ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕ **ОБРАЗАЦ – Д 4**
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ:

1. **Датум и назив органа који је именовао комисију**:

Наставно научно веће Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду, 286. седница одржана 30.09.2026. године

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

1. Проф. др Јаков Нишавић, редовни професор, Микробиологија са имунологијом, 2020. година, Факултет ветеринарске медицине, Универзитета у Београду, председник Комисије
2. Проф. др Дејан Крњаић, редовни професор, Микробиологија са имунологијом, 2016. година, Факултет ветеринарске медицине, Универзитета у Београду
3. Проф. др Наташа Стевић, ванредни професор, Епизоотиологија, заразне болести животиња и болести пчела и свилопреља, 2026. година, Факултет ветеринарске медицине, Универзитета у Београду
4. Др Ратко Сукара, виши научни сарадник, Епизоотиологија, заразне болести животиња и болести пчела и свилопреља, 2026. година, Институт за медицинска истраживања, Универзитет у Београду

Напомена: редослед чланова Комисије је такав да се прво наводе наставници са ФВМ а затим чланови из других институција, сем у случају када је ментор дисертације из друге институције. Тада се ментор из друге институције уписује под редним бројем 2, односно после ментора са ФВМ који је под редним бројем 1.

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. **Име, име једног родитеља, презиме**: Дамир, Јосип, Бенковић

2**. Датум рођења, општина, Република**: 13.07.1986., Сомбор, Република Србија

3. **Датум одбране, место и назив магистарске тезе***: /

4. **Научна област из које је стечено академско звање магистра наука***: /

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ: Молекуларна карактеризација парвовируса и цирковируса детектованих у популацијама дивљих свиња и месоједа на територији Западнобачког округа

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ (навести број страна поглавља, слика, шема, графикона и сл.):

Докторска дисертација кандидата Дамира Бенковића је написана на укупно 125 страна компјутерски обрађеног текста и садржи следећа поглавља: Увод (21 страна), Преглед литературе (14 страна), Циљ и задаци истраживања (2 стране), Материјал и методе (9 страна), Резултати (33 стране), Дискусија (15 страна), Закључци (2 стране), Литература (29 страна). На почетку се налази кратак садржај на српском и енглеском језику, као и садржај докторске дисертације. Рад је документован са 1 табелом (у поглављу Резултати) и 26 слика (7 слика у поглављу Увод и 19 слика у поглављу Резултати). Списак литературе чини 329 библиографских јединица од којих је најстарија публикована 1979. године, а најновија 2026. године.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ (дати кратак опис сваког поглавља дисертације: увода-до 250 речи, прегледа литературе-до 500 речи, циља и задатака истраживања-није ограничено, материјал и метода- није ограничено, резултата није ограничено, дискусије-до 100 речи, списка референци-навести број референци у докторској дисератцији):

Поглавље **Увод** кандидат започиње приказом значаја дивљих свиња, златних шакала и црвених лисица као резервоара узрочника заразних болести, а затим прелази на класификацију фамилије *Parvoviridae* (три подфамилије, преко 100 врста), а потом на грађу парвовируса које карактерише геном у виду једноланчане ДНК величине 4,5–5,5 kb, без спољашњег омотача, са два отворена оквира читања који кодирају неструктурне протеине (NS1, NS2) и структурне протеине капсида (VP1, VP2, VP3). Приказана је класификација осам до сада описаних свињских парвовируса (PPV1–PPV8) сврстаних у четири рода, при чему је само PPV1 потврђени узрочник SMEDI синдрома (енгл. *stillbirth, mummification, embryonic death, infertility*), док патогени значај „нових" типова (PPV2–PPV8) још увек није у потпуности разјашњен. Истакнута је улога дивљих свиња као резервоара ових вируса, са освртом на добијене резултате серолошких и молекуларних испитивања из Хрватске, Немачке, Словачке, Русије и Србије. У наставку поглавља кандидат описује парвовирусе месоједа, псећи парвовирус тип 2 (CPV2) и вирус панлеукопеније мачака (FPV), износи податке о њиховом пореклу, панзоотији CPV2 крајем седамдесетих година прошлог века, антигенским варијантама (2a, 2b, 2c), као и значају дивљих месоједа у трансмисији ових вируса. Наредни део поглавља посвећен је цирковирусима: класификацији фамилије *Circoviridae*, грађи генома (једноланчана ДНК, 1,7–2,1 kb, гени Rep и Cap) и опису четири свињска цирковируса (PCV1–PCV4), уз посебан осврт на клинички и економски значај PCV2 и PCV3. Поглавље се завршава описом псећег цирковируса (CanineCV), његовим открићем 2011. године у САД, још увек нерасветљеним клиничким значајем и нагласком на дивље месоједе као епизоотиолошки значајне домаћине и потенцијалне резервоаре овог вируса.

