

3 **ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

4 **I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

5 **1. Датум и назив органа који је именовео комисију**

6 Наставно-научно веће Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду на  
7 194. седници одржаној 17. 4. 2019. године.

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

- 11 1. Др Невенка Алексић, редовни професор, Паразитске болести, 2004, Факултет  
12 ветеринарске медицине, Универзитета у Београду (ментор 1);
- 13 2. Др Милена Радаковић, научни сарадник, Биологија, 2014, Факултет ветеринарске  
14 медицине, Универзитета у Београду (ментор 2);
- 15 3. Др Зоран Станимировић, редовни професор, Биологија, 2007, Факултет  
16 ветеринарске медицине, Универзитета у Београду (члан комисије);
- 17 4. Др Душица Остојић Андрић, научни сарадник, Зоохигијена и здравствена заштита  
18 домаћих и гајених животиња, 2014, Институт за сточарство Београд - Земун (члан  
19 комисије);
- 20 5. Др Владимир Полачек, виши научни сарадник, Патолошка морфологија, 2012,  
21 Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“ (члан комисије).

22 **II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ**

23 **1. Име, име једног родитеља, презиме**

24 Марко, Љубоје, Пајић

25 **2. Датум рођења, општина, република**

26 03.12.1987, Шабац, Србија

27 **III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

28  
29 Оксидативни стрес код товних пилића инфицираних врстама паразита рода *Eimeria*  
30 након примене кокцидиостатика

31 **IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

32 Докторска дисертација Марка Пајића написана је на 97 страна, подељена у  
33 осам поглавља: Увод (2 стране), Преглед литературе (31 страна), Циљ и задаци (1  
34 страна), Материјал и методе (13 страна), Резултати (20 страна), Дискусија (16 страна),  
35 Закључци (2 стране) и Литература (138 референци). Текст дисертације прати 16 слика,  
36 2 графикона, 1 шема и 13 табеларних приказа података. Насловне стране докторске  
37 дисертације које обухватају назив на српском и енглеском језику, имена ментора и  
38 чланова Комисије, захвалницу, резиме на српском и енглеском језику и садржај дати су  
39 на првих 11 страна које нису нумерисане. Након литературе приложена је биографија  
40 аутора, изјава о ауторству, изјава о истоветности штампане и електронске верзије рада  
41 и изјава о коришћењу (странице нису нумерисане).

## 1 V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

2 У **Уводу** кандидат износи значај изучавања кокцидиозе и описује колики је њен утицај  
3 на савремену живинарску производњу, као и њен здравствени и економски значај.  
4 Поред тога, кандидат наводи значај истраживања оксидативног стреса насталог услед  
5 различитих патолошких стања у организму животиња, па и током паразитских  
6 инфекција. Описује како инфекција кокцидијама утиче на производне параметре и  
7 оксидо-редукционе процесе у организму пилића, као и штетне ефекте на нивоу ћелије.

8 У поглављу **Преглед литературе** систематски се наводе публиковани подаци који се  
9 односе на преваленцију супклиничких и клиничких инфекција кокцидијама на фармама  
10 живине широм света. Обухваћени су подаци из релевантне литературе који се односе  
11 на таксономију *Eimeria*, морфолошке карактеристике *Eimeria* патогених за кокоши,  
12 њихов животни циклус и патогени потенцијал. Описан је начин настанка инфекције  
13 кокцидијама код пилића, патогенеза, имунолошки одговор, дијагностика, терапија, као и  
14 начини превенције и контроле ове болести. Посебна пажња је посвећена превенцији  
15 кокцидиозе применом биљних препарата, као и њиховом комбинацијом са синтетским.  
16 Наводе се и подаци о патогенези оксидативног стреса, о продукцији слободних  
17 кисеоничних радикала (eng. reactive oxygen species, ROS), начинима праћења  
18 параметара оксидативног стреса и антиоксидантима.

19 **Циљеви и задаци** ове докторске дисертације били су:

- 20 • Испитани су параметри оксидативног стреса у крви пилића инфицираних врстама  
21 протозоа рода *Eimeria* након примене антикокцидијских супстанци хемијског  
22 (робенидин) и биљног порекла (Хербакокс). Ово је урађено мерењем активности  
23 антиоксидативних ензима супероксид дисмутазе (SOD), каталазе (CAT) и глутатион С-  
24 трансферазе (GST), као одређивањем концентрације производа липидне пероксидације  
25 – малонил-диалдехида (MDA),
- 26 • Детерминација врста *Eimeria* које паразитирају код бројлерских пилића урађена је  
27 применом молекуларногенетичких техника (PCR),
- 28 • Установљено је у ком степену су присутне супклиничке инфекције на фармама  
29 бројлерских пилића,
- 30 • Установљено је да ли постоји узрочно-последична веза између примењених мера  
31 биосигурности на фарми и појаве супклиничких и клиничких инфекција кокцидијама.

