

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE 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 22.05.2017., Наставно-научно веће Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду</p> <p>2. 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> <p>1. Др Весна Лалошевић, редовни професор, у.н.о. Ветеринарска микробиологија и заразне болести животиња, 01.08.2013., Пољопривредни Факултет, Универзитет у Новом Саду</p> <p>2. Др Олгица Ђурковић Ђаковић, научни саветник, у.н.о. Микробиологија са паразитологијом, 23.12.1998., Институт за медицинска истраживања, Универзитет у Београду</p> <p>3. Др Ивана Клун, виши научни сарадник, у.н.о. Паразитологија, 01.03.2017., Институт за медицинска истраживања, Универзитет у Београду</p> <p>4. Др Неђељко Карабасил, ванредни професор, у.н.о. Хигијена и технологија меса, 03.12.2013., Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду</p> <p>5. Др Бојан Благојевић, доцент, у.н.о. Болести животиња и хигијена намирница анималног порекла, 14.11.2013., Пољопривредни Факултет, Универзитет у Новом Саду</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Љиљана, Зоран, Куруца</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 15.01.1984., Сплит, Република Хрватска</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Пољопривредни факултет Универзитета у Новом Саду, Ветеринарска медицина, доктор ветеринарске медицине</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2011., Ветеринарска медицина</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -</p>
<p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -</p>
III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:
<p>„Инфекција паразитом <i>Toxoplasma gondii</i> код свиња: серолошки, паразитолошки и</p>

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикона и сл.

Кратак садржај

Захваљујући глобалној дистрибуцији, широком спектру прелазних домаћина и способности да паразитира унутар готово сваке ћелије са једром, *Toxoplasma gondii* представља једног од најуспешнијих паразита људи и животиња. Код имунокомпетентних особа, инфекција токсоплазмозом у већини случајева пролази асимптоматски, док код имунокомпромитованих особа може имати озбиљне, чак смртоносне, последице, а код трудница довести до абортуса или рођења конгенитално инфициране деце. Важан извор инфекције за људе представља термички недовољно обрађено месо инфицираних производних животиња, нарочито свиња, које представљају једну од врста из чијих ткива је паразит најчешће изолован.

У Србији је од шездесетих година прошлог века спроведено више истраживања у којима је потврђено присуство антитела против *T. gondii* код домаћих свиња. Инфективни паразити су изоловани из крви серопозитивних свиња, као и из мозга и срца свиња непознатог серолошког статуса. Ова дисертација представља прву студију која се бавила испитивањем присуства везе између налаза IgG антитела против *T. gondii* у серуму и вијабилних циста у јестивим ткивима свиња.

У ту сврху, на присуство специфичних антитела је (методом модификоване аглутинације, МАТ) испитано 200 свиња из три различита система узгоја (комерцијалне фарме, домаћинства и слободно). Ткива серопозитивних, и неких серонегативних, свиња су затим испитана на присуство циста, биолошким огледом (БО) и/или молекуларним методама (qPCR). Антитела против *T. gondii* су пронађена код укупно 21,5% свиња, што се може сматрати средње високом вредношћу у поређењу са другим европским земљама. Антитела су у већем проценту пронађена код слободно држаних свиња (66,7%), него код фармских свиња (17,8%) и свиња из домаћинства (16,3%), међу којима није било разлике у серопреваленци. На присуство циста је, барем једном од две методе (БО, qPCR), прегледано укупно 59 свиња и паразит је пронађен у 19 случајева. Од тога, вијабилна *T. gondii* је доказана у 12 случајева, што чини 6% свих серолошки испитаних свиња у овој студији. Сви добијени изолати *T. gondii*, осим једног, потицали су од серопозитивних свиња, међутим, веза између титра антитела и степена изолације није доказана.

За потребе генотипизације, 18 од 19 узорака у којима су доказане цисте *T. gondii* испитано је методом анализе полиморфизма дужина рестрикционих фрагмената заснованој на мултиплекс „nested“ PCR-у (Mn-PCR-RFLP), помоћу шест генских маркера (alt. SAG2, BTUB, GRA6, C22-8, PK1 и Apico). Одређивање генотипа је било могуће за укупно девет изолата *T. gondii*; два изолата су идентификована као тип III, а седам као тип II, чиме су добијени прве подаци о популационој структури *T. gondii* код домаћих свиња у Србији, који су у складу са претходним налазом типова II и III код оваца, голубова и коња.

