

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ**  
**Природно-математички факултет**

**ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**  
**КАНДИДАТА ПЕТРУШИЋ МИЛИВОЈА**

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију 15.06.2017., Наставно-научног веће Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду.</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><b>Др Маја Караман</b>, ванредни професор, уже научна област: Микробиологија, датум избора: 15.05.2015., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, председник комисије.</p> <p><b>Др Драган Радновић</b>, редовни професор, уже научна област: Микробиологија, датум избора: 15.10.2011., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, ментор</p> <p><b>Др Сава Лазих</b>, научни саветник, уже научна област: Микробиологија и заразне болести (вирусологија, имунологија), датум избора: 07.10.2004., Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“, ментор</p> <p><b>Др Ивица Тамаш</b>, научни сарадник, уже научна област: Микробиологија, датум избора: 21.12.2016., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, члан комисије</p>
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Миливоје Васиљ Петрушић</b></p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 04.01.1984., Нови Сад, Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Природно-математички факултет Универзитета у Новом Саду, Дипломске академске студије биологије, Дипломирани биолог - мастер</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2010. година, Доктор наука – Биолошке науке</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>
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
<p><b>„Присуство бактерије <i>Plesiomonas shigelloides</i> у површинским водама Панонске низије и изолација и карактеризација њених специфичних фага“</b></p>
<b>IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
<p>Навести кратак садржај са знаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикана и сл.</p> <p>Докторска дисертација „Присуство бактерије <i>Plesiomonas shigelloides</i> у површинским водама Панонске низије и изолација и карактеризација њених специфичних фага“ кандидата Миливоја Петрушића написана је на 151 страни текста, при чему је теза подељена у 9 поглавља: Увод – 1</p>

страна, Општи део – 31 страна, Циљеви истраживања – 1 страна, Материјал и методе – 24 стране, Резултати – 33 стране, Дискусија – 21 страна, Заључак – 4 стране, Литература – 26 страна и Прилози – 10 страна. Поред тога, у докторској тези се налазе и захвалница, садржај, листа табела, листа илустрација и графика, листа скраћеница, биографија кандидата и кључна документацијска информација на српском и енглеском језику. Рад садржи 36 слика, 12 графикона, 24 табеле, 7 прилога и 348 литературних навода.

