

## МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ  
кандидата Тамаре Крстић

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
<p>Датум и орган који је именовано комисију 27.12.2017. године, Наставно-научно веће Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду</p> <p>Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li><b>Проф. др Ружица Игић</b>, редовни професор, Ботаника, 01.01.2005. године, Природно-математички факултет Универзитета у Новом Саду, председник.</li> <li><b>Проф. др Ивана Хрњаковић-Цвјетковић</b>, редовни професор, Микробиологија са паразитологијом и имунологијом, 27.01.2017. године, Медицински факултет Универзитета у Новом Саду, члан.</li> <li><b>Доц. др Ана Пилиповић</b>, доцент, Фармација, 17.04.2014. године, Медицински факултет Универзитета у Новом Саду, члан.</li> </ol>
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>Име, име једног родитеља, презиме: Тамара (Љиљана) Крстић</li> <li>Датум рођења, општина, држава: 12.01.1987. године, Нови Сад, Србија</li> <li>Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Медицински факултет Универзитета у Новом Саду, интегрисане академске студије фармације, дипломирани фармацеут-магистар фармације</li> <li>Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2011. година, Докторске академске студије клиничке медицине</li> <li>Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: /</li> <li>Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: /</li> </ol>
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b> Антимикробно дејство цеђених сокова и екстраката плодова одабраног воћа породице <i>Rosaceae</i>
<b>IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b> У докторској дисертацији Тамаре Крстић описано је присуство и антимикробно дејство витамина Ц и полифенолних супстанци, у соковима и екстрактима одабраног воћа из породице <i>Rosaceae</i> , као и антибактеријско, антифунгално, антиалгално и антивирусно дејство сокова и екстраката на испитиване микроорганизме. Докторска дисертација Тамаре Крстић је написана систематично, јасним и разумљивим стилем на 221 страници. Садржи све неопходне делове оригиналног научног рада који су организовани у 7 поглавља: Увод, Хипотезе и циљеви истраживања, Материјали и методе, Резултати и дискусија, Закључак, Литература и Прилог.

Дисертација садржи 3 слике, 144 графикана, 2 табеле, 1 схему и 12 прилога од чега је прилог 2. 20 хроматограма, а остали прилози 11 табела. Литература са 208 референци пружа увид у сазнања о испитиваној области и у складу је са важећим правилима за цитирање. На почетку докторске дисертације дата је кључна документација са изводом на српском и енглеском језику.

## **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

На почетку докторске дисертације представљени су **Апстракти** на српском и енглеском језику, који укратко описују узроке, ток и резултате истраживања. После њих се налази **Садржај** који даје преглед основних целина дисертације (поглавља и потпоглавља) ради брзе претраге дисертације и јасног прегледа свих делова тезе. **Наслов** докторске дисертације је јасно и прецизно формулисан, у складу са садржајем истраживања.

Комисија сматра да су апстракти, садржај и наслов дисертације задовољавајући и у складу са остатком дисертације.

Поглавље **Увод** је написано у два дела: првог, кратког увода у којем је описан предмет истраживања дисертације, и другог, општег дела у којем су описани општи подаци о: микробној резистенцији, микроорганизмима, биљкама и биолошки активним материјама релевантним за спроведено истраживање. У кратком уводу докторске дисертације кандидат најпре указује на опасности коју резистенција микроорганизама на конвенционалне антимикуробне лекове може да изазове и неопходност проналажења нових ефикасних антимикуробних супстанци. Након тога се говори о начину на који је одабрано воће, део биљке и начин обраде плодова за истраживање. Општи део је подељен на четири претходно наведена потпоглавља. У првом су дати општи подаци и актуелна сазнања о резистенцији испитиваних микроорганизама на антимикуробне лекове. У другом су описана својства тих микроорганизама, набројане болести које они могу изазвати и наведени начини превенције и лечења инфекција истима. Треће потпоглавље садржи описе породице *Rosaceae*, родова којима одабране врсте припадају и описе врста биљака које су одабране за истраживање. Дато је њихова географска распрострањеност као и лековито деловање на хумани и животињски организам. Потпоглавље о биоактивним материјама садржи опште податке, сазнања о антимикуробној активности и механизмима дејства на микроорганизме полиенола и витамина Ц.

Комисија сматра да увод пружа савремен и свеобухватан приказ проблематике којом се истраживање бави. Указано је на уочени проблем и на детаље који још нису разјашњени. Дефинисано је подручје истраживања и прецизно су објашњени разлози истраживања.

