

3
4
5 **ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

6
7 **I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ:**

8
9 **1. Датум и назив органа који је именовео комисију:**

10 Наставно – научно Веће Факултета ветеринарске медицине Универзитета у
11 Београду је на својој 163. седници одржаној 23.12.2015.године именовало Комисију за
12 оцену завршене докторске дисертације мр Љубише Вељовића, дипломираног
13 ветеринара.

14
15 **2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива**
16 **уже научне области за коју је изабран у звање, годином избора у звање и назив**
17 **факултета, установе у којој је члан комисије запослен:**

- 18 1. Др Ненад Милић, редовни професор, Микробиологија са имунологијом, 2005.године,
19 Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду;
20 2. Др Јаков Нишавић, ванредни професор, Микробиологија са имунологијом,
21 2014.године, Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду;
22 3. Др Дејан Крњачић, ванредни професор, Микробиологија са имунологијом 2010.године,
23 Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду;
24 4. Др Александра Кнежевић, ванредни професор, Микробиологија, 2014.године,
25 Медицински факултет Универзитета у Београду.

26
27
28 **II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:**

29 **1. Име, име једног родитеља, презиме:** Љубиша, Миливоје, Вељовић

30
31 **2. Датум рођења, општина, Република:** 22.06.1964.године, Лозница, Општина
32 Лозница, Република Србија

33
34 **3. Датум одбране, место и назив магистарске тезе*:** Магистарску тезу под насловом:
35 „Прилог лабораторијској дијагностици ротавирусних инфекција“, кандидат је одбранио
36 дана 29.12.2005.године на Катедри за заразне болести животиња и болести пчела.

37
38 **4. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука*:** Заразне
39 болести животиња и болести пчела.

40
41 **III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:** Молекуларна карактеризација сојева
42 вируса параинфлуенце 3 говеда изолованих на територији Републике Србије.

43
44 **IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ (навести броја страна поглавља, слика,**
45 **шема, графикона и сл.):**

46 Докторска дисертација мр Љубише Вељовића дипломираног ветеринара из
47 Београда под насловом „Молекуларна карактеризација сојева вируса параинфлуенце 3
48 говеда изолованих на територији Републике Србије“ је написана на укупно 144
49 странице компјутерски обрађеног текста јасним и разумљивим стилем и документована
50 је са 46 табела и 14 слика, а садржи сва уобичајена прописана поглавља: Увод,
51 Преглед литературе, Циљ и задаци испитивања, Материјал и методе испитивања,
52 Резултати испитивања, Дискусија, Закључци, Списак литературе, кратак садржај на
53 српском и енглеском језику и списак скраћеница. Број страна по поглављима докторске
54 дисертације обухвата увод од 13 страна, преглед литературе од 36 страна, циљ и
55 задаци испитивања од две стране, резултате испитивања од 46 страна, дискусију од 9
56 страна, закључке испитивања од једне стране, скраћенице од 2 стране, списак
57 литературе од 7 страна и биографију аутора од 3 стране.
58

1 **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ (дати кратак**
2 **опис сваког поглавља дисертације: увода, прегледа литературе, циља и задатака**
3 **истраживања, материјал и метода, резултата, дискусије, списка референци):**

4 У поглављу **Увод** кандидат се детаљно осврнуо на основне морфолошке и
5 биолошке карактеристике вируса параинфлуенце 3 говеда (PI3) и његову значајну улогу
6 у етиопатогенези респираторног синдрома говеда, затим карактеристике његовог
7 генома и антигенске структуре са посебним освртом на хемаглуторинско-
8 неураминидазне (HN) и фузионе (F) гликопротеинске антигене који представљају
9 имунолошки значајне компоненте вирусне честице и детерминанте антигенске
10 специфичности различитих сојева вируса као и на друге структурне компоненте
11 вириона које обухватају матриксни протеин М, нуклеокапсидни протеин - N и велики
12 протеин - L. Поред тога, кандидат даје приказ филогенетског стабла реда
13 *Mononegavirales* који се односи на фамилију *Paramyxoviridae*. У уводном поглављу
14 докторске дисертације описане су карактеристике умножавања вируса у културама
15 ткива односно ћелијским линијама као и у ћелијама респираторног епитела
16 инфицираних животиња током природне инфекције уз детаљан приказ вирусне
17 репликације и биосинтезе у ћелијама домаћина.

