

TDK DOLGOZAT

Szabó Ábel

2023

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Növényi alapú antibiotikum alternatívák *in vivo* hatékonyságának meghatározása házityúk szalmonellózisa esetén

Készítette:

Szabó Ábel

IV. évf. ao. hallgató

Témavezető:

Dr. Kerek Ádám

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, egyetemi tanársegéd

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	3
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. Az antimikrobiális rezisztencia jelentősége.....	5
2.2. A szalmonellafertőzés köz- és állategészségügyi jelentősége	7
2.3. Antibiotikum alternatívák	9
2.4. A háziatyúk szalmonellózisa	12
2.5. Szalmonella fertőzések kezelésének lehetőségei	13
3. Célkitűzések	16
4. Anyag és módszer.....	17
4.1. Az állatok eredete, immunstátusza	17
4.2. Az állatkísérlet körülményei	18
4.3. A fertőzés módja	19
4.4. Az állatok monitorozása	19
4.5. A <i>Salmonella</i> izolálása.....	20
4.6. A fertőzésre használt törzsek érzékenység vizsgálata	20
4.7. A súlygyarapodás és takarmányfogyasztás monitorozása	20
4.8. Kórboncolás és kórszövettan	21
4.9. Statisztikai módszer	21
5. Eredmények.....	22
5.1. Mikrobaszám meghatározás	22
5.2. Elhullás	22
5.3. Testtömeg alakulása.....	24
5.4. Takarmányfogyasztás alakulása.....	24
5.5. Fajlag	25
5.6. Kórbonctan.....	26
5.7. Kórszövettan	26
5.8. Statisztika.....	28
6. Következtetések.....	31
7. Összefoglalás	34
8. Summary.....	35
9. Irodalomjegyzék	36
10. Köszönetnyilvánítás	41

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AMR	Antimikrobiális rezisztencia (<i>Antimicrobial resistance</i>)
CFU	Telepformáló egység (<i>Colony forming unit</i>)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
TSA	Trypton-szója agar (<i>Tryptic soy agar</i>)
S. Enteritidis	<i>Salmonella</i> Enteritidis

1. BEVEZETÉS

Az antimikrobiális rezisztenciát korunk egyik legfontosabb állat- és közegészségügyi kihívásának tekintik. Az utóbbi évtizedekben bekövetkező rohamos terjedése világszerte komoly aggodalmat kelt, és a multirezisztens baktériumtörzsek előfordulásának gyakorisága is egyre jelentősebb. Ez a tendencia azt eredményezheti, hogy a jelenleg használt antimikrobiális szereink jelentős része hatástalanná válhat. Ennek következtében számos olyan betegség, ami az antibiotikumok felfedezésének köszönhetően vált gyógyíthatóvá és ezzel megmentve embermilliók életét, újra emelkedő halálozási tendenciát mutathat.

Az Egy Egészség tükrében az állat- és közegészségügyben közös gondolkodásra van szükség és az antibiotikum felhasználás csökkentése érdekében alternatív megoldásokra. A szalmonellózis a mai napig komoly közegészségügyi veszélyként jelenik meg, habár a baromfiágazatban jelentős mértékű sikeres gyérítési program zajlott le, sporadikus esetek a mai napig előfordulnak.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az antimikrobiális rezisztencia jelentősége

Az antimikrobiális szerek felfedezésével és széleskörű használatával lehetővé vált a bakteriális fertőzések sikeres kezelése, ami forradalmasította a 20. század modern kori orvoslását és alapjaiban változtatta meg a terápiás protokollokat. Ennek köszönhetően az átlagos várható élettartam mintegy 23 évvel hosszabbodott meg [1]. Az antibiotikumok elmúlt néhány évtizedben történő túlzott és nem előírászerű használata, továbbá a társadalmi és gazdasági trendek jelentősen felgyorsították a rezisztens baktériumok szelektálódását és elterjedését, melynek következtében jelentős mértékben elkezdett emelkedni a rezisztenciához kapcsolódó halálozások száma [2]. Jelenleg, évente mintegy 700 000 haláleset köthető antimikrobiális rezisztenciához (AMR), amely a legóvatosabb becslések szerint is 2050-re elérheti az évi 10 milliót, amennyiben továbbra is ilyen mértékben használjuk az antibiotikumokat, és nem sikerül lépést tartani az új terápiás eljárások és hatóanyagok fejlesztésében [3]. A probléma jelentőségét széles körben felismerték, azonban a multirezisztens baktériumok terjedése és az ezek következtében kialakuló fertőzések száma továbbra is folyamatosan növekszik [4].

Számos baktériumfajban már jóval azelőtt kialakult bizonyos antibiotikumokkal szemben a tolerancia képessége, mielőtt az emberiség használni kezdte volna ezeket a vegyületeket a fertőző betegségek leküzdésében [5]. 30 000 éves üledékmintából származó baktériumokból azonosítottak β -laktám, tetraciklin és glikopeptid hatóanyagokkal szembeni rezisztenciagéneket a DNS célzott, metagenomikai elemzésével [6]. Ezek a védekező mechanizmusok a különböző mikroorganizmusok együttélésének és versengésének eredményeképpen alakultak ki, a túlélés érdekében. Klinikai körülmények között azonban sokkal inkább a „szerzett rezisztencia” jelenti korunk problémáját, ami egy baktériumpopuláció rezisztenssé válását jelenti egy korábban használatos, és hatásos antibiotikummal szemben [7].

A baktériumok számos módon válhatnak rezisztenssé az ellenük használt vegyületekkel szemben. Ilyen lehet például az antimikrobiális szerek kémiai inaktiválása, a sejtből történő eltávolításuk efflux pumpák segítségével, csökkent felvételük, vagy megváltozhat a vegyületek célpontja, ezáltal a hatásuk nem fog kialakulni [8]. Ezeknek a védekező mechanizmusoknak a kialakulását és egyre gyakoribb előfordulását nem lehet egyszerűen spontán mutációval magyarázni, hiszen az antibiotikumok terápiás alkalmazásának kezdete (1940-es évek), és a hatékony rezisztencia mechanizmusokat kifejező baktériumtörzsek

elterjedése közötti idő túlságosan rövid [9]. Sokkal inkább a baktériumok sajátos képességével magyarázható, amely lehetővé teszi a genetikai anyag megosztását olyan organizmusok között, amelyek nem állnak vertikális kapcsolatban - ezt nevezik horizontális géntranszfernek [10] - mely legtöbb esetben mobilis genetikai elemek (plazmidok, bakteriofágok) közvetítésével nyilvánul meg [11].

A rezisztencia rohamos terjedéséhez számos tényező hozzájárul, és ezeket két fő szempont köré csoportosíthatjuk: a felhasznált antimikrobiális vegyületek mennyisége, és a megfelelően kiválasztott kezelés [11]. Az AMR előfordulása és számos gazdasági fejlettségi mutató (infrastruktúra, oktatás minősége, GDP, közegészségügyi kiadások) között kimutattak inverz korrelációt, míg a magasabb klimatikus hőmérséklet, és egy ország nem megfelelő szemléletű irányítása pozitív korrelációt mutat. Önmagában az antibiotikumfogyasztás csökkentése nem elegendő az AMR terjedésének megfékezéséhez, mivel a fertőzéskezelés (a rezisztens törzsek és rezisztenciagének terjedésének megállítása) sokkal dominánsabb tényező [12].

Európában legnagyobb mennyiségben állatgyógyászati célból tetraciklin és penicillin hatóanyagokat használnak. Egyes országokban ennek a két csoportnak az aránya akár 30-szor is meghaladhatja más hatóanyagcsoportok felhasználásának mennyiségét [13]. Az egyes állattenyésztési ágazatonként mért átlagos antibiotikumfelhasználás mennyiségét tekintve a sertéságazat vezető helyen áll (172 mg/populációs korrekciós egység), ezt követi a baromfiágazat (148 mg/populációs korrekciós egység) míg a harmadik helyen a szarvasmarhatenyésztés (45 mg/populációs korrekciós egység) áll [14].

A baromfiágazatban az antibiotikumok felhasználása korcsoportokhoz kötött, terápia vagy metafilaxis céljából [15]. Habár az Európai Unióban 2006-ban, az Amerikai Egyesült Államokban pedig 2017-ben betiltották az antibiotikumok hozamfokozás céljából történő felhasználását, a világ számos országában - mint például Brazíliában vagy Kínában - továbbra is használják ilyen célból őket. Kína antibiotikum felhasználásának mennyisége kiemelkedően magas mind humán-, mind állatgyógyászati vonalon, 2013-ban mintegy 162 000 tonnát használtak fel, ami 150-szerese az Egyesült Királyságban felhasznált mennyiségnek, és 9-szerese az Amerikai Egyesült Államok fogyasztásának [16]. Brazília a világ legnagyobb brojlercsirke exportőre, évente mintegy 4090 tonnát exportálnak 142 országba, és jelentős mértékben terhelik a világ antibiotikum felhasználását [17].

Kevés információ áll rendelkezésünkre a baromfitenyésztésben felhasznált antibiotikumok minőségéről és pontos mennyiségéről, egyedül Franciaországból származnak megbízható adatok. A *The French Agency for Veterinary Medicinal Products* közzétett adatai szerint 2016-ban 106 tonna aktív hatóanyagot használtak fel az ágazatban. Ez, a Franciaországban állatgyógyászati célból felhasznált antibiotikumok mennyiségének 20%-a, átlagosan mintegy 47 mg hatóanyagot jelent minden egyes kilogramm előállított baromfihúsról nézve [18].

Az AMR okozta jelenlegi, illetve a jövőben potenciálisan megjelenő problémák elkerülése érdekében, továbbá fogyasztói nyomásra a baromfiipar számára elsődleges fontosságú az antibiotikum alternatívák keresése [19].

2.2. A szalmonellafertőzés köz- és állategészségügyi jelentősége

Az Enterobacteriaceae családba tartozó *Salmonella* nemzetséget pálcika alakú, Gram-negatív festődésű, fakultatív anaerob baktériumok alkotják [20]. Három fajt különböztetünk meg, ezek a *Salmonella enterica*, a *Salmonella bongori*, és a *Salmonella subterranean*. Ezekben belül számos alfaj fordul elő, továbbá az „O” antigénjük alapján 50 különböző szerocsoportot lehet elkülöníteni, amelyekbe több mint 2500 különböző szerotípus sorolható be [21]. Az emberi megbetegedéseket okozó *Salmonella* szerotípusokat hagyományosan két csoportra osztjuk: egy kisebb, csak embereket megbetegítő, hastífuszt okozó csoportra (*S. Typhi* és *S. Paratyphi*), és egy több ezer különböző szerotípusból álló, nem-tífuszos megbetegedést okozó csoportra. Az utóbbi csoportra széles gazdaspektrum jellemző [22]. A szalmonellózis egy összetett fogalom, amely magában foglalja valamennyi *Salmonella* szerotípus okozta megbetegedést. Ez egy gyakran előforduló zoonotikus betegség, amely akár halálos kimenetelű is lehet. Terjedésében a baromfitenyésztés kiemelkedő szereppel bír, ugyanis a szalmonellózisok csaknem 50%-a köthető hozzá [23]. Könnyen tud terjedni állati termékekkel (baromfihús, tojás, tej), rágcsálók által, vagy akár a vízben is [24].