Поглавље **Преглед литературе** кандидат започиње историјатом откривања „нових" свињских парвовируса. Након дуготрајне доминације класичног PPV1, узрочника SMEDI синдрома, током последње две деценије примена метагеномског секвенцирања омогућила је откриће врста PPV2–PPV8, сврстаних у родове *Protoparvovirus*, *Tetraparvovirus*, *Copiparvovirus* и *Chaphamaparvovirus*, при чему кандидат хронолошки приказује околности проналаска сваког вируса. Приказани су и еволутивни механизми који обликују геном ових вируса, како генска рекомбинација тако и природна селекција, а затим и епизоотиолошки подаци о високој преваленцији нових генотипова код домаћих свиња у Европи и Азији, уз честе мешовите инфекције. Посебна пажња посвећена је дивљим свињама као резервоару свих врста PPV, уз навођење молекуларних истраживања из Мађарске, Румуније, Португалије, Словачке, Италије, Јужне Кореје, Русије и Србије. У наведеном сегменту истичу се публикације из Србије које се односе на први налаз мешовите инфекције PPV1, PCV2 и цитомегаловируса код дивљих свиња западног Балкана као и налаз доминантне циркулације PPV1 и PPV3 у југоисточној Србији. Кандидат затим прелази на преглед актуелне литературе која се односи на цирковирусе свиња, приказујући таксономију четири описане врсте (PCV1–PCV4), разлике у дужини генома и клинички значај PCV2 (мултисистемски синдром кржљавости прасади) и PCV3 (репродуктивни поремећаји), укључујући доступност вакцина против PCV2 и њихов утицај на смањење економских губитака у свињарству. Приказани су и подаци о преваленцији, мешовитим инфекцијама и генотиповима PCV2 и PCV3 код дивљих свиња у Европи, Азији и Србији.

Наредни део поглавља посвећен је парвовирусима месоједа. Приказан је историјат вируса панлеукопеније мачака (FPV), дуго сматраног генетички стабилним, и изненадне појаве псећег парвовируса типа 2 (CPV2) крајем седамдесетих година прошлог века, насталог адаптацијом сродног вируса преко до данас непознате врсте дивљег месоједа. Описана је заједничка таксономска припадност оба вируса врсти *Protoparvovirus carnivoran* 1, грађа генома и висока стопа мутација упоредива са РНК вирусима, као и сукцесивна појава антигенских варијанти CPV2a, CPV2b и CPV2c. Кандидат систематски приказује бројне европске студије детекције CPV2 и FPV код дивљих месоједа: висока стопа циркулације FPV код шакала и јазаваца и налаз CPV2 код вукова у Италији, молекуларна потврда код иберијских вукова у Шпанији (32,3%), прва карактеризација CPV2 код лисица и јазаваца у Словачкој са доминацијом генотипа CPV2b, као и налази

код којота у Мексику и џиновске панде у Кини, што указује на бројност пријемчивих домаћина и могућу трансмисију између дивљих месоједа и паса.

Поглавље се завршава прегледом литературе која се односи на псећи цирковирус (CanineCV). Кандидат наводи да ретроспективне анализе узорака пореклом од арктичких лисица из Норвешке из 1996. године, петнаест година пре првог описа вируса код паса у САД, заједно са филогенетским проценама времена до најскоријег заједничког претка (крај XIX века), подржавају хипотезу да су дивље животиње представљале дуготрајни еволутивни резервоар CanineCV. Приказана је и глобална распрострањеност наведеног вируса кроз студије из Европе, Јужне Америке, САД, Азије и Африке, са различитим преваленцијама и до сада забележеним генотиповима, укључујући и генотип 5 карактеристичан за дивље месоједе раније називан цирковирус лисица (FoxCV). На овај начин кандидат аргументује потребу за истраживањем присуства и карактеристика цирковируса код дивљих месоједа на подручју Србије, што уједно представља један од циљева ове дисертације.

Циљ истраживања ове докторске дисертације јесте идентификација и молекуларна карактеризација парвовируса и цирковируса детектованих у популацијама дивљих свиња и месоједа на територији Западнобачког округа. Утврђивање евентуалног присуства ових вируса у популацијама све бројнијих врста дивљачи које настањују подручја у непосредној близини насељених места на поменутој територији је од нарочитог значаја у погледу могућности трансмисије ових патогена на популације домаћих свиња, односно паса и мачака. Имајући у виду диверзитет парвовируса и цирковируса присутних у популацијама дивљачи, проучавањем варијабилних генских сегмената или целих генома ових вируса биће омогућена идентификација циркулишућих генотипова као и утврђивање присуства рекомбинантних сојева вируса. Поред тога, циљ испитивања је и анализа генских секвенци комплетних генома детектованих цирковируса, односно PCV3 и CanineCV, с обзиром на то да о истим још увек не постоји довољно научних података. Такође, ова испитивања имају за циљ и успостављање адекватних протокола за извођење конвенционалног и real-time PCR који би се користили у дијагностици наведених инфекција што би представљало основу за карактеризацију детектованих сојева парвовируса и цирковируса.

