

TDK DOLGOZAT

Olasz Ákos

2022.

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Propolisz különböző kivonatainak *in vivo* hatékonysága brojlercsirke szalmonellózisa esetén

Készítette:

Olasz Ákos

IV. évf. ao. hallgató

Témavezető:

Dr. Kerek Ádám

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, PhD-hallgató

Budapest

2022.

Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	3
1. Bevezetés.....	4
2. Irodalmi áttekintés.....	5
2.1. Az antimikrobiális rezisztencia jelentősége.....	5
2.2. Antibiotikum alternatívák.....	6
2.3. A propolisz humán-, és állategészségügyi jelentősége.....	7
2.4. A szalmonellózis állat- és közegészségügyi jelentősége.....	9
2.5. A propolisz hatékonysága szalmonellafertőzésben.....	11
3. Célkitűzések.....	13
4. Anyag és módszer.....	14
4.1. Az állatkísérlet körülményei.....	14
4.2. A csoportok kialakítása és a készítmények adagolása.....	15
4.3. A <i>Salmonella</i> fertőzés menete.....	15
4.4. A <i>Salmonella</i> fertőzés sikerességének ellenőrzése.....	16
4.5. Az állatok testtömegének mérése és a mintavétel.....	16
4.6. A takarmányfogyasztás mérése.....	16
4.7. A klinikai tünetek monitorozása.....	16
4.8. A <i>Salmonella</i> törzs <i>in vitro</i> vizsgálata.....	17
4.9. Kórboncolás és kórszövettani vizsgálat.....	17
4.10. Statisztikai módszer.....	18
5. Eredmények.....	19
5.1. A testtömeg alakulása.....	19
5.2. A takarmányfogyasztás alakulása.....	21
5.3. A <i>Salmonella</i> fertőzöttség monitorozása.....	23
5.4. A klinikai tünetek gyakorisága.....	24
5.5. Elhullás.....	25
5.6. A <i>Salmonella</i> törzs <i>in vitro</i> érzékenysége.....	25
5.7. Kórbonctani és kórszövettani vizsgálat eredményei.....	25
5.8. Statisztikai elemzés.....	27
6. Következtetések.....	31
7. Összefoglalás.....	33
8. Summary.....	34
9. Irodalomjegyzék.....	35
10. Köszönetnyilvánítás.....	41

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AMR	Antimikrobiális rezisztencia (<i>Antimicrobial resistance</i>)
ATP	Adenozin-trifoszfát
CFU	Telepformáló egység (<i>Colony-forming unit</i>)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
MDR	Multirezisztens (<i>Multidrug-resistant</i>)
MIC	Minimális gátló koncentráció (<i>Minimal inhibitory concentration</i>)
MRSA	Meticillin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. enterica</i>	<i>Salmonella enterica</i>

1. BEVEZETÉS

Az antibiotikumok felfedezésük óta világszerte széles körben használt készítmények, melyek nélkülözhetetlenek a bakteriális fertőzések megelőzésében és kezelésében. Ezt a megelőző hatást igyekeztek a mezőgazdasági hozonállatok hozamfokozására is használni, ám az alul dozírozott antibiotikumok szelekciós nyomást gyakoroltak a baktériumokra és kedveztek az antimikrobiális rezisztencia (AMR) kialakulásának a törzsek kiszelektálódásával. A szubterápiás dózisok idővel a multirezisztens (MDR) baktériumtörzsek megjelenéséhez vezetnek.

Ez a folyamat mind állat-, mind pedig humánegészségügyi szempontból aggasztó, hiszen mára lelassult az új antibiotikumok felfedezésének sebessége, valamint új antibiotikum csoportokat sem fedeznek fel. Egyes előrejelzések szerint az antibiotikumok nem megfelelő használata következtében 2050-re évi 10 millió MDR baktérium okozta fertőzéssel kapcsolatba hozható humán halálesetre kell felkészülni.

Az egyik leggyakoribb *food-borne* patogénként ismert *Salmonella enterica* (*S. enterica*) baktérium felelős a humán ételmérgezések túlnyomó többségéért. Leggyakrabban nem megfelelően kezelt baromfihús vagy tojás a fertőződés forrása. A betegség általában enyhe lefolyású, ám a fertőzött általános állapotától és fogékonyságától függően súlyos tüneteket is mutathat. Az esetleges kezelést nehezíti az AMR gyakori jelenléte a *S. enterica* esetében.

A felesleges antibiotikum használat csökkentése végett és a rezisztencia visszaszorítása érdekében elengedhetetlen új, alternatív megoldások keresése a kezelések során. Ilyen alternatívák lehetnek a különböző fenolokban gazdag természetes anyagok, mint a propolisz is. Ez a méhek által előállított gyantás anyag mind Gram-pozitív, mind pedig Gram-negatív baktériumok ellen is mutat közvetlen antimikrobiális hatást. Ezen felül ismert a propolisz gyulladáscsökkentő és immunmoduláns hatása, mely alkalmassá teheti bakteriális fertőzések megelőzésére és kiegészítő terápiás használatra egyaránt.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az antimikrobiális rezisztencia jelentősége

Napjainkban az AMR, vagyis a mikrobák ellenállóképessége az ellenük alkalmazott szerekkel szemben folyamatosan nő. A mikroorganizmusok természetesen is hordoznak AMR géneket, ám az antibiotikumok nem megfelelő használata az AMR-ért felelős gének előfordulási gyakoriságát és változatosságát növelheti [1]. Egy antibiotikum elleni rezisztencia egyéb antimikrobiális anyagok elleni rezisztencia kialakulását is magában hordozza, ezt nevezzük keresztrezisztenciának [2, 3], de néha egy újabb rezisztencia egy egyéb antimikrobiális szer elleni rezisztencia elvesztésével jár, ez a kollaterális érzékenység [4].

Globálisan évente az AMR-rel összefüggésbe hozható halálesetek száma kb. 700 000-re tehető, mely 2050-re egyes becslések szerint elérheti az évi 10 millió halálos áldozatot is [5]. A *National Nosocomial Infections Surveillance* jelentése szerint 2003-ra a meticillin, oxacillin, nafcillin rezisztens *Staphylococcus aureus* aránya közel 60%-ra nőtt, a harmadik generációs cefalosporinokkal szemben rezisztens *Klebsiella pneumoniae* izolátumok aránya pedig 50%-kal növekedett az azt megelőző 5 évhez képest [6]. A baktérium ellenes hatóanyagokat hozamfokozó hatásuk miatt is használták a gazdasági haszonállatok körében [7], hiszen így a betegségek megelőzésén kívül jobb takarmány hasznosítást és erélyesebb testtömeg-gyarapodást lehetett elérni [8]. Ezt 2006-óta az Európai Unió tagállamaiban betiltották, a profilaxis vagy metafilaxis céljából történő használatot pedig 2022-től korlátozzák, illetve tiltják [9, 10].

A globalizált világban az emberek és állatok közötti szoros kapcsolatok gyakoribbak és az AMR géneket hordozó mikroorganizmusok terjedésének a földrajzi távolságok sem szabnak már gátat, sőt a nemzetközi szállítmányozás és turizmus a fertőző ágensek véletlenszerű terjedéséhez is hozzájárul [11]. Ezzel együtt az élelmiszerlánc is szerepet játszik az AMR terjedésében, hiszen a „food-borne” infekció – vagyis élelmiszer közvetítésével létrejövő fertőzés – útján a rezisztens patogének is terjedhetnek [12]. A *European Food Safety Authority*, a *European Centre for Disease Prevention and Control* és a *European Medicines Agency* közös jelentésében megállapította, hogy pozitív korreláció tapasztalható az élelmiszertermelő állatok antimikrobiális szerekkel történő kezelése és a humán medicinában tapasztalható AMR között [13], de ismerünk olyan esetet is, amikor az emberről került az állatra a meticillin-rezisztens *S. aureus* (MRSA) [14].

Az antibiotikumok nem körültekintő használata az egyik elsődleges forrása az AMR-nek, hiszen minden egyes antibiotikum használat szelekciós nyomást gyakorol a baktériumokra és az alul dozírozott és/vagy nem megfelelő ideig alkalmazott terápia kitűnő táptalaja a rezisztencia kialakulásának [11].

2.2. Antibiotikum alternatívák

Az antibiotikumok az elmúlt évtizedekben megszámlálhatatlan életet mentettek meg [15] és mára elképzelhetetlenné vált a modern orvostudomány antibiotikumok nélkül, ám az AMR növekedésének mérséklése, valamint a felesleges antibiotikum használat elkerülése érdekében szükséges antibiotikum alternatívákat használni [16].

Antibiotikum alternatívákként különböző anyagok és módszerek alkalmazhatók, ide sorolhatók az antitestek, a vakcinák, a probiotikumok, a prebiotikumok, valamint a szimbiotikumok, továbbá a fág-lizinek, a bakteriofágok, az immunstimulánsok, az antimikrobiális peptidek valamint a biofilm ellenes peptidek és egyéb anyagok [16, 17]. Az ellenanyagok passzív immunitást biztosítanak a kezelt egyed számára, mely a beadást követően azonnal megnyilvánul [18], míg a vakcinák hatására létrejövő ellenanyagok kialakulásához – vagyis a szerokonverzióhoz – idő kell, ám ez sokszor hosszútávú védelmet jelent [19]. A probiotikumok definíciójuk szerint élő mikroorganizmusok, melyek pozitívan hatnak a mikrobiális egyensúlyra [20], megfelelő dózisban képesek megelőzni a diszbiózist, többek között a *Clostridium difficile* okozta hasmenést [21]. A prebiotikumok, a tápanyagok olyan csoportja, melyet a tápcsatorna mikrobiotája használ fel, ezért adásuk segíti a természetes mikrobiom megőrzését vagy helyreállítását [22]. A szimbiotikumok pedig a pre- és probiotikumok együttes használatát foglalják magukban [23, 24]. A fág-lizinek olyan enzimek, melyeket a megfertőzött baktérium sejtek a bakteriofágok késői génexpressziójában szintetizálnak, majd a sejtek lízisét idézik elő [25]. A fág-terápia lényege, hogy baktérium specifikus bakteriofágok képesek megfertőzni a target baktériumot és elpusztítani azt [17, 25, 26]. Az antimikrobiális peptidek gyors baktericid hatásmóddal rendelkeznek, hiszen kationos tulajdonságuk révén megváltoztatják a baktérium sejtmembrán elektromechanikai tulajdonságait, ezzel átalakítva a permeabilitását is mely végzetes a baktériumra nézve [27]. A biofilm képződést gátló peptidek hatására a baktériumok fogékonyabbak lesznek az ellenük alkalmazott terápiákra és a szervezet immunválasza is jobban kifejeződik ellenük [28, 29]

A flavonoidok a polifenolok közé tartozó, sokféle biológiai tulajdonsággal rendelkező szerves anyagok. A tudomány számára ezidáig több mint 8000 flavonoid ismert [30]. Számos flavonoid rendelkezik valamilyen biológiai aktivitással, mint gyulladáscsökkentő, antioxidáns, továbbá szív és érrendszer védő hatás [31]. Ezeken felül egyesek antibakteriális hatással is rendelkeznek, mely 3 féle módon fejeződhet ki: közvetlen antibakteriális hatás, szinergista hatás antibiotikumokkal valamint a bakteriális patogenitás csökkentése révén [32], ezek mellett meg kell még azt is említeni, hogy némely flavonoid, mint az epigallokatekin-gallát, gátlólag hatnak az MRSA efflux pumpáira [33].

Az amerikai tőzegáfonya (*Vaccinium macrocarpon*) egy Észak-Amerikában előforduló növény, amely termésének kivonatát régóta használják fertőző megbetegedések menedzselésére. A benne megtalálható proantocianidin A-típusa képes gátolni az *Escherichia coli* (*E. coli*) adherenciáját, ezáltal sikerrel alkalmazható az uropatogén *E. coli* okozta húgyuti fertőzések megelőzésére [34]. Egyes kutatások ugyancsak e faj polifenoljainak számos antimikrobiális hatást tulajdonítanak, ezek közé sorolható biofilm képződés gátlása *Streptococcus* és *Porphyromonas* esetében, a *Streptococcus mutans* sav termelésének megakadályozása és némely periodontitisz hátterében meghúzódó baktériumokhoz köthető lítikus enzimek gátlása [35–37].

2.3. A propolisz humán-, és állategészségügyi jelentősége

A propolisz pontos összetétele nagy mértékben függ a földrajzi lokalizációtól [38–40], illetve a vegetációs időszaktól [40]. Bastos és munkatársai kimutatták, hogy a Brazíliából származó, többnyire a *Baccharis dracunculifolia* növényről gyűjtött zöld propolisz szignifikánsan nagyobb aktivitást mutat a nyúlós költésrothadást okozó *Paenibacillus larvae* ellen, mint a Minnesota államból származó nyárfa fajokon (*Populus spp.*) alapuló propolisz [42]. Egy másik tanulmány szerzői pedig azt állapították meg, hogy a közel-keleti propolisz minták produkálják *in vitro* a legalacsonyabb minimális gátló koncentrációkat (MIC) mind Gram-negatív, mind pedig Gram-pozitív baktériumok esetén [43]. Waili és kutatócsoportja azt találta, hogy a Szaúd-Arábiából származó propoliszok fele akkora MIC értékekkel bírnak *E. coli* és *Staphylococcus aureus* esetén, mint az Egyiptomból származó minták [44].

Továbbá a készítő méhek taxonómiai besorolása is befolyásolja a propolisz biológiai tulajdonságait [40, 41]. Az angolszász szakirodalomban „geopropoliszként” hivatkozott anyagot többek között a *Melipona* és *Tertagonisca* genuszokba tartozó méhek készítik [45–47].

A propolisz különböző komponensek keveréke, melyet a méhek készítenek a kaptár védelmére. Ez a védelem mind mechanikai, mind pedig fiziko-kémiai formákban is manifesztálódik. A méhek felhasználják a kaptár kisebb repedéseinek befoltozására, a téli hidegben a kaptár bejáratának szűkítésére, de a betolakodókat is ezzel az anyaggal mumifikálják [48]. A mézelő méhek (*Apis mellifera*) különböző növények enyves váladékait gyűjtik össze, melyet méhviasszal és saját nyálukkal elegyítenek masszává [49].

Analitikai összetételét tekintve több mint 300 komponenssel rendelkezik [43]. Fő összetevői 50-70%-ban gyanta, 30-50%-ban olaj és viasz, 5-10%-ban virágpor valamint egyéb összetevők, mint aminosavak, nyomelemek, cukrok, vitaminok, flavonoidok és fenolok [50]. A propolisz számos jótékony tulajdonsággal rendelkezik: mint antibakteriális [43, 51–53], antivirális, antifungális [51] és antiparazitikus [54–56] hatás. Ezen túl az élő szervezet élettani folyamatainak modifikálására is képes, így rendelkezik proliferáció gátló [57, 58], gyulladáscsökkentő [49, 59], immunmoduláns [60–62], antioxidáns illetve máj protektív hatással is [61, 63, 64].

A propolisz baktériumok elleni hatása részben a közvetlen antibakteriális, részben pedig közvetve az immunmoduláns hatásán keresztül manifesztálódik [65]. A propolisz a baktérium ellenes hatását a baktérium sejtmembrán permeabilitásának növelésével, az adenosin-trifoszfát (ATP) produkció csökkentésével, az ATP hiányában csökkenő motilitási képességgel valamint a membránpotenciál megzavarásával éri el [43, 66]. Eltérő hatásfok figyelhető meg a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumokkal szemben [38, 43, 67, 68]. Ez arra vezethető vissza, hogy a Gram-negatív baktériumokat lipopoliszacharid réteg veszi körül illetve specifikus hidroláz enzimeket termelnek, melyek eliminálni képesek a propolisz antibakteriális tulajdonsággal rendelkező összetevőit [66].

A leghatékonyabb összetevők közé tartozik az artepillin C [69]. Kutatásukban Yoshimasu és munkatársai kimutatták az artepillin C bakteriosztatikus hatását *Porphyromonas gingivalis* baktérium kapcsán [70]. Egyéb flavonoid összetevő még az apigenin és a pinocembrin, mely Veloz és munkatársai kutatásában a klórhexidinnél is hatékonyabbnak mutatkozott *Streptococcus mutans* baktériummal szemben [28].

Egyes flavonoidok antimikrobiális szerrel együtt alkalmazva szinergista hatással rendelkeznek, így például az apigenin ceftazidimmal alkalmazva hatásosnak bizonyult ceftazidim rezisztens *Enterococcus cloacae* törzsek ellen [71], míg β -laktám antibiotikumokkal alkalmazva a MRSA ellen is hatásosnak bizonyult [72].

A fahéjsav és származékai szintén rendelkeznek antibakteriális hatással [73]. A fahéjsav a baktériumokat a sejtmembrán károsításával, ATP-ázok gátlásával, a membrán porin csatornáinak tönkretételével és a bakteriális génexpresszió szabályozásával fejt ki hatását [74, 75]. Több esetben is dokumentálták a fahéjsavnak baktérium ellenes hatását, többek között *Aeromonas* spp., *Bacillus* spp., *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus flavus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. enterica* Typhimurium, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus pyogenes*, és *Vibrio* spp. esetén [73, 76, 77].

