

Živinarstvo

GOD. LV

Br. 5-6 2021.

30.

SAVETOVANJE ŽIVINARA

»»» ZBORNIK RADOVA – TARA 2021. «««



Generalni sponzor



MarloFarma

STRUČNO-NAUČNI ČASOPIS

ISSN 0354-4036

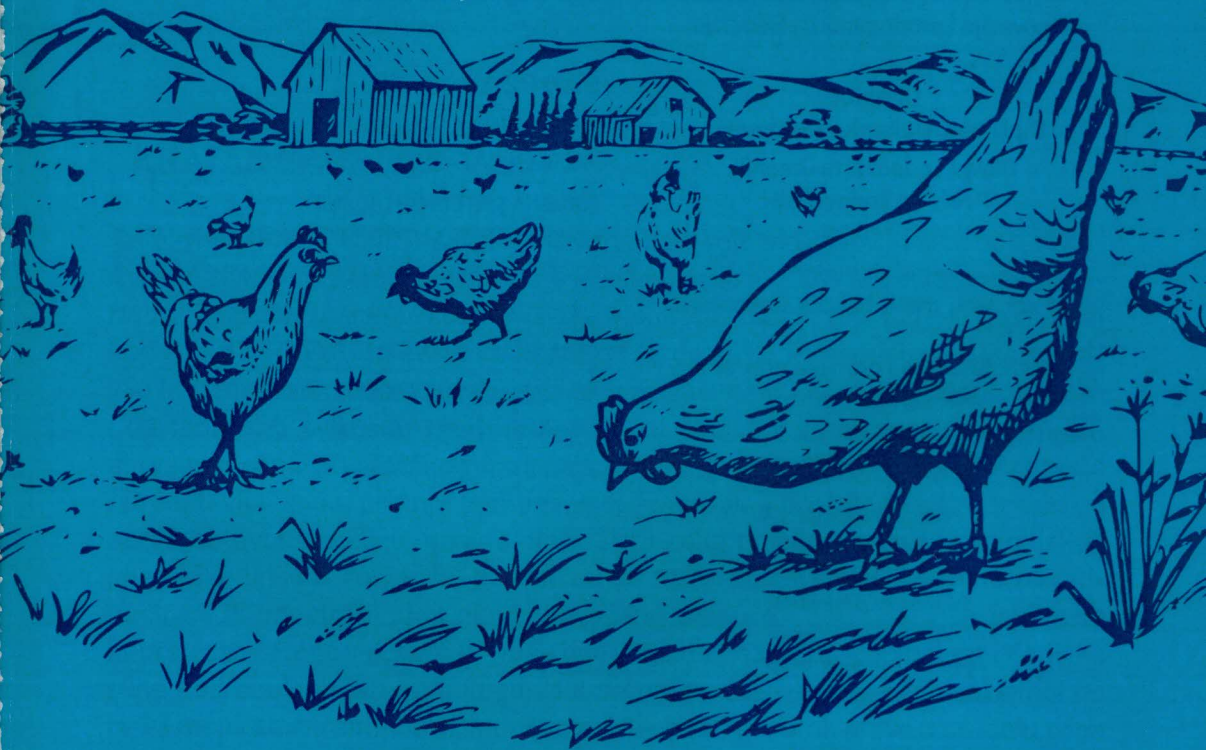
30.

SAVETOVANJE ŽIVINARA

Živinarstvo

21.9-24.9.2021.

Tara, hotel "Omorika"



GENERALNI SPONZORI SAVETOVANJA



MSD
Animal Health



MarloFarma

ZLATNI SPONZOR

innovax
ILT
ND-IBD

SREBRNI SPONZOR

Exzolt[™]
FLURALANER

STRUČNO-NAUČNI ČASOPIS
GOD. LV / BR. 5-6
BEOGRAD 2021.

Izdavač
Ciiip Živinarstvo

Centar za informisanje, izdavaštvo,
inovacije i propagandu – Beograd

Direktor
Dipl. vet. Dušanka Čobanović
Glavni i odgovorni urednik
Prof. dr Todor Palić

Tehnički urednik
Dr sci. vet. med. Nikola Čobanović

Kompjuterska i grafička priprema
Aleksandar Petrović

Štampa "M' Co" Beograd

Adresa redakcije:
11000 Beograd, p. fah 30,
Bul. oslobođenja 18
(Veterinarski fakultet)
Tel/faks: 011/2644-841
e-mail: ciiip-z@eunet.rs
dusanka.cobanovic@gmail.com

Kontakt vreme:
Sreda i četvrtak od 11 do 13 časova



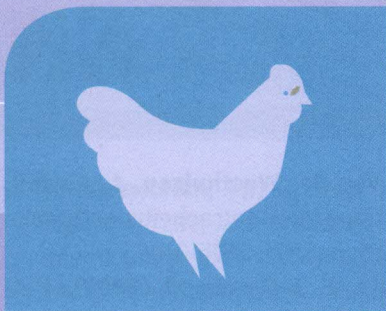
Generalni sponzor  MarloFarma

SADRŽAJ

INFEKTIVNI LARINGOTRAHEITIS – AKTUELNI PROBLEM NA FARMAMA U VOJVODINI	3
PRIMENA SINTETSKIH I BILJNIH KOCIDIOSTATIKA U PREVENCIJI KOCIDIOZE I OKSIDATIVNOG STRESA KOD TOVNIH PILIĆA	18
SINDROM EROZIJA I ULCERACIJA MIŠIĆNOG DELA ŽELUCA KOD BROJLERSKIH PILIĆA	35
ASPERGILOZA BROJLERSKIH PILIĆA – PRIKAZ SLUČAJA SA TERENA	47
NEUROPATIJE KOD ŽIVINE	61

Pretplata na časopis za 2021. godinu:
za pravna lica **5.500* din.**, za pojedince **2.500* din.**, za inostranstvo **100* EUR.**
Tekući račun: **CIIIP "Živinarstvo" 160-419455-92**
Devizni žiro račun: **RS35-160-0053800014340-49**

Primljeni rukopisi se ne vraćaju



PRIMENA SINTETSKIH I BILJNIH KOKCIDIOSTATIKA U PREVENCIJI KOKCIDIOZE I OKSIDATIVNOG STRESA KOD TOVNIH PILIĆA

M. PAJIĆ¹, S. KNEŽEVIĆ¹, D. TODOROVIĆ¹, BILJANA ĐURĐEVIĆ¹, MILENA SAMOJLOVIĆ^{1*}, M. PELIĆ¹, DUŠICA OSTOJIĆ ANDRIĆ²

KRATAK SADRŽAJ

Kokcidioza predstavlja jednu od najčešćih i najvažnijih bolesti u živinarskoj proizvodnji, zbog čega je obavezna preventivna primena antikokcidijskih lekova. Cilj ovog istraživanja bio je ispitivanje uticaja sintetskih i biljnih kokcidostatika na prevenciju kokcidioze i oksidativnog stresa kod tovnih pilića inficiranih parazitima roda *Eimeria*. Pilići su bili raspoređeni u pet grupa: dve netretirane (neinficirana i inficirana) i tri grupe tretirane antikokcidijskim lekovima (inficirane kokcidijama). Prva tretirana grupa pilića je dobijala sintetski kokcidostatik Robenidin (Ro), druga biljni (Herb) i treća kombinaciju sintetskog i biljnog (Ro+Herb). Sve inficirane grupe (netretirana i tretirane) su 14. dana starosti izložene oocistama kokcidija (mešana infekcija) oralnom inokulacijom. Krv je uzorkovana 12. 21. i 40. dana. U krvi pilića merene su aktivnosti superoksid dizmutaze (SOD), katalaze (CAT), glutation-S-transferaze (GST) i koncentracije malondialdehida (MDA). Meren je i broj oocista u gramu fecesa, telesna masa pilića i stepen konverzije hrane (FCR). Aktivnosti CAT, GST i nivoa MDA su značajno smanjene, dok je aktivnost SOD značajno povećana kod inficiranih pilića tretiranih antikokcidijskim lekovima u odnosu na inficirane netretirane, što ukazuje na smanjenje oksidativnog stresa. Najevidentnija promena parametara oksidativnog stresa je zabeležena u Ro+Herb grupi. Kod

1 Dr sci. vet. med. Marko Pajić, dr vet. med. Slobodan Knežević, dr sci. vet. med. Dalibor Todorović, dr sci. vet. med. Biljana Đurđević, dr sci. vet. med. Milena Samojlović, dr vet. med. Miloš Pelić, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad.