Egyes becslések alapján világszerte 200 millió és 1 milliárd közé tehető a *Salmonella* törzsek okozta hasmenéses fertőzések száma évente [25]. Körülbelül 16-33 millió ember fertőződik meg hastífuszt okozó szerotípussal, amiből 500 000-600 000 eset halálos kimenetelű. A nem-tífuszos szalmonellózis emberi megbetegedések száma évente 90 millióra tehető, 155 000 halálos áldozattal [26]. Európában, 2019-ben az igazolt humán szalmonellózis esetek száma 87 923 volt, ami 18%-a az összes élelmiszer eredetű fertőzésnek [27]. Egy egészséges felnőtt emberben tünetekkel járó megbetegedést legalább

10^6 - 10^8 *Salmonella* baktériumnak az emésztőcsatornába történő jutása okozhat. A fertőződéshez elegendő dózis lényegesen alacsonyabb csecsemőkben, legyengült immunrendszerű-, illetve idős emberek esetén [28].

A hastífusz általában emésztőszervrendszeri tünetekkel jelentkezik, a fertőzést követő 12-72 órán belül. Ezek a tünetek különbözőek lehetnek: lázzal járó hasmenés, hányinger, hányás, hasi fájdalom, fejfájás, bradycardia, vagy akár köhögés is előfordulhat. Antibiotikumos kezelés nélkül a teljes felépülés 4-7 napig is elhúzódhat. Egyedi esetekben súlyos szövődmények is kialakulhatnak a fertőzést követően. Feljegyezték disszeminált intravascularis coagulopathia, és akut-respirációs-distressz szindróma kialakulását is. Emellett előfordulhat májcirrózis, májtályog, veseelégtelenség, akut pancreatitis, és malignus daganatok megjelenése is [23, 29, 30]. Az antimikrobiális szerek használata előtt a betegség halálozási aránya 10-30% között volt, míg manapság a fejlett, szakszerű ellátásnak köszönhetően ez 1% alá csökkent [31].

A hastífuszból lábadozó, de hordozó emberek 10%-a a fertőzést követően még akár 3 hónapig is ürítheti székletével a baktériumokat környezetébe. Ritkán, az esetek 1-4 %-ában ez akár több mint egy évig is elhúzódhat. A krónikus, tünetmentes hordozók jelentősen hozzájárulnak a hastífuszt okozó szalmonellák folyamatos fennmaradásához a humán populációban [32]. A hastífusz előfordulása kifejezetten ritka olyan országokban ahol a folyamatos, tiszta ivóvízellátás biztosított, illetve ahol szakszerű szennyvízkezelés zajlik [33]. Megjelenése egy-egy régióhoz köthető és a nem endémiás területen előforduló esetek túlnyomó többsége utazással hozható összefüggésbe [34].

A *Salmonella* törzsek között régóta előfordulnak rezisztens törzsek. Már 1972-ben, Mexikóban leírtak klóramfenikol-rezisztens *Salmonella* törzset, ami több mint 10 000 ember megbetegedését okozta [35]. Ezt követően az 1980-as években megjelentek olyan törzsek, amelyek már három első generációs antibiotikummal (ampicillin, klóramfenikol, szulfametoxazol-trimetoprim) szemben is rezisztensek voltak [36]. A terápiában használt antibiotikummal szemben folyamatosan jelennek meg az újabb, és újabb rezisztens törzsek, a világ számos pontján izoláltak ciprofloxacinnal, nalidixinsavval, azitromicinnal, cefalosporinnal rezisztens törzseket [37].

A tojótýúk szalmonellózisa leggyakrabban a felnőtt egyedek között fordul elő (53,25%), míg a keltetőben (14,55%) és a növendék állatok között (16,10%) ritkábban számolnak be róla [38]. A fertőzés számos tünettől jelentkezhet szerotípustól függően, de

leggyakrabban tyúktífusz, bakterémia, vagy gastroenteritis jelentkezik [39]. Súlyos klinikai tüneteket a *S. Pullorum* és *S. Gallinarum* szerotípus okoz, amelyek étvágycsökkenéssel, zöldes-sárgás hasmenéssel, depresszióval, visszaesett testtömeggyarapodással jelentkeznek, és halálos szeptikémiával végződnek. A fertőzést követően néhány napon belül bekövetkezhet az elhullás, a mortalitás akár 100% is lehet [40]. A mentesítési programoknak köszönhetően számos országból eradikálódott ez a két roppant veszélyes szerotípus, viszont ezzel egyidőben kedvező *niche* vált elérhetővé a *S. Enteritidis* számára. A baromfiállományok mentesítését követő években a humán *S. Enteritidis* fertőzések száma rohamosan emelkedett ezekben az országokban [41].

2.3. Antibiotikum alternatívák

Az antibiotikumok helyettesítésére szánt alternatíváknak az állattenyésztésben számos kritériumnak kell eleget tenniük, ezek közül a legfontosabbak, hogy nem lehetnek károsak az állati szervezetre nézve, biológiai hasznosulások stabil legyen, teljes mértékben ürüljenek ki a szervezetből, könnyen bomoljanak le és ne legyen környezetterhelő hatásuk. Az adalékanyagoknak nem lehetnek negatív mellékhatásai, de fontos, hogy javítsák a takarmányértékesülést, illetve az állat növekedését [42].

Az emberiség évszázadokon keresztül használt különféle növényi eredetű termékeket gyógyításra. Egyes számítások szerint körülbelül 500 000 növényfaj létezik a bolygón, de ennek csak az 1%-át vizsgálták a bennük található bioaktív vegyületek (fitokemikáliák) szempontjából [43]. A növények szinte korlátlanul képesek aromás vegyületeket szintetizálni, ezek többsége fenol, vagy annak oxigénnel szubsztituált származéka. Eddig több mint 12 000 különböző vegyületet izoláltak növényekből, de becslések szerint ez kevesebb mint 10%-a a bennük megtalálható vegyületek teljes mennyiségének [44]. A pontos azonosításukban óriási potenciál van új, bioaktív hatóanyagok felfedezéséhez [45].

A fitokemikáliák általában másodlagos anyagcserefolyamatok eredményeként keletkeznek, és leggyakrabban a tanninok, terpenoidok, alkaloidok vagy a flavonoidok csoportjába tartoznak. Ezek a vegyületek fontos szerepet töltenek be a növények védekező mechanizmusaiban különböző mikroorganizmusok, rovarok és növényevők ellen. Számos vegyület esetén (főként flavonoidok) bizonyították azok hatékonyságát mikroorganizmusok széles skálájával szemben, mely elsősorban komplexképző és membránkárosító tulajdonságaiknak köszönhető [46, 47].

Mivel az antibiotikumok többféle hatásmóddal rendelkeznek, ezért az alternatívákat az elérni kívánt hatás szerint tudjuk csoportosítani (terápiás felhasználás, profilaxis, hozamfokozás). Néhány ígéretes alternatíva rövid jellemzőit az **1. táblázat** foglalja össze [48].

1. táblázat Egyes antibiotikum alternatívák fontosabb tulajdonságai [48]

Cél	Alternatíva	Előny	Hátrány
Profilaxis	Vakcina	Specifikus immunológiai védelem	Költséges
		Fertőzések megelőzése	Korlátozott keresztvédelem
	Probiotikum Prebiotikum Szimbiotikum	Fenntartja, vagy javítja a bélflórát	Változó hatékonyság
		Megelőzi a patogén baktériumok kolonizációját	Pontos nyomon követésük nehéz
Terápia	Fág terápia	Specifikus	Rezisztencia kialakulhat
		Több fág együttes alkalmazásával csökkenteni lehet a rezisztencia kialakulásának esélyét	
		Szinergista hatás antibiotikumokkal	Technikai korlátok az alfajokkal szembeni alkalmazás esetén
		Helyi alkalmazáskor kifejezetten hatékony	
	Endolizinek Exolizinek	Szinergia antibiotikumokkal	Gram-negatív baktériumokkal szemben kevés lehetőség
		Fágok hatását felerősíti	
	Bakteriocinek	Sokféle lehetőség	Rezisztencia kialakulhat
		Specifikus	
		Élelmiszeripari szempontól biztonságos	A nagyméretű bakteriocinek lehetséges proteolízise
		Szinergista hatás antibiotikumokkal	
	Ragadozó baktériumok	Hatékony biofilmek ellen	Interakciók a bélbakterióta tagjaival
		Szövődményes fertőzések hatékony kezelése	

Az utóbbi években nagymértékben megnőtt a növényi eredetű készítmények felhasználása hozamfokozás céljából a baromfitenyésztésben (részben az antibiotikumok ezen célból történő felhasználásának betiltása miatt). Megannyi növényfaj (pl. kakukkfű, oregánó, rozmarin, majoránna, cickafark, fokhagyma, gyömbér, zöld tea, fekete kömény, koriander, fahéj, stb.), illetve az ezekből készült kombinációk bizonyítottan használhatók hozamfokozásra [49], több kutatás is igazolja pozitív tulajdonságaikat. Brojlercsirkénél a

testtömeggyarapodás jelentős növekedését és a takarmányértékesítés javulását figyelték meg, amikor azok 14-féle gyógynövénnyel kiegészített tápot kaptak [50]. Mindezekből kifolyólag, az Európai Unióban 2015-ben hivatalosan jóváhagyták az első olyan növényi takarmánykiegészítő készítményt, amely fitokemikáliák keverékét tartalmazza (karvakrolt, fahéjaldehydet és paprika-oleorezint) a brojlercsirkék teljesítményének javítása céljából. Számos kutatás alátámasztja a folyamatos takarmányértékesülés és testtömeggyarapodás javulást [51, 52]. Egyes növényfajokról azonban pont az ellenkezőjét állapították meg, ezek a fajok (pl. törköly, tőzegáfonya) nincsenek pozitív hatással az állat teljesítményére [53, 54]. Hozamfokozásra egyre több ígéretesnek bizonyuló alternatív hatóanyagot találnak, azonban a rezisztencia problémájának nagyobb része sajnos még mindig előttünk áll. Égető szükségünk van új, hatékony lehetőségekre a betegségek megelőzésében, kontrollálásában, illetve a terápia alkalmazásában is [55].

A fitokemikáliák antibakteriális tulajdonságait széles körben használják, leggyakrabban esszenciális olajok formájában, az állatok egészségének és teljesítményének javítása céljából. Pozitív hatásuk nagy része a tápcsatornához köthető: az emésztőenzimek aktivitását serkentik, csökkentik a fermentációs termékek mennyiségét, megnehezítik a patogén baktériumok megtelepedését, a tápanyagokat könnyebben emészthetővé alakítják, erős antioxidáns hatásuk van, és serkentik az immunválasz kialakulását is [56]. Antimikrobiális, antioxidáns hatásaikból nem csak a szervezet tud profitálni, hanem a takarmány eltarthatóságát is javítják [57]. Az esszenciális olajok 90-95%-a illékony komponensekből áll, mint például aldehidek, alkoholok, észterek, monoterpének, és ezek különböző oxidált származékai. Hatásmechanizmusuk nem teljesen tisztázott, sokszínűségükből kifolyólag számtalan módon hatnak. Bizonyos vegyületek képesek penetrálni a sejtbe, és intracellulárisan gátolják a sejtműködést, míg mások lipidkárosítók, és a sejtek lízisét okozzák [58]. Képesek a membránpotenciált megváltoztatni, és ennek következményeképpen a sejt anyagcseréjét befolyásolni [59]. Az egészségre gyakorolt pontos hatásukat azonban roppant nehéz meghatározni változatos összetételük miatt [60]. Az esszenciális olajok minőségét ugyanis meghatározza egyrészt a növény faja, másrészt a fizikai és kémiai talajviszonyok, a betakarítás időpontja, a növény érettsége a betakarítás időpontjában, a szárítási technológia, a tárolási időszak és az alkalmazott extrakciós eljárások is befolyással vannak rá [61].