A propolisz brojlercsirkékre gyakorolt hatása kapcsán a szakirodalomban egymásnak ellentmondó eredményekkel lehet találkozni. Kleczek és munkatársai, valamint Gheisari és munkatársai arra az eredményre jutottak, hogy sem a flavomicin antibiotikum, sem a propolisz nem bír hozamfokozó hatással [78, 79]. Ezzel szemben Attia és munkatársai azt találták, hogy a propolisz adása folyamatosan, vagy intermittáló jelleggel növeli a testtömeget illetve a takarmányfelvételt [80]. Seven és munkatársai kimutatták, hogy hőstressznek kitett brojlercsirkéknél karkasz súly többlet alakult ki a kontroll csoporthoz viszonyítva [81].

A propolisz ismert immunmoduláns képessége sem mutatkozik meg mindig egyértelműen a brojlercsirkék esetében. Gheisari és munkatársai hasonló eredményeket publikáltak, mint Eyng és munkatársai, miszerint nem mutatkozott szignifikáns különbség az immunglobulin titerek tekintetében a kontroll csoporthoz viszonyítva [62, 79], míg Taheri és munkatársai azt mutatták ki, hogy azon Newcastle-betegség vírusával immunizált csirkék, akik propolisz olajos kivonatát kapták, magasabb ellenanyag szinteket produkáltak, mint a kontroll csoport madarai [82]. Daneshmand és munkatársai azt állapították meg, hogy a propolisz adása a *bursa Fabricii* relatív tömegének növekedésével jár, a kontroll csoporthoz hasonlítva [83].

2.4. A szalmonellózis állat- és közegészségügyi jelentősége

A *Salmonella* genus az *Enterobacteraceae* családba tartozik, Gram-negatív, pálcá alakú, fakultatív anaerob baktériumokat foglal magába. A *genus* nevét dr. Daniel Elmer Salmon állatorvosról kapta, aki először izolálta a sertés kolera kórokozójaként [84].

A *Salmonella* genus nomenklatúrája igen komplex és inkonzisztens hiszen alnemzetségekre, fajokra, alfajokra, csoportokra, alcsoportokra és szerovariánsokra osztják [85, 86]. A nemzetségbe 2 faj, a *Salmonella enterica* és a *S. bongori* tartozik [87, 88]. A

2005-ös esztendőben úgy tűnt, hogy bővül a nemzetségbe sorolt fajok száma a *S. subterranea* leírásával, azonban végül a taxonómusok máshová sorolták [89].

A *S. enterica* fajon belül a tudomány megkülönböztet több mint 2600 szerovariánst [90, 91]. Előfordulnak gazdaspecifikus *stenoxen* variánsok, mint a *S. Pullorum*, a *S. Gallinarum*, a *S. Typhi* és a *S. Paratyphi* valamint vannak több gazdaszervezetet is megfertőzőek, mint a *S. Typhimurium* vagy a *S. Enteritidis* [90]. Néhány variánst leszámítva (*S. Pullorum*, *S. Gallinarum*) ostonnal rendelkeznek és helyváltoztatásra képesek [92].

A *S. enterica* igen gyakori intracelluláris fakultatív patogén baktérium. Az egyik legfőbb „*food-borne*” – vagyis élelmiszerek útján közvetített fertőző ágens [87, 88]. Leggyakrabban *per os* jutnak a gazdaszervezetbe és enterális kórképeket okoznak. A klinikai tüneteket nagyban befolyásolja az egyed fogékonysága az adott szerovariánssra nézve [87].

A humán ételmérgezések hátterében leggyakrabban a *S. Enteritidis* szerovariáns áll, mely forrása leginkább a szennyezett és/vagy fertőzött tojás [93, 94], bár az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) által készített 2013-as *zoonosis* jelentés megállapításai szerint a nyers brojlercsirke húspan sokkal magasabb (3,5%) a *Salmonella* incidencia, mint a tojásban (0,1%) [95].

Az elmúlt években az AMR terjedése a „*food-borne*” patogének körében összefüggésbe hozható a humán mortalitás emelkedésével, hosszabb kórházi ápolással valamint a magas kezelési költségekkel [12]. A *Salmonella* szerovariánsok kifejezetten könnyen képesek kialakítani antibiotikum rezisztenciát: az antibiotikum kötőhelyek megváltozása, membrán permeabilitás változása, efflux pumpák kialakítása vagy éppen az antibiotikumot lebontó enzimek transzlációja révén illetve ezek kombinációjával [96, 97]. Az AMR gének lehetnek kromoszómális és plazmidon kódoltak is [98].

Már az 1990-es és 2000-es években leírtak MDR *S. enterica* törzseket, s azóta már mind a humán és mind az állategészségügyben világszinten elterjedté váltak és előfordulnak többek között olyan antibiotikumokra is rezisztens törzsek, mint a fluorokinolonok és a harmadik generációs cefalosporinok [99–101]. Egyéb vizsgálatok is kimutatták, hogy már kialakult a rezisztencia számos antibiotikum ellen, úgymint a sztreptomycin, a gentamicin, a szulfadimetoxin és a tetraciklin vagy a trimetoprim-szulfametoxazol kombináció ellen. Liljebjelke és munkatársai leírták, hogy az általuk vizsgált *Salmonella* izolátumok 20%-ánál figyelhető meg legalább háromféle antibiotikum ellen rezisztencia [97].

A humán szalmonellózis igen nagy jelentőséggel bír. A szalmonellózisnak 3 klinikai formáját különíthetjük el: gasztroenteritisz, szeptikémia, enterális láz (hastífusz) [102]. Jellemző tünetei közé sorolhatók a hasmenés, hányinger, hányás, láz, valamint hasi fájdalom [103]. Emberekre nézve patogén többek között a *S. Typhi*, a *S. Paratyphi*, *S. Choleraesuis*, mely által leginkább sertésektől lehet megfertőződni, valamint a *S. Enteritidis* valamint a *S. Typhimurium* is [84]. Humán fertőzéseket leggyakrabban a *S. Enteritidis* és a *S. Typhimurium* szerovariánsok okoznak [104]. Az Amerikai Egyesült Államokban évente hozzávetőlegesen 2 millió fertőzöttet jelentenek [102], világviszonylatban pedig évente 90 millió hasmenéses kórosat köthető a *S. enterica* valamely szerovariánsához [105]. A legnagyobb mortalitást az 5 éves kor alattiak között mutatja a *S. Typhimurium* és a *S. Enteritidis*, melyek főként a harmadik világ országaiban [106].

A baromfiállományokban általában jelen van a *Salmonella*, bár sokszor csupán szubklinikai formában [107]. Henry és munkatársai állattartó telepen tartott csirkék 27%-ából izolált valamilyen *Salmonella* szerovariánst [108]. Az egészséges állományokban jelenlévő *Salmonella* jelenti az emberre jutás (tojással vagy hússal) legnagyobb kockázati tényezőjét [108, 109]. Egy másik tanulmányban a különböző baromfiállományokban a *S. enterica* szerovariánsok megoszlását kutatva kimutatták, hogy leggyakrabban *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, vagy *S. Gallinarum* van jelen [110]. A baromfifélék szempontjából nagy jelentőséggel bír a baromfi tífusz kórokozója, a *S. Pullorum* és a paratífuszt okozó *S. Gallinarum* szerovariáns, melyek mortalitása akár 100% is lehet [90]. A brojlercsirkékben manifesztálódó akut szalmonellózis igen általános tünetekkel bír, mint bágyadság, szárnylógatás, takarmányfelvétel csökkenés, gubbasztás, konvulzió, végtag *paraesis*. Kórbonctani vizsgálaton látható elváltozások közé sorolhatók a kiterjedt vérzések, a cianózis, hiperémia, kórszövettani vizsgálatokon pedig a boholy atrofia, a perivaszkuláris ödéma, makrofág reakció valamint trombózis [111].

2.5. A propolisz hatékonysága szalmonellafertőzésben

Stepanović és kutatótársai a propolisz *in vitro* hatékonyságát vizsgálták 39 mikroorganizmus tekintetében. Közülük 1 MDR *S. enterica*, a szerovariánsokat figyelembe véve pedig *S. Enteritidis* és *S. Typhimurium* törzs volt. Azt találták, hogy a *Salmonella* mutatkozik leginkább rezisztensnek a propolisszal szemben, rendre 5 µg/ml és afölötti MIC értékeket mértek, szemben pl. a *Bacillus cereus* 0,16 µg/ml-es MIC értékeivel [112]. Stepanovićék kutatásai megerősítik azt a nézetet, hogy a propolisz nagyobb aktivitást mutat a Gram-pozitív baktériumok ellen, de a törökországi Mugla tartományból származó

propoliszok a várakozáson felül teljesítettek Gram-negatív baktériumokkal szemben is [113].

Egy másik kutatás Brazíliából és Bulgáriából származó propolisz minták *in vitro* hatékonyságát vizsgálta *S. Typhi* szerovariáns törzs ellen. Megállapították, hogy a vizsgált braziliai propolisz bakteriosztatikus, míg a bulgáriai propolisz baktericid hatással rendelkezik. Továbbá kimutatták, hogy a propolisznak szinergista hatása is van egyes antibiotikumokkal, mint klóramfenikol, tetraciklin és neomicin [114].

Pochop és munkatársai a propolisz hatását vizsgálták *in vivo*, hogy a propolisz hogyan befolyásolja a csirkékben a *Salmonella* gasztrointesztinális kolonizációját. Kutatásukban 4 csoport csirkének a takarmányba kilogrammonként kevertek propoliszt, méghozzá 150 mg/kg, 450 mg/kg, 600 mg/kg valamint 800 mg/kg dózisban illetve volt egy kontroll csoport, mely nem kapott propoliszt. A kontroll csoport minden egyes egyedéből sikerült *Salmonella* fajt izolálni, míg a kezelt csoportokban alacsonyabb *Salmonella* incidenciával találkoztak, hiszen a 150 mg/kg dózisonál 1, 600 mg/kg dózisonál 2 és 800 mg/kg dózisonál ugyancsak 2 minta negatív volt *Salmonella* fajokra nézve [115]. Ezzel szemben Babinska és munkatársai a propoliszon kívül a virágpor hatékonyságát is vizsgálták. 2-3 héten át etették a propolisz alkoholos kivonatát takarmányba keverten csoportonként a következő dózisokat alkalmazva: 250 mg propolisz 1 kg tápban, 5 g/kg virágpor valamint 250 mg propolisz és 5 g virágpor 1 kg tápban. Vizsgálataikban nem találtak a propolisznak szignifikánsan pozitív hatást a brojlercsirke szalmonellózisa esetén [64].

3. CÉLKITŰZÉSEK

Jelen kutatás célja, hogy a propolisz vizes kivonatának, és alkoholos kivonást követően beszárított propolisz 1x, 3x és 5x dózisának hatékonyságát és ártalmatlanságát vizsgáljuk *S. Enteritidis* szerovariánssal fertőzött brojlercsirkékben.

A felnevelés időszaka alatt (33 nap) nyomon követtük egyedileg az állatok súlygyarapodását és összevetettük a kezelést nem kapott kontroll csoporttal. Ezen kívül csoportonként mértük a takarmányhasznosítás mennyiségét és összehasonlítottuk a kontroll csoportnál tapasztalttal.

Továbbá vizsgáltuk, hogy a *S. Enteritidis* szerovariánssal kísérletesen fertőzött csirkékben a propolisz különböző kivonatainak bekeverése változtatja-e a fertőzés megeredésének valószínűségét, a tünetek megjelenésének súlyosságát, illetve gyakoriságát, valamint a fertőző ágens ürítésének időtartamát. A csirkéket kórbonctani boncolásnak is alávetettük, a makroszkópos elváltozások identifikálása érdekében és kórszövettani vizsgálat során a mikroszkópos elváltozásokat is figyeltük.

Célunk megállapítani, hogy a propolisz különböző kivonatainak és különböző dózisainak adása befolyásolja-e a brojlercsirkék testsúlygyarapodását, takarmányhasznosítását, a szalmonellózis kialakulásának valószínűségét, a tünetek súlyosságát, illetve a kórtani elváltozások megjelenését.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Az állatkísérlet körülményei

Az állatok az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszékének Állatházában kerültek elhelyezésre. Az állatkísérlet engedélyszáma PE/EA/00563-6/2022, besorolása enyhe volt. A propoliszt takarmányba, egy esetben ivóvízbe keverve adagoltuk, ezen kívül bélsarat gyűjtöttünk. A naposcsibék a Pipi-Tér Bt-től (Bábolna TETRA Kft.) érkeztek, Ross308-as brojlercsirkék voltak. A keltetőben Hatchback AVINEW, Hatchback IBD120 és a RISMAVAC + CA126 vakcinákat kaptak.

Az állatok elhelyezése az állatjóléti előírásoknak megfelelő méretű és kialakítású többszintű ketrecekben történt. A naposcsibék fogadása a tartástechnológiában előírt környezeti paraméterek (30 °C, 60% relatív páratartalom) mellett történt, infralámpák alatt, majd az életkornak megfelelő igények szerint változtattuk a paramétereket. Ez egy állandó 60-70%-os páratartalmat, az érkezésük napján és a második napon 30 °C-os hőmérsékletet, valamint 23 óra megvilágítást jelentett. A hőmérsékletet ezt követően fokozatosan csökkentettük a 4. hétre 20 °C-ra. A megvilágítás az érkezés napjától a 3. napig 23 óra volt, majd fokozatosan a vizsgálat végére 18 órára csökkentettük.

Az állatokat egyedileg jelöltük a lábukra erősített egyedi sorszámmal, mely a hetente mért súlygyarapodás rögzítéséhez és a bélsárminták gyűjtéséhez volt szükséges. Az állatok takarmányozása *ad libitum* történt brojler indítótáppal, ezen kívül naponta friss itatóvizet kaptak az állatok. A kokcidiosztatikum nélküli és hozzáadott réz nélküli, morzsázott formátumú intenzív brojler indító takarmánykeveréket a Farmer-Mix Kft-től (2027 Zsámbék, Etyeki u. 23.) vásároltuk. A táp összetételét az **1. táblázat** tartalmazza.

1. táblázat A brojler indító táp összetevői

Nyersfehérje	21,05	%	Nátrium	0,16	%
Nyerszsír	7,01	%	BHT antioxidáns	98,2	mg/kg
Nyersrost	3,62	%	A-vitamin	14000	NE/kg
Nyershamu	6,33	%	D3-vitamin	4200	NE/kg
AMEn baromfi	12,03	MJ/kg	E-vitamin	29	NE/kg
Nedvesség	12,08	%	Mangán	77	mg/kg
Lizin	1,26	%	Cink	101	mg/kg
Metionin	0,52	%	Réz	8	mg/kg
Kalcium	1	%	Vas	259	mg/kg
Foszfor	0,7	%	Szelén	0,26	mg/kg
Hozzáadott bárány 0,5% premix 0,7% arányban					

A vizsgálat első hét napján a tápból ketrecenként mértünk ki a csoportoknak 0,5 kg-ot, amely hozzáadott propolisz kivonatot már tartalmazott, majd ezt a 8-16. napok között 1,5 kg/ketrec mennyiségre emeltük. A 17-20. nap között 2 kg/ketrec, végül a 18-33. nap között 2,5 kg/ketrec tápot kaptak naponta. Friss ivóvízből naponta újat kaptak az állatok. A 0-7. napokon 1 liter/csoport, a 8-14. napokon 2 liter/csoport, a 15-33. napokon 3 liter/csoport ivóvizet adtunk önitatókba.

4.2. A csoportok kialakítása és a készítmények adagolása

Összesen 9 csoportot alakítottunk ki. Ezek közül a 1-4. és 9. csoport került egy terembe – ezeket a csoportokat *Salmonella*-val fertőztük a propolisz adagolása mellett, az 5-8. csoportok pedig másik terembe kerültek, akik csak propoliszos kezelést kaptak. Kivétel a 9. csoport, amely propoliszt nem kapott, csak fertőzve lett, és a 8. csoport, amely propoliszt sem kapott és fertőzve sem lett (**2. táblázat**).

