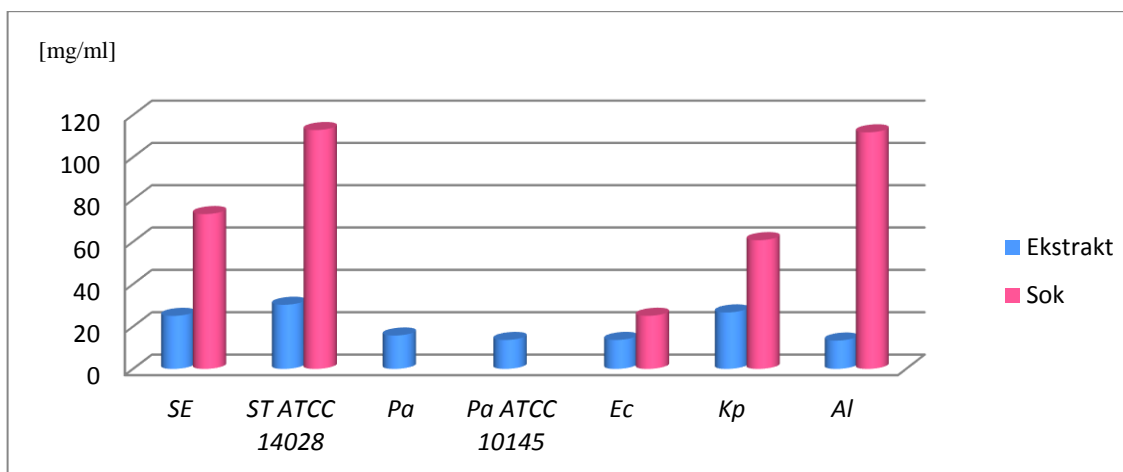
Najmanja MIC 90 ekstrakta je iznosila 0,25 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća je bila jednaka za *Rhodococcus equi ATCC 6939* i *Enterococcus* i iznosila 0,52 mg/ml. MIC-e 90 su takođe bile jednake za *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus ATCC 11632* i *Rhodococcus equi* (0,36 mg/ml), kao i za *Trueperella-u pyogenes* i *Arcanobacterium haemolyticum* (0,41 mg/ml). MIC-e 90 soka su bile u opsegu od 0,52 mg/ml (*Staphylococcus aureus* i *Streptococcus agalactiae*) do 17,69 mg/ml (*Rhodococcus equi ATCC 6939*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Staphylococcus aureus-a* i *Enterococcus-a faecalis* (0,36 i 0,52 mg/ml ekstrakt, 0,52 i 0,72 mg/ml sok, respektivno), a najveća protiv *Rhodococcus-a equi* (0,36 mg/ml ekstrakt, 14,68 mg/ml sok). MIC-e 90 ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 37.

Grafik 38. MIC-e 80 ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Sve MIC-e 80 ekstrakta su iznosile 0,01 mg/ml. Najmanje MIC-e 80 soka su dokazane na *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus agalactiae* i bile su jednake MIC-ama 80 ekstrakta tj. iznosile 0,01 mg/ml. Najveća MIC 80 soka je utvrđena na *Rhodococcus equi* ATCC 6939 (15,21 mg/ml). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Enterococcus-a faecalis* (0,01 mg/ml ekstrakt, 0,02 mg/ml sok), a najveća protiv *Rhodococcus-a equi* ATCC 6939 (0,01 mg/ml ekstrakt, 15,21 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 38.

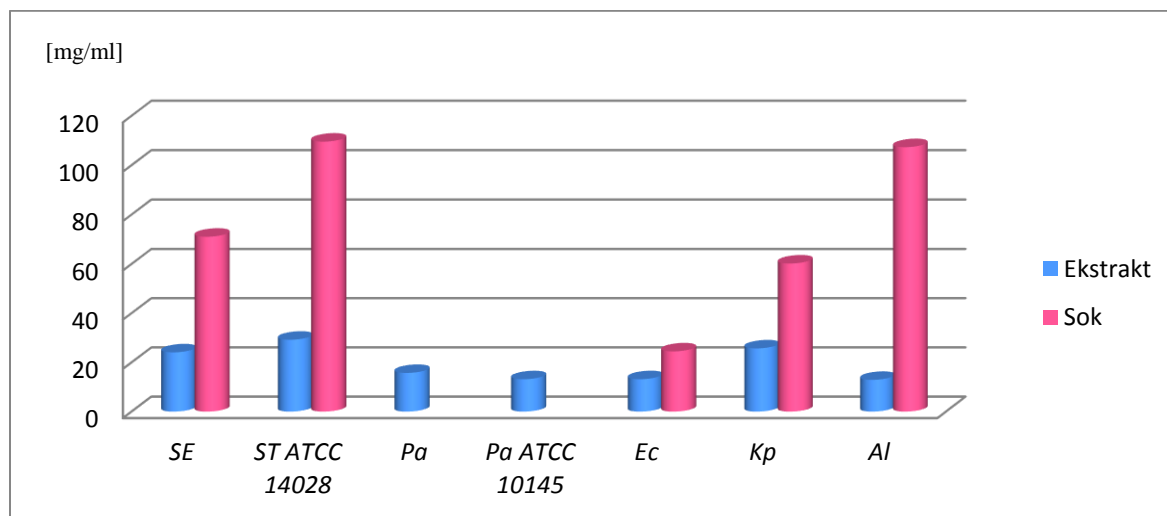
Gram negativne bakterije su bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta u odnosu na dejstvo soka. Ekstrakt je Break point efekat izazvao u rasponu koncentracija od 13,36 mg/ml na *Acinetobacter lwoffii*, do 30,26 mg/ml na *Salmonella-u* Typhimurium ATCC 14028.

Grafik 39. Break point koncentracije ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

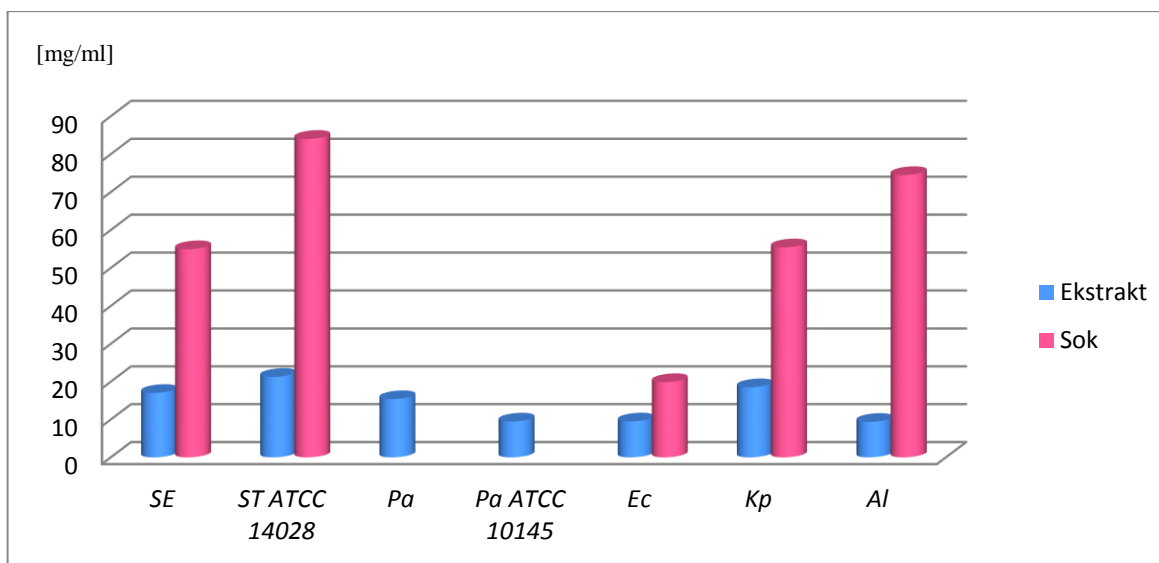
Sok je Break point izazvao u najmanjoj koncentraciji 25,05 mg/ml na *Escherichia-u coli*, a u najvećoj 112,2 mg/ml takođe, kao i ekstrakt, na *Salmonella-u Typhimurium ATCC 14028*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Escherichia-e coli* (13,66 mg/ml ekstrakt, 25,05 mg/ml sok), a najveća protiv *Acinetobacter-a lwoffii* (13,66 mg/ml ekstrakt, 111,74 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 39.

Grafik 40. MBC-e ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-negativne bakterije



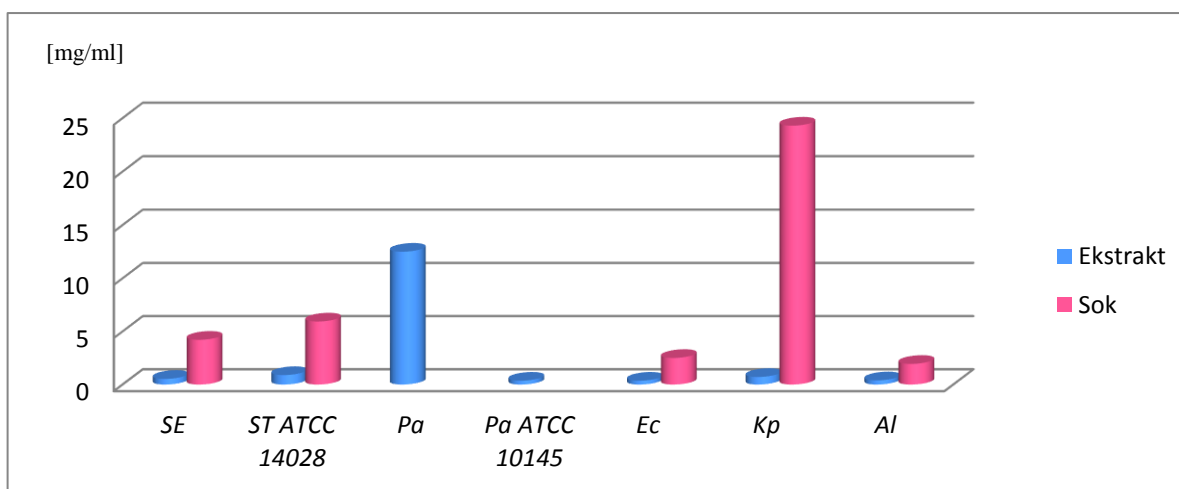
SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja MBC ekstrakta je iznosila 12,9 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*), a najveća 29,21 mg/ml (*Salmonella Typhimurium ATCC 14028*). MBC-e soka su bile u opsegu od 24,47 mg/ml na *Escherichia-u coli* do 109,54 mg/ml takođe kao i ekstrakt, na *Salmonella-u Typhimurium ATCC 14028*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Escherichia-e coli* (13,17 mg/ml ekstrakt, 24,47 mg/ml sok), a najveća protiv *Acinetobacter-a lwoffii* (12,9 mg/ml ekstrakt, 107,3 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 40.

Grafik 41. MIC-e 99 ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

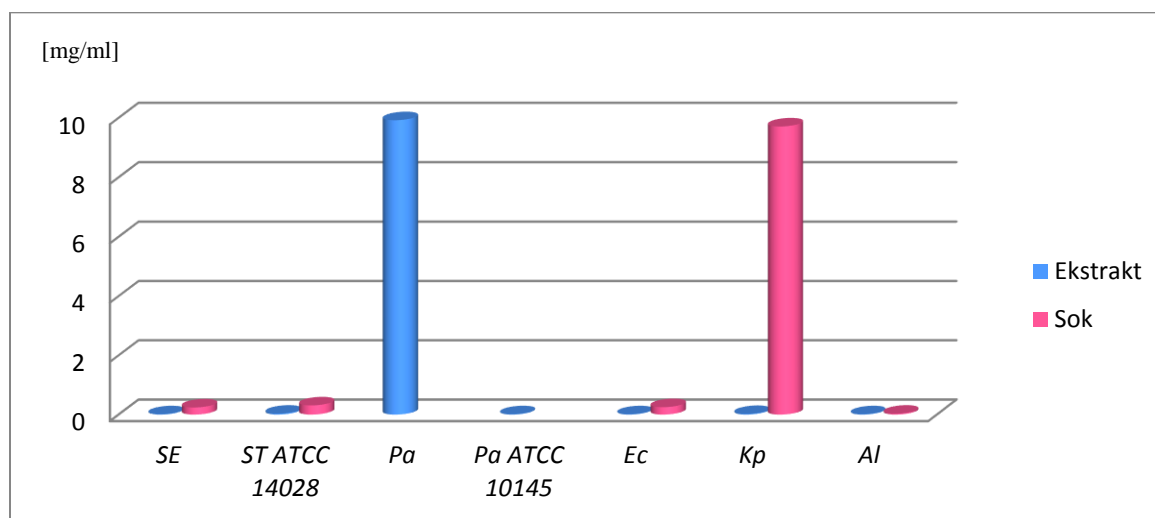
Najmanja MIC 99 ekstrakta je iznosila 9,38 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*), a najveća 21,28 mg/ml (*Salmonella Typhimurium ATCC 14028*). MIC-e 99 soka su bile u opsegu od 19,89 mg/ml na *Escherichia-u coli* do 84,03 mg/ml takođe kao i ekstrakt, na *Salmonella-u Typhimurium ATCC 14028*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Escherichia-e coli* (9,50 mg/ml ekstrakt, 19,89 mg/ml sok), a najveća protiv *Acinetobacter-a lwoffii* (9,38 mg/ml ekstrakt, 74,49 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 41.

Grafik 42. MIC-e 90 ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanje MIC-e 90 ekstrakta su bile jednake za *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145 i *Escherichia coli* i iznosile 0,36 mg/ml, a najveća MIC 90 je utvrđena na *Pseudomonas aeruginosa*-u i iznosila je 12,5 mg/ml. MIC-e 90 soka su bile u opsegu od 1,94 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*) do 24,29 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Acinetobacter-a lwoffii* (0,39 mg/ml ekstrakt, 1,94 mg/ml sok), a najveća protiv *Klebsiella-e pneumoniae* (0,71 mg/ml ekstrakt, 24,29 mg/ml sok). MIC-e 90 ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 42.

Grafik 43. MIC-e 80 ekstrakta i soka trešnje na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja koncentracija ekstrakta trešnje pri kojoj je postignut MIC 80 je iznosila 0,01 mg/ml i bila je jednaka za *Salmonella*-u Entreitidis, *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145 i *Escherichia*-u coli, a najveća je dokazana na *Pseudomonas aeruginosa*-u i iznosila je 9,92 mg/ml. MIC-e 80 soka su bile u opsegu od 0,03 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*) do 9,71 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Acinetobacter-a lwoffii* (0,01 mg/ml ekstrakt, 0,03 mg/ml sok), a najveća protiv *Klebsiella-e pneumoniae* (0,02 mg/ml ekstrakt, 9,71 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka trešnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 43.

Vodeni ekstrakt trešnje je opisan od strane Ahn i sar. kao aktivan protiv *Staphylococcus aureus*-a i *Salmonella*-e Typhimurium u MIC-ama 0,5-1 mg/ml, a kao neaktivan protiv *Pseudomonas aeruginosa*-e. Rezultati ove disertacije za *Staphylococcus aureus* i *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028 su veći (sok 25 mg/ml i 112,8 mg/ml). Međutim, zanimljivo je da ovo istraživanje potvrđuje nalaze Ahn i sar. za *Pseudomonas aeruginosa*-u tj. ni vodeni ekstrakt navedenih autora ni sok ove disertacije nisu pokazali dejstvo protiv *Pseudomonas-a aeruginosa*-e (176). Razlike u efektivnim koncentracijama najverovatnije potiču od razlika u

načinu obrade plodova, senzitivnosti sojeva, načinu izvođenja eksperimenta, kao i tumačenja rezultata. Ordogh i sar. su, pored vodenog ekstrakta, ispitivali i antibakterijsku aktivnost soka i metanolnog ekstrakta trešnje. Ni jedan od ispitivanih uzoraka nije bio aktivan protiv *Staphylococcus aureus*-a (170). Za razliku od nalaza navedenih autora, u okviru ove studije dokazana je antibakterijska aktivnost soka i ekstrakta trešnje na *Staphylococcus aureus*. Mogući uzroci neslaganja rezultata su drugačiji: hemijski sadržaji dva ploda, načini obrade, kao i eksperimentalne metode i tehnike.

Višnja

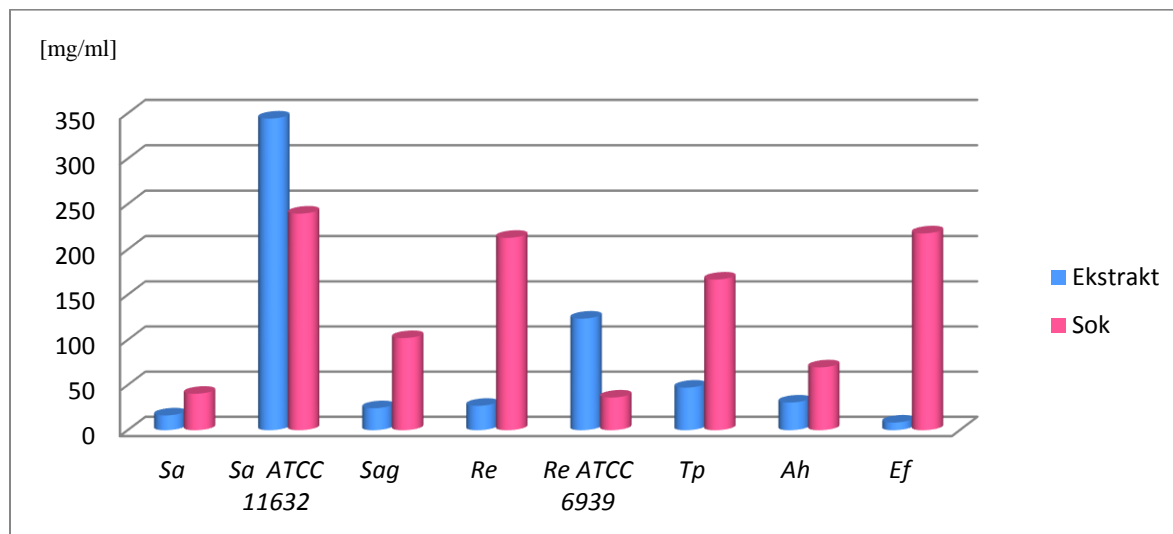
Plodovi višnje su i u obliku soka i ekstrakta pokazali antibakterijsku aktivnost protiv svih ispitivanih vrsta. Rezultati dobijeni difuzionom metodom pokazuju da je ekstrakt delovao na sve bakterije u manjim koncentracijama u odnosu na sok, osim na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 i *Rhodococcus equi* ATCC 6939, na koje je sok ispoljio jače dejstvo. Jače dejstvo ekstrakta višnje je takođe uočeno i pri dilucionoj metodi. Izuzeci su: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 i *Acinetobacter lwoffii*, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 (Break point) i *Pseudomonas aeruginosa* (Break point i MBC). MIC-e soka i ekstrakta višnje na *Pseudomonas aeruginosa*-u su bile jednake.

Najjače dejstvo ekstrakta difuzionom metodom je dokazano protiv *Enterococcus*-a *faecalis* (MIC 80 8,46 mg/ml), a dilucionom protiv *Rhodococcus*-a *equi* (Break point 3,15 mg/ml). Nasuprot tome, najslabije dejstvo ekstrakta difuzionom metodom je dokazano protiv *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632 (MIC 80 344,24 mg/ml), a dilucionom protiv *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028 (Break point 21,13 mg/ml). Najjače dejstvo soka difuzionom metodom je dokazano protiv *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939 (MIC 80 36,16 mg/ml), a dilucionom protiv *Rhodococcus*-a *equi* (Break point 8,09 mg/ml). Najslabije dejstvo soka difuzionom metodom je dokazano protiv *Escherichia*-e *coli* (MIC 80 681,38 mg/ml,) a dilucionom protiv *Enterococcus*-a *faecalis* (Break point 25,91 mg/ml).

Difuziona

Gram pozitivne bakterije su bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta, sa izuzetkom *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632 i *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939, koji su bili senzitivniji na dejstvo soka. Najmanja MIC 80 ekstrakta je iznosila 8,46 mg/ml (*Enterococcus faecalis*), a najveća 344,24 mg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 11632).

Grafik 44. Dejstvo ekstrakta i soka višnje protiv gram-pozitivnih bakterija ispitivano difuzionom metodom

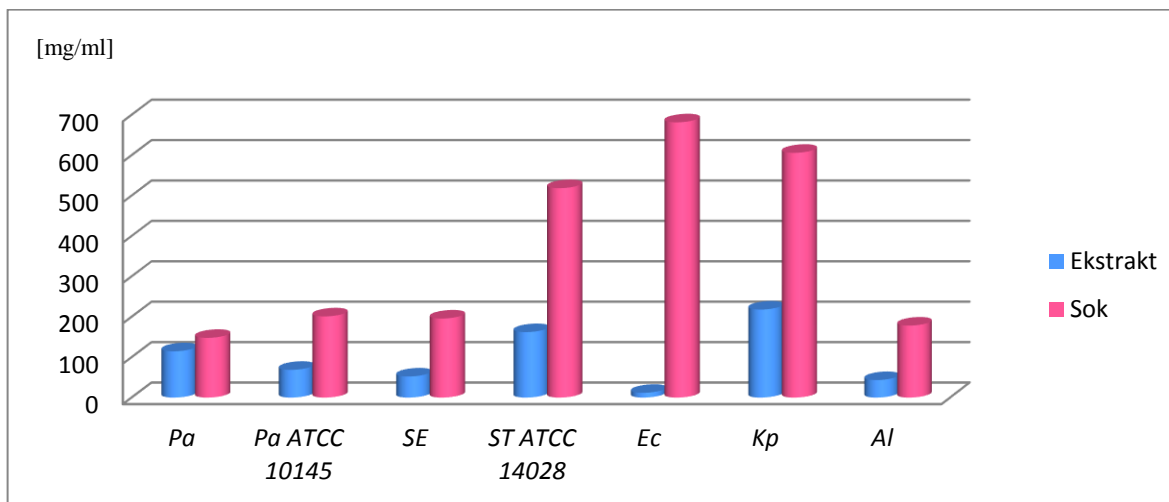


Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Ef-*Enterococcus faecalis*

MIC-e 80 soka su bile u opsegu od 36,16 mg/ml (*Rhodococcus equi* ATCC 6939) do 239,49 mg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 11632). Najmanja razlika u MIC-ama 80 ekstrakta i soka uočena je protiv *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632 (344,24 mg/ml ekstrakt, 239,49 mg/ml sok), a najveća protiv *Enterococcus*-a *faecalis* (8,46 mg/ml ekstrakt, 217,75 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka višnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 44.

Gram negativne bakterije su bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta. Najmanja MIC 80 ekstrakta je bila 11,77 mg/ml (*Escherichia coli*), a najveća 217,91 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*).

Grafik 45. Dejstvo ekstrakta i soka višnje protiv gram-negativnih bakterija ispitivano difuzionom metodom



Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, *Pa* ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *SE*-*Salmonella* Enteritidis, *ST* ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Ec*-*Escherichia coli*, *Kp*-*Klebsiella pneumoniae*, *Al*-*Acinetobacter lwoffii*

MIC-e 80 soka su bile u opsegu od 147,82 mg/ml (*Pseudomonas aeruginosa*) do 681,38 mg/ml (*Escherichia coli*). Najmanja razlika u MIC-ama 80 ekstrakta i soka uočena je protiv *Pseudomonas aeruginosa*-e (114,53 mg/ml ekstrakt, 147,82 mg/ml sok), a najveća protiv *Escherichia*-e *coli* (11,77 mg/ml ekstrakt, 681,38 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka višnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 45.

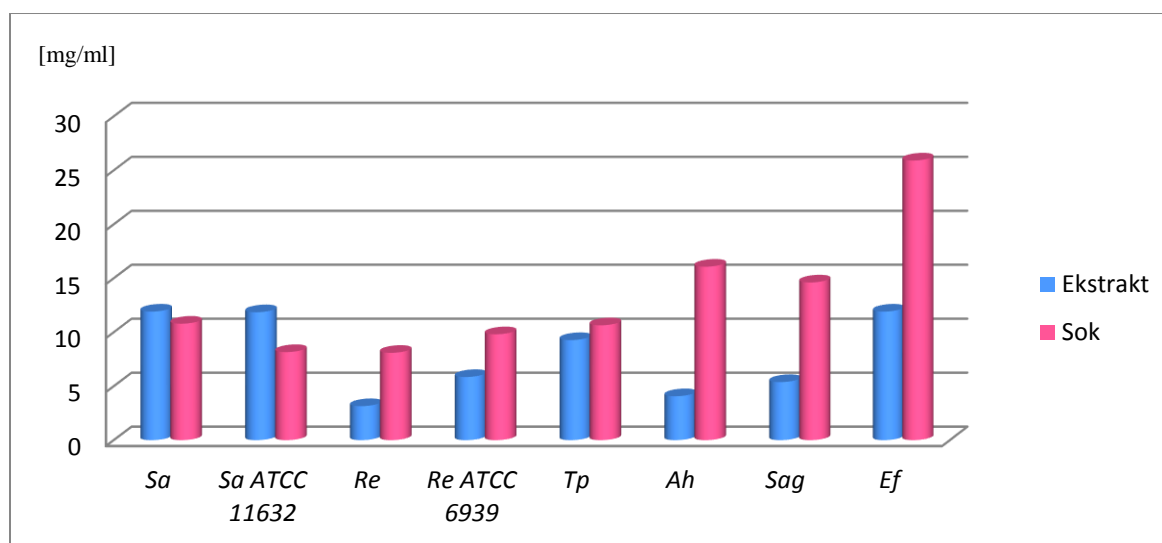
Liegiūtē i sar. su dokazali antibakterijku aktivnost metanolnog ekstrakta višnje na *Staphylococcus aureus*-a ATCC 25923 i *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 9027, kao i izostanak aktivnosti na *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia*-u *coli* ATCC 25922 i *Salmonella*-u Enteritidis ATCC 13076 (177). U skladu sa rezultatima Liegiūtē i sar. su rezultati ovog istraživanja koji dokazuju dejstvo etanolnog ekstrakta višnje protiv *Staphylococcus aureus*-a ATCC 25923 i *Pseudomonas aeruginosa*-e ATCC 10145. Međutim, za razliku od nalaza navedenih autora, ekstrakt višnje je u okviru ove studije pokazao dejstvo protiv: *Enterococcus*-a *faecalis*, *Escherichia*-e *coli* i *Salmonella*-e Enteritidis. Drugačija senzitivnost sojeva je najverovatnije uzrok razlika u rezultatima, jer su u studiji Liegiūtē i sar. korišteni referentni sojevi, a u istraživanju sprovedenom u okviru ove disertacije autohtoni sojevi. Za razliku od prethodnih, Havesi i sar. su dokazali dejstvo soka višnje protiv bakterija iz humane salive (*Escherichia*-e *coli*, *Klebsiella*-e *pneumoniae* ssp. *pneumoniae* 132, *Klebsiella*-e *pneumoniae* ssp. *pneumoniae* B 01686 i *Pseudomonas aeruginosa*-e B 011687), kao i izostanak dejstva na *Staphylococcus aureus* B 01065. U skladu sa nalazima Havesija i sar. studija izvršena u okviru ove disertacije je pokazala dejstvo soka višnje na *Escherichia*-u *coli*, *Klebsiella*-u *pneumoniae* i autohtoni i referentni soj *Pseudomonas aeruginosa*-e. Međutim, dokazano je i dejstvo na autohtoni i referentni soj

Staphylococcus aureus-a, što je u suprotnosti sa rezultatima navedenih autora (178). Pojava rezistencije kod sojeva ispitivanih od strane Havesija i sar., kao i potencijalno drugačiji hemijski sadržaj plodova su najverovatniji uzroci razlika u rezultatima.

Diluciona

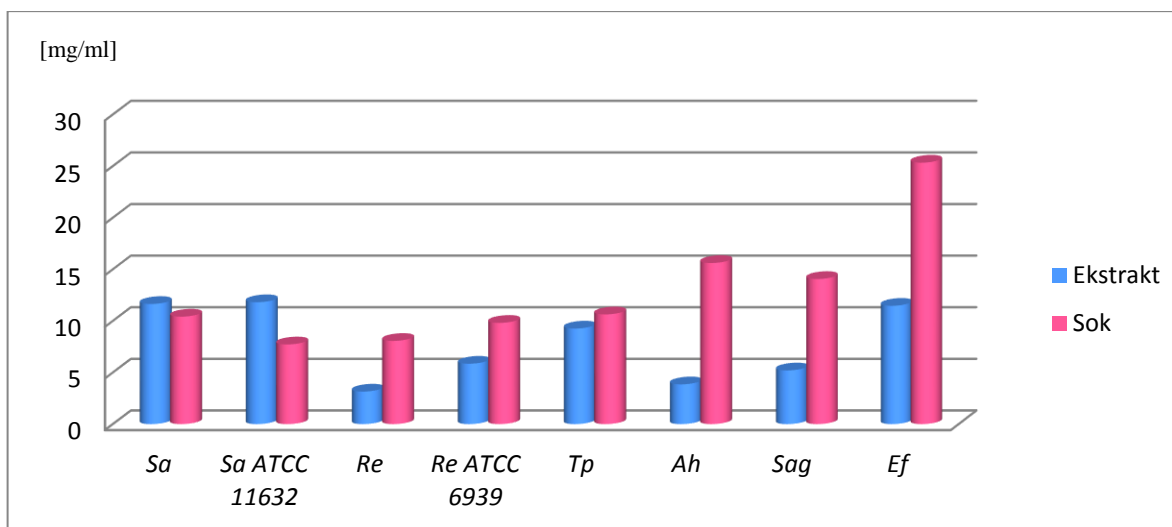
Gram pozitivne bakterije su bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta, osim autohtonog i referentnog soja *Staphylococcus aureus*-a, koji su bili senzitivniji na dejstvo soka. Ekstrakt je Break point efekat izazvao u rasponu koncentracija od 3,15 mg/ml (*Rhodococcus equi*) do 11,91 mg/ml (*Staphylococcus aureus* i *Enterococcus faecalis*).

Grafik 46. Break point koncentracije ekstrakta i soka višnje na testirane gram-pozitivne bakterije



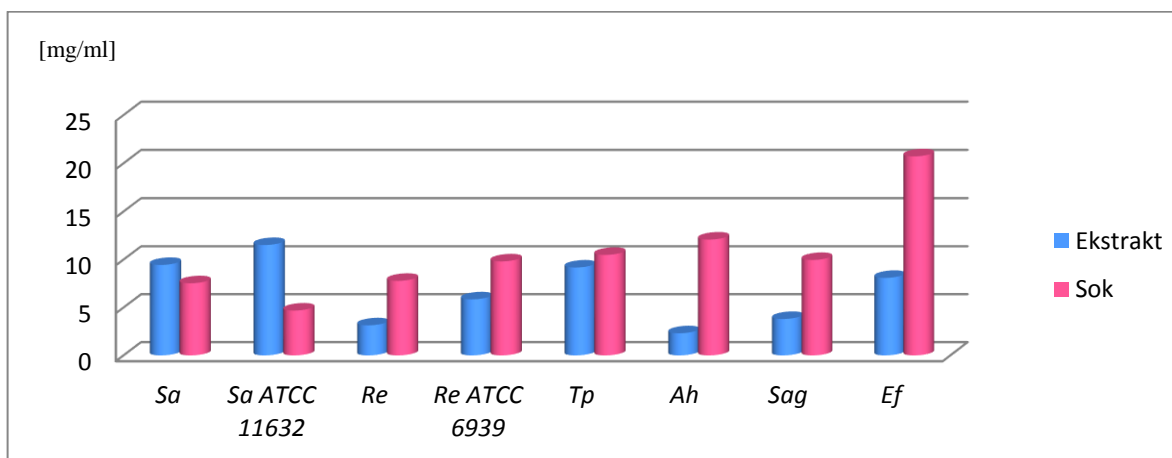
Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Sok je Break point izazvao u najmanjoj koncentraciji 8,09 mg/ml (*Rhodococcus equi*), a u najvećoj 25,91 mg/ml (*Enterococcus faecalis*). Najmanje razlike u dejstvu ekstrakta i soka su uočene protiv *Staphylococcus aureus*-a i *Trueperella-e pyogenes* (11,91 i 9,27 mg/ml ekstrakti, a 10,97 i 10,64 mg/ml sok), a najveća protiv *Arcanobacterium haemolyticum*-a (4,07 mg/ml ekstrakt, 16,07 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka višnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 46.

Grafik 47. MBC-e ekstrakta i soka višnje na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

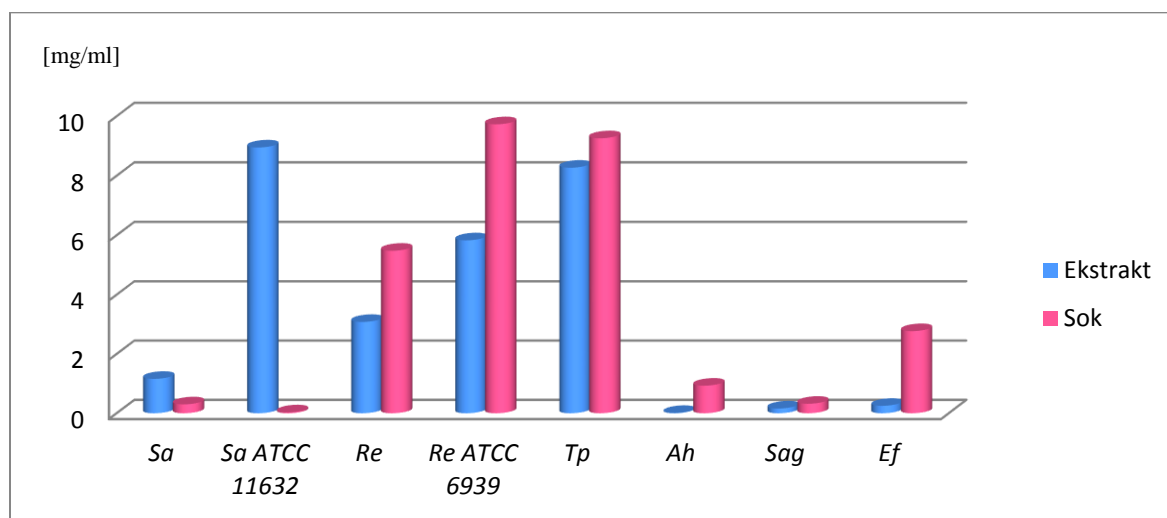
Najmanja MBC ekstrakta je iznosila 3,15 mg/ml (*Rhodococcus equi*), a najveća 11,81 mg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 11632). MBC-e soka su bile u opsegu 7,72 mg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 11632) do 25,33 mg/ml (*Enterococcus faecalis*). Najmanje razlike u dejstvu ekstrakta i soka uočene su protiv *Staphylococcus aureus*-a i *Trueperella*-e *pyogenes* (11,64 i 9,26 mg/ml ekstrakt, a 10,41 i 10,63 mg/ml sok), a najveća protiv *Arcanobacterium haemolyticum*-a (3,85 mg/ml ekstrakt, 15,61 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka višnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 47.

Grafik 48. MIC-e 99 ekstrakta i soka višnje na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

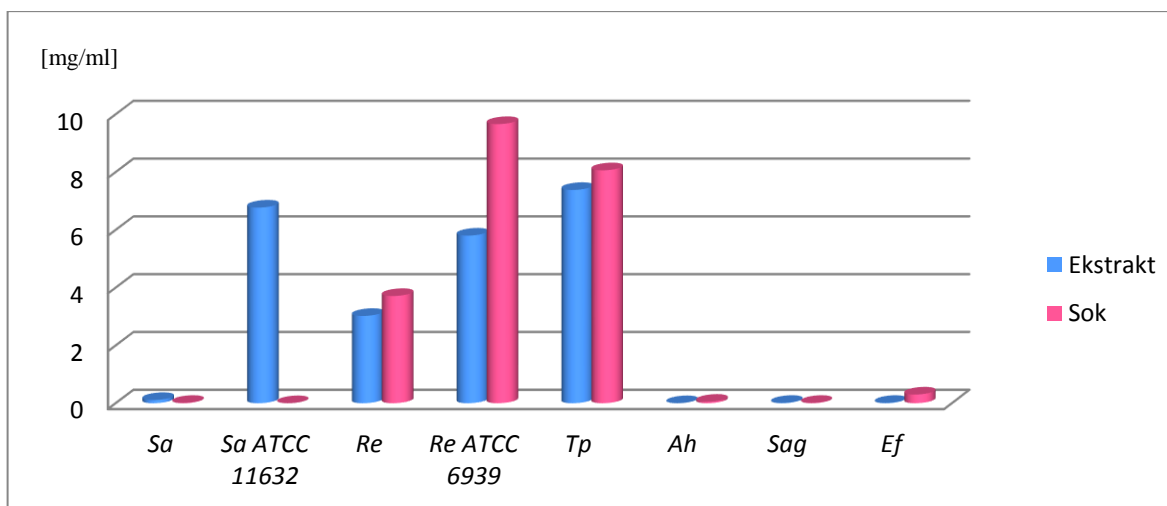
Najmanja MIC 99 ekstrakta je iznosila 2,31 mg/ml (*Arcanobacterium haemolyticum*), a najveća 11,52 mg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 11632). Nasuprot tome, MIC-e 99 soka su bile u opsegu 4,68 mg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 1632) do 20,72 mg/ml (*Enterococcus faecalis*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Trueperella-e pyogenes* (9,17 mg/ml ekstrakt, 10,49 mg/ml sok), a najveća protiv *Arcanobacterium haemolyticum*-a (2,31 mg/ml ekstrakt, 12,09 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka višnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 48.

Grafik 49. MIC-e 90 ekstrakta i soka višnje na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

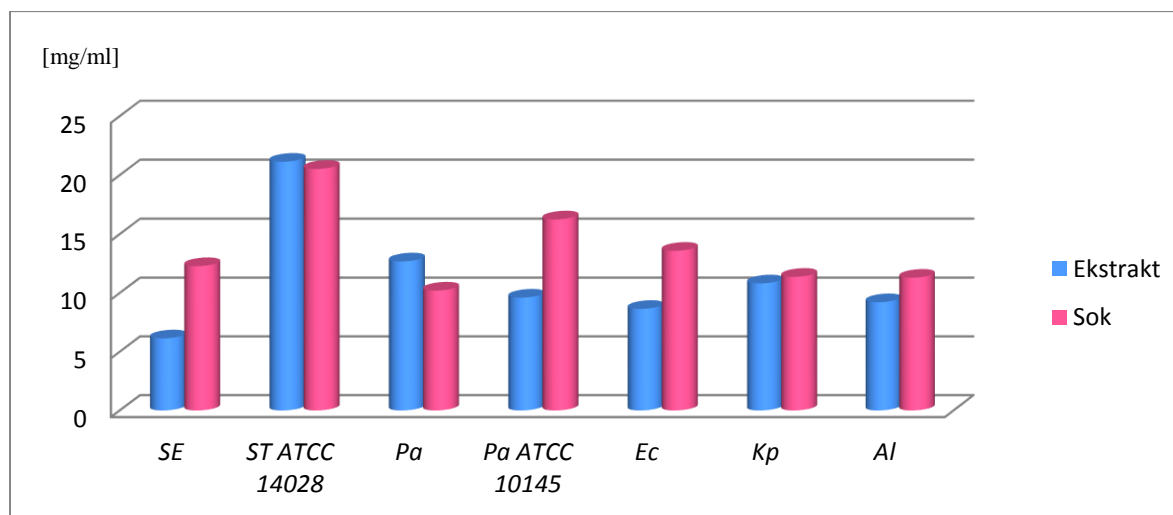
Najmanja MIC 90 ekstrakta iznosi 0,01 mg/ml na *Arcanobacterium haemolyticum*, a najveća 8,95 mg/ml na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632. Nasuprot tome, najmanja MIC 90 soka iznosi 0,03 mg/ml na *Staphylococcus aureus* ATCC 1632 dok je najveća 20,72 mg/ml i dokazana na *Rhodococcus equi* ATCC 6939. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je na *Trueperella pyogenes* (8,27 mg/ml ekstrakt, 9,26 mg/ml sok), a najveća na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 (8,95 mg/ml ekstrakt, 0,03 mg/ml sok). MIC 90 ekstrakta i soka višnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 49.

Grafik 50. MIC-e 80 ekstrakta i soka višnje na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

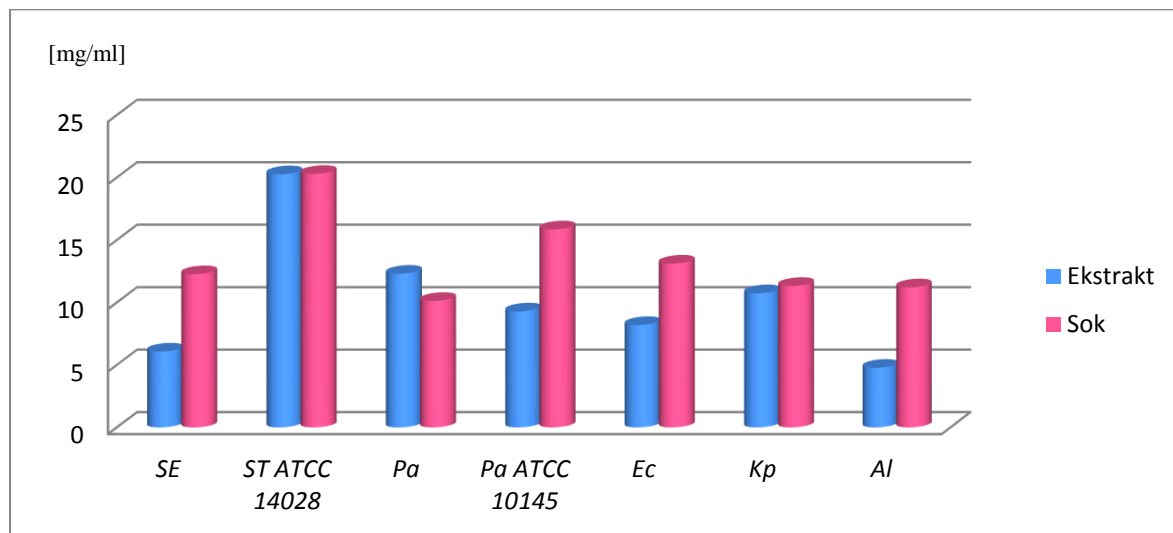
Najmanja MIC 80 ekstrakta iznosi 0,00005 mg/ml na *Arcanobacterium haemolyticum*, a najveća 7,38 mg/ml na *Trueperella pyogenes*. Najmanja MIC 80 soka iznosi 0,0001 mg/ml na *Staphylococcus aureus* ATCC 1632 dok je najveća dokazana na *Rhodococcus equi* ATCC 6939 i iznosi 9,66 mg/ml. MIC 80 soka i ekstrakta na *Streptococcus agalactiae* su jednake i iznose 0,01 mg/ml. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je na *Trueperella pyogenes* (7,38 mg/ml ekstrakt, 8,06 mg/ml sok), a najveća na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 (6,77 mg/ml ekstrakt, 0,0001 mg/ml sok). MIC 80 ekstrakta i soka višnje protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 50.

Gram negativne bakterije su u smislu Break point-a bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta, osim *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028 i *Pseudomonas*-a *aeruginosa*-e, koji su bili senzitivniji na dejstvo soka. Ekstrakt je Break point efekat izazvao u rasponu koncentracija od 6,13 mg/ml za *Salmonella* Enteritidis do 21,13 mg/ml za *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028.

Grafik 51. Break point koncentracije ekstrakta i soka višnje na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

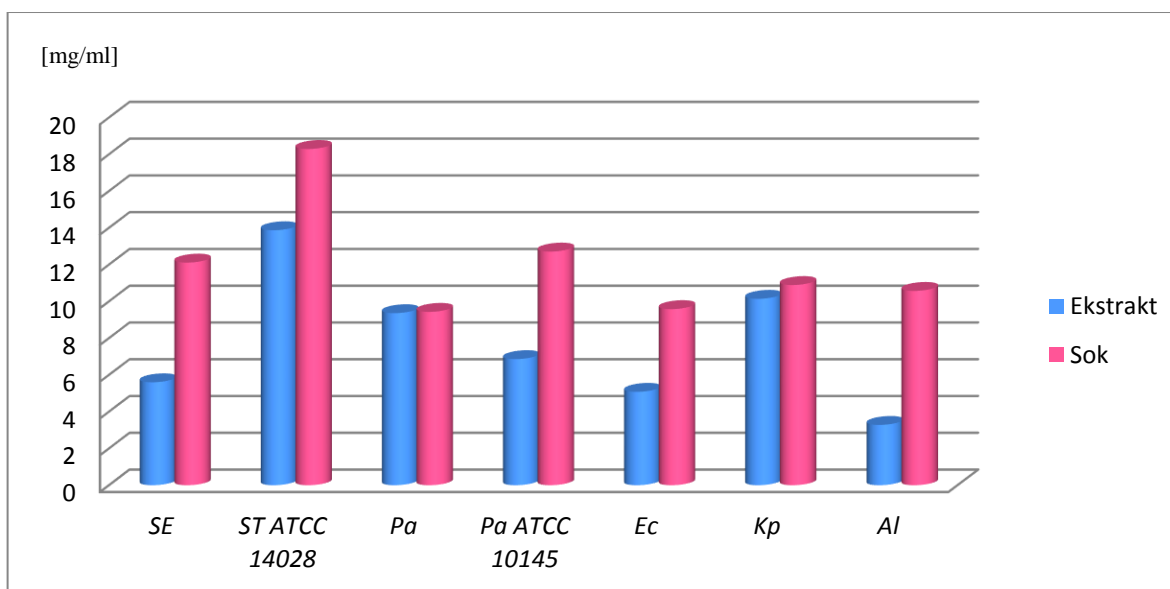
Sok je Break point izazvao u najmanjoj koncentraciji 9,21 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*), a u najvećoj 20,52 mg/ml (*Salmonella Typhimurium ATCC 14028*). Najmanje razlike u dejstvu ekstrakta i soka su uočene protiv *Salmonella-e Typhimurium ATCC 14028* i *Klebsiella-e pneumoniae* (21,13 i 10,81 mg/ml ekstrakti, a 20,52 i 11,37 mg/ml sokovi), a najveća protiv *Salmonella-e Enteritidis* (6,13 mg/ml ekstrakt, 12,28 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka višnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 51.

Grafik 52. MBC-e ekstrakta i soka višnje na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

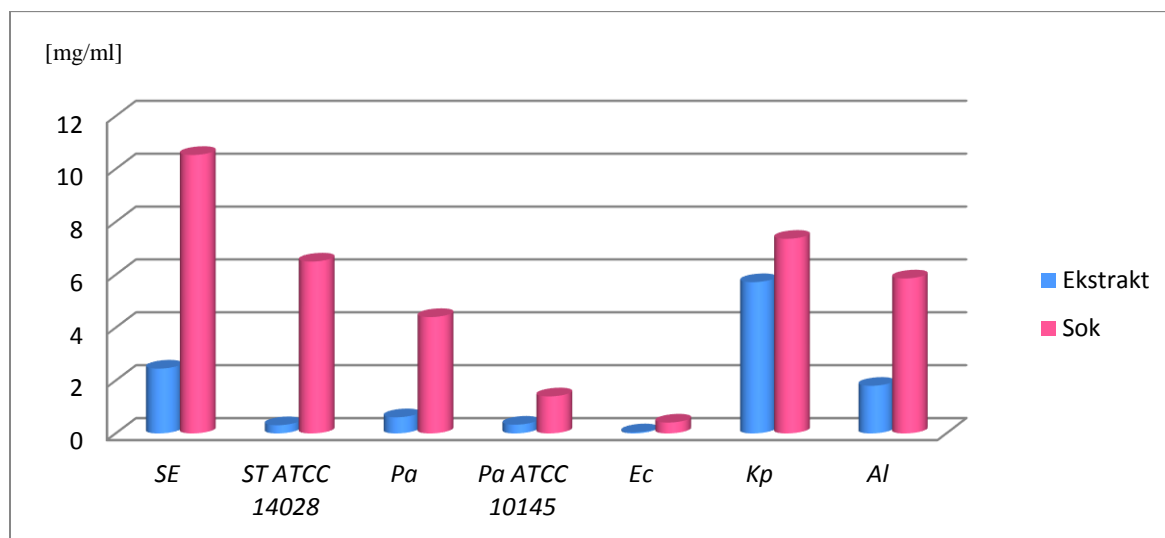
Najmanja MBC ekstrakta je iznosila 6,07 mg/ml (*Salmonella* Enteritidis), a najveća 20,26 mg/ml (*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028). MBC-e soka su bile u opsegu od 4,77 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*) do 20,29 mg/ml (*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028 (20,26 mg/ml ekstrakt, 20,29 mg/ml sok), a najveća protiv *Acinetobacter*-a *lwoffii* (11,21 mg/ml ekstrakt, 4,77 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka višnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 52.

Grafik 53. MIC-e 99 ekstrakta i soka višnje na testirane gram-negativne bakterije



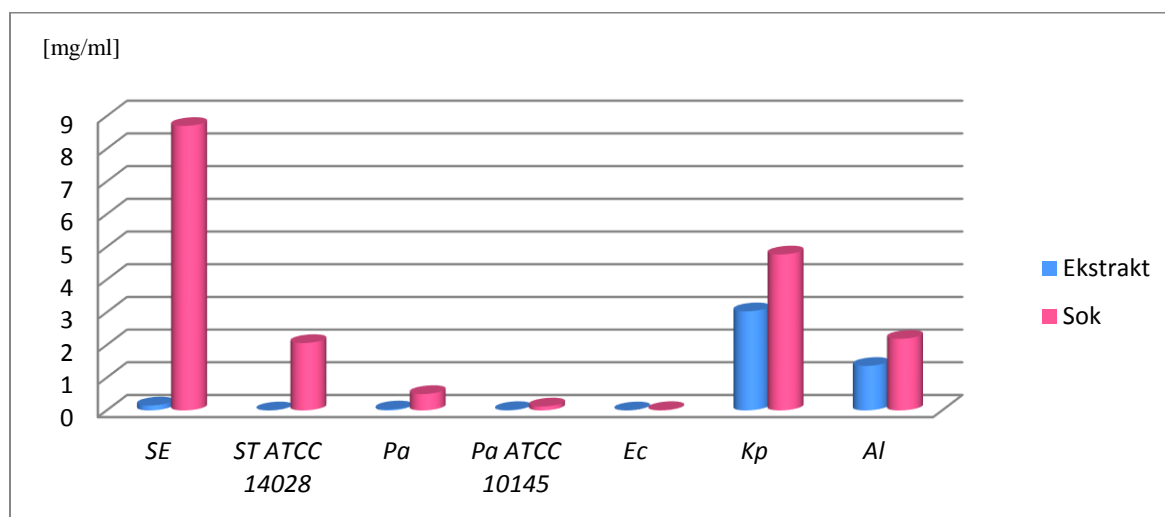
SE-*Salmonella* Enteritidis, ST ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, Pa ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, Ec-*Escherichia coli*, Kp-*Klebsiella pneumoniae*, Al-*Acinetobacter lwoffii*

Najmanja MIC 99 ekstrakta je iznosila 5,08 mg/ml (*Escherichia coli*), a najveća 13,87 mg/ml (*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028). Najmanja MIC 99 soka je iznosila 3,28 mg/ml i dokazana je na *Acinetobacter lwoffii*, a najveća je bila 18,29 mg/ml i dokazana je na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028, kao i kod ekstrakta. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Pseudomonas aeruginosa*-e (9,36 mg/ml ekstrakt, 9,43 mg/ml sok), a najveća protiv *Acinetobacter*-a *lwoffii* (10,5 mg/ml ekstrakt, 3,28 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka višnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 53.

Grafik 54. MIC-e 90 ekstrakta i soka višnje na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja MIC 90 ekstrakta je iznosila 0,04 mg/ml i bila dokazana na *Escherichia-u coli*, a najveća 5,86 mg/ml na *Acinetobacter lwoffii*. Najmanja MIC 90 soka je iznosila 0,41 mg/ml (*Escherichia-u coli*), a najveća 10,53 mg/ml (*Salmonella Enteritidis*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Klebsiella-e pneumoniae* (5,72 mg/ml ekstrakt, 7,36 mg/ml sok), a najveća protiv *Salmonella-e Typhimurium ATCC 14028* (0,31 mg/ml ekstrakt, 6,50 mg/ml sok). MIC-e 90 ekstrakta i soka višnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 54.

Grafik 55. MIC-e 80 ekstrakta i soka višnje na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja MIC 80 ekstrakta je iznosila 0,0002 mg/ml (*Escherichia coli*), a najveća 3,03 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*). Najmanja MIC 80 soka je iznosila 0,01 mg/ml (*Escherichia coli*), a najveća 8,7 mg/ml (*Salmonella* Enteritidis). Najmanje razlike u dejstvima ekstrakta i soka uočenne su protiv *Klebsiella-e pneumoniae* i *Acinetobacter lwoffii* (3,03 i 2,19 mg/ml ekstrakti, a 4,77 i 1,36 mg/ml sokovi), a najveća protiv *Salmonella-e* Typhimurium ATCC 14028 (0,004 mg/ml ekstrakt, 2,06 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka višnje protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 55.

U poredive podatke za antibakterijsko dejstvo etanolnog ekstrakta višnje prezentovale su dve grupe autora. Redukciju broja *Escherichia-e coli* O157:H7 u koncentracijama višim od 2,5 mg/ml i baktericidno dejstvo u koncentracijama višim od 10 mg/ml dokazali su Kołodziejczyk i sar. MIC 99 ekstrakta na *Escherichia-u coli* dokazana u ovom istraživanju je u skladu sa rezultatima Kołodziejczyka i sar. i iznosi 5,08 mg/ml, dok je Break point niži i iznosi 8,64 mg/ml (179). Ogur i sar. su dokazali antibakterijsko dejstvo etanolnog ekstrakta koncentrata pulpe višnje na *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29123, *Pseudomonas aeruginosa-u* (0,1 mg/ml) i duplo slabije dejstvo na *Pseudomonas aeruginosa-u* ATCC 27853 (0,2 mg/ml). Ista vrednost (0,1 mg/ml) je dokazana u okviru ove disertacije za MIC 80 ekstrakta na *Staphylococcus aureus*, dok je MIC 80 na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 bio znatno veći i iznosio 6,8 mg/ml. MIC-e 80 ekstrakta na autohtoni i referentni soj (ATCC 10145) *Pseudomonas aeruginosa-e* su bile niže od MIC Ogur i sar. i iznosile 0,03 mg/ml i 0,01 mg/ml. Razlike u načinu detektovanja i definisanju MIC otežavaju poređenje rezultata ovih studija. Naime, MIC je u radu Ogura i sar. definisana kao najmanja koncentracija ekstrakta u prisustvu koje je bakterijski rast smanjen na nivo manji od 0,05 pri merenju apsorbance na 625 nm (180). U istraživanju sprovedenom u okviru ove disertacije korišten je drugačiji način detekcije preživelih bakterija (deo sadržaja svakog kontrolnog i test bunarčića je zasejavan na posebnu Petri ploču i brojana svaka izrasla kolonija). Iako su u sve tri studije ispitivani etanolni ekstrakti višnje, način obrade plodova, hemijski sadržaji plodova, kao i senzitivnost testiranih sojeva su takođe verovatno uticali na raznovrsnost antibakterijskog dejstva višnje. Pored etanolnog ekstrakta, ispitivano je i antibakterijsko dejstvo metanolnog ekstrakta višnje. Tako su, Coccia i sar. utvrdili MIC-e: 2 mg/ml za *Staphylococcus aureus* 0057, 4,2 mg/ml za *Staphylococcus aureus* 3031, 4,4 mg/ml za *Pseudomonas aeruginosa-u* i 6,6 mg/ml za *Escherichia-u coli*. Navedena grupa autora je takođe utvrdila da baktericidni efekat nastaje pri koncentracijama većim od dvostrukih MIC-a (4 mg/ml za *Staphylococcus aureus* 0057, 8,4 mg/ml za *Staphylococcus aureus* 3031 i *Pseudomonas aeruginosa-u* i 13,2 mg/ml za *Escherichia-u coli*). MBC-e ekstrakta ove disertacije za *Pseudomonas aeruginosa-u* 12,30 mg/ml, *Staphylococcus aureus* 11,64 mg/ml i *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 11,81 mg/ml su bile veće, dok je MBC za *Escherichia-u coli* bila manja i iznosila 8,19 mg/ml (181). Krisch i sar. su u dve studije dokazali da je protiv *Escherichia-e coli* najjače delovao metanolni, zatim vodeni ekstrakt, a najslabije sok višnje. Druga studija istih autora je takođe dokazala i jače dejstvo metanolnog u odnosu na vodeni ekstrakt višnje protiv *Salmonella-e* Typhimurium (171,174). Navedeni

nalazi su u skladu sa rezultatima ove studije, koja takođe pokazuje jače destvo ekstrakta višnje protiv *Escherichia-e coli* i *Salmonella-e Typhimurium* (MIC 80, 90, 99 i MBC).

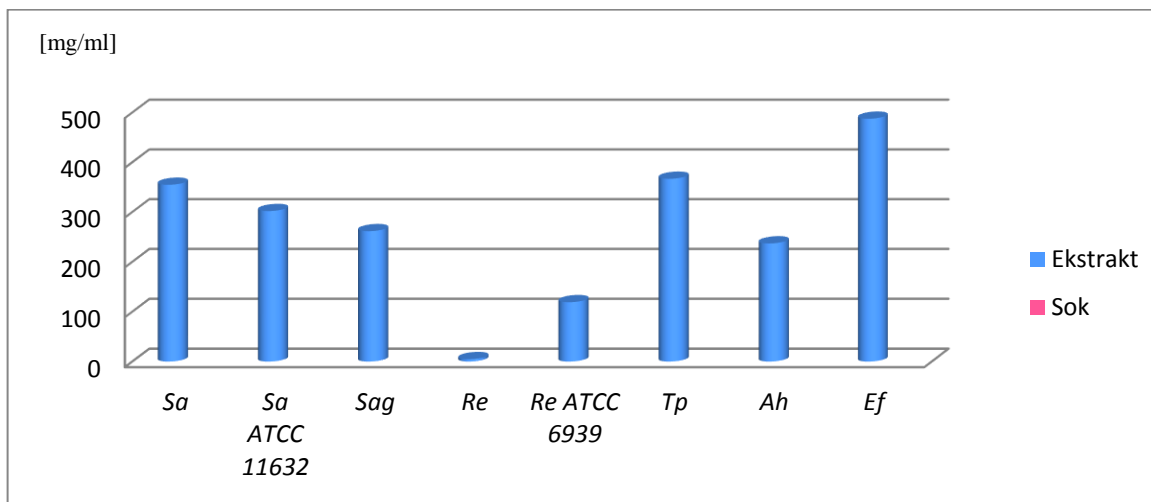
Aronija

Rezultati dobijeni difuzionom i dilucionom metodom pokazuju da je ekstrakt delovao na većinu bakterija u manjim koncentracijama u odnosu na sok. MIC-e 90 na *Trueperella pyogenes*, *Salmonella-u Typhimurium* ATCC 14028 i *Escherichia-u coli* i MIC-e 80 na *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 i *Salmonella-u Typhimurium* ATCC 14028 predstavljaju izuzetke, jer pokazuju jače dejstvo soka pri ispitivanju dilucionom metodom. Na *Arcanobacterium haemolyticum* i MIC-e 80 za *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Trueperella-u pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella-u Enteritidis*, *Escherichia-u coli* i *Acinetobacter lwoffii* je utvrđeno identično dejstvo soka i ekstrakta. Sok nije ispoljio antibakterijsko dejstvo pri ispitivanju difuzionom metodom. Nasuprot tome, pri ispitivanju dilucionom metodom, sok je na sve ispitivane bakterije, osim *Klebsiella-e pneumoniae*. Pošto sok aronije nije ispoljio antibakterijsko dejstvo na *Klebsiella-u pneumoniae* ni difuzionom ni dilucionom metodom, može se zaključiti da na njega antibakterijska aktivnost soka *Aronia prunifolia-e* sa teritorije Srbije ne postoji. Antibakterijska aktivnost soka aronije na ostale bakterije postoji, ali se različito ispoljava pri ispitivanju drugačijim metodama. U polučvrstom medijumu difuzione metode je ograničeno kretanje supstanci iz soka i ekstrakta, a samim tim i kontakt sa mikroorganizmima. U tečnom medijumu dilucione metode ispitivane materije se slobodno kreću, pa mogu u celosti da reaguju sa mikroorganizmima. Rezultati antibakterijskog dejstva odgovaraju prethodno utvrđenom hemijskom sastavu, koji pokazuje da je većina ispitivanih supstanci prisutna u većim količinama u ekstraktu u odnosu na sok. Ekstrakt višnje je superiorniji u odnosu na sok, jer ima veću količinu čak jedanaest ispitivanih supstanci, dok sok ima veći sadržaj pet ispitivanih supstanci. Jednaka količina kafene kiseline je utvrđena u soku i ekstraktu. Najjače dejstvo ekstrakta difuzionom metodom je dokazano na *Rhodococcus equi* (MIC 80 4,75 mg/ml), a dilucionom na *Streptococcus agalactiae* (Break point 1,57 mg/ml). Nasuprot tome, najslabije dejstvo ekstrakta difuzionom metodom je dokazano na *Salmonella-u Enteritidis* (MIC 80 765,92 mg/ml), a dilucionom na *Klebsiella-u pneumoniae* (Break point 25,36 mg/ml). Najjače dejstvo soka dilucionom metodom je dokazano na *Arcanobacterium haemolyticum* (Break point 6,25 mg/ml), a najslabije na *Enterococcus faecalis* (Break point 37,76 mg/ml).