18 У уводу је описан етиолошки значај вируса PI3 у настанку обољења горњих
19 делова респираторног система говеда као и других пријемчивих врста, односно основне
20 карактеристике патогенезе наведеног обољења укључујући и карактеристике клиничке
21 слике и патолошких промена код оболелих животиња. Кандидат указује на значај
22 постојања великог броја сојева вируса параинфлуенце 3 говеда који су сврстани у три
23 генотипске групе означене као А, В и С, а затим описује методе вирусолошке
24 дијагностике које обухватају изолацију и идентификацију вируса на ћелијским линијама
25 (вирус неутрализациони тест и метода директне имунофлуоресценције) као и методе за
26 праћење имунолошког одговора инфицираних или имунизованих говеда на антигене
27 вируса PI3. Кандидат је у оквиру наведених метода вирусолошке дијагностике
28 инфекције говеда изазване вирусом PI3 посебно истакао значај савремених
29 молекуларних дијагностичких метода заснованих на ланчаној реакцији полимеразе
30 (PCR) у циљу секвенцирања изолованих и /или детектованих сојева вируса PI3 у
31 инфицираним ћелијама, а самим тим и њихове генотипизације и филогенетске анализе.

32 У поглављу **Преглед литературе** кандидат је детаљно изложио резултате
33 истраживања из 65 радова страних и домаћих аутора који се односе на методе
34 вирусолошке дијагностике које обухватају стандардне и молекуларне методе засноване
35 на ланчаној реакцији полимеразе - PCR за идентификацију сојева вируса
36 параинфлуенце 3 изолованих из узорак носних брисева пореклом од оболелих или
37 инфицираних говеда на култури ткива, односно директну детекцију вируса у узорцима
38 материјала. Ови подаци у потпуности оправдавају постављени циљ и задатке
39 испитивања.

40 У поглављу **Циљ и задаци испитивања** кандидат је имајући у виду претходно
41 наведене податке из литературе, као и резултате сопствених прелиминарних
42 испитивања поставио за циљ ове докторске дисертације да изврши молекуларну
43 карактеризацију и идентификацију изолованих сојева вируса PI3 говеда на територији
44 Републике Србије применом савремених молекуларних и стандардних метода
45 вирусолошке дијагностике. Ради испуњења наведеног циља, кандидат је поставио
46 следеће задатке:

47 1. Да се методом изолације вируса на култури ткива и вирус неутрализацијом
48 испитају узорци носних брисева говеда различитих расних и старосних категорија са
49 израженим клиничким симптомима обољења горњих партија респираторног система на
50 присуство вируса параинфлуенце 3.

51 2. Да се изврши идентификација изолованих сојева вируса параинфлуенце 3
52 говеда применом методе директне имунофлуоресценције.

53 3. Да се применом методе ланчане реакције полимеразе са реверзном
54 транскрипцијом (RT PCR) уз коришћење прајмера за F ген вируса PI3 говеда испитају
55 сви узорци носних брисева из којих није изолован вирус PI3 на култури ткива.

56 4. Да се применом методе ланчане реакције полимеразе са реверзном
57 транскрипцијом (RT PCR) уз коришћење одговарајућих олигонуклеотидних прајмера
58 који детектују секвенцу молекула вирусне РНК која кодира синтезу F антигена вируса
59 PI3, испитају сојеви поменутог вируса и производи RT PCR реакције припреме за
60 секвенцирање.

1 5. Да се применом методе ланчане реакције полимеразе са реверзном
2 транскрипцијом (RT PCR) уз коришћење одговарајућих олигонуклеотидних прајмера
3 који детектују секвенцу молекула вирусне РНК која кодира синтезу HN антигена вируса
4 P13, испитају сојеви поменутог вируса и производи RT PCR реакције припреме за
5 секвенцирање.