У поглављу **Хипотезе и циљеви истраживања** јасно су дефинисани основни задаци и циљеви истраживања. Генерална поставка и циљ доктората је био да се детаљно утврди антимикуробно дејство сокова и екстраката плодова одабраног воћа. Стога су специфични циљеви истраживања били да се испита присуство витамина Ц и полифенолних супстанци, за које је литературно познато да испољавају антимикуробно дејство, у соковима и екстрактима, као и антибактеријско, антифунгално, антиалгално и антивирусно дејство сокова и екстраката на испитиване микроорганизме. Хипотезе су јасно формулисане у односу на постављене циљеве истраживања, логичне и засноване на добро аргументованим основама.

Комисија сматра да су циљеви истраживања јасно и прецизно дефинисани, а хипотезе постављене адекватно у односу на циљеве истраживања, те у потпуности усклађени са формулацијама наведеним у пријави теме докторске дисертације.

**Материјали и методе** одговарају принципима методологије научно-истраживачког рада и принципима добре лабораторијске праксе. Методологија је јасно и прецизно описана у раду. У делу **Материјали** су дати подаци: под којима су биљке заведене у Хербаријуму Департмана за биологију и екологију Природно математичког факултета у Новом Саду (ваучер примерци), затим,

одакле су изоловани аутохтони сојеви и где су набављени референтни сојеви микроорганизама, као и које контроле и подлоге су кориштене у истраживањима. Експериментални део (**Методe**) је подељен у три основна потпоглавља: припрема сокова и екстраката, анализа хемијског састава, анализа антимикробног дејства и статистичка обрада података. Припрема сокова и екстраката даје увид у начин цеђења сокова из плодова, као и броја и начина екстракције тропова. У оквиру хемијске анализе детаљно је описан поступак одређивања садржаја и количине витамина Ц, у једном делу и полифенолних једињења, у другом делу. Због сличности у начинима испитивања, одређивање антибактеријског, антифунгалног и антиалгалног дејства, они су заједно описани, док је испитивање антивирусног дејства описано у другом делу потпоглавља под називом Антимикробно дејство. Одређивање антибактеријског, антифунгалног и антиалгалног дејства је спроведено двома методама, дифузионом и микродилуционом, које су засебно и описане. На крају поглавља Методе је описана статистичка обрада података сваке од спроведених анализа.

Комисија сматра да су примењене методе истраживања описане јасно и детаљно чиме се у потпуности омогућава поновљивост експеримената. Изабране методе статистичке обраде података су у потпуности адекватне и примерене истраживачком задатку. Комисија сматра да је избор коришћених метода испитивања адекватан, што обезбеђује добијање поузданих резултата у складу са постављеним циљевима дисертације.

**Резултати и дискусија** су ради веће прегледности и једноставности објашњења обједињени. Основна подела овог поглавља је извршена на два потпоглавља: Хемијски састав и Антимикробно дејство. Резултати и дискусија су у оквирима Хемијског састава и Антимикробног дејства су приказани за сваку од биљака посебно, а затим подељени у више адекватних подцелина, ради лакше разумљивости. На крају потпоглавља Антимикробно дејство је, у посебном делу названом Хемијске супстанце одговорне за антимикробно дејство, дат увид у статистички утврђену повезаност хемијских једињења са антимикробним својствима, као и претпостављени механизми антимикробног дејства тих супстанци на основу литературних података. **Резултати** добијени у оквиру ове дисертације дају оригиналан увид у садржај витамина Ц и испитиваних полиенолних једињења у соковима и екстрактима одабраног воћа, као и допринос сазнањима о њиховом антибактеријском, антифунгалном, антиалгалном и антивирусном дејству. Доказано је да сви екстракти и сокови садржали полифенолна једињења и витамин Ц. Највећу укупну количину испитиваних материја имао је екстракт купине (3965,56 mg/ ml), а најмању екстракт трешње (161,44 mg/ ml). екстракти и сокови одабраног воћа породице *Rosaceae* имају антибактеријско, антифунгално, антиалгално и/или антивирусно дејство. Против највећег броја микроорганизама најделотворнији је био екстракт купине, а неактиван или најслабије активан (активан у највећој концентрацији) сок трешње. Просечне вредности антимикробног и дејства на MDBK ћелије су биле у опсегу од 0,71 mg/ ml до 100 mg/ ml. На основу поређења средњих вредности резултата антимикробног испитивања спроведеног дилуционом методом, уочено је да су сокови и екстракти имали супериорније антибактеријско дејство на одређене бактерије у односу на Стрептомицин. Међутим, екстракти и сокови нису имали јаче антимикробно дејство у односу на Нистатин ни на једну од испитиваних алги и гљивица. Резултати су уверљиво, прегледно и стручно приказани графички. Сви графички прикази демонстрирају јасна текстуална тумачења, којима су праћени. Све тврдње произлазе из примењених експерименталних поступака уз коришћење адекватних статистичких метода. **Дискусија** је свеобухватна и јасно написана, објективно анализира приказане резултате, по редоследу који је логичан, тако да представља хармоничну целину. Кандидат аргументовано и критички анализира резултате истраживања и упоређује их са релевантним наводима из литературе. Литературни подаци су адекватно одабрани, актуелни и релевантни за извођење валидних закључака из проучаване проблематике. Коментари и тумачења резултата су логични. Дискусија добијених резултата је исцрпна, научно утемељена, те указује на завидно познавање проучаване проблематике уз критички осврт у односу на актуелну литературу.