32 **Материјал и методе.** Као материјал за израду ове докторске дисертације коришћени су  
33 узорци крви сакупљени у току огледа изведеног на товним пилићима, узорци фецеса и  
34 подаци о примени биосигурносних мера сакупљени са сто фарми товних пилића на  
35 подручју Војводине. Формирано је 5 огледних група: 3 третиране кокцидиостатцима и 2  
36 контролне. Свака група састојала се од 50 пилића. Негативна контрола **К-** обухватала је  
37 је неинфициране пилиће који нису третирани кокцидиостатцима, а позитивну контролу  
38 **К+** чинили су пилићи инфицирани ејмеријама (перорална апликација  $5 \times 10^5$  инфективних  
39 ооциста), нетретиране кокцидиостатцима. Третиране групе (**Ро**, **Ро+Херб** и **Херб**)  
40 храњене су стандардним смешама за тов пилића у које су додати кокцидиостатици, а  
41 инфициране су биле у узрасту пилића од 14 дана. Група **Ро** добијала је синтетски  
42 кокцидиостатик робенидин од првог дана тога до 5. дана пре његовог завршетка. Група  
43 **Ро+Херб** добијала је робенидин у прве две недеље тога, а природни (биљни)  
44 кокцидиостатик до самог завршетка тога. **Херб** група добијала је биљни кокцидиостатик  
45 све време трајања тога. Робенидин је даван у концентрацији 500 g/тони хране, а  
46 Хербакокс у концентрацији 750 g/тони. Крв је узоркована 12, 21. и 40. дана живота  
47 пилића. У складу са постављеним циљевима и задацима, у току испитивања  
48 материјала, примењене су биле следеће методе: бројање и изолација ооциста *Eimeria*;  
49 ланчана реакција полимераза (Standard PCR); одређивање параметара оксидативног  
50 стреса; праћење производних перформанси; процена постојања узрочно-последичне  
51 везе између примењених биосигурносних мера на фарми и појаве супклиничких и  
52 клиничких инфекција кокцидијама и статистичка анализа добијених резултата. Ооцисте  
53 су биле бројане модификованом Мекмастеровом техником. Узорци ооциста изоловани  
54 након бројања коришћени су за даље молекуларне анализе. У крви узоркованој у току  
55 огледа испитивана је активност SOD, CAT и GST, као и концентрације MDA.  
56 Производне перформансе су праћене мерењем телесне масе сваког пилета  
57 појединачно (на почетку експеримента, на крају сваке недеље тога и на крају

1 експеримента), мерењем потрошње хране и одређивањем степена конверзије – feed  
2 conversion ratio, FCR (на крају огледа). Примена биосигурносних мера анализирана је  
3 помоћу упитника који је попуњаван у време сакупљања узорака фецеса на фармама  
4 бројлера. У статистичкој анализи добијених резултата огледа најпре су одређени  
5 дескриптивни статистички параметри, који су омогућили описивање експерименталних  
6 резултата и њихово тумачење. Пошто су вредности параметара оксидативног стреса,  
7 број ооциста и вредности телесне масе имали нормалну дистрибуцију (Shapiro-Wilk's  
8 тест,  $p > 0,05$ ), коришћена је two-way ANOVA са поновљеним мерењем у једном фактору,  
9 а накнадна поређења су урађена применом Tukey's теста. За поређене учесталости  
10 промене биосигурносних мера коришћен је Fisher exact тест, а за поређење  
11 учесталости налаза изолованих *Eimeria* по категоријама фарми (мале, средње и  
12 велике) коришћен је  $\chi^2$  тест. Статистичке разлике утврђене су на нивоу значајности од  
13 5%, осим за процену утицаја примене биосигурносних мера на учесталост инфекције  
14 кокцидијама, где је ниво значајности био 5%, 1% и 1%. Сви добијени резултати  
15 приказани су табеларно и графички. Статистичка анализа добијених резултата урађена  
16 је у GraphPad Prism version 6.00 (GraphPad Software, Сан Дијего, Калифорнија, САД) и  
17 Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corporation, Редмонд, Вашингтон, САД).