У уводном делу је изложена је основна проблематика која је везана за значај бактерије *Plesiomonas shigelloides* као опортунистичког патогена, проблеме које изазивају инфекције изазване овом бактеријом и указано је на спорадична сазнања о њеној распрострањености у умереној климатској зони. Посебно је истакнуто да бактериофаги специфични за ову врсту бактерије могу представљати значајне агенсе у контроли њеног раста што до сада није забележено у научној литератури. Након прегледа актуелне литературе која је везана за биологију бактерије *P. shigelloides* у општем делу у следећем поглављу јасно су формулисани циљеви ове дисертације. У овом раду су примењене савремене методе приликом изолације, и одређивања фенотипских и генотипских својстава бактеријских сојева изолованих из различитих водних тела који се налазе у Панонској низији. Такође су описане и примењене савремене методе које су коришћене приликом изолације и детаљне карактеризације бактериофага специфичних за врсту *Plesiomonas shigelloides*. Током истраживања утврђена је преваленца бактеријске врсте *Plesiomonas shigelloides* у површинским водама на територији Панонске низије. Са укупно 28 локалитета изоловано је укупно 37 сојева који су показали значајну генетичку варијабилност и то до тог нивоа да клонална идентичност није регистрована ни међу изолатима из истог узорка. Бактеријски изолати врсте *P. shigelloides* нису показали способност стварања биофилма на површинама од полистирена, док је слаба продукција забележена на површинама од боросиликата. Способност потпуне хемоллизе овчијих еритроцита показали су сви испитивани сојеви што указује на потенцијално патогена својства изолованих сојева бактерије *P. shigelloides* будући да присуство хемолизина повећава инвазивност бактеријских ћелија. Сви испитивани сојеви су активно покретни, могу да врше хидролизу ДНК, док је способност липолитичке активности показало свега 13,5% изолата. У погледу односа према испитиваним антибиотицима највећи степен резистенције изоловане бактерије су показале према пеницилиним, затим према аминокликозидима, док су на остале испитиване антибиотике сви изолати били осетљиви. Резултати су показали да ова бактеријска врста егзистира у површински водама Панонске низије што указује да би она могла имати распрострањење ван тропске и суптропске регије. Све чешћа изолација ове бактерије из површинских вода умереног појаса могла би бити последица глобалног загревања. У овој докторској дисертацији су по први пут изоловани *Plesiomonas shigelloides* специфични бактериофаги. Четири соја бактерије домаћина коришћено је за изолацију укупно 25 специфичних фага из узорка воде Дунава при чему су се места излива комуналних отпадних вода показала као значајан извор ових вируса. Девет пречишћених бактериофага су на хомологим домаћинима показали способност лизе од 20,5% до 71,8%, али у експериментима са хетерологим домаћинима ови вируси нису показали поливалентност. Детаљнија карактеризација урађена је са три бактериофага изолованих са различитих локалитета. Они су у односу на остале изоловане фаге у већој мери лизирали ћелије домаћина те представљају погодније кандидате за примену у терапеутске сврхе. Испитане су њихове различите особине као што су: литички спектар, утицај температуре, рН вредности на вијабилност фага, као и дужина трајања појединих фаза током циклуса мултипликације. Проучавани сојеви бактериофага су показали сличну морфологију и на основу тога сва три припадају фамилији *Podoviridae*. Генетичке анализе су показале сличност између три соја, а величина генома је процењена на 35kbp. Сви ови резултати карактеризације фага су показали да испитивани бактеријски вируси имају потенцијал да постану значајни агенси у контроли бројности бактерије *P. shigelloides*

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

НАСЛОВ овог рада је јасно формулисан и у потпуности одговара садржају којим се ова докторска дисертација бави.

У поглављу УВОД пружа се кратак и јасан преглед проблематике којом се дисертација бави. Указује се на појаву бактерије *Plesiomonas shigelloides* у читавом свету, значај и ризик која она представља за људско здравље. Овде се такође апострофира способност ове опортунистички патогене бактерије да изазива екстраинтестиналне инфекције. У последње време ова бактерија се све чешће детектује у површинским водама умереног климатског појаса па према томе постоји реална могућност да се она прошири у северније крајеве и и тиме представља озбиљан ризик по људско здравље. Пошто свакога дана расте број бактерија које показују резистентност према антибиотицима све је актуелнија потрага за алтернативним решењима у циљу што боље контроле њиховог раста. У том смислу аутор истиче значај бактериофага у контроли раста бактерија рачунајући ту и *Plesiomonas shigelloides*.

*Комисија сматра да је уводни део написан разумљиво и са јасним циљем да се укаже на значај и актуелност истраживања којим се ова докторска дисертација бави*

Поглавље ОПШТИ ДЕО се састоји од 15 потпоглавља. Она садрже информације везане за таксономију врсте *Plesiomonas shigelloides* и таксономију вируса бактерија, као и опште биолошке и еколошке карактеристике поменуте бактерије и поменуте групе вируса. У овом поглављу представљене су најновије информације о патогености врсте *Plesiomonas shigelloides*, њеној осетљивости на антибиотике као и о методама које се примењују у циљу изолације, идентификације и детерминације генетичке блискости сојева. Истакнуто је да до сада нису познати литературни извори који се односе на изолацију вируса (бактериофага) специфичних за врсту *Plesiomonas shigelloides*, као и да би њихова изолација и карактеризација могла представљати први корак у развијању алтернативне методе контроле раста поменуте бактерије и решавања проблема антибиотске резистенције која се јавља код једног броја сојева *Plesiomonas shigelloides*.