Fontos megjegyezni a megannyi jótékony hatás mellett, hogy a fitokemikáliák negatív hatással is rendelkeznek, ami megnyilvánulhat hepatotoxicitásban vagy neurotoxicitásban.

Egyes vegyületek terápiás indexe nagyon kicsi, jelentősen megnehezítve felhasználásukat [62]. A növényi alapú, természetes termékek fejlesztése napjainkban a gyógyszeripar számára az egyik legfontosabb irányvonal [63].

2.4. A házi tyúk szalmonellózisa

Többféle élelmiszer hozható összefüggésbe a szalmonellózis eseteivel és kitöréseivel, azonban az Európai Unióban, 2018-ban a bejelentett esetek majdnem fele, 45,6%-a volt tojással vagy tojást tartalmazó élelmiszerekkel kapcsolatos [64]. A tojótyúkok az emberi szalmonellózist okozó törzsek legfőbb rezervoárjai Európában, és a hozzájuk köthető esetek 95,9%-ában a *S. Enteritidis* szerotípus okoz fertőzést [65]. A *S. Enteritidis* előfordulásának gyakorisága a fogyasztói tojást termelő tojótyúkokban közvetlenül összefüggésbe hozható a humán fertőzések gyakoriságával, és a patogén törzsek sok esetben genetikailag teljesen azonosak [66].

A tojás rendkívül széleskörű népszerűségét az olcsó előállíthatóságának, illetve a magas tápértékének köszönheti. A fejenként évente elfogyasztott mennyisége 217 darabra tehető az Európai Unióban [67]. 2020-ban az Európai Unióban mintegy 116 milliárd tojást állítottak elő (körülbelül 7,2 millió tonnának megfelelő mennyiség), ami a világ tyúktojás-termelésének 9,4%-át tette ki [68]. A fogyasztók étkezési szokásainak változásával egyre nagyobb igény bontakozik ki a nyers, és feldolgozatlan élelmiszerek iránt. A nyers tojást tartalmazó, házi készítésű élelmiszerek (majonéz, egyes szósok, desszertek, turmixok) növekvő népszerűsége potenciálisan növeli a szalmonellózis közegészségügyi kockázatát [69].

A tojás kétféleképpen fertőződhet meg *Salmonella*-val. Közvetlen módon, a tojás kialakulása közben a tojótyúk reproduktív szervrendszerében; illetve közvetetten, a tojás lerakása után, a tojáshéjon lévő mikrosérüléseken keresztül [70]. Egyedülálló képességének köszönhetően a baktérium úgy tud a tojás belső rétegeibe eljutni, és ott szaporodni, hogy látszólag nem okoz semmilyen elváltozást [71]. A tojás megfertőzésével foglalkozó kutatások növekvő száma alapján arra lehet következtetni, hogy a fertőződés csak elenyésző hányadban történik közvetett módon. Az esetek többségében ugyanis a tyúk bélcsatornájából, a véráramon keresztül a szaporító szervrendszerhez jutó baktériumok okozzák a fertőződést. Ezt segíti az is, hogy a *S. Enteritidis* képes kivédeni a tyúk petevezetőjében lévő antimikrobiális vegyületek hatását, a kimagasló sejtfalvédelme és a különböző javító mechanizmusokat kódoló gének nagyszámú megléte miatt [72]. A *Salmonella* sikeres kolonizációját egy baromfiállományban számos tényező befolyásolja,

legfőképpen a madarak kora, genetikai fogékonysága, állománysűrűsége, egészségügyi állapota és a kórokozónak való kitettség szintje (fertőző dózis), illetve maga a baktérium szerotípusa rendelkezik a legnagyobb szereppel [73].

A tojótyúkók múltbeli, hagyományos ketreces tartása a maximális produktivitást és profitot helyezte előtérbe minden más szemponttal szemben [74]. Az állatok jóllétének javítása szempontjából az Európai Unió 2012-ben betiltotta ezt a tartástechnológiai formát, ennek eredményeként pedig megjelentek új, alternatív tartási megoldások [75]. Ezek az új tartástechnológiai módszerek nagyobb szabadságot biztosítanak a madarak természetes viselkedésformáinak kifejeződésére, és megnövelik az állatok közötti interakciók számát. Ezzel azonban olyan káros viselkedésformák is nagyobb számban megjelentek, mint a kannibalizmus, tollcsipkedés, kloákacsipkedés, tojásevés, mindemellett a fertőző betegségek és a paraziták is sokkal könnyebben terjedhetnek az állományon belül [76].

Az alternatív tartási módszerekkel (mint például a feljavított ketrecekkel, röpdékkal és „free-range” rendszerekkel) termelt tojások héján sokkal magasabb számban találhatók meg különböző baktériumpopulációk, mint a hagyományos ketreces tartásban termelt tojás esetén [77]. Szignifikáns különbséget azonban nem találtak a *Salmonella* előfordulásának gyakoriságában a különböző tartástechnológiai rendszerek között, habár ezzel kapcsolatban további kutatások szükségesek [78]. Amennyiben viszont a kórokozó sikeresen megtelepszik, úgy kifejezetten gyorsan, és széleskörűen tud terjedni a ketrec nélkül tartott tojótyúkók között. A fertőzés terjedését tovább könnyíti az állomány zsúfoltsága, idős korösszetétele, és amennyiben az istálló nincs megfelelően karbantartva [79].

A baromfifajok és fajták közül a tojótyúkók általános egészségügyi állapota számottevően rosszabb, mint a brojlersírkéké vagy a pulykáké. Sokkal gyakrabban figyelhetők meg krónikus májelváltozások és végtagbetegségek, amik az intenzív termelésre, takarmányozási- és tartástechnológiai hibákra utalnak [80].

2.5. *Salmonella* fertőzések kezelésének lehetőségei

A különböző *Salmonella* baktériumtörzsek antimikrobiális szerekkel szembeni rezisztencia mértékét befolyásolja az ellenük felhasznált hatóanyagok minősége és mennyisége, így régióként eltérő eredményeket láthatunk. Általánosságban megállapítható, hogy az alkalmazott hatóanyag mennyiségének növelésével a *Salmonella* baktériumtörzsek rezisztenciájának gyakorisága is nő [81].

Az enrofloxacin egy második generációs fluorokinolon, ami széles spektrumának, koncentrációfüggő baktericid hatásának és kedvező farmakokinetikájának köszönhetően az egyik leghatékosabb körben alkalmazott antimikrobiális vegyületnek tekinthető állatorvosi vonalon [82]. Sok országban az enrofloxacin elsővonalbeli választás a baromfiállományok szalmonellózisának megelőzésében és kezelésében, melynek igen komoly következménye a környezeti terhelés növekedése. Kínában a baromfitrágya enrofloxacin maradványanyag koncentrációja eléri az 1421 mg/kg-os értéket [83]. A fluorokinolon rezisztens zoonotikus kórokozók ijesztő gyorsaságú terjedése miatt az Egészségügyi Világszervezet (WHO) elsősorban humán célú felhasználásra javasolja a csoportot, és számos országban betiltották a fluorokinolonokat az állattartásban, de ennek ellenére a világ különböző helyein mai napig széles körben használják őket [84]. A rezisztencia nagymértékű előfordulását támasztja alá az a bangladesi brojlércsirke állományban végzett kutatás, ahol a bélsármintákból izolált *Salmonella* baktériumtörzsek 56%-a rezisztens volt az enrofloxaccinnal szemben [85].

A kolisztin antibiotikumot az 1950-es évek óta használják Gram-negatív bakteriális fertőzések kezelésére az állatgyógyászatban, és egészen az utóbbi évekig kimagaslóan alacsony rezisztenciaszintet figyeltek meg vele szemben [86]. Azonban 2015-ben, új rezisztencia-mechanizmust fedeztek fel (egy plazmidon kódolt, mobilis rezisztencia gén) ami jelentősen korlátozza felhasználhatóságát, pedig a hatóanyag a Gram-negatív multirezisztens baktériumok ellen az egyik utolsó védekezési lehetőségnek számít [87]. Európában, a kolisztin-felhasználás radikális korlátozása miatt a *Salmonella* törzsek alacsony rezisztenciaszinteket mutatnak, szórványosan azonban egy-egy kiugró érték előfordulhat. Braziliában és Kínában azonban a széles körű kolisztin felhasználás a rezisztencia elterjedését okozta. Aggasztó, hogy ezek a törzsek gyakran ko-rezisztensek számos más, kritikusan fontos antimikrobiális vegyülettel szemben is [88].

Az amoxicillin egy félszintetikus penicillin, amit a béta-laktamáz gátló klavulánsavval kombinációban világszerte alkalmaznak nagy mennyiségben, azonban kombinációs formája baromfifélékre nincs engedélyezve [89]. Antibiotikum érzékenységi vizsgálatok alapján Egyiptomban a *Salmonella* törzsek 91,7 %-a rezisztens vele szemben [90]. Egy másik kutatásban, ahol élelmiszer eredetű kórokozókat vizsgáltak különböző baromfitermékekben, az egyik legmagasabb rezisztenciaszintet találták amoxicillin-klavulánsavval szemben [91]. Indiában vizsgált, nem-tífuszos megbetegedést okozó *Salmonella* törzsek 15,38%-a rezisztens volt ellene, míg India más régiójában végzett kutatások eredményei alapján az ottani *Salmonella* törzsek 21,7%-a tekinthető rezisztensnek [92, 93].

Az aminoglikozidok az egyik elsőként felfedezett, és klinikumban alkalmazott antibiotikumok. Napjainkban újra széles körben használják őket, hiszen egyike a még használható vegyületcsoportnak a multirezisztens baktériumok okozta fertőzések kezelésében, kifejezetten Gram-negatív kórokozók esetében [94]. Iránban, napos brojlércsirkékből származó minták *Salmonella* izolátumainak 40%-a volt érzékeny neomicinre [95]. Oklahomában vizsgált pulykák szalmonellózisa esetén viszont 100%-ban rezisztensek voltak az izolált baktériumtörzsek gentamicinre [96].

A *Salmonella* baktériumok populációdinamikája folyamatosan változik. Jellemzően néhány szerotípus (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*) dominál, s ezek a kutatásokban központi szerepet kapnak, viszont számos kevésbé gyakori szerotípus (Kentucky, Schwarzengrund, Hadar, Thomson, Sentfenberg stb.) vizsgálata elmaradott, járványtana kevésbé ismert. Aggasztó, hogy ezek a ritka szerotípusok egyre gyakrabban kerülnek izolálásra klinikai esetekből. Nemzetközi elterjedésük, és gyakran multirezisztens voltuk jelentős kihívást jelent a közegészségügy számára világszerte [97]. Az antibiotikumok hatékonyságának folyamatos csökkenése, illetve a multirezisztens törzsek okozta fertőzések kezelésének nehézségei egyre nagyobb kihívást jelentenek az emberiség számára, még inkább alternatív megoldások keresésére sarkallva a kutatókat [98].