За остваривање задатог циља дефинисани су следећи истраживачки задаци:

1. Прикупљање узорака органа дивљих свиња (лимфних чворова, тонзила и слезине) и органа шакала и лисица (јетре, слезине, плућа, бубрега, срца, танких црева и крви) одстрељених на територији Западнобачког округа и њихова лабораторијска обрада ради извођења молекуларних метода вирусолошке дијагностике;
2. Откривање присуства нуклеинске киселине свињских парвовируса у узорцима пореклом од дивљих свиња применом методе real-time PCR уз употребу универзалних прајмера за конзервирани регион генома;
3. Откривање присуства нуклеинских киселина појединачних свињских парвовируса 1–7 (PPV1–PPV7) применом PCR у позитивним узорцима добијеним применом real-time PCR;
4. Секвенцирање генома детектованих свињских парвовируса у циљу анализе гена који кодирају синтезу капсида, упоређивање добијених нуклеотидних секвенци са аналогним секвенцама доступним у Банци гена и њихова филогенетска анализа;
5. Откривање присуства нуклеинских киселина свињских цирковируса 2 и 3 (PCV2 и PCV3) у узорцима пореклом од дивљих свиња применом методе real-time PCR;
6. Секвенцирање генома детектованих сојева PCV2 у циљу анализе варијабилног сегмента гена који кодира синтезу капсида и филогенетска анализа ради извођења генотипизације вируса;
7. Секвенцирање комплетног генома детектованих сојева PCV3, упоређивање са аналогним секвенцама из Банке гена и филогенетска анализа у циљу генотипизације вируса;
8. Откривање присуства нуклеинских киселина парвовируса месоједа (CPV2 и FPV) у узорцима пореклом од шакала и лисица применом методе real-time PCR;
9. Секвенцирање генома детектованих сојева парвовируса месоједа у циљу анализе варијабилног сегмента гена који кодира синтезу капсида и филогенетска анализа ради генотипизације вируса;

10. Откривање присуства нуклеинских киселина цирковируса паса (CanineCV) и лисица (FoxCV) у узорцима пореклом од шакала и лисица применом методе real-time PCR;
11. Секвенцирање комплетног генома сојева цирковируса детектованих код дивљих месоједа, упоређивање са аналогним секвенцама из Банке гена и њихова филогенетска анализа;
12. Анализа присуства генских рекомбинација у добијеним нуклеотидним секвенцама парвовируса и цирковируса дивљих свиња и месоједа применом биоинформатичких метода.

У поглављу **Материјал и методе** кандидат детаљно приказује примењену методологију истраживања. Материјал су чинили узорци лимфних чворова, тонзила и слезине дивљих свиња, као и узорци крви, паренхиматозних органа (јетре, слезине, плућа и бубрега), срца и танких црева златних шакала и лисица, прикупљени током 2021. и 2022. године у оквиру мониторинга афричке и класичне куге свиња, односно оралне вакцинације против беснила, на подручју ловишта Крушчић, Сивац, Кула, Оџаци, Сонта и др. Прикупљено је укупно 90 узорака пореклом од дивљих свиња и 98 узорака пореклом од дивљих месоједа (45 златних шакала и 53 црвене лисице), при чему је за сваку јединку формиран један збирни хомогенат ткива. Хомогенизација је извршена у уређају TissueLyser (Qiagen, Немачка), а екстракција нуклеинских киселина применом комерцијалног кита (MagFast DNA/RNA extraction kit, ID VET, Француска) у аутоматском екстрактору IDEAL32 (ID VET, Француска), уз коришћење одговарајућих позитивних контрола за сваки испитивани вирус. Тријажна детекција нуклеинских киселина спроведена је методом real-time PCR (апарат AriaMx, Agilent, САД), уз ендогену интерну контролу гена за β-актин. За свињске парвовирусе примењени су прајмери и пробе усмерени на конзервисане регионе генома PPV1–PPV7, при чему су испитивања за PPV1–PPV6 изведена као три дуплекс real-time PCR теста према методологији Milek и сар. (2019), уз коришћење претходно публикованих прајмера и проба (Opriessnig и сар., 2011; Xiao и сар., 2012, 2013; Cui и сар., 2017), док је детекција PPV7 извршена према Palinski и сар. (2016). За детекцију PCV2 коришћен је комерцијални кит (PrimerDesign, Велика Британија), док су за PCV3 употребљени прајмери и проба према Yuan и сар. (2020). Детекција парвовируса месоједа (CPV2/FPV) извршена је применом прајмера и пробе за Cap ген према Decaro и сар. (2005), а за цирковирус паса (CanineCV) и лисица (FoxCV, CanineCV генотип 5) коришћени прајмери и пробе за Rep ген према Li и сар. (2013), односно Bexton и сар. (2015). Сви real-time PCR позитивни узорци на присуство свињских парвовируса додатно су испитани конвенционалним мултиплекс PCR тестом (Kim и сар., 2021) ради независне потврде присуства појединачних врста PPV, док су преваленција и структура појединачних и мешовитих инфекција одређене на основу резултата real-time PCR. Секвенцирање по Сангеру (услужно, извршено у Macrogen Europe Laboratory, Амстердам) примењено је на позитивним узорцима свих испитиваних вируса, уз одговарајуће, претходно публиковане, парове прајмера специфичне за комплетне или варијабилне сегменте гена који кодирају капсидне протеине, односно за комплетне геноме PPV7, PCV3 и CanineCV (Cadar и сар., 2011, 2013a; Cui и сар., 2017a; Xing и сар., 2018; Weissenbacher-Lang и сар., 2020; Wen и сар., 2018; Fux и сар., 2018; Buonavoglia и сар., 2001; Piewbang и сар., 2018). Поравнање секвенци и формирање консензус секвенци извршено је у програму MEGA 11, а идентитет је потврђен BLAST анализом поређењем са аналогним секвенцама доступним у Банци гена. Добијене секвенце депоноване су под приступним бројевима PX873573–580 (капсидни ген PPV2), PX857790–795 (капсидни ген PPV6), PX857796–804 (комплетан геном PPV7), PX564516–519 (варијабилни фрагмент капсидног гена PCV2), PX564520–524 (комплетан геном PCV3), PV815767–778 (варијабилни фрагмент капсидног гена CPV2/FPV) и PP493390–398 (комплетан геном CanineCV/FoxCV). Филогенетска анализа спроведена је у програму MEGA 11, након избора одговарајућег модела, применом методе Neighbor-Joining (PPV2 – Tamura–Nei+G; PPV6 – Kimura 2-parameter+G; PPV7 – Tamura–Nei+G; CPV2 – T92) или Maximum Likelihood (PCV2 – HKY+G; PCV3 – Tamura–Nei+G за комплетан геном и HKY+G за ORF2; FPV – Tamura–Nei+G+I; CanineCV/FoxCV – GTR+G+I), уз поузданост од 1.000 репликата (енгл. *bootstrap*), а израчунате су и p-дистанце унутар и између испитиваних скупова секвенци. Осим анализе комплетног капсидног гена сојева PPV2, извршена је и додатна анализа парцијалног VP1 сегмента дужине 330 bp, који се у истраживањима Lagan Tregaskis и сар. (2021) показао као погодан за филогенетску диференцијацију нуклеотидних секвенци поменутог вируса. Генотипизација детектованих сојева PCV2