2 Dušica Ostojić Andrić, Institut za stočarstvo Beograd-Zemun, Beograd.
Autor za korespondenciju: markopajic@niv.ns.ac.rs

pilića tretiranih antikokcidijalima telesna masa je bila značajno viša, a vrednosti FCR i broj oocista u gramu fecesa značajno manji u odnosu na inficirane netretirane piliće. Broj oocista je bio manji kod Ro i Ro+Herb grupe u odnosu na Herb grupu, što ukazuje na to da su sintetski, i kombinacija sintetskog i biljnog kokcidostatika dali bolji efekat u suzbijanju kokcidioze. Međutim, dokazano je da se i biljni antikokcidijal može koristiti u suzbijanju kokcidioze i prevenciji oksidativnog stresa.

Ključne reči: tovnj pilići, oksidativni stres, *Eimeria*, sintetski i biljni kokcidostatik.

UVOD

Kokcidioza predstavlja jednu od najčešćih i najvažnijih bolesti u živinarskoj proizvodnji, uprkos napretku tehnologije, menadžmenta, mera biosigurnosti, genetike, ishrane i terapije. Prouzrokovana je vrstama protozoa roda *Eimeria*, koje parazitiraju u digestivnom traktu. Intracelularni su paraziti i dovode do oštećenja sluznice digestivnog trakta, dijareje, otežane resorpcije hranljivih materija i smanjenja prirasta. U savremenoj brojlerskoj proizvodnji jedan od glavnih ekonomskih problema je pojava kokcidioze, gde se gubici u svetu na godišnjem nivou procenjuju na 2,3 milijarde evra (**De Gussem, 2007**) i 3 milijarde američkih dolara (**Blake i Tomley, 2014**). Uzročnik se prenosi mehanički preko obuće radnika, opreme, prostirke i kontaminirane hrane i vode. Većina infekcija ima supklinički karakter, ali uvek postoji opasnost od izbijanja bolesti. U cilju prevencije ove bolesti kod tovnih pilića u prvih pet nedelja tova koriste se antikokcidijski lekovi u hrani, kako bi se prevenirala infekcija (**Chapman i sar., 2013**).

U savremenom tovu pilića obavezno je korišćenje antikokcidijskih lekova. Na tržištu su dostupne različite vrste antikokcidijskih lekova, kao što su sintetski, jonoforni (monovalentni i dvovalentni) i biljni (**Chapman, 2007**). Sintetski i jonoforni antikokcidijski lekovi se primenjuju do 5 dana pred klanje, kako bi se sprečila pojava rezidua u mesu. Biljni antikokcidijski lekovi se primenjuju sve vreme tova i nema opasnosti od zadržavanja rezidua u mesu pilića (**Łowicki i Huczyński, 2013; Mohiti-Asli i Ghanaatparast-Rashti, 2015**). Međutim, i pored primene antikokcidijskih lekova, veoma često dolazi do pojave supkliničkih i kliničkih oblika infekcije ejmerijama. Ovakvi slučajevi najčešće se javljaju na farmama sa niskim merama biosigurnosti, lošijom higijenom, sa neefikasnim antikokcidijskim programima (**Chapman i sar., 2013; Quiroz-Castañeda i Dantán-González, 2015**).

Nizom istraživanja dokazano je da infekcija kokcijama može prouzrokovati disbalans između produkcije slobodnih kiseoničnih vrsta (Reactive oxygen species, ROS) i antioksidanata u organizmu piletu i uzrokovati oksidativni stres



(*Georgieva i sar., 2006; Masood i sar., 2013; El-maksoud, 2014; Akbarian i sar., 2016*). ROS su veoma nestabilne i spontano reaguju sa različitim organskim materijama. Glavno mesto njihovog delovanja su lipidi membrana, sulfhidrilne veze proteina i DNK. Pojačano stvaranje ROS mogu izazvati negativni spoljašnji činioci kao što su metaboliti različitih toksičnih jedinjenja i lekova, jonizujuće zračenje, povećana koncentracija kiseonika i dejstvo različitih patogeno (*Koinarski i sar., 2005; Georgieva i sar., 2006; Surai, 2016; Akbarian i sar., 2016*). Reagujući sa lipidima, ROS izazivaju oksidativnu destrukciju nezasićenih masnih kiselina, poznatu kao oksidacija lipida. Lipidna peroksidacija na ćelijskom nivou uzrokuje oštećenje ćelijskih membrana, što podrazumeva slabljenje njene funkcije, smanjenje fluidnosti, inaktivaciju membranskih enzima, kao i povećanu propustljivost membrane za neke jone, kao što je kalcijum. Povećanje intracelularnog kalcijuma oslobađanjem iz mitohondrija i endoplazmatskog retikuluma, i njegovim ulaskom u ćeliju, aktiviraju se određeni enzimi (fosfolipaze, proteaze, endonukleaze, ATP-aze) koji imaju štetne efekte (*Pamplona i Costantini, 2011; Radakovic i sar., 2016*). Navedena oštećenja uzrokovana oksidativnim stresom dovode do niza promena koje ostavljaju trajne posledice na zdravlje pilića, ili čak prouzrokuju uginuća, i time povećavaju ekonomske gubitke (*Koinarski i sar., 2005; El-maksoud, 2014*). Primarni sistem zaštite od ROS predstavlja grupa reaktivnih antioksidativnih enzima u koje spadaju superoksid dizmutaza (SOD), katalaza (CAT) i glutation-S-transferaza (GST), koji su prva linija odbrane u eliminaciji ROS. Antioksidativni zaštitni sistem razvio se tokom evolucije kod svih aerobnih organizama, kako bi se sprečila, ograničila ili popravila oštećenja nastala delovanjem ROS (*Masood i sar., 2013; Estévez, 2015; Papadopoulou i sar., 2017*).

Cilj ovog istraživanja bio je ispitivanje uticaja sintetskih i biljnih kokcidiostatika na prevenciju kokcidioze i oksidativnog stresa kod tovnih pilića inficiranih vrstama parazita roda *Eimeria*. Na taj način će se dobiti uvid o efektima antikokcidijskih lekova kod supkliničke infekcije kokcidijama. U tu svrhu izvršiće se merenje broja oocista kokcidija i merenje aktivnosti antioksidativnih enzima (CAT, SOD, GST) i koncentracije proizvoda lipidne peroksidacije – malondialdehida (MDA).