Комисија сматра да су резултати и дискусија у овој дисертацији приказани на систематичан и прегледан начин, логичним редоследом и да су свеобухватни и јасни за интерпретацију. Опис добијених резултата је исцрпан, правилно и критички постављен, а такође су прецизно истакнуте сличности и разлике између резултата добијених у оквиру дисертације и резултата из литературе.

У поглављу **Закључак** су ради исправности тумачења, засебно приказани закључци о: хемијском садржају витамина Ц и испитиваних полифенола, антибактеријском, антифунгалном, антиалгалном и антивирусном дејству. Јасни, концизни, научно засновани и поуздани закључци су изведени на основу добијених резултата и спроведене дискусије. Закључивање је извршено реално, логично и свеобухватно.

Комисија сматра да закључци произлазе из постављених циљева, примењене методологије и резултата и дискусије истраживања.

Поглавље **Литература** садржи списак 208 литературних навода цитираних по Ванкуверским правилима на прописан начин. Избор референци је актуелан и примерен тематици која је предмет ове дисертације.

**Комисија позитивно оцењује све делове докторске дисертације.**

## **VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

1. **Krstić T**, Suvajdžić Lj, Stojanović S, Crvenković-Lozanov Z, Damjanović J, Čabarkapa I. et al. Antimicrobial Activity of Sour Cherry. *Agro Food Industry Hi-Tech*. 2015;27(1):56-8. **M23**
2. Suvajdžić 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. **M23**
3. **Krstić T**, Suvajdžić Lj, Stojanović S, Milanov D, Velhner M, Bojić G et al. Different antimicrobial effect of raspberry depending on the method of active components isolation. *Food and Feed research*. 2014; 41(2):125–30. **M51**
4. **Krstić T**, Suvajdžić Lj, Stojanović S, Petrović T, Bekut M, Ilić N, et al. Antimicrobial activity of blackberry juice from Serbia on animal pathogens. In: Petrović T, editor. *One Health- New Challenges: Proceedings of First International Symposium of Veterinary Medicine ISVM2015*; 2015 May 21-23; Vrdnik, Srbija. Novi Sad: Scientific Veterinary Institute Novi Sad; 2015. pp. 462–7. **M33**
5. **Krstić T**. Is polar or nonpolar material of raspberry fruit antimicrobly effective. In: Ristić G, editor. *Book of abstracts of 2nd International Conference on Radiation and Dosimetry in Various Fields of Research*; 2014 May 28-31; Niš, Srbija. Niš: Unversity of Niš, Faculty of Electronic Engineering; 2014. p. 38. **M34**

## **VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА**

У оквиру докторске дисертације под називом „Антимикробно дејство цеђених сокова и екстраката плодова одабраног воћа породице *Rosaceae*“ изведена је анализа хемијског састава екстраката и сокова плодова одабраног воћа у оквиру које су квалитативно и квантитативно одређене двадесет и три компоненте и антимикробна анализа антибактеријског, антифунгалног, антиалгалног и антивирусног дејства екстраката и сокова плодова одабраног воћа на укупно двадесет и један микроорганизам.