извршена је на основу филогенетске анализе фрагмента капсидног гена (Weissenbacher-Lang и сар., 2020). Поред тога, генотипизација сојева PCV3 извршена је према критеријумима које су предложили Franzo и сар. (2020). Одређивање генотипа детектованих сојева парвовируса месоједа извршено је на основу резултата филогенетске анализе секвенци варијабилног фрагмента капсидног гена (Buonavoglia и сар., 2001), при чему је одређивање генотипа сојева CanineCV извршено према схеми Niu и сар. (2020), допуњеној од стране Urbani и сар. (2021) и Beikpour и сар. (2022). Анализа присуства генских рекомбинација у поравнатим секвенцама комплетног капсидног гена PPV2 и PPV6, комплетних генома PCV3, PPV7 и CanineCV, као и одговарајућих скупова секвенци PCV2, CPV2 и FPV, спроведена је у програму RDP5 применом седам алгоритама (RDP, GENECONV, BootScan, MaxChi, Chimaera, SiScan и 3Seq) уз Бонферонијеву корекцију за вишеструка поређења, при чему су као веродостојни прихватани само сигнали подржани од стране најмање три независне методе уз p<0,001. Као допунска метода примењен је GARD алгоритам (платформа Datamonkey) за процену вероватних рекомбинационих прекидних тачака.

У поглављу **Резултати** кандидат систематично приказује добијене резултате испитивања организоване у једанаест целина, у складу са постављеним задацима истраживања.

Применом real-time PCR панела за PPV1–PPV7, нуклеинска киселина свињских парвовируса детектована је код 55/90 (61,1%) дивљих свиња. Међу позитивним узорцима утврђена је изразита доминација PPV2 (51/55; 92,7%) и висока учесталост PPV7 (39/55; 70,9%), док су PPV3 и PPV6 детектовани ређе (32,7% и 18,2%), а PPV1, PPV4 и PPV5 нису потврђени ни у једном узорку. Конвенционалним мултиплекс PCR тестом потврђено је 97 од 118 појединачних real-time PCR налаза (82,2%), са стопом потврде од 92,2% за PPV2 до 60,0% за PPV6. Појединачна инфекција утврђена је у 13/55 (23,6%), а мешовите инфекције са два или више парвовируса у 42/55 (76,4%) позитивних узорака, најчешће у комбинацијама PPV2+PPV7 (37/55; 67,3%), PPV2+PPV3 (17/55; 30,9%) и PPV2+PPV6 (9/55; 16,4%), при чему су све мешовите инфекције обухватале PPV2. Филогенетском анализом комплетног капсидног гена PPV2 (Neighbor-Joining, Tamura–Nei+G) сви детектовани сојеви сврстани су искључиво у филогенетску групу 2 (европска линија), распоређени у неколико поткластера блиско сродних сојевима из Србије, Пољске, Румуније и Мађарске. Поред тога, анализа парцијалног VP1 сегмента (330 bp) потврдила је исти образац груписања. Сојеви PPV6 (Neighbor-Joining, Kimura 2-parameter+G) сврстани су у групу 1, филогенетски блиску европским, азијским и северноамеричким сојевима, док другу групу чине искључиво кинески сојеви. Сојеви PPV7 (Neighbor-Joining, Tamura–Nei+G) такође припадају групи 2, генетички хетерогеној, најближој руским, колумбијским и кинеским сојевима.