MATERIJAL I METODE

Eksperimentalne životinje

Istraživanje je izvedeno na 250 jednodnevnih, klinički zdravih, neseksiranih tovnih pilića, hibrida Ross 308. Pilići su bili poreklom iz komercijalne inkubatorske stanice, prosečne telesne mase $39,6g \pm 1,5g$. Raspoređeni su u pet grupa po 50 pilića: dve kontrolne (negativna i pozitivna) i tri tretirane grupe (Ro, Ro+Herb i

Herb). Svi su držani u boksovima sa podnim načinom uzgoja, osim negativne kontrole, koja je bila u boksu sa rešetkastim podom. Istraživanje je sprovedeno u pet ponavljanja. Pilići su hranjeni standardnom komercijalnom hranom za tov. Kontrolne grupe nisu dobijale antikokcidijske lekove. Negativna kontrola nije bila inficirana. Pozitivna kontrola je inficirana 14. dana kokcidijama, oralnom inokulacijom 5×10^5 sporulisanih oocista različitih vrsta kokcidija. Grupa Ro dobijala je u hrani sintetski antikokcidijski lek Robenidin do 5 dana pred klanje. Grupa Ro+Herb dobijala je prve dve nedelje hranu sa Robenidinom, a od treće nedelje do kraja tova biljni kokcidiostatik Herbakoks. Grupa Herb dobijala je biljni kokcidiostatik sve vreme tova. Sve tri tretirane grupe (Ro, Ro+Herb, Herb) bile su inficirane 14. dana kokcidijama na isti način kao pozitivna kontrola.

Eksperiment je odobren od strane Etičkog komiteta za eksperimente na životinjama i izveden u skladu sa preporukom za eksperimentalne procedure propisanom od strane Evropske komisije (Directive 2010/63 EEC) kao i važećeg Zakona o dobrobiti životinja Republike Srbije (Službeni glasnik RS, br. 41/2009)

Hrana za životinje

Sintetski antikokcidijski lek Robenidin primenjen je u obliku preparata Robenz® 66G (Zoetis Ltd), u koncentraciji 450-550 g/toni hrane, od prvog dana života do pet dana pred klanje pilića.

Komercijalno dostupan fitogeni dodatak za stočnu hranu herbakoks (Herbakoks, Essentico D00, Kula, Srbija) je mešavina etarskog ulja (uglavnom *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare* i *Coriandrum sativum*), soli organskih kiselina, dekstroze, natrijum hlorida i nosača. Preparat je primenjen umešavanjem u hranu, u koncentraciji 750 g/toni hrane. Koristi se sve vreme tova. Njegov recept je vlasništvo proizvođača.

Infektivni materijal

Oociste kokcidija su dobijene od prirodno inficiranih pilića poreklom sa komercijalnih farmi za tov. Izolovane su metodom flotacije i čuvane u 2,5% rastvoru kalijum-dihromata u frižideru (4°C). Sporulisane oociste su aplikovane oralnom inokulacijom 1,5 mL suspenzije 5×10^5 sporulisanih oocista pomoću plastičnog šprica.

Brojanje oocista kokcidija

Uzorci fecesa za parazitološki pregled i brojanje oocista su uzorkovani 14., 21., 28., 35. i 42. dana starosti pilića. Parazitološki pregled fecesa je obavljen modifikovanom metodom flotacije po Mekmasteru kako bi se utvrdio broj oocista kokcidija u jedinici mere uzorka.



Biohemijske analize

Krv za biohemijske analize je uzorkovana iz ulnarne ili brahijalne vene pilića starih 12. 21. i 40. dana. Uzimana je puna krv u epruvete sa litijum-heparinom (BD Vacutainer®) i centrifugirana da bi se izdvojila plazma, a preostali eritrociti (RBC) tri puta su isprani u fiziološkom rastvoru i čuvani na -20°C do dalje analize.

Parametri oksidativnog stresa

Aktivnost SOD u hemolizatima procenjena je epinefrinskom metodom (**Misra i Fridovich, 1972**), koja se zasniva na sposobnosti SOD da inhibira auto-oksidaciju adrenalina do adrenohroma. Aktivnost SOD je izražena u jedinici po gramu hemoglobina (U/g Hb).

Aktivnost CAT u uzorcima hemolizata je analizirana pomoću H₂O₂ kao supstrata (**Aebi, 1984**). Aktivnost CAT je izračunata korišćenjem molarnog koeficijenta ekstinkcije (0,0436 cm²/l·mol) i izražena je u jedinici po gramu hemoglobina (U/g Hb).

Specifična aktivnost GST izražena je korišćenjem molarnog koeficijenta ekstinkcije (9,6/mM/cm) i izražena je u jedinici po gramu hemoglobina (U/g Hb).

Koncentracija MDA iz uzoraka je izmerena spektrofotometrijski i izražena je u nmol/g Hb.

Za određivanje koncentracije hemoglobina primenjena je cijanomethemoglobinska metoda sa Drabkinovim reagensom (**Tentori i Salvati, 1981**). Sve biohemijske analize su merene istovremeno u tri ponavljanja za svaki uzorak pomoću spektrofotometra.

Određivanje proizvodnih parametara

Na početku i na kraju eksperimenta, merene su telesne mase (pojedinačno) i potrošnja hrane u cilju izračunavanja prirasta i koeficijenta konverzije hrane (FCR) za svaku grupu.

Telesna masa svakog pileta pojedinačno merena je na početku eksperimenta, na kraju svake nedelje tova i na kraju eksperimenta. Povećanje telesne mase je mereno na nedeljnom nivou. Potrošnja i konverzija hrane (FCR) su izračunati na kraju ogleđa.

Statistička analiza

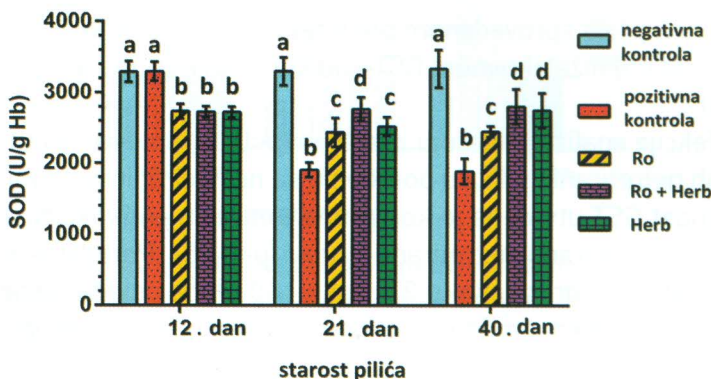
U statističkoj analizi dobijenih rezultata izvedenog eksperimenta kao osnovne statističke metode koristili smo deskriptivne statističke parametre. Za praćenje FCR i broja oocista svaki boks je bio jedinica posmatranja. Za analizu biohemijskih parametara oksidativnog stresa i telesne mase jedinica posmatranja bila je jedinka. Obzirom da su podaci za FCR bili heterogeni, grupe su poredene

koristeći KruskalWallis ANOVA, a naknadna poređenja su urađena sa Dunn's testom. Zbog heterogenosti podataka za broj oocista, izvršena je transformacija podataka $\log_{10}(\text{vrednost}+1)$, a grupe su testirane. Podaci biohemijskih parametara oksidativnog stresa i telesne mase su bili normalno distribuirani (Shapiro-Wilk's test, $p>0,05$) i zajedno sa brojem oocista su poređeni koristeći two-way ANOVA sa ponovljenim merenjem u jednom faktoru, a naknadna poređenja su urađena sa Tukey's testom. Statističke razlike utvrđene su na nivou značajnosti od 5%.