Difuziona

Gram pozitivne bakterije su bile rezistentne na dejstvo soka. Najmanja MIC 80 ekstrakta je bila 4,75 mg/ml (*Rhodococcus equi*), a najveća 487,44 mg/ml (*Enterococcus faecalis*).

Grafik 56. Dejstvo ekstrakta i soka aronije protiv gram-pozitivnih bakterija ispitivano difuzionom metodom

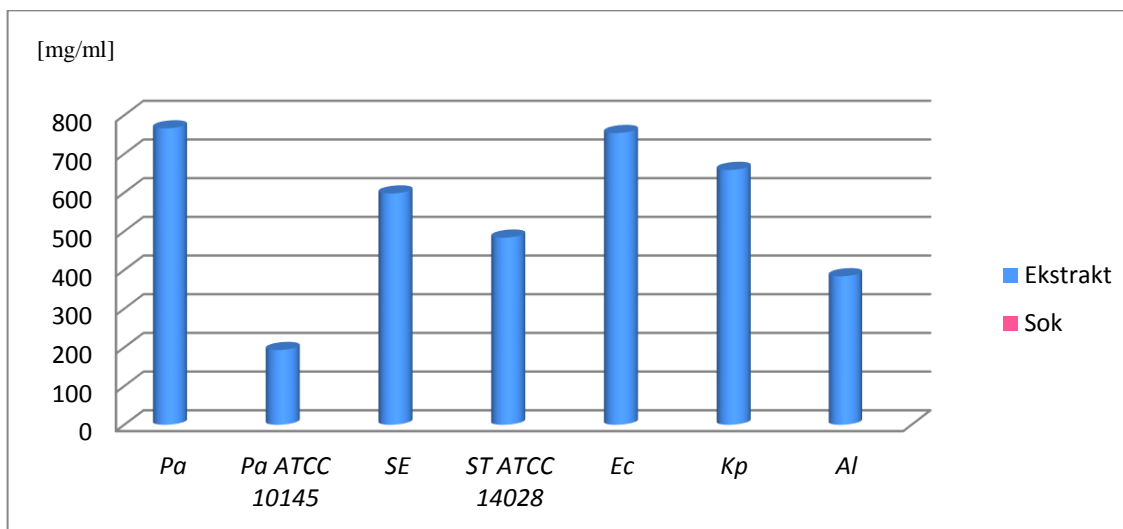


Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Ef-*Enterococcus faecalis*

MIC-e 80 ekstrakta i soka aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 56.

Gram negativne bakterije su takođe bile rezistentne na dejstvo soka. Najmanja MIC 80 ekstrakta je bila 193,15 mg/ml (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145), a najveća 765,92 mg/ml (*Pseudomonas aeruginosa*).

Grafik 57. Dejstvo ekstrakta i soka aronije protiv gram-negativnih bakterija ispitivano difuzionom metodom



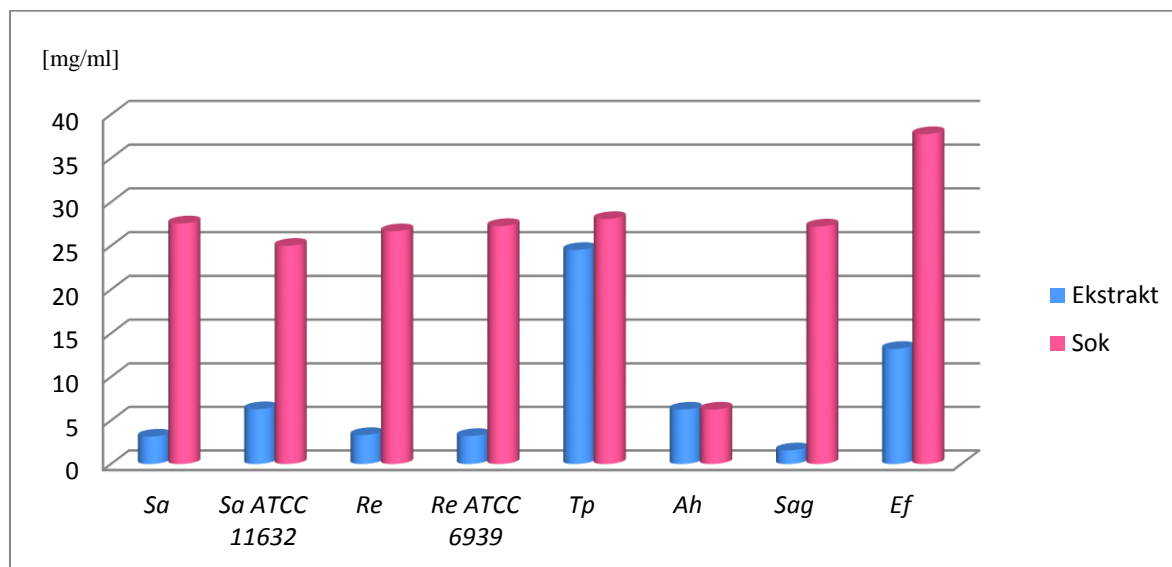
Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, Pa ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, SE-*Salmonella* Enteritidis, ST ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, Ec-*Escherichia coli*, Kp-*Klebsiella pneumoniae*, Al-*Acinetobacter lwoffii*

MIC-e 80 ekstrakta i soka aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 57.

Diluciona

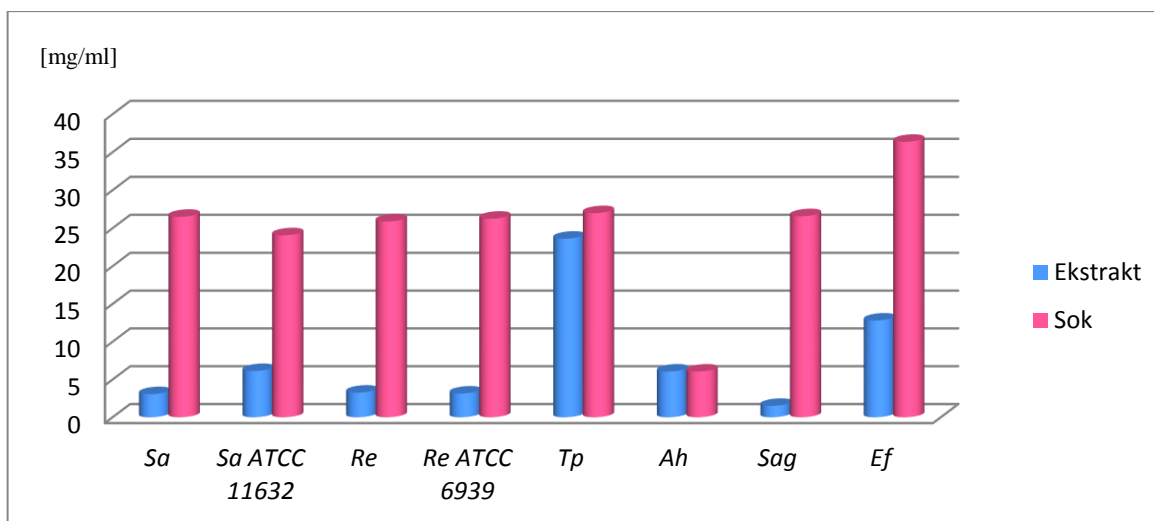
Gram pozitivne bakterije su, u smislu Break point-a, bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta. Izuzetak je *Arcanobacterium haemolyticum*, koji je bio jednako senzitivan na dejstvo ekstrakta i dejstvo soka. Ekstrakt je Break point efekat izazvao u rasponu koncentracija od 1,57 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*) do 24,53 mg/ml (*Trueperella pyogenes*).

Grafik 58. Break point koncentracije ekstrakta i soka aronije na testirane gram-pozitivne bakterije



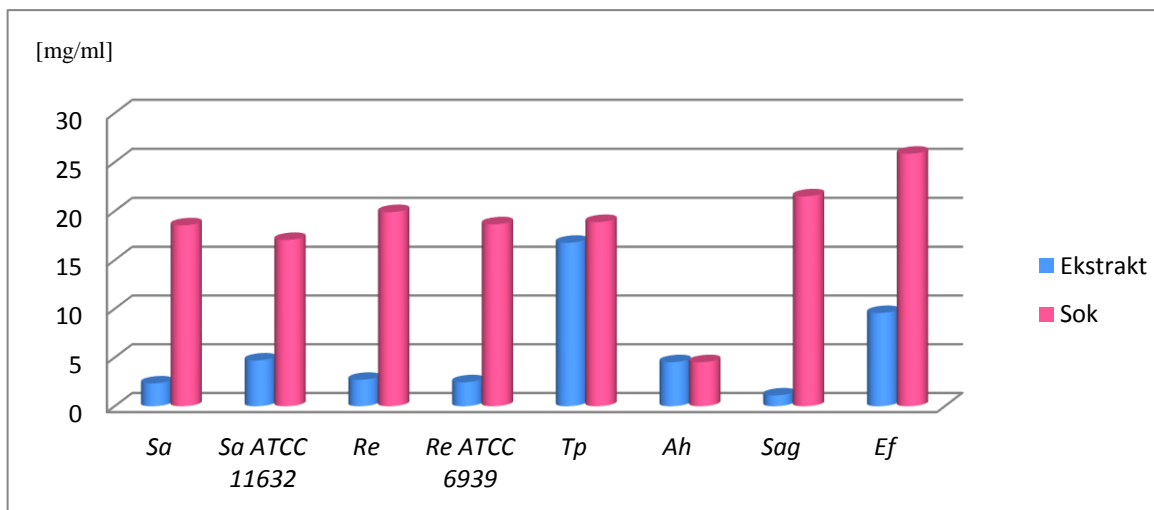
Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Sok je Break point izazvao u najmanjoj koncentraciji 6,25 mg/ml (*Arcanobacterium haemolyticum*), a u najvećoj 37,76 mg/ml (*Enterococcus faecalis*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Trueperella-e pyogenes* (24,53 mg/ml ekstrakt, 28,06 mg/ml sok), a najveća protiv *Streptococcus-a agalactiae* (1,57 mg/ml ekstrakt, 27,21 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 58.

Grafik 59. MBC-e ekstrakta i soka aronije na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

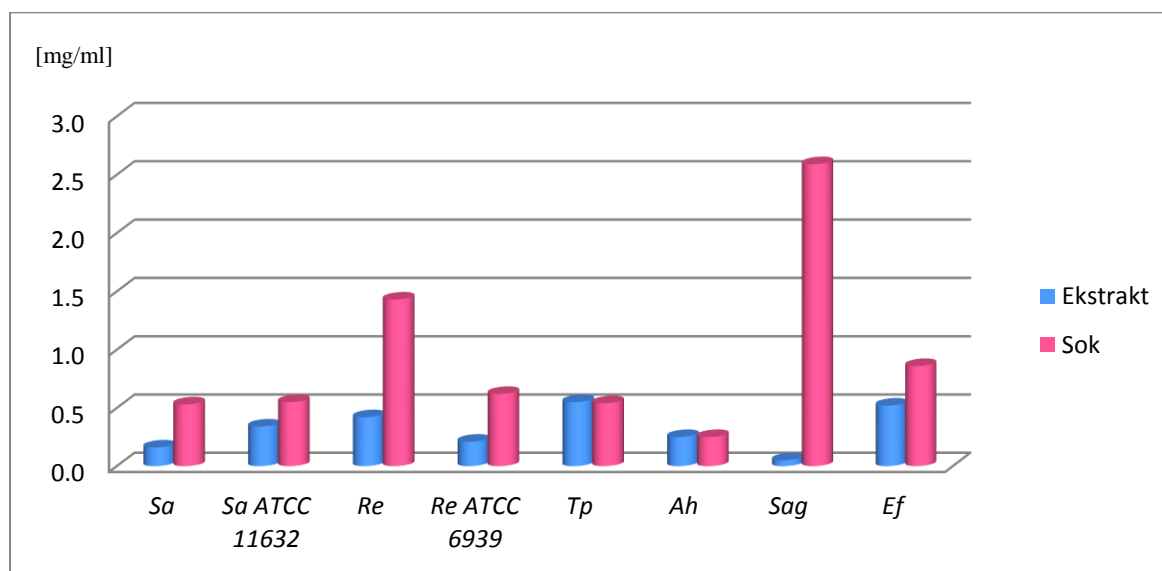
Najmanja MBC ekstrakta je iznosila 1,51 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 23,61 mg/ml (*Trueperella pyogenes*). MBC-e soka su bile u opsegu od 6,05 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*) do 36,36 mg/ml (*Enterococcus faecalis*). Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Trueperella-e pyogenes* (23,61 mg/ml ekstrakt, 26,97 mg/ml sok), a najveća protiv *Streptococcus-a agalactiae* (1,51 mg/ml ekstrakt, 26,57 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 59.

Grafik 60. MIC-e 99 ekstrakta i soka aronije na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

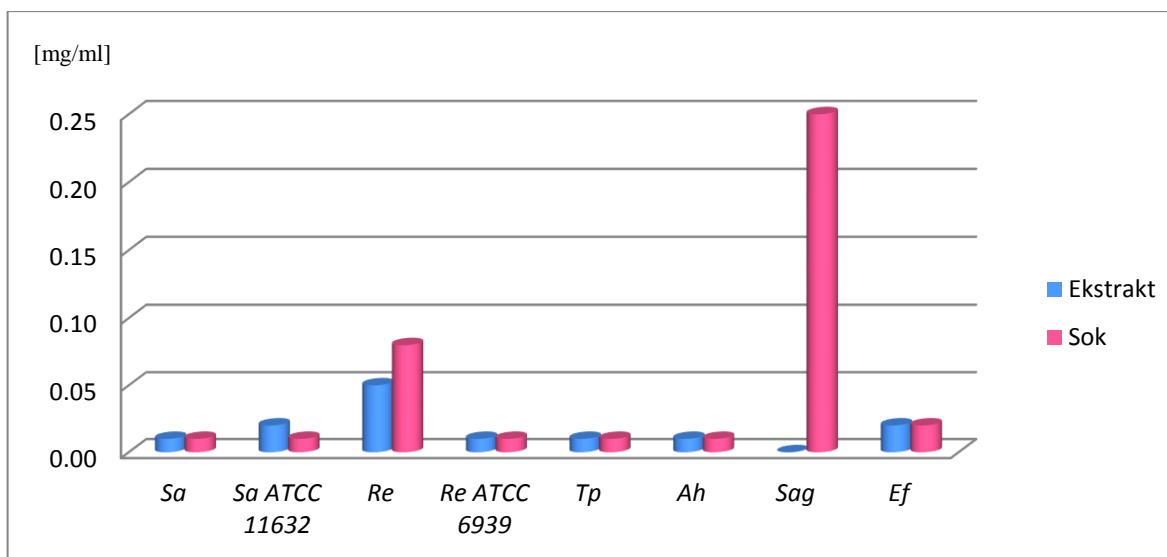
Najmanja MIC 99 ekstrakta je iznosi 1,11 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 16,77 mg/ml (*Trueperella pyogenes*). Najmanja MIC 99 soka je iznosila 4,52 mg/ml i bila dokazana na *Arcanobacterium haemolyticum*, dok je najveća inosila 25,86 mg/ml i bila dokazana na *Enterococcus faecalis*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Trueperella-e pyogenes* (16,77 mg/ml ekstrakt, 18,89 mg/ml sok), a najveća protiv *Streptococcus-a agalactiae* (1,11 mg/ml ekstrakt, 21,51 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 60.

Grafik 61. MIC-e 90 ekstrakta i soka aronije na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

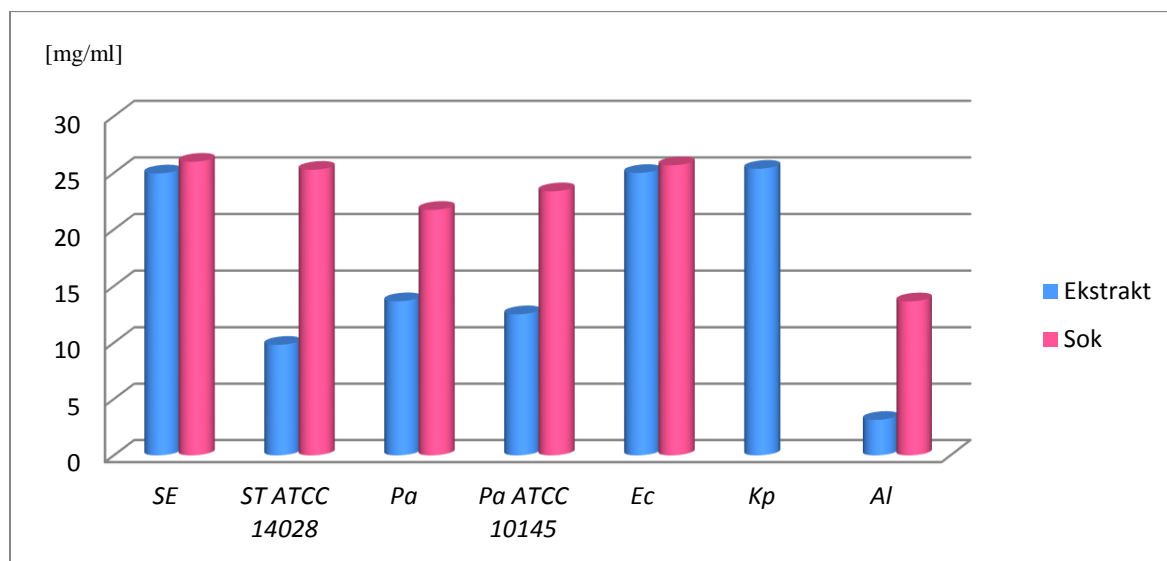
Najmanja MIC 90 ekstrakta je iznosila 0,05 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 0,55 mg/ml (*Trueperella pyogenes*). Najmanja MIC 90 soka je iznosila 0,25 mg/ml i bila dokazana na *Arcanobacterium haemolyticum*, dok je najveća inosila 2,59 mg/ml i dokazana na *Streptococcus agalactiae*. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Trueperella-e pyogenes* (0,55 mg/ml ekstrakt, 0,54 mg/ml sok), a najveća protiv *Streptococcus-a agalactiae* (0,05 mg/ml ekstrakt, 2,59 mg/ml sok). MIC-e 90 ekstrakta i soka aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 61.

Grafik 62. MIC-e 80 ekstrakta i soka aronije na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

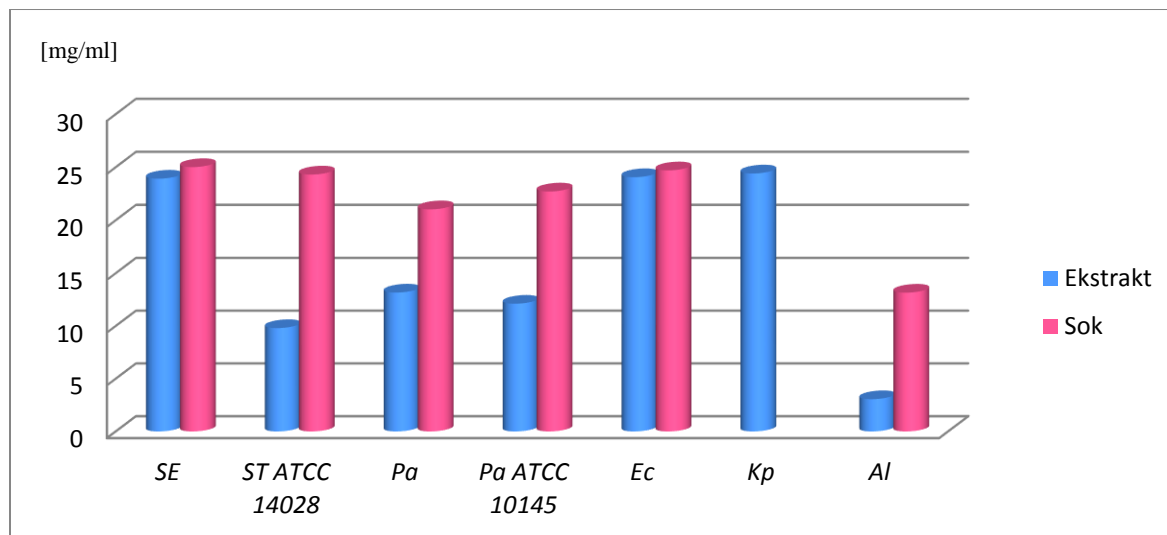
Najmanja MIC 80 ekstrakta je iznosila 0,001 mg/ml (*Streptococcus agalactiae*), a najveća 0,05 mg/ml (*Rhodococcus equi*). Najmanja MIC 80 soka je iznosila 0,01 mg/ml i bila jednaka za *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 11632, *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Arcanobacterium haemolyticum* i *Trueperella-u pyogenes*, dok je najveća bila 0,25 mg/ml i dokazana na *Streptococcus agalactiae*. MIC-e 80 za sok i ekstrakt su bile jednake za: *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Trueperella-u pyogenes* i iznosile 0,01 mg/ml, kao i za *Enterococcus faecalis* za koji su iznosile 0,02 mg/ml. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Rhodococcus-a equi* (0,05 mg/ml ekstrakt, 0,08 mg/ml sok), a najveća protiv *Streptococcus-a agalactiae* (0,001 mg/ml ekstrakt, 0,25 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 62.

Gram negativne bakterije su, u smislu Break point vrednosti, bile senzitivnije na dejstvo ekstrakta u odnosu na dejstvo soka. Ekstrakt je Break point efekat izazvao u rasponu koncentracija od 3,15 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*) do 25,36 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*).

Grafik 63. Break point koncentracije ekstrakta i soka aronije na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

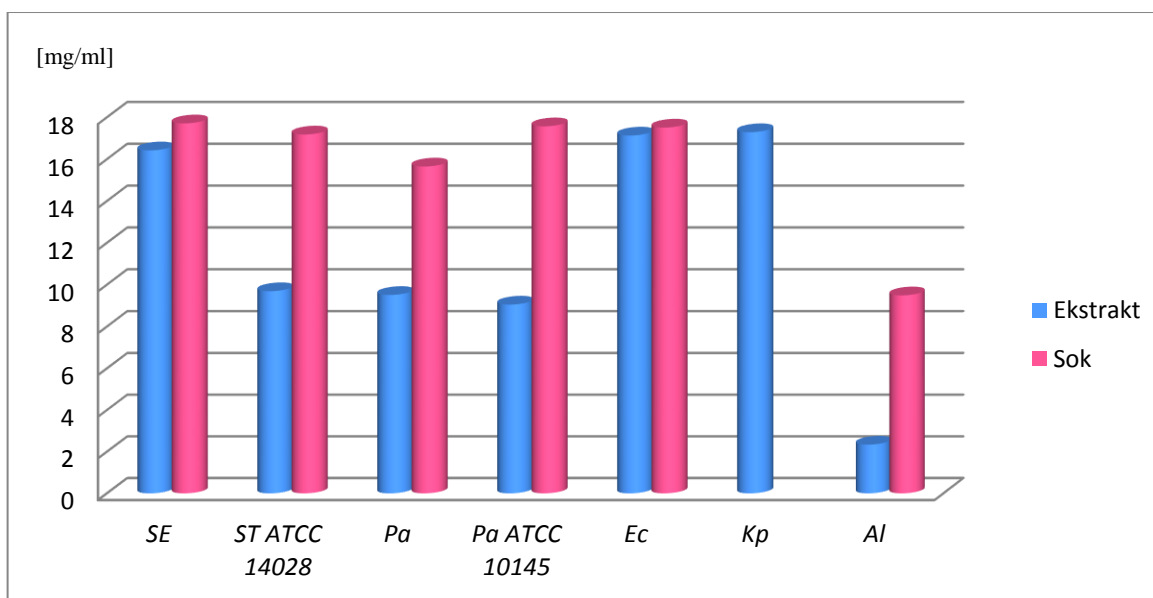
Sok je Break point izazvao u najmanjoj koncentraciji 13,65 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*), a u najvećoj 25,98 mg/ml (*Salmonella Enteritidis*). Najmanje razlike u dejstvu ekstrakta i soka uočene su protiv *Salmonella*-e Enteritidis i *Escherichia*-e coli (24,95 i 24,99 mg/ml ekstrakt, a 25,98 i 25,67 mg/ml sok), a najveća protiv *Acinetobacter*-a lwoffii (3,15 mg/ml ekstrakt, 13,65 mg/ml sok). Break point vrednosti ekstrakta i soka aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 63.

Grafik 64. MBC-e ekstrakta i soka aronije na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

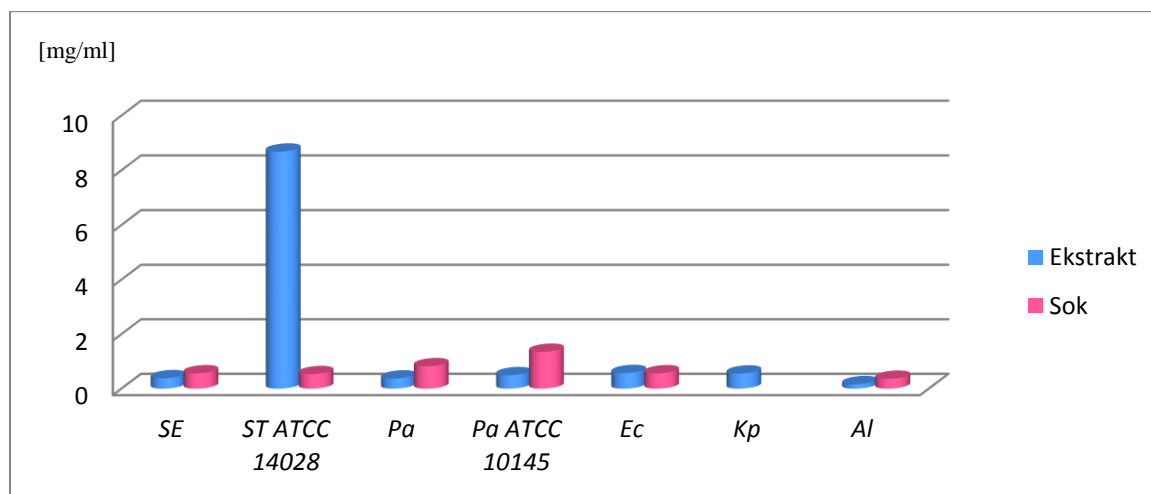
Najmanja MBC ekstrakta iznosi 3,06 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*), a najveća 24,41 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*). MBC-e soka su bile u opsegu od 13,16 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*) do 25,01 mg/ml (*Salmonella* Enteritidis). Najmanje razlike u dejstvu ekstrakta i soka uočene su protiv *Salmonella*-e Enteritidis i *Escherichia*-e coli (23,92 i 24,06 mg/ml ekstrakti, a 25,01 i 24,7 mg/ml sokovi, respektivno), a najveća protiv *Acinetobacter*-a *lwoffii* (3,06 mg/ml ekstrakt, 13,16 mg/ml sok). MBC-e ekstrakta i soka aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 64.

Grafik 65. MIC-e 99 ekstrakta i soka aronije na testirane gram-negativne bakterije



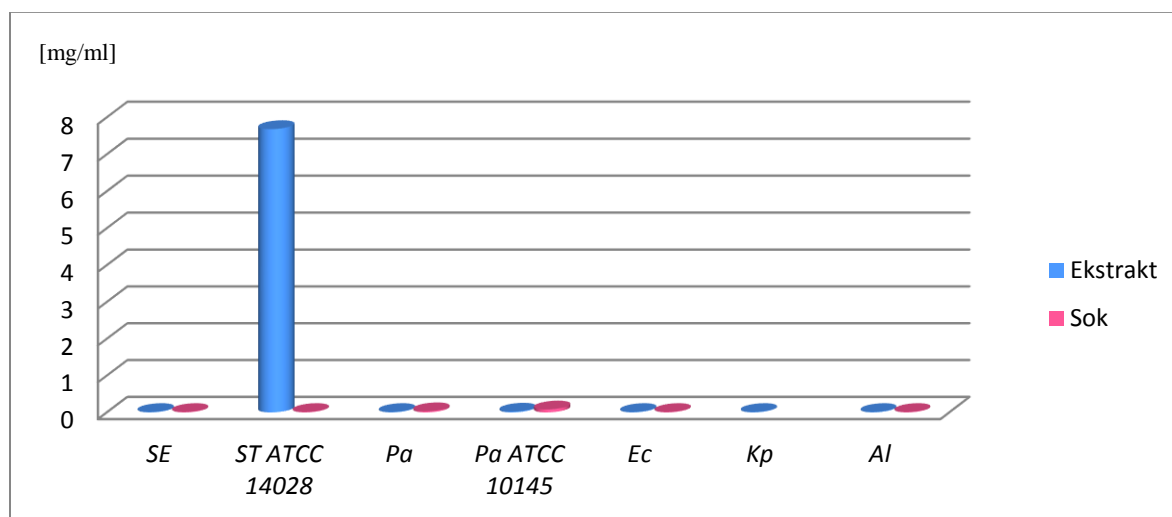
SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja MIC 99 ekstrakta je iznosila 2,34 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*), a najveća 17,29 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*). Najmanja MIC 99 soka je iznosila 9,49 mg/ml i bila dokazana na *Acinetobacter lwoffii*, dok je najveća inosila 17,78 mg/ml i bila dokazana na *Salmonella*-u Enteritidis. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Escherichia*-e coli (17,13 mg/ml ekstrakt, 17,51 mg/ml sok), a najveća protiv *Acinetobacter*-a *lwoffii* (2,34 mg/ml ekstrakt, 9,49 mg/ml sok). MIC-e 99 ekstrakta i soka aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 65.

Grafik 66. MIC-e 90 ekstrakta i soka aronije na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja MIC 90 ekstrakta je iznosila 0,16 mg/ml (*Acinetobacter lwoffii*), a najveća 8,68 mg/ml (*Salmonella Typhimurium ATCC 14028*). Najmanja MIC 90 soka je iznosila 0,36 mg/ml i bila dokazana na *Acinetobacter lwoffii*, dok je najveća iznosila 1,35 mg/ml i bila dokazana na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Escherichia-e coli* (0,57 mg/ml ekstrakt, 0,56 mg/ml sok), a najveća protiv *Salmonella-e Typhimurium ATCC 14028* (8,68 mg/ml ekstrakt, 0,53 mg/ml sok). MIC-e 90 ekstrakta i soka aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 66.

Grafik 67. MIC-e 80 ekstrakta i soka aronije na testirane gram-negativne bakterije

SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najmanja MIC 80 ekstrakta je iznosila 0,01 mg/ml i bila jednaka za *Salmonella*-u Enteritidis, *Pseudomonas aeruginosa*-u, *Escherichia*-u coli, *Klebsiella*-u pneumoniae i *Acinetobacter lwoffii*, a najveća 7,68 mg/ml i bila dokazana na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028. Najmanja MIC 80 soka je iznosila 0,01 mg/ml i bila jednaka je za *Salmonella*-u Enteritidis, *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028, *Escherichia*-u coli i *Acinetobacter lwoffii*, dok je najveća iznosila 0,08 mg/ml i bila dokazana na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145. MIC-e 80 soka i ekstrakta su bile jednake na: *Salmonella*-u Enteritidis, *Escherichia*-u coli i *Acinetobacter lwoffii* i iznosile su 0,01 mg/ml. Najmanja razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je protiv *Pseudomonas aeruginosa*-e (0,01 mg/ml ekstrakt, 0,03 mg/ml sok), a najveća protiv *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028 (7,68 mg/ml ekstrakt, 0,01 mg/ml sok). MIC-e 80 ekstrakta i soka aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 67.

Za antibakterijsko dejstvo *Aronia prunifolia*-e nisu pronađeni uporedivi podaci u dostupnoj literaturi.

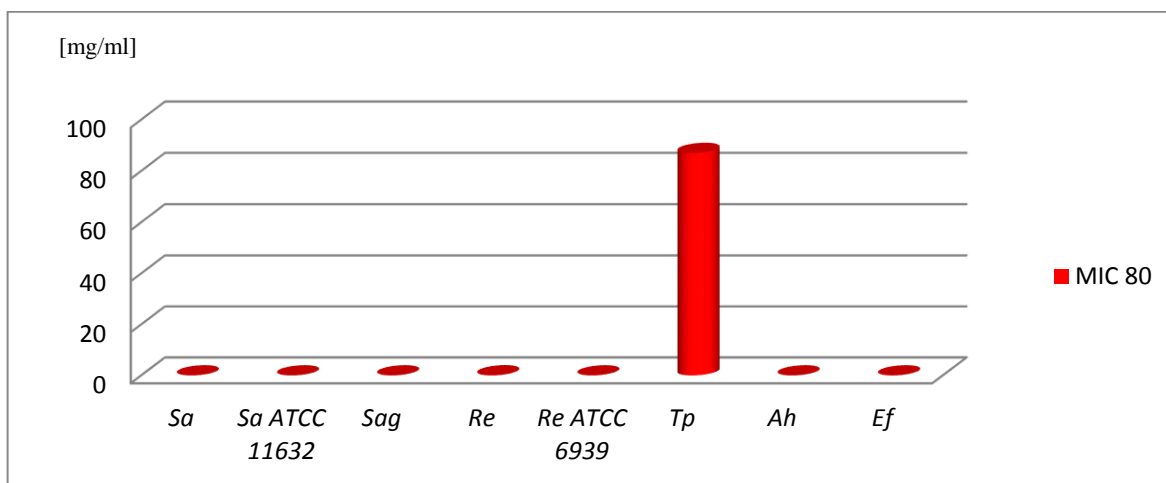
Antibiotik

Gram pozitivne

Difuziona

Streptomycin je delovao na sve ispitivane bakterije.

Grafik 68. Dejstvo Streptomicina protiv gram-pozitivnih bakterija ispitivano difuzionom metodom



Sa-*Staphylococcus aureus*, *Sa* ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, *Sag*-*Streptococcus agalactiae*, *Re*-*Rhodococcus equi*, *Re* ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Tp*-*Trueperella pyogenes*, *Ah*-*Arcanobacterium haemolyticum*, *Ef*-*Enterococcus faecalis*

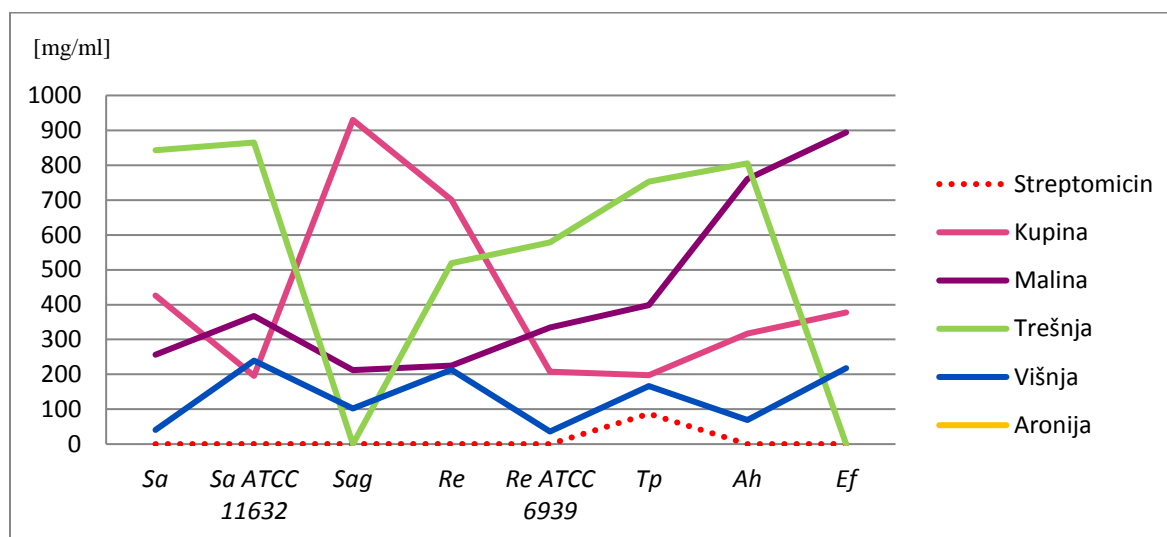
Najslabije dejstvo je ispoljeno na *Trueperella*-u *pyogenes* (MIC 80 87,01 mg/ml), dok je najjače dejstvo ispoljeno na *Staphylococcus aureus* i *Arcanobacterium haemolyticum* (MIC

80 0,0004 mg/ml). MIC-e 80 Streptomicina protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 68.

Poređenje sa sokovima

Streptomicin je ispoljio jače dejstvo na ispitivane bakterije u odnosu na sve ispitivane sokove.

Grafik 69. Poređenje dejstava Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae protiv gram-pozitivnih bakterija ispitivano difuzionom metodom



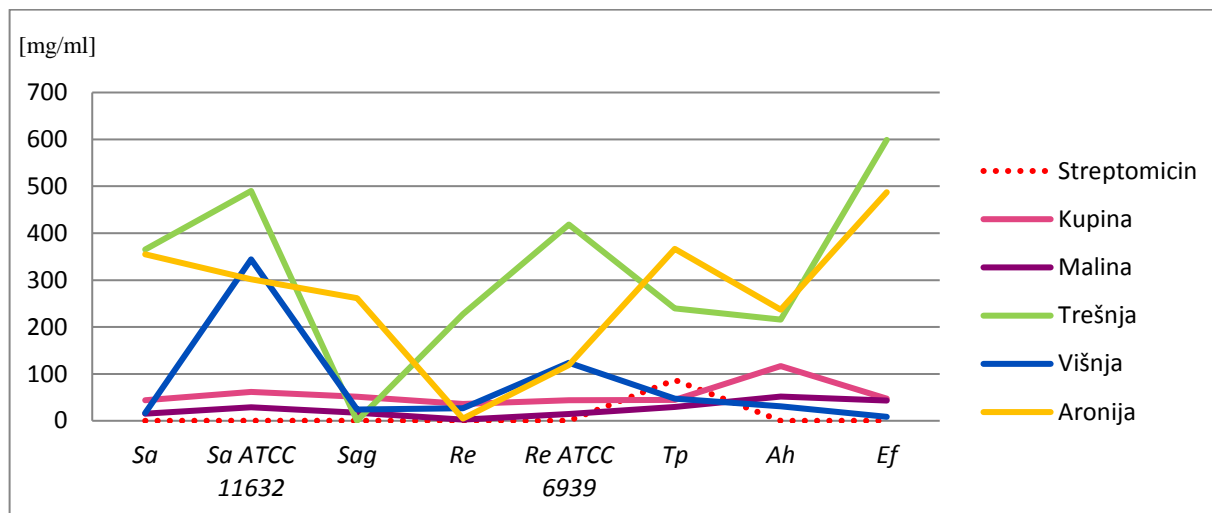
Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i sokova uočena je za sok trešnje protiv *Staphylococcus aureus*-a, gde je Streptomicin ispoljio 2102117 puta jače dejstvo. Najmanja razlika bila je za sok višnje protiv *Trueperella-e pyogenes*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 1,92 puta jače. MIC-e 80 Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 69.

Poređenje sa ekstraktima

Streptomicin je ispoljio jače dejstvo u odnosu na ispitivane ekstrakte protiv svih ispitivanih bakterija. Izuzetak je bila *Trueperella pyogenes*, protiv koje su jače delovali ekstrakti kupine, maline i višnje u odnosu na Streptomicin.

Grafik 70. Poređenje dejstava Streptomicina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na Gram-pozitivne bakterije ispitivano difuzionom metodom

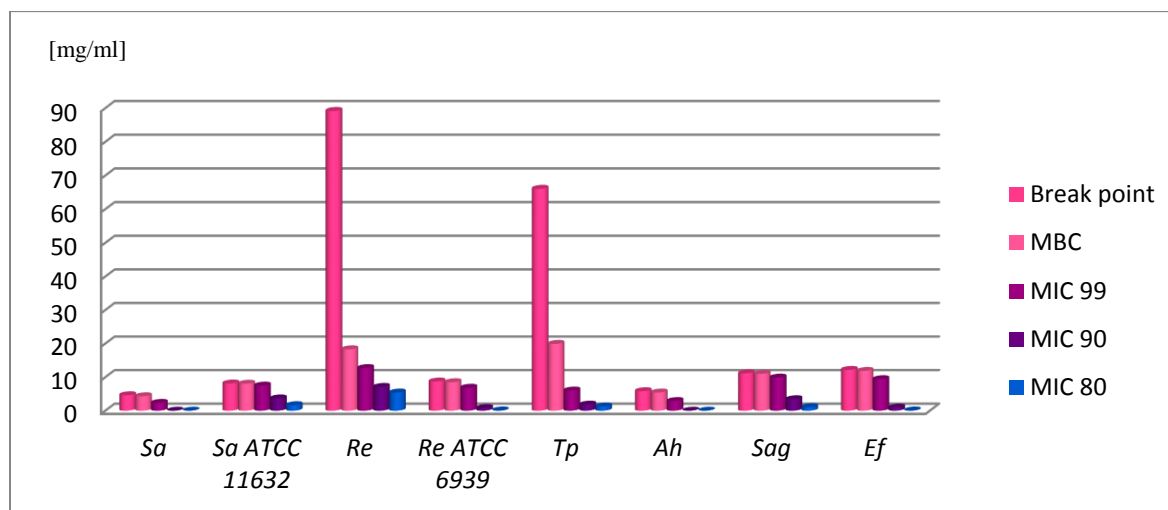


Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i sokova uočena je za sok trešnje protiv *Staphylococcus aureus*-a, gde je Streptomicin ispoljio 910700 puta jače dejstvo. Najmanja razlika u dejstvu bila je protiv *Trueperella-e pyogenes*, gde je dejstvo ekstrakta višnje bilo 1,85 puta jače u odnosu na dejstvo Streptomicina. MIC-e 80 Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 71.

Diluciona

Streptomicin je delovao na sve ispitivane bakterije. Najslabije je delovao protiv *Rhodococcus-a equi* (Break point 89,16 mg/ml, MIC 99 12,7 mg/ml, MIC 90 7,1 mg/ml i MIC 80 5,41 mg/ml), osim u slučaju MBC-e gde je najslabije dejstvo ispoljio na *Trueperella-u pyogenes* (19,91 mg/ml).

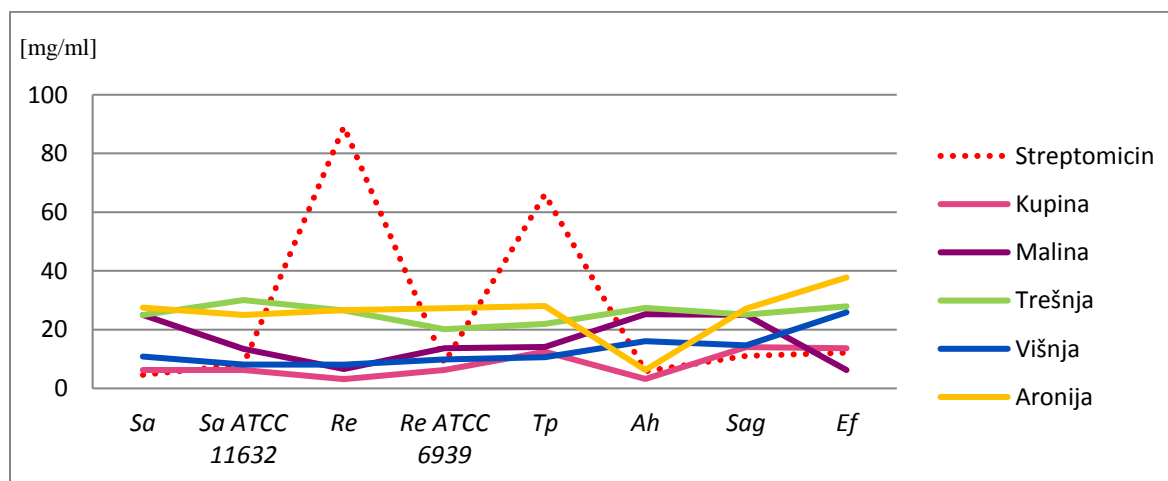
Grafik 71. Dejstvo Streptomicina protiv gram-pozitivnih bakterija ispitivano dilucionom metodom

Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Najjače dejstvo Streptomicin je ispoljio na *Staphylococcus aureus* (Break point 4,61 mg/ml, MBC 4,3 mg/ml, MIC99 2,32 mg/ml i MIC 90 0,005 mg/ml), dok je u slučaju MIC-e 80 najjače dejstvo ispoljio na *Arcanobacterium haemolyticum* (0,000005 mg/ml). Dejstvo Streptomicina protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđeno dilucionom metodom, je prikazano na grafiku 71.

Poređenje sa sokovima

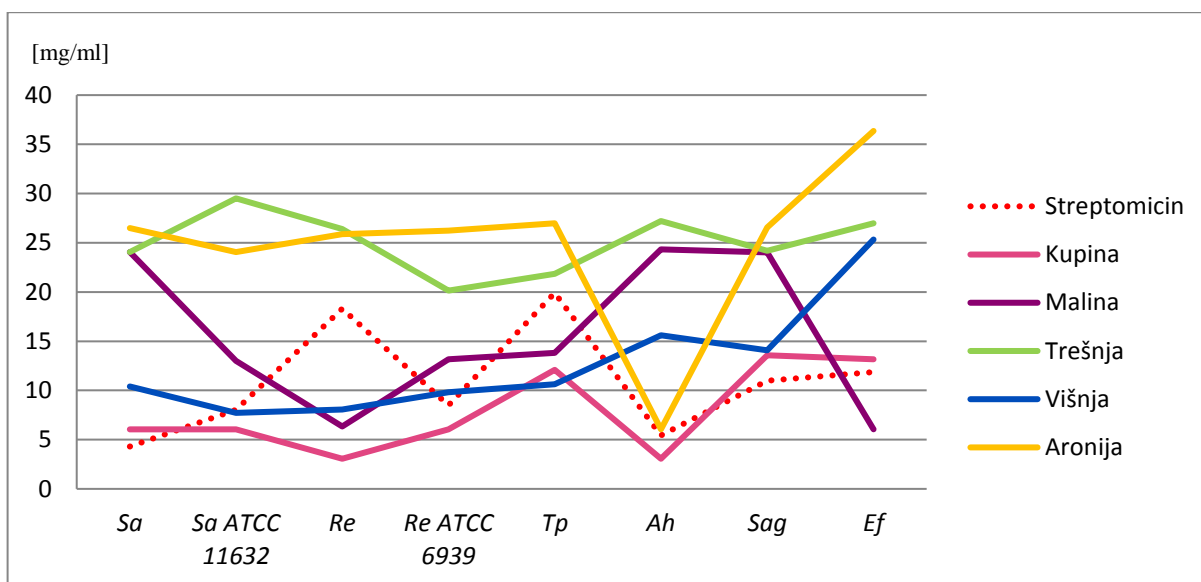
Svi ispitivani sokovi su jače delovali protiv *Rhodococcus-a equi* i *Trueperella-e pyogenes* u odnosu na Streptomicin.

Grafik 72. Poređenje Break point koncentracija Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije

Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Sok kupine je jače delovao i protiv: *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus-a equi* ATCC 6939 i *Arcanobacterium haemolyticum*-a. Sok maline je jače delovao protiv *Enterococcus-a faecalis*. Na sve ostale ispitivane Gram-pozitivne bakterije Streptomicin je ispoljio jače dejstvo. Najveća razlika u dejstvu uočena je protiv *Rhodococcus-a equi*, gde je sok kupine ispoljio 28,3 puta jače dejstvo u odnosu na Streptomicin. Najmanja razlika u dejstvu uočena je protiv *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, na koji je Streptomicin 1,01 put jače delovao u odnosu na sok višnje. Break point vrednosti Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 72.

Grafik 73. Poređenje MBC Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije

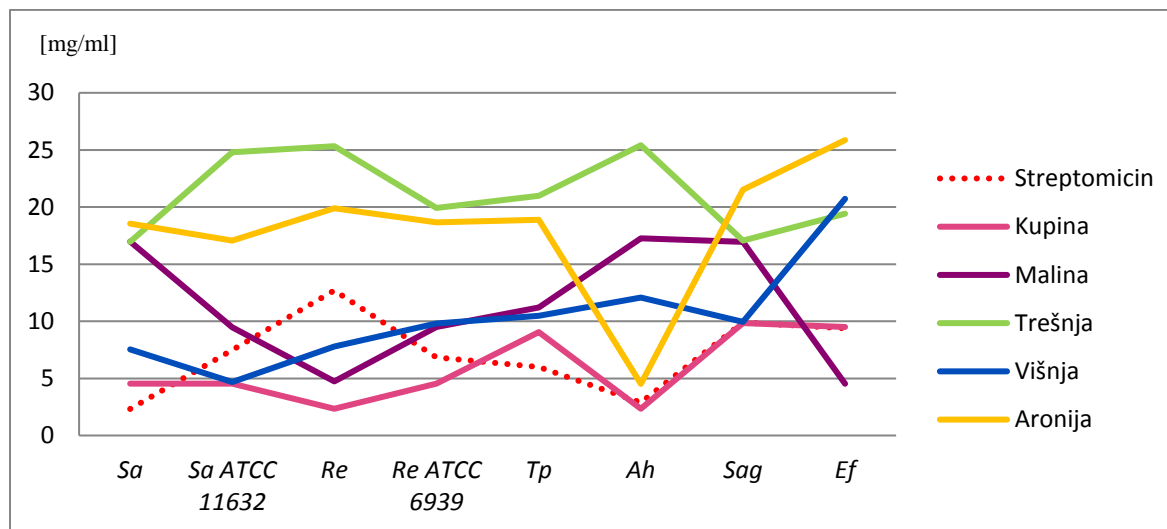


Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Sok kupine je ispoljio jače dejstvo u odnosu na Streptomicin protiv: *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus-a equi*, *Rhodococcus-a equi* ATCC 6939, *Trueperella-e pyogenes* i *Arcanobacterium haemolyticum*-a. Sok maline je jače delovao protiv: *Rhodococcus-a equi*, *Trueperella-e pyogenes* i *Enterococcus-a faecalis*, dok je sok višnje jače delovao protiv: *Rhodococcus-a equi*, *Trueperella-e pyogenes* i *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632. Protiv svih ostalih ispitivanih Gram-pozitivni bakterija je Streptomicin ispoljio jače dejstvo. Najveća razlika u dejstvu uočena je protiv *Staphylococcus aureus*-a, gde je Streptomicin ispoljio 6,16 puta jače dejstvo u odnosu na sok aronije. Najmanja razlika u dejstvu uočena je protiv *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632 na koji je sok višnje 1,04 puta jače delovao u odnosu na Streptomicin. MBC-e Streptomicina i sokova kupine, maline,

trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 73.

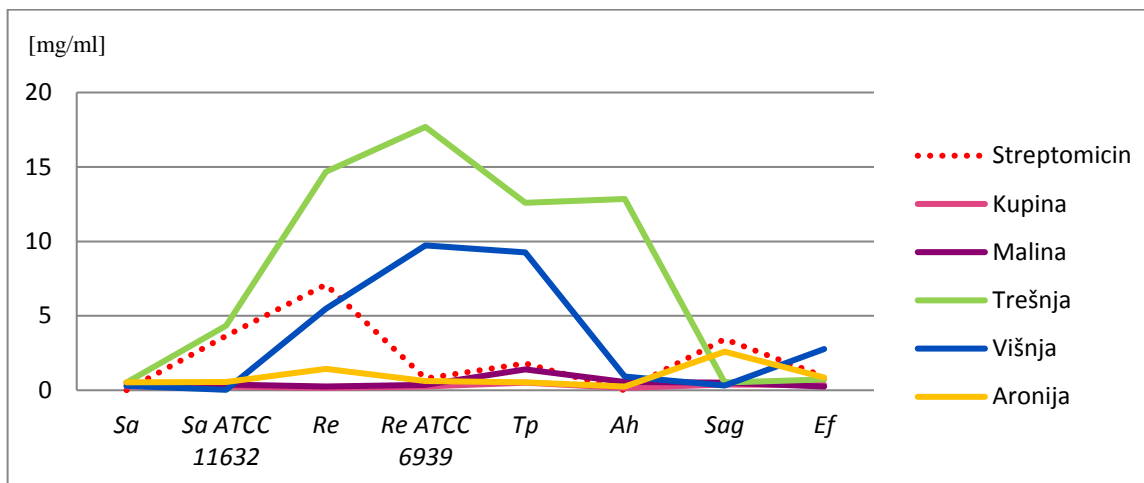
Grafik 74. Poređenje MIC 99 Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Sok kupine je ispoljio jače dejstvo u odnosu na Streptomicin protiv: *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus-a equi*, *Rhodococcus-a equi* ATCC 6939, *Arcanobacterium haemolyticum*-a i *Streptococcus-a agalactiae*. Sok maline je jače delovao protiv: *Rhodococcus-a equi* i *Enterococcus-a faecalis*, dok je sok višnje jače delovao protiv: *Rhodococcus-a equi* i *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632. Na sve ostale ispitivane Gram-pozitivne vrste Streptomicin je ispoljio jače antibakterijsko dejstvo. Najveća razlika u dejstvu uočena je protiv *Arcanobacterium haemolyticum*-a, gde je Streptomicin ispoljio 8,83 puta jače dejstvo u odnosu na sok trešnje. Najmanja razlika u dejstvu uočena je protiv *Enterococcus-a faecalis* i *Streptococcus-a agalactiae*, na koje je Streptomicin 1,01 puta jače delovao u odnosu na sok kupine i višnje. MIC-e 99 Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 74.

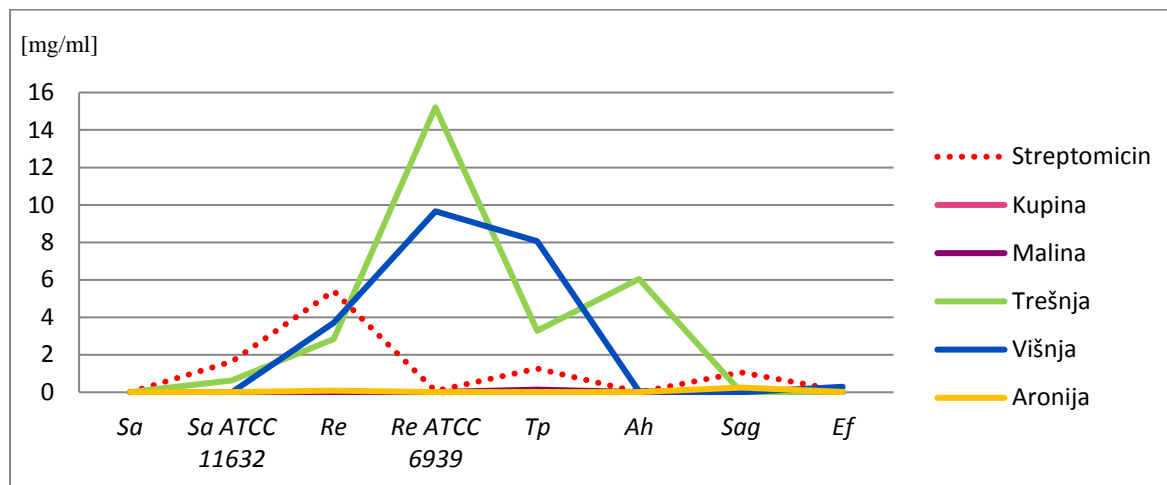
Grafik 75. Poređenje MIC 90 Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Streptomicin je jače antibakterijski delovao na *Staphylococcus aureus* i *Arcanobacterium haemolyticum* u odnosu na sve ispitivane sokove. U odnosu na sok trešnje jače je delovao još i protiv: *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus*-a *equi*, *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939 i *Trueperella*-e *pyogenes*, dok je u odnosu na sok višnje jače delovao protiv: *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939, *Trueperella*-e *pyogenes* i *Enterococcus*-a *faecalis*. Na sve ostale ispitivane Gram-pozitivne sojeve ispitivani sokovi su ispoljili jače antibakterijsko dejstvo. Najveća razlika u dejstvu uočena je protiv *Arcanobacterium haemolyticum*-a, protiv kojeg je Streptomicin ispoljio 2506 puta jače dejstvo u odnosu na sok trešnje. Najmanja razlika u dejstvu uočena je protiv *Enterococcus*-a *faecalis*, protiv kojeg je sok aronije 1,08 puta jače delovao u odnosu na Streptomicin. MIC-e 90 Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 75.

Grafik 76. Poređenje MIC 80 Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije



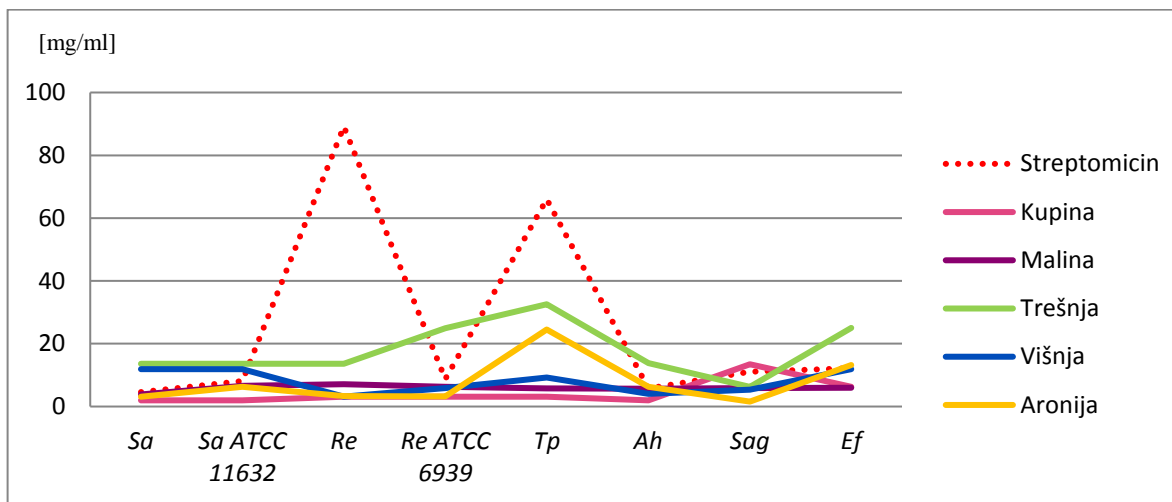
Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Streptomicin je jače delovao protiv *Staphylococcus aureus*-a i *Arcanobacterium haemolyticum*-a u odnosu na sve ispitivane sokove. U odnosu na sok trešnje i višnje jače je delovao još i protiv *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939 i *Trueperella*-e *pyogenes*. Protiv svih ostalih ispitivanih Gram-pozitivnih bakterija ispitivani sokovi su ispoljili jače dejstvo. Najveća razlika u dejstvu uočena je protiv *Arcanobacterium haemolyticum*-a, gde je Streptomicin ispoljio 1342222 puta jače dejstvo u odnosu na sok trešnje. Najmanja razlika u dejstvu uočena je protiv *Rhodococcus*-a *equi* na koji je sok višnje 1,46 puta jače delovao u odnosu na Streptomicin. MIC-e 80 Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 76.