Real-time PCR анализом код дивљих свиња детектован је PCV2 у 17/90 (18,9%) и PCV3 у 12/90 (13,3%) узорака. Мешовите инфекције цирковируса и парвовируса биле су честе. Наиме, цирковируси су утврђени у 19/55 (34,5%) PPV-позитивних узорака, док је искључиво PCV2-позитивних било 8/90 (8,9%), а искључиво PCV3-позитивних 2/90 (2,2%). Филогенетском анализом дела капсидног гена (ORF2) сојева PCV2 (Maximum Likelihood, HKY+G) утврђено је да испитивани сојеви припадају генотиповима PCV2b (три соја) и PCV2d (један сој), без формирања посебне линије специфичне за Србију. Анализом комплетног генома PCV3, применом критеријума Franzo и сар. (2020) за граничну вредност p-дистанце (≤3%), свих пет сојева сврстано је у генотип PCV3-a, распоређених у више подлинија, док је једна веома дивергентна секвенца из Кине (MG372488.1) означена као провизорни генотип PCV3-b.

Анализом узорака пореклом од дивљих месоједа (98 узорака) real-time PCR методом, парвовируси месоједа детектовани су код 12/98 (12,2%) животиња. Накнадним секвенцирањем потврђено је 7/98 (7,1%) узорака позитивних на CPV2 и 5/98 (5,1%) на FPV. CPV2 је чешће детектован код шакала (11,1%) него код лисица (3,8%), док је FPV доминантно налажен код лисица (7,5%) у односу на шакале (2,2%). Филогенетском анализом варијабилног сегмента капсидног гена (Neighbor-Joining, T92), сви сојеви CPV2 сврстани су у генотипове CPV2b и CPV2c, при чему су поједине секвенце биле идентичне сојевима пореклом од паса из Србије, што указује на циркулацију истих линија вируса између домаћих и дивљих месоједа. Сви сојеви FPV из овог испитивања филогенетски су сврстани у групу FPV-B, заједно са европским секвенцама, док ранија секвенца из Србије (OR236705) припада групи FPV-A, што указује да у популацији дивљих месоједа у Србији циркулишу две генетички различите линије FPV.

Real-time PCR испитивањем утврђено је присуство ДНК цирковируса паса код 31/98 (31,6%) дивљих месоједа, при чему је FoxCV (генотип 5) детектован у 51,6%, а CanineCV у 35,5% позитивних узорака, уз мешовите инфекције (12,9%). Укупна преваленција цирковируса била је виша код шакала (42,2%) него код лисица (22,6%). Поред тога, код шакала је чешће детектован CanineCV (20,0%) него FoxCV (13,3%), док је код лисица доминантно регистрован FoxCV (18,9%), уз знатно ређу детекцију CanineCV (3,8%) и без мешовитих инфекција. Филогенетском анализом (Maximum Likelihood, GTR+G+I) испитивани сојеви сврстани су у два генотипа – четири соја пореклом од шакала припадају генотипу 4, а пет сојева (четири шакала и једна лисица) генотипу 5, односно линији FoxCV, која је даље подељена у пет географски дефинисаних кластера, при чему српски сојеви формирају засебан кластер 4, одвојен од кластера које чине сојеви из Норвешке, Италије и Уједињеног Краљевства, са Свалбарда и из Канаде.

Анализом присуства генских рекомбинација (RDP5, седам алгоритама, уз GARD као допунску методу) утврђени су веродостојни рекомбинациони сигнали код секвенци PPV2 (веродостојан сигнал код соја PX873578, са прекидном тачком око позиције 772 у 5' делу капсидног гена, уз могућ, али непотврђен сигнал код соја PX873577; GARD анализом утврђена је једна доминантна прекидна тачка у 5' делу капсидног гена), PPV7 (најизраженији налаз – рекомбинациони сигнали детектовани су код свих девет испитиваних секвенци, дуж неструктурног и структурног дела генома, сумирани у посебној табели, уз потврду GARD анализом две прекидне тачке на позицијама ~890 и ~2233) и CanineCV/FoxCV (седам сојева, углавном пореклом од шакала, са прекидним тачкама на прелазу између Rep и Cap гена). Код PCV3 уочена су два рекомбинациона сигнала (PX564522 и PX564521), али ниједан није достигао праг статистичке значајности ($p<0,001$) код најмање три независне методе, тако да рекомбинантни сојеви PCV3 нису потврђени. GARD анализом утврђене су две прекидне тачке (позиције 1337 и 1755, прва на прелазу из Rep у Cap регион), што указује на учешће рекомбинације у ранијој еволуцији PCV3, али се овај налаз не може повезати ни са једним појединачним сојем из овог испитивања. Анализа рекомбинација није указала на присуство рекомбинантних сојева PPV6, PCV2, CPV2 и FPV.