У закључку, налаз специфичних антитела код свиња из различитих система узгоја и демонстрација инфективних циста у њиховим јестивим ткивима, потврђују значај свињског меса као потенцијалног извора хумане инфекције са *T. gondii*. Висок проценат серопозитивности и изолације утврђен код традиционално гајених мангулица сугерише да би приликом производње и припреме меса и месних производа пореклом од ових свиња требало посветити посебну пажњу мерама инактивације циста *T. gondii*. Одсуство корелације између висине титра антитела и степена изолације *T. gondii* из ткива испитаних свиња, као и налаз живих циста у ткивима серонегативних животиња, указују на то да се серолошки статус свиња не може сматрати поузданом мером безбедности њиховог меса. Налаз типа II, а посебно типа III код свиња, представља важан допринос познавању популационе структуре *T. gondii* код производних животиња у Србији.

Докторска дисертација садржи 9 поглавља, 125 страна, 26 слика, 16 табела, 1 графикон, 347 референци, 4 прилога, оригинал на српском језику и кратак садржај на српском и енглеском језику. Дисертација садржи обавезна поглавља: кратак садржај, увод, преглед литературе, циљ и задаци рада, материјал и методе, резултати, дискусија, закључак, литература и прилози.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Кратак садржај - кратак садржај написан је на српском и енглеском језику, представља сажет и јасан општи преглед дисертације. Из њега се може стећи јасна слика проблема, главних налаза и кључних закључака ове дисертације.

Наслов рада – јасно формулисан, прецизан и у складу са тематиком и садржајем дисертације.

Увод – на почетку овог поглавља је направљен кратак осврт на таксономију, животни циклус, распрострањеност и карактеристике популационе структуре паразита *Toxoplasma gondii*. Након тога је указано на последице хумане инфекције токсоплазмозом и истакнут њен значај као алиментарног патогена. Објашњен је значај свиња као извора хумане инфекције токсоплазмозом и укратко изнети резултати постојећих сероепидемиолошких и изолационих студија изведених на свињама, са акцентом на студије изведене у Србији. На крају увода су наведени најважнији циљеви дисертације.

Комисија сматра да је у уводу јасно наговештена и оправдана тема испитивања, исти је написан разумљиво и пружа уводне напомене актуелне проблематике истраживања.

Преглед литературе – Преглед литературе је адекватан и свеобухватан, и даје основу за разумевање проблематике истраживања којом се дисертација бави. Садржи потпун приказ етиологије токсоплазмозе, уз опис епизоотиологије, клиничке слике код људи и свиња, имунског одговора домаћина, генетске разноврсности популације паразита, актуелне дијагностике и терапије. Посебна пажња је посвећена значају свињског меса као извора инфективних циста *T. gondii* и ефикасности расположивих контролних мера од фарме до потрошача. Осим тога, дат је преглед директних и индиректних метода које се могу користити за потребе детекције инфицираних свиња, уз кратак осврт на њихове могућности и ограничења.

Научна хипотеза и циљ рада – у овом поглављу су на јасан и логичан начин изнети разлози који ово испитивање чине актуелним и у складу са тим јасно дефинисани задаци дисертације.

Материјал и методе - Материјал и методе су наведене прецизно и систематично, тако да пружају могућност поновљивости анализа и огледа. Истраживања су спроведена у Националној референтној лабораторији за токсоплазмозу, Института за медицинска истраживања у Београду, Лабораторији за паразитологију Департамента за ветеринарску медицину, Пољопривредног факултета у Новом Саду и лабораторијама Завода за антирабичну заштиту „Пастеров завод“ у Новом Саду

Методе коришћене у овој дисертацији имале су за циљ серолошко, биолошко и молекуларно испитивање одабране групе свиња на присуство *T. gondii*.

Величина узорка је дефинисана као најмањи број животиња који је потребан за процену преваленце антитела против *T. gondii* код свиња са територије северне Србије и израчуната је коришћењем софтверског пакета Win Episcorpe 2.0., на основу података Републичког завода за статистику о укупном броју свиња на територији северне Србије и раније забележених преваленци серопозитивних свиња на територији северне Србије и Београда. Узорци су сакупљани од свиња кланичног узраста, гајених на комерцијалним фармама, у домаћинствима и у слободним системима држања.