3. CÉLKITŰZÉSEK

Jelen kutatás célja, hogy egy olyan növényi alapú alternatív hatóanyagot találjunk, amely hatékonyan képes csökkenteni a *Salmonella* okozta fertőzés megeredését, ezáltal csökkentve annak gazdasági károkozását, valamint humánegészségügyi kockázati szerepét. Ennek keretén belül háromféle növényi alapanyagból álló takarmánykiegészítő hatékonyságát vizsgáltuk, amelyek különböző adalékanyagot tartalmaztak; görögszénát (*Trigonella foenum graecum*), búzacsírárt (*Triticum aestivum*.), illetve probiotikumokat. Ezen takarmánykiegészítők hatékonyságát Bábolna Tetra-SL tojóhibrid fajtán vizsgáltuk 6 hetes felnevelési időszak során, klinikai esetből izolált *Salmonella* Enteritidis és *Escherichia coli* (*E. coli*) törzsszel történő vegyes fertőzést követően. A kutatás során az egyes kiegészítők szalmonella megeredésének, ürítésének időbeli, szemikvantitatív (igen-nem válasz) módon történő csökkentésének lehetőségét néztük, valamint a felnevelés végén kórszövettani vizsgálati eredményekkel néztük a fertőzés hosszútávú hatásait és az egyes kezelések esetleges pozitív hatásait, különös tekintettel a bélboholyhossz, kriptamélység, azok aránya, valamint az átmérő segítségével számolt felszívófelület és a testtömegalakulás függvényében.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Az állatok eredete, immunstátusza

A 180 Bábolna Tetra-SL tojóhibrid naposcsibe a Bábolna Tetra Kft. Szarka Ferenc Keltetőüzeméből származott. A keltetőben a naposcsibék NOBILIS® RISMAVAC + CA126 vakcinát (Marek-betegség), Nobilis ND C2 vakcinát (baromfipestis) és Poulvac IB Primer vakcinát (fertőző bronchitis) kaptak. Az állatokkal etetett alaptakarmány összetételét a **2. táblázat** tartalmazza.

2. táblázat Az alaptakarmány összetétele megfelel a fajtának

Takarmány fajta		Pre-starter	Starter
Tápanyagok		0-3. élethét	4-6. élethét
Met. energia	MJ/kg	12,35	12
Met. energia	kcal/kg	2950	2870
Nyersfehérje	%	20	18
Aminosav (összes)			
Lizin	%	1,2	1
Metionin	%	0,48	0,42
Metionin + cisztin	%	0,84	0,74
Treonin	%	0,75	0,65
Valin	%	0,93	0,78
Arginin	%	1,22	1,02
Triptofán	%	0,24	0,22
Izoleucin	%	0,84	0,75
Aminosav (emészthető)			
Lizin	%	1	0,83
Metionin	%	0,4	0,35
Metionin + cisztin	%	0,7	0,6
Treonin	%	0,63	0,55
Valin	%	0,76	0,65
Arginin	%	1,02	0,84
Triptofán	%	0,2	0,18
Izoleucin	%	0,69	0,62
Linolsav	%	1,5	1,25
Ásványi anyagok			
Kalcium	%	1	1
Foszfor (elérhető)	%	0,48	0,44
Nátrium	%	0,17	0,17
Klorid	%	0,18	0,18

4.2. Az állatkísérlet körülményei

Az *in vivo* állatkísérlet (engedélyszám: PE/EA/01448-6/2022), enyhe súlyossági besorolású volt, a különböző növényi eredetű tesztanyagok etetése takarmányba keverve történt. Az állatok 1:1 ivararányú elosztása véletlenszerűen történt. A környezeti paramétereket a tartástechnológia és a fajta előírásai szerint választottuk meg. Az állatok takarmányozása *ad libitum* történt, az 1-3. hétben *pre-starter* tojóhibrid, majd a 4-6. héten *starter* tojóhibrid táppal, az egyes kezelt csoportok esetén a tesztanyagok a táp gyártása során kerültek bekeverésre (Dr. Bata Zrt., Ócsa). Az állatok friss ivóvizet naponta kaptak.

Minden egyes kezelést, illetve kontroll csoportot három replikában vizsgáltunk, valamint kettős vak próbát alkalmaztunk, mely az egyes csoportokkal etetett tápok színekódolásával valósult meg (1-3. csoport zöld, 4-6. csoport kék, 7-9. csoport piros, 13-15. csoport sárga), fehér színnel az adalékanyagot nem tartalmazó tápok jelölése történt. A fehér színnel jelölt csoportok közül a 10-12. csoport enrofloxacin antibiotikumot kapott, a 16-18. csoport pedig nem kapott semmi kezelést és fertőzést sem. Az egyes csoportok felosztását **3. táblázat** tartalmazza. A kísérlet végén történt kódolás-feloldás alapján a zöld probiotikumot (A-tesztanyag), a kék búzacsírárt (B-tesztanyag), a sárga görögszénát (C-tesztanyag) kapott, a piros volt a pozitív kontroll.

3. táblázat Az egyes csoportok felosztása, az 1-3. hétben *pre-starter* tápot, a 4-6. hétben *starter* tápot kaptak az állatok

Csoport	Takarmány zsák	Mennyiség		Salmonella fertőzés
		1-3. hét	4-6. hét	
1. csoport	Zöld A-tesztanyag	0,5 kg/nap	1 kg/nap	+
2. csoport				+
3. csoport				+
4. csoport	Kék B-tesztanyag	0,5 kg/nap	1 kg/nap	+
5. csoport				+
6. csoport				+
7. csoport	Piros pozitív kontroll	0,5 kg/nap	1 kg/nap	+
8. csoport				+
9. csoport				+
10. csoport	Fehér enrofloxacin	0,5 kg/nap	1 kg/nap	+
11. csoport				+
12. csoport				+
13. csoport	Sárga C-tesztanyag	0,5 kg/nap	1 kg/nap	+
14. csoport				+
15. csoport				+
16. csoport	Fehér negatív kontroll	0,5 kg/nap	1 kg/nap	-
17. csoport				-
18. csoport				-

Érkezést követően randomizált módon, de az 1:1 ivararányt tartva 18 csoportra osztottuk az állatokat, 10 állat/csoport létszámot kialakítva (**1. ábra**). Az állatokat a lábukon egyedileg jelöltük, folyamatosan növekvő sorszámozással az 1-5. közötti számúak a tojók, a 6-10. közötti számúak a kakasok voltak. A kísérletet megelőző napon tripton-szója agarra (TSA; Biolab Zrt., Budapest) kioltottuk a *Salmonella* Enteritidis és *E. coli* törzset, majd 24 órára 37 °C-os termosztátban inkubáltuk azt. A fertőzés 3 napos életkorban történt.



1. ábra A csoportba rendezett és egyedileg jelölt naposcsibék

4.3. A fertőzés módja

A kísérlet napján 150-150 ml tripton-szója levesbe (TSB; Biolab Zrt., Budapest) 18-20 db telepformáló egységet (CFU) sárga kaccsal a 37 °C-ra temperált levesbe oltottunk, majd 4 órán keresztül inkubáltuk 37 °C-on. CFU meghatározást végeztünk az inkubációs időt követően, hogy meghatározzuk a beoltott baktériumszámot. Ehhez tízes alapú hígítási sort végeztünk kémcsövekben a leves szuszpenzióból vett mintából, majd a hígítási sor minden egyes csövéből 50 µl mennyiséget szélesztettünk TSA agarra, végül 24 órán keresztül inkubáltuk 37 °C-on. A vegyes fertőzést az 1-150. állatokon végeztük el, begyszonda segítségével, 1-1 ml *Salmonella* Enteritidis és *E. coli* szuszpenziót felhasználva.

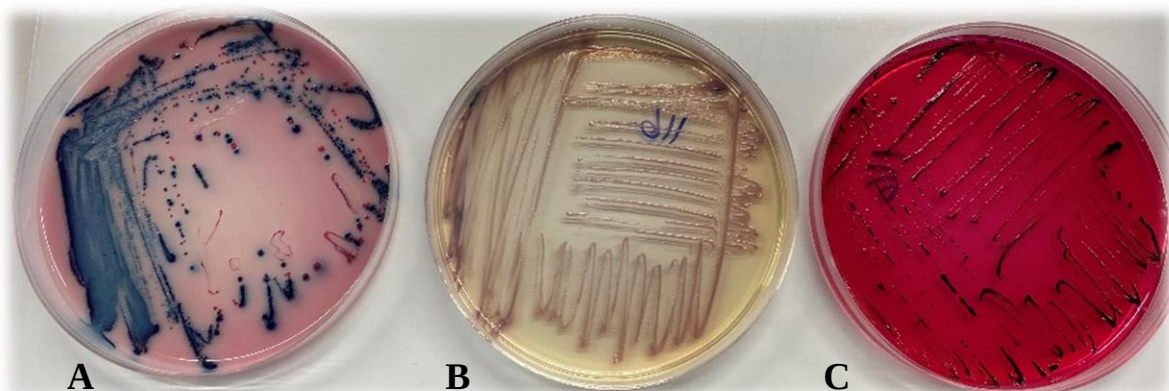
4.4. Az állatok monitorozása

Az állatokat napi szinten monitoroztuk a klinikai tünetek megjelenését figyelve (bélsár konzisztencia változás, véres bélsár, kloáka környéke, húgysav felrakódás, sántítás,

szárnylógatás, gubbasztás, lábvégek), valamint az elhullott állatok súlyát lemértük és a Patológia Tanszékre küldtük boncolásra, az elhullás okának felderítése érdekében.

4.5. A *Salmonella* izolálása

A kloáka tamponmintákat Rappaport Vassiliadis (Biolab Zrt., Budapest) levesbe (3 ml/cső) szuszpendáltuk, majd 24 órán keresztül 41 °C-os termosztátban inkubáltuk. Ezt követően Rambach agarra (Chebio Kft., Budapest) szélesztettünk 50 µl/minta mennyiségben és újabb 24 órán keresztül 41 °C-os termosztátban inkubáltuk. Végül pozitív vagy negatív szempontok szerint elbíraltuk, a szalmonella növekedését (2. ábra). A kétes eseteket tovább oltottuk XLD (Biolab Zrt., Budapest) és *Salmonella* szelektív agarra (Biolab Zrt., Budapest).



2. ábra *Salmonella* azonosítás Rambach (A), *Salmonella* szelektív (B) és XLD (C) agaron, az első két esetben a mályva színű telepek, utóbbi esetén a fekete színű telepek pozitívak

4.6. A fertőzésre használt törzsek érzékenység vizsgálata

Az antibiotikummal történő kontroll kezelés miatt szükség volt a fertőzésre használt törzs érzékenységének vizsgálatára. Ennek fenotípusos kifejeződését minimális gátló koncentráció (MIC) érték meghatározásával néztük, amit a CLSI módszertanával végeztünk [99], a breakpointot pedig a CLSI és az EUCAST irányelvei alapján határoztuk meg.

4.7. A súlygyarapodás és takarmányfogyasztás monitorozása

A testtömeget heti rendszerességgel mértük 6 héten keresztül, egyedileg. A napi takarmányfogyasztást csoportonként mértük visszaméréssel, minden hétfőn, szerdán és pénteken. Ehhez a mérést megelőző nap reggelén csoportonként az 1-3. hétben 0,5-0,5 kg tápot; a 4-6. héten 1-1 kg tápot mértünk be, majd a mérés napjának reggelén visszamértük a maradék tápot, így a fogyasztást a kiindulási és a visszamért táp különbsége adta. Végezetül a súlygyarapodás és a takarmányfogyasztás függvényében kiszámoltuk a fajlagot.