У поглављу **Дискусија** кандидат добијене резултате о преваленцији, генотиповима и рекомбинацијама детектованих парвовируса и цирковируса код дивљих свиња и месоједа критички упоређује са претходним истраживањима из Србије (Нишавић и сар., 2021, 2022, 2024; Јездимировић и сар., 2024; Шолаја и сар., 2025; Глишић и сар., 2025) и иностранства, тумачи уочене разлике у преваленцији и доминантним генотиповима као последицу регионалних епизоотиолошких специфичности и величине узорка, те истиче епизоотиолошки значај дивљих свиња, златних шакала и лисица као резервоара ових вируса за домаће животиње.

У списку **референци** кандидат правилно наводи и у тексту цитира 329 добро одабраних референци.

VI **ЗАКЉУЧЦИ ИСТРАЖИВАЊА (навести закључке који су приказани у докторској дисертацији)**:

На основу добијених резултата могу се извести следећи закључци:

1. Real-time PCR методом нуклеинска киселина свињских парвовируса утврђена је у 61,1% узорака дивљих свиња. Међу позитивним узорцима најчешћи је био PPV2 (92,7%), затим PPV7 (70,9%), PPV3 (32,7%) и PPV6 (18,2%). Конвенционални multiplex PCR, примењен на свим real-time позитивним узорцима, потврдио је 82,2% налаза, са стопом потврде од 92,2% за PPV2 до 60,0% за PPV6.
2. Појединачна инфекција свињским парвовирусима утврђена је у 23,6%, а мешовита инфекција у 76,4% позитивних узорака. Најчешће је регистровано истовремено присуство PPV2 и PPV7 (67,3%), затим PPV2 и PPV3 (30,9%).
3. Секвенцирањем методом по Сангеру добијене су 23 секвенце свињских парвовируса: 8 секвенци комплетног капсидног гена PPV2, 6 комплетног капсидног гена PPV6 и 9 комплетног генома PPV7. Филогенетском анализом сви сојеви PPV2 сврстани су у групу 2, односно европски огранак, сојеви PPV6 у групу 1 заједно са секвенцама из Европе, Русије и Северне Америке, а сојеви PPV7 у групу 2 заједно са секвенцама из Русије, Кине и Колумбије, уз израженију генетичку хетерогеност него код PPV2 и PPV6. Ниједна врста није формирала линију издвојену по географском пореклу.