REZULTATI

Parametri oksidativnog stresa

Aktivnost enzima SOD u krvi pilića prikazana je na slici 1. Kod merenja sprovedenog 12. dana starosti uočene su značajne ($p<0,05$) razlike između kontrolnih i tretiranih grupa. Aktivnost SOD kod kontrolnih grupa pilića (negativna i pozitivna kontrola) je bila značajno ($p<0,05$) viša nego kod sve tri tretirane grupe (Ro, Ro+Herb i Herb). Značajnih ($p>0,05$) razlika između tretiranih grupa (Ro, Ro+Herb i Herb) nije bilo. Merenjem aktivnosti istog enzima 21. i 40. dana ustanovljeno je značajno ($p<0,05$) smanjenje aktivnosti SOD kod svih grupa inficiranih pilića u odnosu na negativnu kontrolu. Aktivnost SOD je bila značajno ($p<0,05$) viša kod inficiranih pilića tretiranih antikokcidijskim preparatima (Ro, Ro+Herb i Herb) u odnosu na inficirane netretirane piliće (pozitivna kontrola). Poređenjem aktivnosti SOD u tretiranim grupama ustanovljeno je da je ona u Ro+Herb grupi bila značajno ($p<0,05$) veća u odnosu na Ro i Herb grupu 21. dana, dok je 40. dana uočeno značajno ($p<0,05$) povećanje aktivnosti SOD u Ro+Herb i Herb grupi u odnosu na Ro grupu.

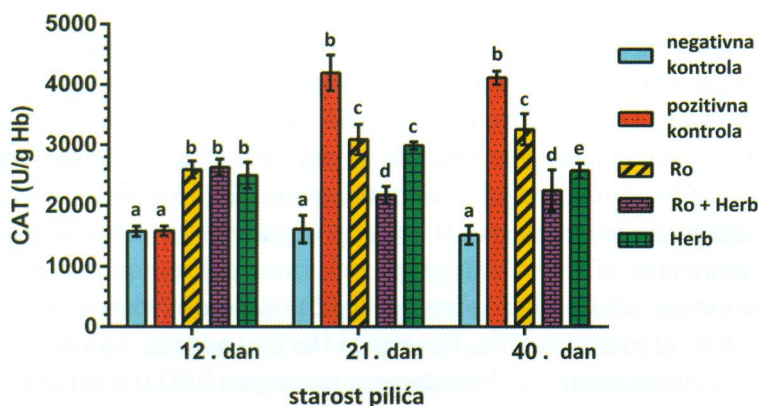


Slika 1. Aktivnost SOD u krvi pilića 12., 21. i 40. dana starosti u kontrolnim i tretiranim grupama. Podaci su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD). Različita slova iznad stubića ukazuju na značajne razlike između grupa u svakom pojedinačnom terminu uzorkovanja ($p<0,05$).



U prvom merenju (12. dan ogleda) ustanovljeno je da je aktivnost CAT značajno niža kod kontrolnih grupa u odnosu na tretirane ($p < 0,05$), bez značajnih razlika između tretiranih grupa ($p > 0,05$) (Slika 2).

Nakon infekcije pilića kokcijama kod inficiranih jedinki aktivnost CAT značajno se povećala u odnosu na neinficirane piliće i 21. i 40. dana ogleda ($p < 0,05$). U poređenju sa inficiranom netretiranom grupom u oba termina merenja, uočava se značajno smanjenje aktivnosti CAT kod grupa tretiranih antikokcidijskim aditivima ($p < 0,05$). Takođe, uočava se i značajna razlika između Ro+Herb grupe u poređenju sa Ro i Herb grupama ($p < 0,05$) 21. dana. Kod poslednjeg merenja uočena je značajna ($p < 0,05$) razlika između sve tri grupe pilića tretirane kokcidiostaticima (Slika 2).

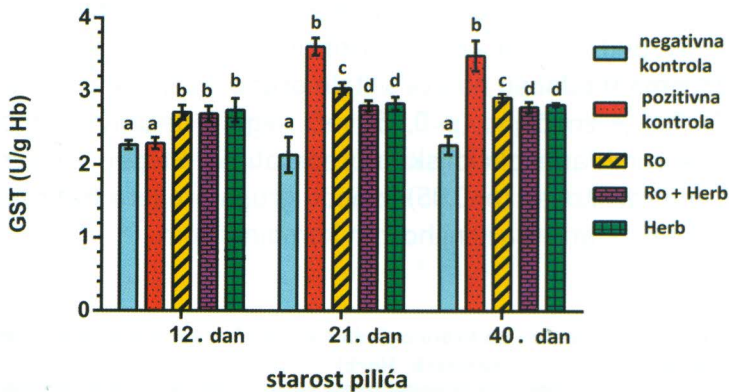


Slika 2. Aktivnost CAT u krvi pilića 12., 21. i 40. dana starosti u kontrolnim i tretiranim grupama. Podaci su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD). Različita slova iznad stubića ukazuju na značajne razlike između grupa u svakom pojedinačnom terminu uzorkovanja ($p < 0,05$).

Analizom krvi pilića sprovedenom pre infekcije kokcijama (12. dan) uočena je značajno ($p < 0,05$) niža aktivnost GST kod kontrolnih grupa u odnosu na tretirane (Slika 3).

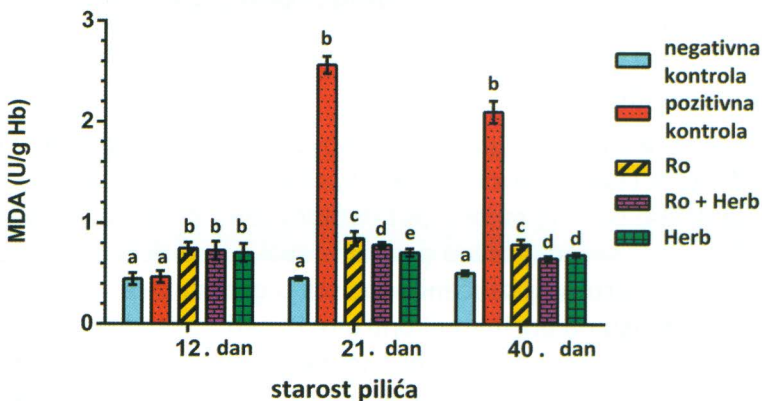
Nakon infekcije analize pokazuju značajno ($p < 0,05$) povećanje aktivnosti GST kod inficiranih netretiranih pilića u poređenju sa neinficiranim (Slika 3). Značajno niža aktivnost GST utvrđena je kod grupa tretiranih antikokcidijskim aditivima u odnosu na inficiranu netretiranu grupu ($p < 0,05$). Poređenjem aktivnosti GST između tretiranih grupa, kako 21., tako i 40. dana ogleda, ustanovljena je značajna ($p < 0,05$) razlika između Ro grupe u odnosu na Herb grupu i Ro+Herb (Slika 3).

Koncentracija MDA u krvi pilića prikazana je na slici 4. Kod prvog merenja utvrđena je značajno ($p < 0,05$) niža koncentracija MDA kod kontrolnih pilića u poređenju sa svim tretiranim grupama. Kod drugog merenja (21. dan) uočeno je



Slika 3. Aktivnost GST u krvi pilića 12., 21. i 40. dana starosti u kontrolnim i tretiranim grupama. Podaci su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD). Različita slova iznad stubića ukazuju na značajne razlike između grupa u svakom pojedinačnom terminu uzorkovanja ($p < 0,05$).

značajno ($p < 0,05$) povećanje koncentracije MDA kod inficiranih kontrolnih pilića u odnosu na neinficirane. Koncentracija MDA je bila značajno ($p < 0,05$) niža kod inficiranih pilića tretiranih antikokcidijskim supstancama u odnosu na inficirane netretirane piliće. Poređenjem vrednosti koncentracija MDA kod tretiranih grupa u drugom merenju, utvrđene su značajne ($p < 0,05$) razlike između sve tri grupe. Četrdesetog dana ogleđa koncentracije MDA bile su značajno ($p < 0,05$) niže u grupama Herb i Ro+Herb u odnosu na Ro grupu.