*Комисија сматра да је ОПШТИ ДЕО ове дисертације изузетно добар ревијални приказ најактуелнијих резултата на пољу истраживања бактерије *Plesiomonas shigelloides* њених бактериофага. Кандидат је веома успешно обрадио већину важних резултата доступних у литератури и приказао их јасно и прегледно.*

Имајући у виду претходно наведене литературне податке, кандидат је јасно указао на проблем све чешће детекције бактерије *Plesiomonas shigelloides* ван тропских и суптропских регија, и на њен све већи значај као узрочника опортунистичких инфекција код људи и животиња. Реализацију општег циља кандидат је спровео кроз реализацију пет јасно дефинисаних специфичних циљева који су наведени у поглављу ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА.

*Комисија је мишљења да је поглавље ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА написано, систематично прегледно са истакнутим и прецизно дефинисаним специфичним циљевима ове докторске дисертације.*

Детаљан опис свих метода коришћених у раду ради остваривања постављеног циља садржан је у поглављу МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ. Описани су локације и начин узорковања површинских вода; поступци изолације бактерије *Plesiomonas shigelloides*; методе коришћене за идентификацију сојева на основу морфолошких, културелних и биохемијских карактеристика као и потврда идентификације сојева применом *PCR* технике; технике везане за утврђивање генетичке блискости сојева применом *RAPD* методе, опис примењених тестова приликом карактеризације фактора вируленције и утврђивања антибиотске резистенције изолованих сојева; поступци изолације *Plesiomonas shigelloides* специфичних бактериофага; примењени тестови приликом карактеризације изолованих бактериофага (ефикасност лизе, литички спектар, утицај различитих еколошких фактора, одређивање протеинског профила, карактеризација генома); поступци приликом детекције изолованих бактериофага проточном цитометријом. Примењене методе статистичке обраде података у потпуности су адекватне и примерене истраживачком задатку.

*Комисија сматра да су коришћени МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ савремени, довољно детаљно описани, и адекватни за добијање валидних резултата*

Поглавље РЕЗУЛТАТИ се састоји од 14 потпоглавља у којима су поред текстуалног описа сви добијени резултати презентовани путем 16 слика, 12 табела и 12 графика. У првом потпоглављу су систематично и јасно приказани резултати изолације и идентификације бактерије *Plesiomonas shigelloides* која је извршена на основу морфолошких, културелних и биохемијских карактеристика. Потом следе резултати идентификације изолованих сојева и одређивање њихове генетичке блискости применом PCR технике и методе RAPD-PCR. Након идентификације следе резултати испитивања особина значајних за вирулентност испитиваних изолата као што су тестирање способности формирања биофилма, одређивање хемолитичке, липолитичке, активности хидролизе ДНК као и декарбоксилације хистидина. На крају су приказани резултати испитивања осетљивости изолата бактерије *Plesiomonas shigelloides* на конвенционалне антибиотике. Резултати који се односе на испитивање *P. shigelloides* специфичних бактериофага подразумевају приказ свих релевантних података добијених приликом изолације, пречишћавања, утврђивања литичког спектра као и детаљну карактеризацију ове групе вируса. Поред резултата добијених испитивањем ефикасности фага, утицајем температуре и рН вредности на вијабилност, приказани су и они који се односе на њихову морфологију и сличност генома и структурних протеина испитиваних вируса. Крај овог поглавља се односи на резултате добијене коришћењем проточне цитометрије у директним методама детекције ове групе бактериофага.

