

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КРАГУЈЕВАЦ**

1. Одлука Изборног већа

Одлуком Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, број 01-8533/3-2 од 17.11.2011. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Мр.пх. Данијеле Пецарски, под називом

**„АНТИМИКРОБНО ДЕЈСТВО ЕТАРСКИХ УЉА НЕКИХ ВРСТА ФАМИЛИЈА
ARIACEAE И LAMIACEAE НА БАКТЕРИЈЕ И ГЉИВИЦЕ УЗРОЧНИКЕ
ВУЛВО-ВАГИНАЛНИХ ИНФЕКЦИЈА ЖЕНА У РЕПРОДУКТИВНОМ
ПЕРИОДУ“**

Чланови комисије су:

1. проф. др Зорица Кнежевић-Југовић, ванредни професор Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Биотехнологија, председник;

2. доц. др Сузана Димитријевић, доцент Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Микробиологија и биотехнологија, члан;

3. проф. др Мирјана Варјачић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан.

2.1 Кратка биографија кандидата

Мр пх Данијела Пецарски је рођена 09.08.1973. године у Чачку. Фармацеутски факултет у Београду уписала је школске 1992. године, а завршила 1998. године и тиме стекла звање дипломирани фармацеут. Обавила је општи фармацеутски стаж и положила стручни испит. Специјализацију из фармацеутске технологије на ВМА је завршила 2005. године.

Од 2000. до 2005. године радила је као фармацеут у Институту за фармацију ВМА, и постала специјалиста фармацеутске технологије.

Од 2005. године је директор лабораторије за производњу препарата који се успешно користе у неонатологији, као и препарата за негу коже. Има 25 објављених стручних и научних радова из области фармације и екологије.

2.2 Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: „АНТИМИКРОБНО ДЕЈСТВО ЕТАРСКИХ УЉА НЕКИХ ВРСТА ФАМИЛИЈА АRIACEAE И LAMIACEAE НА БАКТЕРИЈЕ И ГЉИВИЦЕ УЗРОЧНИКЕ ВУЛВО-ВАГИНАЛНИХ ИНФЕКЦИЈА ЖЕНА У РЕПРОДУКТИВНОМ ПЕРИОДУ“

Предмет: Ова студија ће се бавити испитивањем антимикробног деловања етарских уља кима, коријандера, коморача, еукалиптуса, оригана и тимијана на изоловане узрочнике бактеријских и гљивичних инфекција у односу на конвенционалне антибиотике и антимикотике који се користе у лечењу бактеријских и гљивичних инфекција спољних гениталија жене. Поред тога, предмет истраживања је и формулисање ефикасног мукоадхезивног система са контролисаним отпуштањем биоактивне супстанце (хитозанске честице са етарским уљем тимијана), који ће обезбедити антимикробно и антифунгицидно деловање у предвиђеном периоду.

Хипотезе:

1. Етарска уља кима, коријандера, коморача, тимијана, оригана, еукалиптуса инхибирају раст издвојених бактерија и гљивица изазивача вулво-вагиналних инфекција жена;
2. МИС и МВС испитиваних етарских уља су упоредиви са МИС и МВС комерцијалних антибиотика који су узети за поређење;
3. МИК је таква да дозвољава примену испитиваних етарских уља *in vivo*.
4. Хитозанске и модификоване хитозанске микрочестице са инкапсулираним тимијаном ће обезбедити вагиналну мукоадхезију као и контролисано отпуштање антимикробне биокативне супстанце.

2.3 Подобност кандидата

Кандидат је објавио један рад штампан у целини у часопису са рецензијом, у коме је први аутор, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

Pecarski D, Bogavac M, Karaman M, Božin B, Jugović Z. Chemical structure and antibacterial activity of the essential oil type *Carum carvi L.* *Bulgarian Journal of Ecological Science, Ecology and future* 2011; vol.X(1-2): 39-46. Journal ISSN 1312-076X