6 6. Да се изврши секвенцирање RT PCR производа F и HN гена домаћих сојева
7 вируса P13 методом директног секвенцирања по Сангеру.

8 7. Да се изврши молекуларна карактеризација на основу поређења хомологије
9 нуклеотидних секвенци F и HN гена домаћих сојева изолованих вируса са
10 одговарајућим секвенцама других изолованих сојева вируса параинфлуенце 3 говеда
11 који се налазе у међународној бази података из банке гена.

12 8. Да се на основу резултата поређења секвенци одреди положај домаћих
13 изолованих сојева вируса P13 на филогенетском стаблу и дефинише њихова генотипска
14 припадност.

15 У поглављу **Материјал и методе испитивања** кандидат је детаљно описао
16 материјал и методе које је користио током израде докторске дисертације.

17 Укупно је испитано 119 узорак носних брисева оболелих или инфицираних
18 говеда различитих старосних категорија (телади, јунади и крава) са територије
19 Републике Србије на присуство вируса параинфлуенце 3 говеда. Прикупљени узорци
20 су потапани у 2ml хранљиве подлоге Eagle MEM или у фосфатном пуферу рН 7,2 и
21 чувани на температури од -20 °C до почетка испитивања.

22 За извођење методе изолације вируса и вирус неутрализације коришћен је
23 следећи материјал:

24 -Референтни сој SF4 вируса параинфлуенце 3 говеда титра од $10^{5,0}$ TCID_{50%}
25 умножаван у ћелијској линији MDBK (Madin Darby Bovine Kidney), произвођача
26 „American Bioresearch, САД;

27 -Континуирана ћелијска линија MDBK, произвођача IZSB, Бреша, Италија;

28 -Бактериолошки филтери за једнократну употребу са величином пора од 400nm
29 произвођача Whatman, Немачка;

30 -Подлога за раст и одржавање ћелијских линија „Eagle MEM“, произвођача PAA,
31 (Biopharm);

32 -Мешавина антибиотика и антимицотика која у себи садржи пеницилин,
33 стрептомицин и амфотерицин Б, произвођача „PAA“ (Biopharm);

34 -Фетални телећи серум произвођача „Biochrom“;

35 -Микроплоче за раст ћелијских линија, изолацију и вирус неутрализацију од 24
36 и 96 удубљења, произвођача „Sardshtedt“ Немачка;

37 -Хиперимуни серум против вируса P13 говеда припремљен имунизацијом кунића
38 референтним SF4 сојем вируса P13 говеда, произвођача Ветеринарски Завод
39 Земун.

40
41 За извођење директне имунофлуоресценције коришћен је следећи материјал:

42 -Моноклонска антитела против вируса P13 коњугована са флуоресцеин
43 изотиоцијанатом, произвођача „Bio X“, Белгија;

44 -Пуфер рН 7,2 , ацетон, дестилована вода.
45

46 Материјал који је коришћен за извођење методе ланчане реакције полимеразе:

47 -Екстракција вирусне РНК из узорак извршена је применом кита Pure Link RNA Mini
48 Kit, произвођача Ambion by Life technology.

49 -За извођење методе RT PCR коришћен је QIAGEN One Step RT-PCR Mix Kit
50 (произвођача QIAGEN Inc., Valencia, CA, SAD).

51 -Метода RT PCR је извођена уз коришћење пара олигонуклеотидних прајмера за део
52 F гена вирусне РНК вируса P13 говеда (forward F: 5'CATTGAATTCATACTCAGCAC3' и
53 reverse R: 5'AGATTGTCGCATTTAGCCTC3') и пара олигонуклеотидних прајмера за део
54 HN гена претходно наведеног вируса (forward F: 5'GAATGACTCATGATAGAGGTA3' и
55 reverse R: 5'AGGACAACAGTTGTATTACAT3', произвођача Applied Biosystems, Велика
56 Британија.

