

DIPLOMAMUNKA

Rónaszéki Regina Andrea

2023

TDK DOLGOZAT

Rónaszéki Regina Andrea

2021

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Bakteriofág tartalmú készítmény ártalmatlansági vizsgálata broiler csirkében

Készítette:

Rónaszéki Regina Andrea

IV. évf. ao. hallgató

Témavezető:

Dr. Kerek Ádám

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, PhD-hallgató

Budapest

2021

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	3
1 Bevezetés	4
2 Irodalmi áttekintés	5
2.1 A <i>Salmonella</i> fajok állategészségügyi és közegészségügyi jelentősége.....	5
2.2 A bakteriofágokról általában.....	9
2.3 A bakteriofágok állategészségügyi felhasználásának lehetősége	11
2.4 A bakteriofág-készítmények ártalmatlansága	13
3 Célkitűzések	15
4 Anyag és módszer.....	16
4.1 Az állatkísérlet körülményei	16
4.2 A vizsgált készítmény és adagolása.....	18
4.3 Az állatok testtömegének mérése.....	19
4.4 Az állatok takarmányfogyasztásának mérése	19
4.5 Statisztikai módszer	19
5 Eredmények	21
5.1 A hőmérséklet és a páratartalom alakulása.....	21
5.2 Az állatok testtömeggyarapodása	22
5.3 A testtömeggyarapodás statisztikai elemzése	23
5.4 Az állatok takarmányfogyasztása	25
5.5 A takarmányfogyasztás statisztikai elemzése	26
5.6 A kísérlet során tapasztalt klinikai tünetek	28
6 Következtetések.....	29
7 Összefoglalás	31
8 Summary.....	32
9 Irodalomjegyzék	33
10 Köszönetnyilvánítás	38

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

dsDNS	Duplaszálú dezoxiribonukleinsav
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
MRI	Mágnesesrezonancia-képalkotás (<i>Magnetic Resonance Imaging</i>)
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. enterica</i>	<i>Salmonella enterica</i>
SPI	<i>Salmonella</i> patogenitási szigetek (<i>Salmonella Pathogenicity Islands</i>)

1 BEVEZETÉS

A *salmonellosis* igen jelentős állat-, és humánegészségügyi kockázatot jelentő megbetegedés, melynek kórokozói leginkább különféle gastrointestinalis és szisztémás tünetek kialakulásáért felelősek. A baromfiállományok esetében különösen nagy gazdasági jelentőséggel bír, ugyanis az állomány fertőzésén és nagyarányú letálisán túl, zoonotikus kórokozó lévén az ember is fertőződhet vele, leggyakrabban kontaminált állati eredetű élelmiszer felvételével. Kezelése az egyre növekvő antibiotikum rezisztencia miatt egyre nehezebb, ezért új, alternatív módszerekre van szükség. Ilyen módszerként jöhet szóba a bakteriofág terápia, mely során az állatokat az adott *Salmonella* szerovariánst fertőző bakteriofággal kezelik.

A bakteriofágok olyan vírusok, melyek baktériumokat képesek megfertőzni. Általánosságban elmondható róluk, hogy nagy a gazdaspecifitásuk, s ezen tulajdonságaik miatt szóba jöhet terápiás céllal történő alkalmazásuk. Az antibiotikumokkal ellentétben a bélflóra baktériumait nem támadják meg, ezáltal hosszabb távon történő használatuk is lehetséges, a szervezet károsodása nélkül.

Kutatásunk során egy új, fejlesztés alatt álló bakteriofág készítmény ártalmatlanságát vizsgáltuk broiler csirkéken. Ennek során célunk a készítmény biztonságos használatának tesztelése volt, hiszen az ártalmatlansági vizsgálatok a kereskedelmi forgalomba hozatali hatósági engedély kiállításának egyik alapfeltétele. A kísérlet során napos csibék ivóvízben adagoltuk a bakteriofág tartalmú készítményt. Négy nagy csoportot alakítottunk ki, amiből az első a kontroll csoport volt, egy csoport a gyártó által meghatározott dózist, a harmadik csoport annak 3x dóziséját, az utolsó csoport pedig 5x dózisban kapta a vizsgált készítményt. Az állatok testsúlyát, valamint takarmányfogyasztását a kísérlet időtartama alatt hetente három alkalommal mértük, a kontroll és kezelési csoportok eredményeit összehasonlítva pedig következtetéseket vontunk le annak ártalmatlanságáról.

2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A *Salmonella* fajok állategészségügyi és közegészségügyi jelentősége

A *Salmonella enterica* (*S. enterica*) állatorvosi és humán szempontból is fontos intracelluláris (IC) fakultatív patogén baktérium. Hat alfaja és több mint 2500 szerotípusa van. Szinte mindenhol megtalálható, például a bélben, a takarmányban, az élelmiszerekben és a természetes vizekben is. Mérete 1-5 µm-es, alakja csillós pálca. Gram-negatívan festődik, az *Enterobacteriaceae* családon belül pedig a laktóz negatív enterobaktériumok közé tartozik [1–5]. Az egyik legfontosabb élelemiszer közvetítette fertőzést előidéző kórokozó, amely kifejezetten a baromfiágazatban bír nagy jelentőséggel [2–5]. Hosszú ideig képes túlélni az élelmiszerekben (pl.: tojás, hús) és terjed vízzel is [3, 6]. A szervezet immunállapotától függően eltérő súlyosságú megbetegedéseket képes előidézni [4]. Baromfifélék esetén ki kell emelni a *Salmonella Gallinarum* szerovariánst, mely paratífuszt okoz, a baromfi tífuszt okozó *Salmonella Pullorum* fertőzés pedig 100% mortalitással is járhat [3].

Az egyes szerovariánsok lehetnek gazdaspecifikusak (*S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*), de akár több gazdaszervezetet is fertőzhetnek (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*). Bizonyos szerovariánsok (*S. Cholerasuis*, *S. Dublin*) zoonotikusak, így a humán gyógyászatban is jelentős egészségügyi kockázatot jelentenek. A gazdaszervezeten belül genomjuk dinamikusan változik, ezen változások szelekciós nyomás hatására következnek be, mint például az antimikrobiális szerek nem szakszerű alkalmazása, vagy az állatok tartástechnológiájában bekövetkező változtatások [7].

A *Salmonella* fajok képesek megtámadni a makrofágokat, dentritikus sejteket és az epithel sejteket is. Bizonyos virulencia faktorok (pl.: csilló, burok, plazmid) felelősek a szervezetben történő invázióért, túlélésért és az extraintestinális terjedésért. Ezek a faktorok a genomnak az ún. salmonella patogenitási szigetein (SPI) vannak kódolva, melyek segítik a baktérium túlélését a környezeti viszontagságokkal szemben, mint például a gyomorsav, vagy a fagoszómák emésztő enzimek [8]. Az SPI géncsoportok a baktérium kromoszómáinak azon részei, melyek más virulencia faktorok (pl.: toxintermelés, adhézió, invázió) kódolásáért is felelősek. Ezek lehetnek plazmidon vagy kromoszómálisan kódoltak. Az SPI-nek többféle altípusát különböztetjük meg, például az SPI-1 a gazdasejt inváziójáért és a makrofágok apoptózisának indukciójáért felelős, az SPI-3 a makrofágokban való

túlélésért felel [9]. A makrofágokba való bejutás vagy fagocitózis útján történik, vagy az SPI-1 gén által kódolt invázió útján [10].

A *salmonella* törzsek által okozott megbetegedések különböző klinikai formákat mutatnak. A *S. enterica* szerovariánsok általában szájon keresztül jutnak a szervezetbe, s leggyakrabban enterális megbetegedéseket okoznak (pl.: hastífusz, hasmenés, bakterémia). Az hogy a betegség milyen tünetekkel jelentkezik, nagyban függ a gazdaszervezet fogékonyságától (pl.: kor, immunológiai állapot), illetve az adott szerovariánstól [11]. Szalmonellózist, azaz gastrointestinalis gyulladást okoznak, a klinikai tünetek leggyakrabban fej- és hasfájás, valamint hasmenés. Az antibiotikumok általában hatékonyan használhatók egy súlyos gastroenteritises fertőzés kezelésében, azonban a *Salmonella* szerovariánsok antibiotikum rezisztenciája folyamatos nő [12].

A humán szalmonellózisnak nemcsak napjainkban, de már a huszadik században is nagy jelentősége volt. A kórházakban és intézményekben kitörő járványok leginkább az újszülöttek osztályán, a gyermekek kórtermeiben és az egyes kórházi kórtermekben ütötték fel fejüket, valamint a szanatóriumokban és pszichiátriai intézményekben terjedtek jelentős mértékben. A járvány a gyermekeket kevésbé érintette, azonban közöttük nagyobb volt a halálozási arány, mint a felnőttekben, valamint a cseppfertőzéssel való terjedés is hatékonyabb volt. Leginkább tojás, vagy valamilyen tojástermék által fertőződtek az emberek. Ezzel szemben a légúti úton terjedő fertőzések kontrollálása nehezebb, ugyanis meg kell találni a baktériumokat ürítő embereket és kontaminált környezeti tárgyakat [13]. A fertőzés a gyengébb immunrendszerrel rendelkező szervezetekben (pl.: 1 évnél fiatalabb gyermekekben) invazív formában jelentkezik. Antibiotikummal történő kezelés nem javasolt a gyenge, illetve közepes erősségű fertőzések esetén, illetve a jó immunrendszerrel rendelkező 1 évnél idősebb gyermekekben, illetve felnőttekben. Ezzel szemben kezelni kell a 3 hónaposnál fiatalabb csecsemőket, ugyanis náluk nagyobb a bakterémia és az extraintestinális szövődmények kockázata [14]. A salmonellák ürítésének időtartama felnőttekben körülbelül 5 hét, ez 5 évesnél fiatalabb gyermekekben, tünetekkel rendelkező emberekben, illetve azokban az egyéneknél, akik nem *S. Typhimurium*-mal, hanem más szerovariánssal fertőződtek még ennél is hosszabb lehet. A vizsgált esetek kevesebb, mint 1%-ban találtak egy évnél is hosszabb ürítési időt, ettől függetlenül az emberek közötti fertőzés átadás nagyon ritka [15].

A salmonellák a genom szintjén nagyon jól tudnak alkalmazkodni a környezet változásaihoz, kiváltképpen az antibiotikummal történő kezelések hatására. Különböző antibiotikumokra különböző mechanizmusokkal reagálnak, mint például azok kötőhelyének mutációja, ami csökkent antibiotikum kötődést eredményez a célenzimeken; de kialakulhat plazmid mediált antibiotikum rezisztencia is, amely olyan enzimkötő fehérjéket kódol, ami fizikai módon biztosít rezisztenciát a baktérium számára [16]; de a rezisztencia kialakulhat efflux pumpák révén, membránpermeabilitás változtatásával, különböző lebontó enzimek termelésével [17]. Ezek közül a leghatékonyabb módszer a plazmidon kódolt rezisztencia átadása [18].

A salmonellák nagyfokú alkalmazkodó képességének köszönhetően az egyes szerovariánsok a környezetben széles körben elterjedtek, megjelenhetnek szarvasmarhában, sertésben, baromfifélékben és vadon élő szárnyasokban. Lengyelországban több mint 40 különböző vadon élő madárfajban vizsgálták a *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Infantis, *Salmonella* Virchow és *Salmonella* Hadar szerovariánsokat. A legtöbb minta csíz és a zöldike fajokból származott; mindkét faj esetén 33,3% pozitivitást mutattak ki. Ebből a vizsgálatból kiderült, hogy a vadmadarak hordozói lehetnek egyes *salmonella* szerovariánsoknak, különösen a *Salmonella* Typhimurium-nak [19]. Egy másik kutatásban broiler csirkék *salmonella* fertőzöttségét vizsgálták. Élő állatokból, tetemekből és a vágóhídi környezetből is gyűjtöttek mintát. Az állattartó telepen tartott csirkék 27%-a lett pozitív valamely szerovariánsra, a 497 vágóhídi környezeti mintából pedig 124 esetén (24,9%) mutatták ki őket. Ez alapján elmondható, hogy a baromfifélék *salmonella* fertőzöttségének fő forrása az állattartó telep, ahonnan a madarak érkeznek, és nem a vágóhídi környezet, ott legfeljebb kontamináció következménye lehet [20]. Egy másik kutatás során különböző baromfifajokban az egyes *salmonella* szerovariánsok megoszlását vizsgálták. Az esetek 96,2%-ban *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Gallinarum vagy *Salmonella* Enteritidis volt kimutatható, ezen kívül még a *Salmonella* Infantis szerovariáns jelentőségét is kiemelték [21].