Све свиње су најпре испитиване серолошки, методом модификоване аглутинације (МАТ, гранични титар 1:25), са циљем да се ткива инфицираних (серопозитивних) јединки даље испитају на присуство паразита биолошким огледом (БО) и молекуларним методама (qPCR). За потребе повећања осетљивости ових метода, узорци су пре анализе подвргавани вештачкој трипсинској дигестији, која је требала да обезбеди ослобађање и концентрацију евентуално присутне *T. gondii* у узорцима ткива. Добијени дигести су затим инокулисани у по два Swiss Webster лабораторијска

миша, чији серуми су по истеку огледа испитивани на присуство специфичних антитела, а мозгови на присуство циста, као доказ изолације. Дигести меса свиња, за које је постављен биолошки оглед, испитани су затим на присуство генетског материјала *T. gondii* qPCR-ом. Детекција ДНК вршена је умножавањем дела 529 бп региона (GenBank accession number AF146527), помоћу прајмера HO1 (*forward*) и HO2 (*reverse*). Детектовани сојеви су на крају испитивани методом анализе полиморфизма дужина рестрикционих фрагмената заснованој на мултиплекс „*nested*“ PCR-у (Mn-PCR-RFLP) помоћу шест генских маркера (alt. SAG2, BTUB, GRA6, C22-8, PK1 и Apico), ради покушаја сврставања сојева у неки од познатих клонских типова. Статистичка обрада података је извршена помоћу софтвера IBM SPSS Statistics 19 и *EpiTools online* епидемиолошког калкулатора.

Коришћени материјал и методе за испитивање одговарају савременим методама и у складу са постављеним циљевима и задацима.

Резултати испитивања – Резултати испитивања приказани су темељно и јасно уз коришћење табела, слика и графикана. Редослед приказаних резултата прати ток научног истраживања. Најпре су приказани подаци о животињама од којих су сакупљени узорци, након чега су изнети резултати испитивања серума свиња на присуство специфичних IgG антитела против *T. gondii*. Резултати серолошког испитивања су приказани у односу на порекло и начин држања животиња, а за сваку од комерцијалних фарми је презентован организациони и зоохигијенски профил. Следе резултати биолошког огледа и њихово поређење са серолошким статусом испитаних свиња, а затим и резултати qPCR-а, презентовани посебно, као и у склопу серолошких и паразитолошких налаза. На крају су изнети резултати генотипизације, са приказом изгледа добијених фрагмената на гелу за сваки од шест употребљених маркера. Резултати статистичке анализе су наведени у склопу поглавља на која су се односили.

Може се закључити да су налази по постављеним задацима јасно приказани, научно значајни и потпуно разумљиви. Комисија сматра да су резултати оригинални и реално приказани, јасни за интерпретацију. Примењене методе статистичке обраде података су сврсисходне, прецизне и адекватне.

Дискусија - Дискусија је свеобухватна и јасно написана и у њој се дотичу сви резултати из дисертације. Резултати су тумачени у складу са најновијим сазнањима из обрађене области и размотрени у светлу досадашњих истраживања. У дискусији нису утврђене нелогичности.

Закључак - Изложени закључци потпуно су у складу са задацима и циљевима испитивања и правилно су изведени из добијених резултата. Закључци изведени из добијених резултата су значајни за науку и праксу.

Литература - Коришћена литература је савремена и правилно одабрана према захтевима теме која се разматра.

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

M23

Kuruca, L., Spasojevic-Kosic, L., Simin, S., Savovic, M., Laus, S., Lalošević, V. (2013). *Neospora caninum* antibodies in dairy cows and domestic dogs from Vojvodina, Serbia. Parasite, 20:40.

M51

Kuruca, L., Klun, I., Uzelac, A., Nikolić, A., Bobić, B., Simin, S., Djurković-Djaković, O., Lalošević, V., (2016). Detection of viable *Toxoplasma gondii* in free-range pigs from the Special Nature Reserve of Zasavica. Contemp. Agric. 65, 1–6.

Lalošević, V., **Kuruca, L.J.,** Simin, S. : Pork as a source of human infection with *Toxoplasma*

Kuruca, L.J., Simin, S., Savović, M, Lalošević, V.: *Toxoplasma gondii* in pigs from Bačka district, Serbia: a serological study. First Euro-Regional Conference on Parasitic Zoonoses, Timisoara, Romania, 16-18 October 2014, Abstract Book, p.31.