18 **Резултати** испитивања показали су да су активности CAT и GST, као и ниво MDA били  
19 смањени, док је активност SOD повећана код третираних група пилића у односу на  
20 пилиће у групи K+. Код пилића старих 12 дана уочене су значајне ( $p < 0,05$ ) разлике у  
21 активности SOD између контролних и третираних група: код контролних група (K-  
22 =3292,66±148,56 и K+ =3295,85±136,52 U/g Hb) била је значајно ( $p < 0,05$ ) виша него код  
23 свих третираних група. Статистички значајних разлика између третираних група (Po  
24 =2733,68±104,34 U/g Hb, Po+Херб =2723,34±81,27U/g Hb и Херб =2720,21±76,95 U/g Hb)  
25 није било. Дана 21. и 40. установљено је значајно ( $p < 0,05$ ) смањење активности SOD  
26 код свих група инфицираних пилића у односу на K-. Активност SOD је била значајно  
27 ( $p < 0,05$ ) виша код инфицираних пилића третираних антикокцидијским препаратима (Po,  
28 Po+Херб и Херб) у односу на K+. Ова активност била је у Po+Херб групи значајно  
29 ( $p < 0,05$ ) већа у односу на Po и Херб групу 21. дана, док је 40. дана уочено значајно  
30 ( $p < 0,05$ ) повећање активности SOD у Po+Херб и Херб групи у односу на Po групу.

31 У првом мерењу установљено је да је активност CAT значајно нижа код контролних  
32 група (K- =1580,42±84,29U/g Hb, и K+= 1590,13±76,99 U/g Hb) у односу на третиране.  
33 Међутим, статистички значајне разлике нису уочене између третираних група пилића.  
34 Након инфекције пилића, 21. и 40. дана огледа, у групи K+, активност CAT значајно  
35 ( $p < 0,05$ ) се повећала у односу на огледне животиње у групи K-. У поређењу са K+ у оба  
36 термина мерења, значајно је било смањење активности CAT код група третираних  
37 антикокцидијским супстанцама. Такође, уочена је и статистички значајно нижа  
38 активност CAT у групи Po+Херб у поређењу са групама Po и Херб 21. дана. Код  
39 последњег мерења уочена је значајна ( $p < 0,05$ ) разлика између све три групе пилића  
40 третиране антикокцидијалима.

41 Пре инфекције кокцидијама активност GST била је значајно ( $p < 0,05$ ) нижа код  
42 контролних група у односу на третиране. Након инфекције значајно ( $p < 0,05$ ) се  
43 повећала активности GST у групи K+ (3,61 U/g Hb) у поређењу са групом K- (2,14 U/g  
44 Hb). Значајно ( $p < 0,05$ ) нижа активност GST утврђена је код група третираних  
45 антикокцидијским препаратима у односу на групу K+. Поређењем активности GST  
46 између третираних група, како 21, тако и 40. дана, установљена је значајно ( $p < 0,05$ )  
47 већа активност у групи Po у односу на групе Херб и Po+Херб.

48 Концентрација MDA 12. дана била је значајно нижа у групама K- и K+ у поређењу са  
49 свим третираним групама. Међутим, 21. дан значајно ( $p < 0,05$ ) је била повећана  
50 концентрација MDA у групи K+ (2,57 nmol/g Hb) у односу на групу K- (0,46 nmol/g Hb), и у  
51 односу на све три групе инфицираних пилића третираних адитивима (Po=0,85 nmol/g,  
52 Po+Херб=0,79 nmol/g Hb и Херб=0,71 nmol/g Hb). У другом мерењу, утврђене су  
53 значајне разлике ( $p < 0,05$ ) између све три третиране групе: Po>Po+Херб>Херб.  
54 Четрдесетог дана огледа концентрације MDA биле су значајно ( $p < 0,05$ ) ниже у групама  
55 Херб и Po+Херб у односу на групу Po.

1 На крају огледа телесна маса (ТМ) пилића значајно је била нижа у групи К+ (1858,68 g)  
2 у односу на све остале групе. Просечне ТМ бројлера у групама третираним адитивима  
3 нису се значајно разликовале, као ни ТМ група К- (2821,22 g) и Р<sub>0</sub> (2618,70 g). FCR код  
4 пилића у групи К+ (2,76) био је значајно већи него у групи К- (1,61). FCR није се значајно  
5 разликовао између група Херб, Р<sub>0</sub> и Р<sub>0</sub>+Херб. FCR у ове три групе није се значајно  
6 разликовала од групе К-.