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Вагинална флора здраве жене у репродуктивном периоду, доминантно садржи бактерије рода *Lactobacillus*, а у мањем броју и анаероб *Gardnerella vaginalis* и понекад *Mycoplasma hominis* и *Mobiluncus*, које имају заштитну улогу и спречавају инфекције урогениталног тракта и других патолошких стања. Оне продукцијом различитих једињења: водоник-пероксида (H_2O_2), који има токсично дејство на друге организме и спречава њихово насељавање у вагини; млечне киселине, која одржава киселост средине ($pH < 4,5$) и бактериоцина (антимикробни пептиди) спречавају раст потенцијалних патогена. Већина бактерицина је изолована из врста *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus fermentum*, па се ове врсте могу користити и као потенцијални пробиотици у терапији инфекција уринарног тракта и вагине. Поред тога, врсте рода *Lactobacillus* формирају биофилм и адхерирају са епителним ћелијама вагине чиме се спречава колонизација патогена. Међутим, у стањима дуготрајних гениталних инфекција, смањеног имунолошког одговора организма, трудноће као стања физиолошке имунодефицијенције, размножавање појединих сојева нормалне бактеријске флоре као и појава бактерија које нису специфичне за вагиналну флору може довести до вагиналних инфекција.

Бактеријска вагиноза карактерише се поремећајем нормалне вагиналне флоре, са смањењем бројности *Lactobacillus* spp. и порастом броја анаеробних Грам-варијабилних кокобацила (*G.vaginalis*, *Mobiluncus* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Prevotella* spp., *Prophyromanas* spp. и *Peptostreptococcus* spp.) и гениталне микоплазме (*Mycoplasma hominis*). Поред ових промена у вагиналној флори, долази и до промена вагиналног pH и вагиналне секреције. Најчешћи узрочници су *Streptococcus* (посебно Б групе), *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealiticum*, *Gardnerella vaginalis*, *Proteus vulgaris* и *Toxoplasma gondi*. Повећан број ових микроорганизама у вагини, може асцендентно довести и до запаљенских обољења материце, јајовода и јајника, што за последицу може имати хронично запаљенско обољење мале карлице (PID - *Pelvic inflammatory disease*).

Антибиотска терапија овог обољења се заснива на употреби метронидазола или клиндамицина, орално или интравагинално. Међутим, и поред употребе ова два антибиотика, око 10-15% жена не реагује на терапију после једног месеца, док се рецидиви јављају у 30% случајева у току три месеца, односно 50-80% случајева у току године. Последњих година студије су доказале већу резистентност анаеробних бактерија вагиналне микрофлоре на клиндамицин, мада постоје и докази о резистентности на метронидазол. Зато је развој ефикасних антибактеријских формулација на бази природних супстанци у терапији бактеријске вагинозе предмет актуелних научних истраживања.

2.5. Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области

Циљ:

1. да се испита антимикубно деловање етарских уља кима, коријандера, коморача, еукалиптуса, оригана и тимијана на изоловане узрочнике бактеријских и гљивичних инфекција;
2. да се утврди минимална инхибиторна (МИС) и минимална бактерицидна концентрација (МВС) етарских уља *in vitro*, као и минимална иритабилна концентрација (МИК) у *in vivo* условима;
3. да се испита *in vitro* бактерицидно и фунгицидно деловање етарских уља у односу на конвенционалне антибиотике и антимикуботике који се користе у лечењу бактеријских и гљивичних инфекција спољних гениталија жене;
4. да се развије ефикасан мукоадхезиван систем тимијан-хитозан са контролисаним отпуштањем антимикубне супстанце.

Значај: Снажно антибактеријско дејство етарских уља могло би да буде од великог значаја у регулисању нормалне вагиналне микрофлоре жене у репродуктивном периоду.

2.6 Веза са досадашњим истраживањима

Резистенција на ове антибиотике је објављивана у многим радовима. Голдстајн (Goldstein) и сарадници су демонстрирали 1993. године да је 20% популације *G. vaginalis* резистентно на метронидазол, а касније, 2002. у сличној студији су показали да је резистентност на метронидазол порасла чак на 29%. Постоје студије које показују резистентност 68% анаеробних бактерија одговорних за бактеријску вагинозу. Разлози резистенције нису баш најјасније објашњени, али интересантна је сличност која је доказана између гена и механизма резистенције патогених бактерија и бактерија које производе антибиотике на које су ове бактерије резистентне. Као основни механизми резистенције везани за антибиотике којима се тертирају бактеријске вагиналне инфекције наводе се: промена пропустљивости ћелијских овојница (смањење броја порина или измена у њиховој пропустљивости који су место продора антимикубног лека кроз липидни слој мембране бактерије), или још чешће измена структуре рибозома (настаје на месту деловања лека и последица је активности ензима на рибозомалну РНК бактерија).