2. táblázat Az egyes csoportok felosztása kezelés, állatlétszám, fertőzés és a propolisz kivonatok mennyisége alapján

Csoport	Kezelés	Állatszám	<i>Salmonella</i> fertőzés	Adalék
1. csoport	Beszárított kivonat	15	+	20 ml/tak. kg
2. csoport	Beszárított kivonat	15	+	60 ml/tak. kg
3. csoport	Beszárított kivonat	15	+	100 ml/tak. kg
4. csoport	Vizes kivonat	15	+	1 ml/l ivóvíz
5. csoport	Beszárított kivonat	15	-	20 ml/tak. kg
6. csoport	Beszárított kivonat	15	-	60 ml/tak. kg
7. csoport	Beszárított kivonat	15	-	100 ml/tak. kg
8. csoport	Negatív kontroll	11	-	-
9. csoport	Pozitív kontroll	5	+	-

Összesen 121 db állattal, 9 csoportra osztva végeztük a vizsgálatot, ebből az 1-3. és 5-7. csoportok az alkoholos kivonást követően beszárított propolisz kivonatának 20 ml/takarmány kg, 60 ml/takarmány kg és 100 ml/takarmány kg adagját kapták. Ez az 1x, 3x, 5x dózis adagolás az ártalmatlansági vizsgálatnak felel meg. A propolisz kivonat takarmányba történő egyenletes eloszlását bolygókeverő takarmánykeverővel végeztük, 10 kg-os egységenként 2-2 órás homogenizálással. A vizes kivonatból csak a 4. csoport kapott 1 ml/l ivóvíz mennyiségben bekeverve.

4.3. A *Salmonella* fertőzés menete

A korábban baktérium bankba lefagyasztott *S. Enteritidis* törzset a -80 °C-os tárolóból a fertőzés napján kioltottuk, sárga kacsnyi mennyiségű baktériumot 30 ml tripton szója

levesbe raktuk, majd azt 41 °C-on 3 órán keresztül inkubáltuk. A beoltást követően közvetlenül, majd az inkubáció végén mintát vettünk a szuszpenzióból és 10-es alapú hígítási sort készítettünk steril csövekben, melyekből 50 µl mennyiséget szélesztettünk tripton-szója agaron, kezdeti telepformáló egység (CFU) meghatározás céljából. A kiindulási mennyiséget így a kezdeti $3,6 \times 10^6$ CFU/ml értékről 3 órás inkubációt követően $1,3 \times 10^8$ CFU/ml értékre növelve. A fertőzést a 4. életnapon végeztük, amit az 5. életnapon megismételtünk. Egy csibébe 0,3 ml baktérium szuszpenziót oltottunk be begyszonda segítségével, ami $3,9 \times 10^7$ CFU-nak felelt meg.

4.4. A *Salmonella* fertőzés sikerességének ellenőrzése

A második *Salmonella* fertőzést követően a fertőzés sikerességének ellenőrzése, valamint a *Salmonella* ürítésének kimutatása céljából az 1., 3., 6., 14., és 21. napokon kloáka tamponmintákat vettünk az összes fertőzött állatból és a nem fertőzött csoportok esetén csoportonként 5 db állatból. A bélsármintákat 3 ml Rappaport Vassiliadis levest tartalmazó csövekben 41 °C-on egy órán keresztül inkubáltuk. Ezt követően a csövek vortexelése után 100 µl szuszpenziót szélesztettünk Rambach agarra, majd 18-24 órán keresztül inkubáltuk 41 °C-os termosztátban. Pozitív eredményként a mályvaszínű telepek megjelenését tekintettük, mely mintákat utána XLD agarra oltottunk át, melyet újabb 18-24 órán keresztül inkubáltunk 41 °C-os termosztátban. Pozitív mintának számított a fekete telepképző egység megjelenése, mely mintákat újból átoltottunk Chromagar Salmonella Plus szelektív agarra és újabb 18-24 órán keresztül inkubáltunk 41 °C-os termosztátban. Az ezen is mályva színű telepeket képező mintákat tekintettük ténylegesen pozitívnak.

4.5. Az állatok testtömegének mérése és a mintavétel

Az állatok súlygyarapodását hetente egy alkalommal, egyedileg mértük mérlegen. A kloáka tamponminták gyűjtéséhez steril vattatampon használtunk, melyet közvetlenül a mintavétel követően steril Rappaport Vassiliadis levest tartalmazó csövekbe mostunk, majd lezártuk azokat.

4.6. A takarmányfogyasztás mérése

A takarmányfogyasztás mérése csoportonként történt, az előző nap bemért takarmány visszamért mennyiségéből történő számolással.

4.7. A klinikai tünetek monitorozása

Minden héten, minden állat esetén megfigyeltük és rögzítettük egy igen-nem válasz alapján, hogy jelentkezik-e az állatok bélsár konzisztenciájában változás (csoportonként),

kloáka körüli húgysav felrakódás (egyedileg) és gubbasztás, szárnylógatás, valamint sántaság (egyedileg).

4.8. A *Salmonella* törzs *in vitro* vizsgálata

Megvizsgáltuk a fertőzésre használt *S. Enteritidis* törzs propolisz oldattal szembeni *in vitro* érzékenységet, MIC érték meghatározás segítségével. Ehhez az etetett, beszárított propolisz kivonatból 1024 µg/ml-es törzsoldatot készítettünk 96%-os etanol segítségével. Összesen 4 párhuzamos vizsgálatot végeztünk, ami alatt 4 párhuzamos vizsgálattal néztük a 96%-os etanol oldószer ugyanolyan kettes alapú hígítási sorának hatását.

A 96-lyukú mikrotiter lemez 1. oszlopát kivéve, az összes többi oszlopot 90 µl kation adjuvált Müller-Hinton levessel töltöttük fel, majd a törzsoldatból az 1. oszlop 1-4. lyukaiba, az oldószerből az 5-8. lyukaiba 180 µl-t mértünk be. Ezt követően elkészítettük a hatóanyag kettes alapú hígítási sorát. Az első oszlopban található törzsoldatból 90 µl-t pipettáztunk a 2. oszlopba, 3-4x alaposan szuszpendáltuk a pipettával a hozzáadott mennyiséget, majd ezt a folyamatot ismételve haladtunk tovább a 10. oszlopig, amelyből a keverés után visszaszívott felesleges 90 µl-t kidobtuk, így minden lyuk egyenlő mennyiségben 90 µl szuszpenziót tartalmazott. Egy segédlemezen elkészítettük a baktérium hígítását. Ehhez 240 µl levest mértünk az oszlopokba, majd ehhez a baktérium szuszpenziót tartalmazó csőből 10 µl-t adtunk, ezzel 25x hígított szuszpenziót kaptunk a munkalemezre való ráoltáshoz. A kettes alapú hígítási sort tartalmazó munkalemez 11. oszlopától kezdve visszafelé haladva minden lyukba 10 µl baktériumszuszenziót mértünk. A munkalemez 11. oszlopa pozitív kontrollként szolgált, amelybe az 1-10. oszlophoz hasonlóan tápleves és baktériumszuszenzió is került, viszont hatóanyag/oldószer nem. A munkalemez 12. oszlopa volt a negatív kontroll, amely csak táplevest tartalmazott, baktériumot és hatóanyagot/oldószer nem.

Ezt követően 18-24 órán keresztül 37 °C-on termosztátban inkubáltuk a munkalemezt, majd a pozitív és negatív kontrollokhoz viszonyítva elbíraltuk a MIC értékeket, a zavarosodás szempontja alapján.

4.9. Kórboncolás és kórszövettani vizsgálat

A kísérlet végén az állatokat az állatvédelmi előírásoknak megfelelően eutanáziában részesítettük (Euthasol 40% injekció A.U.V., 100-200mg/ttkg dózisának intravénás, megfelelő rögzítést követően, szárnyvénába injektálásával; ez a szer az állat teljes anesztéziáját okozza, mielőtt a légzőközpontot bénítaná, így teljesen fájdalommentes).

A kórboncolást és kórszövettani vizsgálatokat a Patológia Tanszék végezte. A kórboncolást minden egyes állaton elvégezték, ami a madarak diagnosztikai boncolásának szabályai szerint (külső vizsgálat, belső vizsgálat szervrendszerenként) történt [116]. A kórszövettani vizsgálatok csoportonként 5 állaton történtek a *jejunum* és *ileum* bélszakaszokból, minden egyes minta esetén három párhuzamos méréssel. Mértük a kriptamélységet és a bélboholy hosszát (villushossz). A három párhuzamos mérésből átlagot számoltunk és néztük az egyes kezelt csoportok bélboholy hossz – kriptamélység arányát hasonlítottuk a kontroll csoportokéhoz.

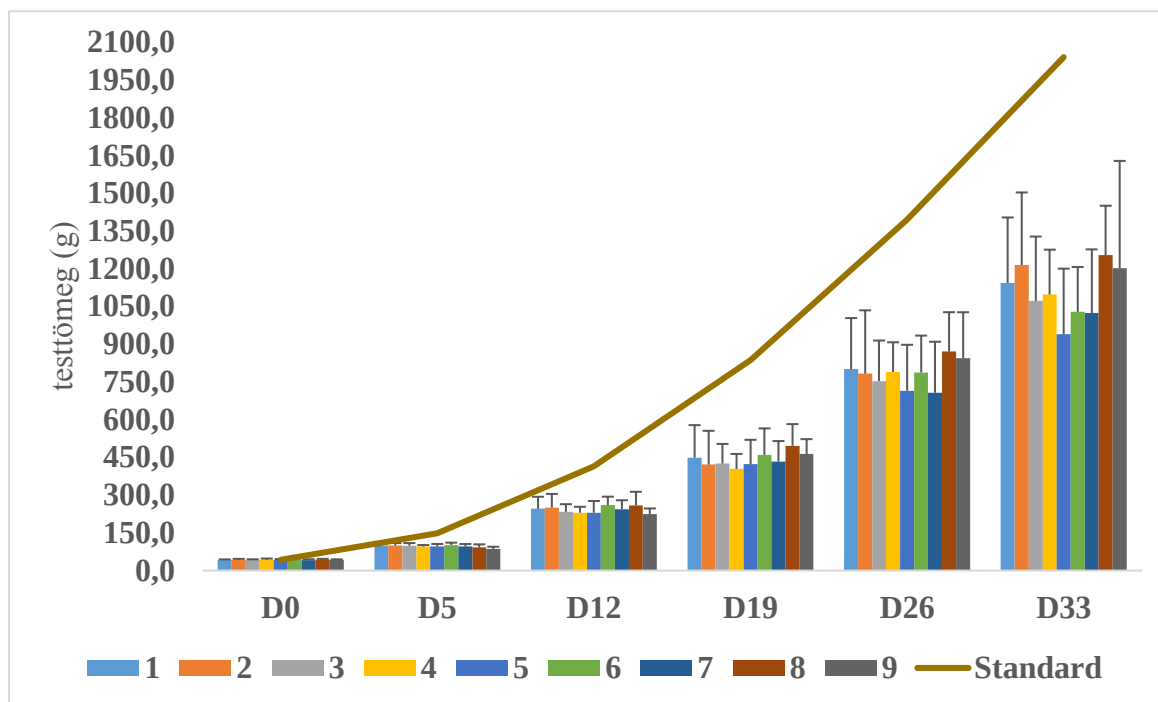
4.10. Statisztikai módszer

Az állatok testtömeggyarapodásának változását és a takarmányfogyasztás összehasonlítását az egyes dózisok hatására bekövetkező változások tekintetében a kontroll csoporthoz viszonyítottuk. Vizsgáltuk az egyes csoportok *jejunum* és *ileum* bélszakaszának villushosszát, kriptamélységét, valamint ezek arányát, csoportonként 5 db állat esetén, minden minta esetén három párhuzamos méréssel. Ezek statisztikai elemzését ANOVA segítségével végeztük el [117] az R program 4.1.0 verziójával [118].

5. EREDMÉNYEK

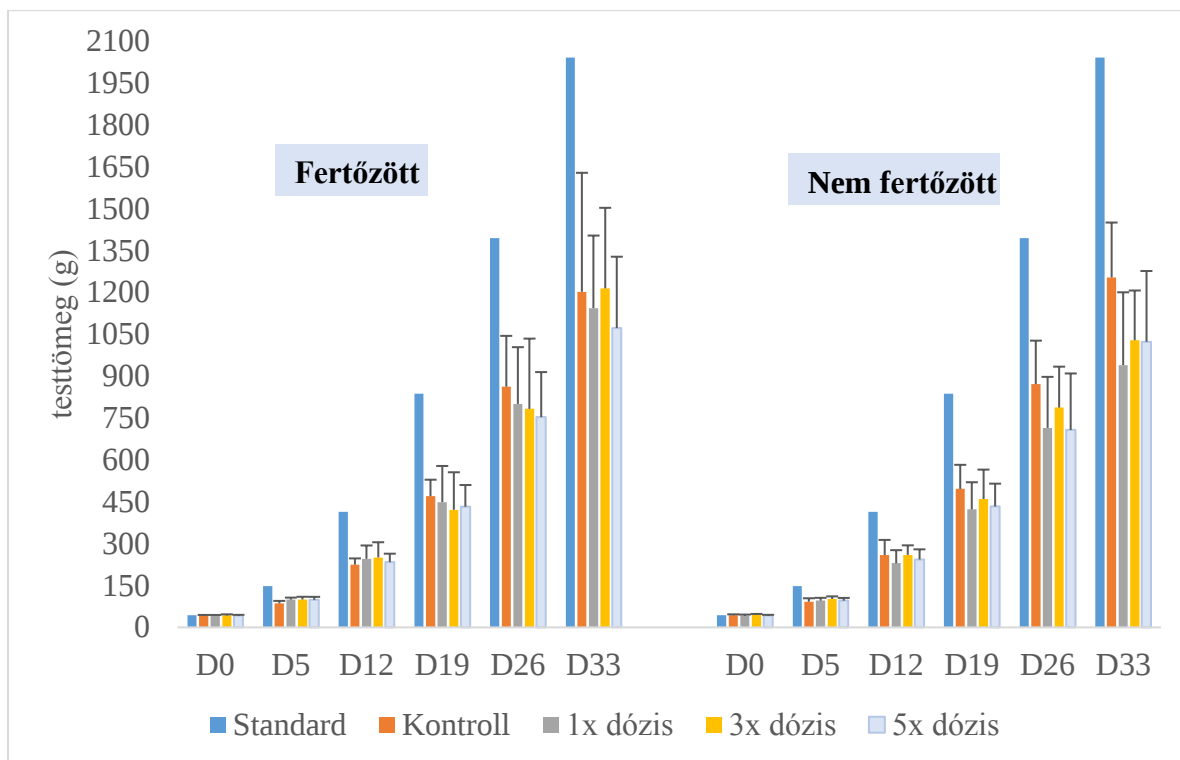
5.1. A testtömeg alakulása

A testtömeggyarapodás a felnevelési idő 5 hete során (**1. ábra**) egyenletesen nőtt, azonban jelentősen elmaradt a fajtastandardtól. A beszárított propolisz 1x, 3x és 5x dózisa, a vizes kivonat és a *Salmonella* fertőzött csoportok közötti különbség nem szignifikáns.



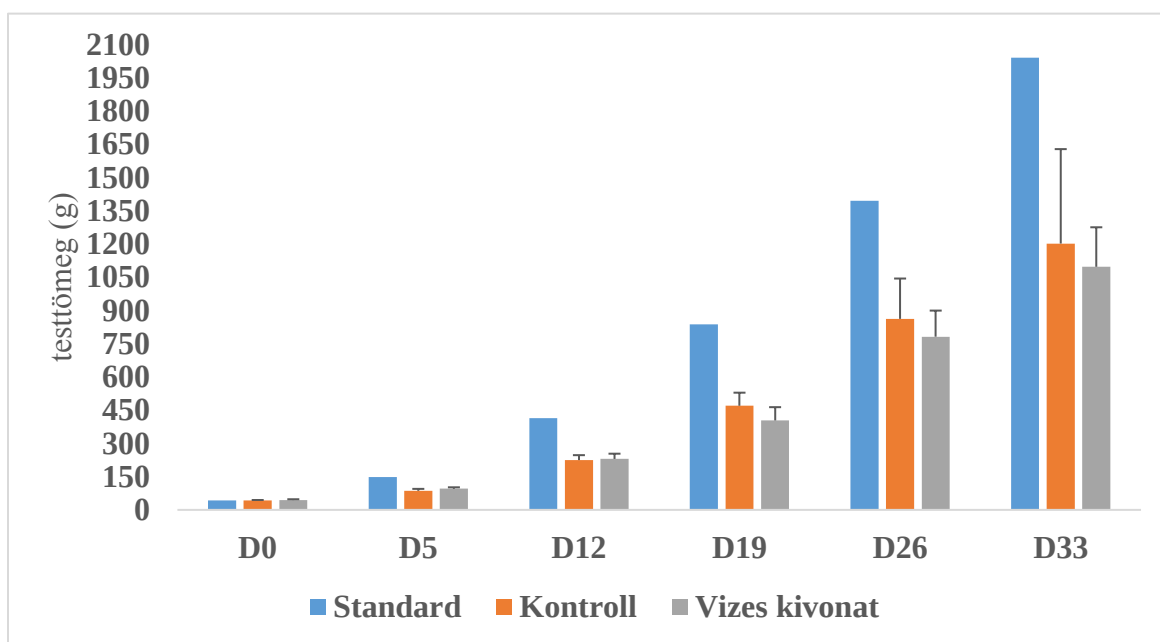
1. ábra Az egyes csoportok testtömeggyarapodása (g) az idő függvényében. A beszárított propolisz kivonat 1x dózisát (1. és 5. csoportok), 3x dózisát (2. és 6. csoportok), 5x dózisát (3. és 7. csoportok), vizes kivonatát (4. csoport) etetve; az 1-4. csoportok szalmonellával fertőzöttek, a 8. csoport negatív kontroll, a 9. csoport pozitív kontroll.