Хемијски садржај

Већа количина испитиваних супстанци се налазила у екстрактима свих испитиваних биљака, осим трешње, код које се већа количина испитиваних супстанци налазила у соку. Укупни антоцијани, катехин, протокатехинска, п-хидроксибензоева и хлорогенска киселина су у највећој мери били присутни у екстрактима. Укупни антоцијани, катехин, хлорогенска киселина, епикатехин и кемпферол (који је присутан само у малини и вишњи) су били најзаступљенији међу соковима. Само су антоцијани, катехин, гална киселина и витамин Ц били присутни у свим испитиваним соковима и екстрактима.

#### Антимикробно дејство

Као погоднија метода за испитивање антимикробне (антибактеријске, антифунгалне и антиалгалне) активности се показала дилуциона, јер се у њој супстанце слободно крећу кроз течни медијум и у потпуности долазе у контакт са тестираним микроорганизмима.

#### Антибактеријско дејство

Све испитиване супстанце су показале антибактеријску активност у испитиваним концентрацијама на испитиване бактерије, осим сока малине на *Escherichia -у coli* и сока ароније на *Klebsiella-у pneumoniae*.

Екстракти су боље деловали у већини случајева, осим вишње на оба соја *Staphylococcus aureus-a*, *Salmonella-e* Typhimurium ATCC 14028 и аутоктоног соја *Pseudomonas aeruginosa-e*, трешње на референтни сој *Rhodococcus-a equi* и *Trueperella-у pyogenes* и малине на аутохтони сој *Rhodococcus-a equi*, чији су сокови боље деловали у односу на екстракт. Једнако дејство сока и екстракта уочено је само код купине на *Rhodococcus equi* ATCC 6939 и ароније на *Arcanobacterium haemolyticum*.

На основу регресионе анализе може се претпоставити да су са антибактеријским дејством у највећој мери повезани: кумаринска киселина (са *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Arcanobacterium haemolyticum* -ом, *Salmonella*-ом Typhimurium ATCC 14028, оба соја *Pseudomonas aeruginosa-e* и *Acinetobacter*-ом *lwoffii*), гална киселина (са *Rhodococcus*-ом *equi*, *Trueperella*-ом *pyogenes* и *Klebsiella*-ом *pneumoniae*), катехин (са оба соја *Staphylococcus aureus-a*), епикатехин (са *Escherichia*-ом *coli*), рутин (са *Streptococcus*-ом *agalactiae*) и антоцијани (са *Enterococcus*-ом *faecalis*), механизмима дејстава који вероватно укључују оштећење спољашње мембране бактеријске ћелије.

#### Антифунгално дејство

Све испитиване супстанце су показале антифунгалну активност на *Candida-у albicans* ATCC 24433, осим сока ароније, док су на аутохтони сој *Candida-e albicans* деловали само екстракти купине и трешње.

Екстракти су боље деловали у већини случајева, осим купине на *Candida-у albicans* ATCC 24433, у којем је дејство сока било једнако са дејством екстракта.

На основу регресионе анализе може се претпоставити да су са антифунгалним дејством у највећој мери повезани: кверцетин (са аутохтоним сојем) и ферулна киселина (са референтним сојем) још неутврђеним механизмима дејстава.

#### Антиалгално дејство

Све испитиване супстанце су показале антиалгалну активност, осим екстракта и сока вишње и сока малине који нису деловали на *Prototheca-у wickerhamii* и сока ароније који у испитиваним концентрацијама није деловао антиалгално ни на једну од испитиваних *Prototheca*.

Екстракти су боље деловали у већини случајева, осим малине код које је, у оба случаја, боље деловао сок. Занимљиво је да је MIC 80 купине на *Prototheca-у zopfii* мањи за сок него за екстракт и да су MIC-е 80 и 90 вишње на исту алгу једнаки за сокове и екстракте.

На основу регресионе анализе може се претпоставити да је са антиалгалним дејством на *Prototheca-у wickerhamii* у највећој мери повезана гентисинска киселина, а на *Prototheca-у zopfii* и ферулна киселина. Још увек нису утврђени механизми антиалгалноих дејстава ових супстанци на испитиване *Prototheca-e*.

#### Антивирусно дејство

Све испитиване супстанце су показале антивирусну активност на *Bovine herpesvirus 1* и *Bovine viral diarrhea virus*, осим сокова малине и трешње, који су били неактивни против *Bovine herpesvirus-a*.