Као последица резистенције као и све чешћих нежељених дејстава антибиотика јавило се огромно интересовање за изналажење нових, алтернативних антимикубних средстава. Етарска уља су секундарни метаболити биљака, дефинисани као комплексне мешавине липофилних течних, мирисних, испарљивих компоненти садржаних у секреторним структурама ароматичних биљака. Основне активне компоненте етарских уља су: терепеноиди (доминантне и економски најзначајније компоненте), алифатичне испарљиве компоненте, ароматичне испарљиве компоненте, супстанце које садрже азот и сулфанце које садрже сумпор. Бројним испитивањима различитих етарских уља утврђено је да се, за разлику од конвенционалних антибиотика, резистенција не ствара баш због великог броја различитих једињења која и појединачно испољавају снажно антимикубно деловање, али је изразита специфичност њихових синергистичких ефеката који у ствари и спречавају настанак отпорности. Међутим, без обзира на бројне податке о антимикубној активности природних производа, број тестираних микроорганизама је релативно мали и не укључује новије мултипло резистентне сојеве. У данашње време ароматичне биљке из породице *Lamiaceae* и *Apiaceae* представљају веома важне потенцијалне изворе биолошки и фармаколошки активних супстанци, чије

је дејство доказано у бројним научним студијама. Још од давнина ове биљке се користе због свог антибактеријског, спазмолитичког, антиоксидантног, антимицотичког и бројних других дејстава. Доказано је антиоксидантно и антибактеријско дејство које има око 100 испарљивих састојака етарских уља фамилије *Lamiaceae*. Ова два дејства су веома важна за регулисање оксидо-редукционог потенцијала и нормалне бактеријске флоре, који су главни предуслов за постизање нормалне вагиналне флоре жене у било којој доби живота.

Постоји велики број радова који потврђује снажно антимикуробно деловање ових природних супстанци, па је антимикуробна активност већине ароматичних и лековитих биљних врста које се данас и комерцијално користе веома добро документована.

2.7 Методе истраживања

А. ВРСТА СТУДИЈЕ

Експериментална студија на микроорганизмима *in vitro*.

Б. ПОПУЛАЦИЈА КОЈА СЕ ИСТРАЖУЈЕ

Антимикуробна активност етарских уља кима, коријандера, коморача, оригана, еукалиптуса и тимијана биће испитана на следећим бактеријским и гљивичним сојевима микроорганизама:

- сојевима бактерија изолованих из патолошког хуманог материјала (пореклом из вагиналног бриса) жена које имају инфекције спољних гениталија, као и из здравих жена: Грам-позитивне: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus sp.*, *Enterobacter*, Грам-негативне: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, АТСС (American Type Culture Collection);
- стандардизованим културама бактерија и гљивица: Грам-позитивне: *Staphylococcus aureus* АТСС 25923, АТСС 6538, *E. faecalis* АТСС 29212, Грам-негативне: *E. coli* АТСС 25922, АТСС 8739, *P. aeruginosa* АТСС 9027, гљивице: *Candida albicans* АТСС 10231.

В. УЗОРКОВАЊЕ

Изолати из патолошког материјала ће бити узорковани из хуманог материјала здравих и оболелих жена из Клиничког центра КБЦ Звездара, Клинике за гинекологију и акушерство у Београду.

Микроорганизми ће бити изоловани из вагиналног секрета 50 жена, животне доби између 18 и 45 година, који су узети методом случајног избора у току рутинске гинеколошке контроле. Бактеријска вагиноза је утврђена помоћу конвенционалне дијагностичке методе за бактеријску вагинозу по Amsel-и.

Предност дифузионих метода огледа се у малој количини коришћеног узорка који се испитује, као и у могућности тестирања дејства више различитих једињења по микроплочи на један микроорганизам. Поред тога ови резултати ће бити упоређени са културама АТСС сојева из колекције култура Микробиолошке лабораторије Катедре за Биохемијско инжењерство и биотехнологију, Технолошко-металуршког факултета у Београду (Универзитет Београд, Србија).

Током експеримента биће употребљивани следећи медијуми: хранљиви агар (МПА, ТОРЛАК. Београд, Србија) користиће се за припрему косога агара на који ће из „Stock -а” (резерве) бити пресејани сојеви 18-24 h пре употребе (за гљивице због споријег раста до 48h) и чувани у термостату на 37 °C (25°C за гљивице), као и за одређивање МВС вредности испитиваних етарских уља за бактерије; Müller-Hinton-ov

agar (ТОРЛАК, Београд, Србија) за бактерије, сладни агар (ТОРЛАК, Београд, Србија) за гљивице; хранљиви бујон (МПБ, ТОРЛАК, Београд, Србија) и сладни бујон за одређивање МИС и МВС.