Összehasonlítva a fertőzött csoportok kontroll csoportját, a beszárított propolisz 1x, 3x, 5x etetett dózisaival, szignifikáns különbség a súlygyarapodásban nem figyelhető meg. Szakmailag azonban a különbség jelentős, az első 2 hétben a propolisszal kezelt csoportok meghaladják a kontroll csoport átlagát, azt követően viszont csak a 33. napon mért, 3x dózissal etetett csoport esetén volt kedvezőbb a súlygyarapodás átlaga. A nem fertőzött csoportok esetén ez csak az 1. hétben propolisszal kezelt csoportok esetén volt megfigyelhető, azt követően nem. Viszont a teljes felnevelés ideje alatt egyértelműen a 3x dózisban etetett beszárított kivonat volt a legkedvezőbb hatással a súlygyarapodásra. A fertőzött és nem fertőzött csoportok egymáshoz való hasonlítása szignifikáns különbséget mutat, azonban ennek a magyarázó faktora a szobahatás, ezért szakmailag ez nem vehető figyelembe (**2. ábra**).



2. ábra A fertőzött és nem fertőzött csoportok testtömegének (g) összehasonlítása, a kontroll csoportokhoz képest az idő függvényében

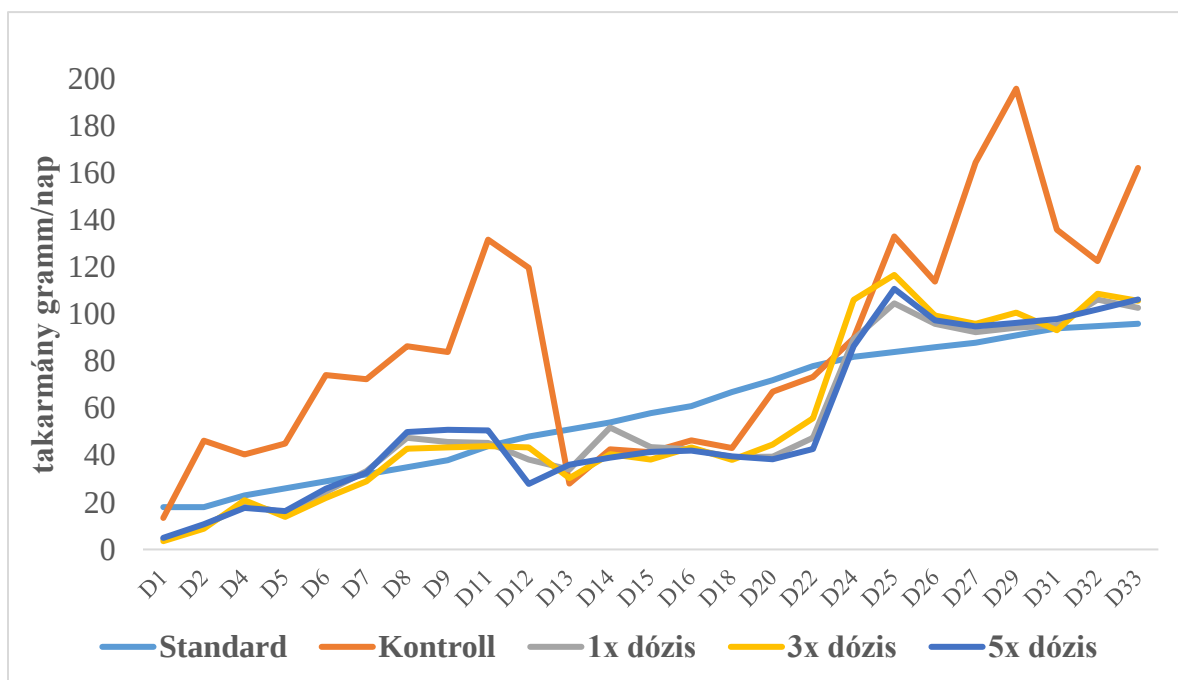
A vizes kivonatot vizsgálva itt is megállapítható, hogy szignifikáns különbség nem figyelhető meg a kontroll csoporthoz képest a testtömeggyarapodásban. Az azonban megállapítható, hogy a propolisz kezelés hatására a súlygyarapodás jobb volt az első két hétben, mint a kontroll csoportban (**3. ábra**).



3. ábra A vizes propolisz kivonat és a kontroll csoport testtömegének (g) alakulása

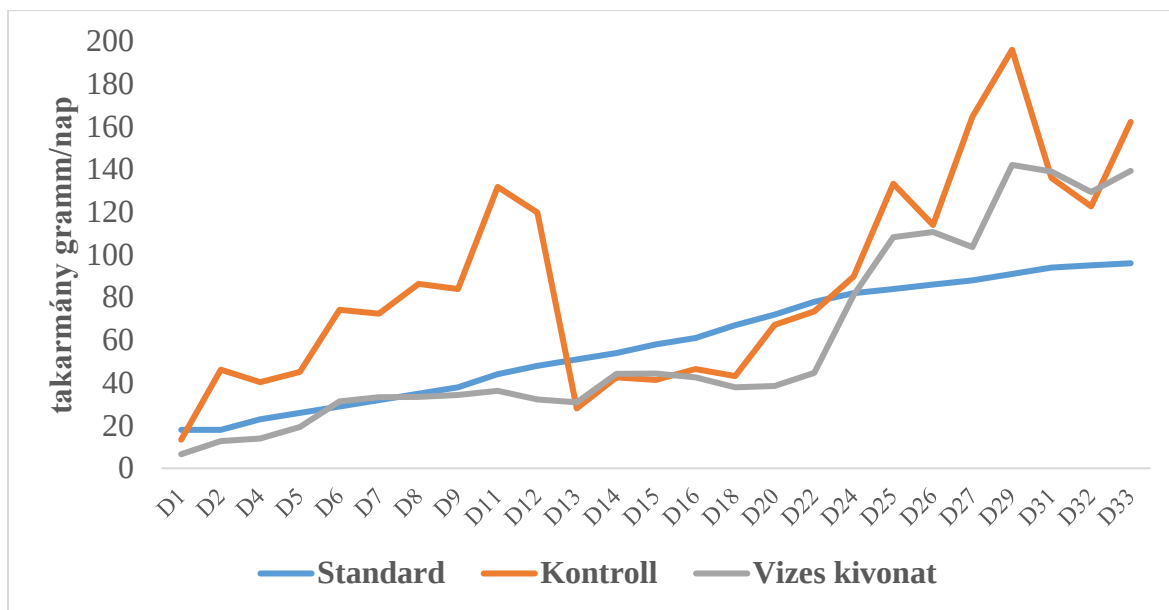
5.2.A takarmányfogyasztás alakulása

A beszárított propolisz kivonat 1x, 3x és 5x dózisát etetve a takarmányfelvétel egy állatra vetített változása a kontroll csoporthoz képest a **4. ábrán** látható. Szembeötlő, hogy a 12. napig a kontroll csoport átlagos egyedi takarmányfelvétele nagyobb, mint a különböző propolisz koncentrációk etetése esetén. A 13. naptól ez csökken és az összes csoport jobban teljesít a standard értékhez képest, egészen a 24. napig. Ezt követően a kontroll csoport ismét gyengébb, a propoliszsal etetett csoportok pedig a standard átlagot veszik fel. A 24. napig a propoliszos kezelések a standard fogyasztáshoz hasonlóak; a teljes vizsgálati idő 86%-ában (1x dózis) és 91 %-ában (3x és 5x dózis) jobbak, mint a kontroll csoport.



4. ábra A beszárított propolisz kivonat 1x, 3x és 5x dózisának átlagos, egy állatra jutó takarmányfelvételre gyakorolt hatása a kontroll csoporthoz viszonyítva

Ha összehasonlítjuk a vizes propolisz kivonattal itatott csoport takarmány felvételét a kontroll csoporttal, egy állatra átlagolt értéket nézve, akkor jól látható, hogy a 12. napig a kontroll csoport takarmány értékesítése jóval rosszabb volt, majd a 13-24. nap között a standard értéknél jobb volt, utána ismét gyengébb lett. Ehhez képest a propoliszt kapott állatok esetén átlagosan a 24. napig volt a kontroll és a standard értéknél is jobb, majd ezt követően gyengült a kísérlet végéig. Összességében elmondható, hogy a mérési időpontok 80%-ában volt jobb a vizes propoliszt kapó csoport takarmány értékesítése, mint a kontroll csoporté (**5. ábra**).



5. ábra A vizes propolisz kivonat takarmányfogyasztásra gyakorolt hatása a kontroll csoporthoz képest az idő függvényében

Összehasonlítottuk a beszárított propolisz kivonatot kapó brojlerek testtömeggyarapodását és a takarmányfelvételt, az adatok jól tükrözték, hogy a 12. napig, amíg a kontroll csoporthoz képest sokkal kevesebb takarmányt fogyasztottak az 1x, 3x és 5x propolisz dózissal etetett csoportok, addig a súlygyarapodásuk meghaladta a kontroll csoportét, bár az eredmények kontrollhoz viszonyított különbsége nem volt szignifikáns. Ezt követően, ahogy a 24. napig a kontrollhoz képest ez a különbség jelentősen csökkent, úgy a kezelt csoportok súlygyarapodása sem haladta már meg a kontroll csoportét. Majd a 24. naptól a kísérlet végéig a takarmányfogyasztás a kezelt csoportok esetén ismételen kevesebb volt, mint a kontroll csoporté, azonban itt már csak a 3x dózissal etetett csoport súlygyarapodása haladta meg a kontroll csoportét (**3. táblázat**).

3. táblázat A beszárított propolisz kivonat takarmányfelvételre és súlygyarapodásra gyakorolt hatásának összehasonlítása. A zöld színnel kiemelt értékek a kontrollhoz képest pozitív hatást, a piros színnel kiemelt értékek negatív hatást jelölnek.

Átlagos takarmányfogyasztás (g)					Átlagos súlygyarapodás (g)			
Nap	Kontroll	1x	3x	5x	Kontroll	1x	3x	5x
D1	13,4	4,4	3,5	4,9	42,2	42,3	43,0	42,1
D5	45,1	15,6	13,9	16,4	86,0	99,4	99,7	98,7
D12	119,8	38,2	43,5	27,9	224,8	245,7	250,3	233,6
D18	43,2	39,3	38,0	39,6	469,9	448,7	421,4	432,2
D25	133,2	104,7	116,8	110,9	862,3	800,5	782,7	753,3
D33	162,3	102,8	105,8	106,3	1202,2	1143,6	1214,4	1072,3



pozitív hatás



negatív hatás

A vizes kivonat esetén a 12. napig volt megfigyelhető, hogy a kontrollhoz képest kevesebb takarmányfelvétel jobb testtömeggyarapodást eredményezett (**4. táblázat**).

4. táblázat A vizes propolisz kivonat takarmányfelvételre és súlygyarapodásra gyakorolt hatásának összehasonlítása. A zöld színnel kiemelt értékek a kontrollhoz képest pozitív hatást, a piros színnel kiemelt értékek negatív hatást jelölnek.

Átlagos takarmányfogyasztás (g)			Átlagos súlygyarapodás (g)	
Nap	Kontroll	Vizes kivonat	Kontroll	Vizes kivonat
D0	13,4	6,6	42,2	44,2
D5	45,1	19,3	86,0	96,0
D12	119,8	32,3	224,8	229,9
D19	43,2	37,9	469,9	403,7
D26	114,0	110,6	862,3	781,7
D33	162,3	139,3	1202,2	1097,4



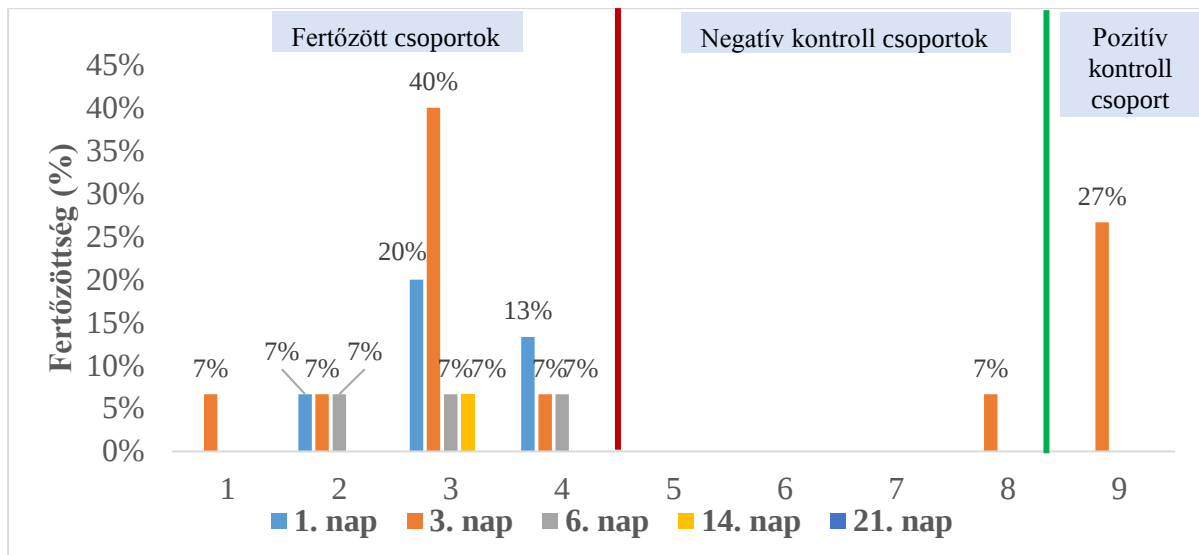
pozitív hatás



negatív hatás

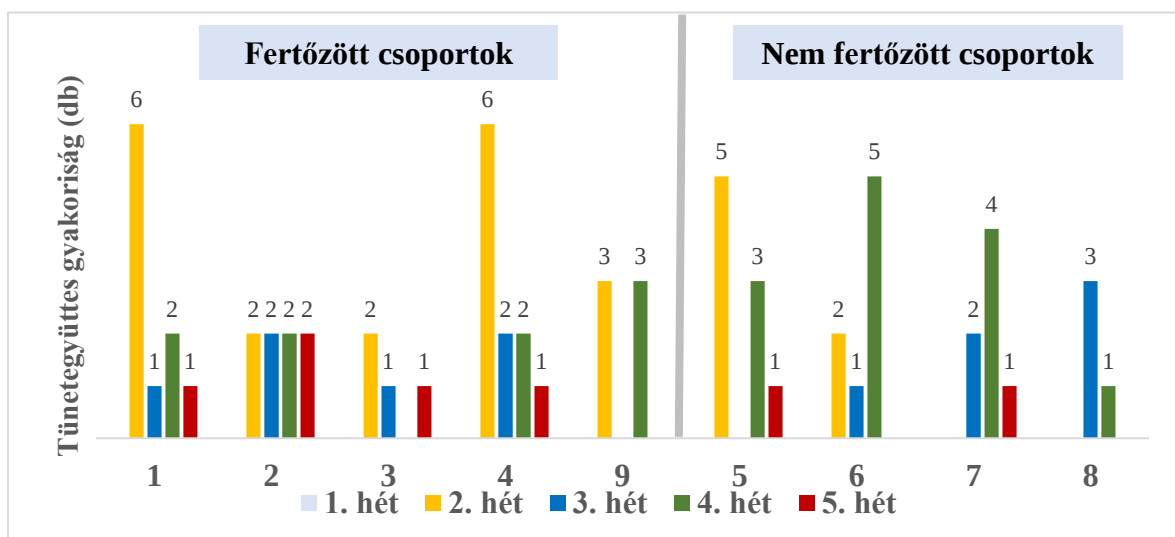
5.3.A *Salmonella* fertőzöttség monitorozása

A dúsítást követően háromféle differenciáló és szelektív agarra történő átoltást követően, a mindegyiken pozitív eredményt adó mintákat tekintettük elfogadhatónak. Az így kapott eredményeket a **6. ábra** mutatja be. A mintavételek csak a *Salmonella* hordozás és ürítés tényét bizonyították, a módszer mennyiségi meghatározásra nem volt alkalmas. Az eredményekből jól látszik, hogy a fertőzést követően három napra volt szükség, hogy az összes fertőzött csoport ürítse a kórokozót. A 2., 3. és 4. csoportokban már az 1. napon is megjelent az ürítés, különösen nagy mennyiségben volt jelen a 3. csoport állataiban, ahol a 3. napra még tovább nőtt a fertőzött állatok száma. A fertőzött csoportok esetén a *Salmonella* ürítése a beszárított propolisz kivonat 1x dóziséval etetett 1. csoport esetén a 3. napig, a 3x dózissal etetett 2. csoport esetén a 6. napig, az 5x dózissal etetett 3. csoport esetén a 14. napig, a vizes kivonattal itatott 4. csoport esetén a 6. napig volt kimutatható. A 3. napon a negatív kontroll csoportok közül a 8. csoportban (nem kapott propoliszt és fertőzve sem volt) egy állat esetén mutattunk ki *Salmonella* jelenlétet, mely valószínűleg olyan szerovariáns lehetett, ami ellen mentesítés nem folyik. A pozitív kontroll esetén a fertőzést követő 3. napon történt mintavétel esetén volt több állatból kimutatható a *Salmonella* ürítése, azt követően nem. Összességében elmondható, hogy a propolisz adagolása nem eredményezte a *Salmonella* ürítés hamarabb történő megszűnését.