4. Real-time PCR методом PCV2 је детектован у 18,9%, а PCV3 у 13,3% узорака дивљих свиња, без мешовите инфекције ова два вируса, тако да је бар један цирковирус утврђен код 32,2% испитаних јединки. Цирковируси су утврђени у 34,5% узорака позитивних на парвовирусе, најчешће у комбинацији са PPV2.
5. Анализом варијабилног сегмента ORF2 четири секвенце PCV2 утврђено је да детектовани сојеви припадају генотиповима PCV2b и PCV2d, без формирања засебне линије специфичне за дивље свиње и уз блиску сродност са раније описаним сојевима пореклом из Србије.
6. Анализом пет секвенци комплетног генома и ORF2 сегмента утврђено је да сви детектовани сојеви PCV3 припадају генотипу PCV3-a. Сојеви нису формирали географски издвојен кластер, већ су били блиско повезани са сојевима пореклом од домаћих и дивљих свиња из Европе и других подручја, што указује на релативно очувану генетичку структуру овог вируса у испитиваној популацији.
7. Real-time PCR методом нуклеинска киселина парвовируса месоједа утврђена је у 12,2% узорака, са сличном учесталошћу код шакала (13,3%) и лисица (11,3%). Накнадном типизацијом методом секвенцирања потврђено је присуство CPV2 у 7,1% и FPV у 5,1% узорака, при чему је CPV2 био чешћи код златних шакала, а FPV код црвених лисица.
8. Филогенетском анализом 12 секвенци варијабилног сегмента капсидног гена (7 CPV2 и 5 FPV) утврђено је да сојеви CPV2 припадају генотиповима CPV2b и CPV2c. Један од два соја CPV2c, оба пореклом од златних шакала, био је у анализираном фрагменту идентичан сој пореклом од пса из Србије, док су четири међусобно најсроднија соја CPV2b груписана заједно са сојевима CPV2b пореклом од паса из Србије. Ови налази указују на циркулацију сродних сојева CPV2 између паса и дивљих месоједа, али не омогућавају закључивање о смеру трансмисије. Сви сојеви FPV сврстани су у групу FPV-B заједно са европским секвенцама, за разлику од раније описаног соја из Србије који припада групи FPV-A. У оквиру групе FPV-B три соја (један пореклом од златног шакала и два од црвених лисица) формирала су засебну подгрупу, што указује на могућу локалну циркулацију вируса, док је један сој пореклом од црвене лисице био најсроднији италијанском сој детектованом код златног шакала.
9. Real-time PCR методом нуклеинска киселина цирковируса детектована је у 31,6% узорака дивљих месоједа, и то CanineCV генотип 5 (FoxCV) у 51,6%, CanineCV у 35,5%, а мешовите инфекције у 12,9% позитивних узорака. Преваленција је била виша код шакала (42,2%) него код лисица (22,6%), при чему је код шакала чешћи био CanineCV уз присуство мешовитих инфекција, а код лисица FoxCV без мешовитих инфекција. Код једног златног шакала утврђена је истовремена инфекција CPV2 и FoxCV.
10. Анализом девет секвенци комплетног генома утврђено је да детектовани сојеви цирковируса месоједа припадају генотиповима 4 и 5 (FoxCV). Генотип 4 детектован је код златних шакала и груписао се са секвенцама из Европе, Северне и Јужне Америке и Африке, док је FoxCV потврђен код обе врсте и формирао јасно издвојен кластер, што указује на локалну циркулацију генетички сродних сојева.
11. Веродостојни рекомбинациони сигнали у секвенцама вируса пореклом од дивљих свиња утврђени су код PPV2 и PPV7, али не и код PPV6 и PCV2. Код PPV2 веродостојан сигнал утврђен је код једног соја, са прекидном тачком у 5′ делу капсидног гена, док су код PPV7 сигнали утврђени код свих девет секвенци комплетног генома, у NS1 и VP регионима, уз две прекидне тачке, што указује на мозаичну структуру генома овог вируса. Ниједан од сојева PCV3 из овог испитивања није потврђен као рекомбинантан. Две прекидне тачке утврђене GARD анализом указују на учешће рекомбинације у ранијој еволуцији PCV3, али се не могу повезати ни са једним појединачним сојем из овог испитивања.
12. Код CanineCV/FoxCV рекомбинација је утврђена код седам од девет сојева, од којих је шест пореклом од златних шакала, са прекидном тачком на прелазу између Rep и Cap гена. Код CPV2 и FPV веродостојни рекомбинациони сигнали нису утврђени.
13. Успостављени real-time PCR и конвенционални PCR протоколи омогућили су детекцију и молекуларну карактеризацију свих испитиваних врста парвовируса и цирковируса, укључујући и новооткривене вирусе који нису обухваћени

стандардним дијагностичким панелима, те могу послужити као основа за даљу молекуларну дијагностику ових инфекција.

14. Утврђена филогенетска блискост појединих сојева са сојевима раније описаним код паса, мачака и домаћих свиња указује на могућу циркулацију сродних линија вируса између дивљих и домаћих популација, чиме се потврђује епизоотиолошки значај дивљих свиња, златних шакала и црвених лисица као потенцијалних резервоара ових патогена, иако добијени подаци не омогућавају поуздано утврђивање смера трансмисије.

VII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА (навести да ли су добијени резултати у складу са постављеним циљем и задацима истраживања, као и да ли закључци произилазе из добијених резултата):

Резултати добијени у оквиру ове докторске дисертације, укључујући њихов приказ, обраду и тумачење, у складу су са постављеним циљем и свим дефинисаним задацима истраживања. Налази који одговарају свим истраживачким задацима систематично су приказани у једанаест целина поглавља Резултати, уз помоћ 19 слика (електрофореграми, филогенетска стабла, прикази p-дистанци и резултати анализе генских рекомбинација) и једне табеле, прегледно, јасно и логичним редоследом, а у складу са савременим научним сазнањима и методолошким приступима у молекуларној вирусологији. Изведени закључци у потпуности произилазе из добијених резултата и јасно су формулисани, при чему кандидат методолошки исправно и опрезно избегава непоткрепљене закључке тамо где то добијени подаци не дозвољавају, нарочито у погледу порекла и смера трансмисије детектованих сојева између дивљих и домаћих популација.

VIII КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

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

Докторска дисертација кандидата Дамира Бенковића под насловом „Молекуларна карактеризација парвовируса и цирковируса детектованих у популацијама дивљих свиња и месоједа на територији Западнобачког округа“ је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

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

Докторска дисертација кандидата Дамира Бенковића садржи све елементе и у складу је са прописаним захтевима за завршену докторску дисертацију.

