

ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

-обавезна садржина- свака рубрика мора бити попуњена

(сви подаци уписују се у одговарајућу рубрику, а назив и место рубрике не могу се мењати или изоставити)

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију 18.05.2016., Наставно-научно веће, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду, Сенат Универзитета у Новом Саду је дао сагласност на ову одлуку 23.06.2016.</p> <p>2. Састав комисије са знаком 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> <p>1. Др Александар Поткоњак, доцент, Ветеринарска микробиологија и заразне болести животиња, 13.06.2011, Пољопривредни факултет, Нови Сад- ментор;</p> <p>2. Др Драгица Стојановић, редовни професор, Фармакологија и токсикологија, Пољопривредни факултет, Нови Сад- Универзитет у Новом Саду-председник комисије</p> <p>3. Др Маја Велхнер, научни саветник, Микробиологија-вирусологија, Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“</p> <p>4. Др Душан Мишић, ванредни професор, Микробиологија са имунологијом, 2014, Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Ирина, Грујица, Мијатовић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 16.11.1969. Подгорица, Црна Гора</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Ветеринарски факултет, Универзитет у Београду, Ветеринарска медицина, Дипломирани ветеринар</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија Кандидаткиња је магистар наука и 02.02. 2016. је пријавила тему за израду докторске дисертације по прописима који су важили до 2005. године. Број пријаве теме 1143/1</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: Ветеринарски факултет, Универзитет у Београду „ Испитивање резистенције неких патогених</p>

бактерија изолованих од домаћих животиња на подручју Црне Горе“,

Микробиологија са имунологијом, 2006

Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: Микробиологија са имунологијом

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

„Молекуларна карактеризација и антимикуробна осетљивост сероваријетета врсте *Salmonella enterica* подврсте *enterica* изолованих од живине са подручја Црне Горе“.

Комисија констатује да је наведени наслов идентичан наслову у пријави теме за израду докторске дисертације и да није било промена у предложеном наслову.

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са знаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикона и сл. Докторска дисертација је написана на српском језику латиничним писмом на 161 страници компјутерски куцаног текста са проредом јасним и разумљивим стилем. Дисертација садржи 8 уобичајених поглавља: ПОГЛАВЉЕ УВОД је написано на 5 страница. Поголавље ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ је написано на 75 страница и има 6 подпоглавља. Поголавље ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСТРАЖИВАЊА је написано на 1 страници. Поголавље МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ је написано на 17 страница и има 9 подпоглавља. Поголавље РЕЗУЛТАТИ је написано на 27 страница и садржи 6 подпоглавља. Поголавље ДИСКУСИЈА је написано на 14 страница. Поголавље ЗАКЉУЧЦИ је написано на 2 станице. Поголавље ЛИТЕРАТУРА је написано на 18 страница и поседује 127 референци. Докторска дисертација је документована са 19 слика, 17 табела, једним графиконом и једним дендограмом. Дисертација садржи кратак садржај на српском и енглеском језику и 4 прилога (биографију и три изјаве).

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Увод. Поглавље је написано на 5 страница. У уводу је описан предмет истраживања који је и наведен у пријави теме за израду докторске дисертације испитивања присуства сероваријетета салмонела на три локалитета фарми живине, север, централни део и југ, у Црној Гори, њихова изолација и идентификација применом класичних и молекуларних метода. Наводи се такође значај салмонела у настанку инфекција код људи и животиња, њене улоге као контаминента у храни за људе и животиње која постаје извор овог узрочника. Комисија сматра да је увод јасан, прецизан и довољан за разумевање предмета истраживања.