7 Током експеримента бројлери групе К- остали су неинфицирани - нису излучивали  
8 ооцисте кокцидија. Код свих инфицираних група прве ооцисте установљене су 21. дан.  
9 Највећи број ооциста континуирано су излучивали бројлери у групи К+ (antilog 4,12 –  
10 antilog 4,99), а значајно мањи у групи Херб (antilog 3,27 – antilog 4,11), али је то ипак био  
11 још увек стално значајно (p<0,05) већи број него у групи Р<sub>0</sub> (antilog 2,54 – antilog 2,60) и  
12 Р<sub>0</sub>+Херб (antilog 2,59 – antilog 2,77). У групи Р<sub>0</sub> број ооциста није се значајно мењао  
13 током огледа (p>0,05), док је у групи Р<sub>0</sub>+Херб био значајно (p<0,05) већи 42. дана у  
14 односу на 21, али не и у поређењу са пилићима старим 28 и 35 дана.

15 Прегледом фарми бројлера установљено је присуство ооциста кокцидија у укупно 59%  
16 објеката. Супклиничка инфекција кокцидијама била је на 51% фарми, а клинички  
17 испољена инфекција на 8%. Молекуларном методом су идентификоване четири врсте  
18 *Eimeria*: *E. acervulina* (на 37% фарми), *E. maxima* (17%), *E. mitis* (25%) и *E. tenella* (48%).

19 Статистичком анализом резултата анкете (засноване на подацима са сто фарми  
20 бројлера) одговарајућом статистичком методом утврђено је да редовно спровођење  
21 мера дезинфекције, дезинсекције и дератизације (p<0,001), као и свих наведених  
22 биосигурносних мера заједно значајно (p<0,05) могу утицати на смањење појаве  
23 ооциста кокцидија у узорцима измета, а самим тим и смањење учесталости инфекције  
24 кокцидијама.

25 У поглављу **Дискусија** кандидат анализира и пореди резултате својих испитивања са  
26 наводима других аутора из добро одабране литературе и на крају износи да су  
27 примењени антикокцидијски адитиви значајно смањили оксидативни стрес код товних  
28 пилића, што указује на њихове позитивне ефекте у превенцији кокцидиозе. Кандидат  
29 пореди и резултате о превенцији кокцидиозе на испитиваним фарма са подацима из  
30 литературе у последњих неколико година и закључује да редовна примена  
31 биосигурносних мера значајно утиче на смањење појаве инфекције кокцидијама.  
32 Истакнут је и значај примене молекуларних техника у правовременој дијагностици  
33 супклиничких и клиничких инфекција кокцидијама.

34 У поглављу **Литература** Марко Пајић правилно наводи и у тексту цитира свих 138  
35 одабраних референци.

## 36 **VI ЗАКЉУЧЦИ ИСТРАЖИВАЊА**

37 На основу резултата истраживања закључено је следеће:

- 38 1. Примена синтетског (робенидин) и биљног антикокцидијског адитива (Хербакокс) у  
39 концентрацијама које препоручују произвођачи значајно утиче на промене  
40 параметара оксидативног стреса код третираних инфицираних пилића у поређењу  
41 са инфицираним нетретираним пилићима.
- 42 2. Значајно ниже (p<0,05) активности CAT и GST, и нивоа MDA, као и повећана  
43 активност SOD код третираних група у односу на К+ групу пилића 21. и 40. дана  
44 огледа, указују да антикокцидијске супстанце могу да смање оксидативни стрес код  
45 инфицираних пилића.
- 46 3. Примењени антикокцидијски адитиви довели су до статистички значајног (p<0,05)  
47 смањења броја излучених ооциста код инфицираних пилића. Током огледа број  
48 ооциста по граму фецеса био је значајно мањи (p<0,05) у групама Р<sub>0</sub> и Р<sub>0</sub>+Херб, у  
49 поређењу са групом Херб. Број ооциста у К+ остао је сигнификантно виши (p<0,05)  
50 током целог огледа.