*Комисија сматра да је кандидат изузетно прегледно, адекватно и систематично представио РЕЗУЛТАТЕ, који омогућавају остваривање постављених циљева.*

У делу ДИСКУСИЈА, кандидат је дао критичку анализу и интерпретацију експерименталних резултата. У оквиру 13 потпоглавља добијени резултати су поређени са резултатима других (сличних) истраживања, реализованих у последњих 40-ак година. Приликом изолације сојева *Plesiomonas shigelloides* потврђен је релативно висок проценат узорака из којих је изолована ова бактерија. Овакав успех приликом изолације постигнут је захваљујући подлози и чињеници да су подаци о преваленци ове бактерије на умерено континенталном подручју коме припада и подручје Панонске низије још увек спорадични мада би се феномен повећане учесталости могао приписати и феномену глобалног загревања. Иако су биохемијска својства код готово свих изолата униформна наглашава се да поједине особине веома значајне по свом дискриминаторном карактеру. Поређење амплификованих фрагмената испитиваних сојева након технике PCR-а, потврдило је налазе прелиминарних биохемијских тестова код свих сојева *Plesiomonas shigelloides* изолованих из површинских вода Панонске низије. RAPD-PCR метода установила је значајна генетичка варијабилност сојева *P. shigelloides* што је у сагласности са резултатима других аутора. Изоловани сојеви су на основу добијених резултата окарактерисани као изолати који имају веома слаб потенцијал стварања биофилма на полистирену и стаклу што је такође један од ретких података у литератури. Кандидат је у раду утврдио да свих 37 изолата показују хемолитичку, ДНА-зну активност, способност активног кретања што указује на њихову потенцијалну патогеност. Детекција хистидин декарбоксилазне активности код већине изолата добијених у овом раду показују да се они могу развијати у намирицама и уроковати тровање. Резултати испитивања осетљивости на антибиотике свих 37 испитиваних изолата дала је углавном исти образац понашања као и изолати других аутора који су наведени у литературним изворима. Резултати везани за изолацију бактериофага специфичних за врсту *Plesiomonas shigelloides* упоређивани су са резултатима аутора који су вршили изолацију бактериофага специфичних за блиске врсте бактерија, будући да до данас у литератури не постоје подаци везани за изолацију фага који инфицирају врсту *Plesiomonas shigelloides*. Дискусија у овој дисертацији је исцрпна, научно утемељена и указује на завидно познавање проучаване проблематике уз критички осврт у односу на актуелну литературу.

*Комисија сматра да је у поглављу ДИСКУСИЈА кандидат детаљно и свеобухватно сагледао добијене резултате и протумачио их у складу са подацима доступним у литератури*

У оквиру поглавља ЗАКЉУЧАК, на основу добијених резултата наведено је 16 закључака, који су правилно логички изведени, а формулисани јасно и разумљиво и у складу су са постављеним циљевима докторске дисертације.

*Комисија сматра да су ЗАКЉУЧЦИ одговарајући и да представљају адекватан одговор на*

постављене циљеве, јасно утемељени на резултатима добијеним у докторској дисертацији.

У поглављу ЛИТЕРАТУРА укупно је цитирано 348 литературна навода, који обухватају библиографске податке везане за бактеријску врсту *Plesiomonas shigelloides* и бактериофаге. Највећи број литературних навода подразумева радове објављене у току последњих година у врхунским међународним часописима.

Комисија сматра да је ЛИТЕРАТУРА наведена у истоименом поглављу одговарајућа, савремена, адекватно поређана абecedним редом и нумерисана што омогућује праћење најрелевантнијих светских научних резултата који су у вези са проблематиком ове докторске дисертације.

Поглавље ПРИЛОЗИ садржи 7 табела са приказом биохемијских и генетичких особина изолата бактерије *Plesiomonas shigelloides*, резултата добијених испитивањем осетљивости сојева на антибиотике, као и резултата *in vitro* испитивања ефикасности бактериофага.

Комисија сматра да ПРИЛОЗИ садрже табеле са подацима који су неопходни за детаљан увид у резултате коришћене у дискусији ове докторске дисертације. Подаци у прилозима су прегледно приказани и представљају важан део ове докторске дисертације.

**На основу свега изнетог 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**

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.