Преглед литературе. Поглавље је написано на 75 страница и има 6 подпоглавља (Историјат, и Инфекција вирусом имунодефицијенције мачака). На основу одабраних референци у поглављу, кандидаткиња је систематизовала досадашња знања и научне чињенице о салмонелама, инфекцијама које изазивају код људи и животиња и указала на потребу даљих истраживања када су у питању новије методе и бржа дијагностика, значајна у епидемијама салмонелоза. Такође значајна су запажања о предностима и недостацима коришћених метода, као и молекуларним методама које се све више развијају када је у питању откривање гена резистенције код салмонела и спречавање ширења резистентних клонова који представљају ризик за настанак инфекција. Комисија сматра да је Преглед литературе написан врло детаљно, да су представљена сва досадашња знања и научне чињенице, као и да је коректно дефинисана потреба за даљим истраживањем у овој области.

Поглавље Циљ и задаци истраживања написано је на 1 страници.

Имајући у виду податке из цитиране литературе као и сопствена прелиминарна искуства о наведеној проблематици која је актуелна и у Црној Гори, циљ истраживања ове докторске дисертације био је испитивање присуства бактерија из рода *Salmonella* на одређеном броју фарми живине на територији Црне Горе, што подразумева њихову изолацију и идентификацију, молекуларну карактеризацију, као и испитивање њихове осетљивости на антибиотике и хемиотерапеутике.

Ради остварења постављеног циља, дефинисани су следећи задаци:

1. Изолација и идентификација сероваријетета врсте *Salmonella enterica* подврсте *enterica* које су присутне у узорцима пореклом од живине на подручју Црне Горе применом класичних бактериолошких метода култивисања препоручених од стране OIE (World Organisation for Animal Health, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2015), као и према стандарду MEST EN ISO; 6579:2008:Annex D.

2. Молекуларна карактеризација изолата врсте *Salmonella enterica* подврсте *enterica* применом методе молекуларне биологије мултиплекс PCR, а према референци Zhu, C., Yue, M., Rankin, S., Weill, F. X., Frey, J., & Schifferli, D. M. (2015), као и применом методе електрофорезе у пулсиратујућем пољу струје (PFGE), а према CDC protokolu „Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*“.

3. Испитивање осетљивости изолата салмонела на антибиотике који се користе у клиничкој пракси применом диск дифузионе методе препоручене од стране CLSI (Clinical and laboratory standards Institute, USA) као и одређивање минималних инхибиторних концентрација (MIC) антибиотика применом VITEK 2 Systems Version:07.01

Комисија констатује да су идентични циљеви били наведени у пријави теме за израду докторске дисертације као и да су спроведеним истраживањем остварени у потпуности.

Поглавље Материјал и методе истраживања је написано на 15 страница и има 9 подпоглавља. Узорковање је вршено на фармама кока носиља и бројлера из три епизоотиолошке јединице (север, централни део Црне Горе и приморје). У свим регионима узети су узорци са три фарме (клоакални брисеви, фецеси, угинула пилад) Након примоиолације салмонела из наведеног материјала, одабрани су изолати салмонела за даља планирана испитивања. Као материјал за испитивање коришћени су узорци фецеса, клоакални брисеви, транспортна угинућа, цели лешеви, назувци, простирке, брисеви површина. Изолација је вршена и из клиничког материјала достављеног у Специјалистичку Ветеринарску Лабораторију у Подгорици. За изолацију и идентификацију испитиваних сојева коришћен је већи број хранљивих подлога - Пуферизована пептонска вода (Охоид), Модификовани полутечни Рапапорт-Василиадис МСРВ медиум (Охоид),