Екстракти су боље деловали у већини случајева, осим трешње против *Bovine viral diarrhea virus-a*, против којег је јаче деловао сок. У потпуности једнако деловање сока и екстракта је уочено код ароније против оба вируса.

На основу регресионе анализе може се претпоставити да је са антивирусним дејством на *Bovine herpesvirus 1* и *Bovine viral diarrhea virus 1* у највећој мери повезана ферулна киселина, још увек

<p>неутврђеним начином дејства.</p> <p>Испитивано воће је потврдило претпостављени хемијски састав и антимикробну активност. Сазнања добијена овом дисертацијом проширују обим знања о антимикробном дејству воћа и представљају основу за сврсисходнију примену воћа како у исхрани тако и у терапији. <b>Комисија сматра да су Закључци формулисани у дисертацији логично изведени из добијених резултата и јасно одражавају значај и научни допринос спроведеног истраживања.</b></p>
<p><b>VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА</b></p> <p>Кандидат Тамара Крстић је показала систематичан научно-истраживачки приступ анализи великог броја добијених резултата. Резултати истраживања у односу на постављене циљеве приказани су систематично, детаљно су обрађени и критички продискутовани. Графички прикази и табеле доприносе прегледности резултата. Подаци добијени у току истраживања обрађени су и анализирани помоћу адекватних статистичких тестова. Добијени резултати су јасно тумачени на основу најновијих доступних научних сазнања, на прикладан начин анализирани и логички повезани са литературним наводима.</p> <p><b>Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.</b></p>
<p><b>IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b></p>
<p>1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме</p> <p>Докторска дисертација је написана у потпуности у складу са предложеним испитивањима и образложењем наведеним у пријави теме.</p>
<p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе</p> <p>Докторска дисертација садржи све битне елементе оригиналног научног рада на основу којих би се истраживање могло поновити. Рад је написан концизно и разумљиво и резултат је самосталног истраживања кандидата. Резултати су оригинални и дају допринос бољем разумевању садржаја витамина Ц, испитиваних полиенолних једињења и антимикробног дејства сокова и екстраката плодова одабраног воћа.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци</p> <p>На основу детаљног увида у докторску дисертацију, постављених циљева истраживања, добијених резултата и њиховог тумачења, Комисија закључује да ова докторска дисертација има све елементе оригиналног научног рада, који карактерише висок степен интердисциплинарности. У оквиру докторске дисертације је урађена хемијска анализа као и антимикробна испитивања сокова и екстраката плодова врста воћа из породице <i>Rosaceae</i>. Употребом савремених метода прилагођених и модификованих за предвиђена истраживања, добијени су научни резултати, из којих је било могуће извести значајне, поуздане и валидне закључке. Резултати тезе, произишли из наведених истраживања, представљени су јасно и груписани су у логичке целине. Чињеница да је у овој дисертацији по први пут изведено испитивање антимикробне активности цеђених сокова и етанолних екстраката малине (<i>Rubus idaeus</i>), купине (<i>Rubus fruticosus</i>), трешње (<i>Prunus avium</i>), вишње (<i>Prunus cerasus</i>) и ароније (<i>Aronia prunifolia</i>) на <i>Rhodococcus equi</i>, <i>Arcanobacterium haemolyticum</i>, <i>Trueperella</i>-у <i>pyogenes</i>, <i>Prototheca</i>-у <i>wickerhamii</i> и <i>Prototheca</i>-у <i>zopfii</i> чини представљене резултате посебно значајним. Треба истаћи да су истраживања ове докторске тезе у сагласности са савременим трендовима проналажења нових природних производа биљака са антимикробним дејством. Потврда оригиналности докторске дисертације је и публикавање резултата истраживања у два научна рада у међународним часописима са СЦИ листе.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања</p> <p>Комисија није уочила никакве формалне нити суштинске недостатке докторске дисертације који би могли утицати на резултате истраживања.</p>

<b>X ПРЕДЛОГ:</b>
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже да се докторска дисертација под називом: „Антимикробно дејство цеђених сокова и екстраката плодова одабраног воћа породице <i>Rosaceae</i> ” прихвати, а кандидату <b>Тамари Крстић</b> одобри одбрана.

датум: 31.01.2018.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

---

Проф. др Ружица Игић, председник Комисије за оцену докторске дисертације

---

Проф. др Ивана Хрњаковић-Цвјетковић, члан Комисије за оцену докторске дисертације

---

Доц. др Ана Пилиповић, члан Комисије за оцену докторске дисертације