УТВРЂИВАЊЕ МИС И МВС ВРЕДНОСТИ

МИС (минимална инхибиторна концентрација) биће утврђена коришћењем микротитарских плочица од 96-бунарчића (Спектар, Чачак, Србија) коришћењем дуплог разређења, према стандардној процедури CLSI. Резултати ће бити детектовани после инкубације на 35 °C у трајању од 18 h. МИС-ови референтних антибиотика ће бити утврђени под истим условима. Два водена раствора ће се користити као стандарди, ампицилин за Грам-позитивне бактерије и гентамицин за Грам-негативне бактерије (0,015-128,00 µg/ml). За утврђивање МВС вредности (минимална бактерицидна концентрација), запремина читавог бунарчића (100 µl) ће се после инкубације преносити из бунарчића у којем није детектовано замућење на Mueller Hinton агар у Петри плочи и инкубирати преко ноћи на 35 °C. Резултати раста ће се бележити пребројавањем колонија као и мерењем величине пречника зоне инхибиције. Етарска уља биљних врста која се користе у раду ће бити комерцијална етарска уља немачког произвођача „Freu+Lau“, чији ће састав бити накнадно утврђен.

Гасна хроматографија са масеном спектрометријом (GC-MS)

Гасна хроматографска анализа са спектрометријском детекцијом маса (GC-MS-Gas Chromatography-Mass Spectroscopy) ће се изводити на Hewlett Packard 5973-689 GC-MS систему у EI моду на 70 eV. Идентификација компоненти базираће се на израчунатим ретенционим индексима (RI) (Van den Dool i Kratz, 1963) и масеним спектрима упоређиваним са стандардним супстанцама и/или са NIS/NBS Wiley библиотеком масених спектра, као и са литературним подацима.

Културе микроорганизама

За испитивање *in vitro* антимикробне активности етарских уља биће коришћене следеће стандардизоване културе бактерија (ATCC - American Type Culture Collection) из колекције култура Микробиолошке лабораторије Катедре за Биохемијско инжењерство и биотехнологију, Технолошко-металуршког факултета у Београду (Универзитет Београд, Србија).

Припрема суспензија микроорганизама и стандардизација инокулума

Суспензије микроорганизама ће се добијати додавањем ћелија једнодневних бактеријских култура израслих на косом хранљивом агару у стерилан физиолошки раствор. За добијање инокулума одређеног замућења користиће се McFarland-ov стандард 0,5, што одговара замућењу које настаје у реакцији између 99,5 ml 0.1 M раствора сумпорне киселине (H₂SO₄) и 5 ml раствора 0,2 M баријум-хлорида дихидрата (BaCl₂·2H₂O). Замућење ће се подешавати фотоелектричним фотометром при чему се користи црвени филтер (КОЛОРИМЕТЕР МА 9504. Metrix). Метода се заснива на мерењу интензитета пропуштене светлости, односно апсорбанце (A) или трансмисије (T), уз претходно експериментално дефинисану функционалну везу ових величина са

концентрацијом. На овај начин добијена суспензија омогућава семиконфлуентан раст микроорганизама (раст ћелија у форми тепиха на Петри плочи) и број ћелија у колонији који апроксимативно износи 1.5×10^8 према процедури CLSI.

Процена вредности минималне инхибиторне (МИС) и максималне бактерицидне (МВС) концентрације.