4.8. Kórboncolás és kórszövettan

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

A kórboncolást és kórszövettani vizsgálatokat a Patológia Tanszéken végeztük. A kórboncolást minden egyes állaton elvégeztük, ami a madarak diagnosztikai boncolásának szabályai szerint (külső vizsgálat, belső vizsgálat szervrendszerenként) történt [100]. A kórszövettani vizsgálatok csoportonként kettő állaton történtek az *ileum* bélszakaszból, minden egyes minta esetén három párhuzamos méréssel. Ezután mértük a kriptamélységet és a bélboholy hosszát (villushossz), a bélboholy átmérőt, majd az előbbi kettőből arányt számítottunk. Végezetül pedig meghatároztuk a felszívófelület nagyságát. A felszívófelület kiszámításához a $(2\pi) \times (VW/2) \times (VH) = \pi \times VW \times VH$ képletet használtuk, ahol $\pi = 3,14$, a VW = villusátmérő, a VH = villushossz volt [101].

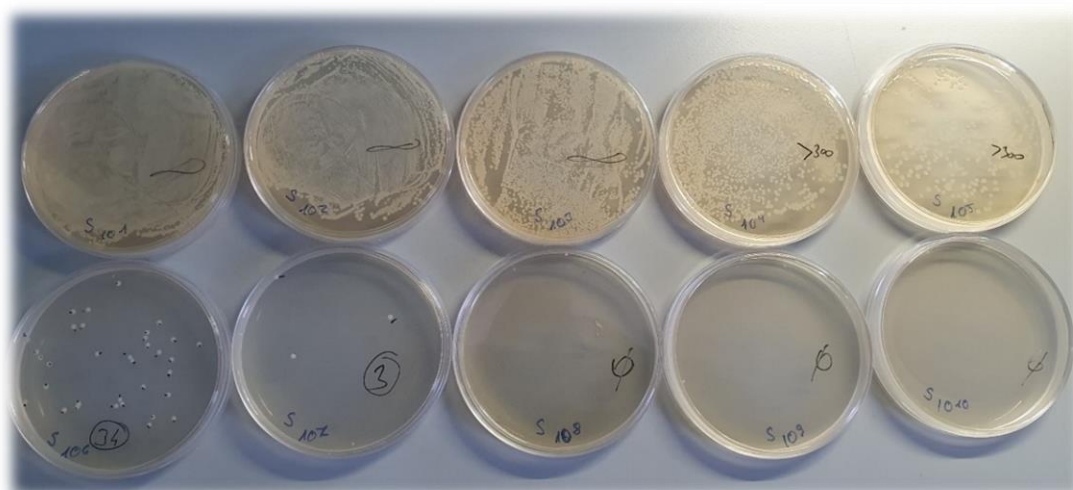
4.9. Statisztikai módszer

Az egyes kezelések hatását vizsgáltuk a súlygyarapodásra, az egyes mérési időpontokban, a pozitív és negatív kontroll csoporthoz viszonyítva, figyelembe véve az ivari hatást. Vizsgáltuk az egyes csoportok *ileum* bélszakaszának villushosszát, kriptamélységét, villusátmérőt, a villushossz és kriptamélység arányát, valamint a felszívófelület nagyságát. A kapott eredményeket statisztikailag az R-program 4.3.0 verziójával [102], a takarmányfogyasztás és fajlag, valamint a szalmonella ürítés esetén egyszempontos ANOVA [103], a többi paraméter esetén lineáris modell segítségével elemeztük [104].

5. EREDMÉNYEK

5.1. Mikrobaszám meghatározás

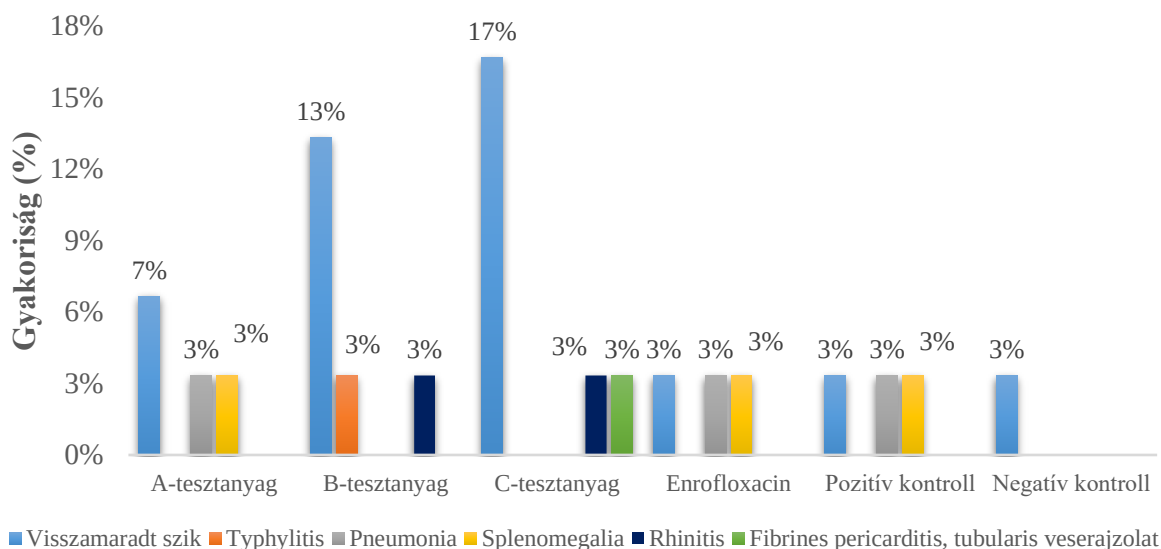
A fertőzéshez használt *Salmonella* Enteritidis és *E. coli* törzsek 4 órás inkubációját követően megszámloltuk a tízes alapú hígítási soron a CFU számot. A hígítás mértéke, valamint az agarra oltott 50 µl mennyiség 1 ml-re történő korrekcióját (25x) követően megállapítottuk, hogy *Salmonella* Enteritidis esetén 6×10^8 CFU, *E. coli* esetén pedig $2,2 \times 10^8$ CFU volt a begyszondával beoltott mikrobaszám. A **3. ábrán** látható a tízes alapon történő hígítás során az egyes hígítási mértékek esetén megszámlolható telepformáló egységek száma. A fertőzés sikerességét a klinikai tünetek manifesztálódás igazolta, elsősorban a bélsár konzisztencia változása volt tapasztalható, több esetben véres bélsarat is feljegyeztünk. Ezzel egyidőben elvégeztük a *Salmonella* baktériumtörzs antibiotikum érzékenységi vizsgálatát, ami alapján megállapítottuk, hogy érzékeny volt az enrofloxacinra szemben (0,5 µg/ml MIC).



3. ábra A *Salmonella* Enteritidis esetén hígítási sor készítését és inkubációt követően megszámlolható telepformáló egységek

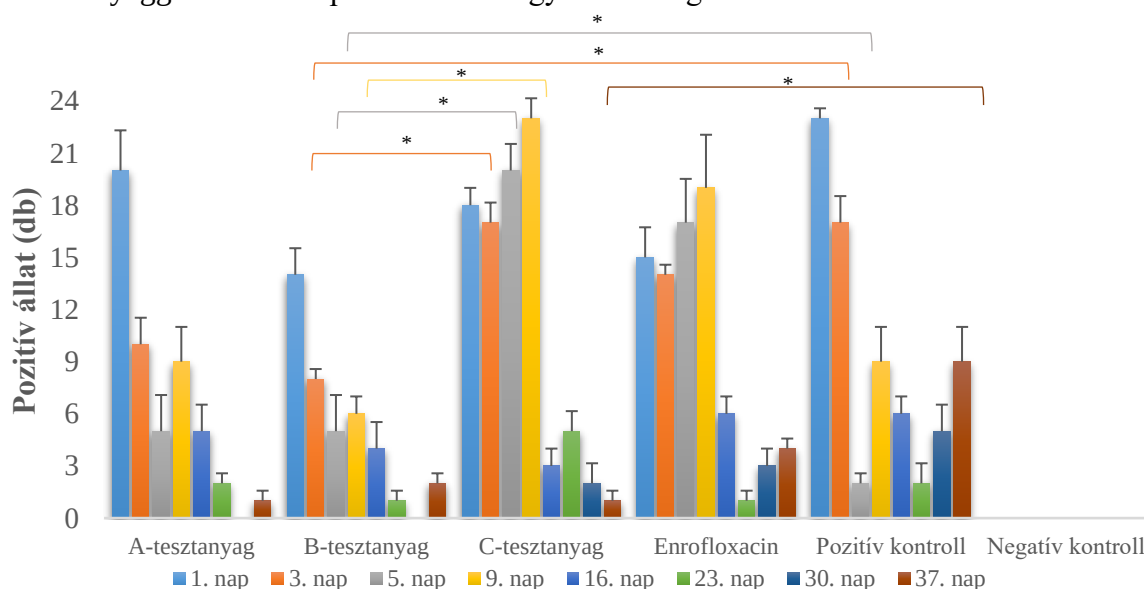
5.2. Elhullás

A fertőzést követően összesen 16 állat hullott el. A kórboncolást követően megállapított elváltozásokat kezelésként csoportosítva a 4. ábra szemlélteti. Az egyes csoportokban elhullott állatok esetén gyakran előforduló visszamaradt sziktömlő kelésgyengeségre utal. A negatív csoportok esetén, ahol fertőzés nem történt, kelésgyengeségen kívül más kórbonctani elváltozás nem volt tapasztalható. A többi csoport esetén hasonló mértékben voltak megfigyelhető elváltozások (typhylitis, pneumonia, splenomegalia, rhinitis, fibrines pericarditis és tubularis veserajzolat), amelyek a fertőzés sikerességére és a szalmonella megeredésére utaltak.



4. ábra Az elhullás %-ban kifejezve az egyes csoportok tükrében kórbontani elváltozások szerint csoportosítva. A visszamaradt szik kelésgyengeségre utal.

A kloáka tamponmintákból a szalmonella izolálás eredményét az egyes kezelések tekintetében az **5. ábra** mutatja. A negatív kontroll csoportok végig negatívak maradtak. A pozitív kontroll csoportok esetén volt a legnagyobb mértékben megfigyelhető szalmonella ürítés, ehhez képest az enrofloxacin antibiotikummal kezelt csoportok esetén a fertőzést követő 9. napig magas volt a szalmonellát ürítő állatok száma, és ez hasonlóan alakult a C-tesztanyaggal kezelt csoportok esetén is. A leghatékonyabb módon az A-tesztanyaggal és a B-tesztanyaggal kezelt csoportok esetén figyelhető meg a szalmonella ürítés csökkenése.