### **M23 (рад у међународном часопису)**

1. **Milivoje Petrušić**, Dragana Obreht Vidaković, Sava Lazić, Dragan Radnović, Petar Knezević (2017): Prevalence and genetic variability of *Plesiomonas shigelloides* in temperate climate surface waters of The Pannonian Plain. *Archive of Biological Sciences*: (прихваћен за штампу)

### **M34 (саопштење са међународног скупа штампано у изводу)**

2. **Petrusic, M.**, Aleksic, V., Petrovic, A., Obreht, D., Tomic, M., Knezevic, P. Presence of *P. shigelloides* in temperate climate zone lakes, FEMS 6th Congress of European Microbiologist; Maastricht, The Netherlands (07. – 11.06.2015.)
3. Knezevic, P., **Petrusic, M.**, Aleksic, V., Obreht, D., Kostanjsek, R. Experience in isolation of *Acinetobacter baumannii* and *Plesiomonas shigelloides* bacteriophages, FEMS 5th Congress of European Microbiologist; Leipzig, Germany (21. – 25.07.2013.)

Узимајући у обзир правилник докторских студија Универзитета у Новом Саду, комисија констатује да кандидат испуњава услове за одбрану докторске дисертације

## **VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА**

У докторској тези је описана изолација укупно 37 клонално различитих сојева врсте *Plesiomonas shigelloides*. Изоловани сојеви врсте *P. shigelloides* нису показали способност стварања биофилма на површинама од полистирена, док је слаба продукција забележена на површинама од боросиликата и манифестује се у појави прстена на граници течне и гасовите фазе код 54% изолата. Способност потпуне хемолитичке агенса потврђено је у ћелијској суспензији и супернатанту, при чему је у току 24 часа већи проценат хемолизираних еритроцита установљен у третманима са супернатантом. Овакав налаз указује на потенцијално патогена својства изолованих сојева будући да присуство хемолитина повећава инвазивност бактеријских ћелија. Липазна активност потврђена је код 13,5% испитиваних сојева, док је могућност хидролизе ДНК установљена код свих испитиваних сојева *P. shigelloides* пореклом из површинских вода Панонске низије. Покретљивост је установљена за све сојева *P.*

*shigelloides*, а резултати испитивања степена покретљивости указали су да међу испитиваним изолатима постоји велика варијабилност. Способност продукције хистамина забележена је код 91,9% сојева *P. shigelloides* пореклом из површинских вода Панонске низије. Испитивање утицаја повећаних концентрација NaCl на раст раст ћелија *P. shigelloides* показало је да су сви испитивани изолати нехалофили односно ни један сој није испољио способност раста при концентрацији већој од 1M NaCl. Резистенција сојева *P. shigelloides* забележена је према антибиотицима из групе пеницилина (92% резистентних сојева на ампицилин и 27% резистентних сојева на амоксицилин) и аминогликозида (2,7% резистентних сојева на гентамицин). Сви испитивани сојеви били су осетљиви на антибиотике: цефокситин, цефотаксим, цефтазидим, имипенем, стрептомицин, тетрациклин, доксициклин, азтреонам, цiproфлоксацин, триметоприм/сулфаметоксазол и хлорамфеникол, те би поменути антибиотици могли бити лекови избора приликом третирања инфекција изазваних сојевима врсте *P. shigelloides*. Према доступним литературним подацима ово су први резултати који се односе на изолацију бактерија *P. shigelloides* из површинских вода на подручју Панонске низије. Они представљају важан допринос у познавању распрострањења ове бактерије у површинским водама умереног климатског појаса. Добијени резултати указују да би бактерија *P. shigelloides* могла бити шире распрострањена у односу на досадашња сазнања и да је стога не би требало посматрати као искључиво тропску или суптропску врсту већ би њено шире распрострањење требало сагледавати као једну од последица глобалног загревања. Сличност симптома акутних болести које изазива *P. shigelloides* са гастроинтестиналним инфекцијама изазванима *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* и другим бактеријама фамилије *Enterobacteriaceae* често води ка дијагностичким грешкама, те су због тога потребна детаљнија истраживања са циљем реалније процене значаја ове бактерије као узрочника гастроинтестиналних болести и утврђивања могућег микробиолошког ризика по здравље људи у умерено климатском појасу.