Slika 4. Koncentracija MDA u krvi pilića 12., 21. i 40. dana starosti u kontrolnim i tretiranim grupama. Podaci su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD). Različita slova iznad stubića ukazuju na značajne razlike između grupa u svakom pojedinačnom terminu uzorkovanja ($p < 0,05$).

Proizvodni parametri

U Tabeli 1 prikazane su prosečne telesne mase pilića u eksperimentalnim grupama i pokazatelji konverzije hrane (FCR) tokom ogleđa. Na početku ekspe-



rimenta telesna masa svih grupa pilića bila je ujednačena. Međutim, na kraju oglada značajno ($p < 0,05$) je bila niža kod inficiranih pilića bez tretmana antikokcidijskim aditivima u odnosu na sve ostale grupe. FCR kod pilića u pozitivnoj kontroli (2,76) bio je značajno ($p < 0,05$) veći nego u negativnoj kontroli (1,61) i kod pilića tretiranih antikokcidijskim preparatima. Stepenn konverzije hrane nije se značajno razlikovao ($p > 0,05$) između grupa brojlera tretiranih biljnim i sintetskim kokcidiostaticima ili njihovom kombinacijom.

TABELA 1

Telesne mase pilića na početku i na kraju oglada i stepenn konverzije hrane (FCR) kod kontrolnih i tretiranih grupa (Ro, Ro+Herb, Herb)

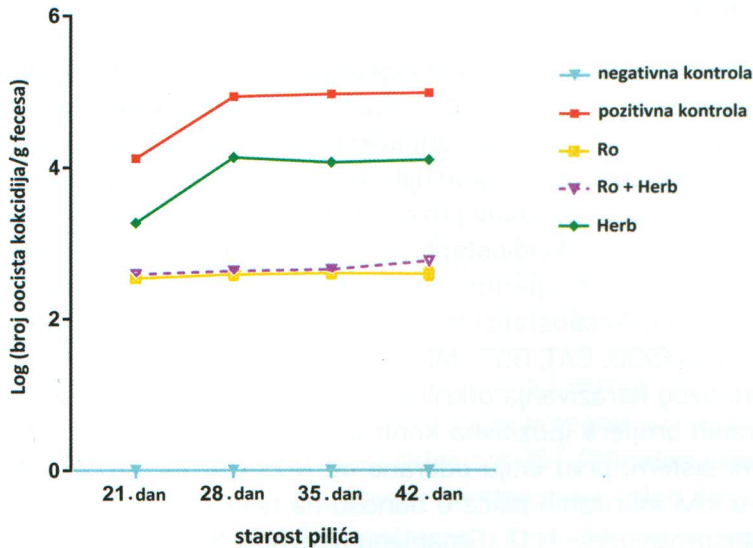
Grupe	Početne telesne mase (g) Mean \pm SD	Završne telesene mase (g) Mean \pm SD	FCR Median (IQR)
Negativna kontrola	39,84 \pm 1,18a	2821,22 \pm 531,82a	1,61 (1,45-1,85)a
Pozitivna kontrola	39,87 \pm 0,99a	1858,68 \pm 533,93b	2,76 (2,10-3,62)b
Ro	39,67 \pm 1,06a	2618,70 \pm 494,79ac	1,69 (1,57-2,08)ac
Ro + Herb	39,62 \pm 0,91a	2440,35 \pm 391,35c	1,91 (1,76-2,07)c
Herb	39,72 \pm 0,96a	2523,00 \pm 521,94cd	1,82 (1,60-2,28)ac

Vrednosti unutar iste kolone obeležene su različitim slovima u superskriptu, koje ukazuju na značajne razlike među grupama ($p < 0,05$).

Broj oocista kokcidija

Analizom fecesa neinficiranih pilića, uzorkovanog 14., 21., 28., 35. i 42. dana, nisu pronađene oociste kokcidija (Slika 5). Kod inficiranih netretiranih pilića (pozitivna kontrola) oociste su prvi put ustanovljene 21. dana (7. dan posle infekcije). Njihov broj se povećavao prilikom svakog sledećeg uzorkovanja. U grupama Ro i Ro+Herb broj izlučenih oocista u gramu fecesa bio je značajno ($p < 0,05$) niži u odnosu na pozitivnu kontrolu. Između ovih dveju grupa značajna ($p < 0,05$) razlika u broju oocista bila je zabeležena samo na kraju oglada. Brojleri Herb grupe izlučivali su značajno veći ($p < 0,05$) broj oocista u odnosu na druge dve tretirane grupe, ali još uvek značajno ($p < 0,05$) manji u odnosu na pozitivnu kontrolu (Tabela 2).

Prosečan broj oocista kokcidija u gramu fecesa (e.p.g.) kod svih grupa u svim terminima uzorkovanja (14., 21., 28., 35. i 42. dan) prikazan je u Tabeli 2 kao transformisana vrednost ($\log_{(vrednost+1)}$). Tokom eksperimenta neinficirani pilići nisu izlučivali oociste kokcidija. Kod inficiranih netretiranih pilića (pozitivna kontrola), kao i kod onih koji su dobijali biljni antikokcidijski aditiv (Herb grupa), broj oocista



Slika 5. Broj izlučenih oocista u gramu fecesa (o.p.g.) kod kontrolnih i tretiranih grupa pilića. Ro – grupa tretirana robenidinom, Herb – grupa tretirana biljnim kokcidiostatikom, Ro+Herb – grupa tretirana Robenidinom i biljnim kokcidiostatikom.

u gramu fecesa bio je značajno ($p < 0,05$) veći 28., 35. i 42. dana u odnosu na 21. dan. Kod inficiranih pilića tretiranih Robenidinom (Ro grupa) broj oocista se nije značajno ($p > 0,05$) menjao tokom oglada. Broj oocista kod pilića u Ro+Herb grupi bio je značajno veći ($p < 0,05$) 42. dana u odnosu na 21. dan; poređenjem broja oocista detektovanih 28., 35. i 42. dana nije uočena značajna ($p > 0,05$) razlika.

TABELA 2.

Broj oocista u gramu fecesa (e.p.g.) prikazan kao transformisana vrednost ($\log_{(vrednost+1)}$) kod kontrolnih i tretiranih grupa pilića (Ro, Ro+Herb, Herb) tokom oglada

Grupe	21. dan starosti	28. dan starosti	35. dan starosti	42. dan starosti
Negativna kontrola	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}
Pozitivna kontrola	4,12±0,15 ^{bA}	4,94±0,15 ^{bB}	4,97±0,15 ^{bB}	4,99±0,13 ^{bB}
Ro	2,54±0,04 ^{cA}	2,59±0,07 ^{cA}	2,61±0,07 ^{cA}	2,60±0,08 ^{cA}
Ro+Herb	2,59±0,06 ^{cA}	2,64±0,08 ^{cAB}	2,66±0,06 ^{cAB}	2,77±0,08 ^{dB}
Herb	3,27±0,09 ^{dA}	4,14±0,09 ^{dB}	4,07±0,10 ^{dB}	4,11±0,08 ^{dB}

Ro – grupa tretirana Robenidinom, Ro+Herb – grupa tretirana Robenidinom + biljni kokcidiostatik, Herb – grupa tretirana biljnim kokcidiostatikom.