Минимална концентрација активне супстанце која спречава раст у стандардној суспензији микроорганизама представља минималну инхибиторну концентрацију (МИС) и одраз је релативне осетљивости микроорганизма. Како је минимална инхибиторна концентрација у највећем броју случајева недовољна, да би лечење било ефикасно неопходно је одредити минималну бактерицидну концентрацију (МВС), односно концентрацију антимикробног агенса која је смртоносна за дати микроорганизам. За одређивање МИС и МВС вредности користиће се полипропиленске микротитар плоче са 96 коморица (Спектар, Чачак, Србија). У коморице се дозира по 100 μ l хранљивог бујона, 10 μ l етарског уља (из серије двоструких разређења) и 1,1 μ l суспензије микроорганизма. Радиће се по два понављања за сваки сој. Микротитар плоче ће се затим инкубирати у термостату на 37 °C. Након 18-24 h упоређивањем са количином раста у контролним коморицама одредиће се вредност МИС, која представља прву концентрацију етарског уља у чијем присуству у коморици нема преципитације или замућења (уочљивог раста). За одређивање вредности МВС, по 100 μ l смеше из коморица у којима није било замућења засејће се у Петри плоче са хранљивим агаром и оставити у термостату током наредна 24 h. МВС представља концентрацију која убија 99,99% микроорганизама, што је 99,99% смањења од почетне (финалне) бројности бактерија у бујону ($1,5 \times 10^6$) у свакој од коморица унутар микротитар плоче. Приликом припреме концентрација етарских уља радиће се двострука разблажења у опсегу концентрација од чистог уља до 1:500. Етарско уље ће бити разблажено у TWEEN 80 због његове липофилности.

Г. ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ У СТУДИЈИ

Утврђивање зоне инхибиције етарског уља различите концентрације на испитивани сој микроорганизама (диск-дифузиона метода)

Утврђивање МИС и МВС вредности

МИС (минимална инхибиторна концентрација) биће утврђена коришћењем микротитар плоча од 96-бунарчића (Спектар, Чачак, Србија) коришћењем дуплог разређења, према стандардној процедури (CLSI, 2003). Резултати ће се детектовати после инкубације на 35 °C у трајању од 18 h. МИС -ови референтних антибиотика ће бити утврђени под истим условима. Два водена раствора ће се користити као стандарди: ампицилин за Грам-позитивне бактерије и гентамицин за Грам-негативне бактерије (0,015-128,00 μ g/ml).

За утврђивање **МВС** вредности (минимална бактерицидна концентрација), запремина читавог бунарчића (100 μ l) ће се после инкубације пренети из бунарчића у којем није детектовано замућење на Mueller Hinton агар у Петри плочи и инкубирати преко ноћи на 35 °C. Резултати раста ће се бележити пребројавањем колонија.

МИК (минимална иритабилна концентрација) – одређује се укапавањем различитих концентрација етарског уља у око зеца како би се утврдила вредност концентрације етарског уља која би имала оптимално дејство на слузнице приликом употребе формулација са испитиваним етарским уљима.

Д. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

У овим истраживањима неће се вршити упоређивање антимикробних активности појединих етарских уља, већ ће се само одређивати МИС, МВС, МИК за свако од етарских уља посебно. Пошто су бактеријске и гљивичне културе које се користе, стандардизоване или доведене у контролисан раст после изолације од пацијента, довољно је ефекат сваког од испитиваних уља демонстрирати два пута. Зато се за студије оваквог типа не израчунава величина узорка на начин на који се то ради за експерименталне студије, које обухватају већи број јединки на којима се тестирају ефекти супстанци.

Ђ. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

У статистичкој обради би били примењени:

1. методе дескриптивне статистике: аритметичка средина, стандардна девијација (SD), процентуална заступљеност (%);
2. упоређење вредности континуалних варијабли између група ће бити рађено Студентовим т-тестом, а упоређење заступљености категоријских варијабли χ^2 тестом. Вероватноћа нулте хипотезе од 0,05 ће бити коришћена као максимални ниво за њено одбацивање.
3. утицај различитих параметара на својства хитозанских честица и њихова оптимизација вршиће се методом статистичке регресије која подразумева истовремену промену већег броја параметара, али по претходно утврђеном експерименталном плану (централни композитни ротативни планови).

2.8 Очекивани резултати докторске дисертације

Последњих година у свету се запажа пораст присуства бактеријских вагиноза као и све чешће присуство резистенције микроорганизама на примену вагиналета које у свом саству садрже метронидазол и клиндамицин (светски протоколи у третману бактеријских вагиноза.) Ипак резултати лечења пацијената са овом хроничном инфекцијом вагине нису увек успешни, стога се последњих година прибегава и примени етарских уља која су показала снажно антибактеријско дејство.

Фитопрепарати са потврђеним снажним антимикробним деловањем би се евентуално могли, уз каснија детаљна фармаколошка и клиничка испитивања, примењивати и у њиховој терапији, посебно у случајевима као што је резистенција и дуготрајна употреба антибиотских препарата која може имати бројна нежељена дејства.