6. ábra A dúsítást és háromféle differenciáló és szelektív agarra történő átoltást követően pozitív minták száma az egyes csoportok tükrében, az egyes vizsgálati napokon

5.4. A klinikai tünetek gyakorisága



7. ábra A klinikai tünetek megoszlása az egyes csoportok tükrében az idő előrehaladtával, a gubbasztás, szárnylógatás és sántaság tünetegyüttes figyelembevételével

A klinikai tünetek közül elmondható, hogy a fertőzést követően a fertőzött csoportok esetén lágyabb bélsár volt megfigyelhető a kontroll csoportokéhoz képest, azonban súlyos, híg hasmenést nem tapasztaltunk. Kloáka körüli húgysav felrakódást egy állat esetén sem detektáltunk. A legérdekesebb a gubbasztás, szárnylógatás és sántaság tünetegyüttes jelentkezése volt. Jól látható, hogy mind a fertőzött és nem fertőzött csoportok esetén is jelentkezett. Azonban az időbeli jelentkezésben eltolódás volt megfigyelhető, a fertőzött csoportok esetén egyrészt sokkal nagyobb volt a gyakoriság, másrészt korábban – már a 2. héten jelentkezett. A nem fertőzött csoportok esetén ritkábban volt megfigyelhető és inkább

a későbbi életkorban, a 3-4. hétben jelentkezett. Előbbi esetén a *Salmonella* fertőzés, utóbbi esetén a fajtára jellemző fokozott testtömeggyarapodás mellett a teherviselő csontok lassabb növekedése lehet a magyarázó faktor (7. ábra).

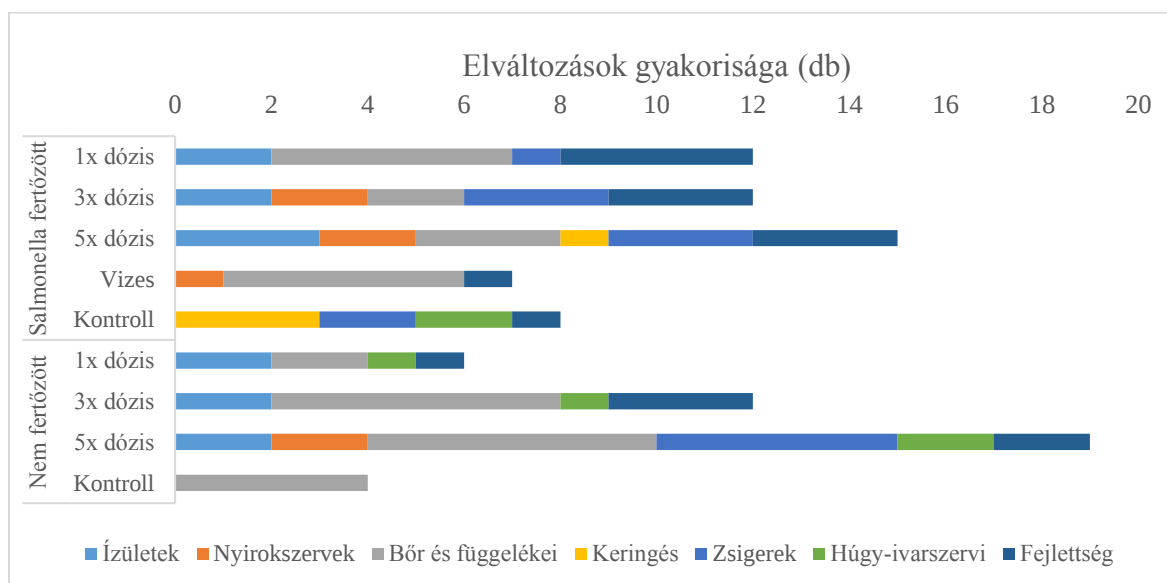
5.5. Elhullás

A vizsgált időszak alatt összesen 13 állat (10,7%) hullott el a 121-ből, az elhullások 54%-a a fertőzött csoportokból, 46%-a a nem fertőzött csoportokból került ki. Az esetek 46%-ban lábszétcsúszás és ugyancsak 46%-ban satnyaság volt megfigyelhető az anamnézisben, egy esetben tapasztaltuk tüneteket nem mutató állat elhullását.

5.6. A *Salmonella* törzs *in vitro* érzékenysége

A MIC vizsgálat során 128 µg/ml koncentrációban tudtuk meghatározni azt a legkisebb gátló koncentrációt, ami még gátolta a *S. Enteritidis* növekedését. Ugyanebben a hígításban az oldószerként használt etanol már nem gátolta a baktérium növekedését. A vizes kivonat esetén ugyanakkor csak a 2x hígításig találtunk gátló hatást, mely esetén azt tripton szója agarra kikenve azt tapasztaltuk, hogy egyetlen CFU sem nőtt ki, tehát ez a hígítás egyben baktericid hatást is jelent.

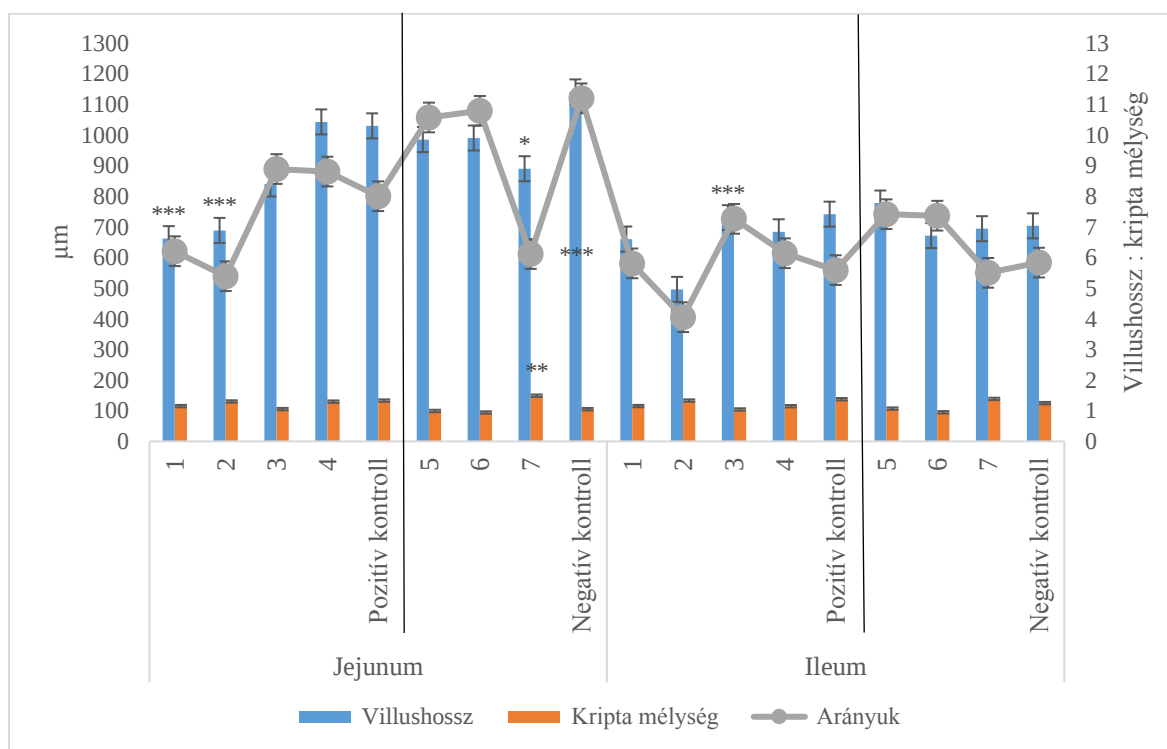
5.7. Kórbonctani és kórszövettani vizsgálat eredményei



8. ábra Az egyes csoportok kórboncolása során tapasztalt makroszkópos elváltozások gyakorisága szervrendszerenként. Ízületek: arthritis, tenosynovitis, bursitis; nyirokszervek: bursa atrophía, reaktív nyiroktüsző *ileumban*, reaktív nyiroktüsző *jejunumban*; bőr és függelékei: cellulitis, felületes pododermatitis, sérülés, tollhiány; keringés: bal kamra tágulat, jobb kamra tágulat, félheveny fibrines pericarditis, lekerekedett szív; zsigerek: félheveny fibrines polyserositis, hepatomegalia, savós-fibrines polyserositis, tüdőödéma, tüszúrásnyi szürkésfehér góc a májon; húgy-ivarszervi: jobb oviductus cystitis, kirajzolódó ureterek, vese tubularis rajzolat; fejlettség: satnyaság, senyveség, csököttség, üres begy, visszamaradt szik.

A makroszkópos vizsgálat esetén a szalmonella fertőzéstől függetlenül a propolisz kivonat 5x dózisa esetén volt a legtöbb elváltozás. A nem fertőzött negatív kontroll esetén külső elváltozások voltak, a fertőzött, de nem kezelt kontroll csoport esetén több, szervi elváltozás volt. A szalmonella fertőzés jelentősen megnövelte mindegyik csoport esetén az elváltozások számát a nem fertőzött, azonos kezelést kapott csoportokhoz képest (**8. ábra**).

A *jejunum*ban a szalmonellával fertőzött csoportok közül a propoliszt nem kapott pozitív kontroll csoporthoz képest az 1. csoport (1x dózis, $p<0,001$) és 2. csoport (3x dózis, $p<0,001$) esetén figyelhető meg a villushosszban negatív szignifikáns különbség. Az *ileum* szakaszán csak a 2. csoportnál (3x dózis, $p<0,001$) volt negatív szignifikáns különbség. A nem fertőzött csoportok közül a 7. csoport villushossza (5x dózis, $p=0,0254$) és a villushossz-kriptamélység arány ($p<0,001$) esetén volt negatív szignifikáns különbség a negatív kontroll csoporthoz képest. A kriptamélység esetén pozitív szignifikáns különbséget mutattunk ki (5x dózis, $p<0,01$) a 7. csoport és a negatív kontroll csoport között (**9. ábra**).



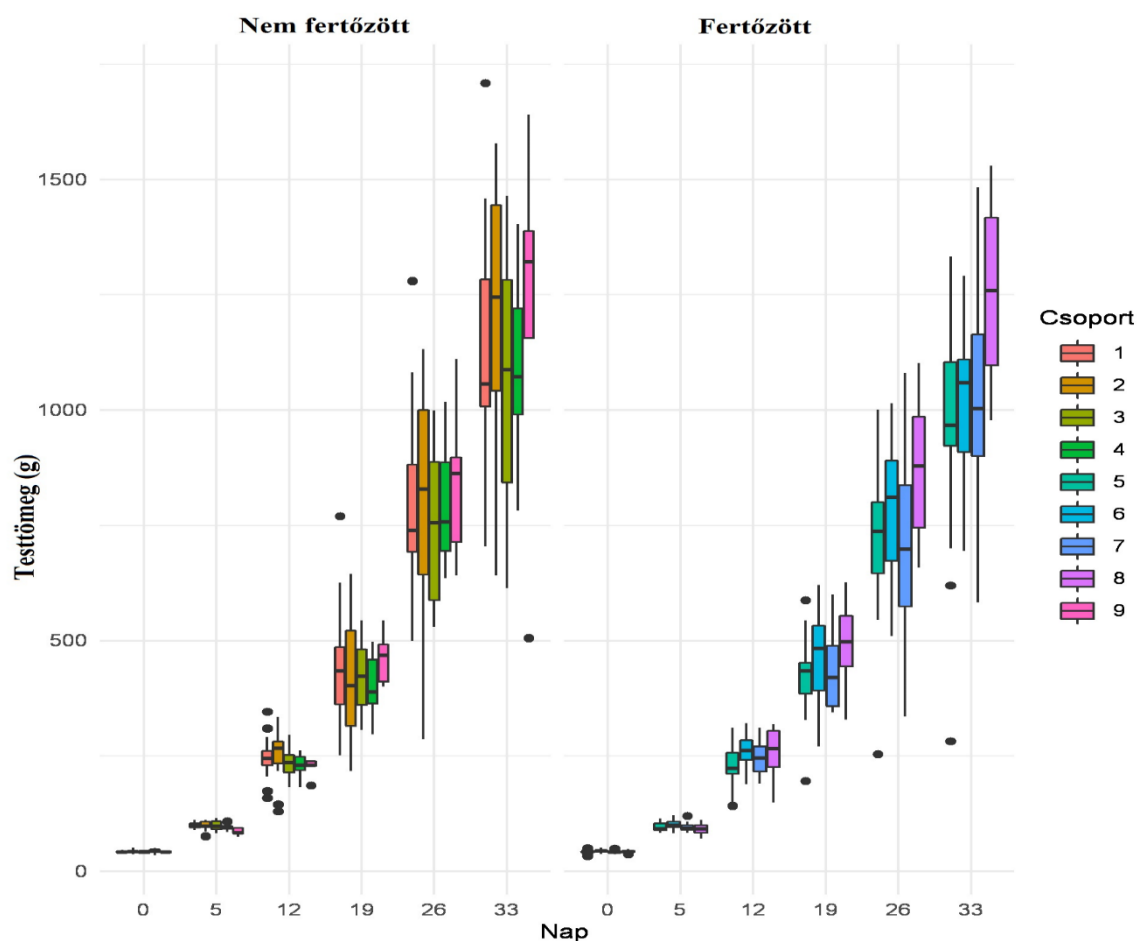
p-érték: *** 0; ** $<0,001$; * $<0,01$

9. ábra Az egyes csoportok villushossza (μm) és kript mélysége (μm), valamint ezek aránya az egyes csoportok függvényében a *jejunum* és *ileum* bélszakaszon, a pozitív (szalmonellával fertőzött) és negatív (semmit nem kapott) csoportokhoz. Az 1. és 5. csoport 1x, a 2. és 6. csoport a 3x, a 3. és 7. csoport az 5x propoliszt dózist kapott, a 4. csoport vizes kivonatot kapott, az 1-4. csoportok szalmonellával is fertőzve voltak.

5.8. Statisztikai elemzés

A takarmányfogyasztás esetén mivel egyedi mérés nem történt, csak csoportos és párhuzamos méréseket sem végeztünk, statisztikai összehasonlításra nem volt lehetőség.

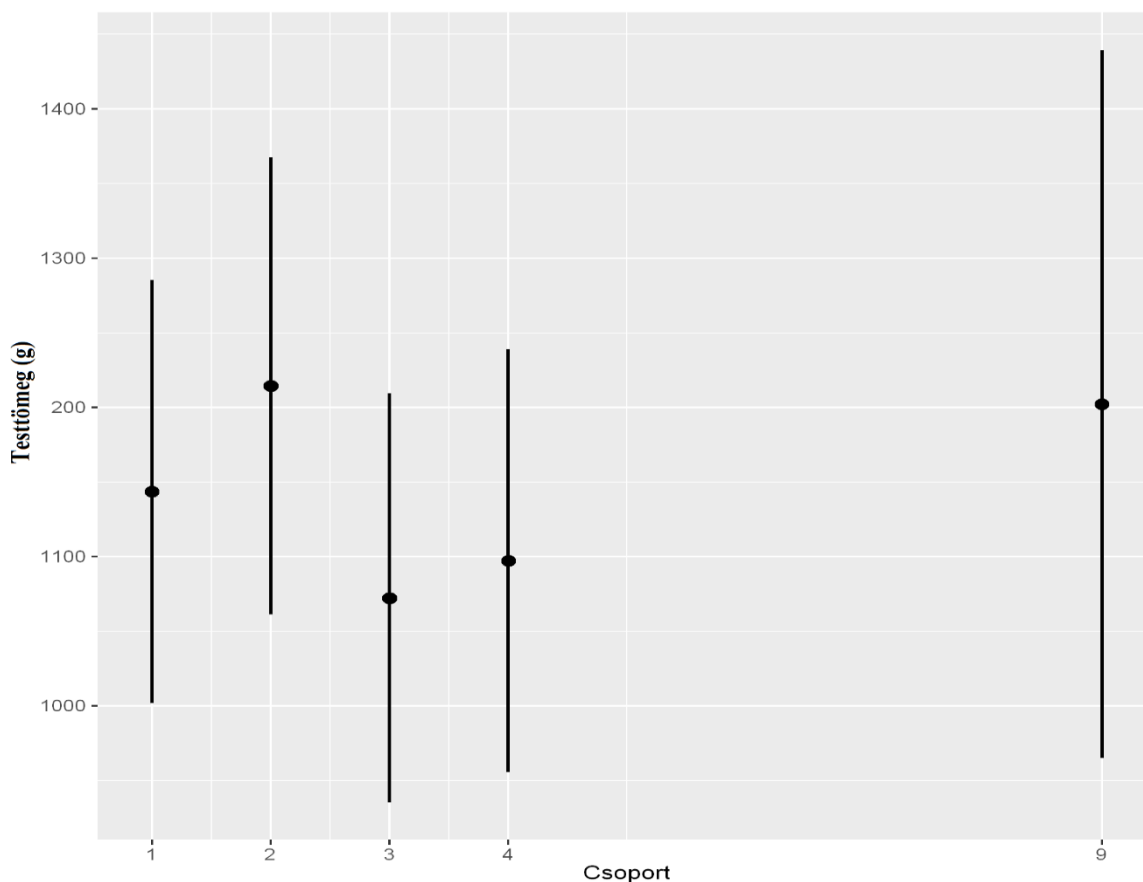
A **10. ábrán** látható az egyes csoportok súlygyarapodásának változása az idő függvényében, lineáris kevert modellt alkalmazva. Mivel a súlygyarapodás nem érte el az inflexiós pontot a vizsgálat ideje alatt, így nehezen becsülhető, ami egy nem teljesen lineáris modellt eredményez. A becslés hatékonyságának javítása érdekében tovább kell vizsgálni az állatokat, valamint nagyobb mintaelemszám szükséges. A doboz ábrán (boxplot) széles interkvartilis terjedelem látszódik, nagy maximum és minimum értékekkel, néhány kiugró értékkel.