Različita mala slova u superskiptu označavaju značajne razlike **između grupa** pilića u istom vremenu uzorkovanja ($p < 0,05$); različita slova pisana verzalom označavaju značajne razlike **unutar grupe** tokom eksperimenta ($p < 0,05$).



DISKUSIJA

Uprkos obilju literaturnih podataka koji ukazuju na to da postoje značajne razlike u parametrima oksidativnog stresa kod pilića inficiranih kokcidijama, oni dobijeni na brojlerima tretiranim antikokcidijalima su oskudni. Praćenje parametara oksidativnog stresa nakon njihove primene može pružiti korisne informacije o mogućim antioksidativnim efektima antikokcidijskih lekova. U našem istraživanju sintetski kokcidiostatik Robenidin, biljni kokcidiostatik i njihova kombinacija davani su brojlerima zaraženim ejmerijama. Rezultati su pokazali da su primenjeni kokcidiostatici značajno uticali na promene parametara oksidativnog stresa (SOD, CAT, GST i MDA) kod zaraženih pilića.

Rezultati ovog istraživanja otkrili su manju aktivnost SOD u krvi zaraženih, ali netretiranih brojlera (pozitivna kontrola). SOD je uključen u antioksidativni odbrambeni sistem, prvu liniju odbrane od ROS (**Surai, 2016**). Manja aktivnost SOD u krvi inficiranih pilića u odnosu na neinficirane verovatno je rezultat povećane proizvodnje H_2O_2 . Smanjenu aktivnost SOD kod brojlera zaraženih kokcidijom otkrili su i neki drugi istraživači (**Georgieva i sar., 2006; Liu i sar., 2016**). Primena kokcidiostatika kod zaraženih pilića rezultirala je povećanom aktivnošću SOD, najistaknutijom u grupi Ro+Herb, što znači da je smanjen efekat oksidativnog stresa. Pretpostavlja se da su antikokcidijali sprečili inaktivaciju SOD sa H_2O_2 , što je rezultat dismutacije superoksid anjona (**Nikolić-Kokić i sar., 2010**). Bozkurt i saradnici (2016) su takođe ustanovili značajno povećanje aktivnosti SOD kod inficiranih pilića hranjenih hranom sa dodatim biljnim kokcidiostatikom na bazi ulja origana.

Osim SOD, praćena je aktivnost CAT nakon tretmana inficiranih pilića sa kokcidiostaticima. Nema objavljenih podataka o uticaju kombinacije biljnih i sintetičkih kokcidiostatika na aktivnost CAT. U našem eksperimentu najveći porast aktivnosti ovog enzima detektovan je u pozitivnoj kontroli, što je u skladu sa nalazima koje su objavili **Georgieva i saradnici (2006)**. Slične rezultate su dobili i drugi autori, koji su ukazali na povećanje aktivnosti CAT kod brojlera zaraženih *E. acervulinom* i *E. tenellom* (**Liu i sar., 2016; Georgieva i sar., 2010**). Aktivnost CAT je povišena kod oksidativnog stresa, koji se smatra kompenzacijskim mehanizmom pilića inficiranih kokcidijama. Kod grupa inficiranih pilića koje su dobijale antikokcidijske lekove u hrani zabeleženo je smanjenje aktivnosti CAT u odnosu na inficirane netretirane piliće. U tretiranim grupama najveći pad aktivnosti CAT je primećen u grupi Ro+Herb, što znači da je kombinacija dva kokcidiostatika najviše uticala na smanjenje oksido-redukcionog disbalansa nastalog kao odgovor na prisustvo parazita. CAT igra veoma bitnu ulogu u očuvanju integriteta ćelije tako što razlaže reaktivni vodonikperoksid, koji može da dovede do nastanka veoma reaktivnog hidroksi radikala. Hidroksi radikal je izuzetno nestabilan, može izazvati ćelijsko oštećenje putem lipidne peroksidacije, oksidacije DNK i proteina (**Aprioku, 2013**).

Analiza aktivnosti GST u ovom istraživanju pokazala je povećanu aktivnost kod inficiranih pilića. Istu pojavu kod pilića, nastalu delovanjem faktora iz spoljne sredine, opisali su **Ismail i saradnici (2013)**. GST je uključen u zaštitu ćelije od negativnih efekata ROS, za koji se vezuje direktno kovalentno i čini ih manje reaktivnim (**Chikezie, 2015**). U ovom istraživanju aktivnost GST je bila niža kod tretiranih grupa u poređenju sa pozitivnom kontrolom, što dovodi do hipoteze da su antikokcidijali uticali na smanjenje produkcije supstrata (ROS) dovodeći do smanjene aktivnosti enzima za detoksikaciju. Najveće smanjenje aktivnosti GST uočeno je u grupi Ro+Herb. U istraživanju koje su sproveli **Giannenas i saradnici (2010)** otkriveno je da preparati na bazi gljiva mogu povećati aktivnost GST i pozitivno uticati na rast, iskorišćavanje hrane i stimulisati lučenje digestivnih enzima. Slično tome, dokazano je da biljni preparat na bazi ruzmarina ima antioksidativno dejstvo povećavajući aktivnost GST (**Ghozlan i sar., 2017**).

Malondialdehid nastaje u procesu lipidne peroksidacije usled delovanja ROS na polinezasićene lipide. Njegova koncentracija u krvi i tkivima je direktno proporcionalna ćelijskom oštećenju izazvanom ROS i iz tog razloga je koristan marker u analizi oksidativnog stresa (**Georgieva i sar., 2006**). Rezultati našeg istraživanja pokazuju povećanu koncentraciju MDA kod inficiranih pilića, kao rezultat povećane lipidne peroksidacije. Slične podatke o promeni koncentracije MDA objavili su i drugi istraživači (**Georgieva i sar., 2006; Pourali i sar., 2014; Liu i sar., 2016**). Značajno smanjenje nivoa MDA je uočeno kod pilića u svim tretiranim grupama, što dovodi do zaključka da su antikokcidijali uticali na smanjenje produkcije ROS i tako doveli do smanjene lipidne peroksidacije. U istraživanju koje su sproveli **Bozkurt i saradnici (2016)** utvrđeno je da biljni antikokcidijski lekovi ublažavaju oksidativni stres smanjenjem koncentracija MDA. **Giannenas i saradnici (2010)** su ustanovili da preparati na bazi gljiva imaju antioksidativna svojstva i smanjuju koncentraciju MDA.