A salmonellózisok patogenezisét részletesen vizsgálták *in vivo* rágcsáló modelleken és sejtvonalakon. Az eredmények alapján megállapították, hogy az emberi fertőzések esetén a leggyakrabban a *S. enterica* serovar. Enteritidis és *S. enterica* serovar. Typhimurium fordul elő [22]. A gyorséttermi ételek arányának növekedése, az ételek nem szakszerű helyen vagy módon történő tárolása, a nyersen vagy nem megfelelően hőkezelt ételek fogyasztása, a növekvő nemzetközi kereskedelem, illetve a szervezet csökkenő egyéni ellenállóképessége

mind hozzájárul a *salmonella* fertőzések számának emelkedéséhez, hiszen az emberi *salmonella* fertőzések fő forrása valamilyen állati eredetű élelmiszer [23]. A nem tífuszos tüneteket okozó salmonellák hordozói lehetnek házikedvenceink is, míg a tífuszt okozó *Salmonella* Typhinek az egyetlen hordozója és gazdája az ember. A *salmonella* fertőzések a gastrointestinalis megbetegedések egyik fő okozói, leggyakrabban szennyezett víz, állati eredetű élelmiszer útján fertőződhetnek az emberek, melyre a személyi higiénia hiánya további súlyosbító tényezőként hat [14]. Az ételmérgezések fő okozója a *Salmonella* Enteritidis szerovariáns, fő forrása a szennyezett vagy fertőzött tojás, illetve tojásból készült termékek. Részletes patológiai vizsgálatokat végeztek természetes és mesterséges úton fertőződött baromfiféléken, melynek során megállapították, hogy szisztémás fertőzés is kialakulhat, mindamelllett meghosszabbodhat a szervezetből való ürülés ideje napos csibékben és tojótyúkokban. A betegség kimenetelét befolyásoló tényezők közé tartozik a baktérium törzs, a madarak életkora, illetve az aktív immunizálás is hatással lehet rá [24].

A *S. enterica* különböző szerovariánsai által okozott ételmérgezéses fertőzések és a kórokozók állati tápokban való előfordulása között nem mutattak ki korrelációt. A csirketápokban való túlélésük feltehetőleg egy olyan független faktor eredménye, melynek nincs köze a virulenciájukhoz. A gazdaspecifikusságuk pedig különböző gének meglétéhez, vagy éppen azok hiányához, illetve ezek kifejeződéséhez köthető [3]. A szisztémás salmonellafertőzéssel szembeni rezisztenciát csirkékben számos gén kódolja, köztük a *Slc11a1*, illetve az újonnan felfedezett *SAL1* gén, melyek növelik a makrofágok aktivitását a salmonellával szemben. Szembetűnő különbségeket mutattak a bélcsatorna fertőzöttség mértékében és a vakcina hatékonyságában azok a csirkék, amelyek genetikailag távol álló szülőktől származtak, illetve amelyek beltenyésztett egyedek voltak [25].

A nagy számú *salmonella* okozta ételmérgezéses esetek következtében az Európai Unió szabályozásokat vezetett be annak érdekében, hogy ezen patogéneket megfelelő kontroll alatt tartsák. Ezért az Európai Tanács 2003-ban létrehozott egy rendeletet a *salmonella* és egyéb élelmiszer eredetű zoonotikus patogének ellenőrzésének és visszaszorításának érdekében. Ebben a rendeletben lefektették a salmonellák kimutatásának és kontrolljának szabályait, illetve meghatározták, hogy mely metódusok használhatóak a nemzeti kontroll programokban és melyek nem. Továbbá meghatározták a különböző zoonózisok és zoonotikus ágensek megelőzésére használható eljárásokat az élelmiszerlánc különböző szakaszaiban. Ezen rendeletben írták le, hogy az antimikrobiális szerek használatának visszaszorítására kell törekedni, hiszen a rezisztencia terjedése

közegészségügyi kockázatokat von maga után. Éppen ezért az antimikrobiális szerek alkalmazása nem lehet a nemzeti kontroll program része, csak kivételes esetekben alkalmazható, kizárólag állatorvosi gyógyszerkészítmények felhasználásával. Ezzel szemben a salmonellák megelőzésére használható vakcinák alkalmazását szorgalmazzák baromfi fajokban, melynek segítségével a madarak immunrendszerének ellenállóképességét tudják növelni. Megállapították, hogy a *S. Enteritidis* a legfőbb oka az emberi fertőzéseknek, még hozzá a tojásfogyasztás révén. Mivel a vakcinában található baktériumtörzsek és a vadon élő törzsek jól elkülönülnek egymástól, ezért mind az inaktívált, mind az élő kórokozót tartalmazó vakcina megfelelő hatékonysággal használható, azonban a jelenleg elérhető élő kórokozót tartalmazó vakcinák használatát a nemzeti kontroll program során tojástermelő tyúkokban nem engedélyezték [26].

2.2 A bakteriofágokról általában

A bakteriofágokat egy rendbe és azon belül 13 családba soroljuk. Több mint 5100 bakteriofágot megvizsgálva, azok 96%-a rendelkezett farokkal és több mint 140 bakteriális nemmel szemben leírták már hatékonyságukat. Tulajdonságaik utalnak az eredetükre és a bakteriális törzsfjlődésre is. A farokkal rendelkező bakteriofágokat (*Caudovirales*) három családba soroljuk: *Myoviridae* család, amelybe tartozó fágok hosszú kontraktilis farokkal rendelkeznek; *Siphoviridae* család, melyek fágjain egy hosszú nem kontraktilis fark található; valamint a *Podoviridae* család, melyek rövid nem kontraktilis farokkal rendelkeznek. Egy részük polifiletikus eredetű, azonban a farokkal rendelkező bakteriofágok monofiletikus eredetűek, és egyben a legrégebben ismert vírusok közé tartoznak.[27, 28] Több mint 5500, baktériumot megfertőzni képes vírust írtak le eddig, ezzel a legnagyobb víruscsoportot a bakteriofágok alkotják. Elektronmikroszkópos vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy a bakteriofágok makrorészecske és virális természetűek, különböző nagyságúak és alakúak, illetve komplex intracelluláris fejlődési ciklusuk és felépülési útjaik vannak [29]. Genomjuk relatíve kicsi (minimum 20 kb), a genetikai diverzitásuk pedig nagyon magas. Több millió éves evolúciójuk során horizontális géncsere segítségével fejlődtek, emiatt a genomjuk mozaikos elrendeződést mutat [30]. A fágok genomjának elég nagy része újszerű genetikai szekvenciát tartalmaz, amely funkciója még ismeretlen, a gének funkciójának legnagyobb része a mai napig feltérképezetlen [31].

A bakteriofágok a receptor-kötő fehérjéjük és a bakteriális gazda egy felszíni struktúrája között kialakuló erős kapcsolattal kötődnek a baktériumokhoz. A receptorkötő fehérjék szekvenciája nagyon eltérő, ezért nehéz beazonosítani az általános kapcsolódási

mechanizmusokat, még akkor is, ha a bakteriofágok farkai azonos morfológiát mutatnak. A kötődés után a fágok a baktériumsejtbe fecskendezik saját duplaszálú dezoxiribonukleinsavukat (dsDNS), ami a bakteriális gazdasejtbe egy hidrodinamikai folyamat során jut be, ugyanis az extracelluláris tér és a citoplazma közötti ozmotikus nyomás passzív módon ezt nem tenné lehetővé. Mielőtt azonban a dsDNS bejuthatna a citoplazmába, át kell jutnia a sejtfalon. Ehhez a bakteriofágok használhatnak olyan fehérjéket, melyek a dsDNS csúcsán egyfajta „szuronyként” funkcionálnak, vagy olyan fehérjéket, melyek enzimátikus úton hasíthatják a sejtfal peptidoglikánjainak poliszacharid vagy peptid kötéseit [32].

A bakteriofágok három lehetséges molekuláris útvonal révén indíthatják el saját örökítőanyaguk termeltetését. Az egyik út az ún. „*nicking*”, azaz a foszfodiészteráz kovalens kötések megszakítása egy szálon belül két szomszédos bázis között. Egy másik út a „*melting*”, azaz a két DNS szál közötti hidrogénkötések megszakítása, a harmadik pedig a terminális hidrogénkötések megszakítása. Ezen módszerek során egyszálú DNS képződik, melyek enzimátikus folyamatok révén kapcsolódnak össze kétszálúvá [33].

Rengeteg bakteriofág hordoz virulencia géneket, amik olyan fehérjéket kódolnak, melyek szerepe kulcsfontosságú a baktériumok okozta betegségek kórfejlődésében. A kutatók olyan bakteriofágok közötti interakciókat találtak a bakteriális gazdasejtben, amelyek hozzájárulnak a bakteriális kórokozók virulenciájához. Egyik bakteriofág segítheti a másikat, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Vibrio spp.* és *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) esetén leírtak olyan interakciókat, mely során az egyik bakteriofág DNS-ének mobilizációja egy másik bakteriofág hatására következett be. Megfigyeltek olyat is, hogy egy bakteriofág gazda specifikus receptorát egy másik bakteriofág kódolja, de leírták *Vibrio cholerae* és *S. enterica* esetén is, hogy az egyik bakteriofág jelenléte elősegíti egy másik bakteriofág virulencia faktorainak kifejeződését [34].

A bakteriofágok felfedezése közel száz éve történt, terápiás cézzal történő felhasználásukkal számos esetben próbálkoztak. A penicillin felfedezése után azonban ezen kutatások háttérbe szorultak. Viszont napjainkban az egyre terjedő antibiotikum rezisztencia miatt újra előtérbe került a fágterápia használatának lehetősége [35]. Korábban azt feltételezték a fágokról, hogy csak közvetetten hatnak az emlősök mikrobiomjára, azonban később kiderült, hogy közvetlenül is képesek hatni az immunrendszerre, jellemzően gyulladásgátló mechanizmusok révén. Citokinválaszokkal és antitest termeléssel képesek

módosítani a veleszületett immunitást, de a szerzett immunitásra is hatással vannak antitest termelés és effektor sejtek polarizációja révén [36]. A különböző bélbaktériumok jelenléte evolúciós nyomásként hat a bélben előforduló bakteriofágok gazdaspektrumának növekedésére és ez a vírusok genetikai változékonyságának növekedését eredményezi [37].

Sajnos azonban a bakteriofágokkal szembeni rezisztencia is egyre gyakoribb. A baktériumok kialakíthatnak olyan adszorpciós rezisztenciát, mely révén a bakteriofág-baktérium közötti interakciók csökkennek. Ilyenkor a gazdasejtről eltűnhetnek a fágreceptor molekulák, vagy a baktérium fizikálisan rejti el a fág elöl a receptorait. De kialakulhatnak olyan védekező mechanizmusok is, mely során a fág genomjának felvétele akadályozott, vagy éppen olyan ún. „meddő fertőzés” alakul ki, ahol mind a baktérium és a fág is elpusztul. Mindezek ellenére a fágterápia bakteriális fertőzések kezelésére nem elvetendő, ugyanis a bakteriofágok is tudnak adaptálódni a velük szemben kialakított változásokhoz [38].

2.3 A bakteriofágok állategészségügyi felhasználásának lehetősége

A bakteriofágok igen hatékonyak lehetnek a salmonellák elleni „harcban”. Egy tanulmányban három bakteriofágot vizsgáltak (UAB_Phi20, UAB_Phi78 és UAB_Phi87), amelyek a *Salmonella* Enteritidis és a *Salmonella* Typhimurium szerovariánsok ellen is hatékonyan bizonyultak. A három baktériumból készített koktél együttesen hatásosabbnak bizonyult a vizsgált szerovariánsok lízisében, mint külön-külön. Ezen felül a *Salmonella* Virchow, a *Salmonella* Hadar és a *Salmonella* Infantis szerovariánsok ellen is kimagasló hatékonyságot mutattak. *Salmonella* Typhimuriummal fertőzött állati modelleken különböző kezelési módokkal is tesztelték, melynek az eredményei azt mutatták, hogy a csirkék rendszeres bakteriofág kezelése szükséges az eredményes baktériumszám csökkentés érdekében, különösen az emésztőszervi salmonellák esetében [39].

Az antibiotikumok alkalmazása egyre kisebb mértékben eredményes, egyrészt az antibiotikum rezisztens *Salmonella* törzsek elterjedése miatt, másrészt az antibiotikumok mikrobiomra kifejtett kedvezőtlen hatása miatt, ami hasmenés kialakulásához vezethet. Emiatt egyre inkább nő az igény az alternatív kezelések iránt, beleértve a probiotikumok használatát is. A probiotikumok használatának hatékonysága és ártalmatlansága jelenleg nem egyértelműen bizonyított, ugyanis fennáll a veszélye a patogenitás kialakulásának, antibiotikum rezisztencia gének hordozói is lehetnek, illetve nem utolsósorban önmaguk is érzékenyek lehetnek a használt antibiotikummal szemben [40]. A fertőtlenítési protokollok már sokszor nem elég hatásosak a *salmonella* baktériumokkal szemben. Kimutatták, hogy a

baromfi ürülékéből izolált bakteriofágok használata csökkenti a *Salmonella* Infantis és *Salmonella* Enteritidis okozta fertőződés kialakulásának esélyét. A csökkenés a kezelés 5. napján volt a leghatékonyabb. Ez rávilágított arra, hogy a bakteriofágok felhasználhatóak a fertőtlenítések során is [41].

Az emberi szalmonellafertőzések egyik fő forrásának a csirkemell húst tartják. Egy kutatás során bakteriofágok felhasználásával próbálták csökkenteni a kontamináció mértékét. Négy lítikus fág törzsből készült koktélt alkalmaztak nyers csirkemell húson 4 °C-on 7 napon keresztül, melynek hatékony módon csökkentették az összesíraszámot. A vizsgálat során azt találták, hogy a bakteriofágok hatásosak lehetnek egyes *salmonella* törzsek ellen, különösen *Salmonella* Enteritidis és *Salmonella* Typhimurium esetén [42].