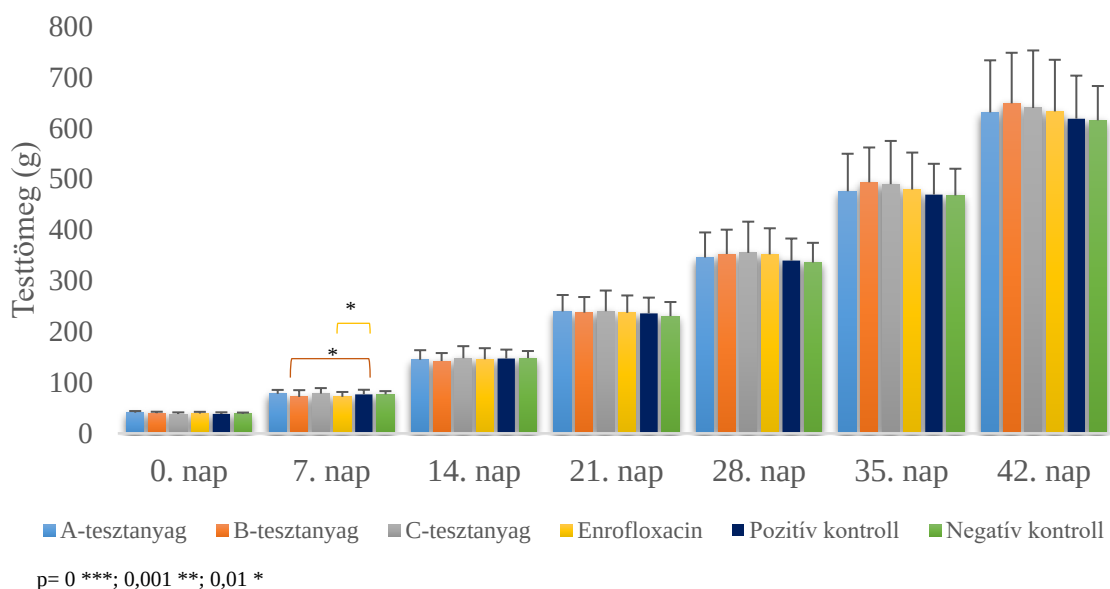


p= 0 ***; 0,001 **; 0,01 *

5. ábra *Salmonella* Enteritidis dúsítást és Rambach agaron történő izolálást követő előfordulási gyakorisága kezelésenként

5.3. Testtömeg alakulása

Az egyes mérési napok során kezelésenként mért egyedi súlyok átlagát a 6. ábra mutatja. Az egyes kezelések sem a pozitív, sem a negatív kontrollhoz képest nem mutattak szignifikáns különbséget a súlygyarapodás tekintetében ($p>0,05$). Ha az ivart is figyelembe vesszük, akkor viszont a 7. napon a pozitív kontrollhoz képest szignifikáns különbség volt kimutatható a B-tesztanyag ($p=0,0224$) és az enrofloxacin ($p=0,0223$) esetén.

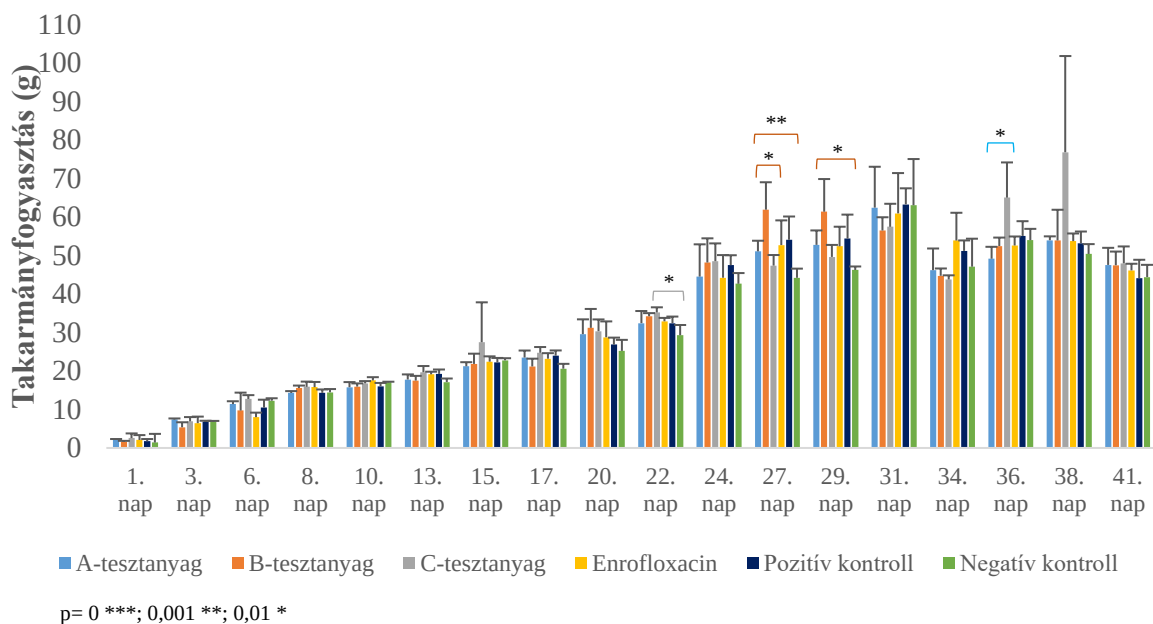


6. ábra Testtömeggyarapodás kezelésenként az egyes mérési napokon

5.4. Takarmányfogyasztás alakulása

A csoportos takarmányfogyasztás a 10. napon az enrofloxacin-B-tesztanyag ($p=0,0422$) és a B-tesztanyag-negatív kontroll ($p=0,0335$), a 13. napon a B-tesztanyag-pozitív kontroll ($p=0,0360$), a 17. napon a B-tesztanyag-pozitív kontroll ($p=0,0466$), a 27. napon a C-tesztanyag-pozitív kontroll ($p=0,3031$), a 29. napon a C-tesztanyag-pozitív kontroll ($p=0,0464$), a 36. napon a B-tesztanyag-enrofloxacin ($p=0,0349$), a C-tesztanyag-B-tesztanyag ($p=0,0019$), a B-tesztanyag-negatív kontroll ($p=0,044$) és a B-tesztanyag-pozitív kontroll ($p=0,0023$), a 38. napon a C-tesztanyag-B-tesztanyag ($p=0,0083$) között mutatott szignifikáns különbséget az egyszempontos varianciaanalízis segítségével végzett statisztikai elemzés során.

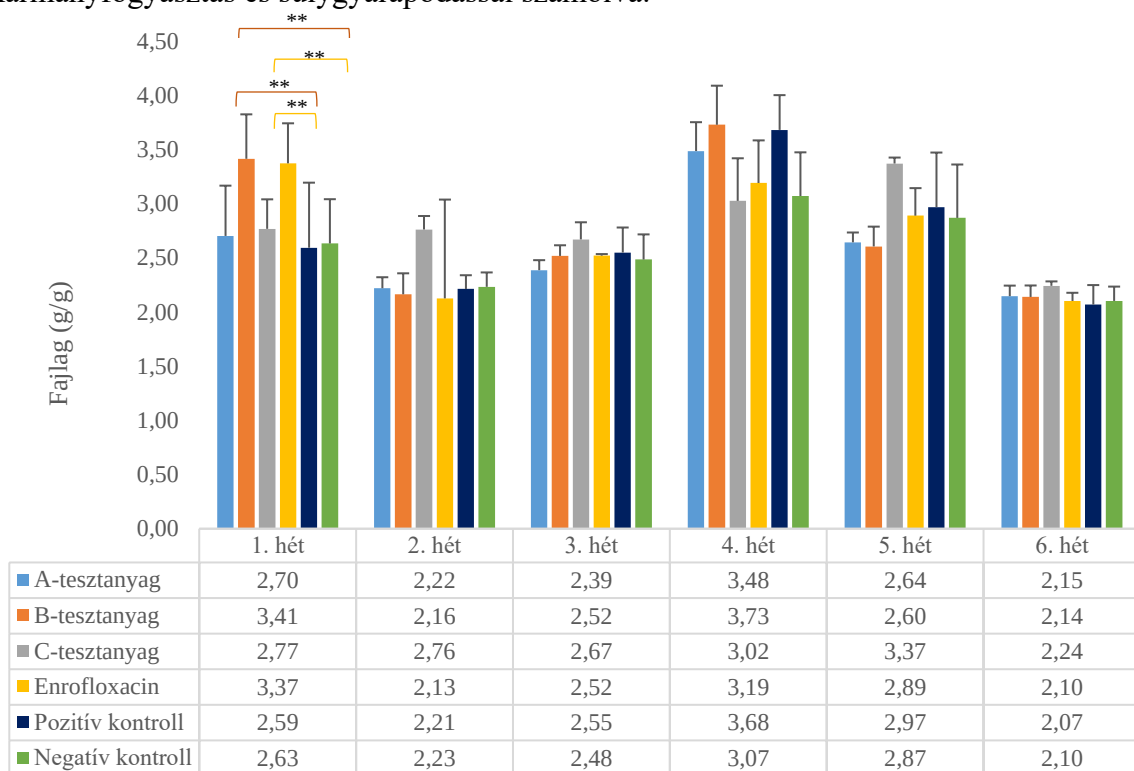
Az egyedi takarmányfogyasztás a 22. napon a C-tesztanyag-negatív kontroll ($p=0,0289$), a 27. napon a C-tesztanyag-B-tesztanyag ($p=0,0353$) és a B-tesztanyag-negatív kontroll ($p=0,0095$), a 29. napon a B-tesztanyag-negatív kontroll ($p=0,0347$), a 36. napon az A-tesztanyag-C-tesztanyag ($p=0,0116$) között mutatott szignifikáns különbséget az egyszempontos varianciaanalízis segítségével végzett statisztikai elemzés során. A 7. ábrán látható grafikusán ábrázolva az egyedi takarmányfogyasztás.



7. ábra Az egyes mérési napok egyedi takarmány fogyasztása kezelésenként

5.5. Fajlag

A fajlag kiszámításához az egyedre vetített takarmányfogyasztás mértékének és a súlygyarapodás mértékének egy napra kiszámított értékének hányadosát vettük alapul. A **8. ábra** az egyes heteken mért takarmány hasznosítását ábrázolja, egy napi takarmányfogyasztás és súlygyarapodással számolva.