Analizom rezultata proizvodnih parametara pilića u eksperimentu uočava se da je najniža prosečna telesna masa bila kod inficiranih netretiranih pilića, kod kojih je bio i najveći FCR. Ovaj smanjeni prirast može da se pripíše infekciji kokcidijama. Razvijajući se u crevima oociste kokcidija izazivaju oštećenja sluznice creva, otežavaju apsorpciju hranljivih materija, otvaraju vrata infekcije drugim patogenima i utiču direktno na prirast (**Yegani i Korver, 2008**). Poređenjem tretiranih grupa pilića jasno se uočava da je najveća prosečna telesna masa bila kod onih koji su dobijali Robenidin, i imali najmanji FCR. Najniža prosečna telesna masa zabeležena je kod pilića tretiranih sa oba antikokcidijska leka (Ro+Herb). Upoređivanjem naših rezultata sa rezultatima drugih autora uočava se da su povećan dnevni prirast i telesna masa kod tretiranih pilića nastali kao posledica korisnog antikokcidijskog efekta sintetskog i biljnog kokcidiostatika (**Assis i sar., 2012**;



Pourali i sar., 2014). Pozitivan efekat na proizvodne parametre dobijen upotrebom hemijskih i biljnih antikokcidijala su opisali i drugi autori (**Abdelrahman i sar., 2014; Adulugba i sar., 2017**). Biljni antikokcidijski lekovi, za razliku od sintetskih, ne ostavljaju rezidue u mesu pilića, zbog čega se njihovi efekti sve više istražuju (**Abou-Elkhair i sar., 2014; Muthamilselvan i sar., 2016; Papadopolou i sar., 2017**). Oni doprinose povećanju telesne mase i smanjenju FCR, što se može objasniti povećanom absorpcionom površinom creva i boljom enzimskom aktivnošću, nastalom usled ozdravljenja. Podaci su pokazali da biljni antikokcidijski lekovi koji sadrže origano, timijan, korijander, karvakrol, timol i druge aktivne materije imaju antikokcidijski i antioksidativni efekat (**Peek i Landman, 2011; Mohiti-Asli i Ghanaatparast-Rashti, 2015; Bozkurt i sar., 2016**).

Rezultati dobijeni u ovom istraživanju pokazuju da je kod inficiranih pilića nakon primene antikokcidijskih lekova došlo do značajne redukcije broja oocista u fecesu, u odnosu na inficirane piliće koji nisu bili tretirani. Najmanji prosečan broj oocista otkriven je kod pilića tretiranih Robenidinom, što pokazuje njegov zadovoljavajući antikokcidijski efekat. Mehanizam delovanja Robenidina zasnovan je na inhibiciji oksidativne fosforilacije u mitohondrijama parazita, čime se sprečava njihov razvoj. Pilići tretirani Robenidinom i biljnim kokcidiostatikom izlučili su takođe manji broj oocista u poređenju sa inficiranom netretiranom grupom, što ukazuje da je ova kombinacija antikokcidijskih lekova postigla dobar antikokcidijski efekat. Ovi podaci odgovaraju podacima dobijenim upotrebom kombinacije diklazurila i eteričnog ulja origana (**Mohiti-Asli i Ghanaatparast-Rashti, 2015**), i amprolijuma i belog luka (**Adulugba i sar., 2017**). Analiza naših rezultata dobijenih spektrofotometrijom pokazala je da je kombinacija dva antikokcidijska leka značajno uticala na smanjenje oksidativnog stresa, s obzirom da su vrednosti biohemijskih parametara bile najbliže onima kod neinficiranih pilića. Gore opisanim mehanizmom Robenidin je uticao na smanjenje broja oocista kod pilića, dok je upotreba biljnog antikokcidijskog leka uticala na povećan nivo antioksidativne odbrane, što se odrazilo na dobijene vrednosti parametara oksidativnog stresa. U ovom istraživanju dokazano je da biljni ekstrakti (origano, timijan i korijander) u testiranom biljnom kokcidiostatiku imaju antioksidativna svojstva. Biljni antikokcidijali uglavnom sadrže bioaktivna jedinjenja kao što su polifenoli, kinini, flavonoidi, alkaloidi i polipeptidi. Fenolna jedinjenja aromatičnih biljaka i njihova eterična ulja odlični su izvori prirodnih antioksidanata. Flavonoidi mogu delovati kao snažni antioksidansi uklanjanjem slobodnih radikala i zaustavljanjem oksidativnih reakcija (**Masood i sar., 2013**). Kod pilića koji su dobijali biljni kokcidiostatik oociste su bile prisutne u fecesu u većem broju u odnosu na ostale dve tretirane grupe (Ro, Ro+Herb), ali je primenjeni biljni preparat ispoljio efikasan antikokcidijski efekat.

ZAKLJUČAK

Sintetski i biljni antikokcidijski lekovi su značajno uticali na parametre oksidativnog stresa: aktivnost CAT, GST i koncentracija MDA bili su niži, dok je aktivnost SOD bila viša u tretiranim grupama u odnosu na netretirane inficirane piliće, što ukazuje na smanjenje oksidativnog stresa. Osim toga, primenjeni antikokcidijski lekovi su doveli do smanjenja broja izlučenih oocista. Broj oocista je bio manji u grupama Ro i Ro+Herb u poređenju sa grupom Herb, što znači da su sintetski antikokcidijski lek i kombinacija sintetskog i biljnog dali bolji efekat u suzbijanju kokcidioze od biljnog. Međutim, dokazano je da se i testirani biljni preparat može koristiti u suzbijanju kokcidioze i prevenciji oksidativnog stresa. Ovi rezultati mogu pomoći u izboru antikokcidnih lekova i direktno uticati na smanjenje ekonomskih gubitaka prouzrokovanih kokcidiozom.

ZAHVALNICA

Ovaj rad je finansiran sredstvima sa Projekata ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije broj III 46002 kojim rukovodi prof. dr Zoran Stanimirović i TR 31071 kojim rukovodi dr Dubravka Milanov, viši naučni saradnik.

THE USE OF SYNTHETICS AND HERBAL COCCIDIOSTATS IN THE PREVENTION OF COCCIDIOSIS AND OXIDATIVE STRESS IN BROILERS

Coccidiosis is one of the one of the most common and important diseases in poultry production which renders the preventive use of anticoccidial drugs obligatory. The aim of this research was to examine the effect of synthetic and herbal anticoccidials on prevention of coccidiosis and oxidative stress in broilers infected with *Eimeria* spp. The chickens were allotted to five groups: two untreated (uninfected and infected) and three groups treated with anticoccidials (all infected with *Eimeria* spp.). The first treated group (Ro) was given robenidine, the 2nd a herbal anticoccidial (Herb) and the 3rd the combination of robenidine and the herbal anticoccidial (Ro+Herb). All infected groups (untreated and treated) were on day 14 challenged with oral inoculation of oocysts (mixed infection). The activities of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione S-transferase (GST), and the concentration of malondialdehyde (MDA) were estimated in blood samples taken on days 12, 21 and 40.



In addition, the oocyst numbers were calculated per gram, and chicken body weight and feed conversion ratio (FCR) measured. The activities of CAT, GST and the level of MDA were significantly lower, whilst the activity of SOD was higher in infected chickens treated with anticoccidials in comparison to those infected but untreated, indicating a reduction in oxidative stress. The most prominent change in the parameters of oxidative stress was recorded in the Ro+Herb group. In chickens treated with anticoccidials body weight was significantly higher, and the FCR and the number of oocysts per gram significantly lower in comparison to infected untreated chickens. Oocyst counts were lower in the Ro and Ro+Herb groups than in the Herb group, indicating that synthetic, and a combination of synthetic and herbal anticoccidial drugs have given a better effect in fight against coccidiosis. However, it was proven that the herbal anticoccidial may also be used in the control of coccidiosis and the prevention of oxidative stress.

Key words: broilers, oxidative stress, *Eimeria*, synthetic and herbal anticoccidial.