ХЛД агар (Охоид), Хранљиви агар (Охоид), Брилијант зелени агар (Охоид), ТТЦ полутечни агар са додатком 2,3,5 трифенил-тетразолиум хлорида, Хуг-Леифсон подлога (Мерк), Криглеров троструки шећер (Охоид). Током идентификације, испитиван је велики број биохемијских реакција и других конвенционалних лабораторијских тестова и за те сврхе предвиђених подлога и реагенса (Охид траке – Охоид, Индол, Метил црвено, Вогес-проскауер-Охоид, Симмонс цитрат агар- Мерк, Кристенсен уреа агар-Охоид, Хранљиви желатин –Охоид, итд.). Осим тога као потврда идентификацији коришћен је и аутоматски идентификациони систем АПИ 20Е произвођача bioMerieux.. За серолошку типизацију Салмонелла врста употребљени су специфични поливалентни серуми произвођача Stetens Serum Institut - Denmark. Ради испитивања осетљивости изолованих сојева бактерија на антибиотике примењиван је Милер Хинтон агар (Охоид). За испитивање осетљивости бактерија применом диск дифузионе методе коришћени су антибиограм дискови (Охоид). Сероваријететима *Салмонелла* испитивана је осетљивост на ампицилин, амоксицилин са клавуланском киселином, цефтриаксон, цефуроксим, цiproфлоксацин, клоксацилин, имипенем, тетрациклин, триметоприм са сулфаметоксазолом, цефотаксим, стрептомицин и енрофлоксацин. Провера присуства β лактамаза проширеног спектра деловања у ESBL тесту, коришћени су дискови цефтазидима, цефотаксима и амоксицилина са клавуланском киселином. Током испитивања коришћени су и контролни референтни сојеви *Salmonella enterica* сероваријетет Enteritidis ATCC 13076 и *Salmonella enterica* сероваријетет Typhimurium 14028 (Termo Scientific, Lenexa-USA). Аутоматски систем VITEK 2 коришћен је за брзу идентификацију бактерија, као и за брзу израду теста осетљивости на антимикробне лекове на бази Испитивање изолата *Salmonella enterica* подврсте *enterica* молекуларном методом мултиплекс PCR и електрофорезом у пулсном струјном пољу (PFGE). Комисија констатује да написано поглавље материјал и методе у потпуности одговара написаној и прихваћеној пријави теме за израду докторске дисертације и да је на основу овог истраживања, применом коректног материјал и метода рада било могуће добити валидне резултати и закључке истраживања.

Поглавље **Резултати истраживања** је написано на 27 страница и има 6 подпоглавља.

Од обрађених узорака изоловано је 135 сероваријетета *Salmonella enterica* подврсте *enterica*, а за детаљнија испитивања молекуларним методама мултиплекс PCR и електрофорезом у пољу једносмерне струје (PFGE) одабрано је педесет изолата сразмерно величини фарме и учесталости налаза појединих изолата.

На свим испитиваним фармама живине у Републици Црној Гори установљено је присуство само 4 сероваријетета врсте *Salmonella enterica* subspecies *enterica* и то: Enteritidis, Infantis, Typhimurium и Gallinarum. Од два детектована соја *Salmonella enterica* subspecies *enterica*, сероваријетет Gallinarum, један је припадао биотипу Gallinarum, а други биотипу Pullorum. Сојеви *Salmonella enterica* subspecies *enterica* сероваријетет Gallinarum биотип Gallinarum и биотип Pullorum нису могли бити детектовани применом серолошке реакције аглутинације на плочици, већ само применом методе мултиплекс PCR. Код соја *Salmonella enterica* subspecies *enterica* сероваријетет Gallinarum биотип Gallinarum нађена су три амплификована генска фрагмента од којих један од 993 bp одговара гену *bcfC* други од 636 bp одговара гену *steB* и трећи од 402 bp одговара гену *rhs*. Код соја *Salmonella enterica* subspecies *enterica* сероваријетет Gallinarum биотип Pullorum нађена су два амплификована генска фрагмента од којих један од 993 bp одговара гену *bcfC*, а други од 402 bp одговара гену *rhs*.