57
58 Материјал који је коришћен за извођење електорфорезе:

1 -Обојени „Gen ruler“ за електрофорезу од 100 до 1000 базних парова, произвођача
2 Fermetnas;

3 -Гел за електрофорезу који се састоји од 1,5 g агарозе произвођача Fermentas
4 (molecular biology grade) i 75 ml пуфера за електрофорезу са додатком етидијум
5 бромида.

6 За извођење методе директног секвенцирања по Сангер-у претходно је
7 извршено пречишћавање добијених PCR продуката применом кита „Mini Elute PCR
8 purification kit“ произвођача Qiagen - САД.

9 Метода изолације вируса у култури ћелија извршена је тако што су претходно
10 обрађени узорци носних брисева појединачно инокулисани у удубљења
11 микротитрационих плоча у које су претходно постављене ћелијске линије MDBK. У сва
12 удубљења микротитрационих плоча је затим појединачно инокулисано са по 100 μ l
13 припремљених узорак носних брисева говеда. Два удубљења микротитрационих
14 плоча су појединачно инокулисана са истом количином суспензије референтног соја
15 SF4 вируса P13 говеда и служила као позитивна контрола. Инокулисане
16 микротитрационе плоче су затим инкубисане један час на температури од 37°C, после
17 чега је у сва удубљења додата хранљива подлога за одржавање ћелија са 2%
18 феталног телећег серума. Микроплоче су затим инкубисане у термостату током 7 дана
19 на температури 37°C у присуству 5% CO₂ и свакодневно опсервиране на појаву
20 цитопатогеног ефекта (CPE).

21 Титрација референтног соја SF4 и узорак супернатантне течности пореклом од
22 инокулисаних ћелијских линија MDBK са испољеним цитопатогеним ефектом, вршена је
23 на култури ткива MDBK у микротитрационим плочама са равним дном, по стандардној
24 процедури. После формирања конфлуентних ћелија у базенчићима микротитрационе
25 плоче, вршено је одливање подлоге и трократно испирање ћелија са PBS. Затим је
26 додавано по 50 μ l десетоструких разређења суспензије узорак референтног и
27 изолованих сојева вируса P13 у сва удубљења микротитрационих плоча за свако
28 разређење. За припремање разређења вируса је коришћена хранљива подлога Eagle
29 MEM са 2% феталног телећег серума. Инокулисане ћелије инкубисане су током
30 временског периода од 1 час на температури од 37°C у термостату у присуству 5% CO₂.
31 После периода адсорпције вируса на ћелије, појединачно је сипано по 50 μ l 2% Eagle
32 MEM-а у сва удубљења микротитрационе плоче. Ћелијске линије са инокулисаним
33 узорцима вируса у микротитрационим плочама су затим инкубисане на температури од
34 37°C са 5% CO₂ и свакодневно посматране на присуство цитопатогеног ефекта (CPE).
35 Титар референтног и изолованих сојева вируса P13 обрачунаван је методом по
36 Керберу.

37 Метода вирус неутрализације је извођена тако што су узорци референтног и соја и
38 супернатантне течности пореклом од инокулисаних ћелијских линија MDBK са
39 испољеним цитопатогеним ефектом помешани са истим количинама специфичног
40 хиперимуног серума против вируса P13 у удубљењима микротитрационих плоча.
41 Последња три удубљења инокулисаних микротитрационих плоча су служила као
42 контрола ћелија, серума и вируса. Мешавине узорак вируса и хиперимуног серума су
43 затим инкубисане у временском периоду од 1 час на температури од 37°C, да би после
44 тога исте биле инокулисане у базенчиће микротитрационих плоча са равним дном у
45 којима су се налазиле MDBK ћелије. Овако припремљене микротитрационе плоче су
46 инкубисане у временском периоду од 72 часа на температури од 37°C, после чега су
47 очитавани резултати неутрализације референтних и изолованих сојева вируса P13
48 специфичним хиперимуним серумом.