A *Salmonella* Enteritidis esetén kimutatták, hogy szignifikánsan magasabb az előfordulása a hiányos profágoknak, habár élő fágokat nem találtak a vizsgált törzsekben. A különböző környezeti forrásból izolált bakteriofágok feloldották szinte az összes *Salmonella* Enteritidis törzset. A lízist okozó hatékonysága bizonyítottan erősen függ a tenyésztett gazdatörzstől. Habár a bizonyítékok azt mutatják, hogy a *Salmonella* Enteritidis törzsek nem termeltek életképes fágokat, a kutatók megerősítették, hogy néhány bakteriofág bizonyos gazdában növesztve fágkomplekként viselkedik. Valószínűleg ennek az oka az inaktív fággal kapcsolatban álló gén jelenléte a baktérium törzsekben, ami képes újra aktiválódni, vagy újra egyesülni lítikus fágokkal [43].

A bakteriofágok a gazdaspecifikusságuk miatt egyre nagyobb figyelmet kapnak. A *Salmonella* Typhimurium bakteriofág érzéketlen és antibiotikum rezisztens mutáns törzsek közötti összefüggését vizsgálták egy bakteriofág érzékeny *Salmonella* Typhimurium ATCC törzs, ciprofloxacín érzékeny ATCC törzsek és a klinikailag izolált multirezisztens *Salmonella* Typhimurium törzs esetén. A legkevesebb lítikus aktivitást a multirezisztens *Salmonella* Typhimurium mutatta, míg a bakteriofág érzékeny, valamint ciprofloxacín érzékeny törzsek száma csökkent, amely arra utalt, hogy a bakteriofág kötő receptorok megváltoztak a multirezisztens törzsek felszínén. Ezen kívül a bakteriofág érzékeny törzsek mutatták a legnagyobb mutációs gyakoriságot (62%), ezt követték sorban a ciprofloxacín érzékeny törzsek (25%). Az eredmények azt mutatták, hogy a bakteriofág rezisztencia és az antibiotikum rezisztencia között kapcsolat van [44].

Egy tanulmányban vizsgálták, hogy a lítikus bakteriofágok milyen széles körben tudják fertőzni az ételmérgezésekért felelős *salmonella* fajokat. Az izolált fágok

gazdaspektruma igen széles volt, melyek közül ez a *Salmonella* Typhimurium fágjai esetén volt a legnagyobb. A fágok több más szerovariánst is képesek megfertőzni, sőt egyes fágok esetében hatékonyságot írtak le még *E. coli* törzsekkel szemben is [45].

2.4 A bakteriofág-készítmények ártalmatlansága

Számos vizsgálatot végeztek azzal kapcsolatban, hogy a bakteriofágok használata mennyire biztonságos. Több állatfajra vonatkozóan tesztelték a bakteriofágos kezelések ártalmatlanságát. Többek között nézték bakteriofágos készítménnyel kezelt száraztáp hatását kutyák és macskák esetén. A vizsgált állatok esetén semmi káros mellékhatást nem tudtak kimutatni [46]. Egy másik vizsgálat során főemlősök agyában nézték mágneses rezonancia képalkotó vizsgálat (MRI) segítségével a bakteriofág tartalmú készítmény káros hatásait. A három napig tartó folyamatos monitorozást követően megállapították, hogy az összes állat neurológiailag intakt maradt, káros elváltozások nem voltak észlelhetőek az agyban, és a szövettani vizsgálatok során sem mutattak ki semmilyen kóros elváltozást [47].

A bakteriofág tartalmú készítmények szervezetre gyakorolt hatását emberekben is vizsgálták. Egy intravénás szer alkalmazása során nézték annak ártalmatlanságát az emberi szervezetre, valamint hatásosságát *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* és *Mycobacterium abscessus* baktériumok ellen. Az eredmények alapján a bakteriofágok ez esetben is biztonságosnak bizonyultak [48]. Egy másik kísérlet során önkéntes egészséges felnőtt embereknek (akik saját bevallásuk szerint gastrointestinalis fájdalmakkal küzdöttek) adtak négy bakteriofág törzset tartalmazó tablettát, illetve egy kontroll csoportnak placebo készítményt, 28 napon keresztül. Az eredmények azt mutatták, hogy a bakteriofág tartalmú gyógyszer szedése alatt az aszpartát-aminotranszferáz enzim szintje szignifikánsan növekedett a kontroll csoporthoz képest, azonban az a klinikailag elfogadott értékek között maradt. Ezen kívül a vizsgált személyek elmondása alapján számos gastrointestinalis tünetük enyhült a készítmény szedése során [49].

Vizsgálták a *Shigella boydi* bakteriofágját is, ami morfológiailag hasonlít a *S. enterica* serovar. Typhi fágjára. Nem találtak virulenciát kódoló részeket a genom szekvenálása során, így megállapították, hogy a fág biztonsággal használható [50]. A kutatási eredmények alapján a bakteriofágok használata előtérbe került az ételmérgezéseket okozó baktériumok számának csökkentésére tett kísérletek során. A bakteriofágok azon képessége, miszerint egy baktérium törzset, szerotípust vagy fajt képesek fertőzni nagy

előnyt jelent az antibiotikumokkal szemben, ugyanis a szervezet mikrobiomját negatívan nem befolyásolják [51].

Egerekben (15 db 6 hetes nőstény, 15 db 8 hetes hím) vizsgálták egy bakteriofág ártalmatlanságát, a kísérlet során az egereket nemenként három csoportra osztották. Az első kontroll csoport (mindkét nemnél) csak SM-puffert (nátrium-klorid, magnézium-szulfát és zselatin keveréke) kapott a második csoportot inaktív fágokkal, míg a harmadikat SM-pufferben szuszpenzált STP4-a bakteriofágokkal kezelték. A 14 napos kísérlet során egyik nemben sem volt elhullás vagy megfigyelhető abnormalis viselkedés, külső fizikális eltérés, vagy más egyéb toxikológiai hatás (pl.: gyulladás, allergia, hasmenéses tünetek), vagy egyéb keringési, légzési, idegrendszeri anomáliák [52].

Broiler csirkéken végzett vizsgálatok során különféle bakteriofág készítmények használata során genotoxicitási szempontból is biztonságosnak találták őket. Vizsgálták az állatok toleranciáját 100x dózisa, azonban ebben a dózisban sem mutattak az állatok vizsgált paraméterei szignifikáns eltérést a kontroll csoportokhoz képest. Ezen vizsgálati eredmények alapján következtetni lehet, a bakteriofágok ártalmatlanságára, valamint a baktériumok elleni hatékonyságára [53]. Egy *Siphoviridae* családba tartozó bakteriofág vizsgálata során kimutatták, hogy *Salmonella* Enteritidis és *Salmonella* Typhimurium mellett számos más *salmonella* szerovariánst is képes fertőzni. Mivel ez a fág nem kódol lízist okozó faktorokat, toxinokat, patogénitással összefüggő géneket vagy ételallergéneket, ezért feltételezhetően alkalmazása sem okoz mellékhatásokat. Az egyszeres orális dózis alkalmazása ebben a vizsgálatban sem járt klinikai tünetek megjelenésével [54]. Három különböző bakteriofág tartalmú készítmény 1x dózisát ivóvízben adagolva vizsgálták broiler csirkéken. Mindhárom készítmény esetében azt találták, hogy a készítmények biztonságosak, emellett pedig szignifikáns *salmonella* csökkenést mutattak mind a kloáka mintákban, mind a csirkék húzában. Egyesetben azt is kimutatták, hogy a mortalitás csökkentése mellett javult a takarmány értékesítése, a készítmény használata után pedig nem volt szükséges élelmezés egészségügyi várakozási időt meghatározni [55]. Vizsgálták egy bakteriofág tartalmú készítmény 1x, 10x és 100x dózisának hatásait madarakban. Ennek során nem találtak szignifikáns eltérést a takarmány hasznosítási ráta és a végleges testtömeg, valamint a kontroll csoport eredményei között, tehát a készítmény 100x dózisának alkalmazása sem volt negatív hatással az állatok fejlődésére [56]. Egy *in vivo* kísérlet során 6 lítikus bakteriofágot tartalmazó keveréket adagoltak csirkéknek ivóvízbe keverve, azonban itt sem találtak semmiféle negatív hatást [57].

3 CÉLKITŰZÉSEK

A vizsgálatunk célja az volt, hogy egy korábban még nem tesztelt bakteriofág tartalmú készítmény esetén *in vivo* megnézzük annak ártalmatlanságát broiler csirke etetéses kísérlet során. Azt vizsgáltuk, hogy a készítménynek van-e bármiféle hatása az állatok súlygyarapodására, valamint takarmány felvételére a kontroll csoporthoz képest.

Ahhoz, hogy egy állatgyógyászati készítmény forgalmazási engedélyt kapjon, szükség van az ártalmatlansági vizsgálatok elvégzésére. Annak kiderítése érdekében, hogy mennyire biztonságos, 120 állatot négy nagy csoportra osztottunk, melyek belüli további 3-3 csoportot alakítottunk ki, így biztosítva a statisztikához szükséges minimális állatlétszámot és párhuzamos mintavételeket. A nagy csoportok közül egy kontrollként szolgált, a másik három a gyártó által előírt 1x, annak 3x és 5x dózisát kapta közel egy hónapon keresztül.

Az egyik hipotézis vizsgálatunk az volt, hogy a készítmény használata befolyásolja-e az állatok napi testtömeggyarapodását, ezen belül pedig összehasonlítottuk, hogy az 1x, 3x és 5x dózis adása és a kontroll csoport között van-e szignifikáns különbség a testgyarapodás tekintetében. A második hipotézis vizsgálatunk során azt néztük, hogy a készítmény befolyásolja-e az állatok napi takarmányfelvételét, ezen belül pedig néztük, hogy az 1x, 3x és 5x dózis adása és a kontroll csoport között van-e szignifikáns különbség a takarmányfogyasztás tekintetében.

4 ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1 Az állatkísérlet körülményei

Az *in vivo* állatkísérlet (engedélyszám: PE/EA/150-7/2021), súlyossági besorolása enyhe volt, hiszen a készítmény ártalmatlanságát ivóvízbe adagolva vizsgáltuk, az állatokat minimális stressz érte, napos koruktól kezdve, napi szinten hozzá szoktak ahhoz, hogy a súlyméréshez kézbe veszik őket. A vizsgálatot a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék Állatházában végeztük. A vizsgált állatfaj ROSS 308 broiler csirke volt, melyet a Bábolna TETRA Kft-től vásároltunk. Az állatok a vizsgálat 0. napján 2 naposak voltak, az ivararány eloszlása véletlenszerű volt. A napos állatok a keltetőben Hatchback AVINEW, Hatchback IBD120 és a RISMAVAC + CA126 vakcinákat kaptak. A 120 darab naposcsibe érkezésüket követően az állatvédelmi előírásoknak megfelelő kialakítású ketrecekbe került, 8 ketrecben 15 csibe/ketrec telepítési sűrűséggel. Egy napig hagytuk őket akklimatizálódni infralámpa alatt, majd másnap 12 csoportra osztottuk őket 10 csibe/ketrec telepítési sűrűséggel.

A környezeti paramétereket a tartástechnológiának megfelelően választottuk meg. Ez egy állandó 60-70%-os páratartalmat, az érkezésük napján és a második napon 30 °C-os hőmérsékletet, valamint 23-24 óra megvilágítást jelentett. A hőmérsékletet és a megvilágítás hosszát ezt követően fokozatosan csökkentettük (**1. táblázat**). A megvilágítás a 0. naptól a 3. napig 23 óra volt, utána pedig a kísérlet végéig, azaz a 27. napig 18 óra. A hőmérsékletet a 15. napig tudtuk megfelelő mértékben csökkenteni, ezt követően az állatok által termelt hőmennyiség miatt 27 °C körül stabilizálódott. A hőmérsékletet és a páratartalmat heti három alkalommal (hétfő, szerda, péntek) monitoroztuk, a ketrecenként kihelyezett hő-, és páratartalom mérőkkel.

Az állatok takarmányozása *ad libitum* történt broiler indítótáppal, ezen kívül naponta friss itatóvizet kaptak az állatok. A kokcidiosztatikum nélküli, morzsázott formátumú intenzív broiler indító takarmánykeveréket a Farmer-Mix Kft-től (2027 Zsámbék, Etyeki u. 23.) vásároltuk. A táp nedvességtartalma 10,64%, nyersfehérje tartalma 20,96% volt, nyerszsírból 6,00%, nyersrostból 2,86%, nyersshamuból 6,07% volt benne. Ezen felül tartalmazott még 1,25% lizint, 0,50% metionint, 1,05% kalciumot, 0,75% foszfort és 0,16% nátriumot. A kísérlet első négy napján ketrecenként mértünk ki a csoportoknak 1 kg-ot, majd ezt a 6-13. napok között 1,5 kg/ketrec mennyiségre emeltük. A 15-27. nap között már 2,5 kg tápot kaptak naponta ketrecenként. A tápot minden nap frissre cseréltük, a mérési napokon pedig visszamértük, hogy mennyi maradt belőle, majd az előző napon bemért mennyiségből kivonva megkaptuk az adott csoport napi takarmány fogyasztását.