Код свих сојева *Salmonella enterica* subspecies *enterica* сероваријетет Enteritidis методом мултиплекс PCR. нађена су три амплификована генска фрагмента од којих један од 993 bp одговара гену *bcfC*, други од 636 bp одговара гену *steB* и трећи од 293 bp одговара гену *sdg*. Након дигестије 50 изолата *Salmonella enterica* subspecies *enterica* одабраних према локалитетима и заступљености помоћу *SpeI* рестриктоног ензима и њиховом анализом помоћу PFGE утврђено је 5 различитих *SpeI* пулсотипова. Код испитиваних сојева салмонела није установљено присуство β лактамаза проширеног спектра деловања (ESBL). Код 10% испитиваних сојева установљена је резистенција на тетрациклин и стрептомицин. Сви испитивани сероваријетети салмонела били су осетљиви на амоксицилин са клавуланском киселином, енрофлоксацин, цiproфлоксацин, сулфаметоксазол-триметоприм, цефуроксим, цефтриаксон и норфлоксацин.

Сви добијени резултати приказани су текстуално, путем слика, табеларно и графички. Комисија сматра да су овако приказани резултати научно валидни и тачни.

Дискусија. Поглавље је написано на 15 страница. У овом поглављу кандидаткиња је дала критички осврт упоређујући своја истраживања са истраживањима цитираних аутора. Комисија сматра да је поглавље коректно написано.

Закључци. Поглавље је написано на 2 станице. Кандадаткиња је на основу обављених истраживања и добијених резултата извела 10 закључака.

Литература. Поглавље је написано на 17 страница и садржи 127 референци које је користила током израде дисертације, значајно проширивши листу референци у односу на референци које је навела у пријави теме за израду 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. Stojanov I, Stojanović Dragica, Milić N, Živkov Baloš Milica, Kapetanov M, Ašanin N, **Џогурић Irina.** (2011) Influence of Salmonella infection in chickens on the outcome of Campylobacteriosis in experimental Conditions, Acta Veterinaria, Beograd, Vol. 61, No. 1, Pp. 57-56. **M23**
2. **Filipović Irina,** Mišić D, Ašanin Ružica. (2007) Investigation of the presence of extended spectrum beta-lactamases (ESBL) in multiresistant strains of *E.coli* and *Salmonella* species originated from domestic animals, Acta veterinaria, Beograd, Vol 57, No 4, Pp. 369-379. **M23.**

Кандидаткиња је магистар наука и пријавила је тему за израду докторске дисертације по прописима који су важили до 2005. године.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу спроведеног истраживања и добијених резултата изведени су следећи закључци:

1. На свим испитиваним фармама живине у Републици Црној Гори установљено је присуство само 4 сероваријетета врсте *Salmonella enterica* subspecies *enterica* и то: Enteritidis, Infantis, Typhimurium i Gallinarum.
2. Од два детектована соја *Salmonella enterica* subspecies *enterica*, сероваријетет Gallinarum, један је припадао биотипу Gallinarum, а други биотипу Pullorum.
3. Сојеви *Salmonella enterica* subspecies *enterica* сероваријетет Gallinarum биотип Gallinarum и биотип Pullorum нису могли бити детектовани применом серолошке реакције аглутинације на плочици, већ само применом методе мултиплек PCR.
4. Код соја *Salmonella enterica* subspecies *enterica* сероваријетет Gallinarum биотип Gallinarum нађена су три амплификована генска фрагмента од којих један од 993 bp одговара гену *bcfC* други од 636 bp одговара гену *steB* и трећи од 402 bp одговара гену *rhs*.
5. Код соја *Salmonella enterica* subspecies *enterica* сероваријетет Gallinarum биотип Pullorum нађена су два амплификована генска фрагмента од којих један од 993 bp одговара гену *bcfC*, а други од 402 bp одговара гену *rhs*.
6. Код свих сојева *Salmonella enterica* subspecies *enterica* сероваријетет Enteritidis методом мултиплек PCR. нађена су три амплификована генска фрагмента од којих један од 993bp одговара гену *bcfC*, други од 636 bp одговара гену *steB* и трећи од 293 bp одговара гену *sdf*.
7. Након дигестије 50 изолата *Salmonella enterica* subspecies *enterica* одабраних према локалитетима и заступљености помоћу *SpeI* рестрикционог ензима и њиховом анализом помоћу PFGE утврђено је 5 различитих *SpeI* пулсотипова.
8. Код испитиваних сојева салмонела није установљено присуство β лактамаза проширеног спектра деловања (ESBL).
9. Код 10% испитиваних сојева установљена је резистенција на тетрациклин и стрептомицин.
10. Сви испитивани сероваријетети салмонела били су осетљиви на амоксицилин са клавуланском киселином, енрофлоксацин, ципрофлоксацин, сулфаметоксазол-триметоприм, цефуроксим, цефтриаксон и норфлоксацин.