10. ábra Az egyes csoportok súlygyarapodásának grafikus ábrázolása lineáris kevert modell segítségével, boxplot ábrán

A **11. ábrán** 95%-os konfidencia intervallum mellett, 5%-os elsőfajú hibával Tukey-teszt segítségével hasonlítottuk össze a szalmonellával és propolisisszal kezelt csoportokat (1-4.) a kizárólag szalmonellával kezelt pozitív kontroll (9.) csoporttal a súlygyarapodás

függvényében. Az **5. táblázatban** láthatók az egymással összehasonlított csoportok különbségei, az alsó szél és a felső szél, valamint a p-érték. Egyik csoport között sem figyelhetünk meg szignifikáns különbséget ($p > 0,05$).



11. ábra Az egyes csoportok súlygyarapodásának összehasonlítása a szalmonellával fertőzött csoportok (1-4.) és a negatív kontroll csoport (9.) között, Tukey-teszt segítségével

5. táblázat A szalmonellával fertőzött csoportok összehasonlítása során kapott eredmények, alsó szél, felső szél és p-értékek

Salmonella fertőzött csoportok				
Csoport	95%-os konfidencia intervallum			
	különbség (g)	alsó széle (lwr)	felső széle (upr)	p-érték
1-9	-58,5571	-447,4169	330,3026	0,9930
2-9	12,2167	-385,0792	409,5126	0,9999
3-9	-129,9333	-515,3670	255,5003	0,8755
4-9	-104,8427	-493,7026	284,0169	0,9408
2-1	70,7738	-222,8541	364,4017	0,9000
3-1	-71,3762	-348,7431	205,9907	0,9496
4-1	-46,2857	-328,3942	235,8228	0,9903
3-2	-142,1500	-431,2252	146,9252	0,6385
4-2	-117,0595	-410,6874	176,5683	0,7930
4-3	25,0905	-252,2764	302,4573	0,9990

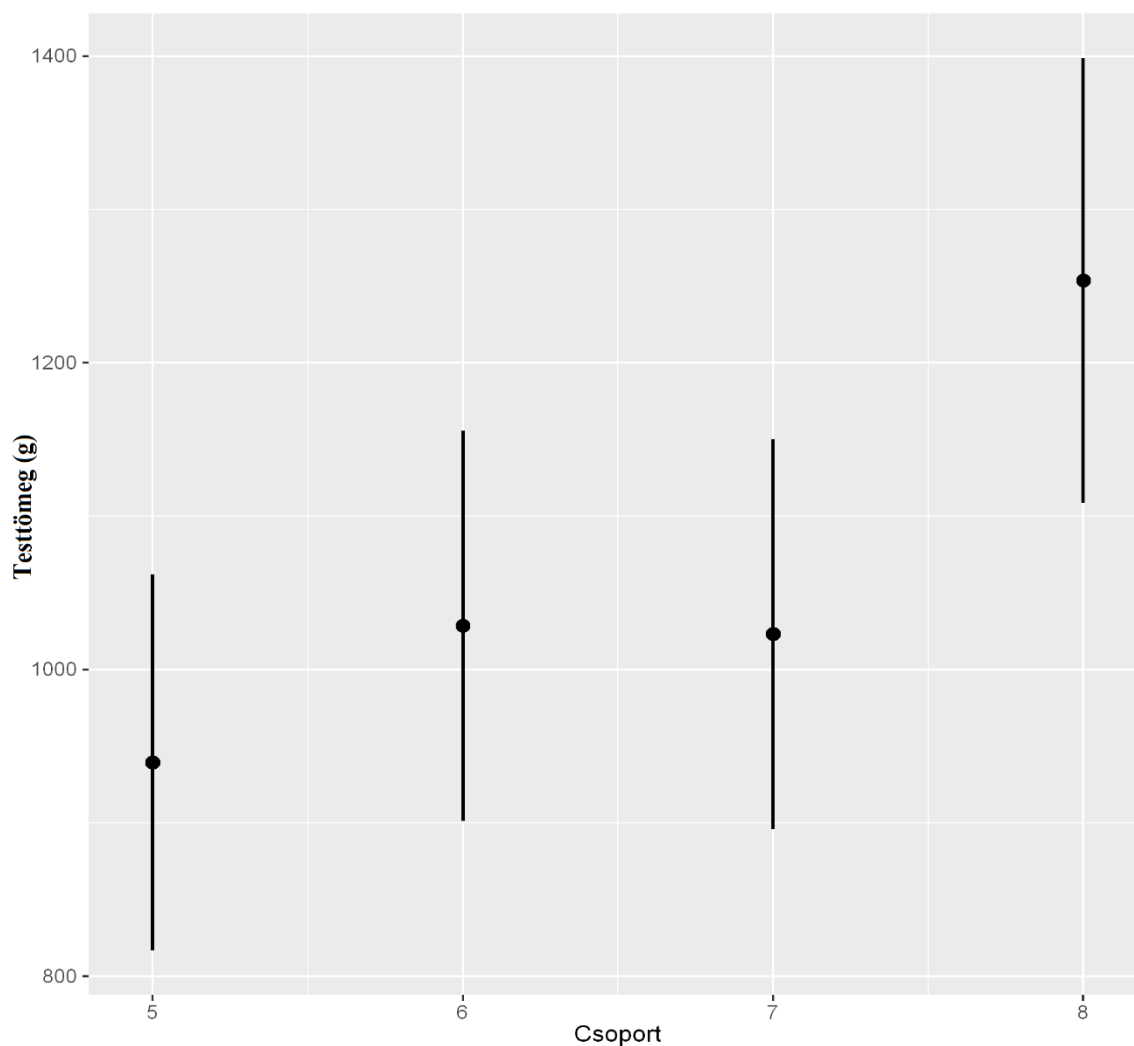
A **6. táblázatban** látható a szalmonellával nem kezelt, különböző propolisz koncentrációval etetett csoportok (5-7.) és a negatív kontroll (8. csoport) összehasonlítását a súlygyarapodás tükrében, Tukey-teszt segítségével. Jól látható, hogy a kontroll csoporthoz képest csak egy esetben volt kimutatható szignifikáns különbség, a propolisz 1x dózisában etetett csoport esetén ($p=0,0089$).

6. táblázat A nem fertőzött csoportok összehasonlítása során kapott eredmények, alsó szél, felső szél és p-értékek

Nem fertőzött csoportok				
Csoport	95%-os konfidenciavallum			
	Különbség (g)	alsó széle (lwr)	felső széle (upr)	p-érték
6-5	89,1868	-144,6615	323,0351	0,7406
7-5	83,8022	-150,0461	317,6505	0,7752
8-5	314,1714	62,7921	565,5508	0,0089
7-6	-5,3846	-243,5241	232,7548	0,9999
8-6	224,9846	-30,3915	480,3607	0,1019
8-7	230,3692	-25,0069	485,7453	0,0904

 Szignifikáns különbség ($p<0,05$)

A **12. ábrán** 95%-os konfidencia intervallum mellett, 5%-os elsőfajú hibával Tukey-teszt segítségével hasonlítottuk össze a propoliszsal kezelt csoportokat (5-7.) a nem kezelt kontroll (8.) csoporttal a súlygyarapodás függvényében. Jól látható, hogy egyetlen esetben nincs átfedés két csoport között (5-ös és 8-as csoport), azonban a 6-os és 7-es csoportok átfedése sem számottevő a kontroll csoporttal. Feltételezhető, hogy nagyobb állatlétszámmal végzett vizsgálat esetén ezek esetén is szignifikáns különbséget tudnánk kimutatni.



12. ábra Az egyes csoportok súlygyarapodásának összehasonlítása a nem fertőzött, de kezelt csoportok (5-7.) és a negatív kontroll csoport (8.) között, Tukey-teszt segítségével

7. táblázat Az egyes bélszakaszon mért villushossz, kriptamélység, az ezekből számított arány pozitív és negatív kontroll csoportokkal való összehasonlítása Tukey teszt segítségével

Csoport	1	2	3	4	9	5	6	7	8
Jejunum, p-érték									
Villushossz (µm)	<0,001	<0,001	0,2839	1,0000	+	0,4764	0,5247	0,0254	-
Kripta mélység (µm)	0,8027	1,0000	0,2593	1,0000		0,9998	0,9831	<0,01	
Arányuk	0,7895	0,3144	0,9966	0,9983		0,9996	0,9999	<0,001	
Ileum, p-érték									
Villushossz (µm)	0,7903	<0,001	1,0000	0,9650	+	0,8144	0,9990	1,0000	-
Kripta mélység (µm)	0,6600	1,0000	0,1471	0,6398		0,8282	0,2009	0,9572	
Arányuk	1,0000	0,2196	0,1333	0,9918		0,1321	0,1609	0,9996	

Pozitív irányban szignifikáns különbség kriptamélységben (**7. táblázat**) a nem fertőzött csoportok 5x dózissal etetett 7. csoportja és a negatív kontroll között volt ($p < 0,01$).

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A beszárított propolisz kivonat 1x, 3x, 5x dózisának brojlersirkékkel történő etetése során nem találtunk szignifikáns különbséget ($p>0,05$), szakmailag azonban releváns mértékben meghaladta a kezelt és szalmonellával fertőzött csoportok súlygyarapodása a kontrollét az első 2 hétben, a nem fertőzött csoportok esetén ez csak az 1. hétben volt látható. A vizes kivonat esetén szignifikáns különbséget nem találtunk ($p>0,05$), az első 2 hétben itt is jobb volt a súlygyarapodás a kontrollhoz képest. Gheisari és mtsai. arra a megállapításra jutottak, hogy a propolisz etetése nem eredményez szignifikáns különbséget a kontrollhoz képest, de a súlygyarapodás javulása szakmailag releváns volt [79]. Shalmany és mtsai. kutatásában a propolisz 50 mg/kg bekeverése nem mutatott szignifikáns különbséget, a 250 mg/kg azonban jelentősen növelte a súlygyarapodást [119], Roodsari és mtsai. [120], valamint Zeng és mtsai. is hasonló eredményeket tapasztaltak [121].

A takarmányfogyasztás a propolisz esetén a 12. napig jelentős mértékben kisebb volt a kontrollhoz képest, ezt párhuzamba állítva a súlygyarapodással azt tapasztaltuk, hogy a kontrollhoz képest kisebb takarmányfelvétellel sokkal jobb súlygyarapodással párosult az összes kezelt csoportban. Mindegyik csoportnál a 12-24. nap között a kontrolléval közel azonos mértékűre csökkent a különbség, majd a kísérlet végéig a takarmányfogyasztás ismét jobb lett, azonban súlygyarapodásban már csak a 3x dózis haladta meg a kontroll csoportét. A takarmányfogyasztás a teljes vizsgálati időszaknak (33 nap) az 1x dózis esetén 86%-ában, a 3x és 5x dózisok esetén a 91%-ában volt jobb a kontroll csoportéhoz képest, a vizes kivonat esetén ez 80%-ában volt jobb a kontroll csoportéhoz képest. Shalmany és mtsai. szignifikáns különbséget a propolisz 200 mg/kg és 250 mg/kg dózisai esetén mutattak ki a kontroll csoportéhoz képest [119]. Kleczek és mtsai. szignifikáns különbséget a súlygyarapodásban kizárólag a kakasok esetén, a 3. élethétől tapasztaltak, a súlygyarapodás és a takarmányhasznosítás között nem volt összefüggés [78]. Attia és mtsai. szerint a propolisz időszakos etetése jelentősen növelte a súlygyarapodást és a takarmányfelvételt [80].

A szalmonellafertőzés és propoliszos kezelések esetén nem volt szignifikáns különbség a súlygyarapodásban és a takarmányhasznosításban a kontroll csoportéhoz képest. A szalmonellafertőzést követően a propolisszal etetett csoportokhoz képest (7%) a pozitív kontrollból jóval több (27%) *Salmonella*-t izoláltunk. Pochop és mtsai. kutatásukban a propoliszt 150 mg/kg, 450 mg/kg, 600 mg/kg valamint 800 mg/kg dózisban etetve a kontroll csoport minden egyes egyedéből sikeresen izolált *Salmonella*-t, míg a kezelt csoportokban alacsonyabb volt a *Salmonella* incidencia, a 150 mg/kg dózisonál egy (5%), 600 mg/kg

dózisnál két (10%) és 800 mg/kg dózisnál két (10%) minta negatív volt *Salmonella* fajokra nézve [115]. Ezzel szemben Babinska és mtsai. a propolisz és virágpor hatékonyságát vizsgálták. 2-3 héten át etetve 250 mg propoliszt és 5 g virágport takarmány kilogrammonként tápba keverve nem találtak szignifikáns hatást fertőzés esetén a kontroll csoporthoz képest [64]. Seven és mtsai. a propolisz különböző koncentrációit etetve szignifikáns különbséget mutattak ki mind a súlygyarapodásban és takarmányfelvételben a kontroll csoporthoz képest, hőstressznek kitett brojlersirkék esetén [81].

Meghatároztuk a *S. Enteritidis* törzs MIC értékét a beszárított propolisz kivonatra. Az *in vitro* vizsgálat során 128 µg/ml koncentrációt állapítottunk meg. Szerbiai propolisz esetén 5%-os oldat (kb. 10 000 µg/ml) volt hatékony [122], egy szlovén vizsgálat során 1200-1400 µg/ml koncentrációt [123], chilei propolisz esetén 62,5-1000 µg/ml közötti értékeket [124], bolíviai propolisz esetén 125-1000 µg/ml koncentráció közötti hatékonyságot állapítottak meg. Fenolban gazdag propolisz kivonat esetén 125 µg/ml, triterpénekben gazdag propolisz mintáknál 250-1000 µg/ml hatékonyságot mutattak ki [125].

A kórszövettan során *jejunumban* a szalmonellával fertőzött csoportok közül a pozitív kontroll csoporthoz képest az 1. csoport (1x dózis, $p < 0,001$) és 2. csoport (3x dózis, $p < 0,001$) esetén figyelhető meg a villushosszban szignifikáns különbség. Az *ileum* szakaszán csak a 2. csoportnál (3x dózis, $p < 0,001$) volt szignifikáns különbség. A nem fertőzött csoportok közül a 7. csoport villushossza (5x dózis, $p = 0,0254$) és a villushossz-kriptamélység arány ($p < 0,001$) esetén volt szignifikáns különbség a negatív kontroll csoporthoz képest. A kriptamélység esetén szignifikáns különbséget mutattunk ki (5x dózis, $p < 0,01$) a 7. csoport és a negatív kontroll csoport között. Ivana és mtsai. vizsgálataik során brojlersirkékkel propolisz és virágpor keverékét etették takarmányba keverve. A *duodenum* villushossz szignifikánsan nagyobb volt ($p < 0,001$), a kripták mélysége szignifikánsan mélyebb volt ($p < 0,001$), mint a kontroll csoport, ezek aránya is jobb volt ($p < 0,001$) [126]. Fasina és mtsai. brojlersirkéket fertőztek *Salmonella* Typhimurium-mal, 3 napos ($7,4 \times 10^7$ CFU-val) és 4 napos ($7,8 \times 10^6$ CFU) korban. A *jejunum* villushossza, kriptamélysége, ezek aránya a 7. és 10. napon szignifikánsan rosszabb ($p < 0,05$) volt a kontroll csoporthoz képest [127].