1. táblázat A vizsgálat egyes napjain (-2-27. napok) választott standard hőmérséklet, relatív páratartalom értékek és a napi megvilágítás hossza

Vizsgálat napja	Hőmérséklet (°C)	Relatív páratartalom (%)	Megvilágítás hossza (óra)
-2	30	60-70%	24
-1	30	60-70%	23
0	28	60-70%	23
1	28	60-70%	23
2	28	60-70%	23
3	27	60-70%	23
4	27	60-70%	18
5	27	60-70%	18
6	26	60-70%	18
7	26	60-70%	18
8	26	60-70%	18
9	25	60-70%	18
10	25	60-70%	18
11	25	60-70%	18
12	24	60-70%	18
13	24	60-70%	18
14	24	60-70%	18
15	23	60-70%	18
16	23	60-70%	18
17	23	60-70%	18
18	22	60-70%	18
19	22	60-70%	18
20	22	60-70%	18
21	21	60-70%	18
22	21	60-70%	18
23	21	60-70%	18
24	20	60-70%	18
25	20	60-70%	18
26	20	60-70%	18
27	20	60-70%	18

Friss ivóvízből naponta újat kaptak az állatok. A 0-8. napokon 1 liter/csoport, a 9-15. napokon 2 liter/csoport és a 16-27. napokon 3 liter/csoport ivóvizet adtunk önitatókba. A bakteriofág tartalmú készítményt az ivóvízbe kevertük napi szinten, a kísérlet 1. napjától kezdve.

4.2 A vizsgált készítmény és adagolása

A vizsgált készítmény egy steril szűrt fagolizátum tartalmú szuszpenzió volt, mely baromfifélék kezelésére készült, amely bizonyos bakteriális fertőzések megelőzését is elősegítheti. A megfelelő hatás elérésének érdekében a termék alkalmazását helyes gazdálkodási gyakorlattal együtt kell alkalmazni, ugyanis nem helyettesíti a megfelelő tartási-takarmányozási gyakorlatot. Összetevőkkel szembeni túlérzékenység esetén használata nem javallott. Benne *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. enterica* baktériumok 5,0 ml steril szűrt fagolizátuma volt szuszpenzió formájában, fiziológiai sóoldattal 100 ml-ig feloldva. A készítmény szájon át alkalmazandó, ivóvízben feloldva, előírt napi adagja 1 ml 100 l itatóvízre számolva, 7 napos kúraszerű alkalmazási javaslattal. Egy napi adag hatástartamát a gyártó 2-20 órában határozta meg, tárolása 2-8 °C között történik. Gyártás után 12 hónapon belül, míg felbontás után 24 órán belül fel kell használni a készítményt. A folyadék zavarossá válása, vagy a lejáratú időn túli felhasználása tilos.

A szuszpenziót naponta a friss ivóvízbe keverve kapták az állatok. A 12 db csoportból, azért, hogy statisztikai módon is megfelelően tudjuk értékelni a kapott eredményeket, úgy alakítottuk ki a csoportokat, hogy az 1-3. csoport lett a kontroll, akik nem kaptak készítményt az ivóvízbe. A 4-6. csoport a gyártó által előírt 1x dózist kapta, a 7-9. csoport annak a 3x dózisát, végül a 10-12. csoport az 5x dózisát. A kísérlet 27 napig tartott, ezalatt minden kezelt csoport naponta kapta az előírt dózist a friss ivóvízhez keverve.

Az első három kontroll csoporthoz hasonlítottuk a kísérlet végén a többi kezelt csoport eredményeit, illetve az eltérő dózisokkal történő kezeléseket egymáshoz képest is vizsgáltuk. A kezelt csoportok részére a készítmény bekeverését úgy végeztük, hogy a megadott dóziszból először egy törzsoldatot készítettünk.

2. táblázat A készítmény 1x, 3x és 5x dózisának bekeverése az életnapok függvényében, az egyes dózisokból először törzsoldatot készítettünk 100 ml ivóvízzel, majd ezt adtuk hozzá a teljes ivóvíz mennyiséghez

Nap	1x dózis	Ivóvíz	3x dózis	Ivóvíz	5x dózis	Ivóvíz
1-8.	50 µl	5 l	150 µl	5 l	250 µl	5 l
9-15.	100 µl	10 l	300 µl	10 l	500 µl	10 l
16-27.	150 µl	15 l	450 µl	15 l	750 µl	15 l

A koncepció minden esetben az volt, hogy 1x dózis esetén 5 l ivóvízre számolva, előbb 50 µl készítményt 100 ml ivóvízben alaposan elkevertünk, majd ezt követően a teljes vízmennyiséghez adtuk, melyet szintén alaposan elkevertünk. A 3x dózisonál a készítmény háromszoros (150 µl), az 5x dózisonál a készítmény ötszörös (250 µl) dózisát mértük be a törzsoldat készítés során. Az életkor előrehaladtával, ahogy nőtt az állatok vízigénye, a bekeverést a 9-15. napokon 10 l ivóvízhez minden esetben dupla mennyiségben (100 µl, 300 µl, 500 µl), a 16-27. napokon pedig 15 l ivóvízhez minden esetben háromszoros mennyiségben (150 µl, 450 µl, 750 µl) végeztük (**2. táblázat**).

4.3 Az állatok testtömegének mérése

Az állatok súlygyarapodását hetente három alkalommal monitoroztuk a testtömeg egyedi mérésével (hétfő, szerda, péntek), csoportokra bontva grammos konyhai mérlegen. Az állatok egyedileg nem voltak az egyes csoportokon belül megjelölve, tehát a napi súlygyarapodást egyed szintjén nem tudtuk megfigyelni. Az egyes csoportokban mért állatok súlyainak mindig az átlagát vettük.

4.4 Az állatok takarmányfogyasztásának mérése

A takarmány fogyasztásának mérése hetente három alkalommal történt (hétfő, szerda, csütörtök). Minden csoport, minden nap friss takarmányt kapott, az előző napi tápot eltávolítottuk az etetőkből, majd a 0-8. napokon etetőnként 0,5 kg, a 9-15. napokon 1 kg, a 16-27. napokon pedig 2 kg broiler indító táppal töltöttük fel azokat. A visszamérés reggelén etetőnként eltávolítottuk a megmaradt takarmányt és konyhai grammos mérlegen megmértük annak a súlyát. Az adott időszak előző napi bemért tápmennyiségéből kivontuk a visszamért mennyiséget, a kettő különbségének az eredménye volt az előző nap elfogyasztott táp mennyisége az adott csoportban. Ez szintén egy-egy csoportra vonatkozott, az állatok egyedi takarmányfelvételére ebből nem lehetett következtetni, csupán egy átlagot tudtuk számolni.

4.5 Statisztikai módszer

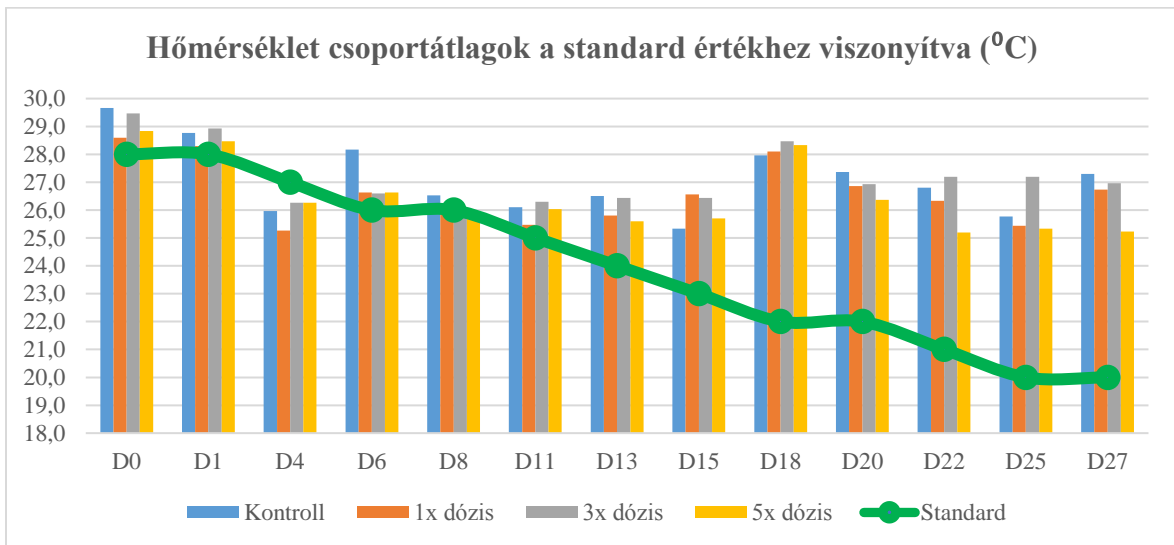
Célunk annak igazolása volt, hogy a kezelés nem befolyásolja a növekedést, illetve a takarmányfogyasztást. A testsúlygyarapodást egyedenként kiszámoltuk a nulladik naphoz képest. A növekedés logaritmusára illesztettünk kevert lineáris modellt, ahol magyarázó változó volt a kezelés, kontrolláltunk a kezelés kezdete óta eltelt időre, véletlen faktor volt a csoport és azon belül az egyed.

A takarmányfogyasztás csoportonként volt elérhető. Ott az egy egyedre jutó átlagos felhasználásra illesztettünk kevert lineáris modellt, ahol magyarázó változó volt a kezelés, kontrolláltunk a kezelés kezdete óta eltelt időre, véletlen faktor volt a csoport. Mindkét esetben Dunnett-féle post hoc teszttel hasonlítottuk a kezelt csoportokat a kontroll csoporthoz. A közölt konfidencia-intervallumok és p-értékek korrigáltak. Az elemzéshez az R program 4.0.5. verzióját használtuk.

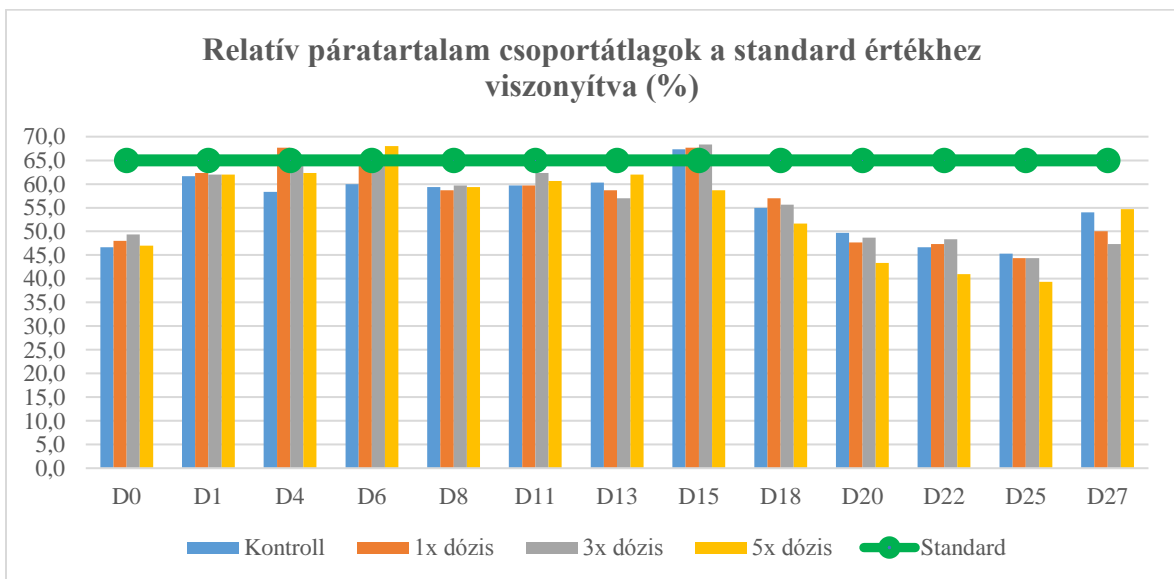
5 EREDMÉNYEK

5.1 A hőmérséklet és a páratartalom alakulása

A naposcsibék fogadó hőmérséklete 28 °C volt. A szakirodalomban megadott fokozatos hőmérséklet csökkentést a 11. napig tudtuk megfelelő mértékben biztosítani. Ezt követően az állatok testméretének növekedésével a hőtermelésük is olyan mértékben megnőtt, hogy a kívánt hőmérsékletet csak a légcserre fokozásával tudtuk volna garantálni, azonban ez a páratartalom jelentős mértékű csökkenéséhez vezetett, így a hőmérséklet 25-27 °C körüli értékre állt be (1. ábra).