Poređenje sa ekstraktima

Ekstrakt maline je jače delovao u odnosu na Streptomicin protiv svih ispitivanih Gram-pozitivnih bakterija.

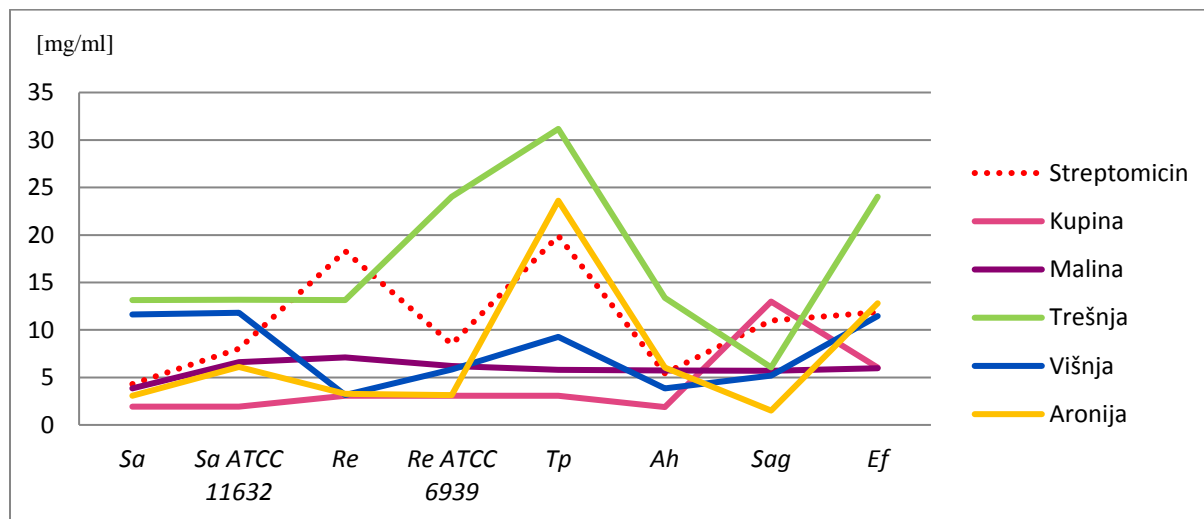
Grafik 77. Poređenje Break point koncentracija Streptomicina i ekstrakta odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Streptomicin je u odnosu na ekstrakt kupine delovao jače samo protiv *Streptococcus-a agalactiae*, a u odnosu na ekstrakt trešnje protiv: *Staphylococcus aureus-a*, *Staphylococcus aureus-a* ATCC 11632, *Rhodococcus-a equi* ATCC 6939, *Arcanobacterium haemolyticum-a* i *Enterococcus-a faecalis*. Jači je bio i od ekstrakta višnje protiv oba ispitivana *Staphylococcus aureus-a*, a u odnosu na ekstrakt aronije protiv *Streptococcus-a agalactiae* i *Enterococcus-a faecalis*. Na sve ostale Gram-pozitivne bakterije ekstrakti su ispoljili jače antibakterijsko delovanje. Najveća razlika u dejstvu je uočena protiv *Rhodococcus-a equi*, na koji su ekstrakt kupine, kao i ekstrakt višnje delovali 28,3 puta jače od Streptomicina. Najmanja razlika u dejstvu je uočena protiv *Arcanobacterium haemolyticum-a* i *Enterococcus-a faecalis*, na koje su ekstrakti maline i višnje delovali 1,02 puta jače od Streptomicina. Break point vrednosti Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 77.

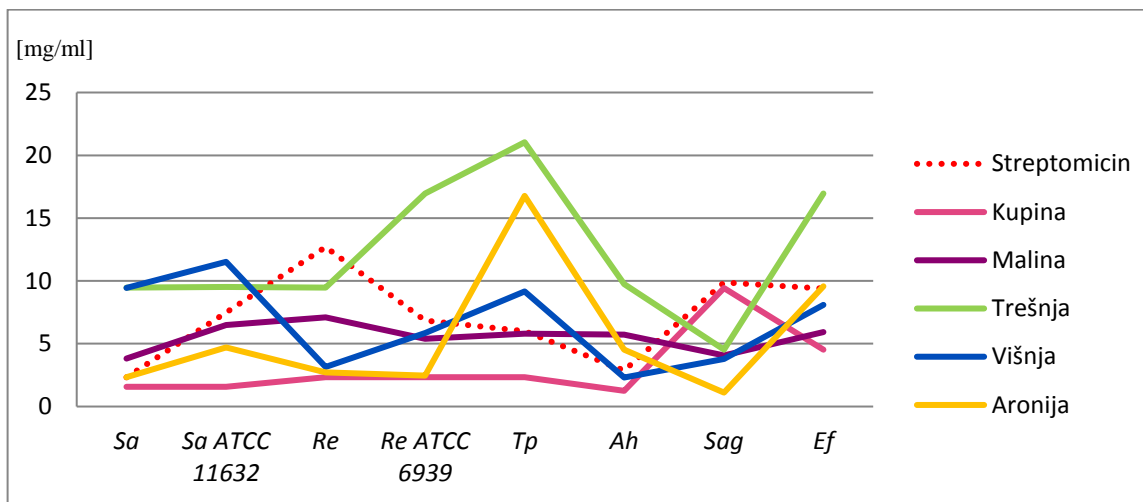
Grafik 78. Poređenje MBC Streptomicina i ekstrakta odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-Staphylococcus aureus, *Sa ATCC 11632-Staphylococcus aureus ATCC 11632*, *Re-Rhodococcus equi*, *Re ATCC 6939-Rhodococcus equi ATCC 6939*, *Tp-Trueperella pyogenes*, *Ah-Arcanobacterium haemolyticum*, *Sag-Streptococcus agalactiae*, *Ef-Enterococcus faecalis*

Streptomicin je u odnosu na ekstrakt kupine delovao jače samo protiv *Streptococcus-a agalactiae*, a u odnosu na ekstrakt maline samo protiv *Arcanobacterium haemolyticum-a*. Od ekstrakta trešnje je Streptomicin bio jači protiv: *Staphylococcus aureus-a*, *Staphylococcus aureus-a ATCC 11632*, *Rhodococcus-a equi ATCC 6939*, *Trueperella-e pyogenes*, *Arcanobacterium haemolyticum-a* i *Enterococcus-a faecalis*. Jači je bio i od ekstrakta višnje protiv oba ispitivana *Staphylococcus aureus-a*, a u odnosu na ekstrakt aronije protiv: *Trueperella-e pyogenes*, *Streptococcus-a agalactiae* i *Enterococcus-a faecalis*. Na sve ostale Gram-pozitivne bakterije ekstrakti su ispoljili jače antibakterijsko delovanje. Najveća razlika u dejstvu je uočena protiv *Trueperella-e pyogenes*, na koju je ekstrakt kupine delovao 6,51 puta jače od Streptomicina. Najmanja razlika u dejstvu je uočena protiv *Enterococcus-a faecalis*, na koju je ekstrakt višnje delovao 1,03 puta jače od Streptomicina. MBC-e Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 78.

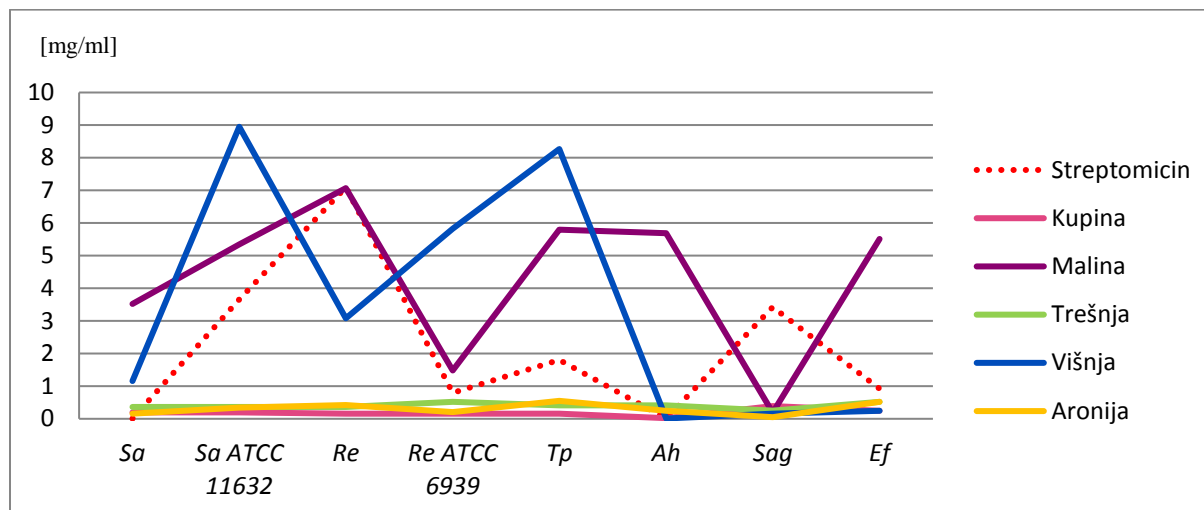
Grafik 79. Poređenje MIC 99 Streptomicina i ekstrakta odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Ekstrakt kupine je jače antibakterijski delovao u odnosu na Streptomicin na sve ispitivane Gram-pozitivne bakterije. Streptomicin je u odnosu na ekstrakt maline delovao jače protiv *Staphylococcus aureus*-a i *Arcanobacterium haemolyticum*-a, a u odnosu na ekstrakt trešnje protiv: *Staphylococcus aureus*-a, *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939, *Trueperella*-e *pyogenes*, *Arcanobacterium haemolyticum*-a i *Enterococcus*-a *faecalis*. Jači je bio i od ekstrakta višnje protiv oba ispitivana *Staphylococcus aureus*-a i *Trueperella*-e *pyogenes*, a u odnosu na ekstrakt aronije protiv: *Staphylococcus aureus*-a, *Trueperella*-e *pyogenes*, *Arcanobacterium haemolyticum*-a i *Enterococcus*-a *faecalis*. Na sve ostale Gram-pozitivne bakterije ekstrakti su ispoljili jače antibakterijsko delovanje. Svi ekstrakti su u manjim koncentracijama ispoljili dejstvo protiv *Streptococcus*-a *agalactiae* u odnosu na Streptomicin. Najveća razlika u dejstvu je uočena protiv *Streptococcus*-a *agalactiae*, na koji je ekstrakt aronije delovao 8,9 puta jače u odnosu na Streptomicin. Nasuprot tome, najmanja razlika u dejstvu je uočena protiv *Staphylococcus aureus*-a, na koji je Streptomicin delovao 1,01 puta jače od ekstrakta aronije. MIC-e 99 Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 79.

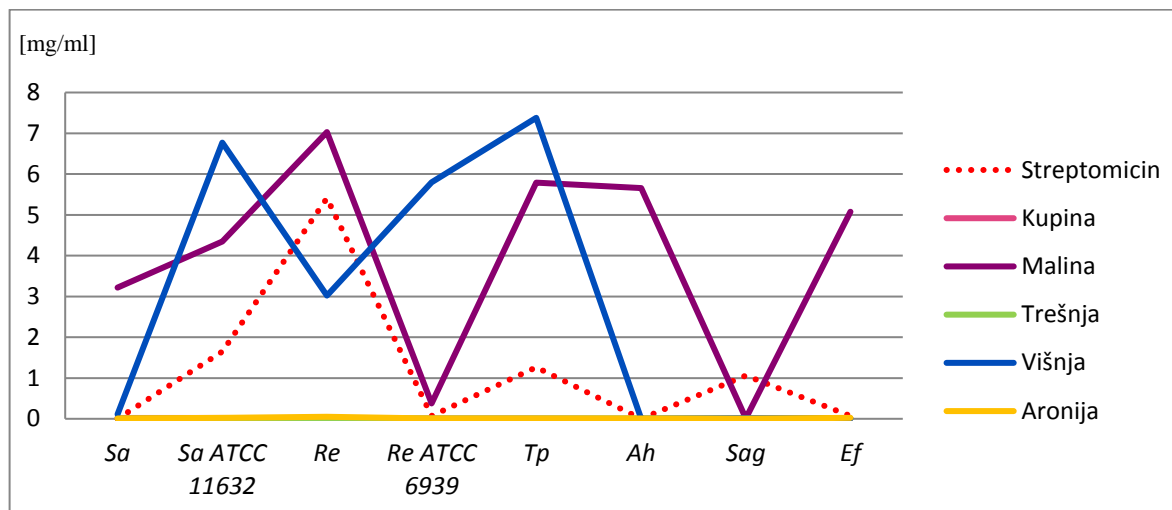
Grafik 80. Poređenje MIC 90 Streptomicina i ekstrakta odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije



Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Na *Rhodococcus equi* i *Streptococcus agalactiae* su jače antibakterijski delovali ispitivani ekstrakti, dok je Streptomicin jače reagovao na *Staphylococcus aureus* i *Arcanobacterium haemolyticum*. Streptomicin je u odnosu na ekstrakt maline jače reagovao još i protiv: *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939, *Trueperella*-e *pyogenes* i *Enterococcus*-a *faecalis*. U odnosu na ekstrakt višnje Streptomicin je jače reagovao još i protiv: *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939 i *Trueperella*-e *pyogenes*. Najveća razlika u dejstvu je uočena protiv *Arcanobacterium haemolyticum*-a, na koji je Streptomicin delovao 1109 puta jače od ekstrakta trešnje. Najmanja razlika u dejstvu je uočena protiv *Enterococcus*-a *faecalis*, na koji je ekstrakt trešnje, kao i ekstrakt aronije delovao 1,78 puta jače od Streptomicina. MIC-e 90 Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 80.

Grafik 81. Poređenje MIC 80 Streptomicina i ekstrakta odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-pozitivne bakterije



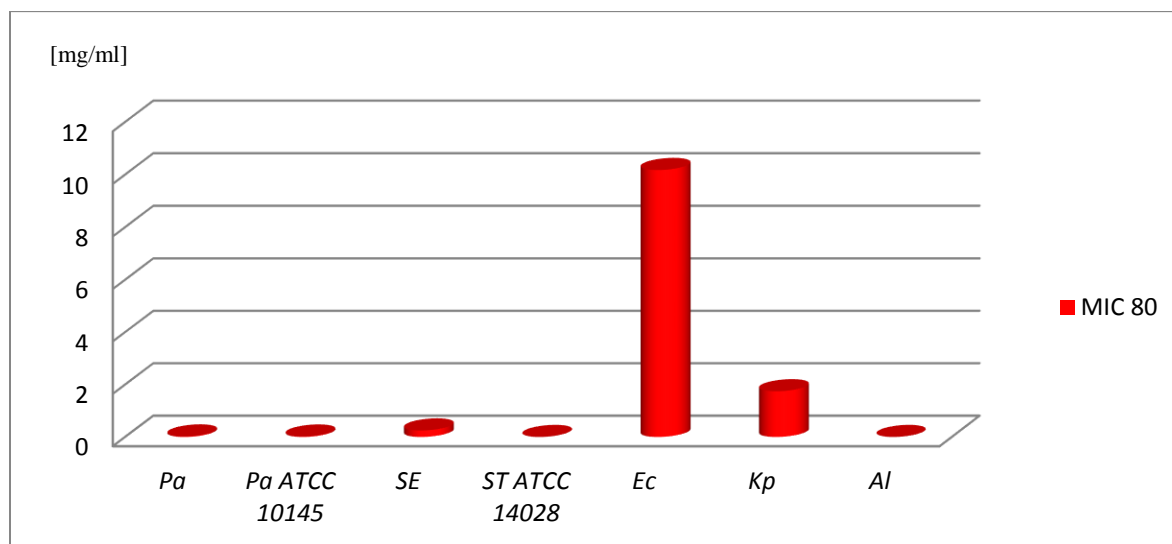
Sa-*Staphylococcus aureus*, Sa ATCC 11632-*Staphylococcus aureus* ATCC 11632, Re-*Rhodococcus equi*, Re ATCC 6939-*Rhodococcus equi* ATCC 6939, Tp-*Trueperella pyogenes*, Ah-*Arcanobacterium haemolyticum*, Sag-*Streptococcus agalactiae*, Ef-*Enterococcus faecalis*

Na *Rhodococcus equi* i *Streptococcus agalactiae* su jače antibakterijski delovali ispitivani ekstrakti, dok je Streptomicin jače reagovao na *Staphylococcus aureus* i *Arcanobacterium haemolyticum*. Streptomicin je u odnosu na ekstrakt maline jače reagovao još i protiv: *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus*-a *equi*, *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939, *Trueperella*-e *pyogenes* i *Enterococcus*-a *faecalis*. U odnosu na ekstrakt višnje Streptomicin je jače reagovao još i protiv: *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939 i *Trueperella*-e *pyogenes*. Najveća razlika u dejstvu je uočena protiv *Arcanobacterium haemolyticum*-a, na koji je Streptomicin delovao 1257777 puta jače od ekstrakta trešnje. Nasuprot tome, najmanja razlika u dejstvu je uočena protiv *Rhodococcus*-a *equi*, na koji je Streptomicin delovao 1,3 puta jače od ekstrakta trešnje. MIC-e 80 Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-pozitivnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 81.

Gram negativne

Difuziona

Streptomicin je antibakterijski delovao na sve ispitivane bakterije.

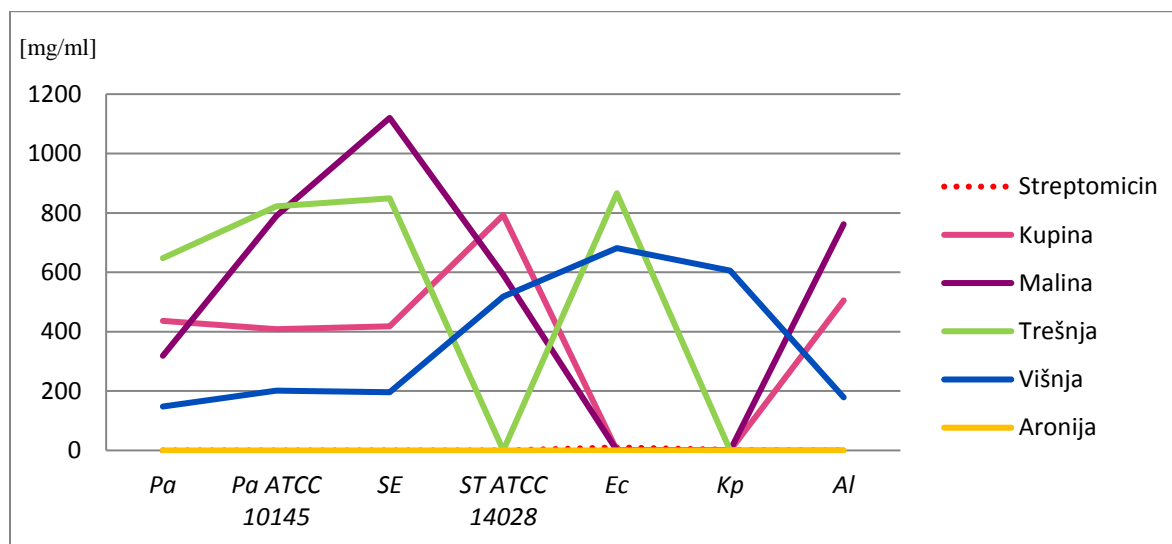
Grafik 82. Dejstvo Streptomicina protiv gram-negativnih bakterija ispitivano difuzionom metodom

Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, *Pa* ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *SE*-*Salmonella* Enteritidis, *ST* ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Ec*-*Escherichia coli*, *Kp*-*Klebsiella pneumoniae*, *Al*-*Acinetobacter lwoffii*

Najslabije dejstvo je ispoljeno protiv *Escherichia-e coli* (MIC 80 10,17 mg/ml), dok je najjače delovao protiv *Salmonella-e* Typhimurium ATCC 14028 (MIC 80 0,0001 mg/ml). MIC-e 80 Streptomicina protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 82.

Poređenje sa sokovima

Streptomicin je jače delovao protiv ispitivanih bakterija u odnosu na ispitivane sokove.

Grafik 83. Poređenje dejstava Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae protiv gram-negativnih bakterija ispitivano difuzionom metodom

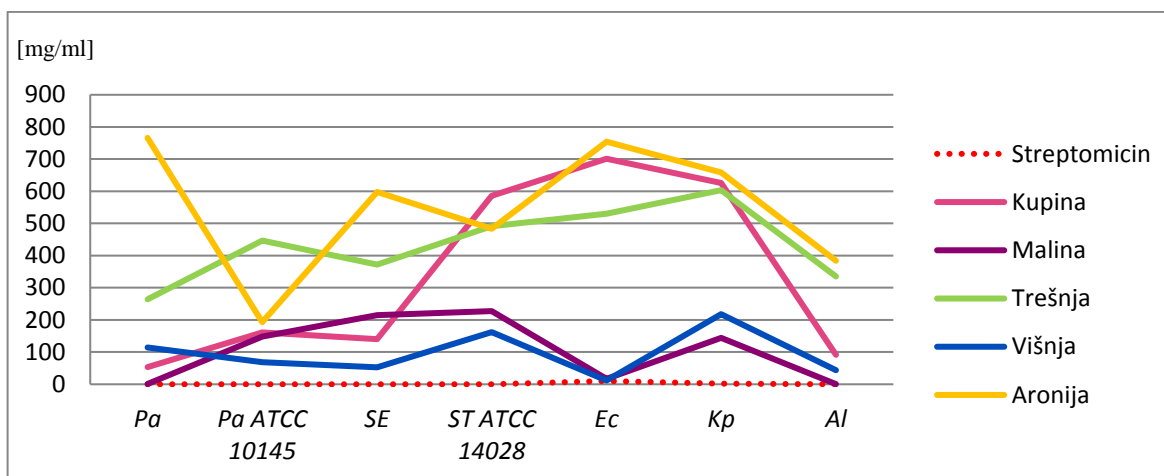
Pa-Pseudomonas aeruginosa, *Pa* ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *SE-Salmonella* Enteritidis, *ST* ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Ec-Escherichia coli*, *Kp-Klebsiella pneumoniae*, *Al-Acinetobacter lwoffii*

Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i sokova uočena je za sok kupine protiv *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028, protiv koje je Streptomicin ispoljio 7867463 puta jače dejstvo. Najmanja razlika bila je za sok višnje protiv *Escherichia-e coli*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 66,97 puta jače. MIC-e 80 Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 83.

Poređenje sa ekstraktima

Streptomicin je ispoljio jače antibakterijsko dejstvo na sve ispitivane bakterije u odnosu na ispitivane ekstrakte.

Grafik 84. Poređenje dejstava Streptomicina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae protiv gram-negativnih bakterija ispitivano difuzionom metodom

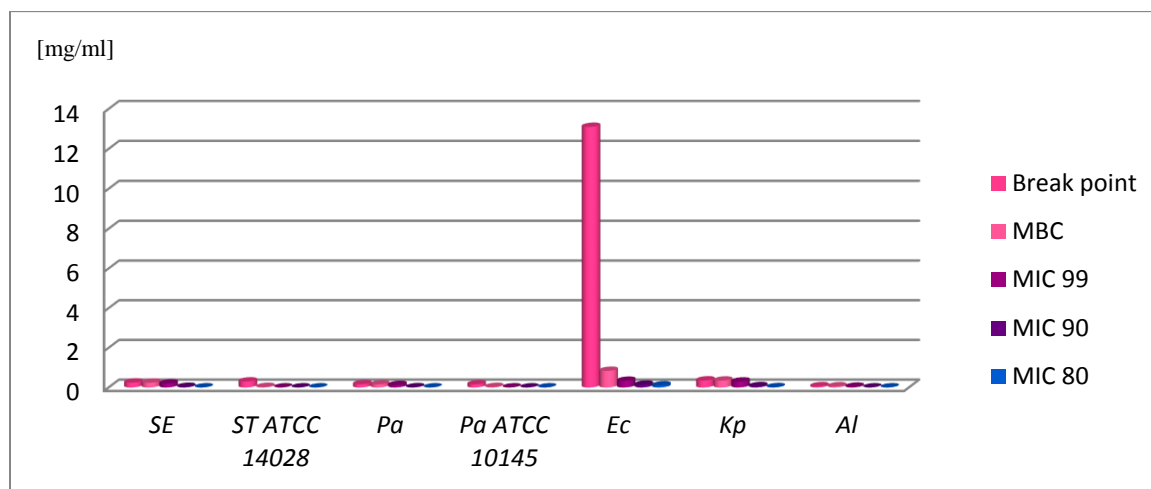


Pa-Pseudomonas aeruginosa, *Pa* ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *SE-Salmonella* Enteritidis, *ST* ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Ec-Escherichia coli*, *Kp-Klebsiella pneumoniae*, *Al-Acinetobacter lwoffii*

Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i ekstrakata uočena je za ekstrakt kupine protiv *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028, gde je Streptomicin ispoljio 5815206 puta jače dejstvo u odnosu na ekstrakt kupine. Najmanja razlika bila je za ekstrakt višnje protiv *Escherichia-e coli*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 1,16 puta jače. MIC-e 80 Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 84.

Diluciona

Streptomicin je antibakterijski delovao na sve ispitivane bakterije, osim MIC 80 na *Escherichia-u coli* u odnosu na sokove višnje i aronije i *Klebsiella-u pneumoniae* u odnosu na sok kupine, gde su sokovi imali jače antibakterijsko dejstvo.

Grafik 85. Dejstvo Streptomicina protiv gram-negativnih bakterija ispitivano dilucionom metodom

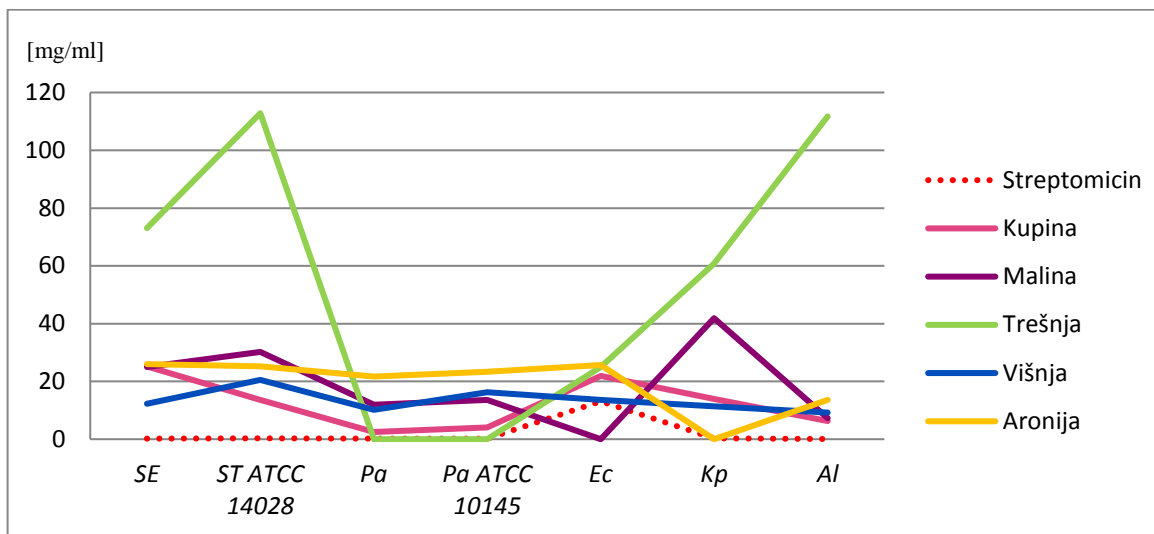
SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Najslabije dejstvo je ispoljeno protiv *Escherichia-e coli* (Break point 13,09 mg/ml, MBC 0,83 mg/ml, MIC 99 0,33 mg/ml, MIC 90 0,13 mg/ml, MIC 80 0,1 mg/ml). Najmanji Break point i MIC-u 80 Streptomycin je imao na *Acinetobacter lwoffii* (0,06 mg/ml i 0,0000016 mg/ml, respektivno), MBC-u i MIC-u 99 na *Pseudomonas aeruginosa*-u ATCC 10145 (0,02 mg/ml i 0,003 mg/ml, respektivno), a MIC-u 90 na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028 (0,0001 mg/ml). Dejstvo Streptomicina protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđeno dilucionom metodom, je prikazano na grafiku 85.

Poređenje sa sokovima

Streptomycin je na sve Gram-negativne bakterije ispoljio jače dejstvo u odnosu na ispitivane sokove.

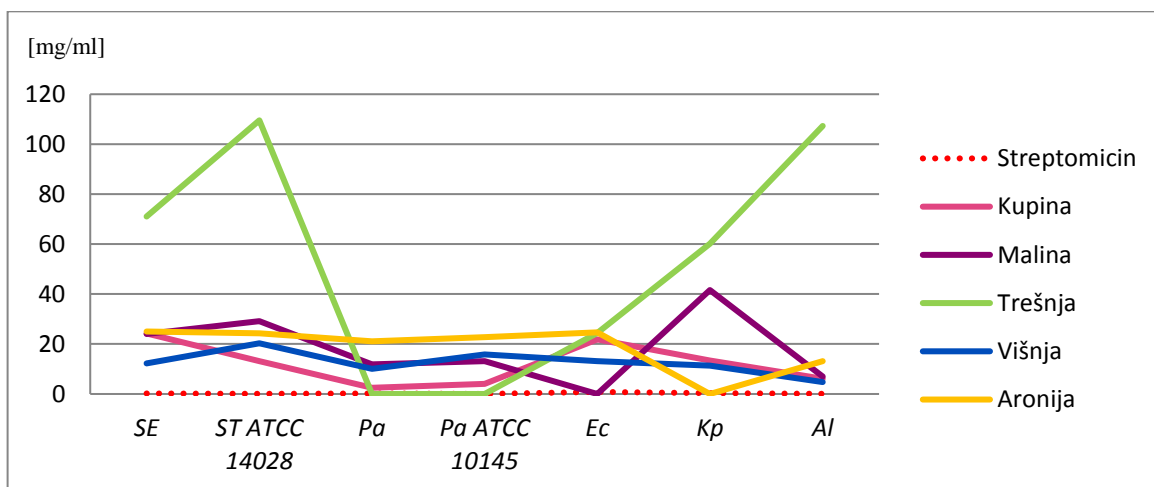
Grafik 86. Poređenje Break point koncentracija Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Streptomicin je protiv svih Gram-negativnih bakterija delovao u manjim Break point koncentracijama u odnosu na ispitivane sokove. Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i sokova uočena je protiv *Acinetobacter-a lwoffii*, gde je Streptomicin ispoljio 1912 puta jače dejstvo u odnosu na sok trešnje. Najmanja razlika bila je za sok višnje protiv *Escherichia-e coli*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 1,03 puta jače u odnosu na sok višnje. Break point vrednosti Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 86.

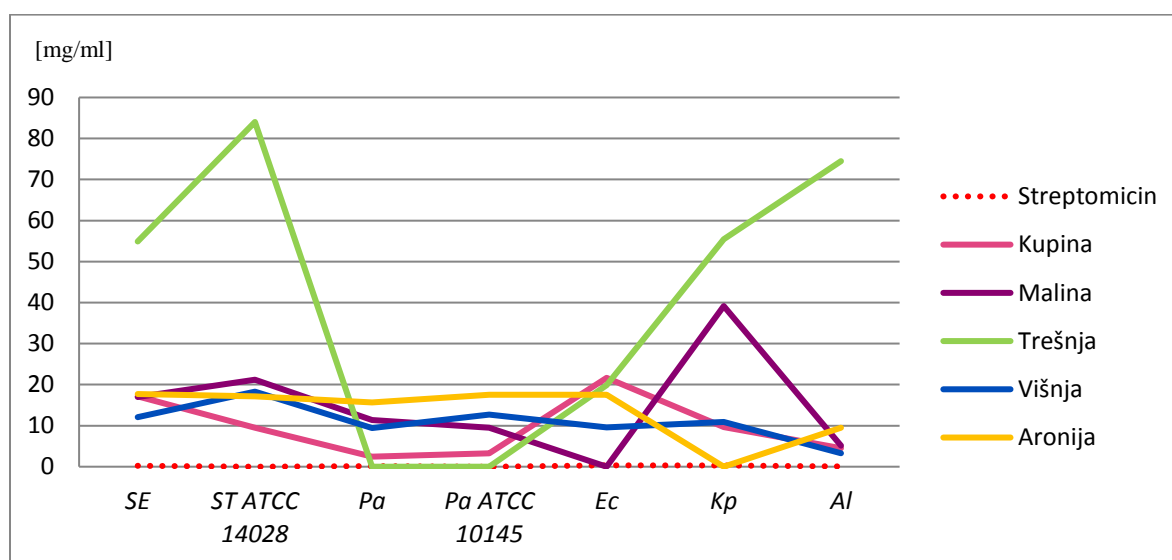
Grafik 87. Poređenje MBC Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Streptomycin je protiv svih Gram-negativnih bakterija delovao u manjim MBC-ama u odnosu na ispitivane sokove. Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i sokova uočena je protiv *Salmonella-e* Typhimurium ATCC 14028, gde je Streptomycin ispoljio 5231 puta jače dejstvo u odnosu na sok trešnje. Najmanja razlika bila je za sok višnje protiv *Escherichia-e coli*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 15,73 puta jače u odnosu na sok višnje. MBC-e Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 87.

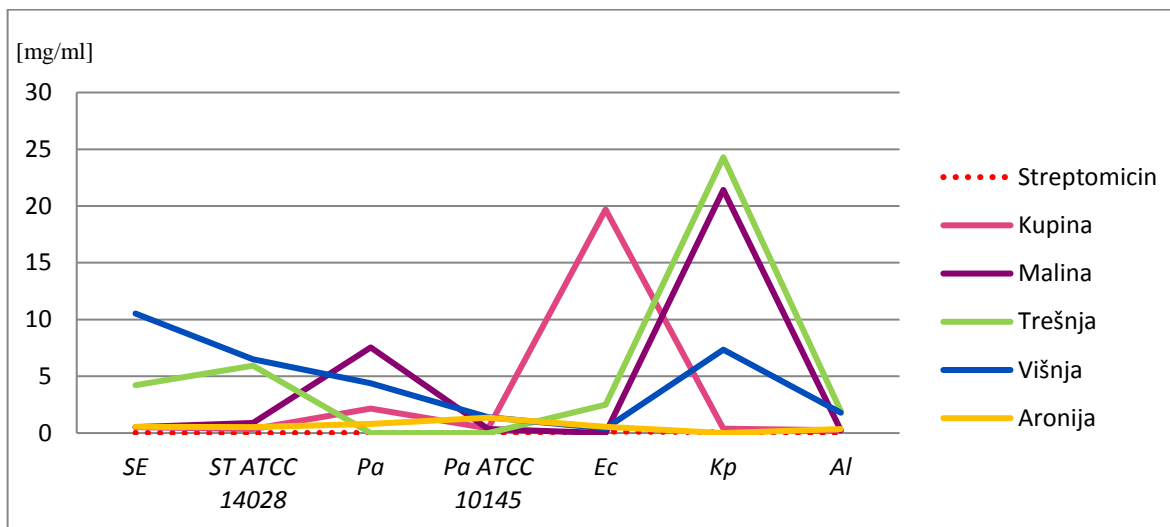
Grafik 88. Poređenje MIC 99 Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Streptomycin je protiv svih Gram-negativnih bakterija delovao u manjim MIC-ama 99 u odnosu na ispitivane sokove. Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i sokova uočena je protiv *Salmonella-e* Typhimurium ATCC 14028, gde je Streptomycin ispoljio 57163 puta jače dejstvo u odnosu na sok trešnje. Najmanja razlika bila je za sok kupine protiv *Pseudomonas aeruginosa-e*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 20,63 puta jače u odnosu na sok kupine. MIC-e 99 Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 88.

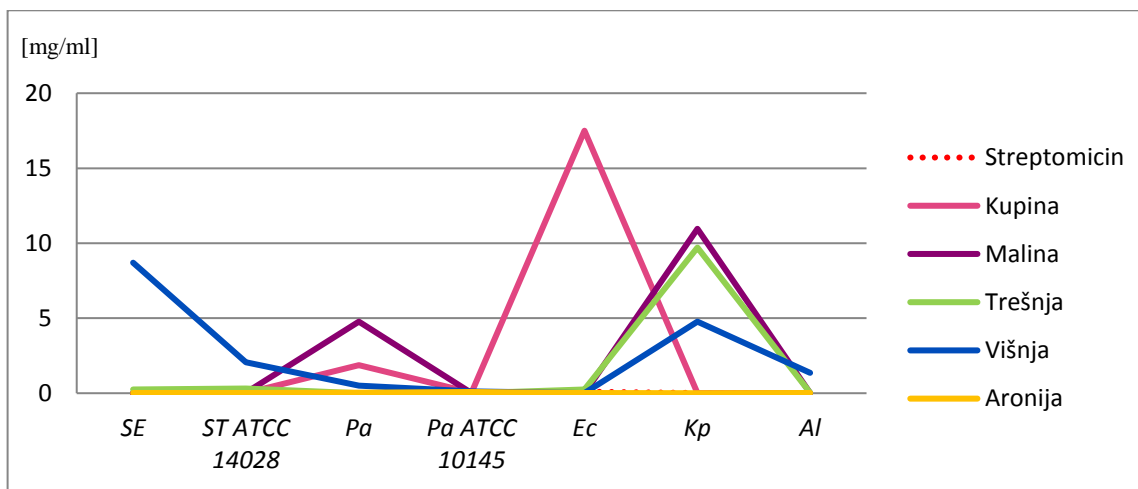
Grafik 89. Poređenje MIC 90 Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Streptomicin je protiv svih Gram-negativnih bakterija delovao u manjim MIC-ama 90 u odnosu na ispitivane sokove. Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i sokova uočena je protiv *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028, gde je Streptomicin ispoljio 65000 puta jače dejstvo u odnosu na sok višnje. Slično tome, najmanja razlika bila je za sok višnje protiv *Escherichia*-e coli, gde je dejstvo Streptomicina bilo 3,08 puta jače u odnosu na sok višnje. MIC-e 90 Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 89.

Grafik 90. Poređenje MIC 80 Streptomicina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije



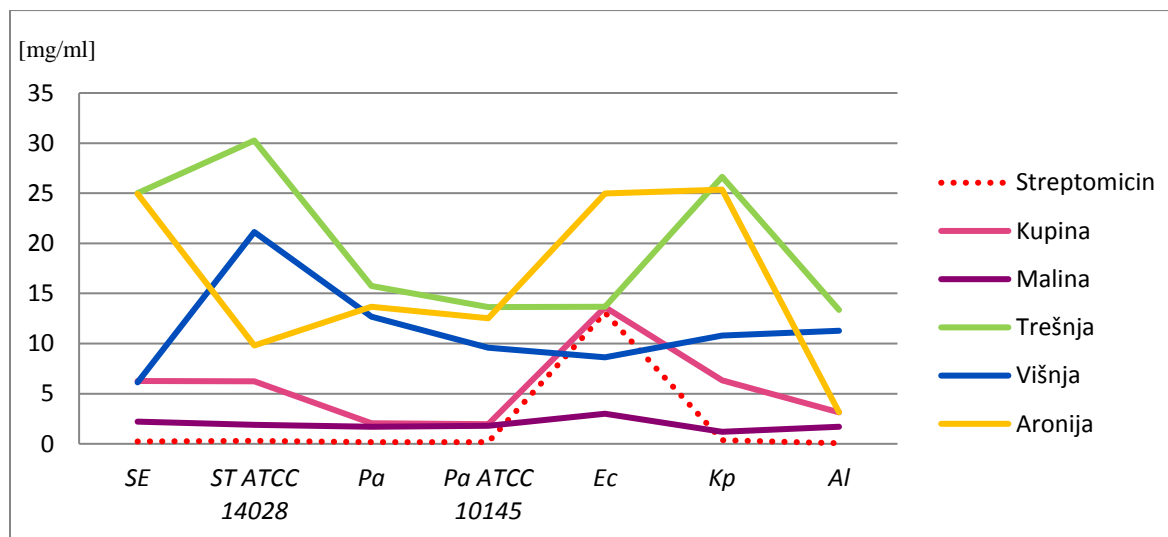
SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Streptomycin je na sve Gram-negativne bakterije delovao u manjim MIC-ama 80 u odnosu na ispitivane sokove, osim na *Escherichia-u coli* u odnosu na sokove višnje i aronije i *Klebsiella-u pneumoniae* u odnosu na sok kupine, gde su sokovi imali jače antibakterijsko dejstvo. Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i sokova uočena je protiv *Acinetobacter-a lwoffii*, gde je Streptomycin ispoljio 850000 puta jače dejstvo u odnosu na sok višnje. Najmanja razlika bila je za sok kupine protiv *Klebsiella-e pneumoniae*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 1,12 puta jače u odnosu na sok kupine. MIC-e 80 Streptomicina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 90.

Poređenje sa ekstraktima

Streptomycin je protiv svih Gram-negativnih bakterije ispoljio jače dejstvo u odnosu na ispitivane ekstrakte, osim: Break point koncentracija na *Escherichia-u coli* u odnosu na ekstrakte maline i višnje, MIC-e 90 na *Escherichia-u coli* u odnosu na ekstrakt višnje i MIC 80 na *Escherichia-u coli* u odnosu na ekstrakte kupine, trešnje, višnje i aronije i na *Klebsiella-u pneumoniae* u odnosu na ekstrakte kupine i aronije, za koje su ekstrakti ispoljili jače dejstvo.

Grafik 91. Poređenje Break point koncentracija Streptomicina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije

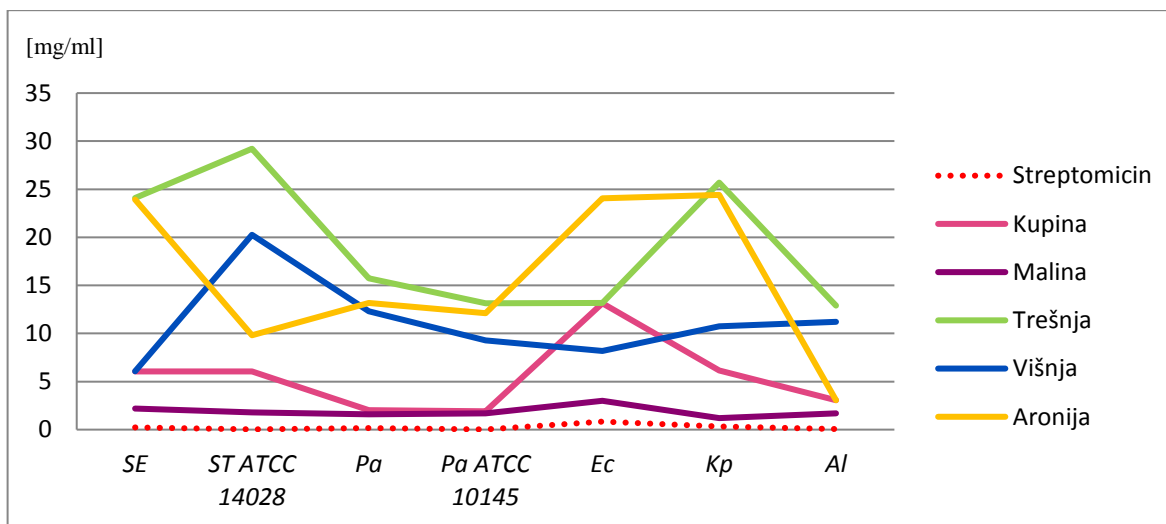


SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Streptomycin je na sve Gram-negativne bakterije delovao u manjim Break point koncentracijama u odnosu na ispitivane ekstrakte, osim na *Escherichia-u coli* u odnosu na ekstrakte višnje i maline, koji su imali jače antibakterijsko dejstvo. Najveća razlika u dejstvu

Streptomicina i ekstrakata uočena je protiv *Acinetobacter*-a *lwoffii*, gde je Streptomicin ispoljio 228,7 puta jače dejstvo u odnosu na ekstrakt trešnje. Najmanja razlika uočena je za ekstrakte kupine i trešnje protiv *Escherichia*-e *coli*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 1,04 puta jače u odnosu na dejstva ekstrakata ovih biljaka. Break point vrednosti Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 91.

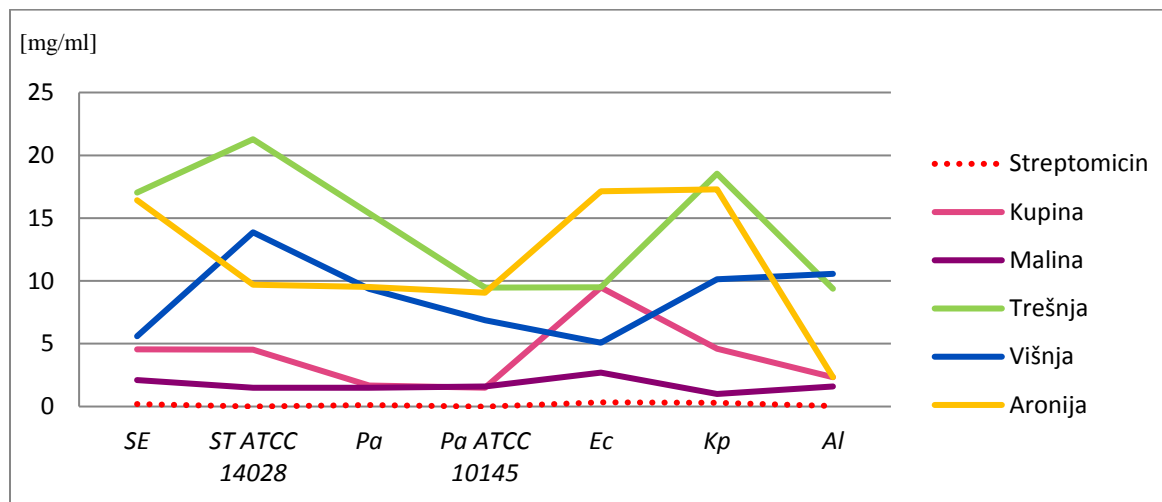
Grafik 92. Poređenje MBC Streptomicina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije



SE-*Salmonella* Enteritidis, ST ATCC 14028-*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, Pa-*Pseudomonas aeruginosa*, Pa ATCC 10145-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, Ec-*Escherichia coli*, Kp-*Klebsiella pneumoniae*, Al-*Acinetobacter lwoffii*

Streptomicin je na sve Gram-negativne bakterije delovao u manjim MBC-ama u odnosu na ispitivane ekstrakte. Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i ekstrakata uočena je protiv *Salmonella*-e Typhimurium ATCC 14028, gde je Streptomicin ispoljio 1394 puta jače dejstvo u odnosu na ekstrakt trešnje. Najmanja razlika uočena je za ekstrakt maline protiv *Klebsiella*-e *pneumoniae*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 3,49 puta jače u odnosu na ekstrakt ove biljke. MBC-e Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 92.

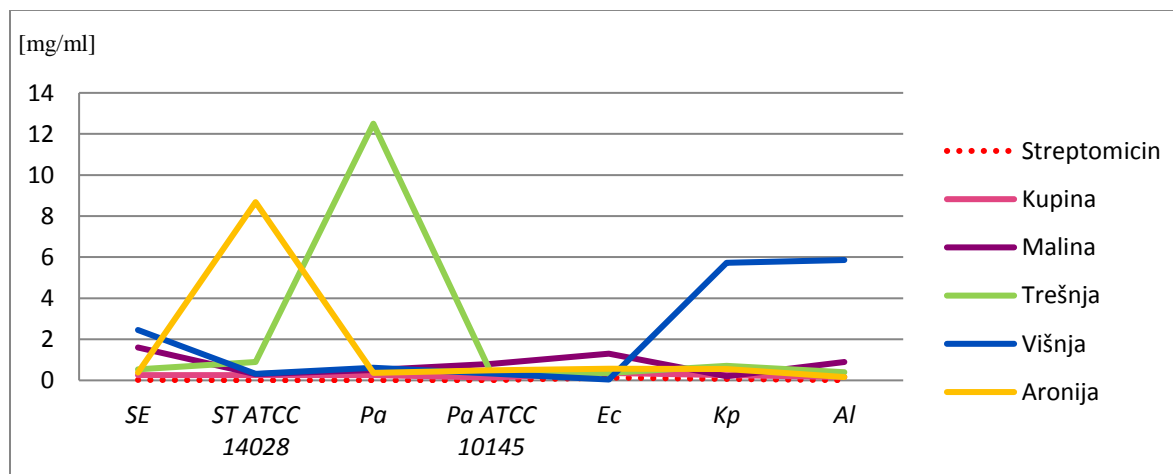
Grafik 93. Poređenje MIC 99 Streptomicina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffi

Streptomicin je na sve Gram-negativne bakterije delovao u manjim MIC-ama 99 u odnosu na ispitivane ekstrakte. Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i ekstrakata uočena je na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028 gde je Streptomicin ispoljio 9435 puta jače antibakterijsko dejstvo u odnosu na ekstrakt višnje. Najmanja razlika bila je za ekstrakt maline protiv *Klebsiella-e pneumoniae*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 3,39 puta jače u odnosu na ekstrakt ove biljke. MIC-e 99 Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 93.

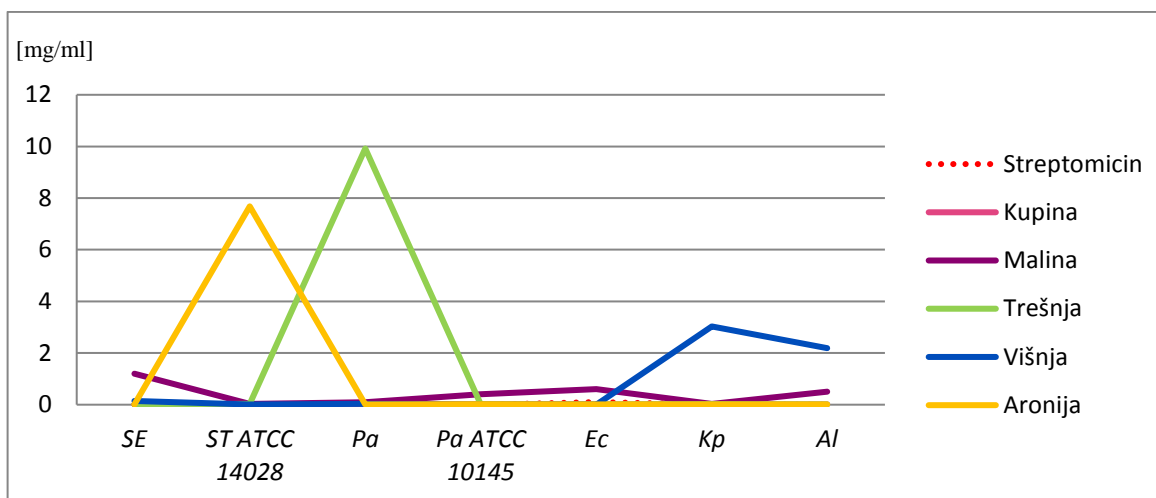
Grafik 94. Poređenje MIC 90 Streptomicina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Streptomycin je na sve Gram-negativne bakterije ispoljio jače dejstvo, osim na *Escherichia-u coli* u odnosu na ekstrakt višnje, na koju je ekstrakt ove biljke jače antibakterijski delovao. Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i ekstrakata uočena je protiv *Salmonella-e Typhimurium ATCC 14028*, gde je Streptomycin ispoljio 86800 puta jače dejstvo u odnosu na ekstrakt aronije. Najmanja razlika bila je na ekstrakte kupine i trešnje protiv *Escherichia-e coli*, gde je dejstvo Streptomicina bilo 2,71 put jače u odnosu na ekstrakte ovih biljaka. MIC-e 90 Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 94.

Grafik 95. Poređenje MIC 80 Streptomicina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na testirane gram-negativne bakterije



SE-Salmonella Enteritidis, ST ATCC 14028-Salmonella Typhimurium ATCC 14028, Pa-Pseudomonas aeruginosa, Pa ATCC 10145-Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145, Ec-Escherichia coli, Kp-Klebsiella pneumoniae, Al-Acinetobacter lwoffii

Streptomycin je na sve Gram-negativne bakterije ispoljio jače dejstvo, osim na *Escherichia-u coli* u odnosu na ekstrakt kupine, trešnje, višnje i aronije, kao i na *Klebsiella-u pneumoniae* u odnosu na ekstrakte kupine i aronije, na koje su ekstrakti ovih biljaka jače antibakterijski delovali. Najveća razlika u dejstvu Streptomicina i ekstrakata uočena je protiv *Acinetobacter-a lwoffii*, gde je Streptomycin ispoljio 1368750 puta jače dejstvo u odnosu na ekstrakt višnje. Najmanja razlika uočena je za ekstrakte kupine i aronije protiv *Klebsiella-e pneumoniae*, gde je dejstvo ovih ekstrakata u odnosu na Streptomicina bilo 1,12 puta jače. MIC-e 80 Streptomicina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv Gram-negativnih bakterija, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 95.

Antifungalno dejstvo

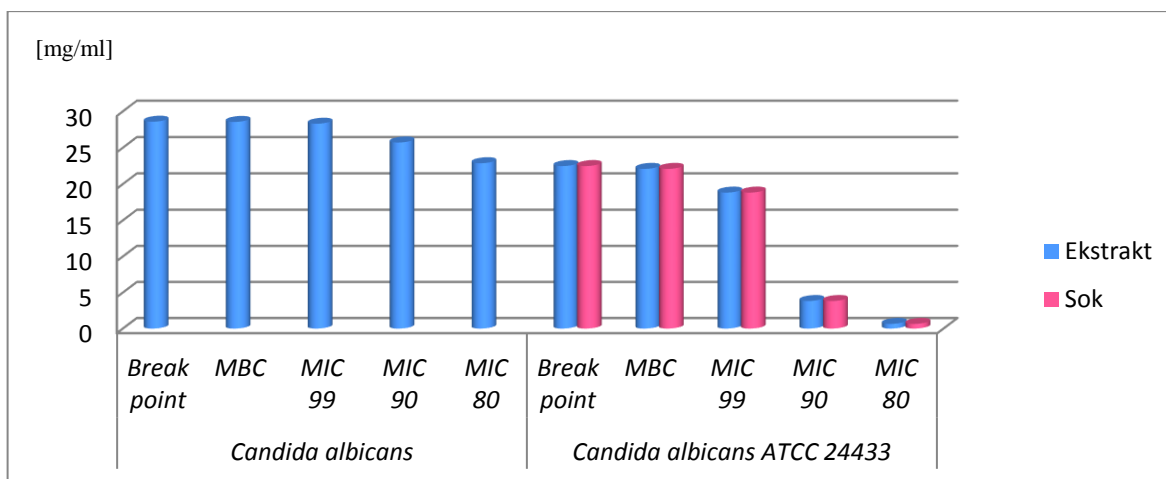
Difuzionom metodom nije zabeleženo antifungalno dejstvo ekstrakata i sokova plodova ispitivanih biljaka, osim dejstva ekstrakta maline na *Candida-u albicans* ATCC 24433. Diluciona metoda je efikasnija za dokazivanje antifungalnog dejstva, jer su uz pomoć nje određene antifungalne aktivnosti ispitivanih supstanci. Na autohtoni soj *Candida-e albicans* su delovali samo ekstrakti kupine i trešnje, dok su antifungalnu aktivnost na *Candida-u albicans* ATCC 24433 ispoljili svi ispitivani sokovi i ekstrakti, osim soka aronije. Takođe, koncentracije u kojima su ekstrakti kupine i trešnje delovali antifungalno na autohtoni soj *Candida-e albicans* bile su veće od koncentracija kojima su isti ekstrakti delovali na *Candida-u albicans* ATCC 24433. Stoga, možemo zaključiti da je autohtoni soj *Candida-e albicans* bio rezistentniji od *Candida-e albicans* ATCC 24433, a diluciona metoda pogodnija za ispitivanje antifungalnog dejstva sokova i ekstrakata. Sokovi višnje i trešnje su ispoljili identično dejstvo na ispitivane gljivice.

Rezultati antifungalne analize izvedene difuzionom metodom su prikazani u Prilogu 5., a rezultati antifungalne analize izvedene dilucionom metodom su prikazani u Prilogu 6.

Kupina

Difuziona metoda, sprovedena u okviru ove disertacije, nije pokazala antifungalno dejstvo kupine na *Candida-u albicans*. Ovakvi rezultati su u skladu sa nalazima Riaz i sar., koji su dokazali izostanak antifungalne aktivnosti metanolnog ekstrakta kupine na istu gljivičnu vrstu, pri ispitivanju disk difuzionom metodom (167).

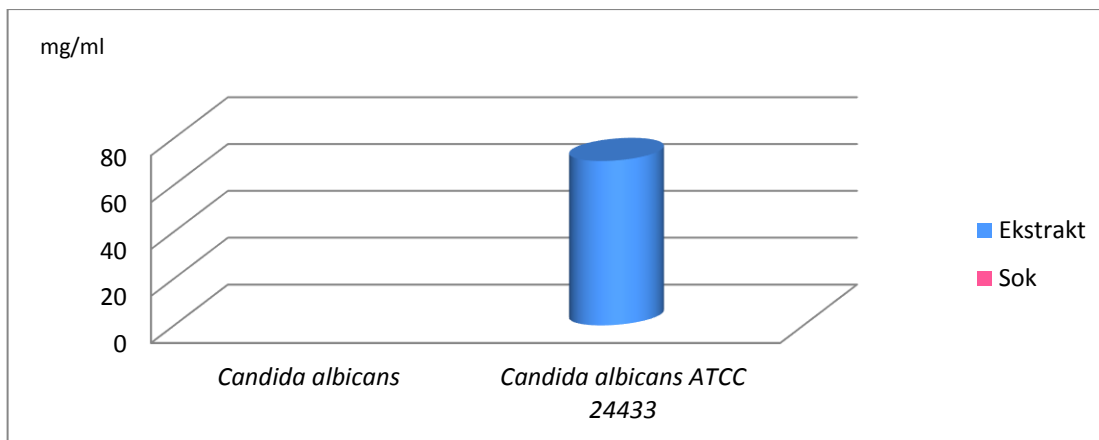
Diluciona metoda je, za razliku od difuzione, pokazala antifungalnu aktivnost kupine na *Candida-u albicans*. Ekstrakt i sok kupine su pri ispitivanju dilucionom metodom ispoljili antifungalno dejstvo na autohtoni soj *Candida-e albicans*, dok je na *Candida-u albicans* ATCC 24433 delovao samo sok. Dejstvene koncentracije ekstrakta kupine na autohtoni soj *Candida-e albicans* su bile u rasponu od 22,86 mg/ml (MIC 80) do 28,57 mg/ml (Break point). Sok i ekstrakt kupine su na *Candida-u albicans* ATCC 24433 delovali u identičnim koncentracijama u opsegu od 0,65 mg/ml (MIC 80) do 22,47 mg/ml (Break point). Rezultati ispitivanja osetljivosti testiranih gljivica, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok kupine su prikazani na grafiku 96.

Grafik 96. Dejstvo ekstrakta i soka kupine protiv gljivica ispitivano dilucionom metodom

Krisch i sar. su dokazali jednake antifungalne efekte vodenog i metanolnog ekstrakta kupine na *Candida*-u *albicans* dilucionom metodom (174). Jednako dejstvo ekstrakta i soka protiv *Candida*-e *albicans* ATCC 24433 je takođe uočeno u okviru ove disertacije. Međutim, protiv autohtonog soja *Candida*-e *albicans* je dokazana jača snaga etanolnog ekstrakta kupine u odnosu na sok, koji nije delovao u ispitivanim koncentracijama. Razlike u dejstvima mogu poticati od razlika u hemijskom sastavu plodova, ekstrakcionom sredstvu, načinu ekstrakcije i rezistentnosti sojeva.