LITERATURA

1. **Abdelrahman, W., Mohnl, M., Teichmann, K., Doupovec, B., Schatzmayr, G., Lumpkins, B., & Mathis, G. (2014).**: Comparative evaluation of probiotic and salinomycin effects on performance and coccidiosis control in broiler chickens. *Poultry science*, 93(12), 3002-3008.
2. **Abou-Elkhair, R., Gaafar, K. M., Elbahy, N. M., Helal, M. A., Mahboub, H. D., & Sameh, G.: (2014).** Bioactive effect of dietary supplementation with essential oils blend of oregano, thyme and garlic oils on performance of broilers infected with *Eimeria* species. *Global Veterinaria*, 13(6), 977-985.
3. **Adulugba, I. A., Goselle, O. N., Ajayi, O. O., & Tanko, J. T. (2017).**: Development of a potent anti-coccidial drug: A phyto-synthetic approach. *American Journal of Phyto-medicine and Clinical Therapeutics*, 5: 1-7.
4. **Aebi, H. (1984).**: [13] Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121-126.
5. Akbarian, A., Michiels, J., Degroote, J., Majdeddin, M., Golian, A., & De Smet, S. (2016). Association between heat stress and oxidative stress in poultry; mitochondrial dysfunction and dietary interventions with phytochemicals. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7(1), 1-14.
6. **Aprioku, J. S. (2013).**: Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis. *Journal of reproduction & infertility*, 14(4), 158.
7. **Assis, R. C. L., Cury, M. C., Luns, F. D., & Assis, R. L. (2012).**: Anticoccidial efficacy of drinking water soluble diclazuril in the control of *Eimeria acervulina* oocysts on experimentally-infected broiler chickens. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(5), 1188-1193.

8. **Blake, D. P., & Tomley, F. M. (2014).**: Securing poultry production from the ever-present *Eimeria* challenge. *Trends in parasitology*, 30(1), 12-19.
9. **Chapman, H. D. (2007).**: Rotation programmes for coccidiosis control. *International Poultry Production*, 15(1), 7-9.
10. **Chapman, H. D., Barta, J. R., Blake, D., Gruber, A., Jenkins, M., Smith, N. C., & Tomley, F. M. (2013).**: A selective review of advances in coccidiosis research. *Advances in parasitology*, 83, 93-171.
11. **Chikezie, P. C. (2015).**: Glutathione S-transferase activity in diagnostic pathology. *Metabolomics*, 5(4), 153.
12. **De Gussem, M. (2007).**: Coccidiosis in poultry: review on diagnosis, control, prevention and interaction with overall gut health. In *Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition*, 253-261.
13. **El-Maksoud, A., Afaf, H. A., Abdel-Magid, D., & El-Badry, M. A. (2014).**: Biochemical effect of coccidia infestation in laying :hen. *Benha Vet Med J*, 26(1), 127-133.
14. **Estévez, M. (2015).**: Oxidative damage to poultry: from farm to fork. *Poultry Science*, 94(6), 1368-1378.
15. **European Commission: Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.** *Official Journal of the European Union*, 2010.
16. **Georgieva, N. V., Koinarski, V., & Gabrashanska, M. (2010).**: Combined effect of Cygro® and vitamin E on oxidative stress status of broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Agricultural Science and Technology*, 2(4), 191-196.
17. **Georgieva, N. V., Koinarski, V., & Gadjeva, V. (2006).**: Antioxidant status during the course of *Eimeria tenella* infection in broiler chickens. *The Veterinary Journal*, 172(3), 488-492.
18. **Ghozlan, S. A., El-Far, A. H., Sadek, K. M., Abourawash, A. A., & Abdel-Latif, M. A. (2017).**: Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) dietary supplementation in broiler chickens concerning immunity, antioxidant status, and performance. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 55(1), 152-161.
19. **Giannenas, I., Pappas, I. S., Mavridis, S., Kontopidis, G., Skoufos, J., & Kyriazakis, I. (2010).**: Performance and antioxidant status of broiler chickens supplemented with dried mushrooms (*Agaricus bisporus*) in their diet. *Poultry science*, 89(2), 303-311.
20. **Ismail, I. B., Al-Busadah, K. A., & El-Bahr, S. M. (2013).**: Oxidative stress biomarkers and biochemical profile in broilers chicken fed zinc bacitracin and ascorbic acid under hot climate. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 3(2), 202-214.
21. **Koinarski, V., Georgieva, N., Gadjeva, V., & Petkov, P. (2005).**: Antioxidant status of broiler chickens, infected with *Eimeria acervulina*. *Revue de médecine vétérinaire*, 156(10), 498.
22. **Liu, Y. X., Liu, Y. L., Yang, J. P., & Li, W. T. (2016).**: Effects of dietary conjugated linoleic acid on the duodenal mucosal immunity response and redox status of broiler chicks infected with *Eimeria acervulina*. *Czech J Anim Sci*, 61(4), 186-191.
23. **Łowicki, D., & Huczyński, A. (2013).**: Structure and antimicrobial properties of monensin A and its derivatives: summary of the achievements. *BioMed research international*, 2013.



24. **Masood S., Abbas, R., Iqbal, Z., Mansoor, M., Sindhu, Z. U. D., Zia, M. A., & Khan, J. A. (2013).**: Role of natural antioxidants for the control of coccidiosis in poultry. *Pak. Vet. J*, 33, 401-407.
25. **Misra, H. P., & Fridovich, I. (1972).**: The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological chemistry*, 247(10), 3170-3175.
26. **Mohiti-Asli, M., & Ghanaatparast-Rashti, M. (2015).**: Dietary oregano essential oil alleviates experimentally induced coccidiosis in broilers. *Preventive veterinary medicine*, 120(2), 195-202.
27. **Muthamilselvan, T., Kuo, T. F., Wu, Y. C., & Yang, W. C. (2016).**: Herbal remedies for coccidiosis control: A review of plants, compounds, and anticoccidial actions. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2016.
28. **Nikolić-Kokić, A., Blagojević, D., & Spasić, M. B. (2010).**: Complexity of free radical metabolism in human erythrocytes. *Journal of Medical Biochemistry*, 29(3), 189-195.
29. **Pamplona, R., & Costantini, D. (2011).**: Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301(4), R843-R863.
30. **Papadopoulou, A., Petrotos, K., Stagos, D., Gerasopoulos, K., Maimaris, A., Makkris, H., ... & Kouretas, D. (2017).**: Enhancement of antioxidant mechanisms and reduction of oxidative stress in chickens after the administration of drinking water enriched with polyphenolic powder from olive mill waste waters. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.
31. **Peek, H. W., & Landman, W. J. M. (2011).**: Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Veterinary quarterly*, 31(3), 143-161.
32. **Pourali, M., Kermanshahi, H., Golian, A., Razmi, G. R., & Soukhtanloo, M. (2014).**: Antioxidant and anticoccidial effects of garlic powder and sulfur amino acids on *Eimeria*-infected and uninfected broiler chickens. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 15(3), 227-232.
33. **Quiroz-Castañeda, R. E., & Dantán-González, E. (2015).**: Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. *BioMed research international*, 2015.
34. **Radakovic, M., Davitkov, D., Borozan, S., Stojanovic, S., Stevanovic, J., Krstic, V., & Stanimirovic, Z. (2016).**: Oxidative stress and DNA damage in horses naturally infected with *Theileria equi*. *The Veterinary Journal*, 217, 112-118.
35. **Surai, P. F. (2015).**: Antioxidant systems in poultry biology: superoxide dismutase. *Journal of Animal Research and Nutrition*, 1(1), 8.
36. **Tentori, L., & Salvati, A. M. (1981).**: [42] Hemoglobinometry in human blood. In *Methods in enzymology* (Vol. 76, pp. 707-715). Academic Press.
37. **Yegani, M., & Korver, D. R. (2008).**: Factors affecting intestinal health in poultry. *Poultry science*, 87(10), 2052-2063.
38. Zakon o dobrobiti životinja, 2009. Službeni Glasnik RS, 41/2009.