49 Метода директне имунофлуоресценције је извођена на ћелијским линијама MDBK
50 појединачно инокулисаним изолованим сојевима вируса P13. Као позитивна контрола у
51 испитивањима коришћен је сој SF 4 вируса P13 говеда. Овако припремљене
52 микротитрационе плоче су затим инкубисане на температури од 37°C до појаве
53 цитопатогеног ефекта (CPE) који је захватао 40% до 50% ћелија. Садржаји из
54 удубљења микроплоча су потом одливани, а удубљења са ћелијама испирана
55 пуфером PBS pH 7,2 и сушена на собној температури у трајању од 30 минута. Ћелије у
56 удубљењима микроплоче су фиксирани ацетоном са додатком 20% метанола у трајању
57 од 30 минута. Фиксатив је одливан и у свако удубљење микроплоче је додато по 50 μ l
58 радног раствора коњугата за директну имунофлуоресценцију који се састојао од
59 моноклонских антитела против вируса P13 говеда коњугованих флуоресцеин
60 изотиоцијанатом (FITC). Микротитрационе плоче су затим инкубисане у влажној комори

1 на 37°C у трајању од 45 минута по упутству произвођача, после чега је поново
2 извршено њихово испирање са PBS pH 7,2 и дестилованом водом. Микротитрационе
3 плоче су после испирања осушене на собној температури и посматране под
4 флуоресцентним микроскопом на појаву специфичне флуоресценције у виду јасно
5 жутозелених формација присутних у цитоплазми ћелија инокулисане културе ткива.

6 Екстракција нуклеинске киселине вируса P13 вршена применом дијагностичког кита
7 Pure Link RNA Mini Kit, произвођача Ambion by Life technology, по упутству произвођача.
8 Ланчана реакција полимеразе (RT PCR) уз коришћење прајмера за део F гена је
9 извођена по протоколу који је обухватао реверзну транскрипцију на температури од
10 47°C у трајању од 30 минута, затим иницијалну денатурацију на 94°C током 2 минута, 35
11 циклуса денатурације на 94°C за 45 секунди, везивања прајмера 51°C за 45 секунди,
12 елонгације на 72°C за 1 минут и финалне елонгације на 72°C у трајању од 5 минута.

13 Ланчана реакција полимеразе (RT PCR) уз коришћење прајмера за део HN гена је
14 извођена по протоколу који је обухватао реверзну транскрипцију на температури од
15 50°C у трајању од 30 минута, затим иницијалну денатурацију на 93°C током 3 минута, 35
16 циклуса денатурације на 94°C за 45 секунди, везивања прајмера 49°C за 45 секунди,
17 елонгације на 72°C за 1 минут и финалне елонгације на 72°C у трајању од 10 минута.

18 Резултати извођења методе RT PCR читавани су после извођења хоризонталне
19 гел електрофорезе. Присуство ДНК фрагмената F гена величине од 400 bp у гелу
20 агарозе, односно ДНК фрагмената HN гена величине од 647bp сматрано је позитивним
21 налазом.

22 У циљу извођења методе директног секвенцирања по Сангер-у, вршено је
23 пречишћавање добијених PCR продуката применом кита „Mini elute purification kit
24 Qiagen“ по упутству произвођача. Овако пречишћени производи RT PCR реакције су
25 третиран са изопропанолом и денатурисани са формаидом, а затим секвенцирани у
26 секвенционеру „ABI PRIZM Genetic Analyzer 310“.

27 Секвенце F и HN гена изолованих и идентификованих сојева вируса
28 параинфлуенце 3 су затим убачене у компјутерски програм за процену нуклеотидне
29 хомологије са другим регистрованим сојевима наведеног вируса у генској бази података
30 (BLAST). Наведени софтвер је омогућио одређивање процентуалног нивоа нуклеотидне
31 хомологије секвенци домаћих сојева вируса P13 говеда са одговарајућим секвенцама
32 других сојева вируса из базе гена.

33 Филогенетска анализа свих нуклеотидних секвенци домаћих сојева вируса
34 параинфлуенце 3 је извршена применом компјутерског програма MEGA 6. Увидом у
35 положај домаћих изолованих сојева на филогенетском стаблу вируса P13 говеда,
36 утврђена је њихова генотипска припадност.