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

Докторска дисертација кандидата Дамира Бенковића под називом „Молекуларна карактеризација парвовируса и цирковируса детектованих у популацијама дивљих свиња и месоједа на територији Западнобачког округа" представља оригиналан допринос науци јер по први пут систематски и упоредно приказује присуство, генетичку разноврсност и филогенетске односе парвовируса и цирковируса код дивљих свиња и дивљих месоједа са истог географског подручја у Србији. У научној литератури до сада није постојало довољно података о молекуларним карактеристикама свињских парвовируса и цирковируса у популацији дивљих свиња Западнобачког округа, нити о цирковирусу паса и парвовирусима месоједа код дивљих месоједа тог подручја. Резултати добијени секвенцирањем и филогенетском анализом обезбедили су прве молекуларне податке о теренским сојевима ових вируса, укључујући идентификацију циркулишућих генотипова. Код дивљих свиња по први пут је утврђена доминантна циркулација PPV2 и PPV7, уз честе мешовите инфекције међу самим парвовирусима, као и коинфекције са PCV2 и PCV3, чиме је допуњена и делимично измењена дотадашња слика о преваленцији и структури генотипова свињских парвовируса у популацији дивљих свиња у Србији. Осим тога, утврђена је генетичка сродност сојева CPV2 пореклом од дивљих месоједа са

сојевима пореклом од паса из Србије, чиме је документована могућа циркулација истих линија вируса између домаћих и дивљих месоједа. Посебан оригинални допринос представља и систематска анализа присуства генских рекомбинација која је, посебно код PPV7, PPV2 и CanineCV, указала на активну еволуцију ових вируса у испитиваним популацијама, као и депоновање нових нуклеотидних секвенци у Банку гена. Добијени резултати имају и практични значај, пружајући основу за процену епизоотиолошког ризика од трансмисије ових патогена са дивљих на домаће свиње, псе и мачке, односно за унапређење дијагностичких протокола и стратегије надзора у Републици Србији, као и могућност да се примењени протоколи real-time PCR и конвенционалног PCR, након одговарајуће валидације, уведу у рутински рад дијагностичких лабораторија ради брзе и прецизне дијагностике ових вирусних инфекција код животиња.

4. Да ли је ментор током провере оригиналности дисертације утврдио неоправдано преклапање текста са другим публикацијама (одговорити са да или не):

НЕ

IX СПИСАК НАУЧНИХ РАДОВА САДРЖИНСКИ ПОВЕЗАНИХ СА ДОКТОРСКОМ ДИСЕРТАЦИЈОМ У КОЈИМА ЈЕ ДОКТОРАНД ПРВИ АУТОР ОДНОСНО АУТОР СА НЕЈВЕЋИМ ДОПРИНОСОМ (написати имена свих аутора, годину објављивања, наслов рада, назив часописа, импакт фактор и класификацију према Правилнику о поступку, начину вредновања и квантитативном исказивању научноистраживачких резултата истраживача):

Рад у врхунском међународном часопису (М21)

Benković, D., Nišavić, J., Milić, N., Krnjaić, D., Prošić, I., Gajdov, V., Stević, N., Sukara, R., Balać, M., & Radalj, A. (2025). Genetic Diversity of Canine Circovirus Detected in Wild Carnivores in Serbia. Veterinary Sciences, 12(6), 515. https://doi.org/10.3390/vetsci12060515

IF (2025): 2,7

X ОДЛУКЕ ЕТИЧКЕ КОМИСИЈЕ И ОСТАЛЕ НЕОПХОДНЕ ЕТИЧКЕ ОДЛУКЕ (заокружити одлуку која је донета за докторску дисертацију која се оцењује)

(А.) Поседује Мишљење Етичке комисије ФВМ УБ број 01-06/2023 у складу са дописом Етичке комисије ФВМ УБ који је достављен Комисији за процену подобности кандидата и тема за израду докторских дисертација и специјалистичких радова одржаној дана 13.09.2023. године.

Б. Поседује Решење Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде РС – Управе за ветерину број _____ у складу са дописом Етичке комисије ФВМ УБ који је достављен Комисији за процену подобности кандидата и тема за израду докторских дисертација и специјалистичких радова одржаној дана _____

Ц. Није потребно издавање Мишљења Етичке комисије ФВМ УБ нити Решења Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде РС – Управе за ветерину у складу са дописом Етичке комисије ФВМ УБ који је достављен Комисији за процену подобности кандидата и тема за израду докторских дисертација и специјалистичких радова одржаној дана _____

XI ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже (одабрати једну од три понуђених могућности):

- да се докторска дисертација прихвати а кандидату одобри одбрана

~~- да се докторска дисертација врати кандидату на дораду~~

~~- да се докторска дисертација одбије~~

ДАТУМ

12.10.2026. године

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Председник комисије
Др Јаков Нишавић, редовни професор
Факултет ветеринарске медицине
Универзитет у Београду

_____

Др Дејан Крњаић, редовни професор
Факултет ветеринарске медицине
Универзитет у Београду

_____

Др Наташа Стевић, ванредни професор
Факултет ветеринарске медицине
Универзитет у Београду

_____

Др Ратко Сукара, виши научни сарадник
Институт за медицинска истраживања
Универзитет у Београду

_____