Malina

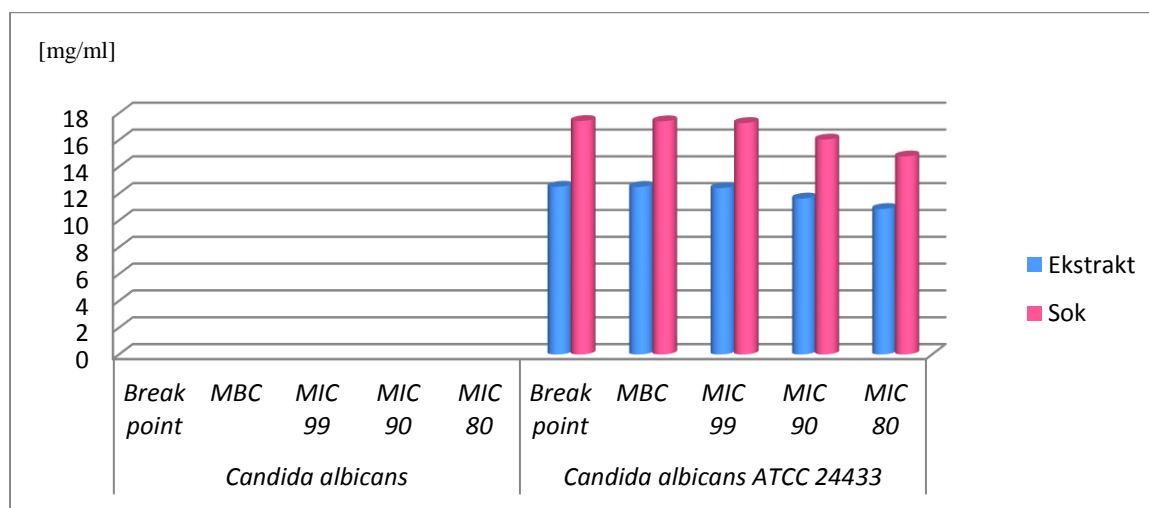
Difuziona metoda, sprovedena u okviru ove studije, pokazala je antifungalno dejstvo ekstrakta maline na referentni soj *Candida*-e *albicans* ATCC 24433. Od ispitivanog voća, jedino je ekstrakt maline ispoljio antifungalno dejstvo pri ispitivanju difuzionom metodom. MIC-e 80 ekstrakta i soka maline protiv testiranih gljivica, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 97.

Grafik 97. Dejstvo ekstrakta i soka maline protiv gljivica ispitivano difuzionom metodom

Rauha i sar. su dokazali aktivnost metanolnog rastvora acetonskog ekstrakta maline koncentracije 1 mg/ml protiv *Candida-e albicans* ATCC 10231. Zona inhibicije utvrđena u istraživanju navedenih autora je bila 1-3 mm veća od kontrole čistog metanola (173). Međutim, u okviru ove disertacije, zona inhibicije 1 mm je utvrđena pri znatno većoj koncentraciji ekstrakta maline (70,16 mg/ml). Oko 70 puta slabije dejstvo se može tumačiti drugačijom senzitivnosti dva različita ATCC soja *Candida-e albicans*, razlikama u hemijskom sastavu plodova, načinu obrade, kao i metodama ispitivanja. U skladu sa nalazima ovog ispitivanja, Vulić i sar. su takođe zabeležili izostanak antifungalne aktivnosti metanolnog ekstrakata smrznutih plodova maline na autohtoni soj *Candida-e albicans* (28).

Diluciona metoda, sprovedena u okviru ove studije, je potvrdila rezultat ekstrakta dobijen difuzionom metodom. Ni ekstrakt ni sok maline nisu ispoljili antifungalno dejstvo na autohtoni soj *Candida-e albicans* dilucionom metodom. Nasuprot tome, protiv *Candida-e albicans* ATCC 24433 su delovali i ekstrakt i sok mline. Ekstrakt je ispoljio jače dejstvo u odnosu na sok, jer je delovao u koncentracijama od 10,85 mg/ml (MIC 80) do 12,51 mg/ml (Break point), a sok od 14,77 mg/ml (MIC 80) do 17,41 mg/ml (Break point).

Grafik 98. Dejstvo ekstrakta i soka maline protiv gljivica ispitivano dilucionom metodom



U jednoj od prethodnih studija je ispitivano dejstvo 100% čistog ceđenog soka i ekstrakta maline na autohtoni soj *Candida-e albicans* i dokazano umereno antifungalno dejstvo (182). Izostanak antifungalnog dejstva na istu bakterijsku vrstu u ovoj studiji može se tumačiti manjom koncentracijom aktivnih materija u razblaženim uzorcima i drugačijom senzitivnošću različitih autohtonih sojeva. Ovakva zapažanja mogu poslužiti kao izvor za buduća ispitivanja efektivne koncentracije soka maline na autohtoni soj *Candida-e albicans*. Rezultati ispitivanja osetljivosti testiranih gljivica, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok maline su prikazani na grafiku 98.

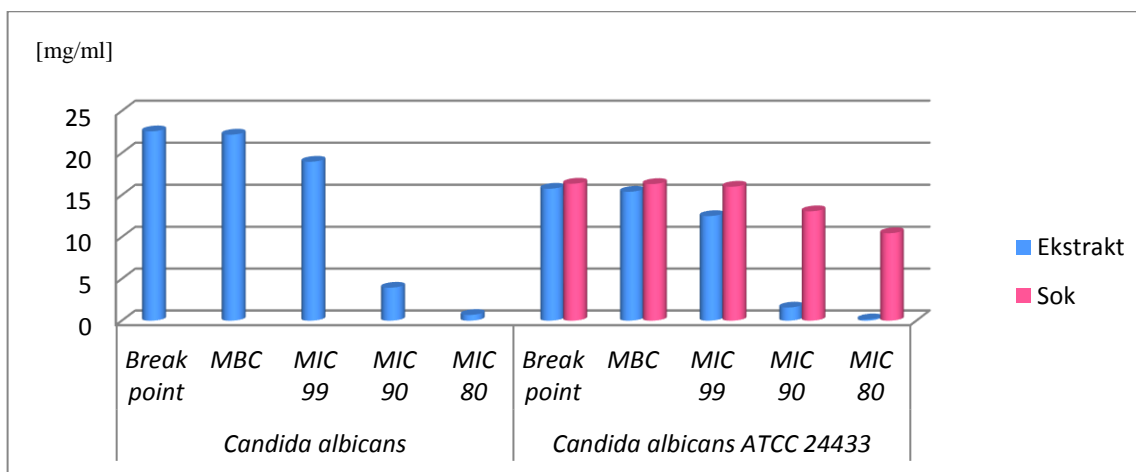
Krisch i sar. su dokazali jednake antifungalne efekte vodenog i metanolnog ekstrakta maline na *Candida-u albicans* ATCC 10231 (174). Rezultati ove disertacije takođe pokazuju antifunglano dejstvo soka i ekstrakta na rearentni soj *Candida-e albicans* ATCC 24433. Međutim, u okviru ove studije zabeleženo je jače dejstvo ekstrakta u odnosu na sok. Razlike potiču najverovatnije od načina obrade plodova maline, ali i drugačijih senzitivnosti različitih ATCC sojeva *Candida-e albicans*. Nohynek i sar. su dokazali jaku inhibiciju rasta *Candida-e albicans* NCPF 3179 primenom acetonskog ekstrakta maline u koncentraciji 1 mg/ml (183). Etanolni ekstrakt ispitivan u okviru ove disertacije je delovao u 12,5 puta većim koncentracijama protiv *Candida-e albicans* ATCC 24433. Girardot i sar. su pri ispitivanju ekstrakta maline dokazali da je on neaktivan protiv *Candida-e albicans* iz usne šupljine (184). Dobijeni rezultat je u skladu sa istraživanjem sprovedenim u okviru ove disertacije, u kojem je ekstrakt maline takođe bio neaktivan protiv autohtonog soja *Candida-e albicans*.

Trešnja

Difuziona metoda, sprovedena u okviru ovog istraživanja, nije pokazala antifungalno dejstvo soka i ekstrakta trešnje. Nasuprot tome, Sheela i sar. su dokazali da nefermentisani, fermentisani i fermentisani sokovi trešnje sa dodatkom frukto-oligosaharida pokazuju antifungalno dejstvo na *Candida-u albicans*, pri ispitivanju difuzionom metodom (185).

Diluciona metoda, sprovedena u okviru ove disertacije, je otkrila antifungalno dejstvo ekstrakta i soka trešnje na autohtoni soj *Candida-e albicans*, dok je na *Candida-u albicans* ATCC 24433 delovao samo sok. Ekstrakt trešnje je delovao na *Candida-u albicans* u koncentracijama od 0,69 mg/ml (MIC 80) do 22,57 mg/ml (Break point). Ekstrakt trešnje je ispoljio jače dejstvo u odnosu na sok, jer je delovao u manjim koncentracijama, od 0,16 mg/ml (MIC 80) do 15,75 mg/ml (Break point). Sok trešnje na *Candida-u albicans* ATCC 24433 je delovao u koncentracijama od 10,45 mg/ml (MIC 80) do 16,35 mg/ml (Break point).

Grafik 99. Dejstvo ekstrakta i soka trešnje protiv gljivica ispitivano dilucionom metodom



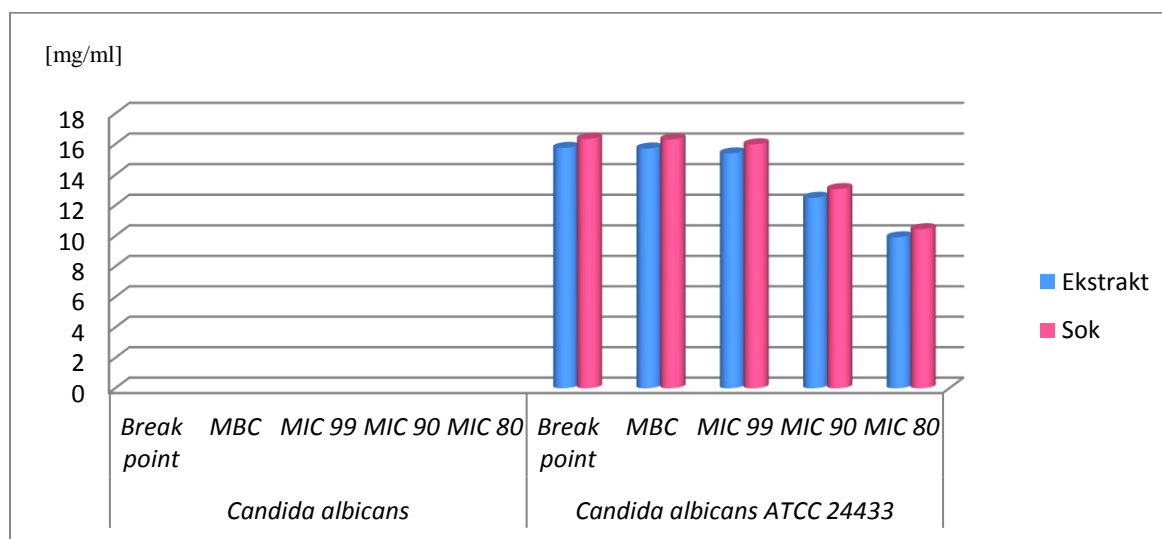
Ahn i sar. su dokazali da je heksanska frakcija ekstrakta trešnje ispoljila antifungalno dejstvo pri ispitivanju difuzionom i dilucionom metodom na sve ispitivane sojeve *Candida-e albicans* (KCTC 1940, KACC 30003, CCARM 14020 i CCARM 14021). Butanolska frakcija u istraživanju navedenih autora nije bila aktivna protiv ispitivanih sojeva *Candida-e albicans*. Etanolni ekstrakt ove disertacije protiv *Candida-e albicans* je delovao sličnije heksanskoj frakciji ekstrakta trešnje. Takođe, MIC-e heksanske frakcije iznose 0,5-1 mg/ml, u čiji opseg spadaju MIC 80 etanolnog ekstrakta za autohtoni i ATCC soj *Candida-e albicans* (176). Ovakvi rezultati su iznenađujući, jer je etanol po hemijskoj prirodi, sličniji butanolu nego heksanu. Međutim, verovatno su razlike u senzitivnosti ispitivanih sojeva uzrokovale suprotnosti u rezultatima. Rezultati ispitivanja osetljivosti testiranih gljivica, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok trešnje su prikazani na grafiku 99.

Višnja

Difuziona metoda, sprovedena u okviru ovog istraživanja, nije pokazala antifungalno dejstvo soka i ekstrakta višnje.

Diluciona metoda, sprovedena u okviru ovog istraživanja, je, za razliku od difuzione, pokazala antifungalno dejstvo soka i ekstrakta višnje. Ekstrakt i sok višnje nisu delovali antifungalno na autohtoni soj *Candida-e albicans*, dok na *Candida-u albicans* ATCC 24433 jesu. Ekstrakt višnje je jače delovao u odnosu na sok. Efektivne koncentracije ekstrakta na *Candida-u albicans* ATCC 24433 su bile u rasponu od 9,92 mg/ml (MIC 80) do 15,76 mg/ml (Break point), a soka višnje od 10,45 mg/ml (MIC 80) do 16,35 mg/ml (Break point).

Grafik 100. Dejstvo ekstrakta i soka višnje protiv gljivica ispitivano dilucionom metodom



Prema nalazima Krisch i sar., vodeni i metanolni ekstrakt višnje nisu delovali antifungalno na *Candida-u albicans* ATCC 10231 (174). Suprotno tome, rezultati istraživanja ove disertacije dokazuju antifungalno dejstvo i ekstrakta i soka višnje na *Candida-e albicans* ATCC 24433.

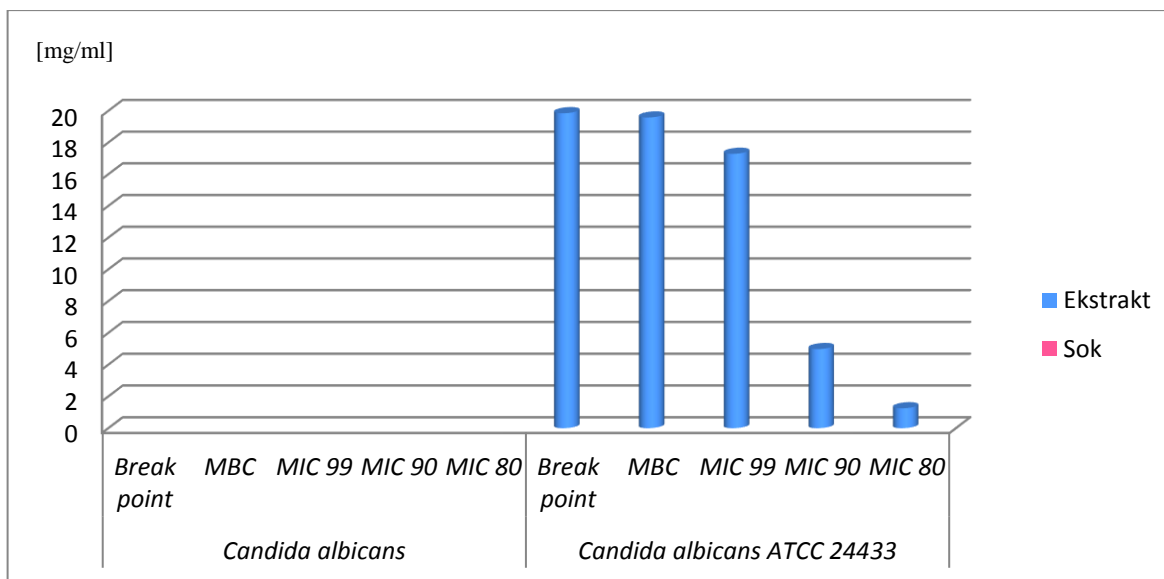
Drugačiji način obrade plodova, kao i eventualna rezistencija ATCC 10231 soja *Candida-e albicans* na supstance sadržane u plodu višnje su najverovatniji uzroci različitih rezultata dve studije. U studiji izvedenoj od strane Coccia i sar. utvrđen je izostanak antifungalnog dejstva metanolnog ekstrakta višnje na autohtoni soj *Candida-e albicans*, kao da i ekstrakt ne pospešuje rast testirane gljivice (181). Ovakvi nalazi su u skladu sa rezultatima ove disertacije, jer ni ekstrakt ni sok nisu ispoljili dejstvo na testirani autohtoni soj *Candida-e albicans*, kao ni porast rasta ove gljivice. Rezultati ispitivanja osetljivosti testiranih gljivica, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok višnje su prikazani na grafiku 100.

Aronija

Difuziona metoda, sprovedena u okviru ove studije, nije pokazala dejstvo soka i ekstrakta ploda aronije protiv ispitivanih gljivica.

Diluciona metoda, sprovedena u okviru ove studije, je pokazala antifungalno dejstvo ekstrakta ploda aronije na *Candida-u albicans* ATCC 24433 u koncentracijama od 1,25 mg/ml (MIC 80) do 19,85 mg/ml (Break point). Sok aronije nije imao antiungalno dejstvo protiv ispitivanih gljivica u primenjenim koncentracijama.

Grafik 101. Dejstvo ekstrakta i soka aronije protiv gljivica ispitivano dilucionom metodom



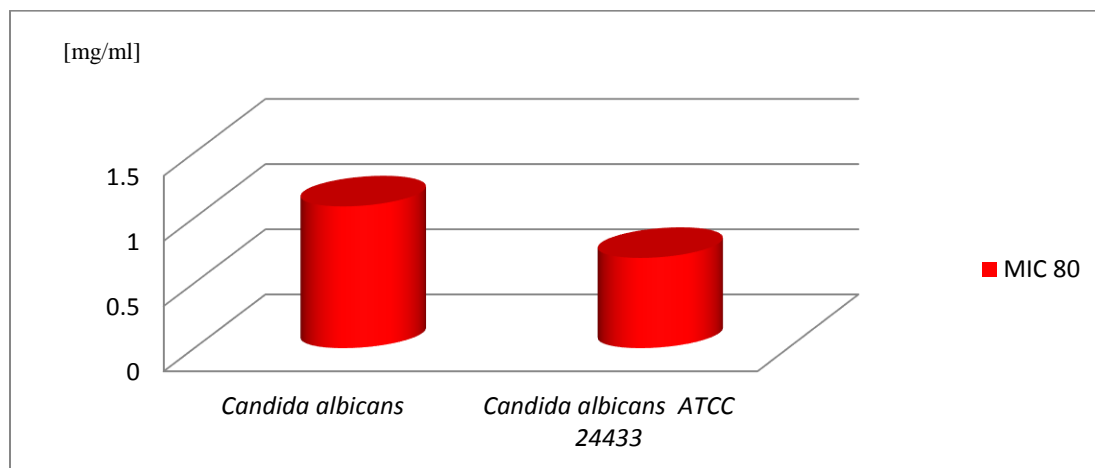
Rezultati ispitivanja osetljivosti testiranih gljivica, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok maline su prikazani na grafiku 101. Za antifungalno dejstvo *Aronia prunifolia-e* nisu pronađeni uporedivi podaci u dostupnoj literaturi.

Antimikotik

Difuziona

Nistatin je sve antifungalne efekte ispoljio u manjim koncentracijama u odnosu na ispitivane sokove i ekstrakte.

Grafik 102. Dejstvo Nistatina protiv gljivica ispitivano difuzionom metodom

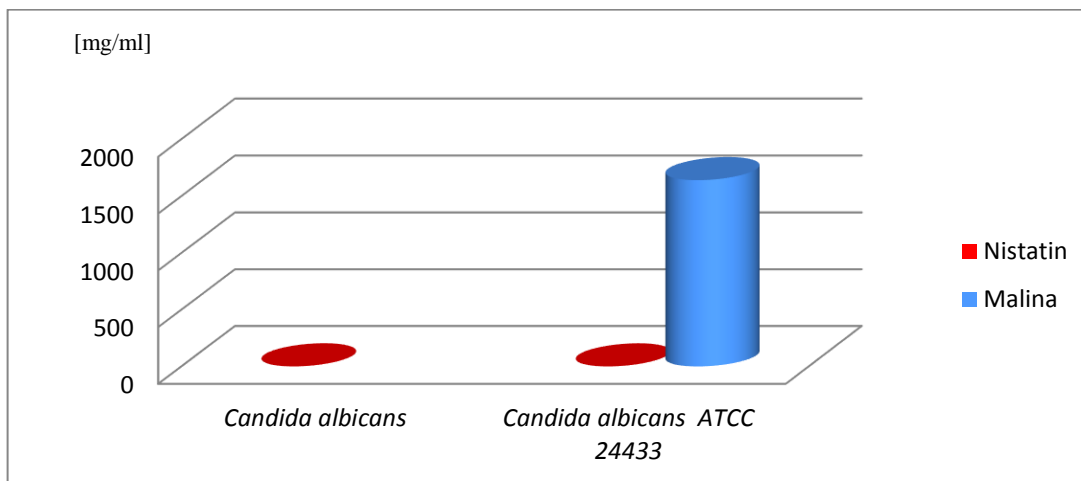


Nistatin je pri ispitivanju difuzionom metodom ispoljio antifungalnu aktivnost i na autohtoni soj *Candida-e albicans* i na referentni soj, *Candida-u albicans* ATCC 24433. Jače dejstvo ispoljeno je na referentni soj. MIC-e 80 Nistatina na testirane gljivice, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 102.

Poređenje sa ekstraktom

Kao što je prethodno navedeno, od svih ispitivanih sokova i ekstrakata jedino je ekstrakt maline ispoljio antifungalno dejstvo pri testiranju difuzionom metodom i to samo na *Candida-u albicans* ATCC 24433, u dozi 2369 puta većoj od MIC-e 80 Nistatina za istu gljivicu. MIC-e 80 Nistatina i ekstrakta maline protiv testiranih gljivica, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 103.

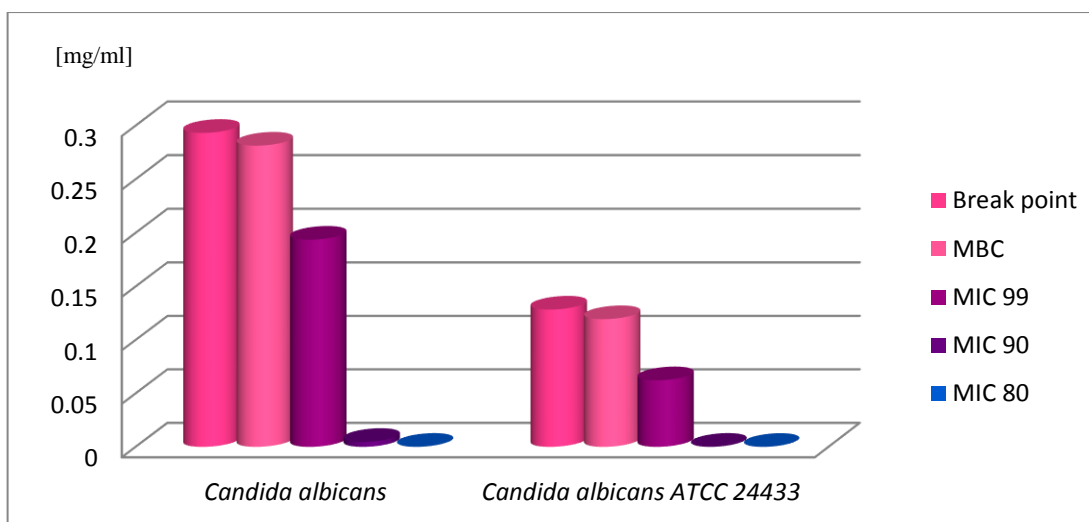
Grafik 103. Poređenje dejstava Nistatina i ekstrakta maline protiv gljivica ispitivano difuzionom metodom



Diluciona

Kao i pri ispitivanju difuzionom metodom, Nistatin je, pri ispitivanju dilucionom metodom, ispoljio antifungalnu aktivnost i na autohtoni soj i na referentni soj *Candida-e albicans*. Jače dejstvo je ispoljeno na referentni soj. Rezultati ispitivanja osetljivosti testiranih gljivica, sprovedenog dilucionom metodom, na Nistatin su prikazani na grafiku 104.

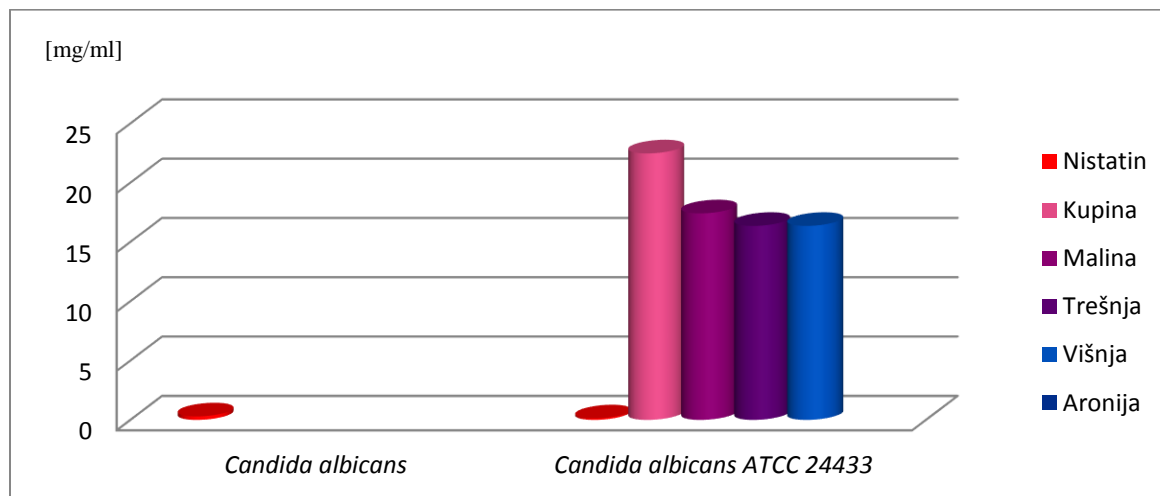
Grafik 104. Dejstvo Nistatina protiv gljivica ispitivano dilucionom metodom



Poređenje sa sokovima

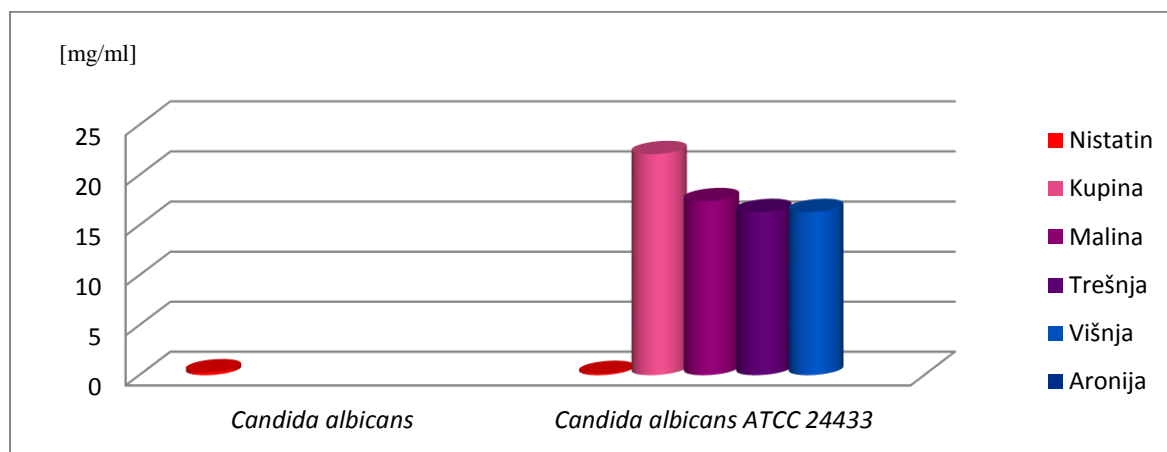
Nistatin je ispoljio antifungalno dejstvo na oba soja *Candida-e albicans* za razliku od sokova, koji su delovali samo na *Candida-u albicans* ATCC 24433. Sok aronije nije delovao ni na jednu od ispitivanih gljivica. Sokovi višnje i trešnje su delovali antifungalno u identičnim koncentracijama.

Grafik 105. Poređenje Break point koncentracija Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane gljivice



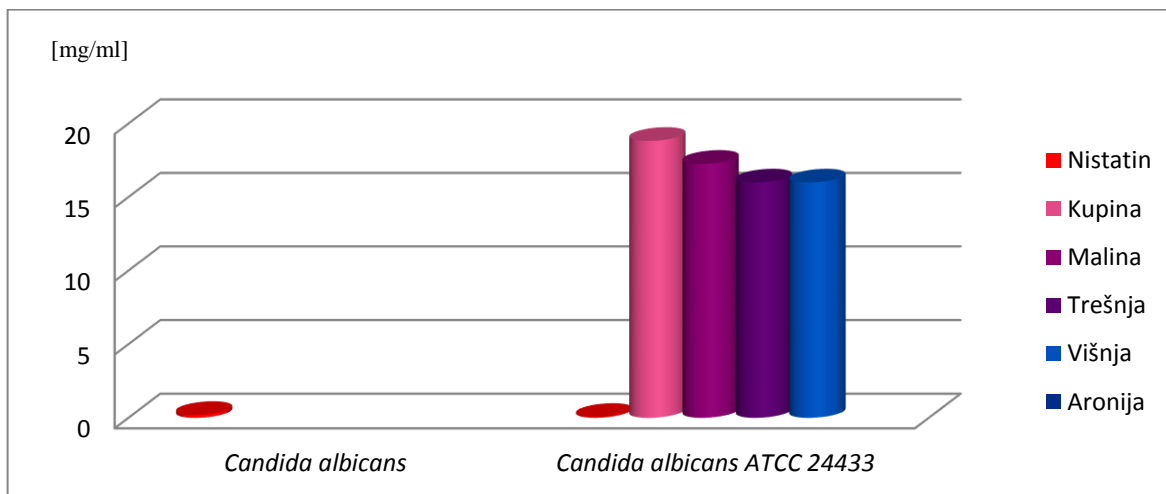
Sok kupine je delovao u najvećoj Break point koncentraciji, 174,97 puta većoj od Break point koncentracije Nistatina. Najmanja razlika u Break point koncentracijama sokova i Nistatina dokazana je za sokove višnje i trešnje, koji su delovali 127,32 puta slabije od Nistatina. Break point vrednosti Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 105.

Grafik 106. Poređenje MBC Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae protiv ispitivanih gljivica



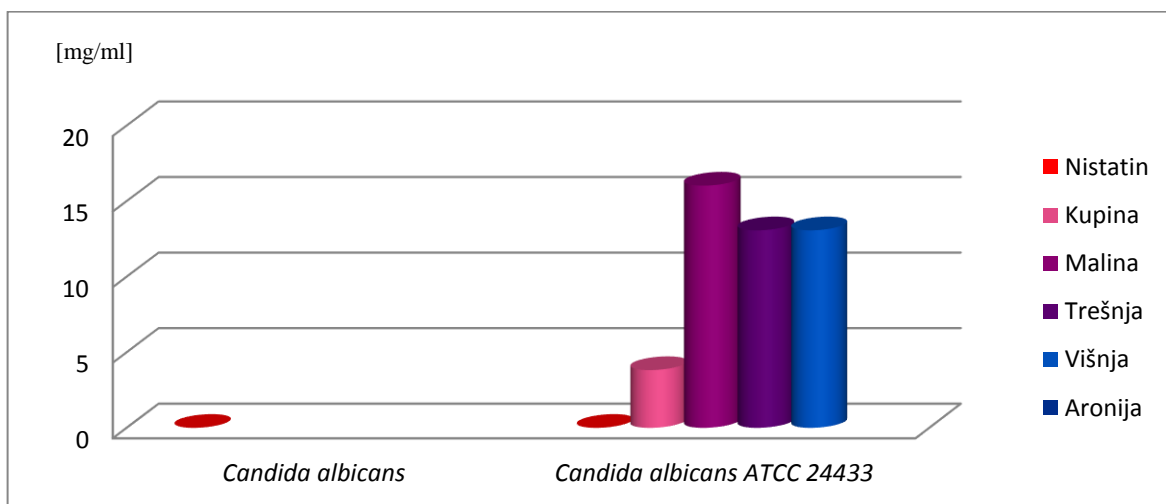
Sok kupine je delovao u najvećoj MBC-i, 184,84 puta većoj od MBC-e Nistatina. Najmanja razlika u MBC-ama sokova i Nistatina dokazana je za sokove višnje i trešnje, koji su delovali 136,54 puta slabije od Nistatina. MBC-e Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 106.

Grafik 107. Poređenje MIC 99 Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae protiv ispitivanih gljivica



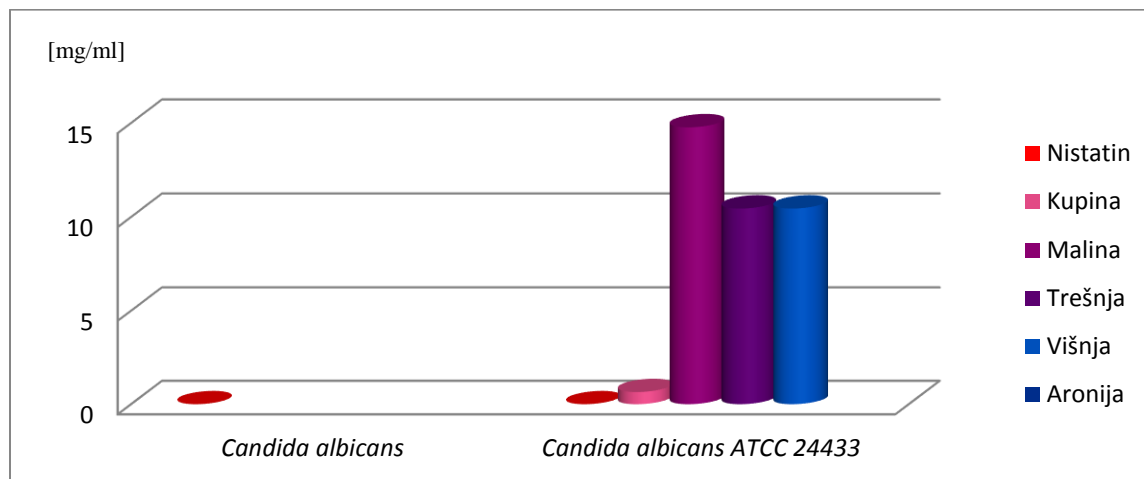
Sok kupine je delovao u najvećoj MIC-i 99, 302,16 puta većoj od MIC-e 99 Nistatina. Najmanja razlika u MIC-ama 99 sokova i Nistatina dokazana je za sokove višnje i trešnje, koji su delovali 256,73 puta slabije od Nistatina. MIC-e 99 Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 107.

Grafik 108. Poređenje MIC 90 Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae protiv ispitivanih gljivica



Suprotno prethodnim efektima, sok kupine je imao najmanju MIC-u 90, koja je bila 41299 puta veća od MIC-e 90 Nistatina. Najveća razlika u MIC-ama 90 sokova i Nistatina zabeležena je za sok maline, koji je delovao 173305 puta slabije od Nistatina. MIC-e 90 Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 108.

Grafik 109. Poređenje MIC 80 Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae protiv ispitivanih gljivica

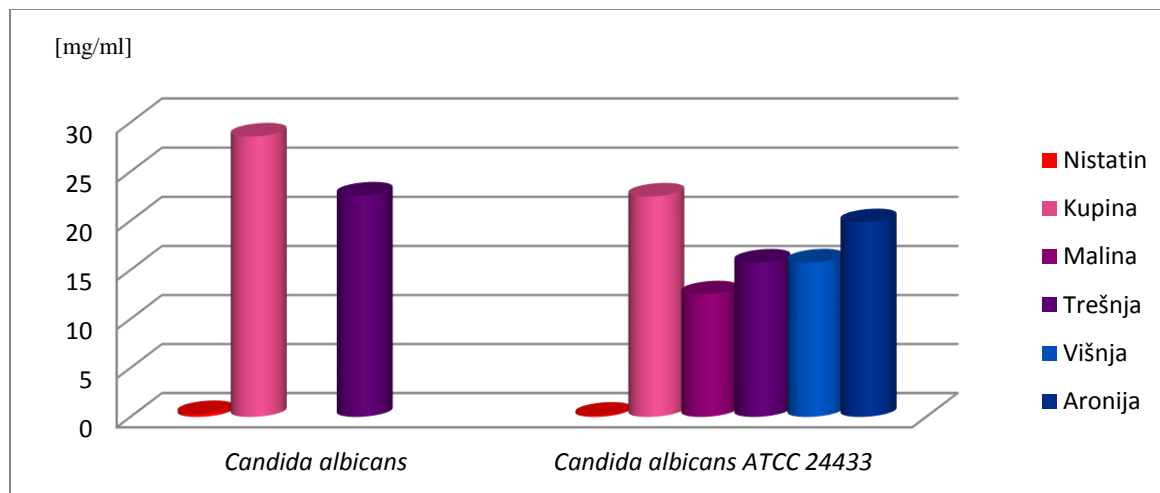


Sok kupine je delovao u najmanjoj MIC-i 80, koja je bila skoro 10000000 puta veća od MIC-e 80 Nistatina. Najveća razlika u MIC-ama 80 sokova i Nistatina zabeležena je za sok maline, koji je delovao 221700588 puta slabije od Nistatina. MIC-e 80 Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 109.

Poređenje sa ekstraktima

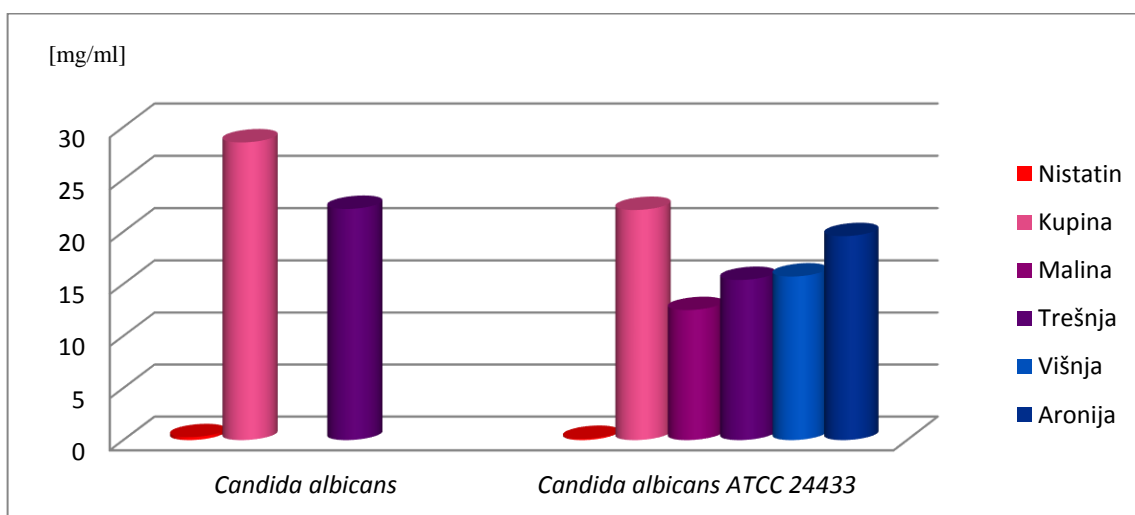
Na *Candida*-u *albicans* ATCC 24433 su antifungalno delovali svi ispitivani ekstrakti, kao i Nistatin, dok su na autohtoni soj *Candida*-e *albicans* delovali samo: Nistatin, ekstrakt kupine i ekstrakt trešnje.

Grafik 110. Poređenje Break point koncentracija Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae protiv ispitivanih gljivica



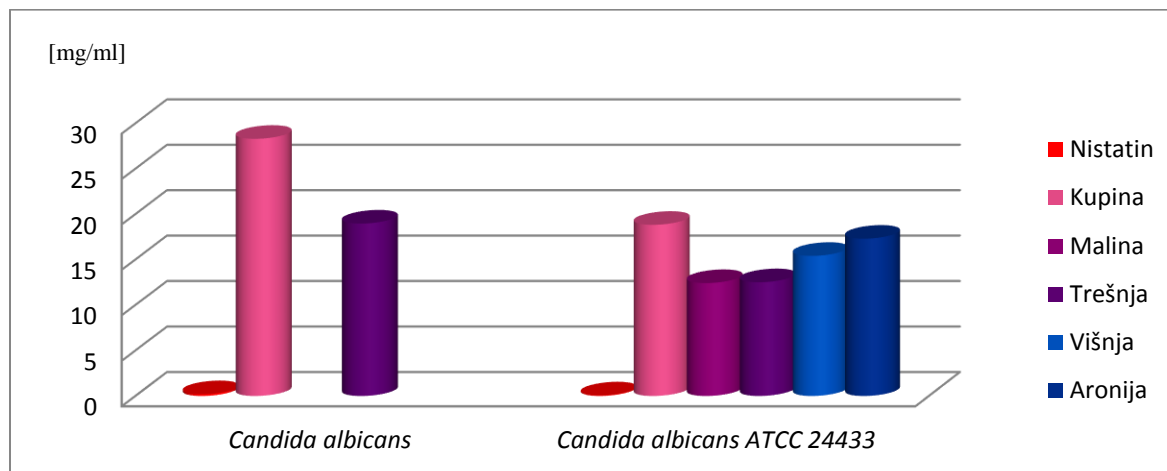
Ekstrakt kupine je na autohtoni soj *Candida-e albicans* delovao u Break point koncentraciji 97,44 puta većoj, a ekstrakt trešnje 76,97 puta većoj u odnosu na Nistatin. Najmanja razlika u Break point koncentracijama ekstrakata i Nistatina na *Candida-u albicans* ATCC 24433, dokazana je za ekstrakt maline (97,42 puta veća koncentracija ekstrakta maline), dok je najveća razlika dokazana za ekstrakt kupine (174,97 puta veća koncentracija ekstrakta kupine). Break point vrednosti Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 110.

Grafik 111. Poređenje MBC Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae protiv ispitivanih gljivica



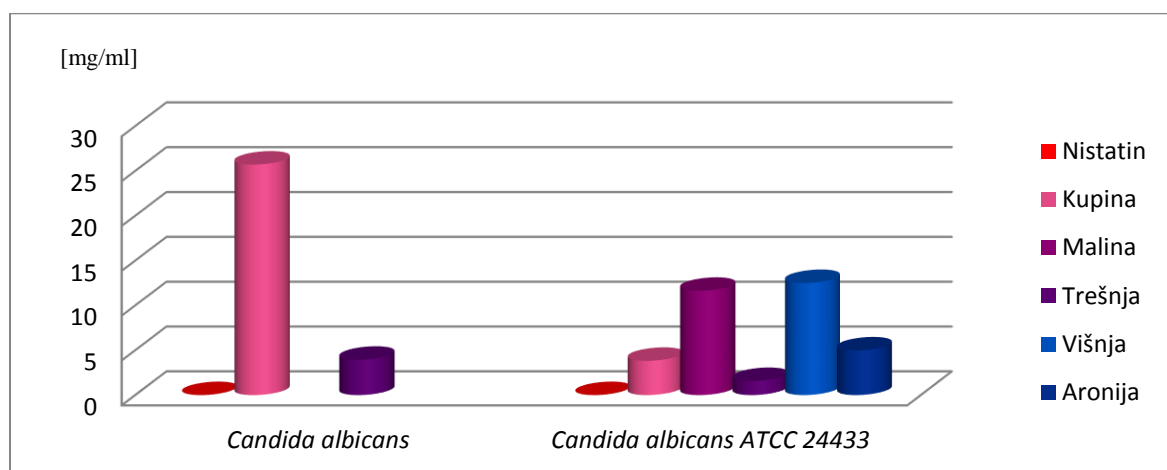
Ekstrakt kupine je na autohtoni soj *Candida-e albicans* delovao u MBC-i 101,46 puta većoj, a ekstrakt trešnje 78,85 puta većoj u odnosu na Nistatin. Najmanja razlika u MBC-ama ekstrakata i Nistatina na *Candida-u albicans* ATCC 24433 dokazana je za ekstrakt maline (104,64 puta veća koncentracija ekstrakta maline), dok je najveća razlika dokazana za ekstrakt kupine (184,84 puta veća koncentracija ekstrakta kupine). MBC-e Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 111.

Grafik 112. Poređenje MIC 99 Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae protiv ispitivanih gljivica



Ekstrakt kupine je na autohtoni soj *Candida-e albicans* delovao u MIC-i 99 146,1 puta većoj, a ekstrakt trešnje 97,92 puta većoj u odnosu na Nistatin. Najmanja razlika u MIC-ama 99 ekstrakata i Nistatina na *Candida-u albicans* ATCC 24433 dokazana je za ekstrakt maline (199,25 puta veća koncentracija ekstrakta maline), dok je najveća razlika dokazana za ekstrakt kupine (302,16 puta veća koncentracija ekstrakta kupine). MIC-e 99 Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 112.

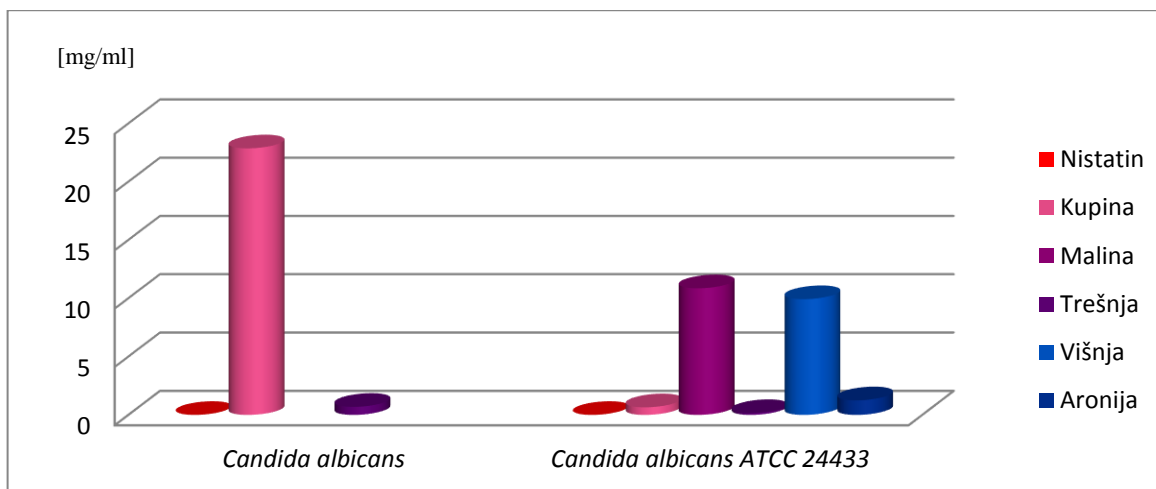
Grafik 113. Poređenje MIC 90 Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae protiv ispitivanih gljivica



Ekstrakt kupine je na autohtoni soj *Candida-e albicans* delovao u MIC-i 90 5558 puta većoj, a ekstrakt trešnje 851,84 puta većoj u odnosu na Nistatin. Najmanja razlika u MIC-ama 90 ekstrakata i Nistatina na *Candida-u albicans* ATCC 24433 dokazana je za ekstrakt trešnje (16973,79 puta veća koncentracija ekstrakta trešnje), dok je najveća razlika zabeležena za

ekstrakt višnje (135141,66 puta veća koncentracija ekstrakta višnje). MIC-e 90 Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 113.

Grafik 114. Poređenje MIC 80 Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae protiv ispitivanih gljivica



Ekstrakt kupine je na autohtoni soj *Candida-e albicans* delovao u MIC-i 80 313323 puta većoj, a ekstrakt trešnje 9457 puta većoj u odnosu na Nistatin. Najmanja razlika u MIC-ama 80 ekstrakata i Nistatina na *Candida-u albicans* ATCC 24433 dokazana je za ekstrakt trešnje (2401631 puta veća koncentracija ekstrakta trešnje), dok je najveća razlika zabeležena za ekstrakt maline (162860621 puta veća koncentracija ekstrakta maline). MIC-e 80 Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv gljivica, utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 114.

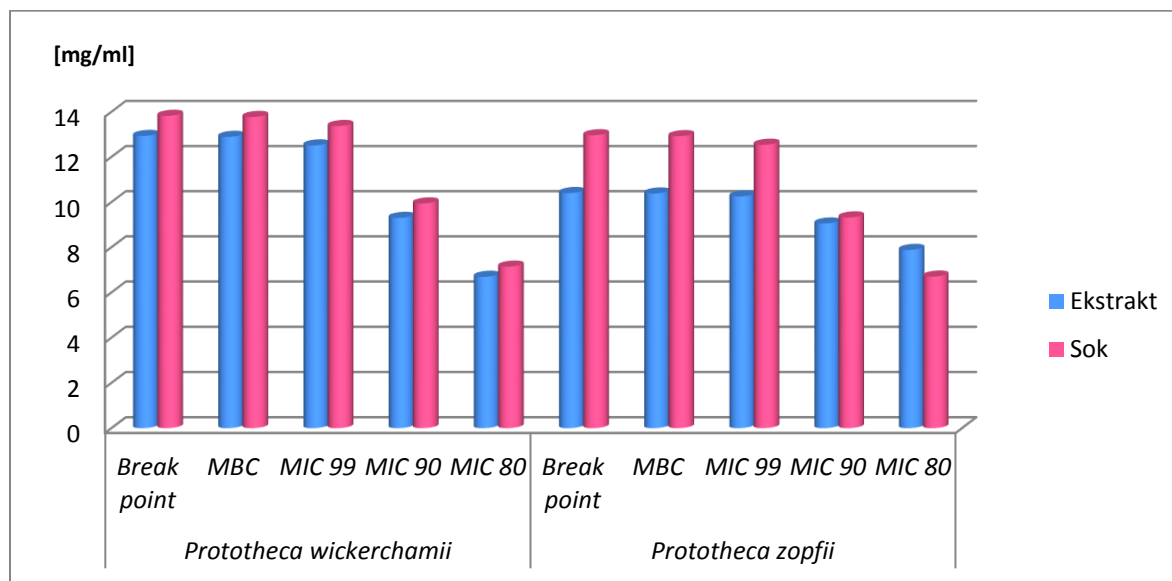
Antialgalno dejstvo

Difuzionom metodom nije zabeležena antialgalna aktivnost ispitivanih sokova i ekstrakata u testiranim koncentracijama. Dilucionom metodom je dokazana antialgalna aktivnost delotvornih sokova i ekstrakata. Kupina i sok maline su ispoljili dejstvo samo na *Prototheca-u zopfii*. Kupina, trešnja, sok maline i ekstrakt aronije su ispoljili dejstvo na obe ispitivane alge. Sok aronije ni pri ispitivanju dilucionom metodom nije bio aktivan protiv ispitivanih *Prototheca*. Svi sokovi i ekstrakti su jače delovali na *Prototheca-u zopfii*, osim ekstrakta aronije koji je jače delovao na *Prototheca-u wickerhamii*. O antialgalnom dejstvu plodova ispitivanih biljaka na *Prototheca-u wickerhamii* i *Prototheca-u zopfii* nisu pronađeni uporedivi podaci u dostupnoj literaturi. Rezultati antialgalne analize izvedene difuzionom metodom su prikazani u Prilogu 5., a rezultati antialgalne analize izvedene dilucionom metodom su prikazani u Prilogu 6.

Kupina

Ekstrakt i sok kupine su delovali na *Prototheca-u wickerhamii* u većim koncentracijama u odnosu na *Prototheca-u zopfii*. Jedini izuzetak su bile MIC-e 80 ekstrakta gde je jače dejstvo ispoljeno na *Prototheca-u zopfii*.

Grafik 115. Dejstvo ekstrakta i soka kupine protiv algi ispitivano dilucionom metodom

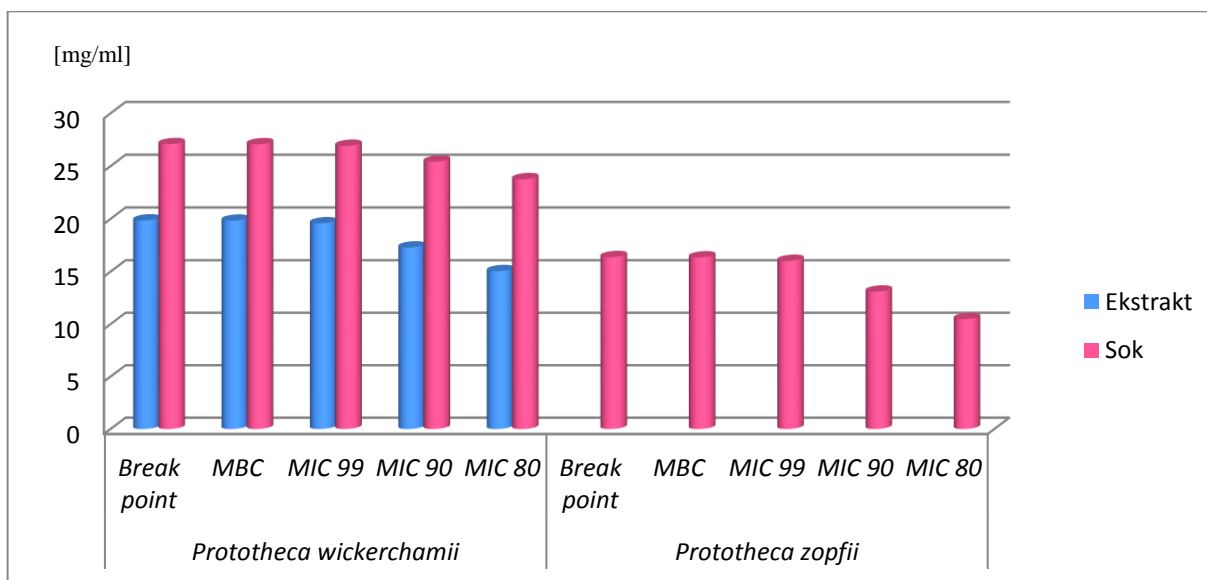


Ekstrakt je antialgalno dejstvo ispoljio u opsegu koncentracija od 6,69 i 7,88 mg/ml (MIC-e 80) do 12,93 i 10,4 mg/ml (Break point) na *Prototheca-u wickerhamii* i *Prototheca-u zopfii*, respektivno. Sok je antialgalno dejstvo ispoljio u koncentracijama od 7,14 i 6,7 mg/ml (MIC-e 80) do 13,82 i 12,96 mg/ml (Break point) na *Prototheca-u wickerhamii* i *Prototheca-u zopfii*, respektivno. Rezultati ispitivanja osetljivosti algi, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok kupine su prikazani na grafiku 115.

Malina

Ekstrakt maline je ispoljio dejstvo samo na *Prototheca-u wickerhamii*, dok je sok delovao na obe ispitivane *Prototheca-e*. Efektivne koncentracije soka na *Prototheca-u wickerhamii* su iznosile 23,75 mg/ml (MIC 80) do 27,07 mg/ml (Break point).

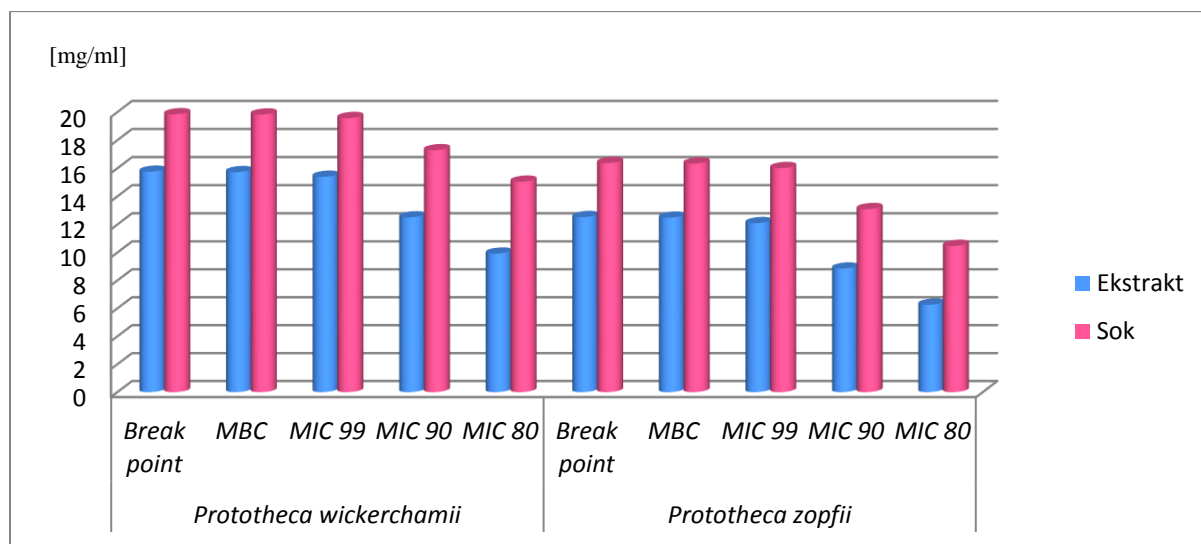
Grafik 116. Dejstvo ekstrakta i soka maline protiv algi ispitivano dilucionom metodom



Sok je delovao u većim koncentracijama na *Prototheca-u wickerhamii* u odnosu na *Prototheca-u zopfii*. Efektivne koncentracije ekstrakta su bile u opsezima od 15,04 mg/ml (MIC 80) do 19,84 mg/ml (Break point) na *Prototheca-u wickerhamii*. Opseg dejstvenih koncentracija soka na *Prototheca-u zopfii* je bio od 10,47 mg/ml (MIC 80) do 16,37 mg/ml (Break point), respektivno. Rezultati ispitivanja osetljivosti algi, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok maline su prikazani na grafiku 116.

Trešnja

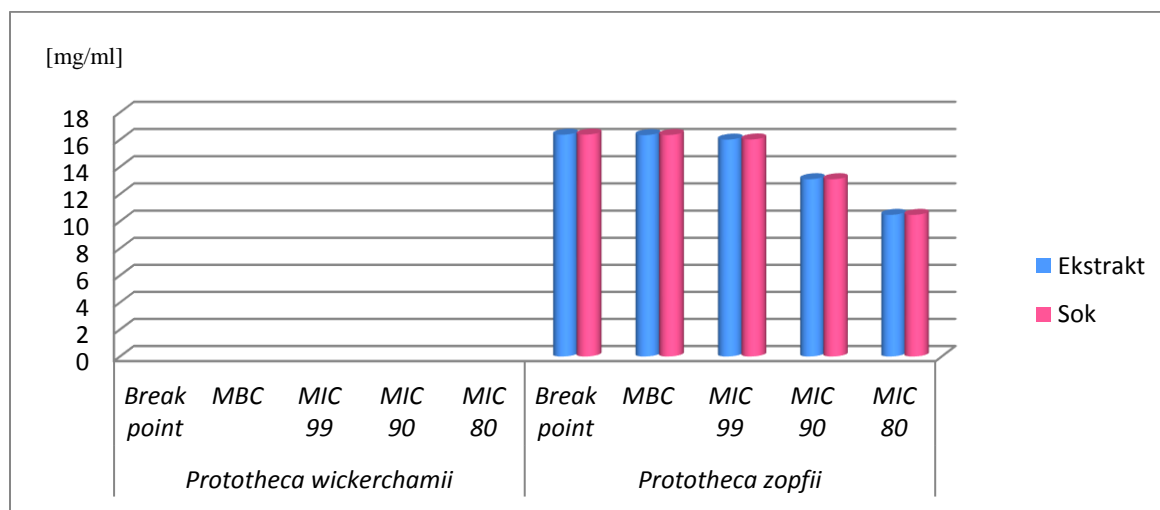
Ekstrakt i sok trešnje su u većim koncentracijama delovali na *Prototheca-u wickerhamii* u odnosu na *Prototheca-u zopfii*. Ekstrakt je antialgalno dejstvo ispoljio u opsegu koncentracija od 9,92 i 6,26 mg/ml (MIC 80) do 15,75 i 12,52 mg/ml (Break point) na *Prototheca-u wickerhamii* i *Prototheca-u zopfii*, respektivno.