Összességében elmondhatjuk, hogy a propolisz különböző dózisainak etetése biztonságos és pozitív hatással volt a súlygyarapodásra, a kontroll csoporthoz képest. A kórszövettan során egyedül a *jejunumban* mért kriptamélység mutatott szignifikánsan jobb eredményt a propolisz 5x dózisában (7. csoport) a negatív kontrollhoz képest. A jövőben mindenképpen érdemes a teljes felnevelés időszaka alatt, nagyobb állatlétszámmal további vizsgálatokat végezni, valamint vizsgálni a propolisz farmakokinetikai tulajdonságait.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az egyre terjedő AMR következtében az évszázad közepére a jelenlegi tendenciák hatására, akár 10 millióra is nőhet az ezzel összefüggésbe hozható halálozások éves száma, ezért a bakteriális megbetegedések kezelésére alternatív megoldásokra van szükség az antibiotikumok helyett. Az antibiotikum alternatívák közé tartozik a propolisz, melynek igazolt immunmoduláns és baktériumtól függően bakteriosztatikus vagy baktericid hatása van. A leggyakoribb élelmiszer eredetű patogénként ismert *Salmonella enterica* általában tojással, valamint szennyezett vagy nem megfelelően hőkezelt baromfihússal terjed. Humán- és állategészségügyi szempontból számos, a propolisz *in vitro* hatékonyságát meghatározó kutatás látott napvilágot, azonban az *in vivo* hatékonysága ez idáig kevésbé kutatott terület.

Vizsgálataink során alkoholos kivonást követően beszárított propolisz 1x, 3x és 5x dózisát takarmányba keverve, valamint vizes kivonatát ivóvízzel adagoltuk. A felnevelés ideje alatt egyedileg mértük a napi súlygyarapodást és csoportosan a takarmányfogyasztást. Ezen kívül *S. enterica* törzssel fertőztük a kezelt csoportokat.

Kimutattuk, hogy bár a kontroll és a kezelt csoportok között nem volt szignifikáns eltérés a súlygyarapodásban, szakmailag azonban releváns mértékben meghaladta az első két hétben a kezelt csoportok súlygyarapodása a kontroll csoportét. A 12. életnapig a kontroll csoporthoz képest sokkal kevesebb takarmányt fogyasztottak az egyes beszárított propolisz kivonattal kezelt csoportok, súlygyarapodásuk pedig meghaladta a kontroll csoportét. Ez a tendencia a 24. napig csökkent, majd ismét javultak a mutatók. A vizes kivonattal itatott csoport takarmányértékesítése a vizsgálat idejének túlnyomó részében jobb volt, mint a kontroll csoporté. A propolisz etetése nem eredményezte a szalmonella ürítés korábbi megszűnését, azonban csökkentette a fertőzés klinikai tüneteinek megjelenési valószínűségét. A fertőzött csoportok esetén a szalmonella ürítése a beszárított propolisz kivonat 1x dóziséval etetett csoport esetén a 3. napig, a 3x dózissal a 6. napig, az 5x dózissal a 14. napig, a vizes kivonattal itatott csoportnál a 6. napig volt kimutatható, míg a pozitív kontrollnál csak a 3. napig.

Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a propolisz biztonsággal használható brojlercsirkék kiegészítő kezelésére, a felnevelési időszak bizonyos időszakában jelentősen javítja a gazdasági mutatókat. A jövőben érdemes több, nagyobb állatlétszámú vizsgálatot végezni a hatékonyság vizsgálatára, valamint a propolisz farmakokinetikai tulajdonságainak feltérképezésére.

8. SUMMARY

The growing antimicrobial resistance could lead to up to 10 million deaths per year by mid-century on current trends, and so alternatives to antibiotics are needed to treat bacterial diseases. Antibiotic alternatives include propolis, which has a proven immunomodulatory and bacteriostatic or bactericidal effect, depending on the bacterium. *S. enterica*, known as the most common foodborne pathogen, is usually transmitted by eggs and contaminated or inadequately heat-treated poultry meat. From a human and animal health perspective, there is a large body of research defining its *in vitro* efficacy, but the *in vivo* efficacy of propolis is a less researched area.

In our studies, doses of propolis dried after alcoholic extraction were administered 1x, 3x and 5x in feed and aqueous extract in drinking water. During rearing, daily weight gain was measured individually and feed consumption was measured in groups. In addition, *S. enterica* strains were infected in the treated groups.

It was shown that although there was no significant difference in weight gain between control and treated groups, the weight gain of the treated groups was professionally relevantly higher than that of the control group during the first two weeks. Until day 12 of life, the groups treated with each dried propolis extract consumed much less feed than the control group and their weight gain exceeded that of the control group. This trend decreased until day 24, when the indicators improved again. The feed conversion of the aqueous extract group was better than that of the control group for most of the study period. The feeding of propolis did not result in an earlier cessation of *Salmonella* shedding but did reduce the likelihood of clinical signs of infection. In the infected groups, *Salmonella* shedding was detectable by day 3 for the group fed 1x dose of dried propolis extract, day 6 for the 3x dose, day 14 for the 5x dose, and day 6 for the group fed the aqueous extract, whereas in the positive control it was detectable only by day 3.

Based on our results, we can conclude that propolis can be safely used as a supplementary treatment for broiler chickens, significantly improving economic indicators during certain periods of the rearing period. In the future, it is worthwhile to conduct more studies with larger numbers of animals to investigate the efficacy and pharmacokinetic properties of propolis.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Crofts TS, Gasparini AJ, Dantas G (2017) Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistome. *Nat Rev Microbiol* 15:422–434. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.28>
2. Cândido E de S, de Barros E, Cardoso MH, Franco OL (2019) Bacterial cross-resistance to anti-infective compounds. Is it a real problem? *Curr Opin Pharmacol* 48:76–81. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2019.05.004>
3. Giedraitienė A, Vitkauskienė A, Naginienė R, Pavilonis A (2011) Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina (Kaunas)* 47:137–146
4. Herencias C, Rodríguez-Beltrán J, León-Sampedro R, Alonso-Del Valle A, Palkovičová J, Cantón R, San Millán Á (2021) Collateral sensitivity associated with antibiotic resistance plasmids. *Elife* 10:e65130. <https://doi.org/10.7554/eLife.65130>
5. O'Neill J (2016) Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. Government of the United Kingdom
6. National Nosocomial Infections Surveillance System (2004) National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 32:470–485. <https://doi.org/10.1016/S0196655304005425>
7. Chattopadhyay MK (2014) Use of antibiotics as feed additives: a burning question. *Frontiers in Microbiology* 5:
8. Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F (2003) Antimicrobial Growth Promoters Used in Animal Feed: Effects of Less Well Known Antibiotics on Gram-Positive Bacteria. *Clin Microbiol Rev* 16:175–188. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.175-188.2003>
9. Chemineau P, Guillaume D, Migaud M, Thiéry JC, Pellicer-Rubio MT, Malpoux B (2008) Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reprod Domest Anim* 43 Suppl 2:40–47. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01141.x>
10. Alliance EPH Report I Ending routine farm antibiotic use in Europe through improving animal health and welfare - EPHA. In: <https://epha.org/>. <https://epha.org/ending-routine-farm-antibiotic-use/>. Accessed 24 Sep 2022
11. Harbarth S, Balkhy HH, Goossens H, Jarlier V, Kluytmans J, Laxminarayan R, Saam M, Van Belkum A, Pittet D (2015) Antimicrobial resistance: one world, one fight! *Antimicrob Resist Infect Control* 4:49. <https://doi.org/10.1186/s13756-015-0091-2>
12. World Health Organization. Regional Office for Europe (2011) Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. World Health Organization. Regional Office for Europe
13. (2015) ECDC/EFSA/EMA first joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals. In: European Centre for Disease Prevention and Control. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ecdcfsaema-first-joint-report-integrated-analysis-consumption-antimicrobial>. Accessed 31 Aug 2022
14. Price LB, Stegger M, Hasman H, Aziz M, Larsen J, Andersen PS, Pearson T, Waters AE, Foster JT, Schupp J, Gillece J, Driebe E, Liu CM, Springer B, Zdvoc I, Battisti A, Franco A, Zmudzki J, Schwarz S, Butaye P, Jouy E, Pomba C, Porrero MC, Ruimy R, Smith TC, Robinson DA, Weese JS, Arriola CS, Yu F, Laurent F, Keim P, Skov R, Aarestrup FM (2012) *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. *mBio* 3:e00305-11. <https://doi.org/10.1128/mBio.00305-11>
15. Zinner SH (2007) Antibiotic use: present and future. *New Microbiol* 30:321–325
16. Xu Q, Hu X, Wang Y (2021) Alternatives to Conventional Antibiotic Therapy: Potential Therapeutic Strategies of Combating Antimicrobial-Resistance and Biofilm-Related Infections. *Mol Biotechnol* 63:1103–1124. <https://doi.org/10.1007/s12033-021-00371-2>
17. Czaplewski L, Bax R, Clokie M, Dawson M, Fairhead H, Fischetti VA, Foster S, Gilmore BF, Hancock REW, Harper D, Henderson IR, Hilpert K, Jones BV, Kadioglu A, Knowles D, Ólafsdóttir S, Payne D, Projan S, Shaunak S, Silverman J, Thomas CM, Trust TJ, Warn P, Rex JH (2016) Alternatives to antibiotics—a pipeline portfolio review. *The Lancet Infectious Diseases* 16:239–251. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00466-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00466-1)
18. Speziale P, Rindi S, Pietrocola G (2018) Antibody-Based Agents in the Management of Antibiotic-Resistant *Staphylococcus aureus* Diseases. *Microorganisms* 6:25. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6010025>
19. Hampton LM, Farley MM, Schaffner W, Thomas A, Reingold A, Harrison LH, Lynfield R, Bennett NM, Petit S, Gershman K, Baumbach J, Beall B, Jorgensen J, Glennen A, Zell ER, Moore M (2012) Prevention of Antibiotic-Nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* With Conjugate Vaccines. *The Journal of Infectious Diseases* 205:401–411. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir755>

20. Fuller R (1989) Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 66:365–378
21. Goldenberg JZ, Yap C, Lytvyn L, Lo CK-F, Beardsley J, Mertz D, Johnston BC (2017) Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006095.pub4>
22. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ, Berenjian A, Ghasemi Y (2019) Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods* 8:92. <https://doi.org/10.3390/foods8030092>
23. Pandey KavitaR, Naik SureshR, Vakil BabuV (2015) Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J Food Sci Technol* 52:7577–7587. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>
24. Ford AC, Harris LA, Lacy BE, Quigley EMM, Moayyedi P (2018) Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 48:1044–1060. <https://doi.org/10.1111/apt.15001>
25. Borysowski J, Łobocka M, Międzybrodzki R, Weber-Dąbrowska B, Górski A (2011) Potential of Bacteriophages and Their Lysins in the Treatment of MRSA. *BioDrugs* 25:347–355. <https://doi.org/10.2165/11595610-000000000-00000>
26. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG (2001) Bacteriophage Therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 45:649–659. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.3.649-659.2001>
27. Lei J, Sun L, Huang S, Zhu C, Li P, He J, Mackey V, Coy DH, He Q (2019) The antimicrobial peptides and their potential clinical applications. *Am J Transl Res* 11:3919–3931
28. Veloz JJ, Alvear M, Salazar LA (2019) Antimicrobial and Antibiofilm Activity against *Streptococcus* mutans of Individual and Mixtures of the Main Polyphenolic Compounds Found in Chilean Propolis. *Biomed Res Int* 2019:7602343. <https://doi.org/10.1155/2019/7602343>
29. de la Fuente-Núñez C, Reffuveille F, Fernández L, Hancock RE (2013) Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies. *Current Opinion in Microbiology* 16:580–589. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.06.013>
30. Bhattacharya S (2011) Are we in the polyphenols era? *Pharmacognosy Res* 3:147. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.81966>
31. Xiao J, Kai G (2012) A review of dietary polyphenol-plasma protein interactions: characterization, influence on the bioactivity, and structure-affinity relationship. *Crit Rev Food Sci Nutr* 52:85–101. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.499017>
32. Cushnie TPT, Lamb AJ (2011) Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 38:99–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
33. Sudano Roccaro A, Blanco AR, Giuliano F, Rusciano D, Enea V (2004) Epigallocatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrob Agents Chemother* 48:1968–1973. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.6.1968-1973.2004>
34. Howell AB, Reed JD, Krueger CG, Winterbottom R, Cunningham DG, Leahy M (2005) A-type cranberry proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. *Phytochemistry* 66:2281–2291. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.05.022>
35. Labrecque J, Bodet C, Chandad F, Grenier D (2006) Effects of a high-molecular-weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of *Porphyromonas gingivalis*. *J Antimicrob Chemother* 58:439–443. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl220>
36. Duarte S, Gregoire S, Singh AP, Vorsa N, Schaich K, Bowen WH, Koo H (2006) Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus* mutans biofilms. *FEMS Microbiol Lett* 257:50–56. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00147.x>
37. Bodet C, Piché M, Chandad F, Grenier D (2006) Inhibition of periodontopathogen-derived proteolytic enzymes by a high-molecular-weight fraction isolated from cranberry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57:685–690. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl031>
38. Silva-Carvalho R, Baltazar F, Almeida-Aguiar C (2015) Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities That Can Be Explored for Drug Development. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015:206439. <https://doi.org/10.1155/2015/206439>
39. Zabaoui N, Fouache A, Trousson A, Baron S, Zellagui A, Lahouel M, Lobaccaro J-MA (2017) Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chem Phys Lipids* 207:214–222. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2017.04.005>
40. Santos LM, Fonseca MS, Sokolonski AR, Deegan KR, Araújo RP, Umsza-Guez MA, Barbosa JD, Portela RD, Machado BA (2020) Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. *J Sci Food Agric* 100:1369–1382. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10024>
41. Farnesi AP, Aquino-Ferreira R, De Jong D, Bastos JK, Soares AEE (2009) Effects of stingless bee and honey bee propolis on four species of bacteria. *Genet Mol Res* 8:635–640. <https://doi.org/10.4238/vol8-2kerr023>

42. Bastos EMAF, Simone M, Jorge DM, Soares AEE, Spivak M (2008) In vitro study of the antimicrobial activity of Brazilian propolis against *Paenibacillus* larvae. *J Invertebr Pathol* 97:273–281. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.10.007>
43. Przybyłek I, Karpiński TM (2019) Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules* 24:. <https://doi.org/10.3390/molecules24112047>
44. AL-Waili N, Al-Ghamdi A, Ansari MJ, Al-Attal Y, Salom K (2012) Synergistic Effects of Honey and Propolis toward Drug Multi-Resistant *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* and *Candida Albicans* Isolates in Single and Polymicrobial Cultures. *Int J Med Sci* 9:793–800. <https://doi.org/10.7150/ijms.4722>
45. da Cunha MG, Franchin M, Galvão L, de Ruiz A, de Carvalho JE, Ikegaki M, de Alencar SM, Koo H, Rosalen PL (2013) Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geopropolis. *BMC Complement Altern Med* 13:23. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-23>
46. Santos TLAD, Queiroz RF, Sawaya ACHF, Lopez BG-C, Soares MBP, Bezerra DP, Rodrigues ACBC, Paula VFD, Waldschmidt AM (2017) *Melipona mondury* produces a geopropolis with antioxidant, antibacterial and antiproliferative activities. *An Acad Bras Cienc* 89:2247–2259. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160725>
47. Torres AR, Sandjo LP, Friedemann MT, Tomazzoli MM, Maraschin M, Mello CF, Santos ARS (2018) Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. *Braz J Med Biol Res* 51:e7118. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20187118>
48. Bankova V, Popova M, Trusheva B (2014) Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chemistry Central Journal* 8:28. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-28>
49. Silva JC, Rodrigues S, Feás X, Estevinho LM (2012) Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. *Food and Chemical Toxicology* 50:1790–1795. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.097>
50. Bankova VS, de Castro SL, Marcucci MC (2000) Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31:3–15. <https://doi.org/10.1051/apido:2000102>
51. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S (1999) Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol* 64:235–240. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00131-7](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00131-7)
52. Kacaniova M, Rovna K, Arpasova H, Cubon J, Hleba L, Pochop J, Kunova S, Hascik P (2012) In vitro and In vivo antimicrobial activity of propolis on the microbiota from gastrointestinal tract of chickens. *J Environ Sci Health Part A-Toxic/Hazard Subst Environ Eng* 47:1665–1671. <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.687248>
53. Kacaniova M, Vukovic N, Chlebo R, Hascik P, Rovna K, Cubon J, Dzugan M, Pasternakiewicz A (2012) The Antimicrobial Activity of Honey, Bee Pollen Loads and Beeswax from Slovakia. *Arch Biol Sci* 64:927–934. <https://doi.org/10.2298/ABS1203927K>
54. Ebiloma GU, Ichoron N, Siheri W, Watson DG, Igoli JO, De Koning HP (2020) The Strong Anti-Kinetoplastid Properties of Bee Propolis: Composition and Identification of the Active Agents and Their Biochemical Targets. *Molecules* 25:5155. <https://doi.org/10.3390/molecules25215155>
55. Antiparasitic Properties of Propolis Extracts and Their Compounds - L. Paula - 2021 - Chemistry & Biodiversity - Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.202100310>. Accessed 27 Aug 2022
56. Nina N, Lima B, Feresin G e., Giménez A, Salamanca Capusiri E, Schmeda-Hirschmann G (2016) Antibacterial and leishmanicidal activity of Bolivian propolis. *Letters in Applied Microbiology* 62:290–296. <https://doi.org/10.1111/lam.12543>
57. Silva-Carvalho R, Miranda-Goncalves V, Ferreira AM, Cardoso SM, Sobral AJFN, Almeida-Aguiar C, Baltazar F (2014) Antitumoural and antiangiogenic activity of Portuguese propolis in in vitro and in vivo models. *J Funct Food* 11:160–171. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.09.009>
58. Sá-Nunes A, Faccioli LH, Sforcin JM (2003) Propolis: lymphocyte proliferation and IFN-gamma production. *J Ethnopharmacol* 87:93–97. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(03\)00121-1](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(03)00121-1)
59. Paulino N, Teixeira C, Martins R, Scremin A, Dirsch VM, Vollmar AM, Abreu SR, de Castro SL, Marcucci MC (2006) Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of a Brazilian green propolis. *Planta Med* 72:899–906. <https://doi.org/10.1055/s-2006-947185>
60. Kong X-F, Hu Y-L, Yin Y-L, Wu G-Y, Rui R, Wang D-Y, Yang C-B (2006) Chinese herbal ingredients are effective immune stimulators for chickens infected with the Newcastle disease virus. *Poult Sci* 85:2169–2175. <https://doi.org/10.1093/ps/85.12.2169>
61. AL-Kahtani SN, Alaqil AA, Abbas AO (2022) Modulation of Antioxidant Defense, Immune Response, and Growth Performance by Inclusion of Propolis and Bee Pollen into Broiler Diets. *Animals* 12:1658. <https://doi.org/10.3390/ani12131658>