На основу литературних података могло би се очекивати да ће етарска уља одабраних ароматичних биљака (ким, коријандер, коморач, тимијан, оригано, еукалиптус) показати снажно антибактеријско и антифунгално деловање на изабране узрочнике бактеријских (Грам-позитивне: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus sp.*, *Enterobacter* и Грам-негативне: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) и гљивичних (*Candida albicans*) инфекција спољних гениталија жене.

С обзиром на њихово природно порекло и бројна биохемијска и фармаколошка истраживања, вероватноћа да ће се етарска уља показати токсичним у фармаколошким тестовима је врло мала, што би било од изузетног значаја за њихову потенцијалну примену у лечењу гениталних инфекција, нарочито код жена са хроничним вулвовагиналним бактеријским и гљивичним инфекцијама.

Већина комерцијалних антибактеријских препарата за вагиналну употребу, као ни сама етарска уља, немају задовољавајућа мукоадхезивна својства, услед чега нису

довољно дуго у контакту са вагиналном мукозом, где би требали да испоље своје фармаколошко дејство. Због тога, очекује се да ће се у оквиру ове тезе развити оптимални мукоадхезивни систем на бази микрочестица хитозана са инкапсулираним етарским уљем (које ће се показати као најефикасније у претходим испитивањима), са контролисаним и циљним отпуштањем биоактивне супстанце.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Појава резистентности микроорганизама на постојеће антибиотике повећава потребу за проналаском нових терапеутских агенаса са антимикуробним деловањем у гинекологији. Посебно место имају секундарни метаболити, а највише етарска уља ароматичних биљака, где спадају биљке фамилије *Ariaceae* (ким, коријандер, коморач) и фамилије *Lamiaceae* (еукалиптус, оригано и тимијан). Услед доказане резистенције на конвенционална антибактеријска средства (антибиотике) јавља се све шире интересовање за изналагање нових алтернативних биљних препарата који је ће имати антибактријско дејство. Снажно антибактријско дејство етарских уља могло би да буде веома значајно у регулисању нормалне вагиналне микрофлоре жене у репродуктивном периоду. Формулацијом и испитивањем система са контролисаним ослобађањем одговарајућег етарског уља које ће се отпуштати у прописаној концентрацији (MIC) у одређеном временском периоду, створиће се услови за примену оваквих препарата. Хитозонске честице са оптимизованом количином етарског уља за које се утврди да има најјаче антимикуробно и антифунгицидно дејство, могу се користити како у превентивне сврхе за одржавање нормалне микрофлоре жене у репродуктивном периоду, тако и за третирање бактеријских вагиноза које су честа појава.

2.10 Научна област дисертације

Медицина. Уже области фармација и биотехнологија.

2.11 Научна област чланова комисије

1. проф. др Зорица Кнежевић-Југовић, ванредни професор Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Биотехнологија, председник;

2. доц. др Сузана Димитријевић, доцент Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Микробиологија и биотехнологија, члан;

3. проф. др Мирјана Варјачић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан.

Закључак и предлог комисије

1. На основу досадашњег научног рада (одбрањене специјалистичке тезе) и публикованих радова, Мр. пх Данијела Пецарски испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.

2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу, где се испитују антимикубно дејство одређених етарских уља и формулише ефикасни мукоадхезивни систем са контролисаним отпуштањем етарског уља за терапију бактеријских вагиноза.

3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза мр. пх Данијеле Пецарски бити од великог научног и практичног значаја, да се сагледају могућности употребе природних препарата са знатно мање нежељених дејстава уместо конвенционалне антибиотске терапије.

4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата **мр. пх Данијеле Пецарски** под називом **„АНТИМИКРОБНО ДЕЈСТВО ЕТАРСКИХ УЉА НЕКИХ ВРСТА ФАМИЛИЈА АРИАСЕАЕ И ЛАМИАСЕАЕ НА БАКТЕРИЈЕ И ГЉИВИЦЕ УЗРОЧНИКЕ ВУЛВО-ВАГИНАЛНИХ ИНФЕКЦИЈА ЖЕНА У РЕПРОДУКТИВНОМ ПЕРИОДУ“** и одобри њену израду.

проф. др Зорица Кнежевић-Југовић, председник, ванредни професор Технолошко-метлушког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Биотехнологија

доц. др Сузана Димитријевић, члан, доцент Технолошко-метлушког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Микробиологија и биотехнологија

проф. др Мирјана Варјачић, члан, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Гинекологија и акушерство.

У Београду, 12.03.2012.