Grafik 117. Dejstvo ekstrakta i soka trešnje protiv algi ispitivano dilucionom metodom

Sok je antialgalno dejstvo ispoljio u opsegu koncentracija od 15,04 i 10,47 mg/ml (MIC 80) do 19,84 i 16,37 mg/ml (Break point) na *Prototheca-u wickerhamii* i *Prototheca-u zopfii*, respektivno. Rezultati ispitivanja osetljivosti algi, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok trešnje su prikazani na grafiku 117.

Višnja

Ekstrakt i sok višnje su delovali jedino na *Prototheca-u zopfii*. Sok je iste efekte izazvao u većim koncentracijama za Break point, MBC-u i MIC-u 99, dok su MIC-e 90 i 80 bile jednake za ekstrakt i sok. Delotvorne koncentracije ekstrakta su bile u opsegu od 10,47 mg/ml (MIC 80) do 16,36 mg/ml (Break point).

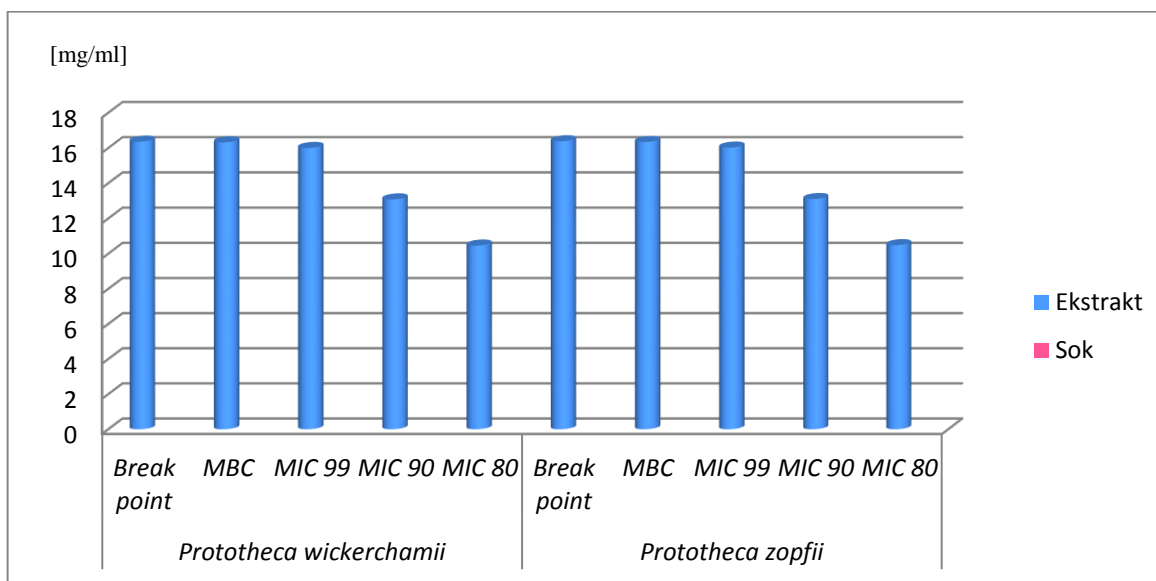
Grafik 118. Dejstvo ekstrakta i soka višnje protiv algi ispitivano dilucionom metodom

Sok je delovao na *Prototheca*-u *zopfii* u koncentracijama od 10,47 mg/ml (MIC 80) do 16,37 mg/ml (Break point). Rezultati ispitivanja osetljivosti algi, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok višnje su prikazani na grafiku 118.

Aronija

Antialgalno dejstvo je ispoljio samo ekstrakt aronije, dok je sok bio neaktivan na ispitivane alge. Ekstrakt je jače delovao na *Prototheca*-u *wickerhamii* u odnosu na *Prototheca*-u *zopfii*.

Grafik 119. Dejstvo ekstrakta i soka aronije protiv algi ispitivano dilucionom metodom



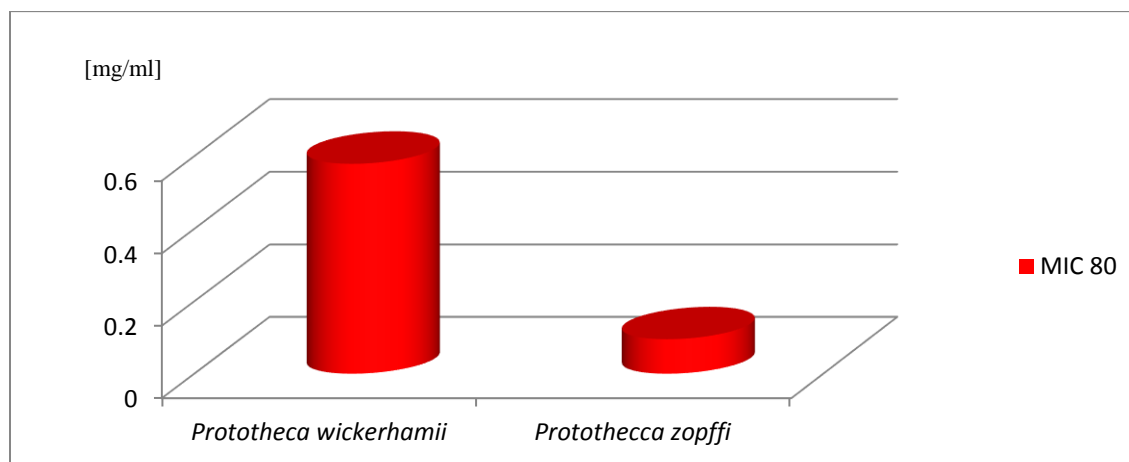
Antialgalne koncentracije ekstrakta aronije su bile u opsezima od 10,46 i 10,48 mg/ml (MIC 80) do 16,36 i 16,38 mg/ml (Break point) na *Prototheca*-u *wickerhamii* i *Prototheca*-u *zopfii*, respektivno. Rezultati ispitivanja osetljivosti algi, sprovedenog dilucionom metodom, na ekstrakt i sok aronije su prikazani na grafiku 119.

Nistatin

U prethodnoj studiji antialgalnog dejstva plodova voća, Nistatin je korišten u manjoj koncentraciji (6,25µg/ml) u kojoj nije pokazao antialgalno dejstvo (186). Međutim, pri povećanju koncentracije u ovoj studiji, Nistatin je ispoljio antialgalno dejstvo na *Prototheca*-u *wickerhamii* i *Prototheca*-u *zopfii* pri ispitivanju difuzionom i dilucionom metodom.

Difuziona

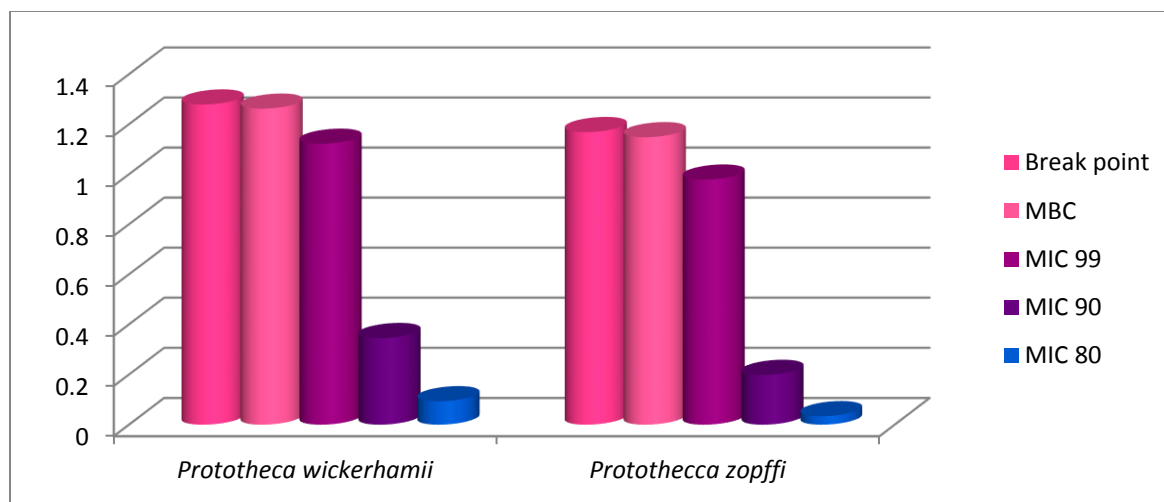
Nistatin je pri ispitivanju difuzionom metodom delovao antialgalno i na *Prototheca*-u *wickerhamii* i na *Prototheca*-u *zopfii*. Jače dejstvo je ispoljio na *Prototheca*-u *zopfii*. MIC-e 80 Nistatina protiv algi, utvrđene difuzionom metodom, su prikazane na grafiku 120.

Grafik 120. Dejstvo Nistatina protiv algi ispitivano difuzionom metodom

Za razliku od Nistatina, ni jedan od ispitivanih ekstrakata niti sokova nije ispoljio antialgalno dejstvo pri ispitivanju difuzionom metodom u testiranim koncentracijama.

Diluciona

Kao i pri ispitivanju difuzionom metodom, Nistatin je, pri ispitivanju dilucionom metodom ispoljio antialgalnu aktivnost na oba testirana soja. Jače dejstvo ispoljeno je na *Prototheca-wickerhamii*. Rezultati ispitivanja osetljivosti testiranih gljivica, sprovedenog dilucionom metodom, na Nistatin su prikazani na grafiku 121.

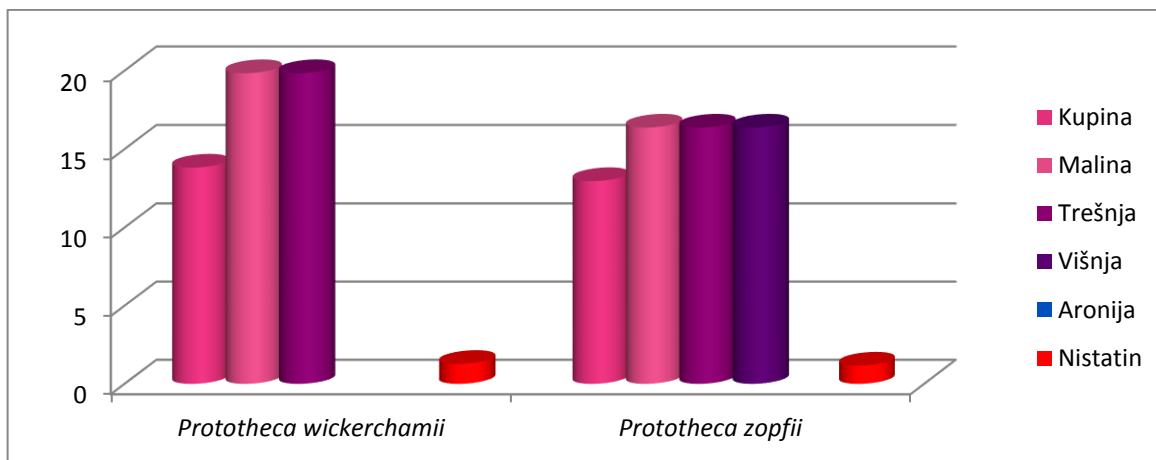
Grafik 121. Dejstvo Nistatina protiv algi ispitivano dilucionom metodom

Poređenje sa sokovima

Nistatin, sokovi kupine, maline i trešnje su ispoljili antifungalno dejstvo na oba soja ispitivanih *Prototeca*, za razliku od soka višnje, koji je delovao samo na *Prototeca-u zopffi*, i soka aronije, koji nije imao antialgalno dejstvo. Sokovi maline i trešnje su na ispitivane alge

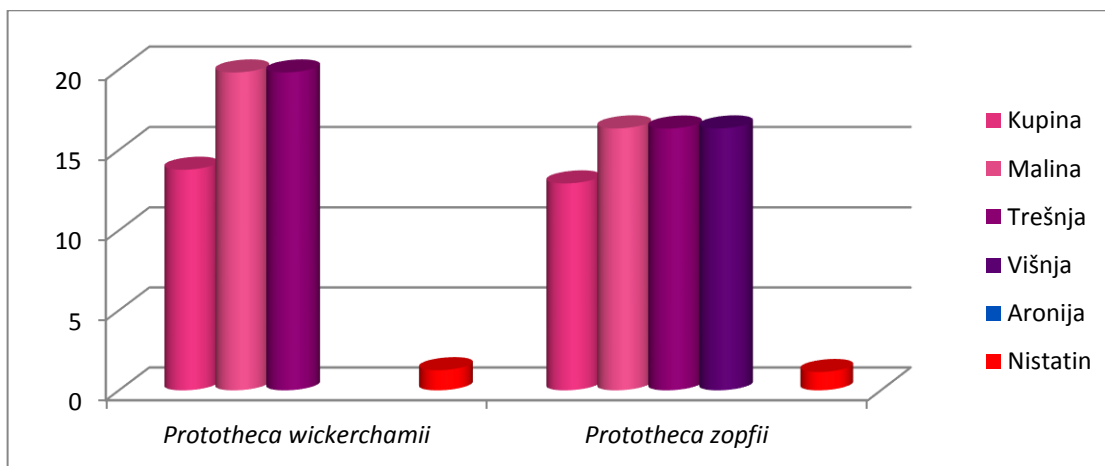
delovali u istim koncentracijama. Sok višnje je delovao u istim koncentracijama kao sokovi maline i višnje na *Prototheca*-u *zopfii*. Sokovi i Nistatin su delovali u većim koncentracijama na *Prototheca*-u *wickerhamii* u odnosu na *Prototheca*-u *zopfii*. Sok kupine je jače delovao od sokova maline i trešnje protiv *Prototheca*-e *wickerhamii*, a protiv *Prototheca*-e *zopfii* i od soka višnje. Nistatin je ispoljio jače antialgalno dejstvo u odnosu na ispitivane sokove.

Grafik 122. Poređenje Break point koncentracija Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge



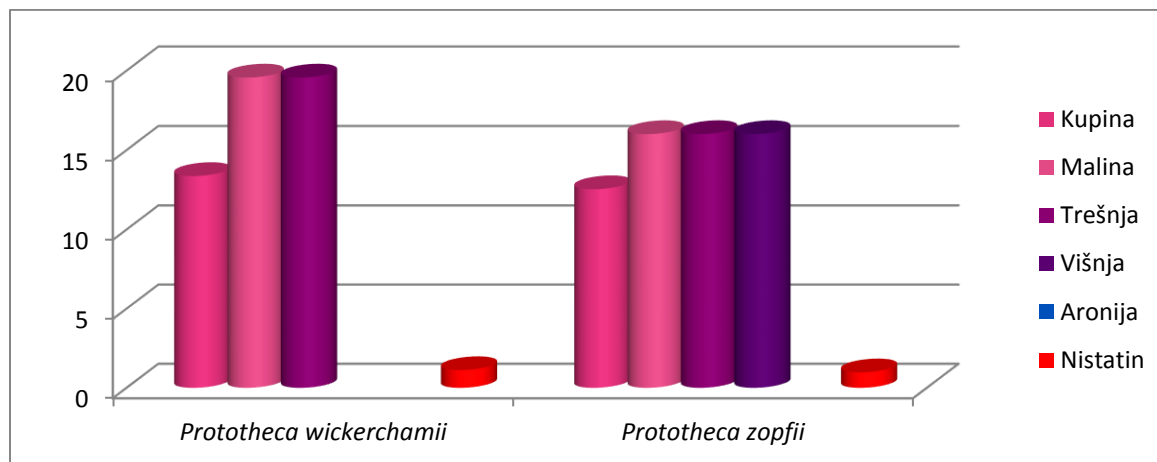
Sok kupine je Break point *Prototheca*-e *wickerhamii* izazvao u 10,8 puta većoj koncentraciji u odnosu na Nistatin, dok su sokovi maline i trešnje 15,5 puta. Break point *Prototheca*-e *zopfii* za sok kupine je ispoljen pri koncentraciji 11 puta većoj od koncentracije Nistatina, dok je za sokove maline, trešnje i višnje ispoljen pri 14 puta većoj koncentraciji. Break point vrednosti Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 122.

Grafik 123. Poređenje MBC Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge



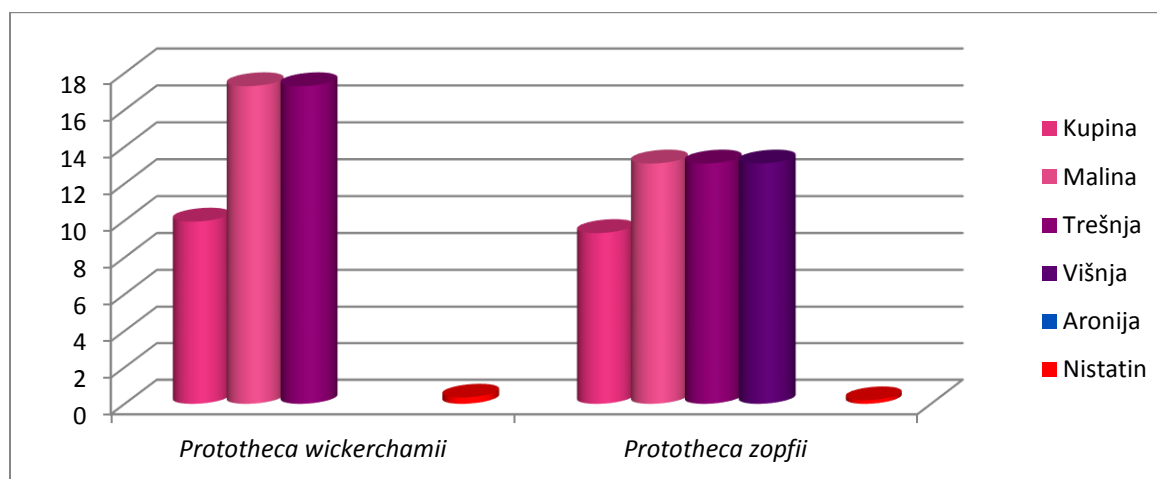
MBC soka kupine je bila 10,9 puta veća, a MBC-e sokova maline i trešnje 15,7 puta veće u odnosu na MBC-u Nistatina na *Prototheca-u wickerhamii*. MBC soka kupine je bila 11,2 puta veća, a MBC-e sokova maline, trešnje i višnje su bile 14,2 puta veće u odnosu na MBC-u Nistatina na *Prototheca-u zopfii*. MBC-e Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 123.

Grafik 124. Poređenje MIC 99 Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge



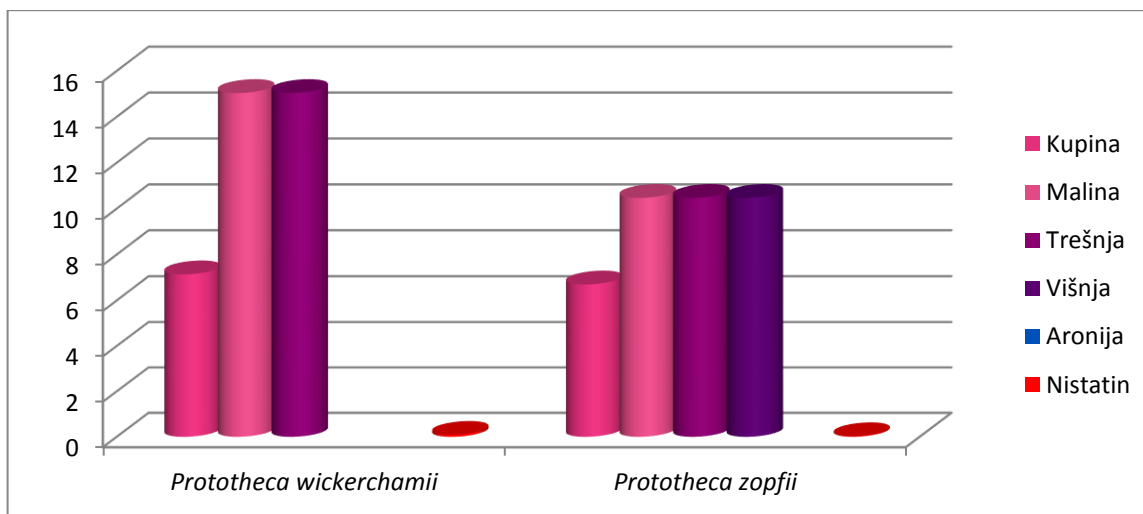
MIC 99 soka kupine je bila 11,92 puta veća, a MIC-e 99 sokova maline i trešnje 17,4 puta veće u odnosu na MIC-u 99 Nistatina na *Prototheca-u wickerhamii*. MIC 99 soka kupine je bila 12,8 puta veća, a MIC-e 99 sokova maline, trešnje i višnje su bile 16,3 puta veće u odnosu na MIC-u 99 Nistatina na *Prototheca-u zopfii*. MIC-e 99 Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 124.

Grafik 125. Poređenje MIC 90 Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge



MIC 90 soka kupine je bila 28,7 puta veća, a MIC-e 90 sokova maline i trešnje 50 puta veće u odnosu na MIC-u 90 Nistatina na *Prototheca-u wickerhamii*. MIC 99 soka kupine je bila 46,9 puta veća, a MIC-e 90 sokova maline, trešnje i višnje su bile 65,9 puta veće u odnosu na MIC-u 90 Nistatina na *Prototheca-u zopfii*. MIC-e 90 Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 125.

Grafik 126. Poređenje MIC 80 Nistatina i sokova odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge

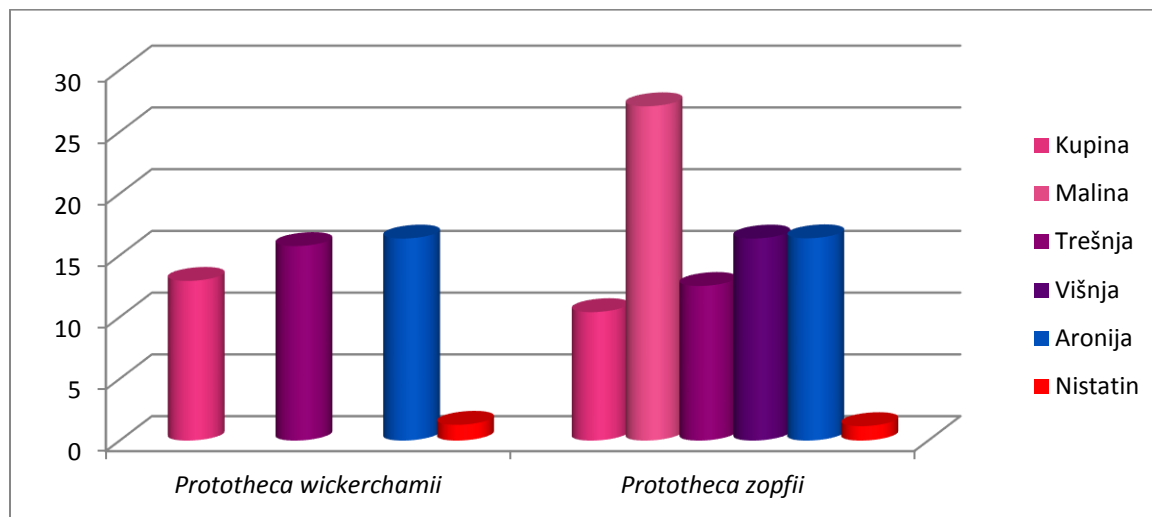


MIC 80 soka kupine je bila 76,5 puta veća, a MIC-e 80 sokova maline i trešnje 161,2 puta veće u odnosu na MIC-u 80 Nistatina na *Prototheca-u wickerhamii*. MIC 80 soka kupine je bila 198,8 puta veća, a MIC-e 80 sokova maline, trešnje i višnje su bile 310,7 puta veće u odnosu na MIC-u 80 Nistatina na *Prototheca-u zopfii*. MIC-e 80 Nistatina i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 126.

Poređenje sa ekstraktima

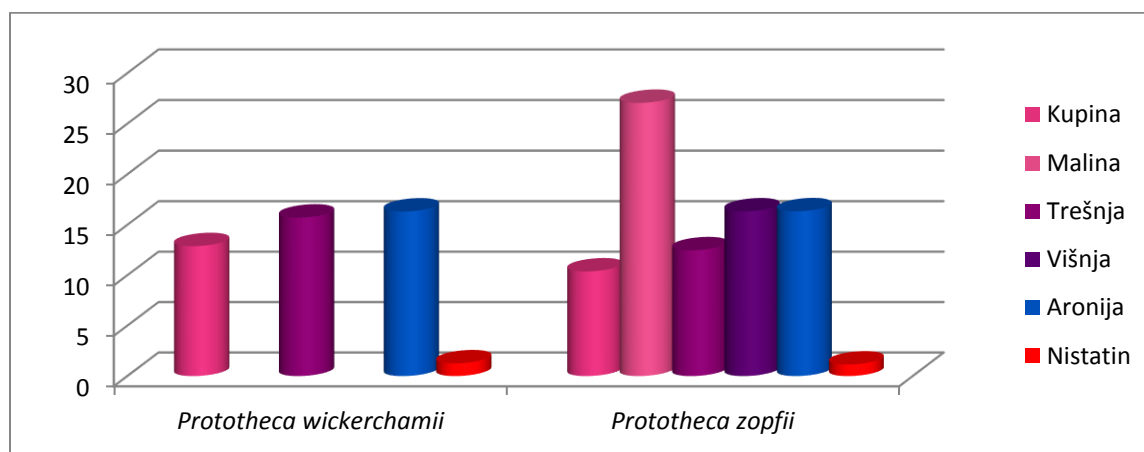
Nistatin i ekstrakti svog ispitivanog voća su delovali na *Prototheca-u wickerhamii*, dok su na *Prototheca-u zopfii* delovali samo ekstrakti kupine, trešnje i aronije. Najjače antialgalno dejstvo na obe ispitivane vrste je imao ekstrakt kupine, a najslabije na *Prototheca-u wickerhamii* ekstrakt aronije, dok je na *Prototheca-u zopfii* najslabije delovao ekstrakt maline. Ekstrakti višnje i aronije su sve efekte na *Prototheca-u zopfii* izazvali u približnim koncentracijama. Nistatin je ispoljio jače antialgalno dejstvo u odnosu na ispitivane ekstrakte.

Grafik 127. Poređenje Break point koncentracija Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge



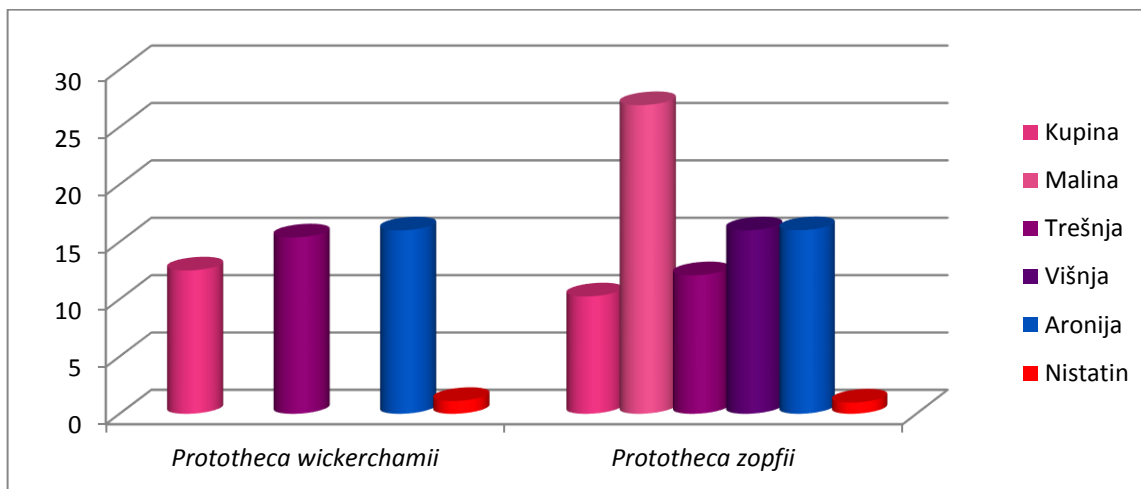
Ekstrakt kupine je Break point *Prototheca*-e *wickerhamii* izazvao u 10,1 puta, a ekstrakt aronije 12,8 puta većoj koncentraciji u odnosu na Break point koncentraciju Nistatina. Break point *Prototheca*-e *zopfii* je ispoljen pri koncentraciji ekstrakta kupine 8,9 puta, a ekstrakta maline 23,16 puta većoj koncentraciji od Break point koncentracije Nistatina. Break point vrednosti Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 127.

Grafik 128. Poređenje MBC Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge



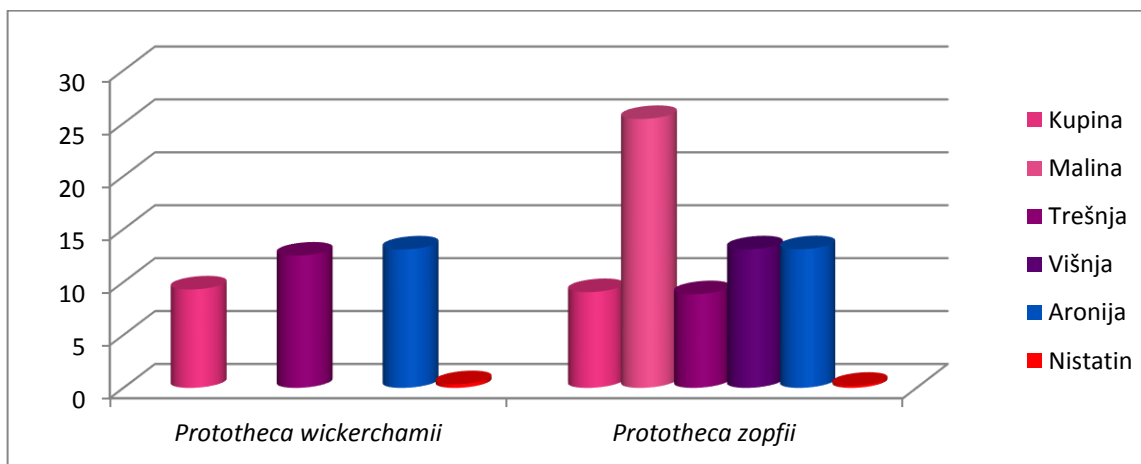
MBC ekstrakta kupine je bila 10,2 puta, a ekstrakta aronije 12,9 puta veća u odnosu na MBC-u Nistatina na *Prototheca*-u *wickerhamii*. MBC ekstrakta kupine je bila 9 puta, a ekstrakta maline 23,5 puta veća u odnosu na MBC-u Nistatina na *Prototheca*-u *zopfii*. MBC-e Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 128.

Grafik 129. Poređenje MIC 99 Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge



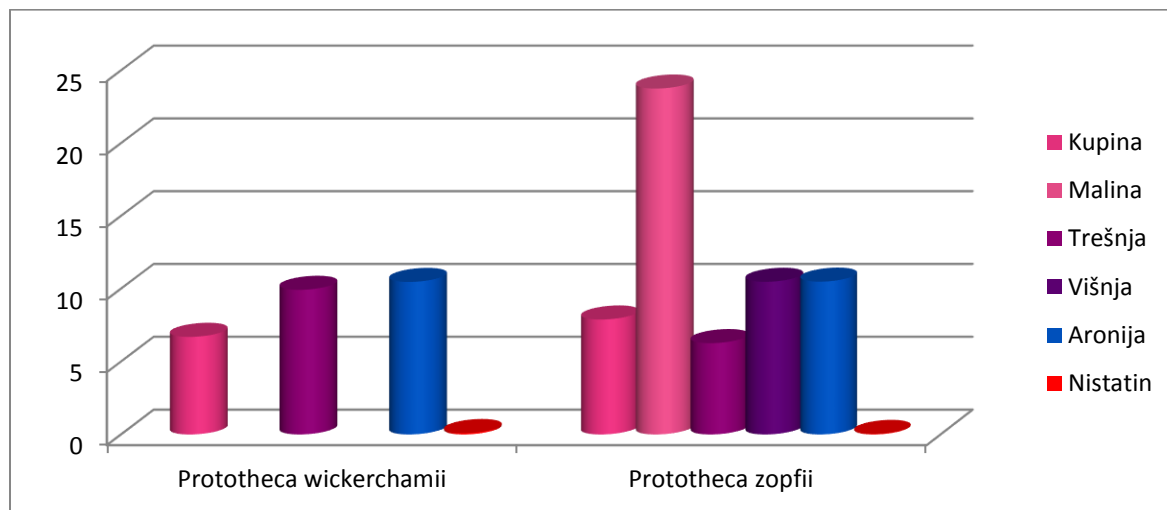
MIC 99 ekstrakta kupine je bila 11,15 puta, a ekstrakta aronije 14,26 puta veća u odnosu na MIC-u 99 Nistatina na *Prototheca-u wickerhamii*. MIC 99 ekstrakta kupine je bila 10,47 puta, a ekstrakta maline 27,5 puta veća u odnosu na MIC-u 99 Nistatina na *Prototheca-u zopfii*. MIC-e 99 Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 129.

Grafik 130. Poređenje MIC 90 Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge



MIC 90 ekstrakta kupine je bila 26,9 puta, a ekstrakta aronije 37,87 puta veća u odnosu na MIC-u 90 Nistatina na *Prototheca-u wickerhamii*. MIC 90 ekstrakta kupine je bila 45,6 puta, a ekstrakta maline 128 puta veća u odnosu na MIC-u 90 Nistatina na *Prototheca-u zopfii*. MIC-e 90 Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 130.

Grafik 131. Poređenje MIC 80 Nistatina i ekstrakata odabranog voća porodice Rosaceae na ispitivane alge



MIC 80 ekstrakta kupine je bila 71,7 puta, a ekstrakta aronije 112,11 puta veća u odnosu na MIC-u 80 Nistatina na *Prototheca*-u *wickerhamii*. MIC 80 ekstrakta kupine je bila 233,86 puta, a ekstrakta maline 704,86 puta veća u odnosu na MIC-u 80 Nistatina na *Prototheca*-u *zopfii*. MIC-e 80 Nistatina i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije protiv algi utvrđene dilucionom metodom, su prikazane na grafiku 131.

Antivirusno dejstvo

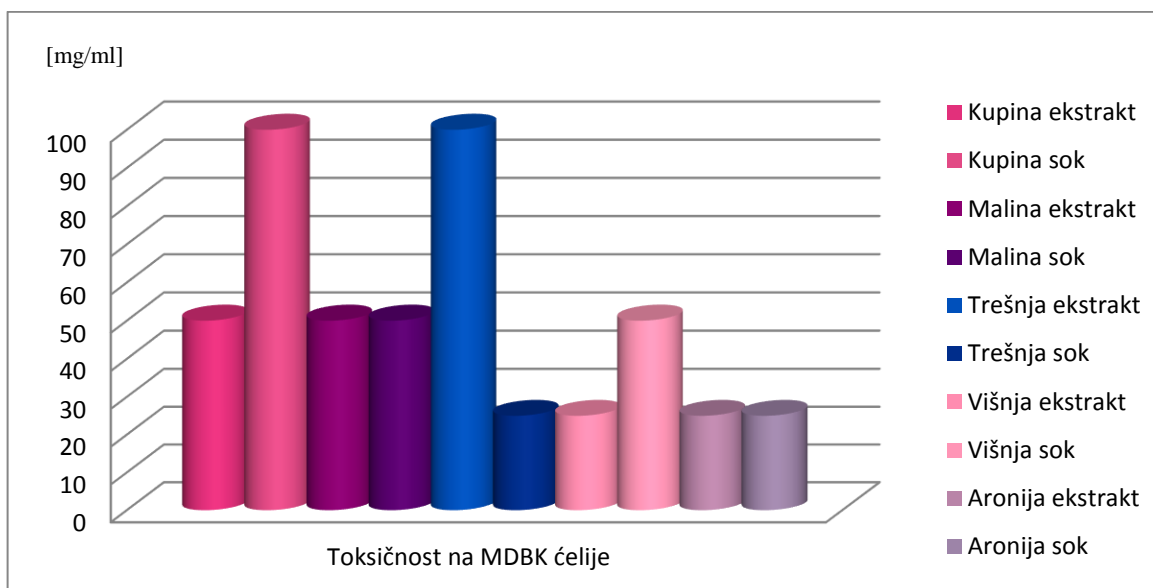
Rezultati analize antivirusnog dejstva voća su iskazani kao efektivne koncentracije ispitujućih uzoraka tj. koncentracije koje neutrališu citopatogenu aktivnost virusa. Pored ovih koncentracija, zabeležene su i doze ekstrakta i soka koje su toksično delovale na same MDBK ćelije, kao i doze pri kojima je citopatogeni efekat virusa bio potpun tj. pri kojima ispitujuće materije nisu imale antivirusni efekat.

Najslabije dejstvo na oba virusa imao je sok kupine, dok je na oba virusa najjače delovao ekstrakt maline. Svi ispitivani sokovi i ekstrakti su delovali protiv RNK virusa (*Bovine viral diarrhoea virus*), dok na DNK virus (*Bovine herpesvirus 1*) nisu delovala dva soka. Ovo je razumljivo, jer su RNK virusi osetljiviji na dejstvo antiviralnih agenasa. Zanimljivo je da su ekstrakt i sok aronije delovali protiv oba ispitivana virusa u istim koncentracijama tj. da su bili jednako efikasni protiv oba ispitivana virusa. Rezultati antivirusne analize su prikazani u Prilogu 9.

Toksičnost na MDBK ćelije

Najmanje toksične za MDBK ćelije tj. materije koje su toksično delovale na MDBK ćelije u najvećim koncentracijama (100 mg/ml) bile su sok kupine i ekstrakt trešnje.

Grafik 132. Najmanje koncentracije ekstrakata i sokova odabranog voća porodice Rosaceae za koje je dokazana citotoksičnost na MDBK ćelije

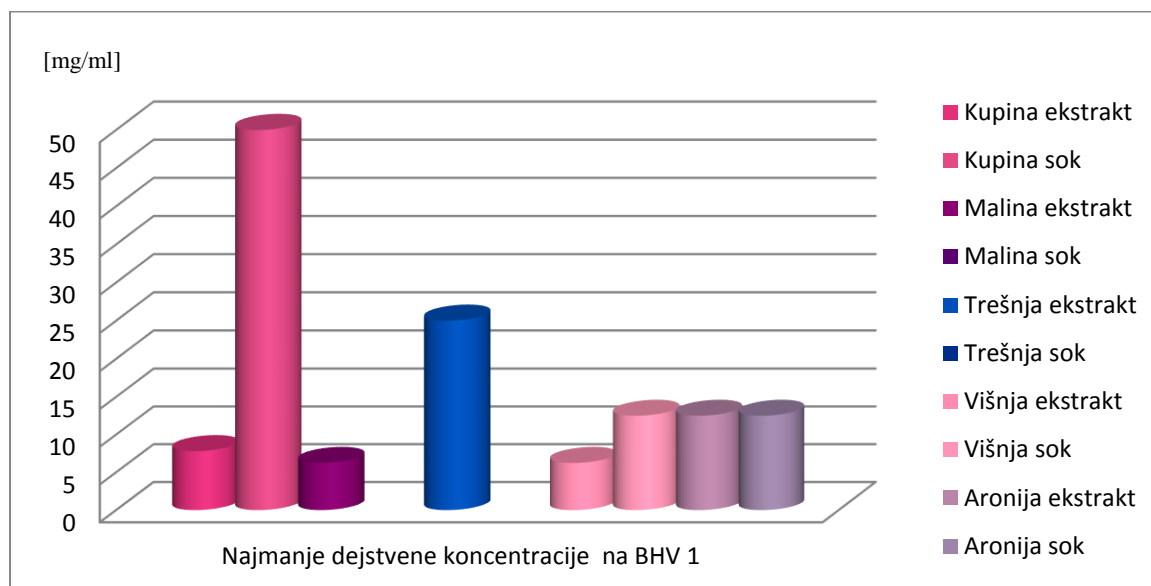


Najveću toksičnost za MDBK ćelije tj. materije koje su toksično delovale na MDBK ćelije u najmanjim dozama (25 mg/ml) bile su: ekstrakt i sok aronije, sok trešnje i ekstrakt višnje. Rezultati ispitivanja toksičnosti sokova i ekstrakata kupine, maline, trešnje, višnje i aronije na MDBK ćelije su prikazani na grafiku 132.

Dejstvo na DNK virus

Najjaču inhibiciju aktivnosti *Bovine herpesvirus*-a 1 su ispoljili ekstrakti maline i višnje, koji su delovali u koncentracijama $\geq 6,25$ mg/ml.

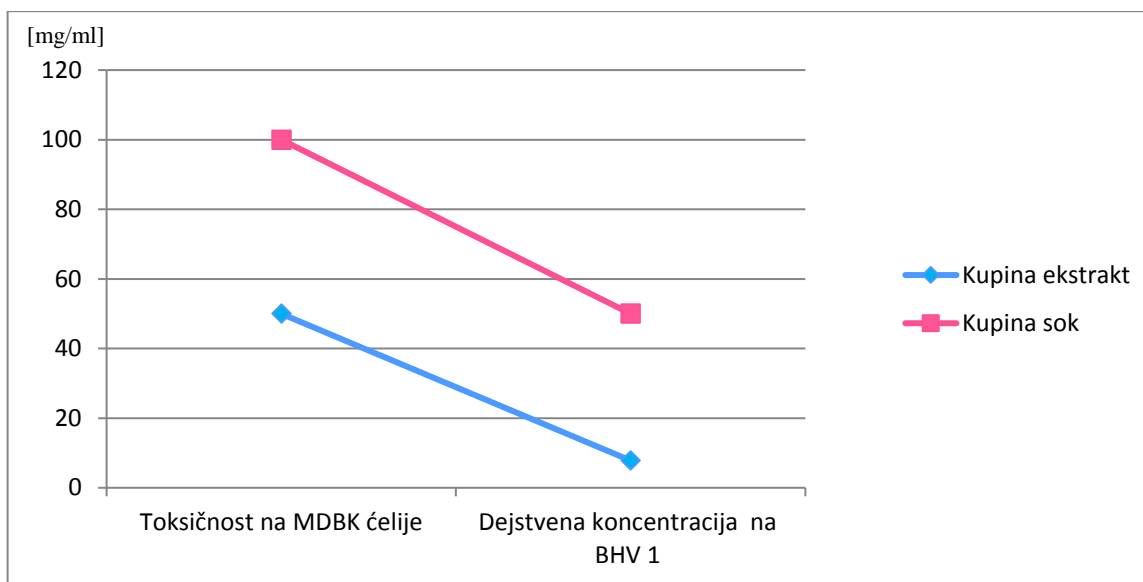
Grafik 133. Najmanje koncentracije ekstrakata i sokova odabranog voća porodice Rosaceae u kojima je ispoljeno antivirusno dejstvo na *Bovine herpesvirus 1*



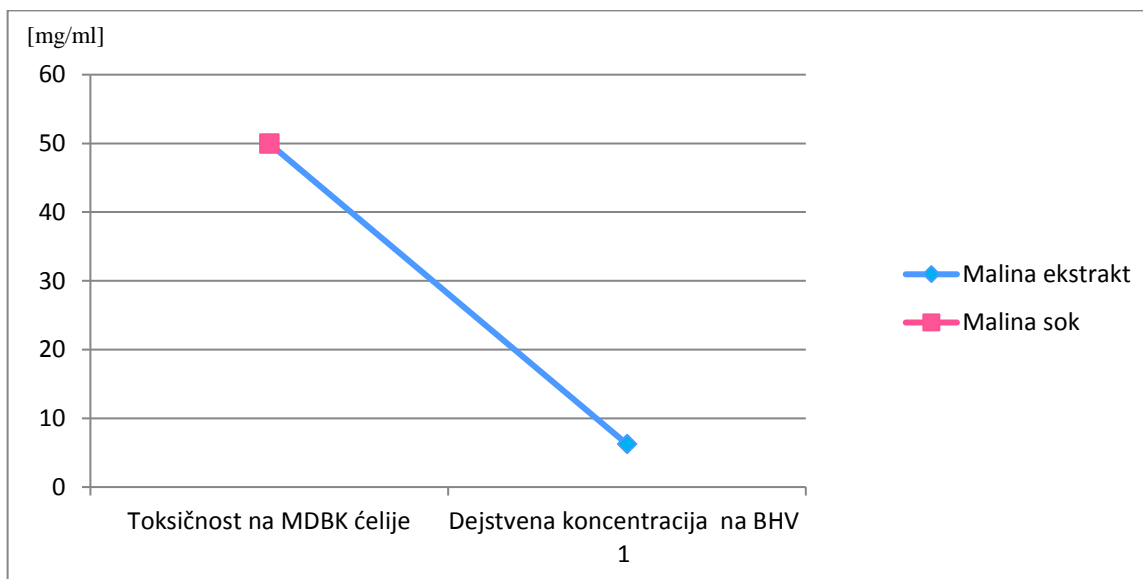
Najslabije dejstvo protiv *Bovine herpesvirus*-a 1 je imao sok kupine, koji je delovao u koncentracijama ≥ 50 mg/ml. Sokovi maline i trešnje nisu bili delotvorni protiv *Bovine herpesvirus*-a 1 u koncentracijama koje nisu bile toksične za kulturu ćelija (< 50 mg/ml i < 25 mg/ml). Najmanje dejstvene koncentracije ekstrakata i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije na *Bovine herpesvirus 1* su prikazane na grafiku 133.

Kupina

Sok kupine je oba posmatrana efekta izazvao u većim koncentracijama u odnosu na ekstrakt tj. bio je manje toksičan za MDBK ćelije (≥ 100 mg/ml) i manje aktivan protiv *Bovine herpesvirus*-a 1 (≥ 50 mg/ml) u odnosu na ekstrakt kupine (≥ 50 mg/ml i $\geq 7,815$ mg/ml, respektivno). Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta kupine na *Bovine herpesvirus 1* su prikazani na grafiku 134.

Grafik 134. Antivirusno dejstvo ekstrakta i soka kupine na *Bovine herpesvirus 1***Malina**

Soka maline nije delovao protiv *Bovine herpesvirus*-a 1 u ispitivanim koncentracijama. Sok i ekstrakt maline su bili jednako toksični na MDBK ćelije (≥ 50 mg/ml) tj. toksično dejstvo na MDBK ćelije su ispoljili u jednakim koncentracijama.

Grafik 135. Antivirusno dejstvo ekstrakta i soka maline na *Bovine herpesvirus 1*

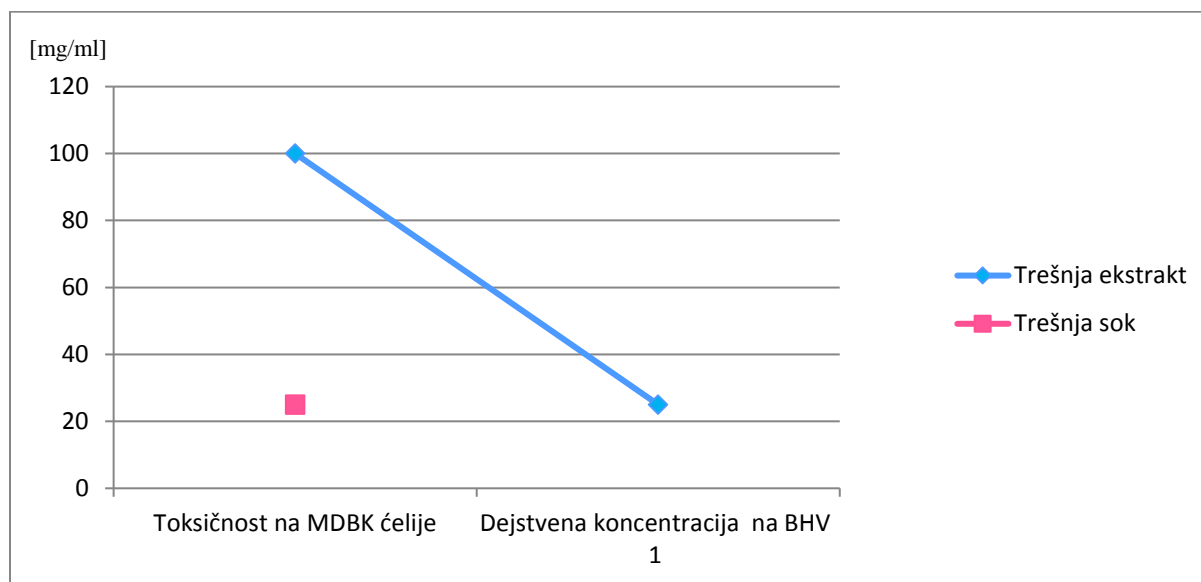
Eventualni antivirusni efekat soka maline na *Bovine herpesvirus 1* je bio nečitljiv, jer da postoji bio bi veći od koncentracije koja je imala citotoksično dejstvo na ćelije MDBK ćelije, pa ne bi bilo moguće utvrditi da li je citotoksičnost potekla od soka maline ili ispitivanog

virusa. Ekstrakt maline je antivirusni efekat ispoljio u koncentracijama manjim od najniže citotoksične koncentracije (6,25 mg/ml). Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta maline na *Bovine herpesvirus 1* su prikazani na grafiku 135.

Trešnja

Sok trešnje nije delovao protiv *Bovine herpesvirus-a 1* u ispitivanim koncentracijama manjim od citotoksične koncentracije na MDBK ćelije. Toksični efekat ekstrakta trešnje na MDBK ćelije je nastao pri većim koncentracijama (≥ 100 mg/ml) u odnosu na citotoksične koncentracije soka (≥ 25 mg/ml) tj. sok trešnje je bio toksičniji za MDBK ćelije.

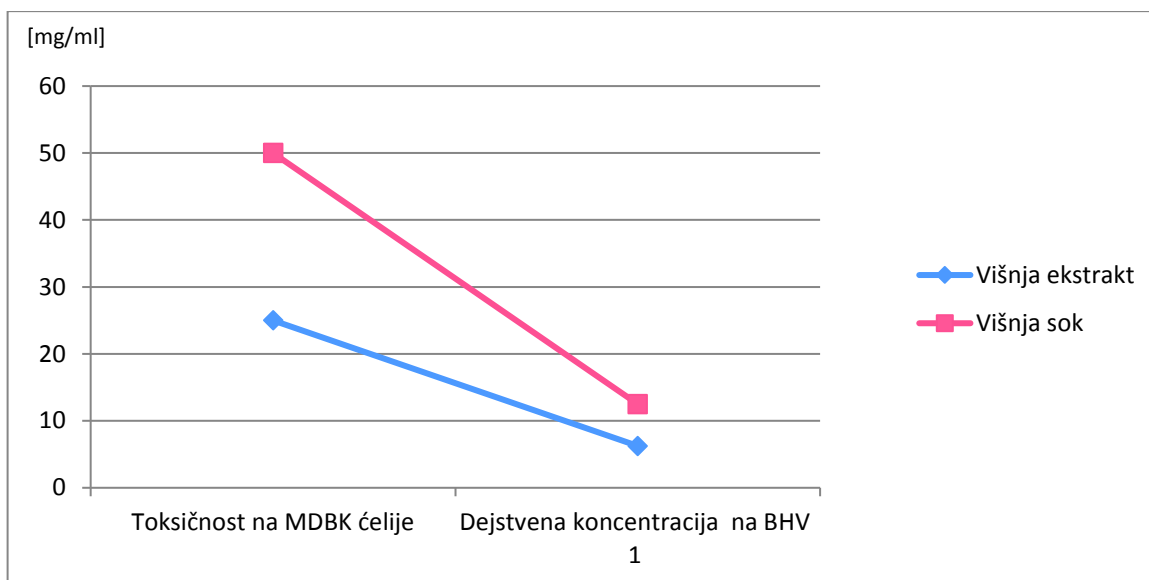
Grafik 136. Antivirusno dejstvo ekstrakta i soka trešnje na *Bovine herpesvirus 1*



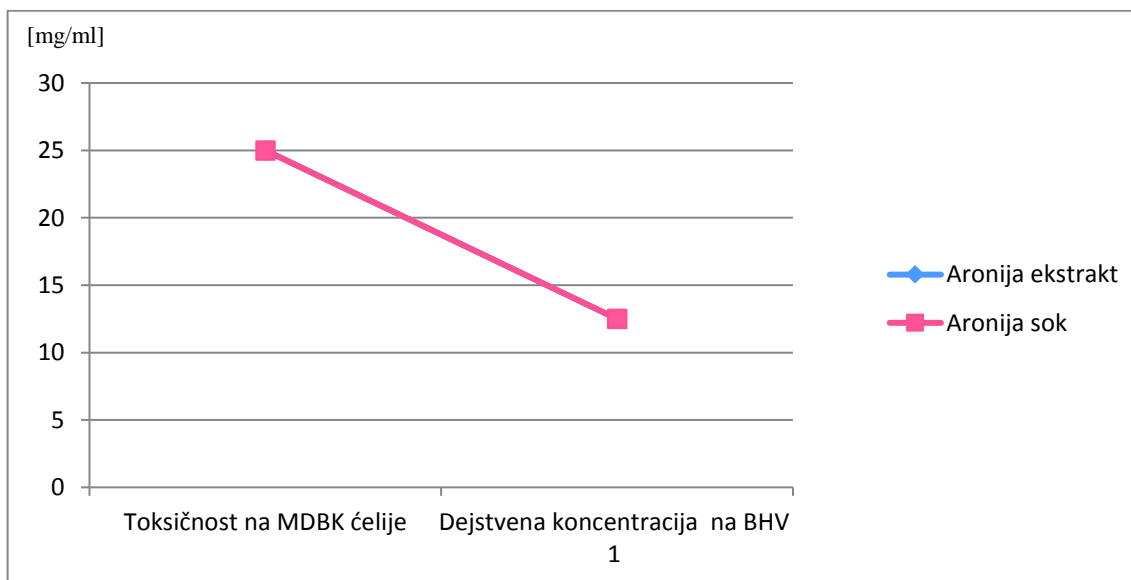
Ekstrakt trešnje je ispoljio dejstvo protiv *Bovine herpesvirus-a 1* u koncentracijama manjim od citotoksičnih za MDBK ćelije (≥ 25 mg/ml). Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta trešnje na *Bovine herpesvirus 1* su prikazani na grafiku 136.

Višnja

Sok višnje je oba posmatrana efekta izazvao u većim koncentracijama u odnosu na ekstrakt tj. bio je manje toksičan na MDBK ćelije (sok ≥ 50 mg/ml, ekstrakt ≥ 25 mg/ml) i manje efikasan protiv *Bovine herpesvirus-a 1* (sok $\geq 12,5$ mg/ml, ekstrakt $\geq 6,25$ mg/ml). Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta višnje na *Bovine herpesvirus 1* su prikazani na grafiku 137.

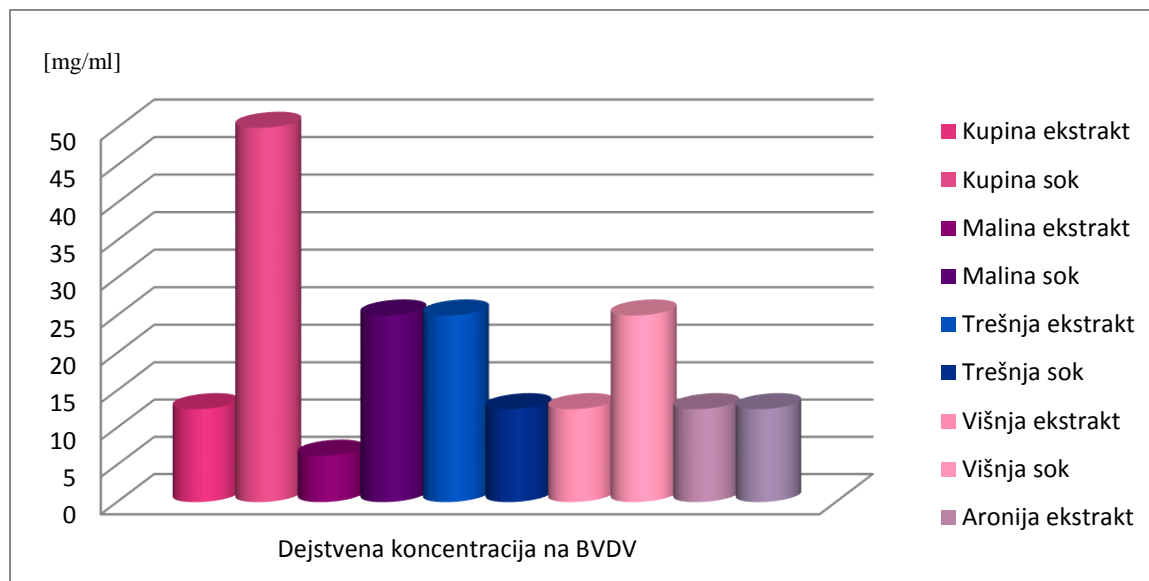
Grafik 137. Antivirusno dejstvo ekstrakta i višnje na *Bovine herpesvirus 1***Aronija**

Ekstrakt i sok aronije su oba posmatrana efekta izazvali u istim koncentracijama tj. bili su jednako toksični za MDBK ćelije (≥ 25 mg/ml) i jednako efikasni protiv *Bovine herpesvirus-a 1* ($\geq 12,5$ mg/ml). Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta aronije na *Bovine herpesvirus 1* su prikazani na grafiku 138.

Grafik 138. Antivirusno dejstvo ekstrakta i soka aronije na *Bovine herpesvirus 1***Dejstvo na RNK virus**

Najjaču inhibiciju aktivnosti *Bovine viral diarrhoea virus*-a ispoljio je ekstrakt maline, koji je delovao inhibitorno u koncentracijama $\geq 6,25$ mg/ml.

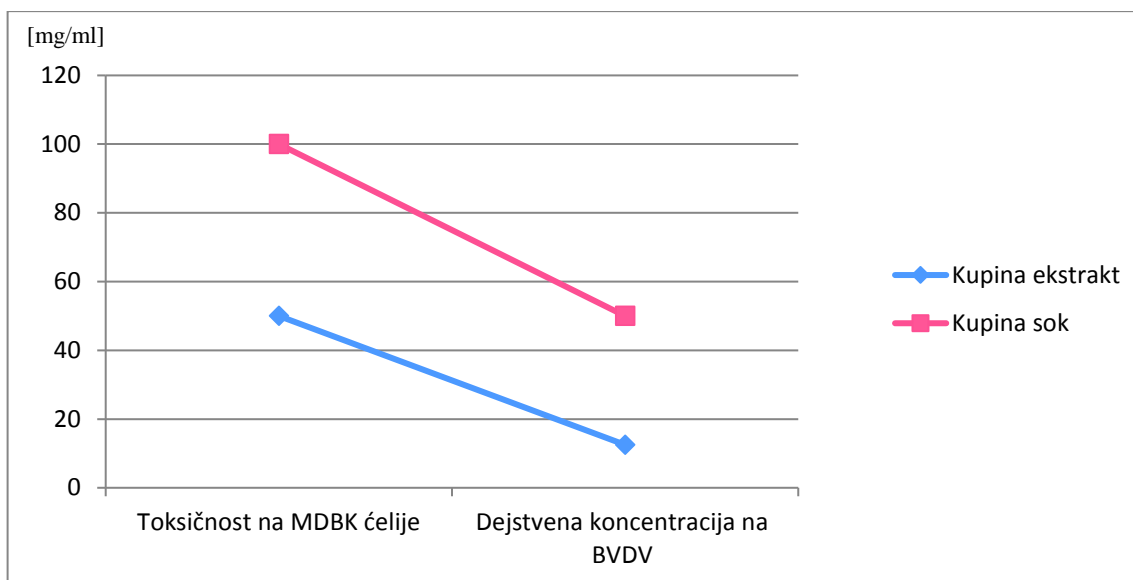
Grafik 139. Najmanje koncentracije ekstrakata i sokova odabranog voća porodice Rosaceae pri kojima je ispoljeno dejstvo na *Bovine viral diarrhoea virus*



Najslabije dejstvo protiv *Bovine viral diarrhoea virus*-a je ispoljio sok kupine, koji je delovao u koncentracijama ≥ 50 mg/ml. Svi sokovi i ekstrakti su delovali protiv *Bovine viral diarrhoea virus*-a u ispitivanim koncentracijama. Najmanje dejstvene koncentracije ekstrakata i sokova kupine, maline, trešnje, višnje i aronije na *Bovine viral diarrhoea virus* su prikazane na grafiku 139.