- 1 4. Синтетски антикокцидијски адитив и комбинација оба адитива (синтетски и биљни)  
2 дали су бољи ефекат у превенцији кокцидиозе у односу на ефекат адитива на  
3 биљној бази. Међутим, резултати указују да се и сам биљни адитив може  
4 користити у спречавању појаве кокцидиозе.
- 5 5. Резултати овог истраживања могу помоћи у избору антикокцидијских адитива и  
6 директно утицати на смањење економских губитака проузрокованих кокцидиозом.
- 7 6. Пилићи који су добијали робенидин постигли су највећу телесну масу, значајно  
8 ( $p < 0,05$ ) вишу у односу на остале експерименталне групе. Такође, код њих је уочен  
9 и најнижи степен конверзије хране ( $FCR = 1,69$ ).
- 10 7. Применом модификоване методе по МекМастеру на 59% испитиваних фарми  
11 бројлерских пилића ( $n = 100$ ) установљена је присуство ооциста кокцидија, што су  
12 потврдили и налази молекуларногенетичке дијагностике (PCR).
- 13 8. На 51% прегледаних фарми установљена је супклиничка инфекција кокцидијама, а  
14 клинички испољена инфекција на 8%.
- 15 9. Молекуларном методом су идентификоване четири врсте *Eimeria*: *E. acervulina*, *E.*  
16 *maxima*, *E. mitis* и *E. tenella*, чија је учесталост била: *E. tenella* 48%, *E. acervulina*  
17 37%, *E. mitis* у 25% и *E. maxima* 17%.
- 18 10. Редовно спровођење мера дезинфекције, дезинсекције и дератизације  
19 (посматране независно од осталих биосигурносних мера), као и свих  
20 биосигурносних мера заједно могу значајно ( $p < 0,001$ , односно  $p < 0,05$ ) утицати на  
21 смањење учесталости инфекције кокцидијама.

## 22 VII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

23 Резултати истраживања спроведених у оквиру докторске дисертације кандидата Марка  
24 Пајића су у складу са постављеним циљевима и задацима истраживања, а закључци су  
25 правилно изведени и произилазе из добијених резултата.

## 26 VIII КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

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

29 Да. Докторска дисертација кандидата Марка Пајића је написана у складу са  
30 образложењем наведеним у пријави теме.

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

33 Да. Докторска дисертација кандидата Марка Пајића садржи све елементе прописане за  
34 завршену докторску дисертацију.

35 3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?

36 Дисертација под називом „Оксидативни стрес код товних пилића инфицираних врстама  
37 паразита рода *Eimeria* након примене кокцидиостатика“ кандидата Марка Пајића  
38 представља оригиналан допринос науци јер је доказано да **одређени адитиви са**  
39 **антикокцидијским деловањем могу да ублаже оксидативни стрес код пилића**  
40 **инфицираних кокцидијама, последично смање присуство кокцидија, тиме**  
41 **смањујући и економске губитке на фармама бројлера**. Резултати добијени у  
42 експерименту спроведеном на товним пилићима показали су значајан антикокцидијски и  
43 антиоксидативни ефекат примењених антикокцидијских препарата. Такође, подаци о  
44 преваленцији кокцидиозе на великом броју фарми и идентификацији врста *Eimeria* први  
45 су резултати тог типа у нашој земљи. Резултати овог истраживања могу допринети  
46 ефикаснијој превенцији кокцидиозе на фармама бројлера.

47 4. Да ли је ментор током провере оригиналности дисертације утврдио  
48 неоправдано преклапање текста са другим публикацијама

49 Не постоји значајно поклапање текста са другим публикацијама.

1 IX СПИСАК НАУЧНИХ РАДОВА САДРЖИНСКИ ПОВЕЗАНИХ СА ДОКТОРСКОМ  
2 ДИСЕРТАЦИЈОМ У КОЈИМА ЈЕ ДОКТОРАНД ПРВИ АУТОР

3 **Рајић М**, Aleksić N, Vejnović B, Polaček V, Novakov N, Andrić DO, Stanimirović Z. Influence  
4 of anticoccidials on oxidative stress, production performance and faecal oocyst counts in  
5 broiler chickens infected with *Eimeria* species. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 25 (3): 379-385,  
6 2019. DOI: 10.9775/kvfd.2018.21021, Импакт фактор часописа: 0.452, категорија: **M23**

7 X ПРЕДЛОГ

8 На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже Наставно-научном већу  
9 Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду да се ова докторска  
10 дисертација прихвати и Марку Пајићу одобри њена одбрана.

11 Датум

12 30. маја 2019.

13 Комисија

14 Др Невенка Алексић, редовни професор  
15 Факултет ветеринарске медицине  
16 Универзитета у Београду

17 Др Милена Радаковић, научни сарадник  
18 Факултет ветеринарске медицине  
19 Универзитета у Београду

20 Др Зоран Станимировић, редовни професор  
21 Факултет ветеринарске медицине  
22 Универзитета у Београду

23 Др Душица Остојић Андрић, научни сарадник  
24 Институт за сточарство  
25 Београд - Земун

26 Др Владимир Полачек, виши научни сарадник  
27 Научни институт за ветеринарство "Нови Сад"  
28 Нови Сад