37 У поглављу **Резултати испитивања** кандидат је приказао резултате
38 молекуларне карактеризације и идентификације изолованих сојева вируса P13
39 пореклом из узорка носних брисева говеда применом молекуларних и класичних
40 метода вирусолошке дијагностике. Методом изолације вируса на ћелијској линији MDBK
41 извршено је испитивање 119 носних брисева говеда на присуство вируса
42 параинфлуенце 3. После три пасаже сумњивог материјала на ћелијској линији
43 установљена је присуство цитопатогених промена код једанаест инокулисаних
44 ћелијских линија, што је износило 9,28% од укупног броја испитаних узорка. Методом
45 вирус неутрализације је извршена идентификација вируса P13 из шест узорка носних
46 брисева говеда.

47 Свих шест изолованих сојева вируса P13 је идентификовано и применом методе
48 директне имунофлуоресценције.

49 Применом методе ланчане реакције полимеразе са реверзном транскрипцијом
50 (RT PCR) испитивани су сви узорци носних брисева говеда на присуство вируса P13
51 применом прајмера за део F и HN гена наведеног вируса. Добијени резултати
52 испитивања су потврдили присуство вирусне нуклеинске киселине код шест узорка
53 носних брисева говеда, из којих су претходно изоловани и идентификовани сојеви
54 вируса P13 применом метода вирус неутрализације и директне имунофлуоресценције.
55 Применом методе RT PCR установљено је присуство генома вируса P13 код два узорка
56 носних брисева говеда која у инокулисаним културама ћелија нису изазвали
57 цитопатогене промене.

58 Методом директног секвенцирања по Сангеру добијене су секвенце дела F гена
59 8 домаћих сојева вируса P13 говеда. Добијене нуклеотидне секвенце су упоређиване са
60 одговарајућим нуклеотидним секвенцама изолованих сојева вируса параинфлуенце 3

1 које се налазе у генској бази података. Добијени резултати испитивања су показали
2 степен сличности између нуклеотидних секвенци домаћих сојева вируса P13 са
3 аналогним секвенцама сојева наведеног вируса објављеним у генској бази који се
4 кретао од 80% до 99%.

5 Методом директног секвенцирања утврђен је редослед нуклеотида дела HN
6 гена изолованих сојева вируса P13. Нуклеотидне секвенце изолованих сојева вируса на
7 подручју Републике Србије су упоређиване са одговарајућим секвенцама других сојева
8 наведеног вируса објављених у банци гена. Добијени резултати испитивања су
9 показали степен сличности између нуклеотидних секвенци домаћих сојева вируса P13
10 са аналогним секвенцама сојева наведеног вируса објављеним у генској бази који се
11 кретао од 79% до 99%.

12 Филогенетском анализом нуклеотидних секвенци делова F и HN гена
13 применом компјутерског програма MEGA 6, утврђено је да сви изоловани и
14 идентификовани сојеви вируса P13 пореклом из узорака носних брисева говеда са
15 територије Републике Србије, припадају генотипу C поменутог вируса.

16 У поглављу **Дискусија** кандидат је резултате својих испитивања упоређивао са
17 добијеним резултатима испитивања домаћих и страних аутора.

18 У поглављу **Списак литетратуре** аутор је навео списак од 65 радова домаћих и
19 страних аутора који обрађују податке о изолацији и идентификацији вируса
20 параинфлуенце 3.
21

22 **VI ЗАКЉУЧЦИ ИСТРАЖИВАЊА (навести закључке који су приказани у докторској**
23 **дисертацији):** На основу резултата добијених молекуларном карактеризацијом и
24 идентификацијом домаћих изолованих сојева вируса параинфлуенце 3 говеда (P13),
25 изведени су следећи закључци:

- 26 1. Методом изолације и вирус неутрализације на ћелијској линији MDBK из 119
27 испитиваних узорака носних брисева говеда са територије Републике Србије
28 изоловано је 6 сојева вируса параинфлуенце 3.
- 29 2. Методом директне имунофлуоресценције је потврђена идентификација
30 изолованих сојева вируса.
- 31 3. Испитивањем свих узорака носних брисева говеда методом ланчане реакције
32 полимеразае - RT PCR у којима претходно није утврђено присуство вируса P13
33 методама изолације вируса на култури ткива и директне имунофлуоресценције,
34 код два узорка је установљен геном вируса P13.
- 35 4. Методом директног секвенцирања по Сангеру добијено је осам секвенци делова
36 F и HN гена домаћих сојева вируса P13 говеда.
- 37 5. Све добијене секвенце вирусног генома су обрађене у „BLAST“ програму базе
38 гена (NCBI) и добијена је њихова нуклеотидна хомологија са секвенцама
39 регистрованих сојева вируса P13 говеда из банке гена која је износила 80-99%
40 за F ген, а 79-99% за HN ген.
- 41 6. На основу позиције секвенци F и HN гена на филогенетским стаблима,
42 установљено је да сојеви вируса P13 са територије Републике Србије, припадају
43 генотипу C.
44
45

46 **VII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА**
47 **(навести да ли су добијени резултати у складу са постављеним циљем и**
48 **задацима истраживања, као и да ли закључци произилазе из добијених**
49 **резултата):** Сви добијени резултати приказани у докторској дисертацији мр Љубише
50 Вељовића, дипломираног ветеринара под насловом „Молекуларна карактеризација
51 сојева вируса параинфлуенце 3 говеда изолованих на територији Републике Србије“су
52 у складу са постављеним циљем и задацима истраживања, а сви изведени закључци
53 произилазе из добијених резултата.
54

55 **VIII КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**
56

1 **1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријаву**
2 **теме?**

3 Докторска дисертација мр Љубише Вељовића, дипломираног ветеринара из
4 Београда, написана је у складу са образложењем претходно наведеним у пријави теме
5 и садржи све неопходне елементе прописане за завешену докторску дисертацију.
6

7 **2. Да ли дисертација садржи све елементе прописане за завршену докторску**
8 **дисертацију?**

9 Докторска дисертација мр Љубише Вељовића, дипломираног ветеринара из
10 Београда садржи све елементе прописане за завршену докторску дисертацију.
11

12 **3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?**

13 Докторска дисертација је резултат оригиналних истраживања које обухвата
14 молекуларну карактеризацију сојева вируса параинфлуенце 3 говеда изолованих на
15 територији Републике Србије. С обзиром да је у генској бази података пријављен веома
16 мали број нуклеотидних секвенци сојева вируса параинфлуенце 3 изолованих у
17 европским земљама, добијени резултати испитивања представљају значајне податке о
18 присуству и молекуларним карактеристикама сојева наведеног вируса изолованих код
19 говеда са подручја наше земље. Резултати добијени током израде докторске
20 дисертације су потврдили оправданост примене како стандардних тако и молекуларних
21 метода вирусолошке дијагностике у циљу прецизне идентификације и филогенетске
22 анализе изолованих сојева вируса што значајно доприноси бољем познавању
23 епизоотиолошке ситуације на територији Републике Србије и представља основу за
24 предузимање превентивних мера за успешну контролу обољења говеда изазваног
25 вирусом P13.
26

27 **IX ПРЕДЛОГ:**

28 На основу укупне оцене докторске дисертације мр Љубише Вељовића
29 дипломираног ветеринара из Београда, комисија предлаже да се докторска дисертација
30 прихвати, а кандидату одобри одбрана.
31

32
33
34 ДАТУМ
35 04.04.2016.године
36

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ:

37
38 _____
39 Др Ненад Милић ред. проф.
40 Факултет ветеринарске медицине
41 Универзитета у Београду
42

43
44 _____
45 Др Јаков Нишавић ван. проф.
46 Факултет ветеринарске медицине
47 Универзитета у Београду
48

49
50 _____
51 Др Дејан Крњајић ван. проф.
52 Факултет ветеринарске медицине
53 Универзитета у Београду
54

55
56 _____
57 Др Александра Кнежевић ван. проф.
58 Медицински Факултет
59 Универзитета у Београду
60