У докторској дисертацији је по први пут описана изолација *Plesiomonas shigelloides* специфичних фага. Изоловано је укупно 25 специфичних фага из узорака воде Дунава. Изолација бактериофага је била најуспешнија на месту изливања комуналних отпадних вода, док су свега два позитивна узорка забележена из речне воде. Комуналне отпадне воде су се показале као значајан извор ових вируса, док би учесталост у површинским водама требало даље истражити. Литички спектар свих девет пречишћених бактериофага на хомологним домаћинима је широк јер су инфицирали 74,4% сојева *P. shigelloides* који су у овом раду изоловани из површинских вода јужног дела Панонске низије, а способност лизе појединачних фага кретала се од 20,5% до 71,8%. Девет испитиваних бактериофага није поливалентно, односно фаги нису показали способност инфекције хетерологних домаћина као што су бактеријски сојеви из родова *Aeromonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Bordetella*, *Salmonella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* што би могло да укаже на уски литички спектар ове групе фага. Три бактериофага, са ознакама Psh-10, Psh-AB1 и Psh-PP1, изолована са различитих локалитета и код којих су уочене разлике у величини и опису плака као и разлике у литичком спектру, су изабрана за детаљнију карактеризацију. Анализе су показале да бактериофаги Psh-10, Psh-AB1 у већој мери лизирају ћелије *P. shigelloides* у односу на фаг Psh-PP1, па самим тим представљају погодније кандидате за примену у терапеутске сврхе. Сва три бактериофага су на већини испитиваних домаћина/сојева *P. shigelloides* показали ниске вредности ефикасности стварања плака *EOP*-а ( $\sim 10^{-5}$  –  $10^{-1}$ ). Различити температурни третмани (8°C, 22°C, 37°C и 44°C) су незнатно утицали на степен адсорпције бактериофага Psh-10, Psh-AB1 и Psh-PP1 за површине ћелија оригиналних домаћина. Уочене су мале разлике у проценту адсорбованих фага како међу испитиваним вирусима тако и у оквиру различитих температурних третмана истог вируса. На свим испитиваним температурама регистрован је релативно низак проценат адсорбованих фага који је износио мање од 60%. Бактериофаги Psh-10 и Psh-PP1 задржавају висок проценат вијабилности (>90%) у широком рН опсегу (од рН4 до рН11) у току 60 минута и отпорнији су од бактериофага Psh-AB1 код кога се уочава смањење процента вијабилних фага при рН8-рН11. При високим температурама од 50°C и 60°C након 10 и 20 минута инкубације бактериофаги су одржавали прилично високу вијабилност која је била изнад 70%. Продужење третмана је условило драстично смањење вијабилности сва три фага. Крива мултипликације показала је да је латентни период приближно исти (~30 min) код сва три фага. Циклуси мултипликације су трајали од 120 до 150 минута. Бактериофаги Psh-10 и Psh-AB1 се одликују знатно већим бројем ослобођених вириона (220 - 240) у односу на бактериофаг Psh-PP1 (10). На основу резултата трансмисионе електронске микроскопије сва три бактериофага поседују прилично униформну морфологију, кратак реп и изометрични капсид односно припадају морфотипу *C1*. Резултати

представљају прву карактеризацију *P. shigelloides* специфичних фага из фамилије *Podoviridae*. Рестрикциона дигестија нуклеинске киселине бактериофага Psh-10, Psh-AB1 и Psh-PP1 је указала да је њихов геном у форми дволанчане ДНК те да су они генетички релативно слични. Величина генома сва три вируса износе приближно 35 kbp. На основу распореда и броја трака након рестрикционе дигестије ензимом DraI вируси Psh-10 и Psh-AB1 показују велику сличност. Анализа структурних протеина бактериофага Psh-10, Psh-AB1 и Psh-PP1 показала је велике сличности у броју и распореду трака нарочито у случају фага Psh-10 и Psh-AB1. Бактериофаги специфични за врсту *P. shigelloides*, величине генома око 35 kbp, успешно су детектовани применом проточне цитометрије, што показује да би карактеризација ове групе вируса применом ове методологије могла бити извођена на једноставнији и прецизнији начин.