1. ábra A kezeletlen és a különböző dózissal kezelt csoportok hőmérsékletének az alakulása a vizsgálati napokon, a standard értékhez viszonyítva

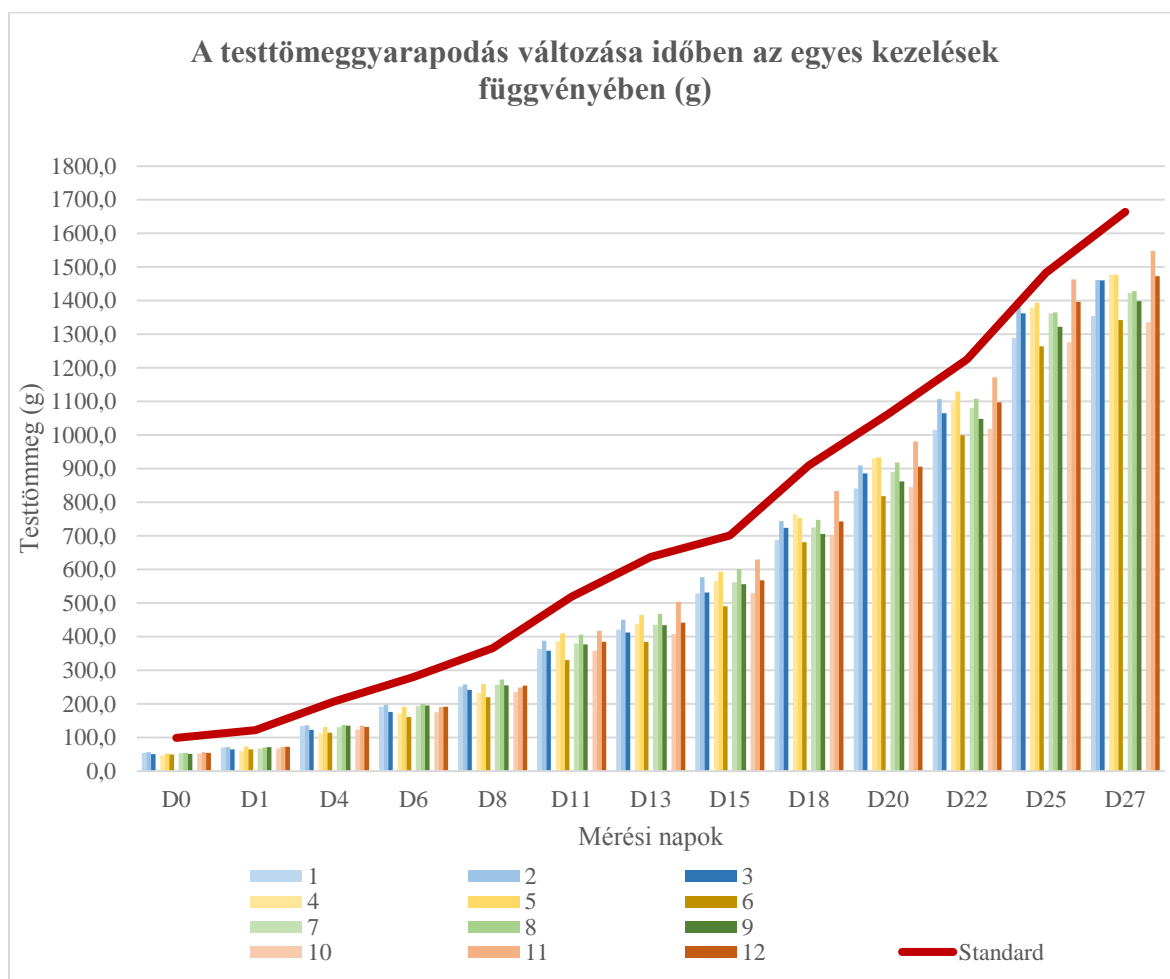


2. ábra A páratartalom alakulása a vizsgálati napokon a standard értékhez viszonyítva

A relatív páratartalom a kísérlet 15. napjáig végig 60% körül alakult, ekkor annak az érdekében, hogy a hőmérsékletet csökkentjük, fokoztuk a légcserét, ez azonban a páratartalom jelentős mértékű – 40% körüli értékre való csökkenéséhez vezetett, amit nem tudunk hatékony módon növelni, csak ha a légcserét visszaállítottuk az eredeti mértékére (2. ábra).

5.2 Az állatok testtömeggyarapodása

A 12 db csoport testtömeggyarapodását grafikusán ábrázolva az egyes mérési napokon (3. ábra) láthatjuk, hogy egyenletesen nőtt a testtömeg a vizsgálat teljes időtartama alatt. A kontroll csoportok és a különböző módon kezelt csoportok között grafikusán ábrázolva is látszik, hogy nincs különbség. A standard súlygyarapodást egyenletesen követték az eredményeink, bár attól kismértékben elmaradtak a mért testsúlyok, aminek az egyik lehetséges magyarázata, hogy az állatokkal etetett táp gyógyszermentes volt.

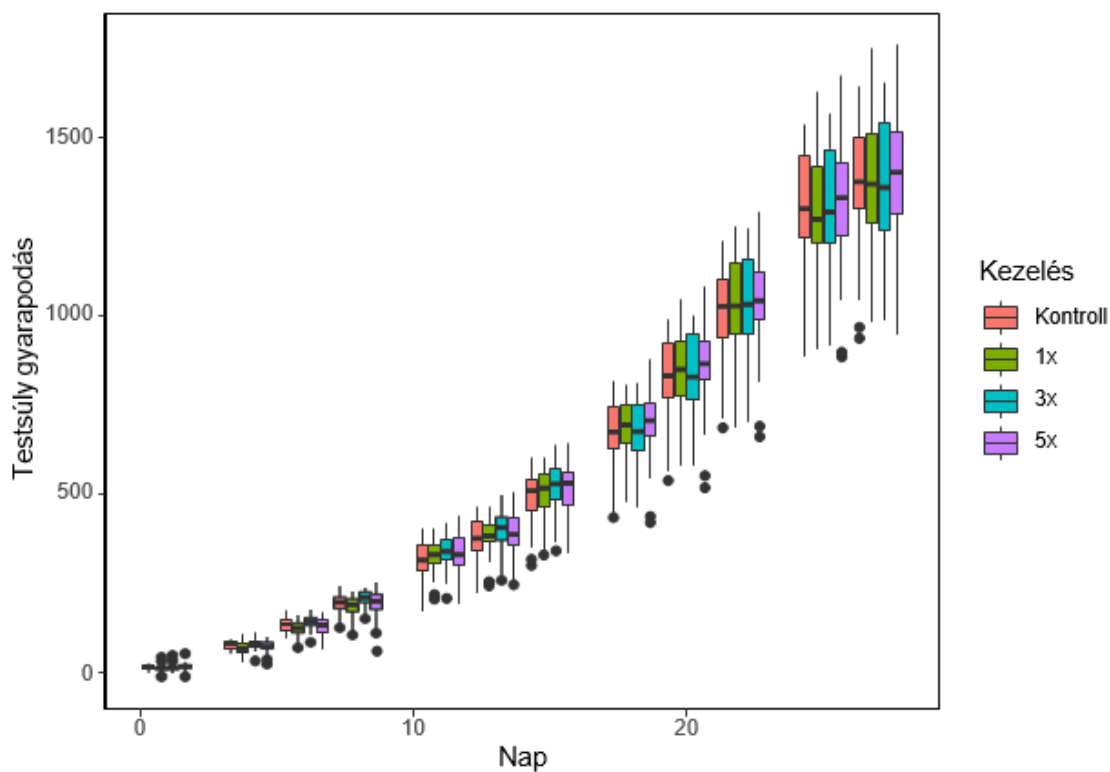


3. ábra Az egyes csoportok (1-3. kontroll, 4-6. 1x dózis, 7-9. 3x dózis, 10-12. 5x dózis) vizsgálati napokon (D0-D27) mért testsúlya, a standard testsúlygyarapodáshoz képest

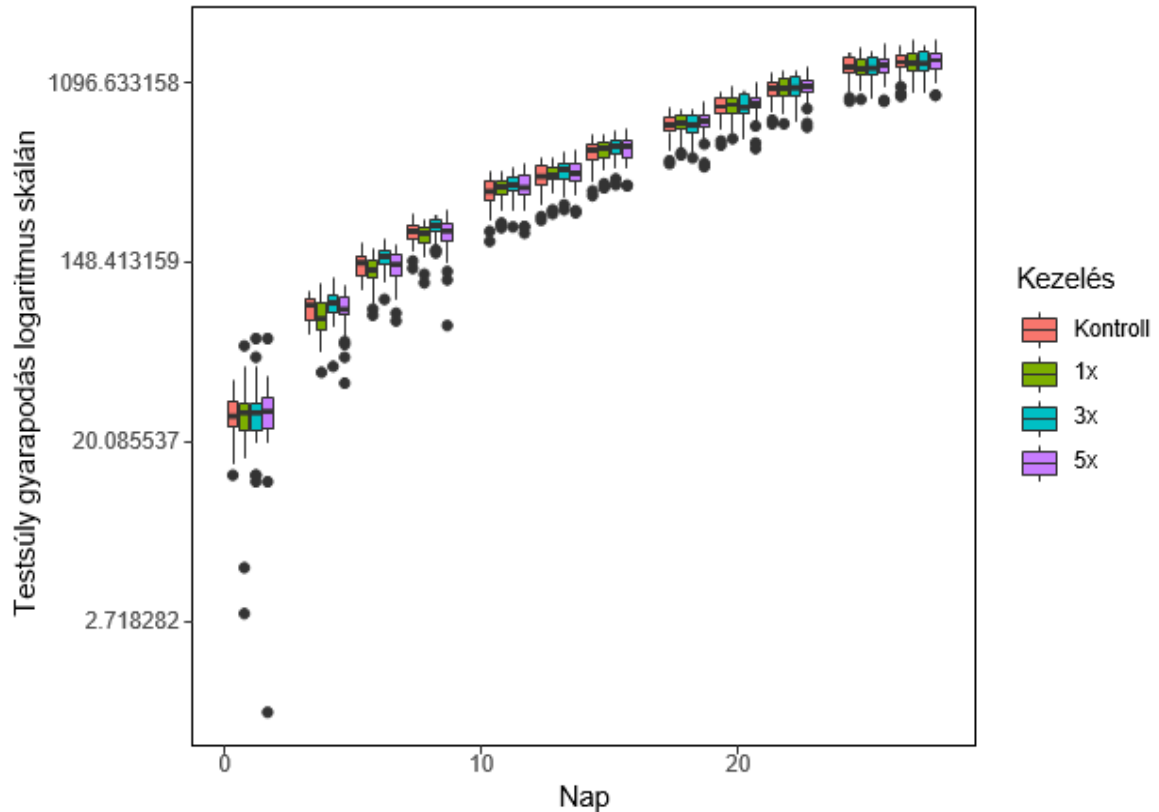
5.3 A testtömeggyarapodás statisztikai elemzése

A testsúly gyarapodást egyedenként kiszámoltuk a nulladik naphoz képest. A növekedés logaritmusára illesztettünk kevert lineáris modellt, ahol magyarázó változó volt a kezelés, kontrolláltunk a kezelés kezdete óta eltelt időre, véletlen faktor volt a csoport és azon belül az egyed. Dunnett-féle post hoc teszttel hasonlítottuk a kezelt csoportokat a kontroll csoporthoz. A közölt konfidencia-intervallumok és p-értékek korrigáltak.

Az idő előrehaladtával a gyarapodás varianciája növekedett (**4. ábra**), ezért a testsúly gyarapodást transzformálni kellett. Az **5. ábrán** láthatjuk, hogy a függőleges tengelyen logaritmus skálát használva a varianciák nagyjából megegyeznek, az első napon volt néhány kiugró érték, mert az egyedek egy része fogyott. A transzformáció után az eloszlás nem volt szimmetrikus.



4. ábra A testsúly gyarapodás varianciájának növekedése az idő előrehaladtával (Készítette: Abonyi-Tóth Zsolt)



5. ábra A logaritmizált testsúlygyarapodás variancia növekedése jól látható (Készítette: Abonyi-Tóth Zsolt)

A modell becslése a **3. táblázatban** látható. A kontroll csoporttól egyik kezelt csoport sem tért el szignifikánsan. A logaritmus transzformáció miatt a fenti értékek nem a testsúly gyarapodás átlagára, hanem mértani közepére adnak becslést.