62. Eying C, Murakami AE, Santos TC, Silveira TGV, Pedrosa RB, Lourenco D a. L (2015) Immune Responses in Broiler Chicks Fed Propolis Extraction Residue-supplemented Diets. *Asian Australas J Anim Sci* 28:135–142. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0066>
63. Seven I, Gul Baykalir B, Tatli Seven P, Dagoglu G (2014) The Ameliorative Effects of Propolis against Cyclosporine A Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 20:641–648. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2013.10643>
64. Babinska I, Kleczek K, Makowski W, Szarek J (2013) Effect of Feed Supplementation with Propolis on Liver and Kidney Morphology in Broiler Chickens. *Pak Vet J* 33:1–4
65. Sforcin JM, Bankova V (2011) Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology* 133:253–260. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.032>
66. Sforcin JM (2016) Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phytotherapy Research* 30:894–905. <https://doi.org/10.1002/ptr.5605>
67. Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC (1997) Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol Res* 152:239–246. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(97\)80034-1](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(97)80034-1)
68. Sforcin JM, Fernandes A, Lopes CA, Bankova V, Funari SR (2000) Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J Ethnopharmacol* 73:243–249. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00320-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00320-2)
69. Veiga R s., De Mendonça S, Mendes P b., Paulino N, Mimica M j., Lagareiro Netto A a., Lira I s., López B g.-C, Negrão V, Marcucci M c. (2017) Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. *Journal of Applied Microbiology* 122:911–920. <https://doi.org/10.1111/jam.13400>
70. Yoshimasu Y, Ikeda T, Sakai N, Yagi A, Hirayama S, Morinaga Y, Furukawa S, Nakao R (2018) Rapid Bactericidal Action of Propolis against *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res* 97:928–936. <https://doi.org/10.1177/0022034518758034>
71. Eumkeb G, Chukrathok S (2013) Synergistic activity and mechanism of action of ceftazidime and apigenin combination against ceftazidime-resistant *Enterobacter cloacae*. *Phytomedicine* 20:262–269. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.10.008>
72. Akilandeswari K, Ruckmani K (2016) Synergistic antibacterial effect of apigenin with β -lactam antibiotics and modulation of bacterial resistance by a possible membrane effect against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 62:74–82. <https://doi.org/10.14715/cmb/2016.62.14.13>
73. Yilmaz S, Sova M, Ergün S (2018) Antimicrobial activity of trans-cinnamic acid and commonly used antibiotics against important fish pathogens and nonpathogenic isolates. *J Appl Microbiol.* <https://doi.org/10.1111/jam.14097>
74. Bozó Aliz (2018) Antifungális szerek és a farneazol kombinációjának vizsgálata *Candida albicans* és *Candida parapsilosis* biofilmek ellen
75. Vasconcelos NG, Croda J, Simionatto S (2018) Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. *Microbial Pathogenesis* 120:198–203. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.04.036>
76. Guzman JD (2014) Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. *Molecules* 19:19292–19349. <https://doi.org/10.3390/molecules191219292>
77. Heleno SA, Ferreira ICFR, Esteves AP, Ćirić A, Glamočlija J, Martins A, Soković M, Queiroz MJRP (2013) Antimicrobial and demelanizing activity of *Ganoderma lucidum* extract, p-hydroxybenzoic and cinnamic acids and their synthetic acetylated glucuronide methyl esters. *Food and Chemical Toxicology* 58:95–100. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.04.025>
78. Kleczek K, Wilkiewicz-Wawro E, Wawro K, Makowski W, Murawska D, Załęska-Wawro M (2014) The effect of dietary propolis supplementation on the growth performance of broiler chickens. *Polish Journal of Natural Science* 29:105–117
79. Gheisari A, Shahrvand S, Landy N (2017) Effect of ethanolic extract of propolis as an alternative to antibiotics as a growth promoter on broiler performance, serum biochemistry, and immune responses. *Vet World* 10:249–254. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.249-254>
80. Attia YA, Al-Hamid AEA, Ibrahim MS, Al-Harthi MA, Bovera F, Elnaggar AS (2014) Productive performance, biochemical and hematological traits of broiler chickens supplemented with propolis, bee pollen, and mannan oligosaccharides continuously or intermittently. *Livest Sci* 164:87–95. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.03.005>
81. Seven PT, Seven I, Yilmaz M, Simsek UG (2008) The effects of Turkish propolis on growth and carcass characteristics in broilers under heat stress. *Anim Feed Sci Technol* 146:137–148. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.11.003>

82. Taheri H, Rahmani H, Pourreza J (2005) Effect of Dietary Oil Extract of Propolis on Immune Response and Broiler Performance. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 8:. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2005.1485.1490>
83. Daneshmand A, Sadeghi GH, Karimi A, Vaziry A, Ibrahim SA (2015) Evaluating complementary effects of ethanol extract of propolis with the probiotic on growth performance, immune response and serum metabolites in male broiler chickens. *Livest Sci* 178:195–201. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.04.012>
84. Chlebicz A, Ślizewska K (2018) Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. *Int J Environ Res Public Health* 15:E863. <https://doi.org/10.3390/ijerph15050863>
85. Le ML, Véron M, Popoff M (1982) [The taxonomy of Salmonella. *Ann Microbiol (Paris)* 133:223–243
86. Tindall BJ, Grimont PAD, Garrity GM, Euzéby JPY (2005) Nomenclature and taxonomy of the genus Salmonella. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55:521–524. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63580-0>
87. 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>
88. Putturu R, Eevuri T, Ch B, Nelapati K (2015) SALMONELLA ENTERITIDIS – FOOD BORNE PATHOGEN – A REVIEW. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 5:10
89. Agbaje M, Begum RH, Oyekunle MA, Ojo OE, Adenubi OT (2011) Evolution of Salmonella nomenclature: a critical note. *Folia Microbiol (Praha)* 56:497–503. <https://doi.org/10.1007/s12223-011-0075-4>
90. Andino A, Hanning I (2015) Salmonella enterica: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *ScientificWorldJournal* 2015:520179. <https://doi.org/10.1155/2015/520179>
91. 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>
92. Xiong D, Song L, Pan Z, Jiao X (2018) Identification and Discrimination of Salmonella enterica Serovar Gallinarum Biovars Pullorum and Gallinarum Based on a One-Step Multiplex PCR Assay. *Front Microbiol* 9:1718. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01718>
93. 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)
94. Hedberg CW, David MJ, White KE, MacDonald KL, Osterholm MT (1993) Role of egg consumption in sporadic Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium infections in Minnesota. *J Infect Dis* 167:107–111. <https://doi.org/10.1093/infdis/167.1.107>
95. EU summary report on zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2013 | EFSA. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3991>. Accessed 7 Sep 2022
96. Cuypers WL, Jacobs J, Wong V, Klemm EJ, Deborggraave S, Van Puyvelde S (2018) Fluoroquinolone resistance in Salmonella: insights by whole-genome sequencing. *Microb Genom* 4:e000195. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000195>
97. Liljebjelke KA, Hofacre CL, White DG, Ayers S, Lee MD, Maurer JJ (2017) Diversity of Antimicrobial Resistance Phenotypes in Salmonella Isolated from Commercial Poultry Farms. *Front Vet Sci* 4:96. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00096>
98. Mirza S, Kariuki S, Mamun KZ, Beeching NJ, Hart CA (2000) Analysis of Plasmid and Chromosomal DNA of Multidrug-Resistant Salmonella enterica Serovar Typhi from Asia. *J Clin Microbiol* 38:1449–1452
99. Iwamoto M, Reynolds J, Karp BE, Tate H, Fedorka-Cray PJ, Plumblee JR, Hoekstra RM, Whichard JM, Mahon BE (2017) Ceftriaxone-Resistant Nontyphoidal Salmonella from Humans, Retail Meats, and Food Animals in the United States, 1996–2013. *Foodborne Pathog Dis* 14:74–83. <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2180>
100. Elkenany RM, Eladl AH, El-Shafei RA (2018) Genetic characterisation of class 1 integrons among multidrug-resistant Salmonella serotypes in broiler chicken farms. *J Glob Antimicrob Resist* 14:202–208. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.04.009>
101. Gebreyes WA, Thakur S (2005) Multidrug-resistant Salmonella enterica serovar Muenchen from pigs and humans and potential interserovar transfer of antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 49:503–511. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.503-511.2005>
102. Giannella RA (1996) Salmonella. University of Texas Medical Branch at Galveston
103. Baird-Parker AC (1990) Foodborne salmonellosis. *The Lancet* 336:1231–1235. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)92844-8](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)92844-8)
104. 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>

105. Hung Y-T, Lay C-J, Wang C-L, Koo M (2017) Characteristics of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis in Taiwanese children: A 9-year period retrospective medical record review. *Journal of Infection and Public Health* 10:518–521. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.09.018>
106. de Jong HK, Parry CM, van der Poll T, Wiersinga WJ (2012) Host–Pathogen Interaction in Invasive Salmonellosis. *PLoS Pathog* 8:e1002933. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002933>
107. Barrow PA, Jones MA, Smith AL, Wigley P (2012) The long view: *Salmonella*--the last forty years. *Avian Pathol* 41:413–420. <https://doi.org/10.1080/03079457.2012.718071>
108. 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>
109. Hugas M, Beloeil P (2014) Controlling *Salmonella* along the food chain in the European Union - progress over the last ten years. *Euro Surveill* 19:20804. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.19.20804>
110. 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
111. Lenchenko E M, Lozovoy D A, Gavrilov V A, Gnezdilova L A, Vera N Zimina V N, Kuznetsov V L, Annikov V V, Medvedev I N, Petryaeva E V (2018) Aspects of Salmonellosis pathogenesis using chicken models. *Bali Medical Journal* 8:206. <https://doi.org/10.15562/bmj.v8i1.920>
112. Stepanović S, Antić N, Dakić I, Svabić-Vlahović M (2003) In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiol Res* 158:353–357. <https://doi.org/10.1078/0944-5013-00215>
113. Ugur A, Arslan T (2004) An in vitro study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. *J Med Food* 7:90–94. <https://doi.org/10.1089/109662004322984761>
114. Orsi RO, Fernandes A, Bankova V, Sforcin JM (2012) The effects of Brazilian and Bulgarian propolis in vitro against *Salmonella* Typhi and their synergism with antibiotics acting on the ribosome. *Nat Prod Res* 26:430–437. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.498776>
115. Pochop J, Kačmarčíková M, Hleba L (2011) EFFECTS OF PROPOLIS EXTRACTS IN CHICKENS DIET AGAINST *SALMONELLA* TYPHIMURIUM DETECTED BY REAL-TIME PCR. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences* 1:113–125
116. Vetési F, Mészáros J (1998) A háziállatok diagnosztikai boncolása. *Mezőgazda Kiadó*
117. J. Reiczigel, A. Harnos, N. Solymosi (2014) Biostatistika nem statisztikusoknak, javított utánnomás. Pars Kft.
118. R Core Team (2020) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
119. S Khojasteh S, Mahmoud S (2006) The effect of diet propolis supplementation on Ross broiler chicks performance. *International Journal of Poultry Science* 84–88. <https://doi.org/10.3923/IJPS.2006.84.88>
120. Roodsari MH, Mehdizadeh M, Kasmani FB, Lotfelahian H, Nisavi F, Abolghasemi AH (2004) Effect of oil-extracted propolis on performance of broiler chicks. *Agricultural Sciences and Technology Journal* 57–65
121. Zeng Z, Liu S, Pan K, Wu H, Tang K (2004) Effects of pollen and propolis on productive and immune performance in meat fow. *Zhongguo Nong Ye Ke Xue* 37:751–755
122. Stepanović S, Antić N, Dakić I, Svabić-Vlahović M (2003) In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiol Res* 158:353–357. <https://doi.org/10.1078/0944-5013-00215>
123. Mavri A, Abramovič H, Polak T, Bertonecelj J, Jamnik P, Smole Možina S, Jeršek B (2012) Chemical Properties and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Slovenian Propolis. *Chemistry & Biodiversity* 9:1545–1558. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201100337>
124. Nina N, Quispe C, Jiménez-Aspee F, Theoduloz C, Feresin GE, Lima B, Leiva E, Schmeda-Hirschmann G (2015) Antibacterial Activity, Antioxidant Effect and Chemical Composition of Propolis from the Región del Maule, Central Chile. *Molecules* 20:18144–18167. <https://doi.org/10.3390/molecules201018144>
125. Nina N, Feresin G, Giménez A, Capusiri E, Schmeda-Hirschmann G (2016) Antibacterial and Leishmanicidal Activity of Bolivian Propolis. *Letters in applied microbiology* 62:. <https://doi.org/10.1111/lam.12543>
126. Prakatur I, Miskulin M, Pavic M, Marjanovic K, Blazicevic V, Miskulin I, Domacinovic M (2019) Intestinal Morphology in Broiler Chickens Supplemented with Propolis and Bee Pollen. *Animals (Basel)* 9:E301. <https://doi.org/10.3390/ani9060301>
127. Fasina YO, Hoerr FJ, McKee SR, Conner DE (2010) Influence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection on intestinal goblet cells and villous morphology in broiler chicks. *Avian Dis* 54:841–847. <https://doi.org/10.1637/9055-090809-Reg.1>

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, dr. Kerek Ádámnak, aki fáradhatatlanul dolgozott azon, hogy a kutatással kapcsolatos háttérinformációkat maradéktalanul megértsem, így az összefüggéseket magam is meglássam. Az ő segítsége és iránymutatása nélkül nem készülhetett volna el ez a dolgozat.

Hálás vagyok dr. Jerzsele Ákos, tudományos és innovációs rektorhelyettes, tanszékvezető, egyetemi docens úrnak, aki figyelemmel kísérte munkánkat és végig a támogatásáról biztosított bennünket.

Külön köszönettel tartozom Borbás Évának, aki a kutatásban résztvevő állatokat gondozta, valamint Fehérvári Péternek, aki a statisztikai elemzéseket végezte az adatainkból. Továbbá az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszékén dolgozóknak, hogy a kísérletekhez helyet és eszközöket biztosítottak.

Végezetül szeretném hálámat kifejezni családomnak és barátaimnak, akik támogattak és erőt adtak a dolgozat elkészítése közben. Köszönöm!

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **Dr. Kerek Ádám**, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Olasz Ákos** állatorvostan-hallgató „**Propolisz különböző kivonatainak *in vivo* hatékonysága brojlercsirke szalmonellózisa esetén**” c. dolgozata részt vehet az Állatorvostudományi Egyetem 2022. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján.

Budapest, 2022. október hó 10. nap.

.....

Dr. Kerek Ádám
témavezető

HuVetA

ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: Olasz Ákos.....

Elérhetőség (e-mail cím): olaszakos.2000@gmail.com

A feltöltendő mű címe: Propolisz különböző kivonatainak *in vivo* hatékonysága
brojlercsirke szalmonellózisa esetén

A mű megjelenési adatai: TDK 2022.....

Az átadott fájlok száma: 1 db

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédt PDF formára konvertálja és szolgáltatssa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg **(egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel)**:

X	engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
----------	--

- ☐ az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- ☐ a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- ☐ csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**

- ☒ Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetÁ-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörő módon visszaélne.

Budapest, 2022. év október hó 10. nap

aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által

működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgálta, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése, a nyílt hozzáférés támogatása.*