Закључци истраживања спроведених у оквиру ове докторске дисертације јасно указују да се на постављене циљеве успешно одговорило у целисти. На основу изнетих резултата карактеризације бактериофага може се закључити да бактериофаги са ознакама Psh-10, Psh-AB1 и Psh-PP1 могу заузети значајно место у контроли бројности бактерије *P. shigelloides* и да се по својим карактеристикама (литичка ефикасност и вијабилност у широком рН опсегу) нарочито издвојио бактериофаг Psh-10.

**Комисија је мишљења да су добијеним резултатима и изведеним закључцима испуњени постављени циљеви овог истраживања**

#### **VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА**

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

Кандидат Миливоје Петрушић је рационално приступио и адекватно приказао, обрадио и протумачио велики број резултата истраживања, које је успешно систематизовао у логичке целине у оквиру докторске дисертације. Добијени резултати су прегледно приказани, аналитично и адекватно статистички обрађени и правилно протумачени. Поред тога, кандидат је објективно и критички упоредио добијене резултате са резултатима других аутора. Кроз детаљну дискусију резултата изведени су закључци који дају одговоре на постављене циљеве докторске дисертације.

**На основу наведеног Комисија оцењује позитивном оценом начин приказа и тумачења резултата истраживања.**

#### **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:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

**Комисија оцењује да је докторска дисертација у потпуности урађена и написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.**

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Ова докторска дисертација садржи све битне елементе као што су адекватан увод и преглед досадашњих литературних података и постојећих истраживања, затим дефинисање проблема и циљева истраживања, као и приказ методологије рада, јасан и систематичан приказ резултата и њихову адекватну анализу и дискусију. Закључци су правилно изведени на основу добијених резултата и дате су смернице за даља истраживања у области која је предмет дисертације. На основу тога

**Комисија закључује да дисертација садржи све битне елементе**

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Комисија сматра да докторска дисертација поседује све елементе оригиналног научног рада, а добијени резултати представљају оригиналан научни допринос у области микробиологије. Кандидат је овај рад посветио истраживању бактерије *Plesiomonas shigelloides* и то пре свега њене преваленце

у површинским водама Панонске низије што представља први податак о њеном распрострањењу у површинским водама овог региона. Резултати који се односе на испитивање бројних фенотипских и генотипских својстава доприносе бољем познавању биологије ове врсте. То се посебно односи на испитивања фактора вируленције ове бактерије јер је у питању условно патогена бактерија. Као оригиналан допринос науци посебно треба нагласити да су у овом раду по први пут изоловани *Plesiomonas shigelloides* специфични фаги, извршена је њихова карактеризација са нагласком на потенцијал њихове примене у контроли раста односно бројности ове опортунистички патогене бактерије

**На основу свега изнетог, Комисија сматра да дисертација представља оригиналан допринос науци**

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

**Комисија оцењује да дисертација не садржи формалне нити суштинске недостатке који би могли утицати на резултате истраживања**

**X ПРЕДЛОГ:**

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

На основу укупне оцене дисертације, Комисија предлаже да се докторска дисертација под насловом „**Присуство бактерије *Plesiomonas shigelloides* у површинским водама Панонске низије и изолација и карактеризација њених специфичних фага**“, прихвати и да се кандидату **Миливоју Петрушићу** одобри одбрана.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

---

Др Маја Караман, ванредни професор,  
ПМФ Нови Сад, председник

---

Др Драган Радновић, редовни професор,  
ПМФ Нови Сад, ментор

---

Др Сава Лазић, научни саветник,  
Научни институт за ветеринарство “Нови Сад”, ментор

---

Др Ивица Тамаш, научни сарадник,  
ПМФ Нови Сад, члан