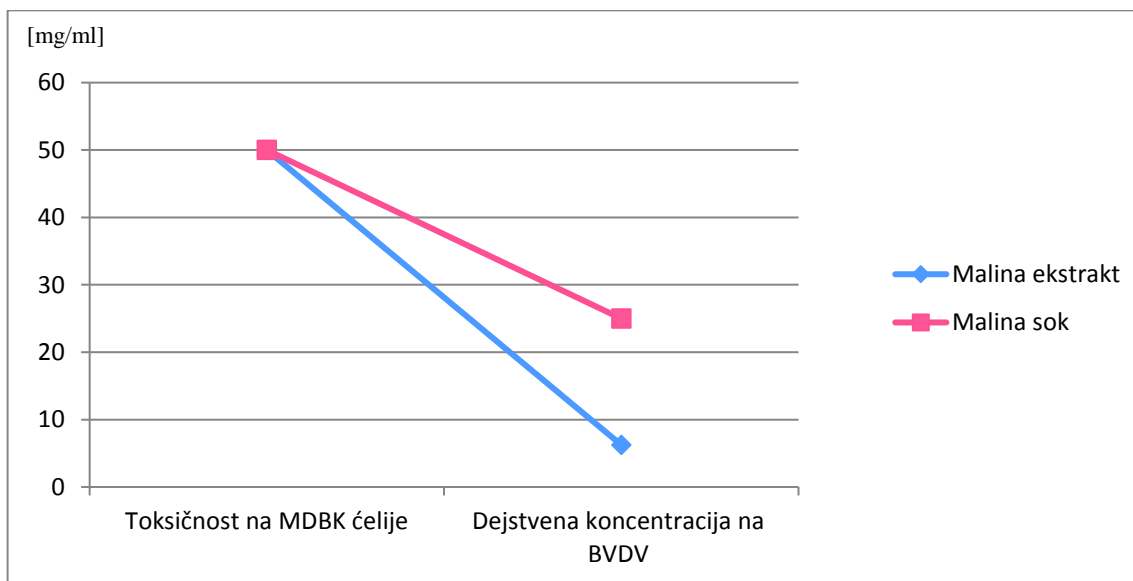
Kupina

Sok kupine je oba posmatrana efekta izazvao u većim koncentracijama u odnosu na ekstrakt tj. bio je manje toksičan na MDBK ćelije (≥ 100 mg/ml) i manje efikasan protiv *Bovine viral diarrhoea virus*-a (≥ 50 mg/ml) u odnosu na ekstrakt (≥ 50 mg/ml i $\geq 12,5$ mg/ml, respektivno). Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta kupine na *Bovine viral diarrhoea virus* su prikazani na grafiku 140.

Grafik 140. Antivirusno dejstvo ekstrakta i soka kupine na *Bovine viral diarrhoea virus*

Malina

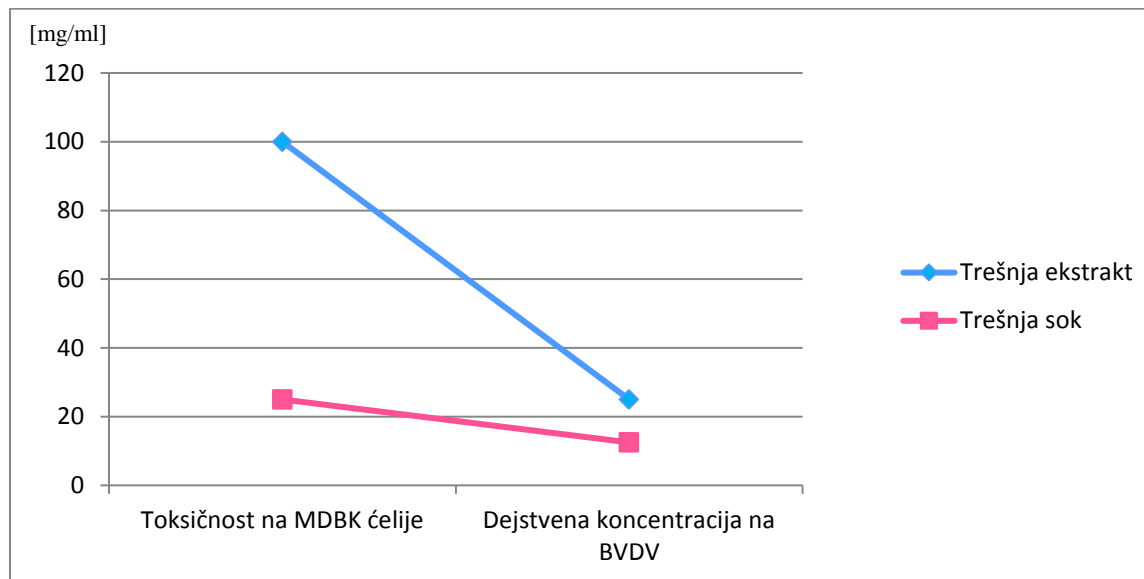
Sok i ekstrakt maline su toksično delovali na MDBK ćelije u istim koncentracama (≥ 50 mg/ml) tj. bili su jednako toksični za MDBK ćelije. Međutim, bile su potrebne veće koncentracije soka (≥ 25 mg/ml) u odnosu na ekstrakt maline ($\geq 6,25$ mg/ml) za inhibiciju aktivnosti *Bovine viral diarrhoea virus*-a tj. sok je bio manje efikasan protiv *Bovine viral diarrhoea virus*-a. Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta maline na *Bovine viral diarrhoea virus* su prikazani na grafiku 141.

Grafik 141. Antivirusno dejstvo ekstrakta i soka maline na *Bovine viral diarrhoea virus*

Trešnja

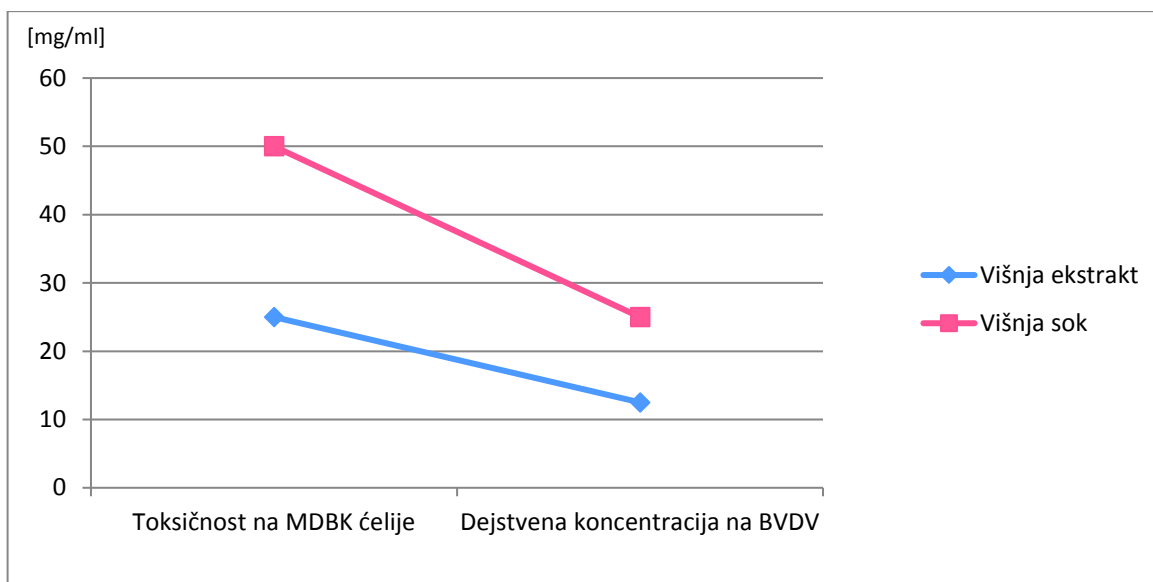
Ekstrakt trešnje je oba posmatrana efekta izazvao u većim koncentracijama u odnosu na sok tj. bio je manje toksičan za MDBK ćelije (ekstrakt ≥ 100 mg/ml, sok 25 mg/ml) i manje efikasan protiv *Bovine viral diarrhoea virus*-a (ekstrakt ≥ 25 mg/ml, sok $\geq 12,5$ mg/ml). Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta trešnje na *Bovine viral diarrhoea virus* su prikazani na grafiku 142.

Grafik 142. Antivirusno dejstvo ekstrakta i soka trešnje na *Bovine viral diarrhoea virus*



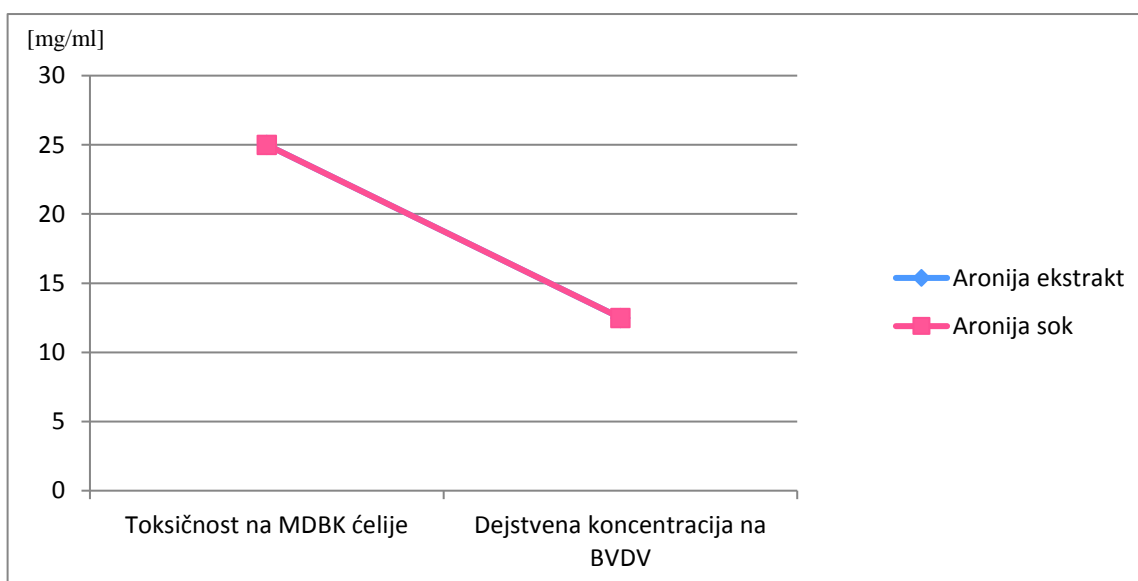
Višnja

Sok višnje je oba posmatrana efekta izazvao u većim koncentracijama u odnosu na ekstrakt tj. bio je manje toksičan za MDBK ćelije (sok 50 mg/ml, ekstrakt ≥ 25 mg/ml) i manje efikasan protiv *Bovine viral diarrhoea virus*-a (sok ≥ 25 mg/ml, ekstrakt $\geq 12,5$ mg/ml). Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta višnje na *Bovine viral diarrhoea virus* su prikazani na grafiku 143.

Grafik 143. Antivirusno dejstvo ekstrakta i soka višnje na *Bovine viral diarrhoea virus*

Aronija

Kao i kod DNK virusa, ekstrakt i sok aronije su oba posmatrana efekta izazvali u istim koncentracijama tj. bili su jednako toksični za MDBK ćelije (≥ 25 mg/ml) i jednako efikasni protiv *Bovine viral diarrhoea virus*-a ($\geq 12,5$ mg/ml). Rezultati ispitivanja toksičnosti na MDBK ćelije i antivirusnog dejstva soka i ekstrakta aronije na *Bovine viral diarrhoea virus* su prikazani na grafiku 144.

Grafik 144. Antivirusno dejstvo ekstrakta i soka aronije na *Bovine viral diarrhoea virus*

Iako je poznato antivirusno dejstvo plodova *Rubus idaeus* na coxsackievirus B1 i influenza A virus (134), podsticajno dejstvo plodova *Rubus fruticosus* i *Prunus cerasus* na produkciju virusa ptičijeg gripa (187), o antivirusnom dejstvu *Prunus avium*-a i *Aronia prunifolia*-e, kao ni o dejstvu bilo koje od ovih biljaka protiv *Bovine herpesvirus*-a 1 ili *Bovine viral diarrhea virus*-a nisu pronađeni podaci u dostupnoj literaturi.

Poređenje antimikrobnih dejstava

U cilju poređenja rezultata, opsezi efektivnih koncentracija (Break point, MBC, MIC 99, MIC 90 i MIC 80) utvrđeni dilucionom metodom su svedeni na srednju vrednost. Na osnovu tih vrednosti, rezultata difuzione metode i analize antivirusnog dejstva (u okviru koje je ispitano dejstvo na MDBK ćelije) sprovedeno je poređenje: antimikrobne efektivnosti sokova i ekstrakata, rezultata dobijenih difuzionom i dilucionom metodom, srednjih vrednosti rezultata utvrđenih dilucionom metodom i njihovo poređenje sa odgovarajućim antimikrobikom. Tabela poređenja antimikrobnog dejstva ekstrakata i sokova je prikazana u Prilogu 10., a tabela srednjih vrednosti rezultata analize antimikrobnog dejstva (antibakterijskog, antiungalnog i antialgalnog izvedenog dilucionom metodom i antivirusnog i dejstva na MDBK ćelije) ekstrakata, sokova, antibiotika i antimikotika u Prilogu 11.

U većini slučajeva je antimikrobna neaktivnost (najčešće sokova) dokazana difuzionom metodom, bila opovrgnuta rezultatima dilucione metode, koji pokazuju antimikrobno dejstvo ispitivanog ekstrakta ili soka na testirani mikroorganizam. Veća preciznost dilucione metode mogla bi biti objašnjenje ovakvih rezultata (188). Tečni medijum (diluciona metoda) u odnosu na polučvrsti (difuziona metoda) omogućava slobodnije kretanje i lakši kontakt ispitivane supstance i mikroorganizma. Stoga, svaki izostanak antimikrobnog dejstva dokazan difuzionom metodom i potvrđen dilucionom značio bi nesposobnost te materije da deluje na testirani mikroorganizam.

Difuzionom i/ili dilucionom i analizom CPE utvrđeno je da su ispitivani ekstrakti bili delotvorniji protiv većine testiranih mikroorganizama i MDBK ćelija. Prema rezultatima ispitivanja sprovedenog dilucionom metodom i analizom CPE, sokovi maline protiv autohtonog soja *Rhodococcus*-a *equi* i obe sorte *Prototheca*-e, trešnje protiv *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939, *Trueperella*-e *pyogenes* i na MDBK ćelije i višnje protiv referentnog i autohtonog soja *Staphylococcus aureus*-a, *Salmonella*-e *Typhimurium* ATCC 14028 i *Pseudomonas aeruginosa*-e ATCC 10145 su imali superiornije dejstvo u odnosu na ekstrakt. Po rezultatima difuzione metode superiornije dejstvo soka u odnosu na ekstrakt imala je višnja protiv *Staphylococcus aureus*-a 11632 i referentnog soja *Rhodococcus*-a *equi*. Jednako dejstvo sokova i ekstrakata dokazano je, dilucionom metodom, za: kupinu protiv *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939 i *Candida*-e *albicans*, maline na MDBK ćelije i aronije protiv *Arcanobacterium haemolyticum*, oba ispitivana virusa na MDBK ćelije i višnju protiv *Prototheca*-e *zopfii* (MIC-e 80 i 90). Izostanak antimikrobnog dejstva i ekstrakta i soka, po rezultatima difuzione metode, utvrđen je za: trešnju protiv *Streptococcus*-a *agalactiae* i svih

biljaka protiv ispitivanih gljivica i algi, osim ekstrakta maline na *Candida*-u *albicans* ATCC 24433. Izostanak antimikrobnog dejstva i ekstrakta i soka, prema rezultatima dilucione metode, potvrđen je za: malinu, višnju i aroniju protiv autohtonog soja *Candida*-e *albicans* i višnju protiv *Prototheca*-e *wickerhamii*. Najveća razlika u dejstvu ekstrakta i soka uočena je za dejstvo maline protiv *Escherichia*-e *coli*, gde je prosečna vrednost rezultata dilucione analize soka bila 48 puta veća u odnosu na istu ekstrakta. Prema prosečnim vrednostima rezultata analize antimikrobnog dejstva sprovedene dilucionom metodom, ekstrakt kupine je bio najdelotvorniji protiv najvećeg broja odnosno devet mikroorganizama. Ovi mikroorganizmi uključuju: *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, oba soja *Rhodococcus*-a *equi*, *Trueperella*-e *pyogenes*, *Arcanobacterium haemolyticum*-a, *Enterococcus*-a *faecalis* i *Pseudomonas aeruginosa*-e ATCC 10145, obe *Prototheca*-u *wickerhamii* i *Prototheca*-u *zopfii*. Kako su sokovi kupine i maline imali isti prosečnu vrednost rezultata antibakterijskog dejstva kao ekstrakt kupine, oni su takođe bili najdelotvorniji protiv *Rhodococcus equi* i *Enterococcus*-a *faecalis*, respektivno. Ekstrakt maline je bio najaktivniji protiv šest bakterija (*Salmonella*-e *Enteritidis*, *Salmonella*-e *Typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa*-e, *Escherichia*-e *coli*, *Klebsiella pneumonia*-e i *Acinetobacter*-a *lwoffii*) i oba virusa, a ekstrakt aronije protiv dve bakterije (*Staphylococcus aureus*-a i *Streptococcus*-a *agalactiae*) i MDBK ćelija. Pored ekstrakta aronije najtoksičniji na MDBK ćelije su bili još i sokovi aronije i trešnje i ekstrakt višnje. Ekstrakt trešnje je bio najaktivniji protiv oba soja *Candida*-e *albicans*. Neaktivan ili najslabije aktivan (aktivan u najvećoj koncentraciji) bio je sok trešnje. On je imao najslabije dejstvo protiv jedanaest mikroorganizama (*Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632, *Rhodococcus*-a *equi*, *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939, *Arcanobacterium haemolyticum*-a, *Salmonella*-e *Enteritidis*, *Salmonella*-e *Typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa*-e, *Pseudomonas aeruginosa*-e ATCC 10145, *Acinetobacter*-a *lwoffii*, *Candida*-e *albicans* i *Bovine herpesvirus*-a 1. Prosečne vrednosti antimikrobnog i dejstva na MDBK ćelije su bile u opsegu od 0,71 mg/ml do 100 mg/ml.

Ispitivani ekstrakti i sokovi imali jače antibakterijsko dejstvo na autohtoni soj *Rhodococcus*-a *equi* i *Trueperella*-u *pyogenes* u odnosu na Streptomycin. Ekstrakt kupine je bio delotvorniji od Streptomicina protiv svih ispitivanih gram-pozitivnih bakterija. Pored toga na: *Staphylococcus aureus*-a jače od antibiotika je delovao ekstrakt aronije, *Staphylococcus aureus*-a ATCC ekstrakt aronije i sokovi kupine i višnje, *Rhodococcus equi* ATCC 6939 ekstrakti maline i aronije i sok kupine, *Arcanobacterium haemolyticum* ekstrakt višnje i sok kupine, *Streptococcus agalactiae* ekstrakti svih ispitivanih biljaka, *Enterococcus faecalis* ekstrakti maline i višnje i sok maline, a protiv *Escherichia*-e *coli* ekstrakt maline. Najsuperiornije dejstvo u odnosu na Streptomycin uočeno je za sok i ekstrakt kupine protiv autohtonog soja *Rhodococcus*-a *equi*. Prosečne vrednosti rezultata antibakterijske analize sprovedene dilucionom metodom ekstrakta i soka kupine su bile 15,21 puta manje od Streptomicina. Međutim, ni protiv jednog od mikroorganizama ispitivani ekstrakti i sokovi nisu imali jače antimikrobno dejstvo u odnosu na Nistatin.

Povezanost hemijskih supstanci i antimikrobnog dejstva

Kako bi se utvrdila korelacija između hemijskih supstanci i antimikrobnog dejstva na određeni mikroorganizam, izvršena je regresiona analiza. Na osnovu regresione analize utvrđeno je koja od supstanci je bila najviše povezana sa antimikrobnim dejstvom na testirani mikroorganizam. Rezultati su izraženi kao koeficijent determinacije (R^2), odnosno postotak u kojem je varijacija jedne pojave povezana sa drugom promenljivom. U istraživanju sprovedenom u okviru ove disertacije, koeficijent determinacije govori u kojem procentu je određena supstanca u korelaciji sa ispitanim antimikrobnim delovanjem. Pored supstanci određivanih u okviru ove disertacije i druge supstance iz plodova, mogu imati udela u njihovim antimikrobnim aktivnostima (npr. elagotanini (189)).

Dejstvo ispitivanih sokova i ekstrakata protiv najviše ispitivanih mikroorganizama, šest bakterija (referentni soj *Rhodococcus equi*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028, oba soja *Pseudomonas aeruginosa*-e i *Acinetobacter lwoffii*) je bilo u najvećoj meri povezano sa kumarinskom kiselinom. Ferulna kiselina je bila najpovezanija sa antimikrobnim dejstvom plodova na četiri mikroorganizma (na ispitivane viruse, referentni soj *Candida*-e *albicans* i *Prototheca*-u *zopfii*), kao i sa toksičnošću na MDBK ćelije. Galna kiselina je bila najpovezanija sa dejstvom plodova protiv tri bakterije (autohtonog soja *Rhodococcus*-a *equi*, *Trueperella*-e *pyogenes* i *Klebsiella*-e *pneumoniae*), a katehin protiv dve bakterije tj. oba soja *Staphylococcus aureus*-a. Ostale supstance (rutin, antocijani, krisin, epikatehin, kvercetin i gentisinska kiselina) su bile najpovezanije sa antimikrobnim dejstvima na po jedan mikroorganizam (*Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella*-u Enteritidis, *Escherichia*-u *coli*, autohtoni soj *Candida*-e *albicans* i *Prototheca*-u *wickerhamii*, respektivno). Najveću povezanost sa antimikrobnim dejstvom plodova su imali antocijani na *Enterococcus faecalis* (71,94%).

Najmanje procenat povezanosti sa antimikrobnim delovanjem plodova su imale: hlorogenska kiselina na pet ispitivanih mikroorganizama (*Trueperella*-u *pyogenes*, *Arcanobacterium haemolyticum*, autohtoni i referentni soj *Pseudomonas aeruginosa*-e i *Acinetobacter lwoffii*), kempferol na četiri mikroorganizma (autohtoni soj *Staphylococcus aureus*-a, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis* i *Bovine herpesvirus*), kumarinska kiselina na dva mikroorganizma (*Klebsiella*-u *pneumoniae* i *Bovine viral diarrhea virus*), siringinska kiselina takođe na dva (referentni soj *Staphylococcus aureus*-a i *Salmonella*-u Enteritidis), kao i vitamin C (referentni soj *Rhodococcus*-a *equi* i *Prototheca*-u *wickerhamii*). Dok su najmanje povezani sa po jednom antimikrobnom aktivnosti bili: vanilinska kiselina (na autohtoni soj *Rhodococcus*-a *equi*), epikatehin (na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028), katehin (na *Escherichia*-u *coli*), rutin (na *Candida albicans*), krisin (na referentni soj *Candida*-e *albicans*) i elaginska kiselina (na *Prototheca*-u *zopfii*). Sa toksičnim dejstvom na MDBK ćelije skoro uopšte nije bila povezana p-hidroksibenzoeva kiselina. Rezultati regresione analize su prikazani u Prilogu 10.

Antibakterijsko dejstvo

Prema rezultatima regresione analize rezultata sa antibakterijskim dejstvom na *Staphylococcus aureus* autohtoni i ATCC 11632 soj je u najvećoj meri bio u korelaciji sa sadržajem katehina (34,76% i 42,78%). Ovakav rezultat je u skladu sa rezultatima istraživanja sprovedenih od strane Van der Watt i sar. za autohtoni soj i Rauha i sar., Rodriguez Vaquero i sar. i Taguri i sar. u okviru kojih je ustanovljeno dejstvo čistog katehina na referentne sojeve *Staphylococcus aureus*-a (173,190–192). Nasuprot pomenutim istraživanjima Cueva i sar., Rodriguez Vaquero i sar., Kayser i Kolodziej, Park i sar., Martens i sar. i Mandalari i sar u okviru sprovedenih studija nisu ustanovili antimikrobni efekat katehina na referentne sojeve iste bakterije: (191,193–197). Van der Watt i sar. navode da se antimikrobni efekat katehina zasniva na direktnim oštećenjima ćelijske membranu (190). Međutim, precizan opis mehanizma dejstva čistog katehina na ćelijsku membranu ove bakterije nije opisan u dostupnoj literaturi.

Sa antibakterijskim dejstvom na autohtoni soj *Rhodococcus*-a *equi* je u najvećoj meri bila povezana galna kiselina (38,67%), dok je sa dejstvom na ATCC 6939 soj bila kumarinska kiselina (54%). Razlike u rezultatima potiču najverovatnije od razlika u senzitivnosti dva različita soja iste vrste. O dejstvu čistih supstanci, kao ni o njihovom mehanizmu dejstva na ovu bakteriju nisu pronađeni podaci u dostupnoj literaturi.

Sa antibakterijskim dejstvom plodova na *Trueperella*-u *pyogenes* u najvećoj meri je bila povezana galna kiselina (69,1%). O dejstvu čiste supstance, kao ni o njenom mehanizmu dejstva na ovu bakteriju nisu pronađeni podaci u dostupnoj literaturi.

Antibakterijsko dejstvo plodova na *Arcanobacterium haemolyticum* je u najvećem procentu (51,4%) bilo povezano sa kumarinskom kiselinom. O dejstvu čiste supstance, kao ni o njenom mehanizmu dejstva na ovu bakteriju nisu pronađeni podaci u dostupnoj literaturi.

Rutin je 30,7% bio povezan sa antibakterijskim dejstvom plodova na *Streptococcus agalactiae*. Ovo otkriće nije u skladu sa rezultatima Alves i sar., koji tvrde da čist rutin nema aktivnost protiv *Streptococcus*-a *agalactiae* (198). Razlike u rezultatima najverovatnije potiču od razlika u senzitivnosti sojeva. Tačan mehanizam dejstva rutina na ovu baktiju nije opisan u dostupnoj literaturi.

Sa dejstvom plodova protiv *Enterococcus faecalis*-a su u najvećoj meri bili povezani antocijani, čak 72%. Kako su antocijani veoma nestabilne hemijske supstance, teško ih je ispitivati u čistom stanju. Stoga, o dejstvu čistih supstanci, kao ni o njihovom mehanizmu dejstva na ovu bakteriju nisu pronađeni podaci u dostupnoj literaturi.

Krisin je 47% bio povezan sa antibakterijskim dejstvom plodova na *Salmonella*-u Enteritidis. Međutim, o dejstvu čiste supstance, kao ni o njenom mehanizmu dejstva na ovu bakteriju nisu pronađeni podaci u dostupnoj literaturi.

Komponenta koja je u najvećoj meri (66,1%) bila povezana sa antibakterijskim dejstvom na *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028 je kumarinska kiselina. Pupponen-Pimia i sar. su potvrdili rezultate dobijene u okviru ove disertacije, ispitivanjem dejstva čiste kumarinske kiseline na *Salmonella*-u Typhimurium, dok Korukluoglu i sar. tvrde da čista kumarinska kiselina nema antibakterijsku aktivnost na *Salmonella*-u Typhimurium (166,199). Razlike u rezultatima najverovatnije potiču od razlika u senzitivnosti sojeva. Pupponen-Pimia i sar. predlažu da je mogući mehanizam dejstva kiseline na *Salmonella*-e slabljenje ćelijskog zida ove bakterije (166), kao što je dokazano za galnu kiselinu u studiji navedenih autora (183).

Kumarinska kiselina je, takođe, u najvećoj meri bila povezana sa dejstvima na autohtoni i referentni soj *Pseudomonas aeruginosa*-e (59,1% i 56,1% respektivno). Ovakav rezultat je u suprotnosti sa rezultatom Korukluoglu i sar. koji tvrde da ne postoji antibakterijska aktivnost kumarinske kiseline na *Pseudomonas aeruginosa*-u (199). Razlike u rezultatima najverovatnije potiču od razlika u senzitivnosti sojeva. Mehanizam dejstva na ovu bakterijsku vrstu još uvek nije opisan u dostupnoj literaturi.

Sa dejstvom plodova protiv *Escherichia*-e coli je, prema rezultatima regresione analize, u najvećoj meri bio povezan epikatehin (49%). Međutim, Binutu i Cordell, Park i sar. i Martins i sar. nisu pronasli antibakterijsku aktivnost čistog epikatehina na *Escherichia*-u coli (196,197,200). Ovakvo neslaganje najverovatnije potiče od velikog broja različitih sojeva vrste *Escherichia*-e coli i još veće raznovrsnosti u rezistenciji pripadnika ove vrste na antibakterijske supstance. Mehanizam dejstva čistog epikatehina na ovu bakterijsku vrstu još uvek nije opisan u dostupnoj literaturi.

Dejstvo plodova protiv *Klebsiella*-e pneumoniae je, prema rezultatima regresione analize sprovedene u okviru ove disertacije, u najvećoj meri bilo povezano sa galnom kiselinom (20,9%). Rezultati istraživanja sprovedenog u okviru ove disertacije su potvrđeni od strane Ozelik i sar., Rodriguez Vaquero i sar., Kayser i Kolodziej i Naz i sar., koji su dokazali dejstvo čiste galne kiseline na *Klebsiella*-u pneumoniae (191,194,201,202). Mehanizam dejstva čiste galne kiseline na ovu bakterijsku vrstu još uvek nije opisan u dostupnoj literaturi. Međutim, prema nalazima Rodriguez Vaquero i sar. galna kiselina je jače delovala od protokatehinske, što je u skladu sa rezultatima ove disertacije, u kojima je protokatehinska kiselina bila druga po povezanosti sa antibakterijskim dejstvom na *Klebsiella*-u pneumoniae (16,08%). Kako se ove dve kiseline razlikuju samo u jednoj hidroksilnoj grupi, potvrđuje se zaključak Rodriguez Vaquero i sar. da je ta hidroksilna grupa bitna za antibakterijsko dejstvo na ovu bakteriju (191). Jedno od objašnjenja antibakterijskog dejstva galne kiseline su dali Naz i sar. Ova grupa naučnika smatra da galna kiselina ima strukturu sličnu micelarnoj, zbog čega se očekuje da ona deluje kao surfaktant na bakterije (202).

Kumarinska kiselina je u najvećoj meri bila povezana sa dejstvom plodova protiv *Acinetobacter*-a lwoffii (62,79%). U dostupnoj literaturi nisu pronađeni uporedivi podaci o dejstvu niti o mehanizmu dejstva čiste kumarinske kiseline na ovu bakteriju.

Antifungalno

Najpovezaniji sa antifungalnim dejstvom ispitivanih sokova i ekstrakata na autohtoni soj *Candida-e albicans* bio je kvercetin (12,5%), dok je sa dejstvom na referentni soj bila ferulna kiselina (32%). Dejstvo kvercetina na *Candida-u albicans* su potvrdili Ozcelik i sar., dok Gatto i sar. i Rauha i sar. tvrde da ne postoji aktivnost ove supstance protiv referentnog i autohtonog soja *Candida-e albicans* (173,201,203). Razlike u rezultatima, najverovatnije potiču od razlika u senzitivnosti sojeva. Panizzi i sar. i Zemek i sar. su potvrdili dejstvo ferulne kiseline na *Candida-u albicans* (204,205). Mehanizam dejstva čistih supstanci protiv *Candida-e albicans* nije poznat. Međutim Rauha i sar. tvrde da čist flavon ima antifungalno dejstvo na ovu gljivicu, dok povećanje broja hidroksilnih grupa smanjuje ovo dejstvo (173). Rezultati ove disertacije ne potkrepljuju ove tvrdnje, jer je sa antifungalnim dejstvom na autohtoni soj *Candida-e albicans* najpovezaniji bio kvercetin, koji sadrži čak pet hidroksilnih grupa.

Antialgalno

Gentisinska kiselina je bila najpovezanija sa antialgalnim dejstvom plodova na *Prototheca-u wickerhamii* (39%), dok je ferulna kiselina bila najpovezanija sa dejstvom na *Prototheca-u zopfii* (39,2%). O dejstvu čistih supstanci, kao ni o njihovim mehanizmima dejstava na ove alge nisu pronađeni podaci u dostupnoj literaturi.

Antivirusno

Iako se radi o dva različita virusa, jedan DNK (*Bovine herpesvirus*), a drugi RNK (*Bovine viral diarrhea virus*) i toksičnosti na MDBK ćelije, rezultati regresione analize pokazuju da su sva tri dejstva bila najpovezanija sa ferulnom kiselinom (43,04%, 33,67% i 31,6%). O dejstvu čiste supstance, kao ni o njenim mehanizmima dejstava na ove viruse i MDBK ćelije nisu pronađeni podaci u dostupnoj literaturi.

Pretpostavljeni mehanizmi dejstava

Opštu antimikrobnu aktivnost fenolnih jedinjenja Naz i sar. su objasnili mehanizmima koji uključuju: inhibiciju enzima od strane oksidovanih jedinjenja, verovatno kroz reakciju sa sulfhidrilnim grupama ili kroz nespecifične interakcije sa proteinima. Ove inhibicije po rezultatima dobijenim u istraživanju navedenih autora, dovode do inaktivacije proteina i gubitka njihovih funkcija. Potencijalne mete fenola u mikrobiološkoj ćeliji su: površinski izloženi adhezini, polipeptidi ćelijskog zida i enzimi vezani za membrane. Fenoli mogu delovati i tako što ometaju dostupnost supstrata mikroorganizmima (202).

Antimikrobna aktivnost komponenti najzaslužnijih za antimikrobno dejstvo ispitivanih plodova, prema rezultatima dobijenim u okviru ove disertacije opisana je u nekoliko radova, bilo kao pretpostavljen mehanizam dejstva ili kao dokazani način delovanja. Verovatno je da opisani ili slični mehanizmi dejstava važe i na mikroorganizme ispitivane u okviru ove

disertacije. O mehanizmima antimikrobnih dejstava ostalih čistih supstanci nisu pronađeni odgovarajući podaci u dostupnoj literaturi.

Prema Ikigai i sar. baktericidna aktivnost katehina je jača na *Gram-pozitivne* bakterije u odnosu na Gram-negativne. Ovo se pripisuje funkcionalnoj barijeri prisutnoj na spoljnoj membrani Gram-negativnih bakterija, koje imaju još jednu spoljašnju membranu smeštenu eksterno od citoplazmatične membrane. Time se formira čvrsta difuziona barijera protiv hidrofobnih i hidrofilnih jedinjenja velike veličine ($M_r > 600$). Katehini delovanjem na membranu, menjaju njen fluiditet, morfologiju i smanjuju fluks tiouree i cikloleucina. Poboljšanje imunskog odgovora je uzrokovano dejstvom katehina na plazma membranu ciljne ćelije, što je čini uočljivijom za odbrambeni sistem jedinke (206).

Galna i ferulna kiselina su po ispitivanjima Borges i sar. dovele do: nepovratnih promena u svojstvima membrana ispitivanih bakterija (naelektrisanja, intra i ekstraćelijske permeabilnosti i fizičko-hemijskih osobina) putem hidrofobnih promena, smanjenja negativnog površinskog napona i pojave lokalnih ruptura ili formiranja pora u ćelijskim membranama sa posledičnim curenjem esencijalnih intracelularnih sastojaka (117). Nohynek i sar. su dokazali da je galna kiselina efikasno povećala propustljivost ćelija testiranih sojeva *Salmonella-e* (183).

Rezultati Lou i sar. pokazuju da p-kumarinska kiselina ima dvostruke mehanizme baktericidne aktivnosti: poremećaj bakterijskih ćelijskih membrana i vezivanje za bakterijski genomski DNK radi inhibiranja ćelijskih funkcija, što dovodi do smrti ćelije. p-Kumarinska kiselina značajno povećava propustljivost spoljne i plazma membrane, što rezultira gubitkom barijere između bakterijske ćelije i spoljne sredine i posledičnim otpuštanjem citoplazmatskog sadržaja. Takođe je pronađeno da se p-kumarinska kiselina može vezati za fosfatni anjon u dvostrukom heliksu DNK i interkalirati žleb u dvostrukoj spirali DNK, što može uticati na replikaciju, transkripciju i ekspresiju gena (207).

Lacombe i sar. su dokazali da izlaganje mikroorganizama antocijanima dovodi do lokalizovane dezintegracije, nepravilnosti u spoljašnjem delu membrane i curenja citoplazme. Citoplazma se koaguliše i agregira duž ćelijske membrane. Lokalizovano oštećenje spoljašnje membrane izazvano antocijanima indikativno je za dalju specifičnu interakciju sa imunskim sistemom (208).

Zaključak

Na osnovu rezultata dobijenih u okviru ove doktorske disertacije, izvedeni su zaključci navedeni u sledećem tekstu.

Hemijski sastav

Na osnovu rezultata HPLC analize, može se zaključiti da su svi ekstrakti i sokovi sadržali polifenolna jedinjenja i vitamin C. Od svih ispitivanih supstanci, samo su antocijani, katehin, galna kiselina i vitamin C bili prisutni u svim ispitivanim sokovima i ekstraktima. Ekstrakti su sadržali veću ukupnu količinu ispitivanih supstanci u odnosu na sokove plodova testiranih biljaka, osim ploda trešnje, čiji sok je sadržao veću ukupnu količinu ispitivanih supstanci u odnosu na ekstrakt. Najveću ukupnu količinu ispitivanih materija sadržao je ekstrakt kupine (3965,56 mg/ml), a najmanju ekstrakt trešnje (161,44 mg/ml). Antocijani, katehin, protokatehinska, p-hidroksibenzoeva i hlorogenska kiselina su u najvećoj meri bili prisutni u ekstraktima. Antocijani, katehin, hlorogenska kiselina, epikatehin i kempferol (koji je bio prisutan samo u malini i višnji) su bili najzastupljeniji među sokovima.

Antimikrobno dejstvo

Na osnovu difuzione, dilucione i analize CPE, može se zaključiti da ekstrakti i sokovi odabranog voća porodice *Rosaceae* imaju antibakterijsko, antifungalno, antialgalno i/ili antivirusno dejstvo. Ispitivani ekstrakti i sokovi deluju protiv svakog od testiranih mikroorganizama, osim maline, višnje i aronije protiv autohtonog soja *Candida-e albicans* i višnje protiv *Prototheca-e wickerhamii*. Izuzetke takođe predstavljaju i izostanci dejstava sokova: maline protiv *Escherichia-e coli*, *Prototheca-e wickerhamii* i *Bovine herpesvirus-a 1*, trešnje protiv *Bovine herpesvirus-a 1*, višnje protiv *Prototheca-e wickerhamii*, aronije protiv *Klebsiella-e pneumoniae* i *Candida-e albicans* ATCC 24433, svog ispitivanog voća protiv autohtonog soja *Candida-e albicans* i ekstrakta maline protiv *Prototheca-e wickerhamii*.

Na osnovu utvrđenih antimikrobnih aktivnosti, zaključeno je da je diluciona metoda pogodnija za istraživanje antibakterijske, antifungalne i antialgalne aktivnosti u odnosu na difuzionu. Stoga su svi naredni zaključci o antibakterijskim, antifungalnim i antialgalnim dejstvima izvedeni na osnovu rezultata dokazanih dilucionom metodom. Ispitivani ekstrakti su bili delotvorniji protiv većine testiranih mikroorganizama i MDBK ćelija u odnosu na sok. Izuzeci su bili sokovi: maline protiv autohtonog soja *Rhodococcus-a equi* i obe sorte *Prototheca-e*, trešnje protiv *Rhodococcus-a equi* ATCC 6939, *Trueperella-e pyogenes* i MDBK ćelija, kao i višnje protiv referentnog i autohtonog soja *Staphylococcus aureus-a*, *Salmonella-e Typhimurium* ATCC 14028 i *Pseudomonas aeruginosa-e* ATCC 10145, koji su imali superiornije dejstvo u odnosu na ekstrakt. Izuzeci su, takođe i jednaka dejstva sokova i ekstrakata: kupine protiv *Rhodococcus-a equi* ATCC 6939 i *Candida-e albicans*, maline protiv MDBK ćelija i aronije protiv *Arcanobacterium haemolyticum-a*, oba ispitivana virusa, MDBK ćelija i višnje protiv *Prototheca-e zopfii* (MIC-e 80 i 90).

Na osnovu prosečne vrednosti rezultata analize antimikrobnog dejstva, može se zaključiti da je protiv najvećeg broja mikroorganizama najdelotvorniji bio ekstrakt kupine, a neaktivan ili najslabije aktivan (aktivan u najvećoj koncentraciji) sok trešnje. Prosečne vrednosti antimikrobnog i dejstva na MDBK ćelije su bile u opsegu od 0,71 mg/ml do 100 mg/ml.

Na osnovu rezultata regresione analize, pretpostavlja se da su sa antimikrobnim i dejstvom na MDBK ćelije sokova i ekstrakata u najvećoj meri bili povezani: kumarinska kiselina (na *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Salmonella*-u Typhimurium ATCC 14028, oba soja *Pseudomonas aeruginosa*-e i *Acinetobacter*-a *lwoffii*), ferulna kiselina (na ispitivane viruse, referentni soj *Candida*-e *albicans*, *Prototheca*-u *zopfii* i sa toksičnošću na MDBK ćelije), galna kiselina (na *Rhodococcus equi*, *Trueperella*-u *pyogenes* i *Klebsiella*-u *pneumoniae*), katehin (na oba soja *Staphylococcus aureus*-a). Ostale supstance (rutin, antocijani, krisin, epikatehin, kvercetin i gentisinska kiselina) su bile najpovezanije sa antimikrobnim dejstvima na po jedan mikroorganizam (*Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella*-u Enteritidis, *Escherichia*-u *coli*, autohtoni soj *Candida*-e *albicans* i *Prototheca*-u *wickerhamii*, respektivno). Najveću povezanost sa antimikrobnim dejstvom plodova su imali antocijani na *Enterococcus faecalis* (71,94%). Mehanizmi dejstava navedenih supstanci verovatno uključuju oštećenje spoljašnje membrane ćelije mikroorganizma.

Na osnovu poređenja srednjih vrednosti rezultata antimikrobnog ispitivanja sprovedenih dilucionom metodom, može se zaključiti da su sokovi i ekstrakti imali superiornije antibakterijsko dejstvo u odnosu na Streptomycin na određene bakterije. Tako su svi ispitivani ekstrakti i sokovi imali jače antibakterijsko dejstvo na autohtoni soj *Rhodococcus*-a *equi* i *Trueperella*-u *pyogenes* u odnosu na Streptomycin. Ekstrakt kupine je bio delotvorniji od Streptomicina protiv svih ispitivanih gram-pozitivnih bakterija. Pored toga, protiv *Staphylococcus aureus*-a jače od antibiotika je delovao i ekstrakt aronije, *Staphylococcus aureus*-a ATCC 11632 ekstrakt aronije i sokovi kupine i višnje, *Rhodococcus*-a *equi* ATCC 6939 ekstrakti maline i aronije i sok kupine, *Arcanobacterium haemolyticum*-a ekstrakt višnje i sok kupine, *Streptococcus*-a *agalactiae* ekstrakti svih ispitivanih biljaka, *Enterococcus*-a *faecalis* ekstrakti maline i višnje i sok maline i protiv *Escherichia*-e *coli* ekstrakt maline. Međutim, u odnosu na Nistatin svi ispitivani ekstrakti i sokovi su ispoljili slabije antifungalno i antialgalno dejstvo.

Opšti zaključak

Sokovi i ekstrakti plodova odabranog voća porodice *Rosaceae* sadrže vitamin C i potentna polifenolna jedinjenja za koja je poznato da ispoljavaju antimikrobno dejstvo. Takođe, potvrđena je pretpostavljena antimikrobna (antibakterijska, antiungalna, antialgalna i antivirusna) aktivnost ispitivanih sokova i ekstrakata na testirane mikroorganizme. Specifnost načina obrade plodova, ispitivanih mikroorganizama i primenjenih metoda ispitivanja dali su nove podatke o istraživanoj tematici. Saznanja stečena ovom disertacijom

proširuju obim znanja o antimikrobnom dejstvu biljaka i predstavljaju osnovicu za svrsishodniju primenu voća kako u ishrani tako i u terapiji. Međutim, dalja istraživanja u smislu proširenja spektra ispitivanih mikroorganizama i antimikrobnih studija pojedinačnih komponenti iz plodova, radi boljeg razumevanja njihovog mehanizma dejstva su potrebna.

Literatura

1. Suvajdžić L. *Priručnik iz mikrobiologije sa vežbama za studente farmacije*. Novi Sad, Srbija: Ortomedics; 2004. 65-206 p.
2. Hwang A, Gums J. *The emergence and evolution of antimicrobial resistance: Impact on a global scale*. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2016;24(24):6440–5.
3. Dowell S. *Antimicrobial resistance: is it really that bad? Seminars in Pediatric Infectious Diseases*. 2004;15(2):99–104.
4. Mundy L, Pendry B, Rahman M. *Antimicrobial resistance and synergy in herbal medicine*. *Journal of Herbal Medicine*. 2016;6(2):53–8.
5. Suvajdžić L, Ramač A. *Ispitivanje antimikrobnog delovanja arilpirazol liganda i njegovih bakar (II) kompleksa na Gram pozitivnim bakterijama [Master rad]*. Univerzitet u Novom Sadu; 2012. 3-39 p.
6. Shehab N, Patel P, Srinivasan A, Budnitz D. *Emergency department visits for antibiotic-associated adverse events*. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. Oxford University Press; 2008;47(6):735–43.
7. Balunas M, Kinghorn D. *Drug discovery from medicinal plants*. *Life Sciences*. 2005;78(5):431–41.
8. Sarić R, Subić J, Roljević S. *Malina kao izvozni brend Srbije*. *Economic Themes*. 2009;47(3):171–8.
9. Kljajić N, Vuković P, Arsić S. *Tendencies related to the production of raspberries in the Republic of Serbia*. *Economics of Agriculture*. 2013;497(11):39–48.
10. Jarić S, Popović Z, Mačukanović-Jocić M, Djurdjević L, Mijatović M, Karadžić B, et al. *An ethnobotanical study on the usage of wild medicinal herbs from Kopaonik Mountain (Central Serbia)*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;111(1):160–75.
11. Jarić S, Mačukanović-Jocić M, Djurdjević L, Mitrović M, Kostić O, Karadžić B, et al. *An ethnobotanical survey of traditionally used plants on Suva planina mountain (south-eastern Serbia)*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;175:93–108.
12. Keserović Z, Magazin N. *Fruit growing in Serbia-state and prospects*. In: *Closing conference Utilisation of the Census of Agriculture 2012*. Subotica: Statistical Office of the Republic of Serbia; 2014. p. 192–228.
13. Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Meier C, Heinonen M, Hopia A, Oksman-Caldentey K. *Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries*. *Journal of Applied Microbiology*. 2001;90(2):494–507.
14. Skrovankova S, Sumczynski D, Mlcek J, Jurikova T, Sochor J. *Bioactive Compounds*

- and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. International Journal of Molecular Sciences. 2015;16(10):24673–6.*
15. Määttä-Riihinen K, Kamal-Eldin A, Törrönen R. Identification and Quantification of Phenolic Compounds in Berries of *Fragaria* and *Rubus* Species (Family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2004;52(20):6178–87.*
 16. Robards K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A. 2003;1000(1–2):657–91.*
 17. Badjakov I, Nikolova M, Gevrenova R, Kondakova V, Todorovska E, Atanassov A. Bioactive Compounds in small Fruits and their Influence on Human Health. *Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2008;22(1):581–7.*
 18. Tomas-Barberan F, Clifford M. Dietary hydroxybenzoic acid derivatives - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture. 2000;80(7):1024–32.*
 19. Pawlaczyk I, Czerchawski L, Pilecki W, Lamer-Zarawska E, Gancarz R. Polyphenolic-polysaccharide compounds from selected medicinal plants of Asteraceae and Rosaceae families: Chemical characterization and blood anticoagulant activity. *Carbohydrate Polymers. 2009;77(3):568–75.*
 20. Cushnie T, Lamb A. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents. 2005;26(1):343–56.*
 21. Szajdek A, Borowska E. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits: A Review. *Plant Foods for Human Nutrition. 2008;63(4):147–56.*
 22. Daglia M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology. 2012;23(2):174–81.*
 23. Cisowska A, Wojnicz D, Hendrich A. Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Natural product communications. 2011;6(1):149–56.*
 24. Lipińska L, Klewicka E, Sójka M. The structure, occurrence and biological activity of ellagitannins: a general review. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria. 2014;13(3):289–99.*
 25. Kamboj A. Antiviral activity of plant polyphenols. *Journal of Pharmacy Research. 2012;5(5):2402–12.*
 26. Hummer K. *Rubus* Pharmacology: Antiquity to the Present. *HortScience. 2010;45(11):1587–91.*
 27. Četojević-Simin D, Velićanski A, Cvetković D, Markov S, Četković G, Tumbas-Šaponjac V, et al. Bioactivity of Meeker and Willamette raspberry (*Rubus idaeus* L.) pomace extracts. *Food Chemistry. 2015;166:407–13.*
 28. Vulić J, Velićanski A, Četojević-Simin D, Tumbas Šaponjac V, Djilas S, Cvetković D,

- et al. Antioxidant, antiproliferative and antimicrobial activity of freeze-dried raspberry. Acta Periodica Technologica. 2014;45(1):99–116.*
29. Velićanski A, Cvetković D, Markov S, Mirosavljević A, Đilas S, Čanadanović-Brunet J, et al. Antibacterial activity of two raspberry (*Rubus idaeus* L.) cultivars. In: *Book of abstracts XXII Congress of Chemists and Technologists of Macedonia. Ohrid, Macedonia: Society of Chemists and Technologists of Macedonia; 2012. p. 114.*
 30. Velićanski A, Cvetković D, Markov S. Screening of antibacterial activity of raspberry (*Rubus idaeus* L.) fruit and pomace extracts. *Acta periodica technologica. 2012;43:305–13.*
 31. Zviždić Š, Hamzić S. *Medicinska mikrobiologija. Sarajevo, Bosna i Hercegovina: Medicinski fakultet Univerziteta u Sarajevu; 2015. 86-7 p.*
 32. Murray P, Baron E, Jorgensen J, Landry M, Pfaller M. *Manual of clinical microbiology. 9th ed. Vol. 1. Washington D.C., United States of America: ASM Press; 2007. 1115-6 p.*
 33. World health organization. *Resistance to antibacterial drugs in selected bacteria of international concern. Antimicrobial resistance: Global Report on Surveillance. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2014.*
 34. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* : Mechanisms and epidemiology. *International Journal of Antimicrobial Agents. 2015;45(6):568–85.*
 35. Chatterjee M, Anju C, Biswas L, Anil Kumar V, Gopi Mohan C, Biswas R. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. *International Journal of Medical Microbiology. 2016;306(1):48–58.*
 36. Švabić-Vlahović M, Savić B, Ranin L, Đukić S, Berger-Jekić O, Nedeljković M, et al. *Medicinska bakteriologija. 2nd ed. Novi Sad, Srbija: Savremena administracija; 2008. 165-293 p.*
 37. Suvajdžić L. *Infekcije bakterijama i protozoama. In: Stefanović S, Maglajlić S, editors. Novorođenačka žutica. Novi Sad, Srbija: Artas; 2005. p. 69–71.*
 38. Barghouthi S, Hammad G, Kurdi Citation Barghouthi M, Kurdi M. *Acinetobacter lwoffii* Induced Cellulitis with Allergy-like Symptoms. *The Internet Journal of Microbiology. 2012;10(2):1–4.*
 39. Rathinavelu S, Zavros Y, Merchant J. *Acinetobacter lwoffii* infection and gastritis. *Microbes and Infection. 2003;5(7):651–7.*
 40. Ku S, Hsueh P, Yang P, Luh K. *Clinical and Microbiological Characteristics of Bacteremia Caused by Acinetobacter lwoffii. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2000;19(7):501–5.*
 41. Whiley R, Hardie J. *Genus I. Streptococcus Rosenbach 1884. In: Bergey's manual of*

- systematic bacteriology*. 2nd ed. New York, United States of America: Springer; 2009. p. 655–711.
42. Ryan K, Ray C. *Sherris medical microbiology*. 4th ed. New York, United States of America: McGraw Hill; 2004. 286-8 p.
 43. Edwards M, Nizet V. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. In: *Group B streptococcal infections*. 7th ed. Philadelphia, United States of America: Elsevier; 2011. p. 419–69.
 44. Barcaite E, Bartusevicius A, Tameliene R, Kliucinskas M, Maleckiene L, Nadisauskiene R. *Prevalence of maternal group B streptococcal colonisation in European countries*. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2008;87(3):260–71.
 45. Rajagopal L. *Understanding the regulation of Group B Streptococcal virulence factors*. *Future Microbiology*. 2009;4(2):201–21.
 46. Verani J, McGee L, Schrag S. *Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. Revised Guidelines from CDC*. Vol. 59, *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2010.
 47. Arbeloa A, Segal H, Hugonnet J, Josseaume N, Dubost L, Brouard J, et al. *Role of class A penicillin-binding proteins in PBP5-mediated beta-lactam resistance in Enterococcus faecalis*. *Journal of bacteriology*. 2004;186(5):1221–8.
 48. Miller W, Munita J, Arias C. *Mechanisms of antibiotic resistance in Enterococci*. *Expert review of anti-infective therapy*. 2014;12(10):1221–36.
 49. Deshpande L, Fritsche T, Moet G, Biedenbach D, Jones R. *Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2007;58(2):163–70.
 50. Suvajdžić Z, Suvajdžić L, Bekut M. *Trueperella pyogenes-characterization and significance*. In: *Lević J, editor. 3rd International congress Food technology and safety and XVII International Symposium Feed technology*. Novi Sad, Srbija; 2016. p. 125–33.
 51. Carlson P. *Comparison of the E Test and Agar Dilution Methods for Susceptibility Testing of Arcanobacterium haemolyticum*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2000;19(11):891–3.
 52. MacLean P, Liebow A, Rosenberg A. *A hemolytic corynebacterium resembling Corynebacterium ovis and Corynebacterium pyogenes in man*. *The Journal of infectious diseases*. 1946;79(1):69–90.
 53. Suvajdžić L, Suvajdžić Z. *Pathogens of animals and humans-phospholipase D producers and their diagnostic and therapeutic failures*. In: *Lević J, editor. XVI International Symposium Feed Technology*. Novi Sad, Srbija: Institute of Food Technology in Novi Sad; 2014. p. 164–71.