Комисија се слаже са наведеним закључцима који су реални и добијени из валидних резултата, применом савремене научне методологије.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

У овом поглављу су прецизно и тачно представљени: Резултати изолације и идентификације бактерија из рода *Salmonella*, серолошка детерминација, испитивања осетљивости на антибиотике који се користе у клиничкој пракси сероваријетета врсте *Salmonella enterica* subspecies *enterica* изолованих од живине са фарми на различитим локалитетима, Резултати осетљивости *Salmonella* применом Vitek апарата, Резултати испитивања присуства β лактамаза проширеног спектра деловања, Резултати молекуларне карактеризације *Salmonella enterica* subspecies *enterica* добијени применом методе мултиплек PCR. Резултати анализе изолата *Salmonella enterica* subspecies *enterica* добијени применом агар гел електрофорезе у пулсирајућем пољу једносмерне струје (PFGE)
Сви резултати су приказани текстуално, табеларно, сликама и графиконима и сви су детаљно анализирани. Комисија сматра да су овако приказани резултати научно валидни и тачни. Комисија даје позитивну оцену начина приказа и тумачења резултата овог истраживања.

<p>IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ: Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:</p>
<p>1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме Докторска дисертација кандидаткиње мр Ирине Мијатовић је у потпуности написана са образложењем наведеним у пријави теме број 1143/1 од 02.02.2016.</p>
<p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе Докторска дисертација кандидата мр Ирине Мијатовић садржи све битне елементе предвиђене у структури докторске дисертације, као и у изведеном истраживању.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци</p> <p>У овом истраживању доказано је присуство сероваријетета салмонела врсте <i>Salmonella enterica</i> подврсте <i>enterica</i> на свим фармама живине које су биле обухваћене испитивањем без обзира на локалитет. Посебан допринос представља идентификација сероваријетета салмонела применом методе мултиплекс PCR које класичним методама и серотипизацијом нису биле идентификоване а припадају најмање заступљеним сероваријететима <i>Salmonella Galinarum</i> biotip <i>Gallinarum</i> i <i>Salmonella Galinarum</i> biotip <i>Pullorum</i>. Применом електрофорезе у пулсном струјном пољу (PFGE) утврђено је присуство пет различитих <i>SpeI</i> пулсотипова. Ова истраживања су први пут рађена у Црној Гори, када су у питању изолати салмонела од живине, и представљају основ за даља испитивања карактеризације изолата молекуларним методама.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања Комисија сматра да не постоје недостаци у докторској дисертацији кандидата мр Ирине Мијатовић.</p>
<p>X ПРЕДЛОГ:</p>
<p>На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:</p>
<p>да се докторска дисертација под насловом „Молекуларна карактеризација и антимикробна осетљивост сероваријетета врсте <i>Salmonella enterica</i> подврсте <i>enterica</i> изолованих од живине са подручја Црне Горе“.</p> <p>прихвати, а кандидату мр ИРИНИ МИЈАТОВИЋ одобри одбрана</p>

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

1. др Александар Поткоњак, доцент-ментор
2. др Драгица Стојановић, редовни професор,
3. др Маја Велхнер, научни саветник
4. др Душан Мишић, ванредни професор