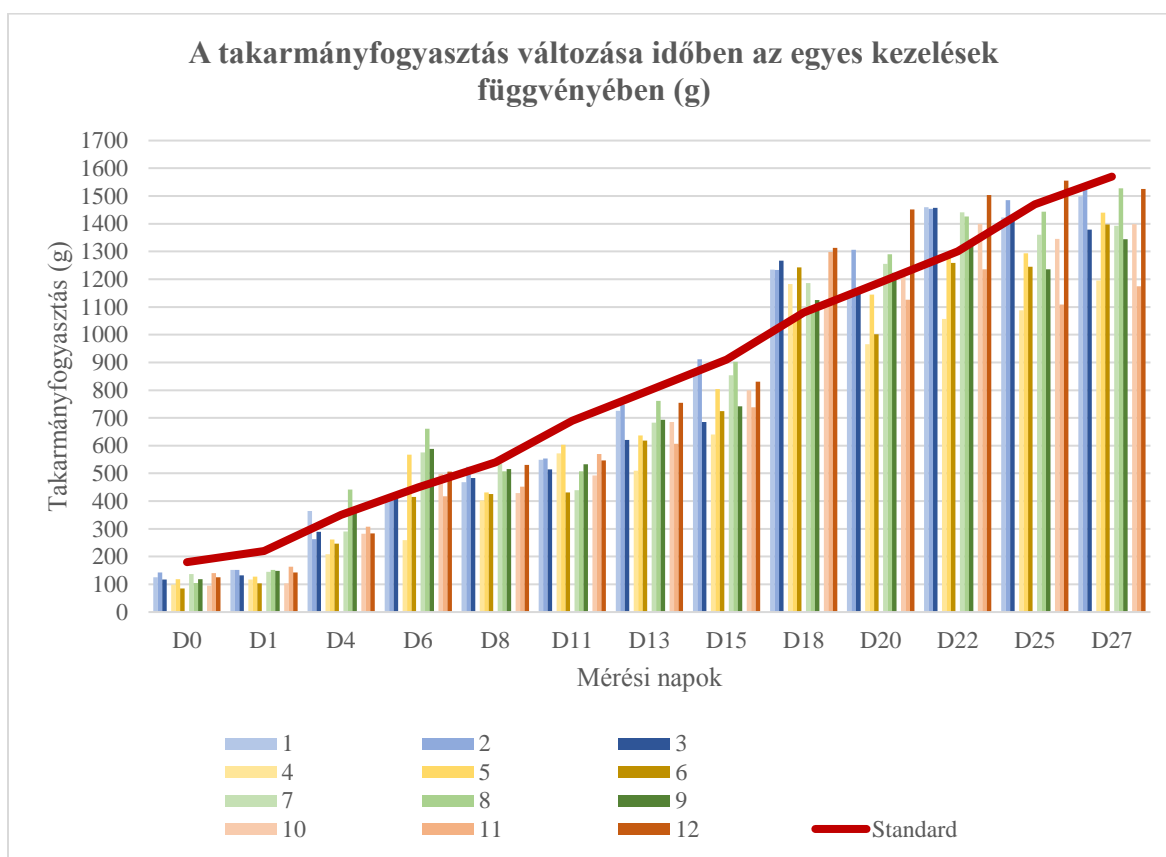
Az egyszeres dózis esetén a testsúly gyarapodás mértani közepe 99%-a a kontroll csoporténak, továbbá 95% megbízhatósággal a kontroll csoportban várható testsúly gyarapodás mértani közepének 88-110%-a között van az egyszeres dózissal kezelt egyedeké ($p=0.9853$). A háromszoros dózis esetén a testsúly gyarapodás mértani közepe 103%-a a kontroll csoporténak, továbbá 95% megbízhatósággal a kontroll csoportban várható testsúly gyarapodás mértani közepének 92-115%-a között van a háromszoros dózissal kezelt egyedeké ($p=0.8273$). Az ötszörös dózis esetén a testsúly gyarapodás mértani közepe 101%-a a kontroll csoporténak, továbbá 95% megbízhatósággal a kontroll csoportban várható testsúly gyarapodás mértani közepének 91-113%-a között van az ötszörös dózissal kezelt egyedeké ($p=0.9902$).

3. táblázat A modell becslése a testsúlygyarapodás tükrében

	Becslés	Alsó határ	Felső határ	p-érték
1x – Kontroll	0.99	0.88	1.10	0.9856
3x – Kontroll	1.03	0.92	1.15	0.8273
5x - Kontroll	1.01	0.91	1.13	0.9902

5.4 Az állatok takarmányfogyasztása

Az egyes csoportokon belüli egy állatra jutó takarmányfogyasztást kiszámoltuk minden egyes vizsgálati napon, az aktuális állatlétszámra vonatkoztatva, majd átlagoltuk az egyes csoportokat (kontroll 1-3. csoportok, 1x dózissal kezelt 4-6. csoport, 3x dózissal kezelt 7-9. csoportok, 5x dózissal kezelt 10-12. csoport). Jól látható, hogy az idő előrehaladtával minden csoport estén egyenletesen nőtt a takarmányfelvétel és a standard értéket követte (**6. ábra**).

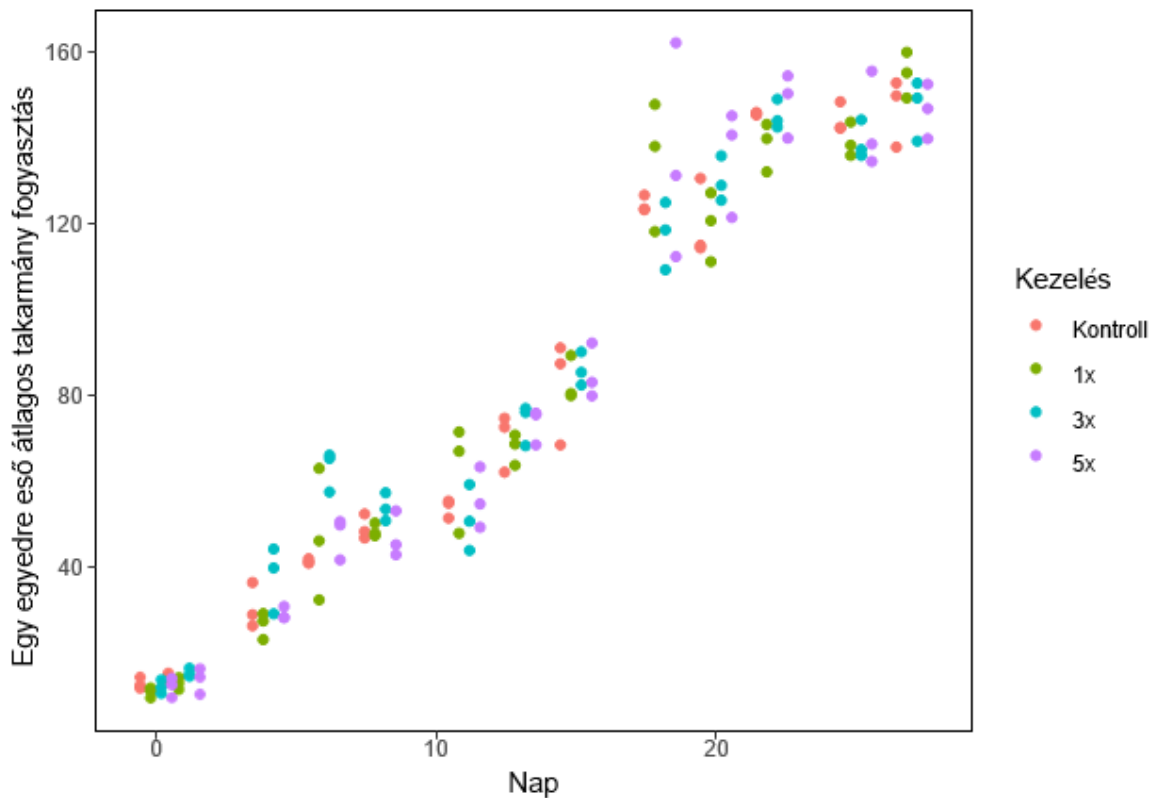


6. ábra A takarmányfogyasztás alakulása az egyes csoportok (1-3. csoport kontroll, 4-6. csoport 1x dózis, 7-9. csoport 3x dózis, 10-12. csoport 5x dózis) és a mérési napok függvényében, a standard értékhez viszonyítva

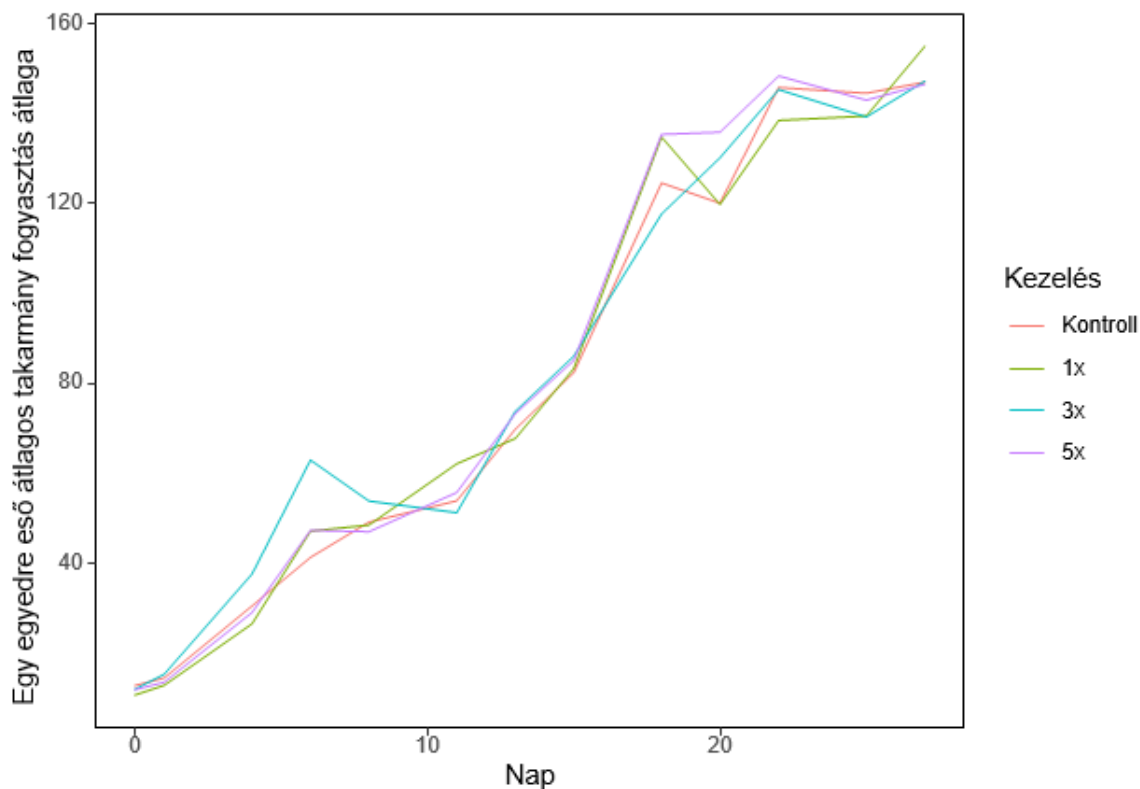
5.5 A takarmányfogyasztás statisztikai elemzése

A vizsgálat célja az volt, hogy igazoljuk, hogy a kezelés nem befolyásolja a takarmányfogyasztást. Dunnett-féle post hoc teszttel hasonlítottuk a kezelt csoportokat a kontroll csoporthoz. A közölt konfidencia-intervallumok és p-értékek korrigáltak.

A takarmányfelhasználás szóródása a vizsgálat során mindvégig hasonló volt, ezért az adatok transzformálására nem volt szükség (7. ábra). A 8. ábrán a négy görbe hasonlóan fut, ezért nem számítunk arra, hogy a kezeléseket között különbséget lehetne kimutatni.



7. ábra A takarmány fogyasztás szóródása mindvégig hasonló volt (Készítette: Abonyi-Tóth Zsolt)



8. ábra A görbék hasonló lefutást mutatnak, így nem számítunk különbségre (Készítette: Abonyi-Tóth Zsolt)

Az adatok egyik kezelt csoportban sem mutattak szignifikáns eltérést a kontroll csoporttól. A **4. táblázat** három sora mutatja az egyes kezelések esetén a különbséget. Az egyszeres dózis esetén az egy egyedre eső takarmányfelhasználás átlagosan 0.78-dal nagyobb, a különbség 95% megbízhatósággal -6.54 és 8.1 g között volt ($p=0.9893$). A háromszoros dózis esetén az egy egyedre eső takarmány fogyasztás átlagosan 2,81-dal nagyobb, a különbség 95% megbízhatósággal -4.51 és 10.12 g között volt ($p=0.6942$). Az ötszörös dózis esetén az egy egyedre eső takarmány fogyasztás átlagosan 2.78-dal nagyobb, a különbség 95% megbízhatósággal -4.53 és 10.10 g között van ($p=0.6991$).

4. táblázat A takarmányfelvétel becslése a kontroll és egyes kezelt csoportok összehasonlítása alapján

	Becslés	Alsó határ	Felső határ	p-érték
1x – Kontroll	0.78	-6.54	8.09	0.9893
3x – Kontroll	2.81	-4.51	10.12	0.6942
5x - Kontroll	2.78	-4.53	10.10	0.6991

5.6 A kísérlet során tapasztalt klinikai tünetek

A kísérlet kezdete előtt kelésgyengeségben összesen három naposcsibe hullott el. A kísérlet teljes hossza alatt pedig összesen 4 darab állat hullott el, melyek diagnosztikai boncolását a Patológiai Tanszék végezte el.

Az ötödik napon a 4. csoportban (1x dózis) pusztult el egy naposcsibe, *E. coli* szeptikémiában. A tizenegyedik napon *S. aureus* szeptikémiában egy egyed hullott el a 3. csoportból (kontroll csoport). A tizenkettedik napon a 11. csoportból (5x dózis) egy bakteriológiailag negatív állat hullott el. Ez utóbbi esetén kiszáradást, szétálló lábakat és peteburok retenciót állapítottak meg a boncolás után. A tizenharmadik napon volt az utolsó elhullás, melynél a boncolás során megnagyobbodott májat (hepatomegália), megnagyobbodott szívet (cardiomegália), serofibrinózus polyserositist, multifokális bakteriális pneumóniát és *Streptococcus alactolyticus* szeptikémiát írtak le.

A diagnosztikai célú boncolásokat dr. Dobra Péter végezte. Az elhullásokon kívül különböző klinikai tüneteket is észleltünk az állatoknál. A kísérlet negyedik napján a 11. csoportban (5x dózis) egy lábszétcsúszást, a 12. csoportban (5x dózis) pedig egy légzőszervi tüneteket (cikákolás) produkáló egyeddet figyeltünk meg. A hatodik napon szintén volt egy lábszétcsúszásos állat a 11. csoportban (5x dózis). A nyolcadik napon a 11. csoportban volt megfigyelhető egy lábszétcsúszásos egyed. A tizedötödik napon a 4. csoportban (1x dózis) tapasztaltuk egy állatnál, hogy sokat gubbasztott és nehezen mozgott. A huszonötödik napon a 4. csoportban (1x dózis) is megfigyeltünk egy lábszétcsúszásos egyeddet. A kísérlet utolsó napján a 7. illetve a 8. és 11. csoportban is megfigyeltünk 1-1 lábszétcsúszásos egyeddet.