54. Suvajdžić L, Velhner M, Bekut M, Bojić G, Krstić T, Suvajdžić Z, et al. Comparison of *Rhodococcus equi* of human and animal origin. In: Petrović T, editor. *One Health- New Challenges: Proceedings of First International Symposium of Veterinary Medicine ISVM2015 Book of Abstracts*. Vrdnik, Srbija: Scientific Veterinary Institute Novi Sad; 2015. p. 405–13.
55. Ruhnke M. Epidemiology of *Candida albicans* infections and role of non-*Candida albicans* yeasts. *Current drug targets*. 2006;7(4):495–504.
56. Ford C, Funt J, Abbey D, Issi L, Guiducci C, Martinez D, et al. The evolution of drug resistance in clinical isolates of *Candida albicans*. *eLife*. 2015;4:e00662.
57. Edwards J. *Candida Species*. In: Mandell G, Bennett J, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practices of Infectious Diseases*. 7th ed. New York, New York: Churchill Livingstone; 2009. p. 81–110.
58. Pfaller M, Diekema D. Unusual fungal and pseudofungal infections of humans. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(4):1495–504.
59. Milanov D, Suvajdžić L. Characteristics and importance of genus *Prototheca* in human and veterinary medicine. *Proceedings for Natural Sciences, Matica Srpska*. 2006;110(1):15–27.
60. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Taxonomic Information [Internet]*. *Virus Taxonomy*. 2016. Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
61. Nandi S, Kumar M, Manohar M, Chauhan R. Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*. 2009;10(1):85–98.
62. Dubovi E, MacLachlan J, editors. *Fenners Veterinary Virology*. 4th ed. London, United Kingdom: Elsevier; 2011. 184-6 p.
63. Lidenbach B, Thiel H, Rice C. *Flaviviridae: The viruses and their replication*. In: *Fields Virology*. 5th ed. Philadelphia, United States of America: Lippincott-Raven; 2007. p. 1126–31.
64. Gillespie J, Madin S, Darby N. Cellular resistance in tissue culture, induced by noncytopathogenic strains, to a cytopathogenic strain of virus diarrhea virus of cattle. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1962;110(1):248–50.
65. Moennig V, Houe H, Lindberg A. BVD control in Europe: current status and perspectives. *Animal Health Research Reviews*. 2005;6(1):63–74.
66. Kelling C. Evolution of Bovine Viral Diarrhea Virus Vaccines. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*. 2004;20(1):115–29.
67. Radostits O, Gay C, Hincheliff K, Constable P. *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of the cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed. A textbook of the diseases

- of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Philadelphia, United States of America: Saunders; 2006. 1263-1418 p.
68. Brownlie J, Clarke M, Howard C, Pocock D. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Annales de Recherches Veterinaires*. 1987;18(2):157–66.
 69. Campbell J. Effect of bovine diarrhea virus in the feedlot. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2004;20(1):39–50.
 70. Brook K. Strategies for the control and prevention of Bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*. 2004;20(1):171–80.
 71. Wendorff C, Ritson-Bennett T, Schierman A, Gowan T, Rosing J. Bovine Respiratory Disease [Internet]. Bovine Viral Diarrhoea Virus. Available from: <http://homepage.usask.ca/~vim458/virology/studpages2009/VirusWebsite/bvdy.html>
 72. Universal Taxonomic Services. The Taxonomicon [Internet]. Family Rosaceae - Hierarchy - The Taxonomicon. 2004. Available from: <http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=7608&src=0>
 73. Josifović M. Flora SR Srbije. Vol. 4, Rosaceae. Beograd, SFRJ: Srpska akademija nauka i umetnosti; 1972. 10-200 p.
 74. Shulaev V, Korban S, Sosinski B, Abbott A, Aldwinckle H, Folta K, et al. Multiple models for Rosaceae genomics. *Plant Physiology*. 2008;122(4):1003–14.
 75. Potter D, Eriksson T, Evans R, Oh S, Smedmark J, Morgan D, et al. Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution Phylogeny*. 2007;266(1–2):5–43.
 76. Kurtto A, Weber H, Lampinen R, Sennikov A. Rosaceae. In: *Atlas Florae Europaeae*. Helsinki, Finland: The Committee for Mapping the Flora of Europeae and Societas Biologica Fennica Vanamo; 2010. p. 36–50.
 77. Kojić M, Vilotić D. Ekskurziona flora šuma Srbije. Beograd, Srbija: Šumarski fakultet Beograd; 2006. 136-66 p.
 78. Yin G. *Rubus L. resources and its utilization*. *Journal of Plant Resources and Environment*. 1992;1(2):210014.
 79. Meng X, Liu B, Re Z, She G, Jiang Y. Progress of Chemical Constituents and Pharmacology of Genus *Rubus*. *Natural Product Research & Development*. 2011;23(4):767–75.
 80. Zia-Ul-Haq M, Riaz M, De Feo V, Jaafar H, Moga M. *Rubus Fruticosus L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses*. *Molecules*. 2014;19(8):10998–1029.
 81. Barreira J, Ferreira I, Oliveira B, Pereira J-A. Antioxidant activity and bioactive

- compounds of ten Portuguese regional and commercial almond cultivars. *Food and Chemical Toxicology*. 2008;46(6):2230–5.
82. Abid S, Khajuria A, Parvaiz Q, Sidiq T, Bhatia A, Singh S, et al. Immunomodulatory studies of a bioactive fraction from the fruit of *Prunus cerasus* in BALB/c mice. *International Immunopharmacology*. 2012;12(4):626–34.
83. Kim D-O, Heo H, Kim Y, Yang H, Lee C. Sweet and Sour Cherry Phenolics and Their Protective Effects on Neuronal Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(26):9921–7.
84. Khoo G, Clausen M, Pedersen B, Larsen E. Bioactivity and total phenolic content of 34 sour cherry cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011;24(6):772–6.
85. Bastos C, Barros L, Dueñas M, Calhella R, Queiroz M, Santos-Buelga C, et al. Chemical characterisation and bioactive properties of *Prunus avium* L.: The widely studied fruits and the unexplored stems. *Food Chemistry*. 2015;173:1045–53.
86. Pankhurst R. *Flora of North America*. Flora of North America Editorial Committee, editor. Vol. 9, Aronia 1789. New York, United States of America: Oxford University Press; 2014. 140 p.
87. Brand M. Aronia: Native Shrubs With Untapped Potential. *Arnoldia*. 2010;67(3):14–25.
88. United States department of agriculture. Plants Profile for *Aronia prunifolia* (purple chokeberry) [Internet]. Natural resources conservation service. Available from: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PHFL9>
89. United States Department of agriculture. Plants Profile for *Aronia melanocarpa* (black chokeberry) [Internet]. Natural resources conservation service. Available from: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PHME13>
90. United States Department of Agriculture. Plants Profile for *Aronia arbutifolia* (red chokeberry) [Internet]. Natural resources conservation service . Available from: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PHPY4>
91. Voss E. Michigan flora: a guide to the identification and occurrence of the native and naturalized seed-plants of the state. Part 2. Dicots (*Saururaceae-Cornaceae*). Vol. 59, Cranbrook Institute of Science Bulletin. Michigan, United States of America: University of Michigan Herbarium; 1985. 225-31 p.
92. Hardin J. The Enigmatic Chokeberries (*Aronia* , *Rosaceae*). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 2016;100(3):178–84.
93. Bräunlich M. Bioactive constituents in aronia berries [Doctoral dissertation]. University of Oslo; 2013. 1-34 p.
94. Kokotkiewicz A, Jaremicz Z, Luczkiewicz M. Aronia Plants: A Review of Traditional

- Use, Biological Activities, and Perspectives for Modern Medicine. Journal of Medicinal Food. 2010;13(2):255–69.*
95. Jakobek L, Eruga M, Eruga B, Novak I, Medvidović-Kosanović M. Phenolic compound composition and antioxidant activity of fruits of *Rubus* and *Prunus* species from Croatia. *International Journal of Food Science & Technology. 2009;44:860–8.*
 96. Taheri R, Connolly B, Brand M, Bolling B. Underutilized Chokeberry (*Aronia melanocarpa*, *Aronia arbutifolia*, *Aronia prunifolia*) Accessions Are Rich Sources of Anthocyanins, Flavonoids, Hydroxycinnamic Acids and Proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2013;61(36):8581–8.*
 97. Kumar S, Pandey A. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal. 2013;2013:162750.*
 98. Kovačević N. *Osnovi farmakognoziije. 3rd ed. Beograd, Srbija: Srpska školska knjiga; 2004. 146-51 p.*
 99. Heleno S, Martins A, Queiroz M, Ferreira I. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chemistry. 2015;173:501–13.*
 100. Ničiforović N, Abramović H. Sinapic Acid and Its Derivatives: Natural Sources and Bioactivity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2014;13(1):34–51.*
 101. Hacisevki A. An overview of ascorbic acid biochemistry. *Journal of faculty of pharmacy of Ankara University. 2009;38(3):233–55.*
 102. World health organization. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. 2nd ed. In: *Joint FAO/WHO Expert Consultation on Human Vitamin and Mineral Requirements 21-30 September 1998. Bangkok, Thailand; 2004. p. 130–8.*
 103. Cowan M. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical microbiology reviews. 1999;12(4):564–82.*
 104. Orhan D, Ozcelik B, Ozgen S, Ergun F. Antibacterial, antifungal and antiviral activities of some flavonoids. *Microbiological Research. 2010;165(6):496–504.*
 105. Alcaraz L, Blanco S, Puig O, Tomas F, Ferretti F. Antibacterial Activity of Flavonoids Against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Theoretical Biology. 2000;205(2):231–40.*
 106. Cushnie T, Lamb A. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents. 2005;26:343–56.*
 107. Cushnie T, Lamb A. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents. 2011;38:99–107.*
 108. Arima H, Ashida H, Danno G. Rutin-enhanced Antibacterial Activities of Flavonoids against *Bacillus cereus* and *Salmonella enteritidis*. *Bioscience, Biotechnology and*

- Biochemistry*. 2002;66(5):1009–14.
109. Amin M, Khurram M, Khattak B, Khan J. Antibiotic additive and synergistic action of rutin, morin and quercetin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *BMC complementary and alternative medicine*. 2015;15(1):59.
 110. Buzzini P, Menichetti S, Pagliuca C, Viglianisi C, Branda E, Turchetti B. Antimycotic activity of 4-thioisosteres of flavonoids towards yeast and yeast-like microorganisms. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2008;18(13):3731–3.
 111. D'abrosca B, Dellagreca M, Fiorentino A, Isidori M, Monaco P, Pacifico S. Chemical constituents of the aquatic plant *Schoenoplectus lacustris*: Evaluation of phytotoxic effects on the green alga *Selenastrum capricornutum*. *Journal of Chemical Ecology*. 2006;32(1):81–96.
 112. Zimmerman L. Toxicity of Copper and Ascorbic Acid to *Serratia marcescens*. *Journal of bacteriology*. 1966;91(4):1537–42.
 113. Van Hauwenhuysse F, Fiori A, Van Dijck P. Ascorbic acid inhibition of *Candida albicans* Hsp90-mediated morphogenesis occurs via the transcriptional regulator Upc2. *Eukaryotic cell*. 2014;13(10):1278–89.
 114. Furuya A, Uozaki M, Yamasaki H, Arakawa T, Mikio A, Koyama H. Antiviral effects of ascorbic and dehydroascorbic acids in vitro. *International Journal of Molecular Medicine*. 2008;22(4):541–5.
 115. Harborne J, Williams C. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 2000;55(6):481–504.
 116. Xing-Cong L, Alpina J, Hala E, Khan S, Jacob M, Zhang Z, et al. Fatty Acid Synthase Inhibitors from Plants: Isolation, Structure Elucidation and SAR Studies. *Journal of Natural Products*. 2002;65(12):1909–14.
 117. Borges A, Ferreira C, Saavedra M, Simões M. Antibacterial Activity and Mode of Action of Ferulic and Gallic Acids Against Pathogenic Bacteria. *Microbial Drug Resistance*. 2013;19(4):256–65.
 118. Carvalho O, Botelho C, Ferreira C, Ferreira H, Santos M, Diaz M, et al. In vitro inhibition of canine distemper virus by flavonoids and phenolic acids : Implications of structural differences for antiviral design. *Research in Veterinary Science journal*. 2013;95:717–24.
 119. Ahn Y, Lee H, Oh H, Kim H, Lee Y. Antifungal activity and mode of action of *Galla rhois*-derived phenolics against phytopathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2005;81(2):105–12.
 120. Kratz J, Andrighetti-Fröhner C, Kolling D, Leal P, Cirne-Santos C, Yunes R, et al. Anti-*HSV-1* and anti-*HIV-1* activity of gallic acid and pentyl gallate. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2008;103(5):437–42.

121. Wintergerst E, Maggini S, Hornig D. Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions. *Annals of nutrition & metabolism*. 2006;50(2):85–94.
122. Wintergerst E, Maggini S, Hornig D. Contribution of Selected Vitamins and Trace Elements to Immune Function. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2007;51(4):301–23.
123. Rawal B. Bactericidal Action of Ascorbic Acid on *Pseudomonas aeruginosa*: Alteration of Cell Surface as a Possible Mechanism. *Chemotherapy*. 1978;24(3):166–71.
124. Jariwalla R, Harakeh S. Antiviral and Immunomodulatory Activities of Ascorbic Acid. In: Harris R, editor. *Sub-cellular biochemistry*. New York, USA: Plenum Press; 1996. p. 215–9.
125. Šaponjac-Tumbas V, Četković G, Stajčić S, Vulić J, Čanadanović-Brunet J, Djilas S. Optimization of the bioactive compounds content in raspberry during freeze-drying using response surface method. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 2015;21(1):53–61.
126. Tumbas-Šaponjac V, Čanadanović-Brunet J, Četković G, Jakišić M, Djilas S, Vulić J, et al. Encapsulation of Beetroot Pomace Extract: RSM Optimization, Storage and Gastrointestinal Stability. *Molecules*. 2016;21(5):584.
127. Tumbas V, Čanadanović-Brunet J, Četojević-Simin D, Četković G, Dilas S, Gille L. Effect of rosehip (*Rosa canina* L.) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012;92(6):1273–81.
128. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda S. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016;6(2):71–9.
129. CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. Vol. 29, Approved Standard M7-A8. 8th edn. Wayne, PA. USA; 2009.
130. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Vol. 29, Nineteenth Informational Supplement M100-S19. 11th edn. Wayne, PA. USA; 2009.
131. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Vol. 30, Twentieth Informational Supplement M100-S20. 12th edn. Wayne, PA. USA; 2010.
132. CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. 7th ed. Vol. 26, M7-A7. Wayne, PA, USA; 2006.
133. Savić M, Velikinac S. *Suve podloge* [Internet]. Beograd; 2010. p. 107–49. Available from: file:///C:/Users/Tamara/Documents/KATALOG_SUVE_PODLOGE_29_03_2010.pdf
134. Nikolaeva-Glomb L, Mukova L, Nikolova N, Badjakov I, Dincheva I, Kondakova V, et al. In vitro antiviral activity of a series of wild berry fruit extracts against

- representatives of Picorna-, Orthomyxo- and Paramyxoviridae. *Natural product communications*. 2014;9(1):51–4.
135. Selvarani V, Hudson J. Multiple inflammatory and antiviral activities in *Adansonia digitata* (Baobab) leaves, fruits and seeds. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2009;3(8):576–82.
136. Benencia F, Courreges M. Antiviral activity of sandalwood oil against Herpes simplex viruses-1 and -2. *Phytomedicine*. 1999;6(2):119–23.
137. Ramakrishnan M. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. *World journal of virology*. 2016;5(2):85–6.
138. American Type Culture Collection. MDBK (NBL-1) (ATCC® CCL- 22™) [Internet]. Available from: file:///C:/Users/Tamara/Documents/CCL-22.pdf
139. Milenković-Anđelković A, Radovanović B, Anđelković M, Radovanović A, Nikolić V, Randjelović V. The anthocyanin content and bioactivity of cornelian cherry (*Cornus mas*) and wild blackberry (*Rubus fruticosus*): Fruit extracts from the Vlasina region. *Advanced technologies*. 2015;4(2):26–31.
140. Vulić J, Tumbas V, Savatović S, Đilas S, Ćetković G, Čanadanović-Brunet J. Polyphenolic content and antioxidant activity of the four berry fruits pomace extracts. *Acta Periodica Technologica*. 2011;37(42):271–9.
141. Stajčić S, Tepić A, Djilas S, Šumić Z, Čanadanović-Brunet J, Ćetković G, et al. Chemical composition and antioxidant activity of berry fruits. *Acta Periodica Technologica*. 2012;43:93–105.
142. Đurić M, Mašković P, Murtić S, Veljković B, Ćurčić S, Paunović G, et al. Quantitation of ellagic acid in blackberries. *Hemijska industrija*. 2014;68(2):241–5.
143. Milošević T, Mratinić E, Milošević N, Glišić I, Mladenović J. Segregation of Blackberry Cultivars Based on the Fruit Physico-Chemical Attributes. *Journal of Agricultural Sciences*. 2012;18(2):100–9.
144. Ivanović J, Tadić V, Dimitrijević S, Stamenić M, Petrović S, Žižović I. Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar Čačanska Bestrna. *Industrial Crops and Products*. 2014;53:274–81.
145. Mitić V, Stankov Jovanović V, Dimitrijević M, Cvetković J, Simonović S, Nikolić-Mandić S. Chemometric analysis of antioxidant activity and anthocyanin content of selected wild and cultivated small fruit from Serbia. *Fruits*. 2014;69(5):413–22.
146. Pavlović A, Dabić D, Momirović N, Dojčinović B, Milojković-Opsenica D, Tešić Ž, et al. Chemical Composition of Two Different Extracts of Berries Harvested in Serbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013;61(17):4188–94.
147. Radovanović B, Anđelković S, Radovanović A, Anđelković M. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Polyphenol Extracts from Wild Berry Fruits Grown in

- Southeast Serbia. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2013;12(5):813–9.*
148. Milivojević J, Rakonjac V, Akšić Fotirić M, Pristov Bogdanović J, Maksimović V. Classification and fingerprinting of different berries based on biochemical profiling and antioxidant capacity. *Pesquisa Agropecuária Brasileira. 2013;48(9):1285–94.*
149. Milivojević J, Nikolić M, Radivojević D, Poledica M. Yield components and fruit quality of floriscane fruiting raspberry cultivars grown in Serbia. *Acta Horticulturae. 2012;946:95–9.*
150. Lepasavić A, Janković M, Đurović D, Veljković B, Keserović Z, Popović B, et al. Fruit quality of red raspberry cultivars and selections grown in Western Serbia. *Horticultural Science (Prague). 2013;40(4):154–61.*
151. Miletić N, Lepasavić A, Popović B, Mitrović O, Kandić M. Chemical and antioxidant properties of fully matured raspberry fruits (*Rubus idaeus* L.) picked in different moments of harvesting season. In: Mauget J, Godet S, editors. *Proceedings of the Second International Symposium on Horticulture in Europe Acta Horticulturae. Angers, France; 2015. p. 211–8.*
152. Ivanović M, Pavlović A, Mitić M, Pečev Marinković E, Krstić J, Mrmošanin J. Determination of Total and Individual Anthocyanins in Raspberries Grown in South Serbia. In: *IV Zbornik XXI Savetovanja o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem. Čačak, Srbija: Casa Nara; 2016. p. 263.*
153. Dragišić-Maksimović J, Milivojević J, Poledica M, Nikolić M, Maksimović V. Profiling antioxidant activity of two primocane fruiting red raspberry cultivars (Autumn bliss and Polka). *Journal of Food Composition and Analysis. 2013;31(2):173–9.*
154. Akšić-Fotirić M, Mratinić E, Jovković R. Analysis of wild sweet cherry (*Prunus avium* L.) germplasm diversity in south-east Serbia. *Genetika. 2012;44(2):259–68.*
155. Milinović B, Dragović-Uzelac V, Kazija-Halapija D, Jelačić T, Vujević P, Čiček D, et al. Influence of four different dwarfing rootstocks on phenolic acids and anthocyanin composition of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cvs “Kordia” and “Regina.” *Journal of Applied Botany and Food Quality. 2016;89:29–37.*
156. Petković B, Matoš S, Gorgi N, Kukrić Z. Analysis of antioxidant activity of different species of wild cherry (*Prunus avium* L.). *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science. 2014;3(5):128–35.*
157. Prvulović D, Popović M, Malenčić Đ, Ljubojević M, Barać G, Ognjanov V. Phenolic content and antioxidant capacity of sweet and sour cherries. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Chemia. 2012;57(4):175–81.*
158. Prvulović D, Malenčić Đ, Popović M, Ljubojević M, Ognjanov V. Antioxidant Properties of Sweet Cherries (*Prunus avium* L.) - Role of Phenolic Compounds. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and*

- Biotechnological Engineering*. 2011;5(11):676–9.
159. Mitić M, Obradović M, Kostić D, Mičić R, Pečev E. Polyphenol content and antioxidant activity of sour cherries from Serbia. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 2012;18(1):53–62.
160. Marković J, Stojiljković S, Nikolić G, Mitić N. Korelacija sadržaja antocijana i tretmana višnje HPLC metodom. *Zbornik radova Tehnološkog fakulteta u Leskovcu*. 2009;19(1):92–103.
161. Mitić M, Obradović M, Kostić D, Nasković D, Micić R. Phenolics content and antioxidant capacity of commercial red fruit juices. *Hemijska industrija*. 2011;65(5):611–9.
162. Repajić M, Bursać-Kovačević D, Putnik P, Dragović-Uzelac V, Kušt J, Čošić Z, et al. Influence of Cultivar and Industrial Processing on Polyphenols in Concentrated Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Juice. *Food Technology and Biotechnology*. 2015;53(2):215–22.
163. Taheri R, Connolly B, Brand M, Bolling B. Underutilized Chokeberry (*Aronia melanocarpa*, *Aronia arbutifolia*, *Aronia prunifolia*) Accessions Are Rich Sources of Anthocyanins, Flavonoids, Hydroxycinnamic Acids and Proanthocyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2013;61(36):8581–8.
164. Rugină D, Sconța Z, Leopold L, Pinteș A, Bunea A, Socaciu C. Antioxidant Activities of Chokeberry Extracts and the Cytotoxic Action of Their Anthocyanin Fraction on HeLa Human Cervical Tumor Cells. *Journal of Medicinal Food*. 2012;15(8):700–6.
165. Rios J, Recio M, Villar A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology*. 1988;23(2–3):127–49.
166. Puupponen-Pimia R, Nohynek L, Hartmann-Schimidlin S, Kahkonen M, Heinonen M, Maatta-Riihinen K, et al. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*. 2005;98:991–1000.
167. Riaz M, Ahmad M, Rahman N. Antimicrobial screening of fruit, leaves, root and stem of *Rubus fruticosus*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(24):5920–4.
168. Yiğit D, Yiğit N. Antibacterial properties of blackberry (*Rubus Fruticosus*). *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2015;7(2):267–74.
169. Djipa C, Delmée M, Quetin-Leclercq J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (*Myrtaceae*). *Journal of Ethnopharmacology*. 2000;71(1–2):307–13.
170. Ördögh L, Galgóczy L, Krisch J, Papp T, Vágvölgyi C. Antioxidant and antimicrobial activities of fruit juices and pomace extracts against acne-inducing bacteria. *Acta Biologica Szegediensis*. 2010;54(1):45–9.

171. *Krisch J, Galgóczy L, Tölgyesi M, Papp T, Vágvölgyi C. Effect of fruit juices and pomace extracts on the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Acta Biologica Szegediensis. 2008;52(2):267–70.*
172. *Yang H, Hewes D, Salaheen S, Federman C, Biswas D. Effects of blackberry juice on growth inhibition of foodborne pathogens and growth promotion of Lactobacillus. Food Control. 2014;37:15–20.*
173. *Rauha J, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kähkönen M, Kujala T, et al. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. International Journal of Food Microbiology. 2000;56(1):3–12.*
174. *Krisch J, Galgóczy L, Papp T, Vagvolgi C. Antimicrobial and antioxidant potential of waste products remaining after juice pressing. Annals of the faculty of engineering Hunedoara-journal of engineering. 2009;4(8):131–4.*
175. *Hanbali L, Amiry J, Ghadieh R, Hasan H, Koussan S, Nakhal Y, et al. The Antimicrobial Activity of Sweet Cherry (Prunus avium) Extracts: I. Measurement of Sensitivity and Attenuation of Gram-Positive and Gram- Negative Bacteria and C. albicans in Culture. Current Nutrition & Food Science. 2012;8(4):275–91.*
176. *Ahn S, Ryu H, Kang D, Jung I, Sohn H. Antimicrobial and Antioxidant activity of the Fruit of Prunus avium L. Korean Journal of Microbiology and Biotechnology. 2009;37(4):371–6.*
177. *Liegiūtė S, Majienė D, Trumbeckaitė S, Liobikas J, Bendokas V, Stanys V, et al. Anthocyanin composition and antimicrobial activity of sour cherry (Prunus cerasus L.) fruit extracts. Zemdirbystė-Agriculture. 2009;96(3):141–8.*
178. *Hevesi M, Blázovics A, Kállay E, Végh A, Stéger-Máté M, Ficzek G, et al. Biological Activity of Sour Cherry Fruit on the Bacterial Flora of Human Saliva in vitro. Food Technology and Biotechnology. 2012;50(1):117–22.*
179. *Kołodziejczyk K, Sójka M, Abadias M, Viñas I, Guyot S, Baron A. Polyphenol composition, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of the extracts obtained from industrial sour cherry pomace. Industrial Crops and Products. 2013;51:279–88.*
180. *Ogur R, Istanbuluoglu H, Korkmaz A, Barla A, Tekbas O, Oztas E. Investigation of anti-cancer effects of cherry in vitro. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014;27(3):587–92.*
181. *Coccia A, Carraturo A, Mosca L, Masci A, Bellini A, Campagnaro M, et al. Effects of methanolic extract of sour cherry (Prunus cerasus L.) on microbial growth. International Journal of Food Science & Technology. 2012;47(8):1620–9.*
182. *Krstić T, Suvajdžić L, Stojanović S, Velhner M, Milanov D, Bojić G, et al. Different antimicrobial effects of raspberry depending on the method of active components isolation. Food and Feed Research. 2014;41(2):125–30.*
183. *Nohynek L, Alakomi H-L, Kähkönen M, Heinonen M, Helander I, Oksman-Caldentey*

- K-M, et al. Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. Nutrition and cancer. 2006;54(1):18–32.*
184. *Girardot M, Barbot V, Costa D, Chافتar N, Imbert C. Anti-candida potential of red fruits: Antifungal and anti-biofilm effects. Planta Medica. 2012;78(11):167.*
185. *Sheela T, Sathees Kannan T, Jayakumar K. Evaluation of Bio Control Efficacy of Synbiotic Cherry (Prunus avium. L.) Juice. International Letters of Natural Sciences. 2015;42:62–8.*
186. *Suvajđić L, Krstić T, Stojanović S, Grujić-Letić N, Milankov N, Gigov S, et al. Activity of Serbian Aronia prunifolia against Prototheca wickerhamii and Prototheca zopfii. Acta Scientiae Veterinariae. 2017;45:1513.*
187. *Sauter C, Wolfensberger C. Anticancer activities as well as antiviral and virus-enhancing properties of aqueous fruit extracts from fifty-six European plant species. European Journal of Cancer and Clinical Oncology. 1989;25(6):987–90.*
188. *Coisin M, Burzo I, Ştefan M, Rosenhech E, Zamfirache M. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of three Salvia species, widespread in eastern Romania. Analele Ştiinţifice ale Universităţii „Al I Cuza” Iaşi s II a Biologie vegetală. 2012;58(1):51–8.*
189. *Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Alakomi H, Oksman-Caldentey K. Bioactive berry compounds-novel tools against human pathogens. Applied microbiology and biotechnology. 2005;67(1):8–18.*
190. *Van Der Watt E, Pretorius J. Purification and identification of active antibacterial components in Carpobrotus edulis L. Journal of Ethnopharmacology. 2001;76:87–91.*
191. *Rodríguez Vaquero M, Albertob M, Mancade Nadra M. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. Food Control. 2007;18(2):93–101.*
192. *Taguri T, Tanaka T, Kouno I. Antibacterial Spectrum of Plant Polyphenols and Extracts Depending upon Hydroxyphenyl Structure. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2006;29(11):2226–35.*
193. *Cueva C, Moreno-Arribas M, Martín-Álvarez P, Bills G, Vicente F, Basilio A, et al. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. Research in Microbiology. 2010;161(5):372–82.*
194. *Kayser O, Kolodziej H. Antibacterial Activity of Extracts and Constituents of Pelargonium sidoides and Pelargonium reniforme. Planta Medica. 1997;63(6):508–10.*
195. *Mandalari G, Bisignano C, D'Arrigo M, Ginestra G, Arena A, Tomaino A, et al. Antimicrobial potential of polyphenols extracted from almond skins. Letters in Applied Microbiology. 2010;51(1):83–9.*
196. *Park K, Park Y, Cho S, Sun W, Kim S, Jung D, et al. Antimicrobial Activity of 3-O-*

- Acyl(-)-epicatechin and 3-O-Acyl-(+)-catechin derivatives. Planta Medica. 2004;70(3):272–6.*
197. Martins A, Vasas A, Viveiros M, Molnár J, Hohmann J, Amaral L. Antibacterial properties of compounds isolated from *Carpobrotus edulis*. *International Journal of Antimicrobial Agents. 2011;37(5):438.*
 198. Alves M, Ferreira I, Froufe H, Abreu R, Martins A, Pintado M. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. *Journal of Applied Microbiology. 2013;115(2):346–57.*
 199. Korukluoglu M, Sahan Y, Yigit A, Ozer E, Gucer S. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Olea Europaea L.* leaf extracts. *Journal of Food Processing and Preservation. 2010;34(3):383–96.*
 200. Binutu O, Cordell G. Gallic acid derivatives from mezoneuron *Benthamianum* leaves. *Pharmaceutical Biology. 2000;38(4):284–6.*
 201. Özçelik B, Kartal M, Orhan I. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharmaceutical Biology. 2011;49(4):396–402.*
 202. Naz S, Siddiqi R, Ahmad S, Rasool S, Sayeed S. Antibacterial Activity Directed Isolation of Compounds from *Punica granatum*. *Journal of Food Science. 2007;72(9):341–5.*
 203. Gatto M, Falcocchio S, Grippa E, Mazzantia G, Battinelli L, Giovanni N, et al. Antimicrobial and Anti-Lipase Activity of Quercetin and its C2-C16 3-O-Acyl-Esters. *Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2002;10(2):269–72.*
 204. Panizzi L, Caponi C, Catalano S, Cioni P, Morelli I. In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *Journal of Ethnopharmacology. 2002;79(2):165–8.*
 205. Zemek J, Košíková B, Augustín J, Joniak D. Antibiotic properties of lignin components. *Folia Microbiologica. 1979;24(6):483–6.*
 206. Ikigai H, Nakaea T, Hara Y, Shimamura T. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. 1993;1147(1):132–6.*
 207. Lou Z, Wang H, Rao S, Sun J, Li C, Jing M. p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control. 2012;25(2):550–4.*
 208. Lacombe A, Wu V, Tyler S, Edwards K. Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins and organic acids against *Escherichia coli* O157:H7. *International journal of food microbiology. 2010;139(1–2):102–7.*

Prilozi

Prilog 1. Sadržaji polienolih jedinjenja i vitamina C u ekstraktima i sokovima i njihove standardne devijacije (SD)

Jedinjenje (mg/100 g SO)	Kupina ekstrakt	SD	Kupina sok	SD	Malina ekstrakt	SD
<i>Ukupni antocijani</i>	1973,13	65,27	745,59	24,34	1531,56	52,46
<i>Katehin</i>	1349,65	44,83	542,88	21,14	365,7	16,25
<i>Protokatehinska kiselina</i>	338,83	11,23	14,12	0,42	241,74	11,98
<i>p-Hidroksibenzoeva kiselina</i>	200,33	6,04	5,21	0,17	194,08	8,41
<i>Galna kiselina</i>	27,74	1,09	24,93	0,84	27,79	1,22
<i>Hlorogenska kiselina</i>	19,35	0,81	-	-	4,15	0,14
<i>Vanilinska kiselina</i>	1,96	0,08	0,21	0,01	0,83	0,04
<i>Vitamin C</i>	14,48	0,52	6,73	0,17	72,99	2,66
<i>Miricetin</i>	13,75	0,48	0,7	0,03	4,13	0,17
<i>Rutin</i>	8,02	0,33	2,09	0,1	3,41	0,16
<i>Krisin</i>	6,41	0,3	6,41	0,26	-	-
<i>Kumarinska kiselina</i>	5,12	0,15	3,2	0,12	1,23	0,04
<i>Ferulna kiselina</i>	4,14	0,14	0,48	0,01	4,78	0,22
<i>Kvercetin</i>	1,17	0,06	1,17	0,05	3,71	0,11
<i>Elaginska kiselina</i>	1,05	0,05	0,47	0,02	3,51	0,16
<i>Kafena kiselina</i>	0,43	0,02	0,43	0,02	75,86	2,78
<i>Gentisinska kiselina</i>	-	-	-	-	36,69	1,38
<i>Epikatehin</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Siringinska kiselina</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Sinapinska kiselina</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Luteolin</i>	-	-	-	-	0,01	0
<i>Izoramnetin</i>	-	-	-	-	0,23	0,01
<i>Kempferol</i>	-	-	-	-	43,25	1,46
<i>Ukupna količina ispitivanih supstanci</i>	3965,56		1354,62		2615,65	

- nije pronaden

Prilog 1. Sadržaji polienolih jedinjenja i vitamina C u ekstraktima i sokovima i njihove standardne devijacije (SD)-nastavak

Jedinjenje (mg/100 g SO)	Malina sok	SD	Trešnja ekstrakt	SD	Trešnja sok	SD
<i>Ukupni antocijani</i>	1841,79	65,21	36,84	1,47	79,61	3,13
<i>Katehin</i>	285,73	12,36	3,41	0,12	10,4	0,43
<i>Protokatehinska kiselina</i>	78,02	3,42	3,38	0,15	-	-
<i>p-Hidroksibenzoeva kiselina</i>	12,11	0,47	4,47	0,2	5,23	0,19
<i>Galna kiselina</i>	31,93	1,04	3,1	0,09	6,19	0,26
<i>Hlorogenska kiselina</i>	3,24	0,15	55,26	2,05	71,11	2,56
<i>Vanilinska kiselina</i>	-	-	-	-	0,64	0,03
<i>Vitamin C</i>	69,37	2,84	4,68	0,13	44,07	2,19
<i>Miricetin</i>	2,22	0,1	-	-	-	-
<i>Rutin</i>	1,83	0,06	1	0,02	-	-
<i>Krisin</i>	-	-	-	-	13,89	0,44
<i>Kumarinska kiselina</i>	6,96	0,24	26,56	1,05	43,49	2,07
<i>Ferulna kiselina</i>	0,62	0,03	-	-	-	-
<i>Kvercetin</i>	4,05	0,12	-	-	-	-
<i>Elaginska kiselina</i>	2,94	0,09	0,29	0,01	1,1	0,06
<i>Kafena kiselina</i>	-	-	3,1	0,14	3,1	0,13
<i>Gentisinska kiselina</i>	48,15	2,36	10,18	0,43	3,38	0,16
<i>Epikatehin</i>	78,02	2,85	9,17	0,34	-	-
<i>Siringinska kiselina</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Sinapinska kiselina</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Luteolin</i>	0,05	0	-	-	-	-
<i>Izoramnetin</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Kempferol</i>	50,46	1,81	-	-	-	-
<i>Ukupna količina ispitivanih supstanci</i>	2517,49		161,44		282,21	

Prilog 1. Sadržaji polienolih jedinjenja i vitamina C u ekstraktima i sokovima i njihove standardne devijacije (SD)-nastavak

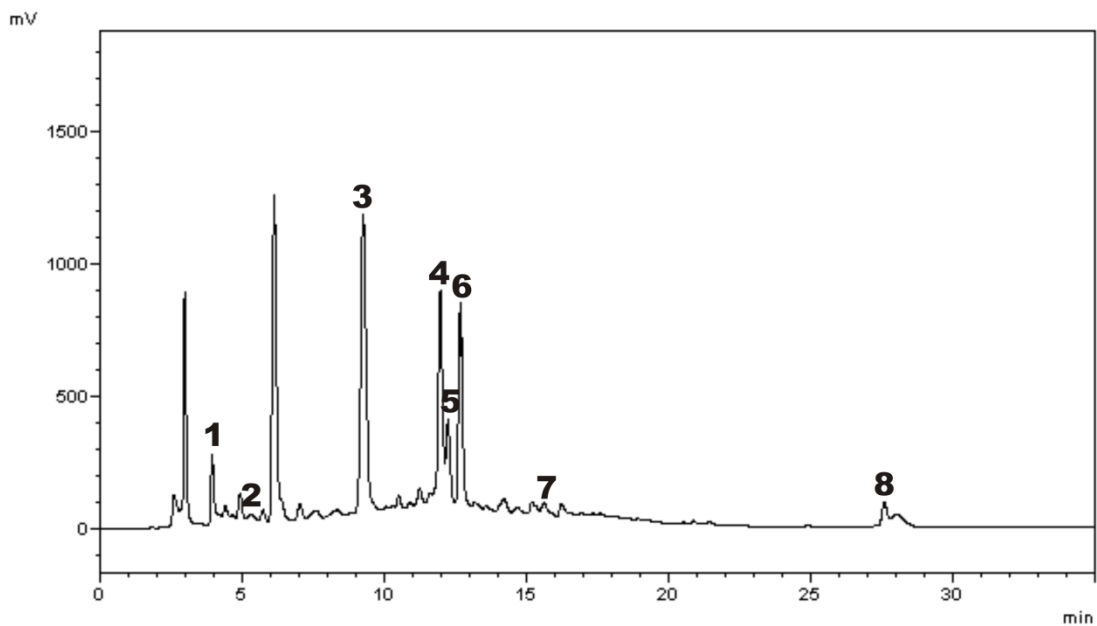
Jedinjenje (mg/100 g SO)	Visnja ekstrakt	SD	Visnja sok	SD	Aronija ekstrakt	SD
<i>Ukupni antocijani</i>	533,79	22,95	92,07	3,03	542,93	19,14
<i>Katehin</i>	51,82	1,91	32,63	1,55	680,65	22,16
<i>Protokatehinska kiselina</i>	80,83	2,45	11,24	0,26	8,07	0,36
<i>p-Hidroksibenzoeva kiselina</i>	12,18	0,49	11,12	0,52	-	-
<i>Galna kiselina</i>	21,76	0,73	32,88	1,24	18,24	0,65
<i>Hlorogenska kiselina</i>	293,57	11,78	250,11	8,55	10,5	0,28
<i>Vanilinska kiselina</i>	0,99	0,04	1,07	0,05	0,43	0,02
<i>Vitamin C</i>	6,85	0,25	7,18	0,29	20,82	0,84
<i>Miricetin</i>	11,97	0,12	-	-	3,52	0,16
<i>Rutin</i>	27,46	0,09	-	-	14,31	0,62
<i>Krisin</i>	-	-	-	-	10,01	0,41
<i>Kumarinska kiselina</i>	16,56	0,62	25,81	1,09	-	-
<i>Ferulna kiselina</i>	3,04	0,12	1,95	0,08	6,16	0,3
<i>Kvercetin</i>	3,85	0,13	-	-	4,49	0,14
<i>Elaginska kiselina</i>	1,79	0,09	0,46	0,03	-	-
<i>Kafena kiselina</i>	5,12	0,18	5,64	0,22	4,23	0,11
<i>Gentisinska kiselina</i>	93,82	3,19	46,68	1,83	-	-
<i>Epikatehin</i>	13,53	0,35	61,58	2,09	-	-
<i>Siringinska kiselina</i>	-	-	-	-	9,18	0,22
<i>Sinapinska kiselina</i>	3,71	0,13	-	-	-	-
<i>Luteolin</i>	0,58	0	-	-	-	-
<i>Izoramnetin</i>	2,08	0,01	-	-	-	-
<i>Kempferol</i>	20,85	1,76	108,11	2,12	-	-
<i>Ukupna količina ispitivanih supstanci</i>	1206,15		688,53		1333,54	

Prilog 1. Sadržaji polienolih jedinjenja i vitamina C u ekstraktima i sokovima i njihove standardne devijacije (SD)-nastavak

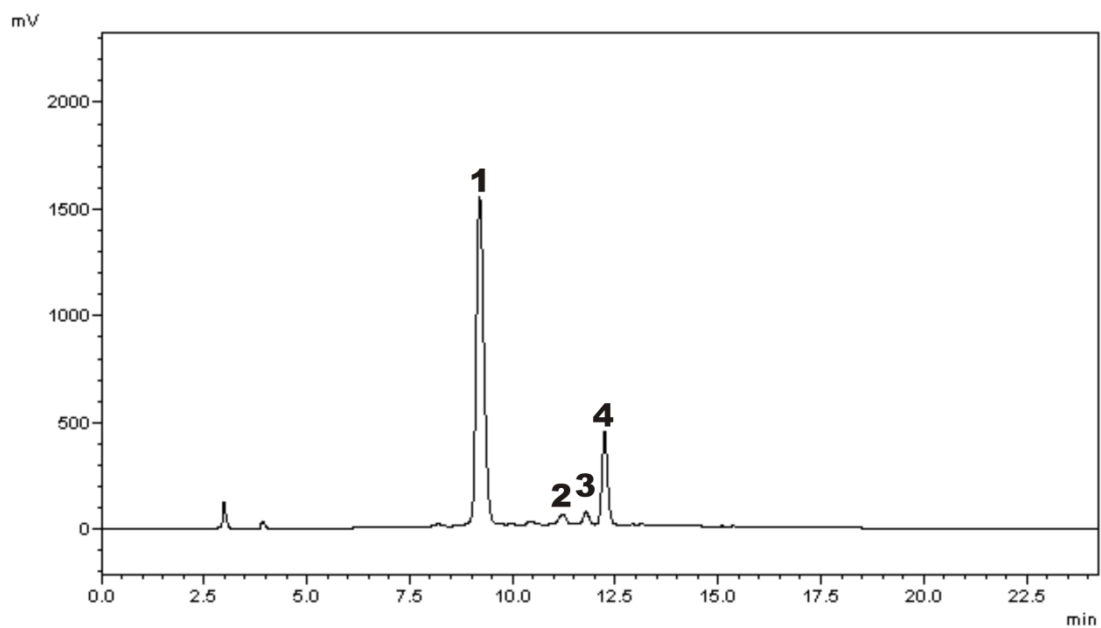
Jedinjenje (mg/100 g SO)	Aronija sok	SD
<i>Ukupni antocijani</i>	20,91	0,73
<i>Katehin</i>	186,3	8,11
<i>Protokatehinska kiselina</i>	3,92	0,19
<i>p-Hidroksibenzoeva kiselina</i>	-	-
<i>Galna kiselina</i>	10,96	0,35
<i>Hlorogenska kiselina</i>	-	-
<i>Vanilinska kiselina</i>	1,02	0,05
<i>Vitamin C</i>	10,42	0,28
<i>Miricetin</i>	1,48	0,05
<i>Rutin</i>	1,16	0,05
<i>Krisin</i>	4,11	0,14
<i>Kumarinska kiselina</i>	1,84	0,06
<i>Ferulna kiselina</i>	7,2	0,19
<i>Kvercetin</i>	-	-
<i>Elaginska kiselina</i>	0,78	0,04
<i>Kafena kiselina</i>	4,23	0,17
<i>Gentisinska kiselina</i>	10,52	0,37
<i>Epikatehin</i>	-	-
<i>Siringinska kiselina</i>	4,59	0,11
<i>Sinapinska kiselina</i>	-	-
<i>Luteolin</i>	-	-
<i>Izoramnetin</i>	-	-
<i>Kempferol</i>	-	-
<i>Ukupna količina ispitivanih supstanci</i>	269,44	