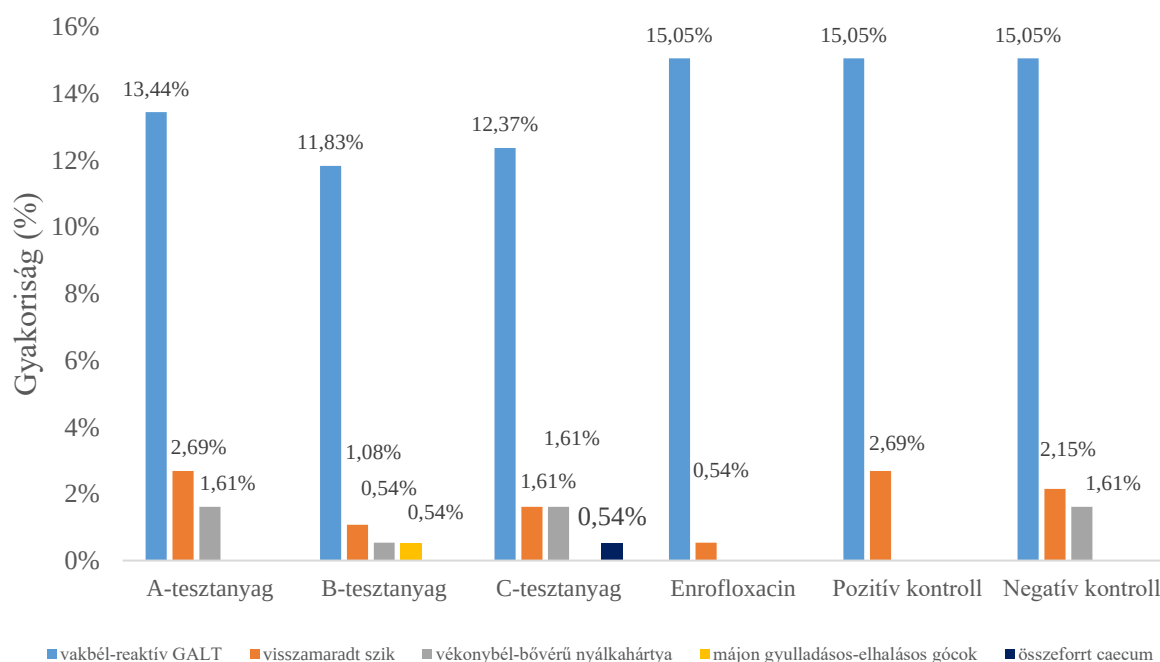
p= 0 ***; 0,001 **; 0,01 *

8. ábra Az egyes hetek fajlaga csoportonként egy napra vetítve, a pozitív és negatív kontrollhoz képest a szignifikáns különbségek jelölésével

A fajlag tekintetében az 1. héten a C-tesztanyag-B-tesztanyag ($p=0,0077$), a B-tesztanyag-negatív kontroll ($p=0,0017$), a B-tesztanyag-pozitív kontroll ($p=0,0013$), az A-tesztanyag-B-tesztanyag ($p=0,0040$), a C-tesztanyag-enrofloxacin ($p=0,0134$), az enrofloxacin-negatív kontroll ($p=0,0030$), az enrofloxacin-pozitív kontroll ($p=0,0022$), az A-tesztanyag-enrofloxacin ($p=0,0072$), az 5. héten a C-tesztanyag-B-tesztanyag ($p=0,0305$) és az A-tesztanyag-C-tesztanyag ($p=0,0455$) között mutatott szignifikáns különbséget az egyszempontos varianciaanalízis segítségével végzett statisztikai elemzés. A pozitív és negatív kontrollhoz képesti szignifikáns különbségeket a **8. ábrán** jelöltük.

5.6. Kórbonctan

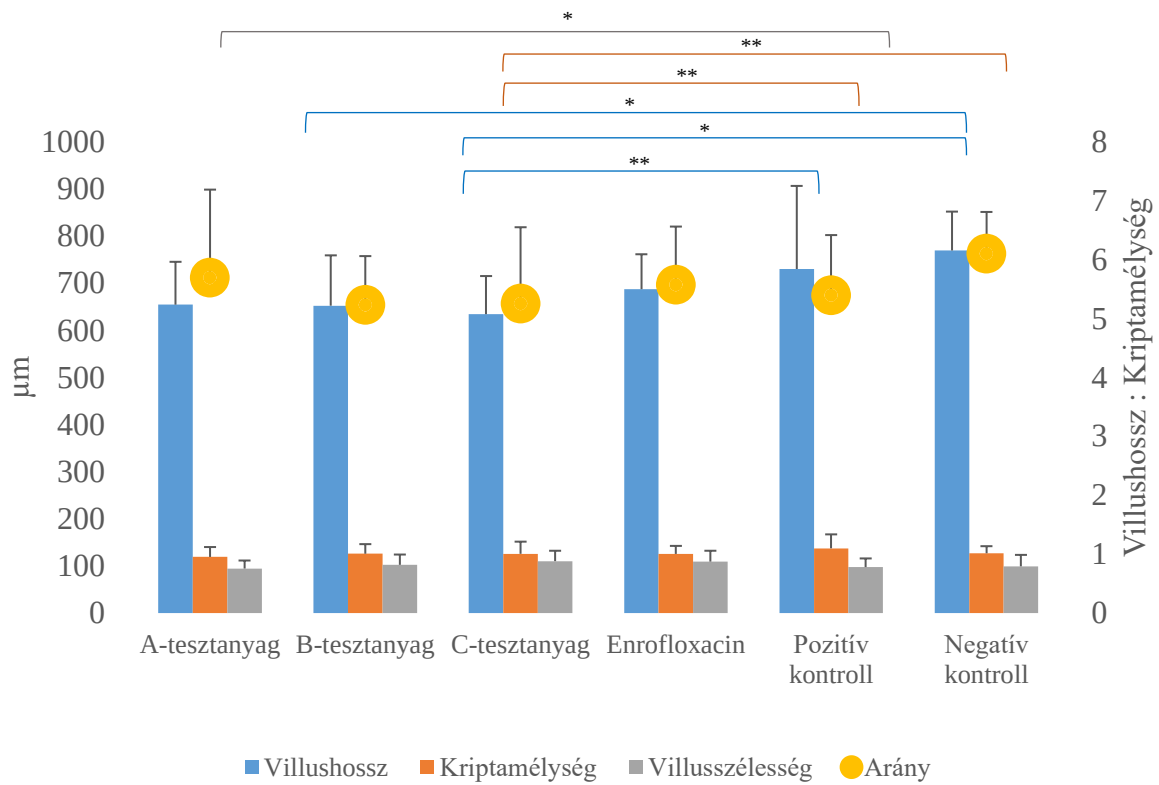
A felnevelés végén az állatok kórboncolására került sor. Az egyes kezelési csoportok esetén tapasztalt elváltozások gyakorisága a **9. ábrán** láthatók. Az összes csoport esetén megfigyelhető volt a vakbél nyiroktüszőinek reaktív gyulladása, ami azonban a különböző növényi kivonattal kezelt csoportok esetén alacsonyabb gyakorisággal fordult elő.



9. ábra A kórboncolás során tapasztalt makroszkópos elváltozások kezelésenként

5.7. Kórszövettan

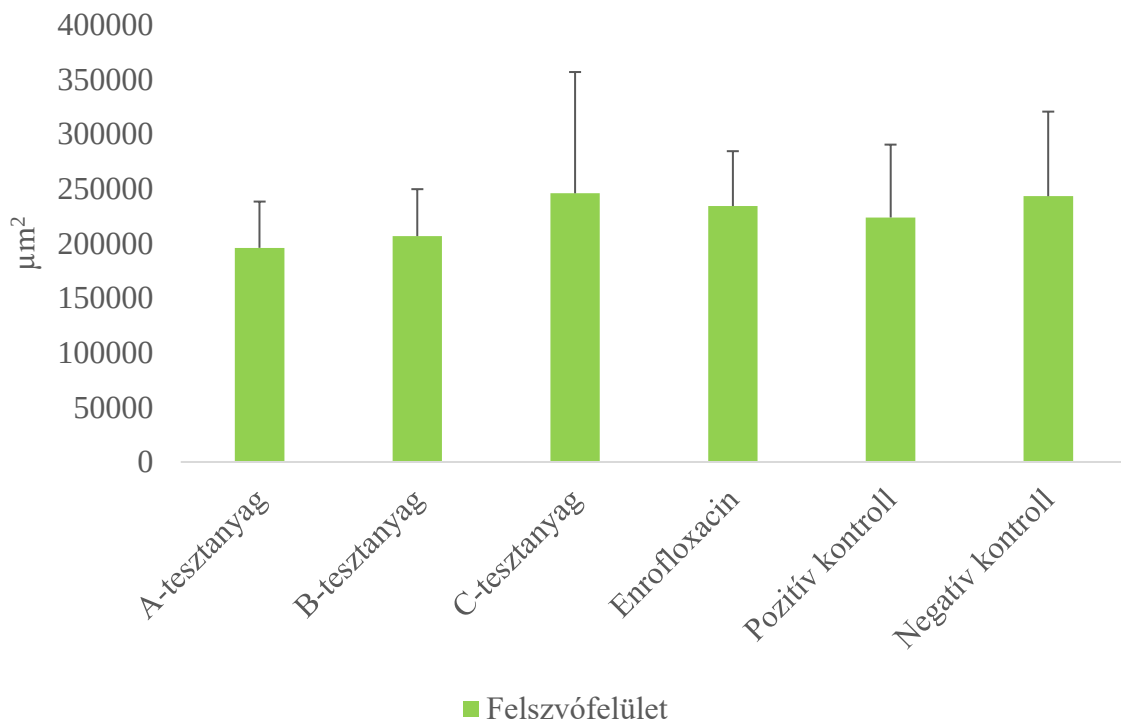
A kórszövettani vizsgálat során a jejunum bélszakaszán mért villushosszt, kriptamélységet villusátmérőt és a villushossz-kriptamélység arányát a **10. ábra** mutatja be kezelési csoportonként.



p= 0 ***; 0,001 **, 0,01 *

10. ábra Az egyes kezelések csoportátlag a mért paraméterek függvényében

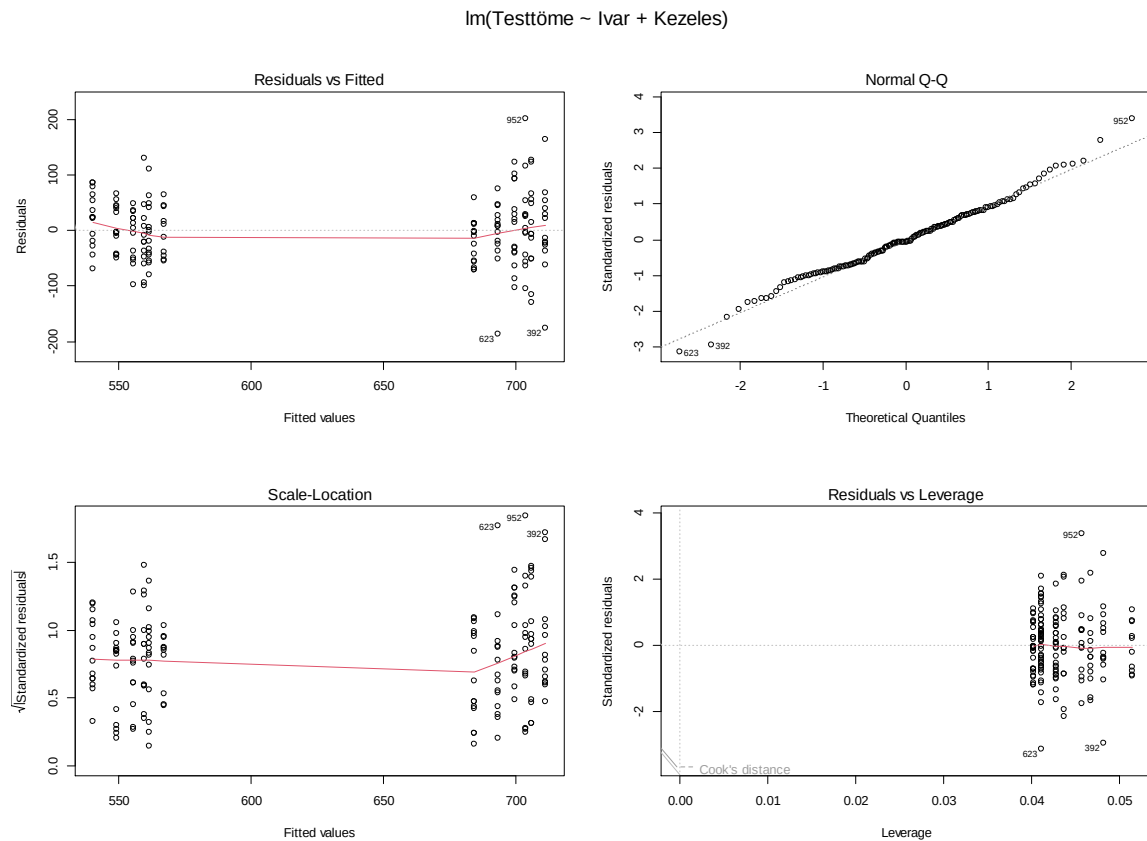
A villushossz és a villusátmérő segítségével számolt felszívófelületet a **11. ábra** szemlélteti kezelési csoportonként. A felszívófelület, amennyiben önmagában tekintjük, szignifikáns különbséget nem találtunk ($p > 0,05$) az egyes csoportok között.