A megfigyelt klinikai tünetek közül a lábszétcsúszás a fajta intenzív növekedéséből adódott. A kísérlet tekintetében egyéb, releváns klinikai tünetet nem tapasztaltunk.

6 KÖVETKEZTETÉSEK

Az ártalmatlansági vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a bakteriofág készítmény használata a broiler csirkék felnevelési időszaka alatt a testtömeggyarapodás tekintetében nem mutatott szignifikáns különbséget a kontroll (kezeletlen) csoportok és a készítmény 1x, 3x és 5x dóziséval kezelt csoportok eredményeit tekintve. A kontroll és 1x dózissal kezelt csoportok ($p=0,9853$), a 3x dózissal kezelt ($p=0,8273$), az 5x dózissal kezelt ($p=0,9902$) csoportok napi súlygyarapodásai között jelentős eltérést nem tapasztaltunk. A standard – a Ross308-as hibrid esetén a fajtát előállító cég által meghatározott súlygyarapodási paraméterekhez képest elmaradó – azonban azt követő egyenletes súlygyarapodás oka valószínűleg az volt, hogy az általunk etetett táp gyógyszermentes volt. A kokcidiosztatikum – ami minden egyes broiler csirke indító és nevelő tápjában megtalálható, mint ionofor antibiotikum – valamilyen szintű hozamfokozással rendelkezik.

A takarmányfelvétel tekintetében az egyes csoportok egyenként átlagosan fogyasztott takarmánymennyisége nagyjából követte a fajta standard előírását. A kontroll (kezeletlen) csoport és az 1x dózissal ($p=0,9893$), 3x dózissal ($p=0,6942$), valamint 5x dózissal ($p=0,6991$) kezelt csoportok napi takarmányfogyasztása között szignifikáns különbséget nem tapasztaltunk.

A broiler csirke *Salmonella* hordozása egyértelműen az állatok tartási helyéhez köthető, a fertőződés az állattartó telepeken történik [20], ennek a közegészségügyi kockázat csökkentésének egyik lehetséges alternatívájaként jöhet szóba a bakteriofágok használata [35], mely esetén a hatékony kezelés érdekében azok folyamatos adása szükséges [39], alkalmazásuk nem csak az élő állatokban, hanem azok termékeinek kezelése során (pl.: csirkemellhús) is hatékonynak bizonyult [42]. Azonban ártalmatlansági vizsgálatok tekintetében broiler csirke *Salmonella* fajokkal szembeni vizsgálat kevés áll rendelkezésünkre. Ellenben vizsgálták már az ártalmatlanságát társállatokkal (kutya és macska) etetett tápok tekintetében, mely során nem találtak semmiféle negatív hatást [46], főemlősök agyszövetére gyakorolt hatásuk szintén nem mutatott semmiféle elváltozást [47]. Önkéntes embereknek intravénásan beadva szintén biztonságosnak találták [48], sőt gastrointestinalis tüneteket mutató páciensek esetén per os adva a tünetek csökkenését tapasztalták a kontroll csoporthoz képest [49].

Az általunk vizsgált bakteriofág készítmény ivóvízen keresztüli adagolása során sem az 1x, sem a 3x, sem az 5x dózis adása esetén nem tapasztaltunk negatív hatást a

súlygyarapodásra és a takarmányfogyasztásra, Wójcik és mtsai. 100x dózis adását is biztonságosnak találták [53]. Egy másik vizsgálat során az előírt dózis adagolása során szintén semmiféle negatív hatást nem tapasztaltak [54].

Összességében elmondható, hogy a bakteriofágok nem befolyásolják negatívan sem a testtömeggyarapodást, sem a takarmányfelvételt a teljes felnevelési időszak alatt, az előírt dózis 3x és 5x dózisa is biztonságosan használható. Kifejezetten a készítménynek tulajdonítható klinikai tünetek és az elhullott madarak boncolása során kórbonctani elváltozások nem voltak megfigyelhetők. Tehát használata biztonságosnak tekinthető.

7 ÖSSZEFOGLALÁS

Közegészségügyi szempontból óriási jelentősége van az ételmérgezéseket okozó *Salmonella* spp. okozta fertőzéseknek, mely tekintetében a legnagyobb kockázatot a tojástermelő és hústermelő baromfifajok jelentik. Az antimikrobiális rezisztencia terjedése napjaink egyik legfontosabb problémája. A túlzott antibiotikum felhasználás visszaszorítása érdekében számos alternatív módszerrel próbálják helyettesíteni és visszaszorítani azok használatát. Alternatívaként jöhet szóba a bakteriofágok használata, melyek olyan vírusok, amik célzottan egy-egy baktériumfajt (törzset) képesek elpusztítani. Számos vizsgálat bizonyította ezek ártalmatlanságát a magasabb rendű szervezetekben. Az általunk vizsgált készítmény több bakteriofágból állt, melynek az ártalmatlanságát még nem vizsgálták.

Kimutattuk, hogy a bakteriofág készítménynek a gyártó által javasolt dózisa, valamint annak 3x és 5x dózisa sem okoz szignifikáns eltérést a broiler csirkék súlygyarapodásában és a napi takarmányfelvétel tekintetében a kontroll csoporthoz képest. Előbbi esetén hetente három alkalommal mértük az állatok testsúlyát 27 napon keresztül, a szignifikáns különbséget nem találtunk az 1x, a 3x és az 5x dózisban adott készítménnyel kezelt és a kontroll csoportok között. Az egyszeres dózis esetén a testsúlygyarapodás mértani közepe 99%-a volt a kontroll csoporténak, ami 95%-os megbízhatósággal a kontroll csoportban várható testsúlygyarapodás mértani közepének 88-110%-a között mozgott ($p=0.9853$), a háromszoros dózis esetén a testsúlygyarapodás 103%-a volt a kontroll csoporténak, ami a kontroll csoportban várható testsúlygyarapodás mértani közepének 92-115%-a között mozgott ($p=0.8273$), az ötszörös dózis esetén a testsúlygyarapodása 101%-a volt a kontroll csoporténak, ami a kontroll csoportban várható testsúlygyarapodás mértani közepének 91-113%-a között mozgott ($p=0.9902$). A napi takarmányfelvétel egyik kezelt csoportban sem mutatott szignifikáns eltérést a kontroll csoporttól. Az egyszeres dózis esetén az egy egyedre eső takarmányfelhasználás átlagosan 0.78-dal volt nagyobb, a különbség 95%-os megbízhatósággal -6.54 és 8.1 g között volt ($p=0.9893$), a háromszoros dózis esetén ez 2,81-gyel volt nagyobb, a különbség -4.51 és 10.12 g között volt ($p=0.6942$), az ötszörös dózis esetén ez 2,78-dal volt nagyobb, a különbség -4.53 és 10.10 g között volt ($p=0.6991$).

A készítmény terápiás dózisa, annak 3x és 5x dózisa sem okozott szignifikáns különbséget a testtömeggyarapodásban és a takarmány felvételben a kontroll csoporthoz képest. Tehát a készítmény biztonságosan használható broiler csirkék kiegészítő kezelésére, alkalmazásának közegészségügyi kockázatát nem találtunk.

8 SUMMARY

Salmonella infections which cause food poisoning have a great importance in public health, egg producing and meat producing poultry carrying the biggest risk. In these days the main problem is the spreading of antimicrobial resistance. For the sake of bringing the excessive use of antibiotics under control the EU is trying to replace and reduce it with alternative solutions. Bacteriophages, which are viruses that specifically infect bacterial species can be a solution to this problem. Many research prove, that these organisms are harmless to higher-order living beings. This preparation contains more than one bacteriophag species and hasn't been safety tested before.

We revealed, that the bacteriophage-cointaining preparation in the dose of what the producer suggested, as well as in triple and quintuple dose did not show any significant difference either in the body mass gain or the daily feed consumption. In the course of analysing the body mass gain we measured the body weight of the chickens three times a week through 27 days, in the body mass gain we did not find any significant difference between the groups treated with the single, the triple, the quintuple dose of the preparation and the control group. In case of single dose, the geometric mean of the body mass-gain was 103% of the control group, which was, with 95% reliability between the geometric mean's 88-110% in the control group ($p= 0.9853$), in case of triple dose, the geometric mean of the body mass-gain was 99% of the control group, which was between the geometric mean's 92-115% in the control group ($p= 0.8273$), in case of quintuple dose, the geometric mean of the body mass-gain was 101% of the control group, which was between the geometric mean's 91-113% in the control group ($p= 0.9902$). The daily feed consumption did not show any significant difference between the groups treated with the preparation and the control group. In case of single dose the fodder use per individual was on average, bigger with 0.78, the difference was between -6.54 and 8.1 g ($p= 0.9893$) with 95% reliability, in case of triple dose the fodder use per individual was on average, bigger with 2.81, the difference was between -4.51 and 10.12 g ($p= 0.6942$), in case of quintuple dose the fodder use per individual was on average, bigger with 2.78, the difference was between -4.53 and 10.10 g ($p= 0.6991$).

The preparation's therapeutic dose and the triple and quintuple dose of that did not cause significant difference between the body mass-gain and the feed consumption according to the control group. Therefore this preparation can be used safely for supplementary treatment in broiler chickens, it is not dangerous to public health.

9 IRODALOMJEGYZÉK

1. Varga J, Rusvai M, Fodor L (2018) Enterobacteriumok okozta betegségek. In: A háziállatok fertőző betegségei. MÁOK Kft., Budapest
2. McLaren I, Wales A, Breslin M, Davies R (2011) Evaluation of commonly-used farm disinfectants in wet and dry models of Salmonella farm contamination. *Avian pathology: journal of the WVPA* 40:33–42 . <https://doi.org/10.1080/03079457.2010.537303>
3. Andino A, Hanning I (2015) Salmonella enterica: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *ScientificWorldJournal* 2015:520179 . <https://doi.org/10.1155/2015/520179>
4. Wagner C, Hensel M (2011) Adhesive mechanisms of Salmonella enterica. *Adv Exp Med Biol* 715:17–34 . https://doi.org/10.1007/978-94-007-0940-9_2
5. Mannion C, Leonard FC, Lynch PB, Egan J (2007) Efficacy of cleaning and disinfection on pig farms in Ireland. *Vet Rec* 161:371–375 . <https://doi.org/10.1136/vr.161.11.371>
6. Baloda SB, Christensen L, Trajcevska S (2001) Persistence of a Salmonella enterica serovar typhimurium DT12 clone in a piggery and in agricultural soil amended with Salmonella-contaminated slurry. *Appl Environ Microbiol* 67:2859–2862 . <https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2859-2862.2001>
7. Tanner JR, Kingsley RA (2018) Evolution of Salmonella within Hosts. *Trends Microbiol* 26:986–998 . <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.001>
8. Mohamed A, Taha O, El-Sherif HM, Connerton PL, Hooton SPT, Bassim ND, Connerton IF, El-Shibiny A (2020) Bacteriophage ZCSE2 is a Potent Antimicrobial against Salmonella enterica Serovars: Ultrastructure, Genomics and Efficacy. *Viruses* 12:424 . <https://doi.org/10.3390/v12040424>
9. Jajere SM (2019) A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Vet World* 12:504–521 . <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>
10. Lahiri A, Lahiri A, Iyer N, Das P, Chakravorty D (2010) Visiting the cell biology of Salmonella infection. *Microbes Infect* 12:809–818 . <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2010.05.010>
11. Coburn B, Grassl GA, Finlay BB (2007) Salmonella, the host and disease: a brief review. *Immunology & Cell Biology* 85:112–118 . <https://doi.org/10.1038/sj.icb.7100007>
12. Yin Y, Zhou D (2018) Organoid and Enteroid Modeling of Salmonella Infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8:102 . <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00102>