Prilog 2. Hromatogrami (280 i 520 nm)**Kupina ekstrakt**

280 nm

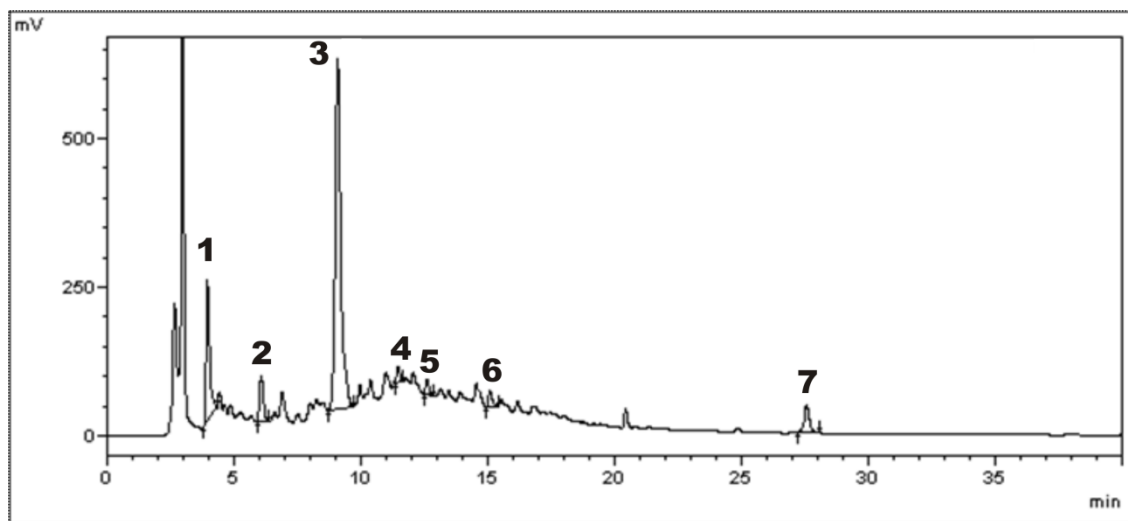


520 nm

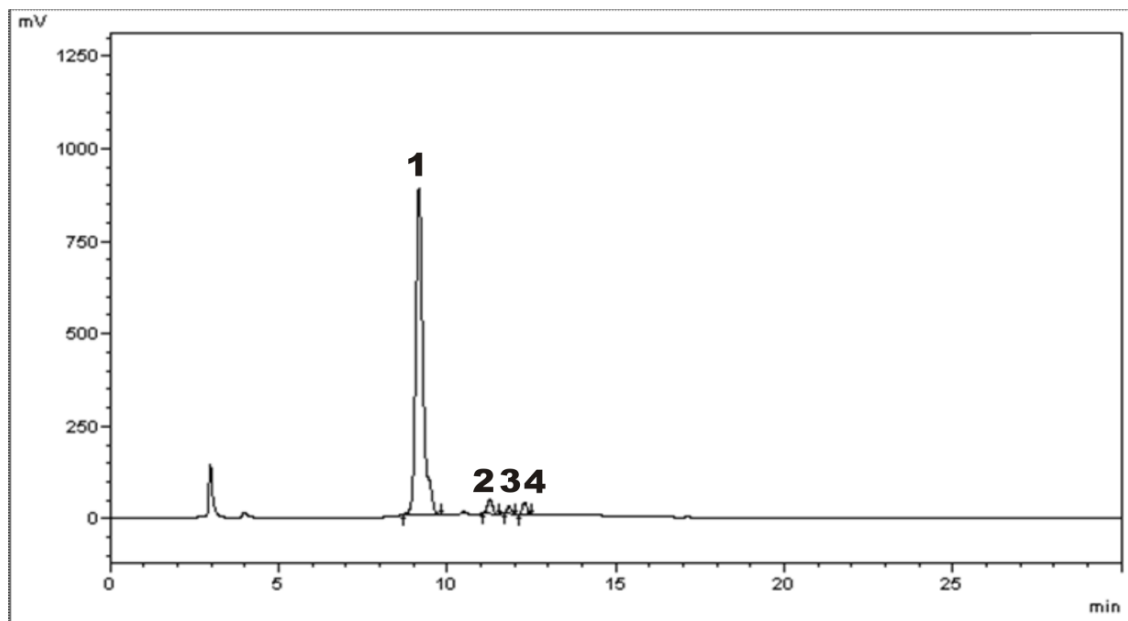


Kupina sok

280 nm

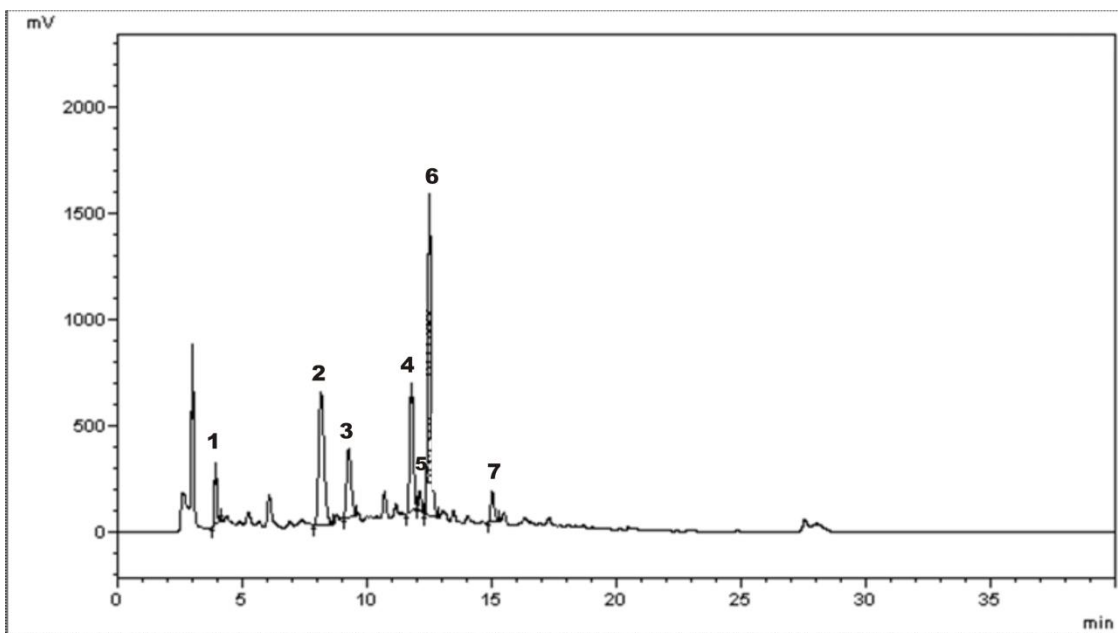


520 nm

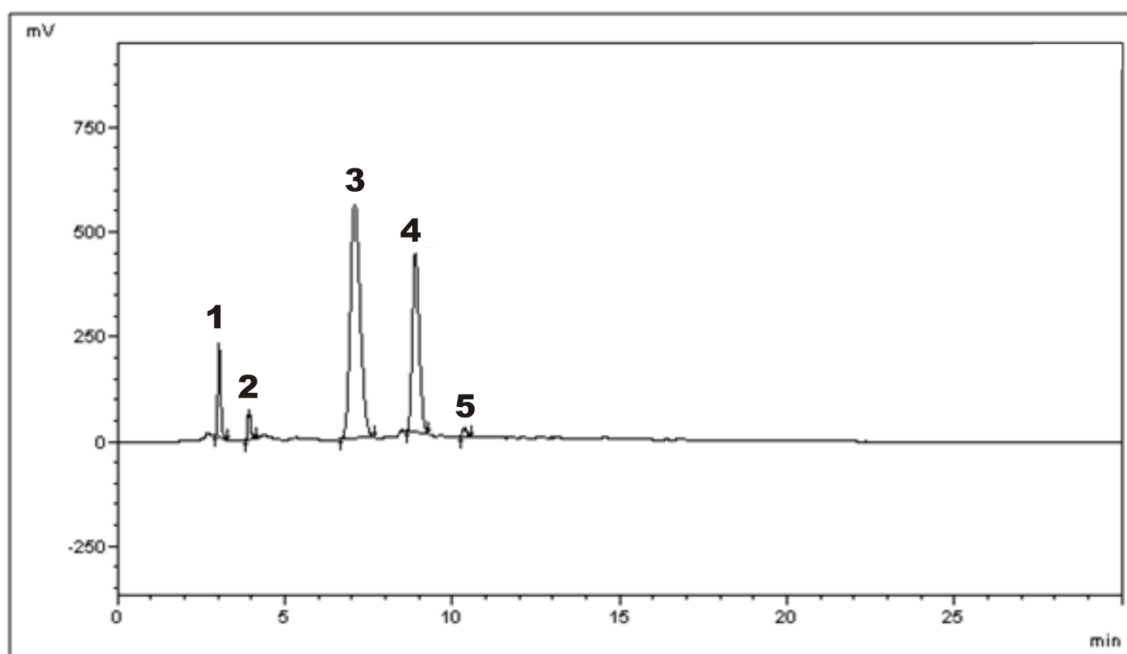


Malina ekstrakt

280 nm

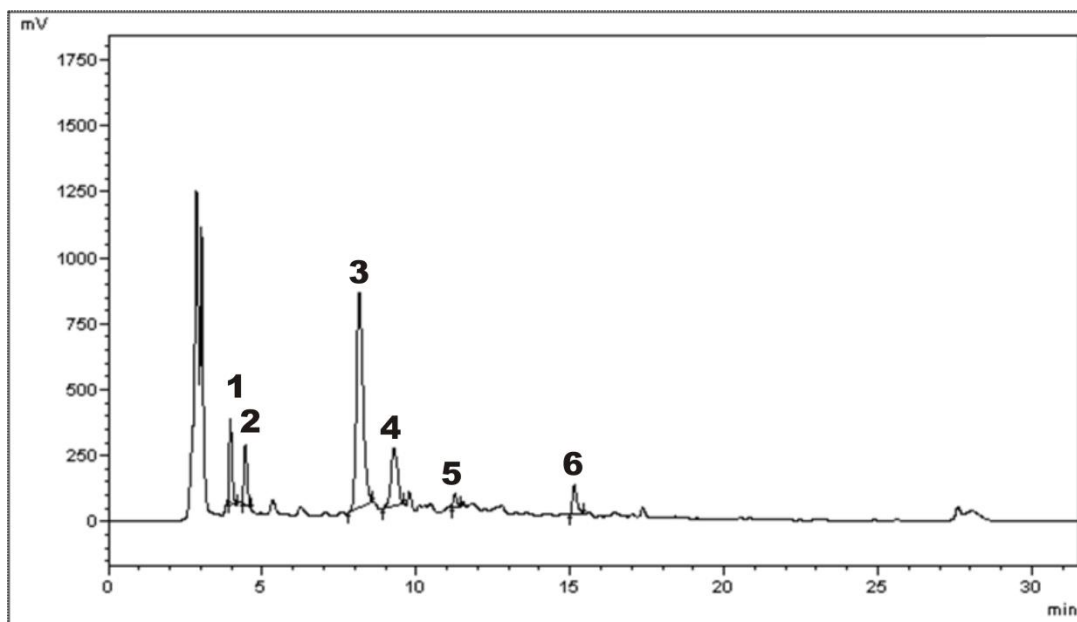


520 nm

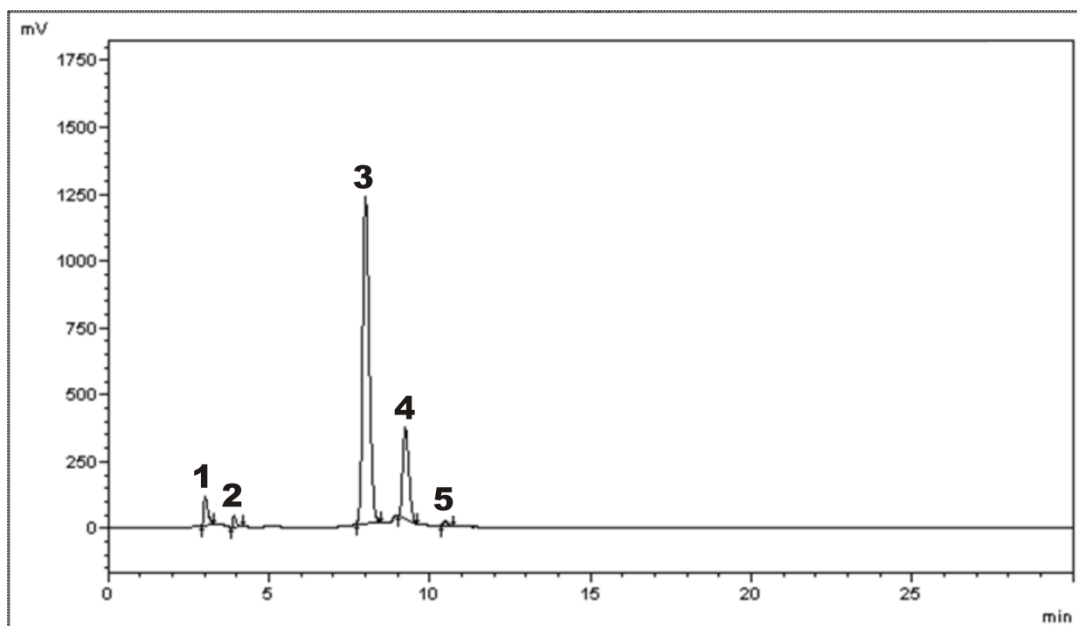


Malina sok

280 nm

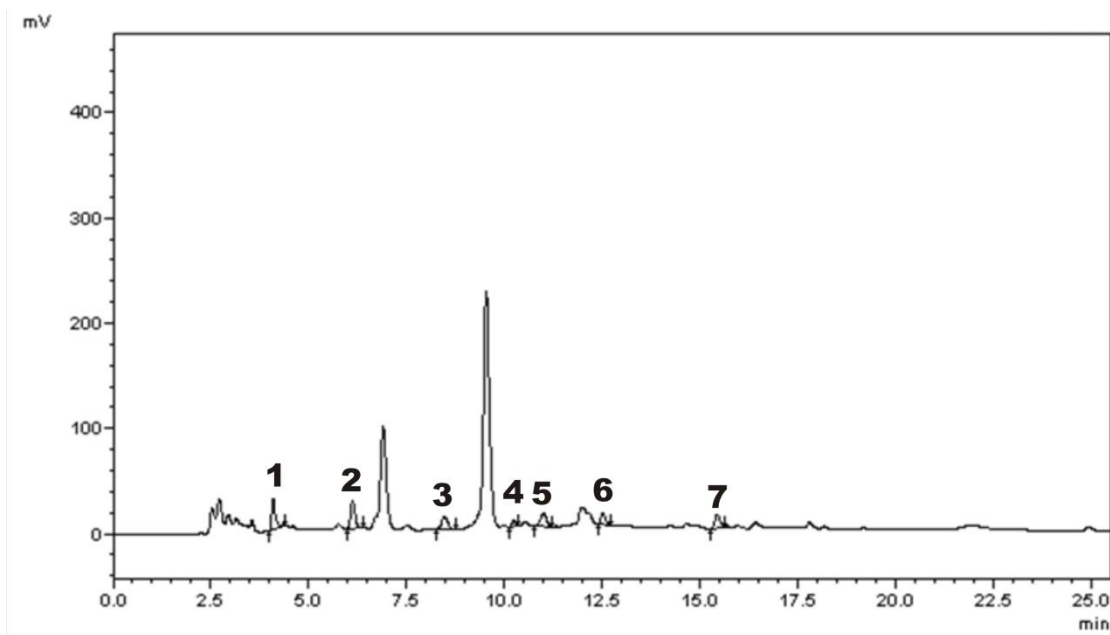


520 nm

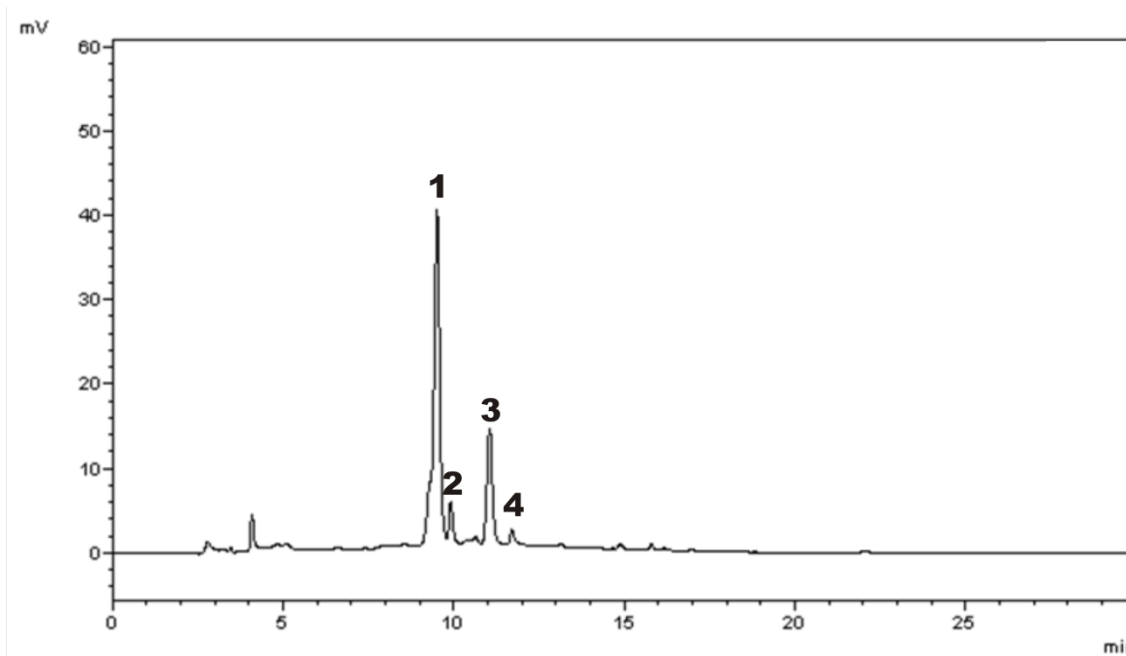


Trešnja ekstrakt

280 nm

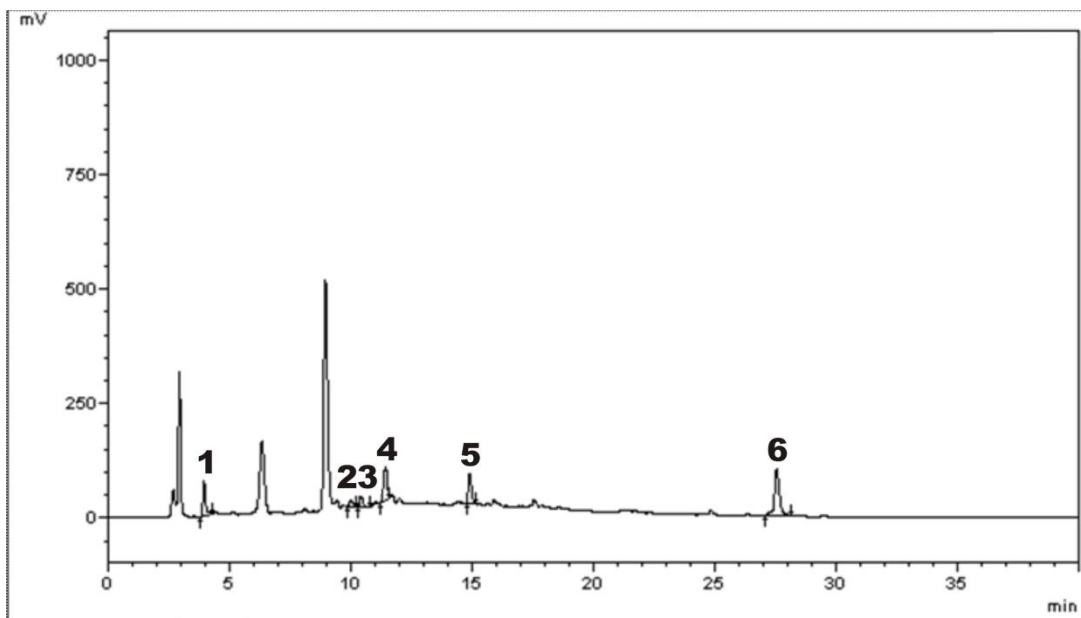


520 nm

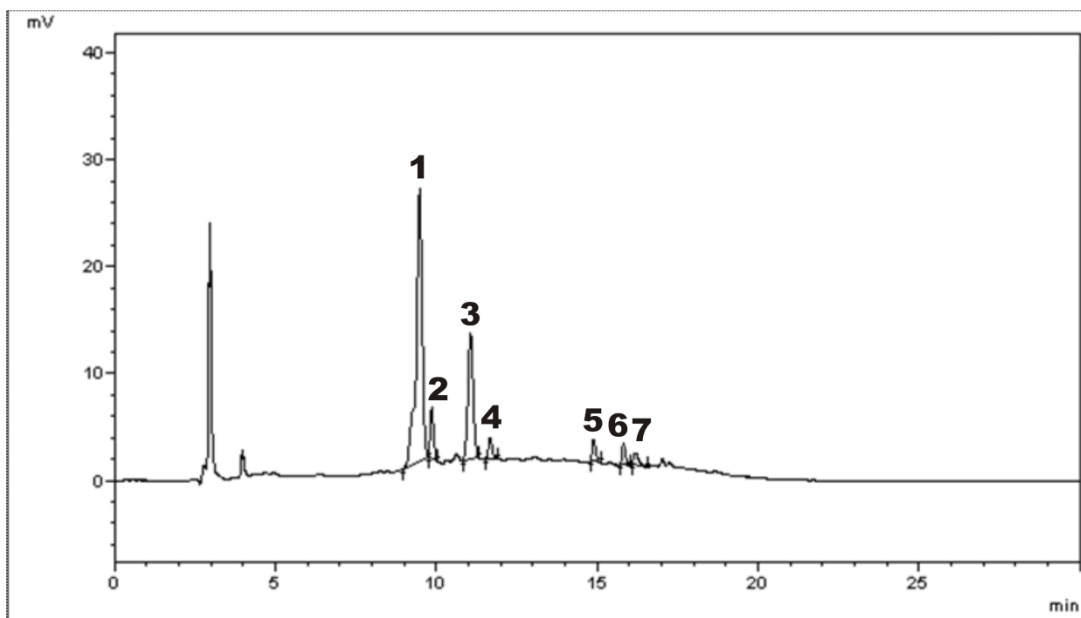


Trešnja sok

280 nm

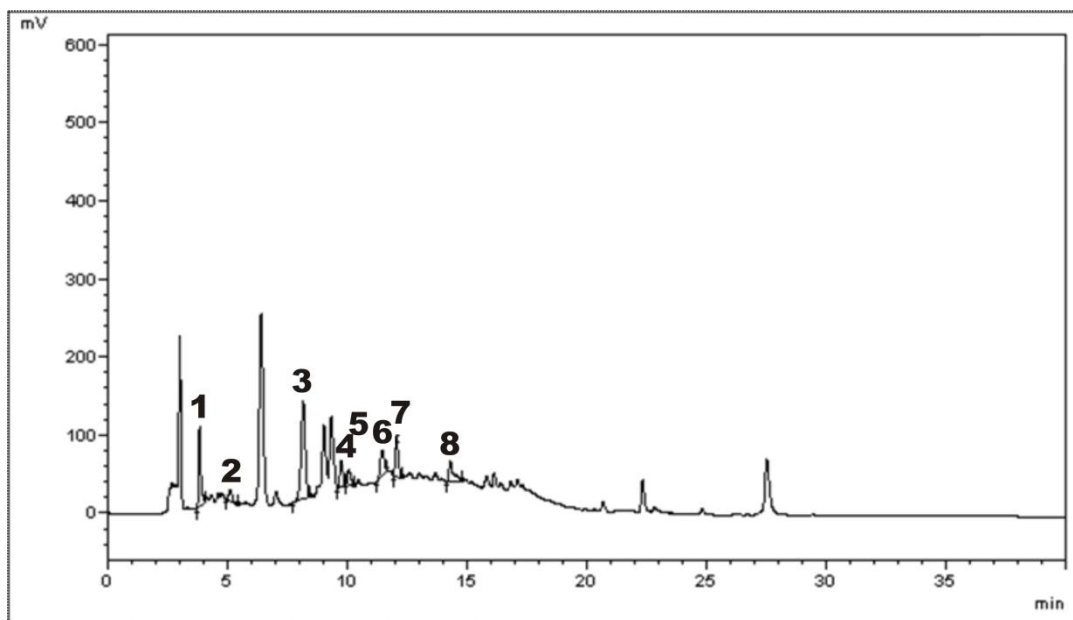


520 nm

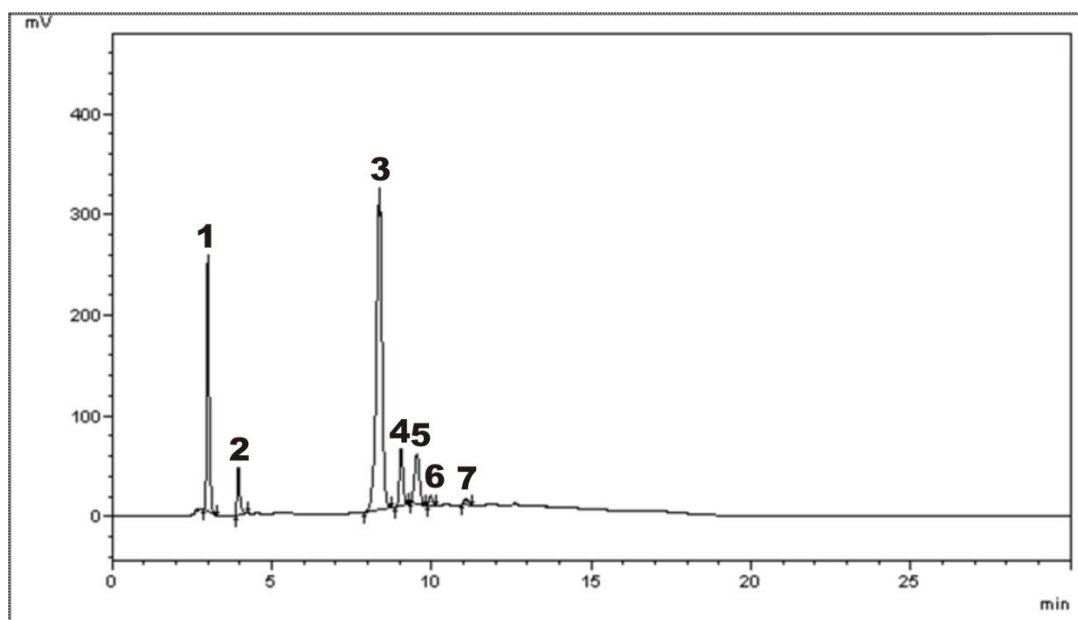


Višnja ekstrakt

280 nm

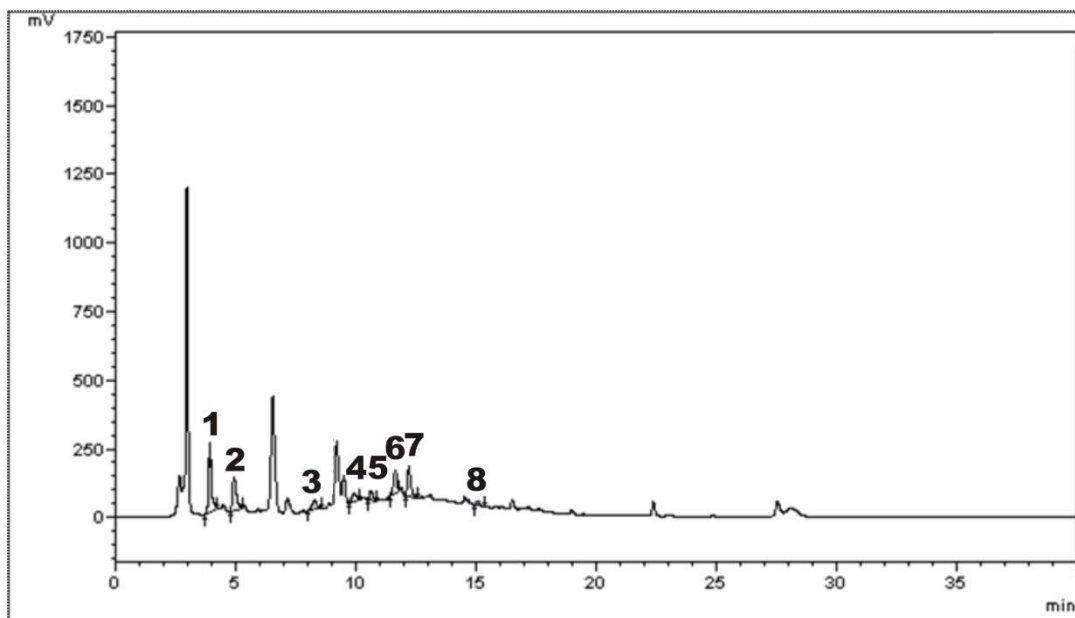


520 nm

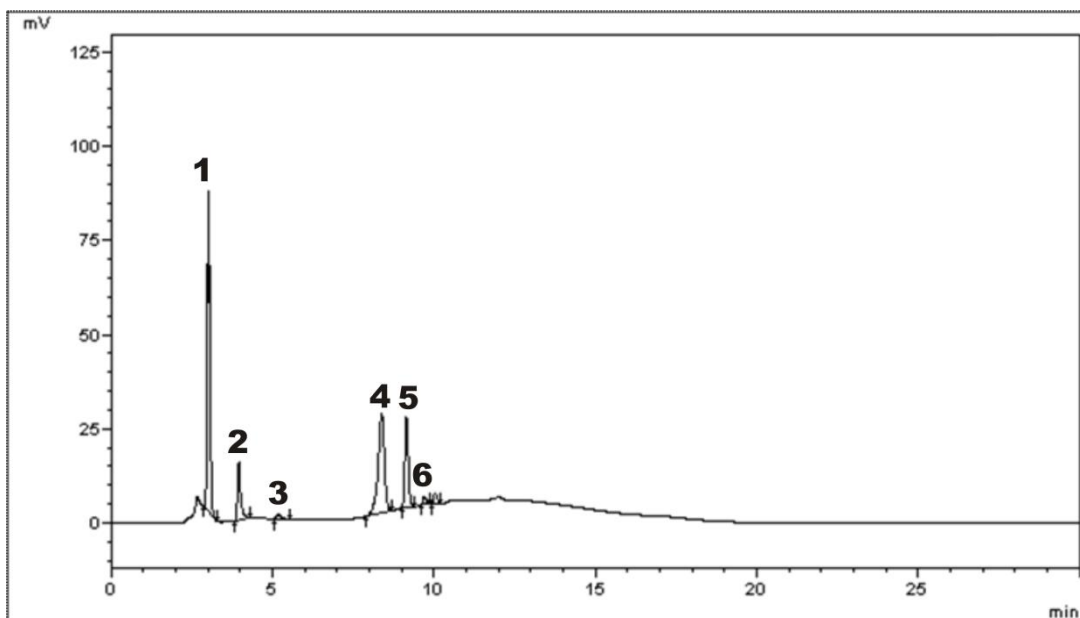


Višnja sok

280 nm

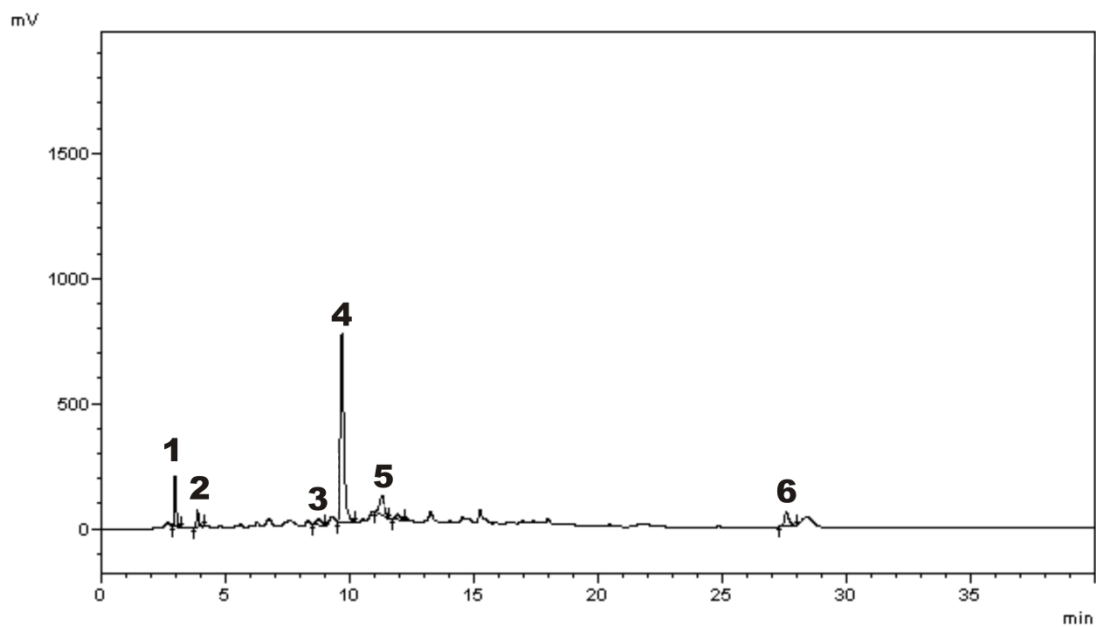


520 nm

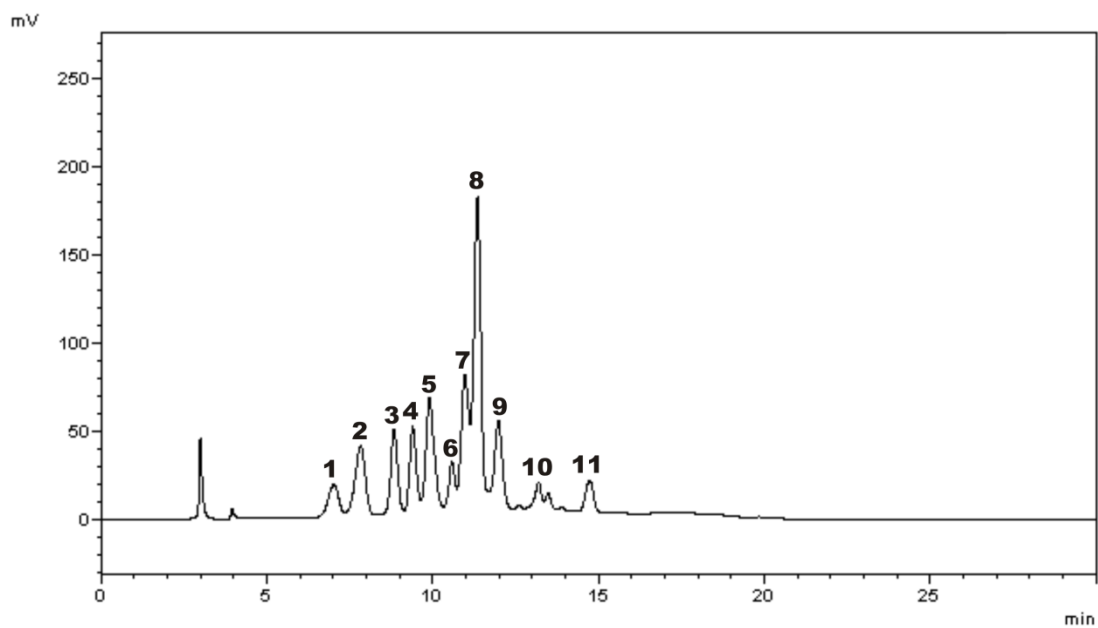


Aronija ekstrakt

280 nm

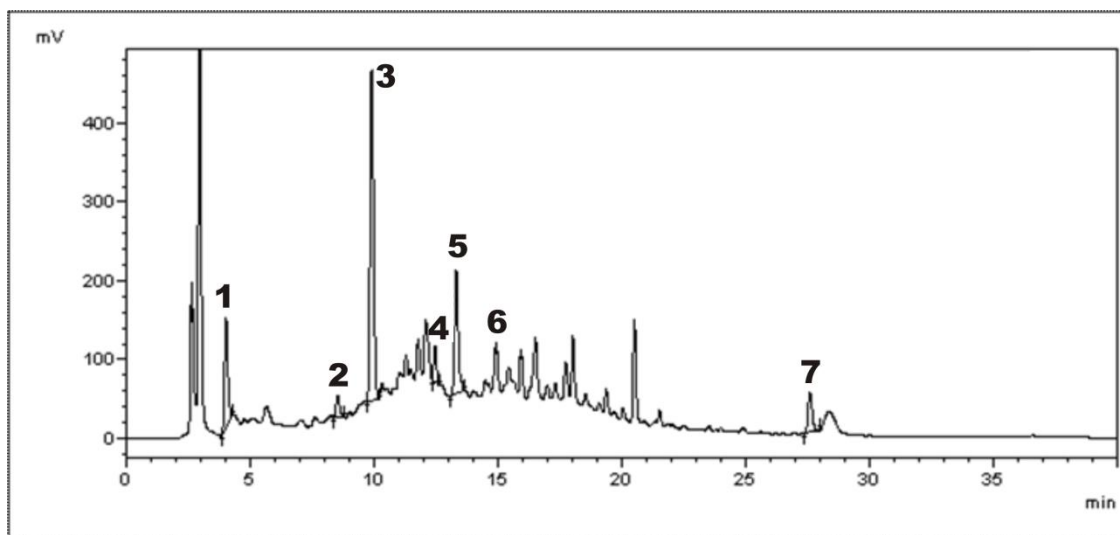


520 nm

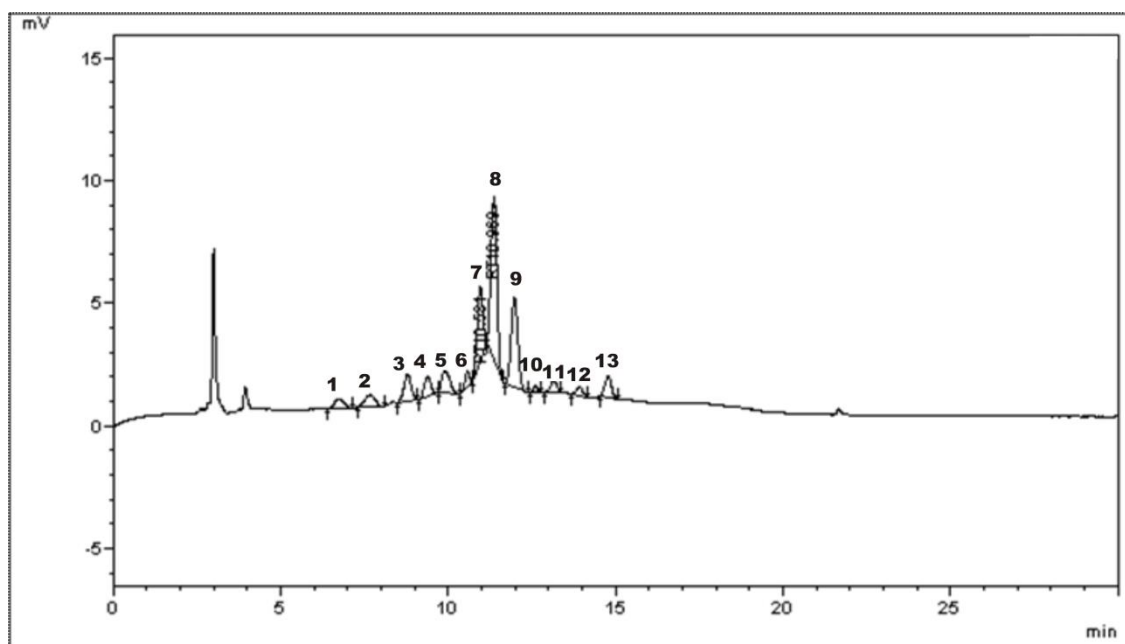


Aronija sok

280 nm



520 nm



Prilog 3. Rezultati analize antibakterijskog dejstva ekstrakata i sokova sprovedene difuzionom metodom

MIC 80 (mg/ml)	Kupina		Malina		Trešnja	
Bakterija	Ekstrakt	Sok	Ekstrakt	Sok	Ekstrakt	Sok
<i>Sa</i>	43,71	426,01	15,45	256,5	365,057	842,64
<i>Sa</i> ATCC 11632	61,64	195,64	28,99	367,04	490,27	864,91
<i>Sag</i>	51,03	929,83	17,16	212,21	-	-
<i>Re</i>	35,94	301,01	2,52	225,49	227,19	518,56
<i>Re</i> ATCC 6939	44,11	208,09	14,55	334,53	418,33	578,12
<i>Tp</i>	44,31	197,51	29,69	398,39	239,79	752,8296
<i>Ah</i>	116,71	316,76	51,67	760,18	215,6	805,38
<i>Ef</i>	47,18	377,24	43,49	893,91	599	-
<i>Pa</i>	53,34	435,83	1,44	319,29	264,05	647,93
<i>Pa</i> ATCC 10145	160,81	408,48	148,21	790,07	446,58	822,39
<i>SE</i>	140,11	417,64	214,48	1119,95	371,96	849,49
<i>ST</i> ATCC 14028	586,01	792,82	227,47	591,61	491,27	-
<i>Ec</i>	701,11	-	16,77	-	530,45	866,23
<i>Kp</i>	626,18	-	143,88	-	603,45	-
<i>Al</i>	91,18	505	0,44	761,92	334,76	-

- nije delovao

Prilog 3. Rezultati analize antibakterijskog dejstva ekstrakata i sokova sprovedene difuzionom metodom-nastavak

MIC 80 (mg/ml)	Višnja		Aronija		
Bakterija	Ekstrakt	Sok	Ekstrakt	Sok	Streptomycin
<i>Sa</i>	16,35	40,34	354,68	-	0,0004
<i>Sa</i> ATCC 11632	344,24	239,49	301,81	-	0,02
<i>Sag</i>	24,33	102,02	261,41	-	0,01
<i>Re</i>	26,99	212,85	4,75	-	0,04
<i>Re</i> ATCC 6939	123,58	36,16	118,96	-	0,001
<i>Tp</i>	47,12	166,82	366,71	-	87,01
<i>Ah</i>	30,64	69,58	236,88	-	0,0004
<i>Ef</i>	8,46	217,75	487,44	-	0,004
<i>Pa</i>	114,53	147,82	765,92	-	0,02
<i>Pa</i> ATCC 10145	68,69	200,97	193,15	-	0,02
<i>SE</i>	52,23	195,69	597,64	-	0,25
<i>ST</i> ATCC 14028	162,05	518,39	483,53	-	0,0001
<i>Ec</i>	11,77	681,38	753,93	-	10,17
<i>Kp</i>	217,91	605,91	658,59	-	1,74
<i>Al</i>	43,31	178,21	383,66	-	0,0002

- - nije delovao

Prilog 4. Rezultati analize antibakterijskog dejstva ekstrakata i sokova sprovedene dilucionom metodom

mg/ml	Kupina									
	Ekstrakt					Sok				
Bakterija	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80
<i>Sa</i>	3,7	3,6	2,7	0,1	0,005	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01
<i>Sa</i> ATCC 11632	1,84	1,78	1,3	0,1	0,003	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01
<i>Re</i>	3,2	3,1	2,3	0,2	0,01	3,2	3,1	2,3	0,2	0,01
<i>Re</i> ATCC 6939	3,2	3,1	2,3	0,2	0,01	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01
<i>Tp</i>	3,2	3,1	2,3	0,2	0,01	12,5	12,1	9,1	0,5	0,02
<i>Ah</i>	2	1,9	1,3	0,02	0,000 2	3,2	3,1	2,3	0,2	0,01
<i>Sag</i>	13,5	13	9,4	0,4	0,01	14,1	13,6	9,8	0,4	0,01
<i>Ef</i>	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01	13,6	13,2	9,5	0,4	0,01
<i>SE</i>	6,3	6,1	4,6	0,3	0,01	25,2	24,2	17,1	0,5	0,01
<i>ST</i> ATCC 14028	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01	13,6	13,2	9,5	0,4	0,01
<i>Pa</i>	2,1	2	1,7	0,3	0,03	2,49	2,48	2,45	2,2	1,9
<i>Pa</i> ATCC 10145	2	1,9	1,5	0,1	0,01	4,1	4	3,3	0,4	0,04
<i>Ec</i>	13,6	13,1	9,5	0,4	0,01	21,88	21,85	21,7	19,7	17,5
<i>Kp</i>	6,3	6,1	4,6	0,3	0,01	13,9	13,4	9,7	0,4	0,01
<i>Al</i>	3,2	3,1	2,3	0,2	0,01	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01

- - nije delovao

Prilog 4. Rezultati analize antibakterijskog dejstva ekstrakata i sokova sprovedene dilucionom metodom-nastavak

mg/ml	Malina									
	Ekstrakt					Sok				
Bakterija	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80
<i>Sa</i>	3,851	3,85	3,8	3,5	3,2	25	24,1	17	0,5	0,01
<i>Sa</i> ATCC 11632	6,63	6,62	6,5	5,4	4,4	13,5	13,0	9,5	0,4	0,01
<i>Re</i>	7,11	7,106	7,1	7,07	7,0	6,5	6,3	4,7	0,3	0,01
<i>Re</i> ATCC 6939	6,3	6,2	5,4	1,5	0,4	13,6	13,2	9,5	0,4	0,01
<i>Tp</i>	5,79641	5,7964	5,7963	5,795	5,79	14,1	13,8	11,2	1,4	0,14
<i>Ah</i>	5,7226	5,7222	5,72	5,69	5,66	25,3	24,3	17,3	0,6	0,01
<i>Sag</i>	5,9	5,7	4,1	0,2	0,009	25	24	17	0,5	0,01
<i>Ef</i>	5,973	5,97	5,9	5,5	5,1	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01
<i>SE</i>	2,17	2,16	2,1	1,6	1,2	25	24,1	17	0,5	0,01
<i>ST</i> ATCC 14028	1,9	1,8	1,5	0,3	0,04	30,2	29,1	21,2	0,9	0,03
<i>Pa</i>	1,7	1,6	1,5	0,5	0,1	11,91	11,86	11,4	7,5	4,8
<i>Pa</i> ATCC 10145	1,8	1,7	1,6	0,8	0,4	13,6	13,2	9,5	0,4	0,01
<i>Ec</i>	2,98	2,96	2,7	1,3	0,6	-				
<i>Kp</i>	1,18	1,16	1	0,2	0,03	41,9	41,6	39,2	21,4	11
<i>Al</i>	1,74	1,73	1,6	0,9	0,5	7,3	7	5,2	0,2	0,01

- - nije delovao

Prilog 4. Rezultati analize antibakterijskog dejstva ekstrakata i sokova sprovedene dilucionom metodom-nastavak

mg/ml	Trešnja									
	Ekstrakt					Sok				
Bakterija	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80
<i>Sa</i>	13,6	13,1	9,5	0,4	0,01	25	24,1	17	0,5	0,01
<i>Sa</i> ATCC 11632	13,7	13,2	9,5	0,4	0,01	30,1	29,5	24,8	4,3	0,6
<i>Re</i>	13,6	13,2	9,5	0,4	0,01	26,5	26,4	25,3	14,7	2,8
<i>Re</i> ATCC 6939	25	24	17	0,5	0,01	20,2	20,1	19,9	17,7	15,2
<i>Tp</i>	32,6	31,2	21	0,4	0,01	21,9	21,8	21	12,6	3,3
<i>Ah</i>	13,9	13,4	9,7	0,4	0,01	27,4	27,2	25,4	12,9	6
<i>Sag</i>	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01	25,1	24,2	17,1	0,5	0,01
<i>Ef</i>	25	24	17	0,5	0,01	28	27	19,4	0,7	0,02
<i>SE</i>	25	24,1	17	0,5	0,01	73,1	71	54,9	4,2	0,2
<i>ST</i> ATCC 14028	30,3	29,2	21,3	0,9	0,03	112,8	109,5	84	5,9	0,3
<i>Pa</i>	15,8	15,7	15,4	12,5	9,9	-				
<i>Pa</i> ATCC 10145	13,6	13,2	9,5	0,4	0,01	-				
<i>Ec</i>	13,7	13,2	9,5	0,4	0,01	25,1	24,5	19,9	2,5	0,3
<i>Kp</i>	26,6	25,7	18,5	0,7	0,02	60,8	60,2	55,4	24,3	9,7
<i>Al</i>	13,4	12,9	9,4	0,4	0,01	111,7	107,3	74,5	1,9	0,03

- - nije delovao

Prilog 4. Rezultati analize antibakterijskog dejstva ekstrakata i sokova sprovedene dilucionom metodom-nastavak

mg/ml	Višnja									
	Ekstrakt					Sok				
Bakterija	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80
<i>Sa</i>	11,9	11,6	9,4	1,2	0,1	10,8	10,4	7,5	0,3	0,01
<i>Sa</i> ATCC 11632	11,9	11,8	11,5	9	6,8	8,2	7,7	4,7	0,03	0,0001
<i>Re</i>	3,152	3,15	3,14	3,08	3	8,09	8,06	7,8	5,5	3,7
<i>Re</i> ATCC 6939	5,848	5,847	5,846	5,83	5,8	9,814	9,813	9,81	9,73	9,66
<i>Tp</i>	9,27	9,26	9,2	8,3	7,4	10,64	10,63	10,5	9,3	8,1
<i>Ah</i>	4,1	3,9	2,3	0,01	0,00005	16,1	15,6	12,1	0,9	0,1
<i>Sag</i>	5,4	5,2	3,8	0,2	0,01	14,6	14,1	10	0,3	0,01
<i>Ef</i>	11,9	11,5	8,1	0,3	0,01	25,9	25,3	20,7	2,8	0,3
<i>SE</i>	6,13	6,07	5,6	2,5	0,2	12,28	12,26	12,1	10,5	8,7
<i>ST</i> ATCC 14028	21,1	20,3	13,9	0,3	0,004	20,5	20,3	18,3	6,5	2,1
<i>Pa</i>	12,7	12,3	9,4	0,6	0,03	10,2	10,1	9,4	4,4	0,5
<i>Pa</i> ATCC 10145	9,6	9,3	6,9	0,3	0,01	16,2	15,9	12,7	1,4	0,1
<i>Ec</i>	8,6	8,2	5,1	0,04	0,0002	13,6	13,1	9,6	0,4	0,01
<i>Kp</i>	10,8	10,7	10,1	5,7	3,0	11,4	11,3	10,9	7,4	4,8
<i>Al</i>	9,2	4,8	3,3	1,8	1,4	11,3	11,2	10,6	5,9	2,2

- - nije delovao

Prilog 4. Rezultati analize antibakterijskog dejstva ekstrakata i sokova sprovedene dilucionom metodom-nastavak

mg/ml	Aronija									
	Ekstrakt					Sok				
Bakterija	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80
<i>Sa</i>	3,2	3,1	2,3	0,2	0,01	27,6	26,5	18,6	0,5	0,01
<i>Sa</i> ATCC 11632	6,3	6,1	4,7	0,3	0,02	25	24,1	17,1	0,6	0,01
<i>Re</i>	3,33	3,26	2,7	0,4	0,1	26,7	25,9	19,9	1,4	0,1
<i>Re</i> ATCC 6939	3,2	3,1	2,5	0,2	0,01	27,3	26,2	18,7	0,6	0,01
<i>Tp</i>	24,5	23,6	16,8	0,6	0,01	28,1	27	18,9	0,5	0,01
<i>Ah</i>	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01	6,3	6,1	4,5	0,3	0,01
<i>Sag</i>	1,6	1,5	1,1	0,1	0,001	27,2	26,6	21,5	2,6	0,3
<i>Ef</i>	13,2	12,8	9,6	0,5	0,02	37,8	36,4	25,9	0,9	0,02
<i>SE</i>	25	23,9	16,4	0,4	0,01	26	25	17,7	0,6	0,01
<i>ST</i> ATCC 14028	9,8	9,8	9,7	8,7	7,7	25,3	24,3	17,2	0,5	0,01
<i>Pa</i>	13,7	13,2	9,5	0,4	0,01	21,7	21	15,7	0,8	0,03
<i>Pa</i> ATCC 10145	12,5	12,1	9,1	0,5	0,02	23,4	22,7	17,6	1,4	0,1
<i>Ec</i>	25	24,1	17,1	0,6	0,01	25,7	24,7	17,5	0,6	0,01
<i>Kp</i>	25,4	24,4	17,3	0,6	0,01	-				
<i>Al</i>	3,2	3,1	2,3	0,2	0,01	13,7	13,2	9,5	0,4	0,01

- - nije delovao

Prilog 4. Rezultati analize antibakterijskog dejstva antibiotika sprovedene dilucionom metodom

mg/ml	Streptomycin				
Bakterija	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80
<i>Sa</i>	4,61	4,3	2,32	0,005	0,00001
<i>Sa</i> ATCC 11632	8,1	8,03	7,48	3,65	1,65
<i>Re</i>	89,16	18,3	12,7	7,1	5,41
<i>Re</i> ATCC 6939	8,7	8,49	6,84	0,79	0,07
<i>Tp</i>	66,05	19,91	6	1,81	1,26
<i>Ah</i>	5,81	5,42	2,88	0,01	0,000005
<i>Sag</i>	11,11	10,98	9,88	3,43	1,06
<i>Ef</i>	12,16	11,85	9,4	0,93	0,07
SE	0,24	0,238	0,2	0,03	0,003
ST ATCC 14028	0,3	0,02	0,001	0,0001	0,00005
<i>Pa</i>	0,16	0,157	0,12	0,01	0,0003
<i>Pa</i> ATCC 10145	0,16	0,02	0,003	0,0003	0,0002
<i>Ec</i>	13,09	0,83	0,33	0,13	0,1
<i>Kp</i>	0,35	0,34	0,29	0,06	0,01
<i>Al</i>	0,058	0,055	0,03	0,0003	0,000002

Prilog 5. Rezultati analize antifungalnog dejstva ekstrakata, sokova i antimikotika sprovedene difuzionom metodom

Gljivica	Malina		mg/ml
	Ekstrakt	Sok	Nistatin
<i>Candida albicans</i>	-	-	1,08
<i>Candida albicans</i> ATCC 24433	70,16	-	0,69

- - nije delovao

Prilog 6. Rezultati analize antifungalnog dejstva ekstrakata, sokova i antimikotika sprovedene dilucionom metodom

Gljivica		<i>Candida albicans</i>					<i>Candida albicans</i> ATCC 24433				
mg/ml		Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80	Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80
K	E	28,57	28,54	28,29	25,71	22,86	22,47	22,08	18,82	3,82	0,65
	S	-					22,47	22,08	18,82	3,82	0,65
M	E	-					12,51	12,5	12,41	11,63	10,85
	S	-					17,41	17,39	17,26	16,03	14,77
T	E	22,57	22,18	18,96	3,94	0,69	15,75	15,39	12,5	1,57	0,16
	S	-					16,35	16,31	15,99	13,07	10,45
V	E	-					15,76	15,72	15,4	12,5	9,92
	S	-					16,35	16,31	15,99	13,07	10,45
A	E	-					19,85	19,58	17,29	4,98	1,25
	S	-					-				
Nistatin		0,29	0,28	0,19	0,0046	7,3E-05	0,13	0,12	0,06	9,25E-05	6,66E-08

- - nije delovao, K-kupina, M-malina, V-višnja, T-trešnja, A-aronija, s-sok, e-ekstrakt

Prilog 7. Rezultati analize antialgalnog dejstva ekstrakata, sokova i antimikotika sprovedene difuzionom metodom

mg/ml	Ke	Ks	Me	Ms	Te	Ts	Ve	Vs	Ae	As	Nistatin
Alga											
<i>Prototheca wickerhamii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,58
<i>Prototheca zopffii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09

- nije delovao, Ke- kupina ekstrakt, Ks-kupina sok, Me-malina ekstrakt, Ms-malina sok, Te-trešnja ekstrakt, Ts-trešnja sok, Ve-višnja ekstrakt, Vs-višnja sok, Ae-aronija ekstrakt, As-aronija sok

Prilog 8. Rezultati analize antialgalnog dejstva ekstrakata, sokova i antimikotika sprovedene dilucionom metodom

Alga		<i>Prototheca wickerhamii</i>					<i>Prototheca zopffii</i>				
mg/ml		Break point	MBC	MIC 99	MIC 90	MIC 80	Break point	MB C	MIC 99	MIC 90	MIC 80
K	E	12,93	12,89	12,51	9,3	6,69	10,4	10,38	10,25	9,05	7,88
	S	13,82	13,77	13,37	9,94	7,14	12,96	12,92	12,54	9,32	6,7
M	E	19,84	19,82	19,57	17,28	15,04	-				
	S	27,07	27,06	26,91	25,41	23,75	16,37	16,34	16,01	13,09	10,47
V	E	15,75	15,72	15,39	12,5	9,92	12,52	12,48	12,09	8,85	6,26
	S	19,84	19,82	19,57	17,28	15,04	16,37	16,33	16,01	13,09	10,47
T	E	-					16,36	16,33	16	13,09	10,47
	S	-					16,37	16,34	16,01	13,09	10,47
A	E	16,36	16,32	16	13,08	10,46	16,38	16,34	16,02	13,1	10,48
	S	-					-				
Nistatin		1,28	1,26	1,12	0,34	0,09	1,17	1,15	0,98	0,19	0,03

- nije delovao, K-kupina, M-malina, V-višnja, T-trešnja, A-aronija, s-sok, e-ekstrakt

Prilog 9. Rezultati analize antivirusnog i dejstva na MDBK ćelije ekstrakata i sokova

mg/ml			Toksično dejstvo na MDBK ćelije
Virusi	<i>Bovine herpesvirus 1</i>	<i>Bovine viral diarrhea virus</i>	
Kupina ekstrakt	7,815	12,5	50
Kupina sok	50	50	100
Malina ekstrakt	6,25	6,25	50
Malina sok	-	25	50
Trešnja ekstrakt	25	25	100
Trešnja sok	-	12,5	25
Višnja ekstrakt	6,25	12,5	25
Višnja sok	12,5	25	50
Aronija ekstrakt	12,5	12,5	25
Aronija sok	12,5	12,5	25

- nije delovao

Prilog 10. Poređenje antimikrobnog dejstva ekstrakata i sokova

	Kupina		Malina		Trešnja		Višnja		Aronija	
	dif	dil	dif	dil	dif	dil	dif	dil	dif	dil
<i>Sa</i>									-	
<i>Sa</i> ATCC 11632									-	
<i>Re</i>									-	
<i>Re</i> ATCC 6939									-	
<i>Tp</i>									-	
<i>Ah</i>									-	
<i>Sag</i>					-				-	
<i>Ef</i>					-				-	
SE									-	
ST ATCC 14028					-				-	
<i>Pa</i>									-	
<i>Pa</i> ATCC 10145									-	
<i>Ec</i>	-		-	-					-	
<i>Kp</i>	-		-		-				-	-
<i>Al</i>					-				-	
<i>Ca</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ca</i> ATCC	-		-		-		-		-	-
<i>Pw</i>	-		-		-		-		-	
<i>Pz</i>	-		-		-		-	*	-	
MDBK										
<i>BHV 1</i>										
<i>BVDV</i>										

dif-difuziona metoda, dil-diluciona metoda

	jače dejstvo ekstrakta
-	dejstvo ekstrakta, neaktivnost soka
*	jače dejstvo ekstrakta (Break point, MBC, MIC 99), jednako dejstvo ekstrakta i soka (MIC 90 i 80)
	jače dejstvo soka
-	dejstvo soka, neaktivnost ekstrakta
	jednako dejstvo ekstrakta i soka
-	neaktivnost ekstrakta i soka

Prilog 11. Srednje vrednosti rezultata analize antimikrobnog dejstva (antibakterijskog, antiungalnog i antialgalnog izvedenog dilucionom metodom i antivirusnog i dejstva na MDBK ćelije) ekstrakata i sokova

mg/ml	Ke	Ks	Me	Ms	Te	Ts
Mikroorganizmi						
<i>Sa</i>	2,01	3,42	3,65	13,31	7,32	13,31
<i>Sa</i> ATCC 11632	1	3,42	5,89	7,27	7,35	17,87
<i>Re</i>	1,74	1,74	7,08	3,58	7,32	19,15
<i>Re</i> ATCC 6939	1,74	3,42	3,95	7,33	13,3	18,62
<i>Tp</i>	1,74	6,83	5,8	8,12	17,04	16,12
<i>Ah</i>	1,02	1,75	5,7	13,49	7,48	19,78
<i>Sag</i>	7,26	7,57	3,18	13,29	3,42	13,38
<i>Ef</i>	3,42	7,33	5,69	3,42	13,3	15,02
SE	3,43	13,41	1,86	13,31	13,33	40,7
ST ATCC 14028	3,42	7,33	1,1	16,29	16,33	62,53
<i>Pa</i>	1,21	2,29	1,07	9,49	13,86	
<i>Pa</i> ATCC 10145	1,1	2,38	1,25	7,33	7,33	
<i>Ec</i>	7,32	20,52	2,1		7,34	14,43
<i>Kp</i>	3,47	7,46	0,71	31	14,32	42,07
<i>Al</i>	1,74	3,42	1,3	3,94	7,21	59,1
<i>Ca</i>	26,79				13,67	
<i>Ca</i> ATCC 24433	13,57	13,57	11,98	16,57	9,07	14,43
<i>Pw</i>	10,86	11,61		18,31	13,86	18,31
<i>Pz</i>	9,59	10,89	26,04	14,46	10,44	14,45
MDBK	50	100	50	50	100	25
BHV 1	7,815	50	6,25		25	
BVDV	12,5	50	6,25	25	25	12,5

Ks-kupina sok, Me-malina ekstrakt, Ms-malina sok, Te-trešnja ekstrakt, Ts-trešnja sok

	Najslabije dejstvo
	Izostanak dejstva
	Najjače dejstvo

Prilog 11. Srednje vrednosti rezultata analize antimikrobnog dejstva (antibakterijskog, antiungalnog i antialgalnog izvedenog dilucionom metodom i antivirusnog i dejstva na MDBK ćelije) ekstraktata, sokova, antibiotika i antimikotika -nastavak

mg/ml	Ve	Vs	Ae	As	Ab/Am
Mikroorganizmi					
<i>Sa</i>	6,85	5,81	1,74	14,63	2,25
<i>Sa</i> ATCC 11632	10,18	4,12	3,5	13,34	5,78
<i>Re</i>	3,11	6,62	1,95	14,79	26,53
<i>Re</i> ATCC 6939	5,84	9,76	1,81	14,56	4,98
<i>Tp</i>	8,67	9,82	13,09	14,89	19
<i>Ah</i>	2,05	8,95	3,42	3,42	2,82
<i>Sag</i>	2,91	7,79	0,85	15,63	7,29
<i>Ef</i>	6,34	15	7,23	20,17	6,88
SE	4,08	11,18	13,14	13,85	0,14
ST ATCC 14028	11,11	13,53	9,13	13,46	0,06
<i>Pa</i>	6,99	6,93	7,34	11,85	0,08
<i>Pa</i> ATCC 10145	5,22	9,26	6,84	13,02	0,04
<i>Ec</i>	4,39	7,34	13,35	13,69	2,89
<i>Kp</i>	8,09	9,14	13,52		0,21
<i>Al</i>	4,08	8,22	1,74	7,33	0,03
<i>Ca</i>					0,15
<i>Ca</i> ATCC 24433	13,86	14,43	12,59		0,06
<i>Pw</i>			14,44		0,82
<i>Pz</i>	14,45	14,46	14,46		0,705
MDBK	25	50	25	25	Nije testirano
BHV 1	6,25	12,5	12,5	12,5	Nije testirano
BVDV	12,5	25	12,5	12,5	Nije testirano

Ve-višnja ekstrakt, Vs-višnja sok, Ae-aronija ekstrakt, As-aronija sok, Ab/Am-antibiotik, antimikotik

	Najslabije dejstvo
	Izostanak dejstva
	Najjače dejstvo

Prilog 12. Rezultati regresione analize

<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 11632		<i>Rhodococcus equi</i>	
Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)
Katehin	0,347627	Katehin	0,427819	Galna kiselina	0,386703
p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,219453	Galna kiselina	0,399344	Kumarinska kiselina	0,331555
Protokatehinska kiselina	0,18813	Kumarinska kiselina	0,315073	Kvercetin	0,316404
Miricetin	0,15729	Protokatehinska kiselina	0,195438	Ukupni antocijani	0,289824
Galna kiselina	0,141754	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,170927	Katehin	0,282508
Kumarinska kiselina	0,138974	Miricetin	0,087471	Miricetin	0,218779
Rutin	0,112516	Ukupni antocijani	0,083036	Rutin	0,204871
Epikatehin	0,092387	Krisin	0,0777	Krisin	0,126238
Ukupni antocijani	0,085703	Kvercetin	0,07742	Protokatehinska kiselina	0,122783
Kvercetin	0,084513	Kempferol	0,048986	Luteolin	0,053491
Vanilinska kiselina	0,063584	Sinapinska kiselina	0,036322	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,05028
Kafena kiselina	0,062831	Luteolin	0,035937	Sinapinska kiselina	0,045721
Vitamin C	0,058908	Izoramnetin	0,032517	Izoramnetin	0,045237
Elaginska kiselina	0,034235	Vitamin C	0,02653	Gentisinska kiselina	0,043834
Ferulna kiselina	0,031076	Vanilinska kiselina	0,02365	Epikatehin	0,036193
Gentisinska kiselina	0,014626	Epikatehin	0,016948	Hlorogenska kiselina	0,002935
Siringinska kiselina	0,01388	Ferulna kiselina	0,014534	Vitamin C	0,023181
Izoramnetin	0,002913	Hlorogenska kiselina	0,012761	Kempferol	0,014028
Hlorogenska kiselina	0,001192	Gentisinska kiselina	0,010225	Kafena kiselina	0,00234
Sinapinska kiselina	0,000646	Elaginska kiselina	0,01006	Siringinska kiselina	0,001584
Krisin	0,000188	Rutin	0,008428	Ferulna kiselina	0,001433
Luteolin	6,49E-05	Kafena kiselina	0,005837	Elaginska kiselina	0,000808
Kempferol	6,45E-06	Siringinska kiselina	0,003513	Vanilinska kiselina	1,19E-06

R²-koeficijent determinacije

Prilog 12. Rezultati regresione analize-nastavak

<i>Rhodococcus equi</i> ATCC 6939		<i>Trueperella pyogenes</i>		<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	
Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)
Kumarinska kiselina	0,540069	Galna kiselina	0,690908	Kumarinska kiselina	0,514348
p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,505355	Ukupni antocijani	0,682875	Ferulna kiselina	0,31554
Katehin	0,497178	Protokatehinska kiselina	0,639318	Ukupni antocijani	0,028625
Galna kiselina	0,45493	Katehin	0,451546	Miricetin	0,277899
Ukupni antocijani	0,434447	Miricetin	0,40808	Vitamin C	0,267893
Kvercetin	0,433463	Kumarinska kiselina	0,267692	Katehin	0,262421
Miricetin	0,309059	Vanilinska kiselina	0,241721	Rutin	0,225252
Protokatehinska kiselina	0,300665	Elaginska kiselina	0,194246	Epikatehin	0,153639
Rutin	0,210862	Kvercetin	0,134318	Vanilinska kiselina	0,129249
Ferulna kiselina	0,095081	Siringinska kiselina	0,120175	Protokatehinska kiselina	0,108174
Hlorogenska kiselina	0,011875	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,080649	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,080649
Kafena kiselina	0,047539	Kafena kiselina	0,072731	Izoramnetin	0,078958
Vanilinska kiselina	0,039491	Krisin	0,058933	Sinapinska kiselina	0,074398
Siringinska kiselina	0,027893	Kempferol	0,053941	Siringinska kiselina	0,07331
Elaginska kiselina	0,026746	Rutin	0,044634	Krisin	0,061527
Izoramnetin	0,025703	Gentisinska kiselina	0,043176	Luteolin	0,058284
Krisin	0,025112	Vitamin C	0,036029	Galna kiselina	0,05364
Luteolin	0,019924	Izoramnetin	0,020973	Kempferol	0,052663
Sinapinska kiselina	0,017471	Luteolin	0,016522	Kvercetin	0,041733
Gentisinska kiselina	0,008563	Epikatehin	0,01287	Elaginska kiselina	0,041697
Epikatehin	0,002152	Ferulna kiselina	0,012325	Kafena kiselina	0,003766
Kempferol	0,0014	Sinapinska kiselina	0,011954	Gentisinska kiselina	0,000222
Vitamin C	0,000885	Hlorogenska kiselina	0,000315	Hlorogenska kiselina	4,71E-05

Prilog 12. Rezultati regresione analize-nastavak

<i>Streptococcus agalactiae</i>		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Salmonella Enteritidis</i>	
Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)
Rutin	0,30659	Ukupni antocijani	0,719443	Krisin	0,474632
Kvercetin	0,209334	Kvercetin	0,548855	Kumarinska kiselina	0,472972
Izoramnetin	0,124505	Protokatehinska kiselina	0,386283	Galna kiselina	0,321198
Miricetin	0,107527	Galna kiselina	0,35847	Protokatehinska kiselina	0,316709
Kafena kiselina	0,102413	Miricetin	0,341331	Miricetin	0,313174
Sinapinska kiselina	0,10087	Katehin	0,337095	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,253866
Luteolin	0,084595	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,244033	Ukupni antocijani	0,234268
Epikatehin	0,075863	Elaginska kiselina	0,225651	Ferulna kiselina	0,184585
p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,054999	Kumarinska kiselina	0,203285	Kvercetin	0,183181
Hlorogenska kiselina	0,054779	Rutin	0,178685	Rutin	0,160764
Protokatehinska kiselina	0,041021	Vitamin C	0,137244	Katehin	0,150959
Krisin	0,040402	Luteolin	0,059523	Gentisinska kiselina	0,147615
Vitamin C	0,036377	Izoramnetin	0,054417	Kafena kiselina	0,123271
Kumarinska kiselina	0,034283	Gentisinska kiselina	0,047682	Izoramnetin	0,104644
Katehin	0,032691	Sinapinska kiselina	0,041929	Vanilinska kiselina	0,1031
Siringinska kiselina	0,028752	Kafena kiselina	0,037842	Luteolin	0,083731
Gentisinska kiselina	0,028284	Siringinska kiselina	0,025257	Sinapinska kiselina	0,079712
Ferulna kiselina	0,014593	Krisin	0,020443	Elaginska kiselina	0,075934
Galna kiselina	0,008345	Hlorogenska kiselina	0,017174	Kempferol	0,053277
Elaginska kiselina	0,008141	Epikatehin	0,013646	Hlorogenska kiselina	0,012461
Ukupni antocijani	0,003631	Ferulna kiselina	0,005684	Vitamin C	0,011246
Vanilinska kiselina	0,000665	Vanilinska kiselina	0,000523	Epikatehin	0,003953
Kempferol	0,000452	Kempferol	6,48E-05	Siringinska kiselina	0,000614

Prilog 12. Rezultati regresione analize-nastavak

<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	
Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)
Kumarinska kiselina	0,661033	Kumarinska kiselina	0,591117	Kumarinska kiselina	0,561207
Krisin	0,338966	Krisin	0,426161	Krisin	0,449997
Galna kiselina	0,297682	Galna kiselina	0,308249	Galna kiselina	0,264837
Ferulna kiselina	0,215052	Ferulna kiselina	0,149769	Ukupni antocijani	0,143622
Katehin	0,208422	Ukupni antocijani	0,146589	Kvercetin	0,13784
Ukupni antocijani	0,190061	Katehin	0,13557	Ferulna kiselina	0,122966
Protokatehinska kiselina	0,189022	Kvercetin	0,134141	Katehin	0,122929
p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,160704	Protokatehinska kiselina	0,106462	Miricetin	0,103999
Kvercetin	0,15209	Miricetin	0,105643	Protokatehinska kiselina	0,099712
Miricetin	0,151529	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,072938	Rutin	0,067769
Kafena kiselina	0,078881	Rutin	0,063771	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,065099
Rutin	0,073186	Gentisinska kiselina	0,054283	Gentisinska kiselina	0,05517
Vanilinska kiselina	0,037125	Kempferol	0,050694	Vitamin C	0,043374
Gentisinska kiselina	0,029374	Vitamin C	0,042339	Kempferol	0,038109
Vitamin C	0,026292	Kafena kiselina	0,028784	Kafena kiselina	0,024521
Kempferol	0,024195	Epikatehin	0,02499	Epikatehin	0,024312
Siringinska kiselina	0,019117	Izoramnetin	0,016336	Izoramnetin	0,019111
Elaginska kiselina	0,014839	Siringinska kiselina	0,014472	Luteolin	0,017186
Izoramnetin	0,014467	Luteolin	0,013952	Sinapinska kiselina	0,014181
Luteolin	0,008394	Vanilinska kiselina	0,012339	Siringinska kiselina	0,011392
Sinapinska kiselina	0,007641	Sinapinska kiselina	0,011538	Elaginska kiselina	0,007018
Hlorogenska kiselina	0,005887	Elaginska kiselina	0,007202	Vanilinska kiselina	0,004575
Epikatehin	0,00048	Hlorogenska kiselina	0,000196	Hlorogenska kiselina	0,000434

Prilog 12. Rezultati regresione analize-nastavak

<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Acinetobacter lwoffii</i>	
Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)
Epikatehin	0,493112	Galna kiselina	0,208945	Kumarinska kiselina	0,627893
Vitamin C	0,26994	Protokatehinska kiselina	0,160886	Krisin	0,404037
Vanilinska kiselina	0,229008	Ukupni antocijani	0,153136	Galna kiselina	0,265179
Ukupni antocijani	0,193996	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,152846	Kvercetin	0,18243
Elaginska kiselina	0,162491	Kvercetin	0,13349	Ferulna kiselina	0,164201
Kvercetin	0,114248	Miricetin	0,11126	Ukupni antocijani	0,15962
Galna kiselina	0,104278	Ferulna kiselina	0,108307	Katehin	0,140904
Ferulna kiselina	0,101554	Siringinska kiselina	0,102233	Miricetin	0,11166
Hlorogenska kiselina	0,085041	Rutin	0,091177	Protokatehinska kiselina	0,100778
Kafena kiselina	0,064103	Katehin	0,088238	Rutin	0,082035
p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,057364	Hlorogenska kiselina	0,064988	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,063992
Rutin	0,048236	Kafena kiselina	0,061064	Gentisinska kiselina	0,050017
Izoramnetin	0,040718	Kempferol	0,059934	Siringinska kiselina	0,030645
Miricetin	0,03765	Izoramnetin	0,042055	Vitamin C	0,030204
Kempferol	0,036242	Gentisinska kiselina	0,040842	Kempferol	0,028576
Sinapinska kiselina	0,031617	Krisin	0,037964	Kafena kiselina	0,026142
Krisin	0,025634	Sinapinska kiselina	0,030584	Epikatehin	0,020857
Kumarinska kiselina	0,023189	Luteolin	0,029797	Izoramnetin	0,018142
Gentisinska kiselina	0,020707	Elaginska kiselina	0,013722	Luteolin	0,016665
Protokatehinska kiselina	0,010512	Vitamin C	0,001224	Sinapinska kiselina	0,013219
Luteolin	0,0095	Epikatehin	0,004246	Elaginska kiselina	0,009632
Siringinska kiselina	0,009064	Vanilinska kiselina	0,000305	Vanilinska kiselina	0,004086
Katehin	0,001458	Kumarinska kiselina	1,95E-05	Hlorogenska kiselina	0,003305

Prilog 12. Rezultati regresione analize-nastavak

<i>Candida albicans</i>		<i>Candida albicans</i> ATCC 24433	
Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)
Kvercetin	0,125005	Ferulna kiselina	0,326608
Protokatehinska kiselina	0,124268	Siringinska kiselina	0,125657
Katehin	0,112997	Kvercetin	0,101214
Gentisinska kiselina	0,108226	Ukupni antocijani	0,093029
Vitamin C	0,10711	Galna kiselina	0,076732
Kempferol	0,106134	Kumarinska kiselina	0,073794
p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,105365	Protokatehinska kiselina	0,047854
Galna kiselina	0,092309	Hlorogenska kiselina	0,047118
Elaginska kiselina	0,072893	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,040816
Miricetin	0,070113	Kempferol	0,036597
Siringinska kiselina	0,054418	Rutin	0,035768
Epikatehin	0,041897	Vanilinska kiselina	0,035428
Kafena kiselina	0,03573	Vitamin C	0,031991
Ferulna kiselina	0,0346	Epikatehin	0,024556
Izoramnetin	0,034398	Miricetin	0,023612
Luteolin	0,03407	Katehin	0,017668
Sinapinska kiselina	0,027545	Izoramnetin	0,014192
Vanilinska kiselina	0,026152	Elaginska kiselina	0,013343
Hlorogenska kiselina	0,023572	Luteolin	0,012838
Kumarinska kiselina	0,017182	Kafena kiselina	0,011955
Ukupni antocijani	0,016066	Sinapinska kiselina	0,01086
Krisin	0,01433	Gentisinska kiselina	0,020015
Rutin	0,010414	Krisin	0,000108

Prilog 12. Rezultati regresione analize-nastavak

<i>Prototheca wickerhamii</i>		<i>Prototheca zopfii</i>	
Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)
Gentisinska kiselina	0,390023	Ferulna kiselina	0,391979
Hlorogenska kiselina	0,275647	Siringinska kiselina	0,130038
Krisin	0,270958	Kumarinska kiselina	0,089463
Kempferol	0,26135	Ukupni antocijani	0,085534
Kafena kiselina	0,215825	Galna kiselina	0,074712
Izorametin	0,207529	Kvercetin	0,065811
Ferulna kiselina	0,195641	Hlorogenska kiselina	0,053775
Katehin	0,179724	Epikatehin	0,039061
Sinapinska kiselina	0,166183	Rutin	0,036378
Luteolin	0,157552	Protokatehinska kiselina	0,031558
Vanilinska kiselina	0,12516	Vanilinska kiselina	0,030997
Elaginska kiselina	0,097625	Miricetin	0,029983
Ukupni antocijani	0,051221	Katehin	0,029971
Galna kiselina	0,047214	Kempferol	0,024392
Rutin	0,037865	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,016101
p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,006979	Vitamin C	0,007198
Miricetin	0,006927	Luteolin	0,013923
Kumarinska kiselina	0,005883	Sinapinska kiselina	0,011755
Siringinska kiselina	0,004169	Gentisinska kiselina	0,011694
Epikatehin	0,010129	Izorametin	0,010954
Kvercetin	0,000854	Kafena kiselina	0,003949
Protokatehinska kiselina	0,000638	Krisin	0,001515
Vitamin C	0,000157	Elaginska kiselina	0,000363

Prilog 12. Rezultati regresione analize-nastavak

Toksičnost na MDBK ćelije		<i>Bovine herpesvirus 1</i>		<i>Bovine viral diarrhea virus</i>	
Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)	Supstanca	R ² (%)
Ferulna kiselina	0,31560	Ferulna kiselina	0,43043	Ferulna kiselina	0,33674
Vanilinska kiselina	0,18299	Vanilinska kiselina	0,27173	Vanilinska kiselina	0,23580
Siringinska kiselina	0,18293	Vitamin C	0,23137	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,16486
Rutin	0,16231	Miricetin	0,18542	Miricetin	0,16395
Luteolin	0,09406	Rutin	0,16722	Kafena kiselina	0,15882
Izoramnetin	0,09375	Kumarinska kiselina	0,16712	Protokatehinska kiselina	0,14882
Sinapinska kiselina	0,09259	Epikatehin	0,12766	Elaginska kiselina	0,10648
Miricetin	0,08910	p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,12709	Vitamin C	0,10034
Kvercetin	0,08854	Krisin	0,11674	Rutin	0,09934
Krisin	0,08527	Protokatehinska kiselina	0,09714	Siringinska kiselina	0,07198
Gentisinska kiselina	0,07352	Kafena kiselina	0,08698	Kvercetin	0,06298
Hlorogenska kiselina	0,05438	Izoramnetin	0,08011	Izoramnetin	0,05411
Vitamin C	0,04611	Siringinska kiselina	0,07490	Epikatehin	0,05109
Elaginska kiselina	0,03144	Hlorogenska kiselina	0,06579	Sinapinska kiselina	0,03643
Kempferol	0,00313	Sinapinska kiselina	0,06415	Luteolin	0,03428
Ukupni antocijani	0,00236	Katehin	0,06232	Gentisinska kiselina	0,03198
Protokatehinska kiselina	0,00222	Luteolin	0,04217	Galna kiselina	0,02657
Kafena kiselina	0,00160	Elaginska kiselina	0,04047	Ukupni antocijani	0,00803
Katehin	0,00139	Gentisinska kiselina	0,01697	Hlorogenska kiselina	0,00687
Epikatehin	0,00026	Galna kiselina	0,01256	Krisin	0,00500
Kumarinska kiselina	0,00024	Ukupni antocijani	0,00634	Kempferol	0,00196
Galna kiselina	0,00010	Kvercetin	0,00331	Katehin	0,00179
p-Hidroksibenzoeva kiselina	0,00001	Kempferol	0,00256	Kumarinska kiselina	0,00074