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01.јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

1. Присуство антитела против *T. gondii* је доказано код 21% од укупно 200 испитаних свиња, што се може сматрати умерено високом вредношћу у поређењу са резултатима добијеним у другим европским земљама.
2. Серопозитивне свиње су пронађене у свим системима узгоја, при чему је највиша серопреваленца детектована код свиња из слободног система држања.
3. *T. gondii* и/или ДНК *T. gondii* су доказане у 32,2% испитаних узорака ткива. Инфективне цисте су потврђене код 24% свиња за које је постављен биолошки оглед, што чини 6% свих серолошки испитаних свиња у овој студији.
4. Није показана веза између висине титра антитела против *T. gondii* и степена изолације паразита из меса инфицираних животиња, иако је 75% добијених изолата потицало од свиња чији је титар IgG антитела износио $\geq 1:100$.
5. *T. gondii* је откривена и у месу серонегативних свиња и то у три случаја само детекцијом ДНК, а у једном случају доказане су и инфективне цисте.
6. Висок проценат серопозитивности (66,7%) и изолације (50% тестираних тј. 16,7% укупног узорка) доказан код традиционално гајених мангулица, сугерише да би приликом производње и припреме меса и месних производа пореклом од ових свиња требало посветити посебну пажњу мерама инактивације циста *T. gondii*. Ипак, за боље разумевање улоге ове категорије свиња као резервоара *T. gondii*, неопходно је спровести даља истраживања, на већем узорку животиња.
7. Генотипизацији су подвртнути узорци укупно 18 свиња, у којима је доказана жива токсоплазма и/или њена ДНК. Одређивање клонског типа је било успешно у случају девет изолата, од којих је седам припадало типу II, а два типу III. Добијени резултати представљају прве податке о популационој структури *T. gondii* код домаћих свиња у Србији, и у складу су са претходним налазом типова II и III код оваца, голубова и коња. Осим тога, налаз два изолата типа III у релативно малом узорку свиња из ове студије, уз податке о изолацији истог типа из голуба и коња у Србији, говори у прилог тврдњи да је учесталост изолације типа III у медитеранским и околним земљама чешћа у односу на остатак Европе.

Налаз специфичних антитела код свиња из различитих система узгоја и демонстрација инфективних циста у њиховим јестивим ткивима, потврђују значај свињског меса као потенцијалног извора хумане инфекције са *T. gondii*. У прилог овоме говори и велика заступљеност типа II, која је утврђена код свиња у овој студији, а која је примећена и код људи у Србији. Одсуство корелације између висине титра антитела и степена изолације *T. gondii* из ткива испитаних свиња, као и налаз живих циста у ткивима серонегативних животиња указује на то да се серолошки статус свиња не може сматрати поузданом мером безбедности њиховог меса.

<p>VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.</p>
<p>Резултати испитивања приказани су јасно, како кроз текстуални део тако и помоћу табела, графикана и слика. Коришћене методе су одговарајуће. Резултати су логично тумачени. Због наведених чињеница приказ и тумачење резултата оцењују се позитивно.</p>
<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 Дисертација је написана потпуно у складу са образложењем наведеним у пријави теме.</p>
<p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе Дисертација је потпуна и садржи све битне елементе научно-истраживачког рада на основу којих би се истраживање могло поновити.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци Дисертација представља прву студију у нашој земљи која се бавила испитивањем присуства везе између налаза IgG антитела против <i>T. gondii</i> у серуму свиња и вијабилних циста у њиховим јестивим ткивима. Она такође даје прве податке о присуству овог паразита код традиционално гајених мангулица. Коначно, генотипизацијом изолованих сојева, добијени су први подаци о популационој структури <i>T. gondii</i> код домаћих свиња у Србији.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања Дисертација је урађена у планираном оквиру и нема недостатака.</p>
<p>X ПРЕДЛОГ: На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:</p>
<p>На основу оцене дисертације, комисија предлаже да се докторска дисертација Љиљане Куруца под насловом „Инфекција паразитом <i>Toxoplasma gondii</i> код свиња: серолошки, паразитолошки и молекуларни налази као параметри безбедности меса“ прихвати, а да се кандидату одобри одбрана.</p>

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Др Весна Лалошевић,
редовни професор

Др Олгица Ђурковић-Ђаковић,
научни саветник

Др Ивана Клун,
виши научни сарадник

Др Неђељко Карабасил,
ванредни професор

Др Бојан Благојевић,
доцент

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.