13. Schroeder SA, Aserkoff B, Brachman PS (1968) Epidemic salmonellosis in hospitals and institutions. A five-year review. *N Engl J Med* 279:674–678 . <https://doi.org/10.1056/NEJM196809262791303>
14. Bula-Rudas FJ, Rathore MH, Maraqa NF (2015) Salmonella Infections in Childhood. *Adv Pediatr* 62:29–58 . <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2015.04.005>
15. Buchwald DS, Blaser MJ (1984) A review of human salmonellosis: II. Duration of excretion following infection with nontyphi Salmonella. *Rev Infect Dis* 6:345–356 . <https://doi.org/10.1093/clinids/6.3.345>
16. Cuypers WL, Jacobs J, Wong V, Klemm EJ, Deborggraeve S, Van Puyvelde S 2018 Fluoroquinolone resistance in Salmonella: insights by whole-genome sequencing. *Microbial Genomics* 4:e000195 . <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000195>
17. Oliveira J, Reygaert WC (2021) Gram Negative Bacteria. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)
18. Su L-H, Chiu 4 (2007) 2. cikk salmonella. *Chang Gung Med J* 30:210–219
19. Krawiec M, Kuczkowski M, Kruszewicz AG, Wieliczko A (2015) Prevalence and genetic characteristics of Salmonella in free-living birds in Poland. *BMC Vet Res* 11:15 . <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0332-x>
20. Henry I, Granier S, Courtillon C, Lalande F, Chemaly M, Salvat G, Cardinale E (2013) Salmonella enterica subsp. enterica isolated from chicken carcasses and environment at slaughter in Reunion Island: prevalence, genetic characterization and antibiotic susceptibility. *Trop Anim Health Prod* 45:317–326 . <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0221-2>
21. Kumar Y, Singh V, Kumar G, Gupta NK, Tahlan AK (2019) Serovar diversity of Salmonella among poultry. *Indian J Med Res* 150:92–95 . https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1798_17
22. Hurley D, Hoffmann M, Muruvanda T, Allard MW, Brown EW, Martins M, Fanning S (2020) Atypical Salmonella enterica Serovars in Murine and Human Macrophage Infection Models. *Infect Immun* 88:e00353-19 . <https://doi.org/10.1128/IAI.00353-19>
23. Robinson RA (1970) Salmonella infection: Diagnosis and control. *New Zealand Veterinary Journal* 18:259–277 . <https://doi.org/10.1080/00480169.1970.33918>
24. Suzuki S (1994) Pathogenicity of Salmonella enteritidis in poultry. *Int J Food Microbiol* 21:89–105 . [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90203-8](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90203-8)
25. Wigley P (2004) Genetic resistance to Salmonella infection in domestic animals. *Res Vet Sci* 76:165–169 . [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(03\)00117-6](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(03)00117-6)
26. EUR-Lex - 32006R1177 - EN - EUR-Lex. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32006R1177>. Accessed 10 Oct 2021
27. Ackermann H-W (2003) Bacteriophage observations and evolution. *Res Microbiol* 154:245–251 . [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(03\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(03)00067-6)

28. Iwasaki T, Yamashita E, Nakagawa A, Enomoto A, Tomihara M, Takeda S (2018) Three-dimensional structures of bacteriophage neck subunits are shared in Podoviridae, Siphoviridae and Myoviridae. *Genes Cells* 23:528–536 . <https://doi.org/10.1111/gtc.12594>
29. Ackermann H-W (2012) Bacteriophage electron microscopy. *Adv Virus Res* 82:1–32 . <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394621-8.00017-0>
30. Hatfull GF, Hendrix RW (2011) Bacteriophages and their genomes. *Curr Opin Virol* 1:298–303 . <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.06.009>
31. Hatfull GF (2008) Bacteriophage genomics. *Curr Opin Microbiol* 11:447–453 . <https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.09.004>
32. Bertin A, de Frutos M, Letellier L (2011) Bacteriophage-host interactions leading to genome internalization. *Curr Opin Microbiol* 14:492–496 . <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.07.010>
33. Weigel C, Seitz H (2006) Bacteriophage replication modules. *FEMS Microbiology Reviews* 30:321–381 . <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00015.x>
34. Boyd EF, Davis BM, Hochhut B (2001) Bacteriophage-bacteriophage interactions in the evolution of pathogenic bacteria. *Trends Microbiol* 9:137–144 . [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(01\)01960-6](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(01)01960-6)
35. Kakasis A, Panitsa G (2019) Bacteriophage therapy as an alternative treatment for human infections. A comprehensive review. *Int J Antimicrob Agents* 53:16–21 . <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.09.004>
36. Van Belleghem JD, Dąbrowska K, Vaneechoutte M, Barr JJ, Bollyky PL (2018) Interactions between Bacteriophage, Bacteria, and the Mammalian Immune System. *Viruses* 11:E10 . <https://doi.org/10.3390/v11010010>
37. De Sordi L, Lourenço M, Debarbieux L (2019) “I will survive”: A tale of bacteriophage-bacteria coevolution in the gut. *Gut Microbes* 10:92–99 . <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1474322>
38. Hyman P, Abedon ST (2010) Bacteriophage host range and bacterial resistance. *Adv Appl Microbiol* 70:217–248 . [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(10\)70007-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(10)70007-1)
39. Bardina C, Spricigo DA, Cortés P, Llagostera M (2012) Significance of the bacteriophage treatment schedule in reducing Salmonella colonization of poultry. *Appl Environ Microbiol* 78:6600–6607 . <https://doi.org/10.1128/AEM.01257-12>
40. Gut AM, Vasiljevic T, Yeager T, Donkor ONY 2018 Salmonella infection – prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: a review. *Microbiology* 164:1327–1344 . <https://doi.org/10.1099/mic.0.000709>
41. Sevilla-Navarro S, Catalá-Gregori P, García C, Cortés V, Marin C (2020) Salmonella Infantis and Salmonella Enteritidis specific bacteriophages isolated from poultry faeces as a complementary tool for cleaning and disinfection against Salmonella. *Comp*

42. Kim JH, Kim HJ, Jung SJ, Mizan MFR, Park SH, Ha S-D (2020) Characterization of *Salmonella* spp.-specific bacteriophages and their biocontrol application in chicken breast meat. *J Food Sci* 85:526–534 . <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15042>
43. Sillankorva S, Pleteneva E, Shaburova O, Santos S, Carvalho C, Azeredo J, Krylov V (2010) *Salmonella* Enteritidis bacteriophage candidates for phage therapy of poultry. *Journal of Applied Microbiology* 108:1175–1186 . <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04549.x>
44. Uddin MJ, Ahn J (2020) Associations between antibiotic resistance and bacteriophage resistance phenotypes in laboratory and clinical strains of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium. *Microbial Pathogenesis* 143:104159 . <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104159>
45. Yildirim Z, Sakin T, Çoban F (2018) Isolation of lytic bacteriophages infecting *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis. *Acta Biol Hung* 69:350–369 . <https://doi.org/10.1556/018.68.2018.3.10>
46. Soffer N, Abuladze T, Woolston J, Li M, Hanna LF, Heyse S, Charbonneau D, Sulakvelidze A (2016) Bacteriophages safely reduce *Salmonella* contamination in pet food and raw pet food ingredients. *Bacteriophage* 6:e1220347 . <https://doi.org/10.1080/21597081.2016.1220347>
47. Ksendzovsky A, Walbridge S, Saunders RC, Asthagiri AR, Heiss JD, Lonser RR (2012) Convection-enhanced delivery of M13 bacteriophage to the brain. *J Neurosurg* 117:197–203 . <https://doi.org/10.3171/2012.4.JNS111528>
48. Aslam S, Lampley E, Wooten D, Karris M, Benson C, Strathdee S, Schooley RT (2020) Lessons Learned From the First 10 Consecutive Cases of Intravenous Bacteriophage Therapy to Treat Multidrug-Resistant Bacterial Infections at a Single Center in the United States. *Open Forum Infect Dis* 7:ofaa389 . <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa389>
49. Gindin M, Febvre HP, Rao S, Wallace TC, Weir TL (2019) Bacteriophage for Gastrointestinal Health (PHAGE) Study: Evaluating the Safety and Tolerability of Supplemental Bacteriophage Consumption. *J Am Coll Nutr* 38:68–75 . <https://doi.org/10.1080/07315724.2018.1483783>
50. Anany H, Lingohr EJ, Villegas A, Ackermann H-W, She Y-M, Griffiths MW, Kropinski AM (2011) A *Shigella boydii* bacteriophage which resembles *Salmonella* phage ViI. *Virology* 438:242 . <https://doi.org/10.1016/j.virol.2011.08.024>
51. Wernicki A, Nowaczek A, Urban-Chmiel R (2017) Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry. *Virology* 498:179 . <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.08.017>
52. Li M, Lin H, Jing Y, Wang J (2020) Broad-host-range *Salmonella* bacteriophage STP4-a and its potential application evaluation in poultry industry. *Poult Sci* 99:3643–3654 . <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.03.051>

53. Wójcik EA, Stańczyk M, Wojtasik A, Kowalska JD, Nowakowska M, Łukasiak M, Bartnicka M, Kazimierczak J, Dastyh J (2020) Comprehensive Evaluation of the Safety and Efficacy of BAFASAL® Bacteriophage Preparation for the Reduction of Salmonella in the Food Chain. *Viruses* 12:742 . <https://doi.org/10.3390/v12070742>
54. Kang H-W, Kim J-W, Jung T-S, Woo G-J (2013) wksl3, a New Biocontrol Agent for Salmonella enterica Serovars Enteritidis and Typhimurium in Foods: Characterization, Application, Sequence Analysis, and Oral Acute Toxicity Study. *Appl Environ Microbiol* 79:1956–1968 . <https://doi.org/10.1128/AEM.02793-12>
55. Żbikowska K, Michalczyk M, Dolka B (2020) The Use of Bacteriophages in the Poultry Industry. *Animals (Basel)* 10:872 . <https://doi.org/10.3390/ani10050872>
56. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Bampidis V, Azimonti G, Bastos M de L, Christensen H, Dusemund B, Kouba M, Durjava MF, López-Alonso M, López Puente S, Marcon F, Mayo B, Pechová A, Petkova M, Ramos F, Sanz Y, Villa RE, Woutersen R, Cocconcelli PS, Glandorf B, Herman L, Prieto Maradona M, Saarela M, Dierick N, Martelli G, Brantom P, Tosti L, Svensson K, Anguita M, Galobart J, Innocenti M, Pettenati E, Revez J, Brozzi R (2021) Safety and efficacy of a feed additive consisting on the bacteriophages PCM F/00069, PCM F/00070, PCM F/00071 and PCM F/00097 infecting Salmonella Gallinarum B/00111 (Bafasal®) for all avian species (Proteon Pharmaceuticals S.A.). *EFSA Journal* 19:e06534 . <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6534>
57. Clavijo V, Baquero D, Hernandez S, Farfan JC, Arias J, Arévalo A, Donado-Godoy P, Vives-Flores M (2019) Phage cocktail SalmoFREE® reduces Salmonella on a commercial broiler farm. *Poult Sci* 98:5054–5063 . <https://doi.org/10.3382/ps/pez251>

10 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni témavezetőmnek, dr. Kerek Ádámnak szakmai útmutatását és odaadó segítségét, amivel lehetővé tette a kutatási témám megvalósulását. Köszönöm dr. Jerzsele Ákosnak, hogy befogadta a témámat, illetve engedélyezte a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék kísérleti állatházának használatát.

Köszönöm a Biomatematikai és Számítástechnikai Tanszék munkatársainak, kiváltképp Abonyi-Tóth Zsoltnak a statisztikai adatok kiértékelésében nyújtott segítséget. Köszönöm a Patológia Tanszék munkatársainak, különösen dr. Dobra Péternek, aki elvégezte az elhullott kísérleti állatok diagnosztikai boncolását és a közölt eredményekkel hozzájárult a dolgozatom elkészüléséhez.

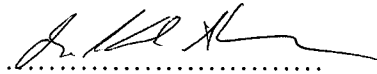
Köszönettel tartozom Borbás Éva áldozatos munkájának, akinek segítségével a méréseket el tudtuk végezni, valamint aki az állatok napi szintű ellátását végezte.

Szeretném megköszönni páromnak, hogy ezen időszak alatt végig mellettem állt, bátorított és a kísérlet során aktívan segédkezett. Köszönöm Medvegy Annának és Bezdán Dórának, akik támogattak és segítettek a dolgozatom írása során.

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **Dr. Kerek Ádám**, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Rónaszéki Regina Andrea** állatorvostan-hallgató „**Bakteriofág tartalmú készítmény ártalmatlansági vizsgálata broiler csirkében**” c. dolgozata részt vehet az Állatorvostudományi Egyetem 2021. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján.

Budapest, 2021. október hó 18. nap.



Dr. Kerek Ádám
témavezető

Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: Rónaszéki Regina.....

Neptun-kódja: YACXJT.....

A témavezető neve és beosztása: Dr. Kerek Ádám, tanszéki állatorvos, PhD-hallgató.....

Tanszék: Gyógyszertani és Méregtani Tanszék.....

A diplomadolgozat címe: Bakteriofág tartalmú készítmény ártalmatlansági vizsgálata broiler csirkében.....

Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2021.	03.	03.	Bakteriofág tartalmú készítmény kiválasztása, időpontok	
2.	2021.	03.	23.	Kisérleti állatok kiválasztása, helyük előkészítése	
3.	2021.	04.	01.	Kisérleti állatok átuttele és elhelyezése	
4.	2021.	04.	22.	Erdőzeti elhullások megvizsgálása, részeredmények megvitatása	
5.	2021.	05.	11.	A kísérlet eredményeinek megvitatása	

Érdemjegy az első félév végén: *Féles (5)*

Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2021.	09.	07.	Féléves munkakeret, következő konzultációs időpontok	
2.	2021.	09.	21.	Strukturális cikkek részletes áttekintése	
3.	2021.	09.	28.	Anyag és módszer, eredmények átbeszélése és kiértékelése	
4.	2021.	10.	11.	Táblázatok, grafikonok elhelyezése a dolgozatban	
5.	2021.	10.	25.	TDK előadás előkészítése, előadás gyakorlása	

Érdemjegy a második félév végén: *Féles (5)*

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!



A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.

A diplomamunka befogadható, védésre alkalmasnak találtam.

Hallgató aláírása:

Kovácsné Kovács

témavezető aláírása

[Handwritten signature]

Tanszéki előadó aláírása:

[Handwritten signature]

Átvétel dátuma:

2023. 06. 20.

NYILATKOZAT

Alulírott Rónaszéki Regina nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe ***Bakteriofág tartalmú készítmény ártalmatlansági vizsgálata broiler csirkében*** tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2021. évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2023. 10. 29.

Rónaszéki Regina

.....
Rónaszéki Regina