11. ábra Az egyes kezelések csoportátlag a felszívófelület függvényében

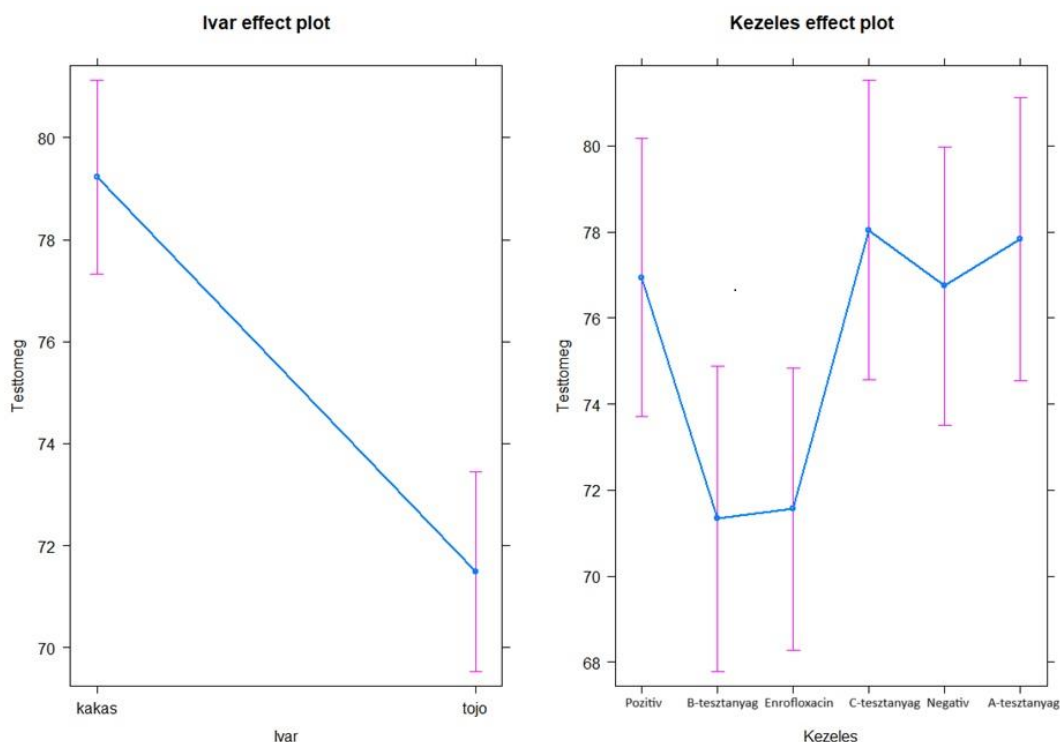
5.8. Statisztika

A testtömeg mérések tekintetében elmondhatjuk, hogy kifejezett az ivar hatása, azonban külön interakciós hatás nem mutatható ki. Ha az ivar szerint csoportosítva vizsgáljuk az eloszlást, akkor az eloszlás külön-külön mindkét nemnél normális (**12. ábra**).



12. ábra Az adatok normalitás eloszlásának vizsgálata, ivar szerint az eloszlás normális, ami a statisztikai próbák futtatásának előfeltétele

Lineáris modellt alkalmaztunk az adatok statisztikai elemzéséhez, figyelembe véve az ivari hatást. Csak a fertőzést követően, a 7. életnapon volt megfigyelhető szignifikáns különbség. A pozitív kontrollhoz képest a B-tesztanyag esetén ($p=0,0224$) és az enrofloxacin kezelés esetén ($p=0,0223$) volt szignifikánsan rosszabb a súlygyarapodás (**13. ábra**), amennyiben a negatív csoporthoz képest hasonlítottuk a súlygyarapodást, akkor a B-tesztanyag esetén a $p=0,0275$ és az enrofloxacin $p=0,0276$ volt.



13. ábra Ivar és kezelés esetén a 7. életnapon mért testtömeg alakulása kezelésenként

A kórszövettani paraméterek statisztikai elemzése során a pozitív kontrollhoz képest szignifikánsan rövidebb villushossz volt mérhető a C-tesztanyaggal etetett csoport esetén ($p=0,0037$), a negatív kontroll ($p=0,0202$) csoporthoz viszonyítva szintén ezt kaptuk. Ha a negatív kontroll csoporthoz képest viszonyítjuk a kezeléseket, akkor szignifikánsan rövidebb villushossz figyelhető meg a B-tesztanyaggal kezelt ($p=0,0372$) csoport esetén.

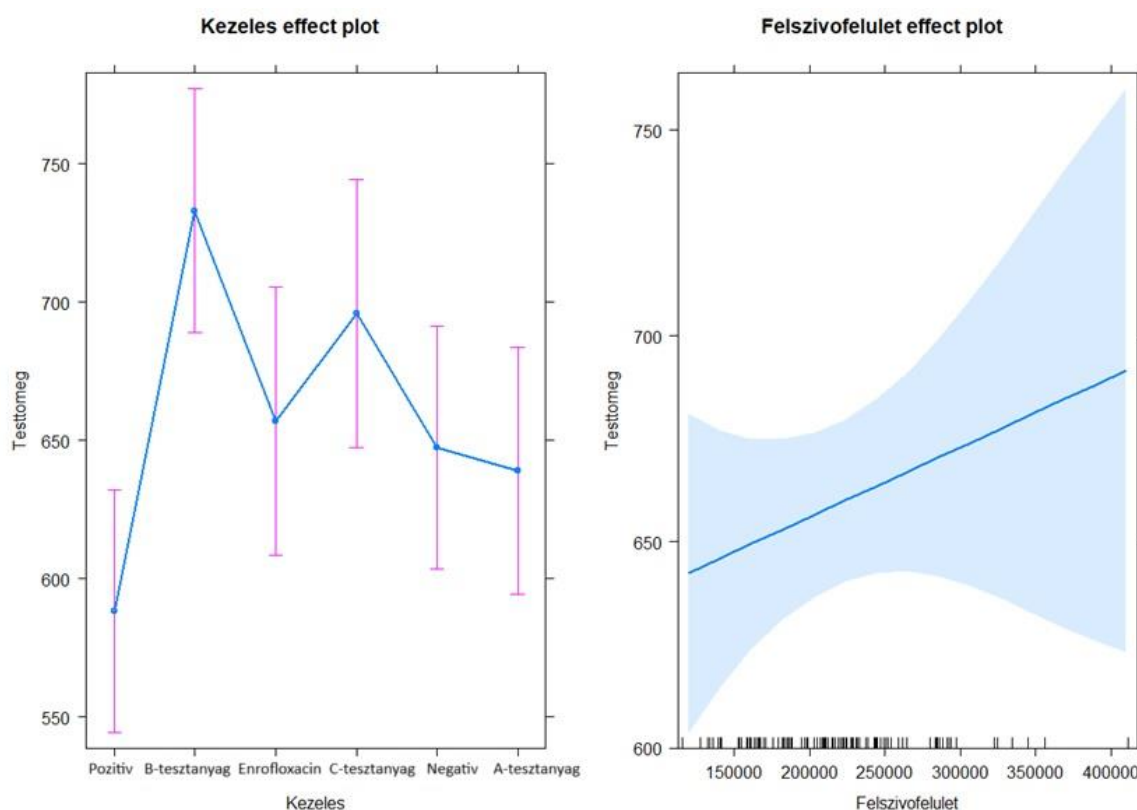
A kriptamélység tekintetében a pozitív kontrollhoz képest a C-tesztanyaggal etetett csoport esetén ($p=0,0046$) voltak szignifikánsan mélyebbek a kripták. Ha a negatív kontrollhoz viszonyítjuk a kezeléseket, akkor ebben az esetben is a C-tesztanyag esetén figyelhetünk meg szignifikánsan jobb értékeket ($p=0,0039$).

Ugyanakkor a villushossz és a kriptamélység aránya az ivar és kezelések tekintetében a pozitív kontroll csoporthoz képest egyik kezelt csoport esetén sem mutatott szignifikáns ($p>0,05$) eltérést, azonban a negatív csoporthoz viszonyítva szignifikánsan kisebb volt ($p=0,0310$) a B-tesztanyag esetén.

A villusszélesség esetén ugyanakkor a pozitív kontroll csoporthoz képest az A-tesztanyaggal kezelt csoport esetén szignifikánsan ($p=0,0276$) keskenyebben voltak a villusok. A negatív kontrollhoz viszonyítva azonban nincs különbség a kezelések között.

A mért paraméterekből számolt felszívófelület esetén, a pozitív kontroll csoporthoz, valamint a negatív csoporthoz képest sem figyelhetünk meg szignifikáns különbséget egyik kezelt csoport esetén sem.

Amennyiben a testtömeg és a kezelések-felszívófelület közötti összefüggéseket vizsgáljuk, akkor megállapíthatjuk, hogy a pozitív kontroll csoporthoz képest szignifikánsan jobb végsúlyt ért el a B-tesztanyaggal kezelt csoport ($p < 0,0001$), az enrofloxacinnal kezelt csoport ($p = 0,0400$) és a C-tesztanyaggal etetett csoport ($p = 0,0015$) is (**14. ábra**). A negatív kontrollhoz viszonyítva a B-tesztanyaggal kezelt csoport esetén figyelhető meg szignifikánsan jobb végsúly ($p = 0,0078$).



14. ábra A kezelések és a felszívófelület összefüggéseinek vizsgálata az állatok testtömegének alakulására nézve kezelésenként

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Összességében elmondhatjuk, hogy sikeresen fertőztük az állatokat *Salmonella* Enterica törzsszel. A klinikai tünetek manifesztálódása elsősorban a bélsár konzisztencia változásában volt tapasztalható, több esetben véres bélsár volt megfigyelhető. A fertőzést követő elhullás oka a legtöbb esetben a visszamaradt sziktömlőből visszavezethető kelésgyengeség. A negatív kontroll csoporton kívül az összes többi elhullás során tapasztalt kórbonctani elváltozások a fertőzés sikerességét támasztják alá. A legnagyobb mértékű elhullás a búzacsírával etetett csoport esetén volt látható (23%), amit a görögszénával etetett csoport követett (17%).

A kloáka tamponmintákból visszaizolált *Salmonella* pozitív minták száma az idő előrehaladtával fokozatosan csökkent. Az egyes kezelések *Salmonella* ürítésre gyakorolt hatását tekintve a legjobb hatékonysággal a probiotikumokkal és a búzacsíra kivonattal kezelt csoportok esetén csökkent a szalmonellát ürítő állatok száma. Az enrofloxacinnal kezelt csoport esetén a fertőzést követő 9. napig nagy volt a szalmonellát ürítő állatok száma a törzs antibiotikummal szembeni érzékenysége ellenére, az állomány végig hordozó maradt. Ez azt erősíti meg, hogy a szalmonellózis eradikációja antibiotikummal szinte lehetetlen. Ehhez képest a búzacsírával kezelt csoport esetén kezdettől fogva csökkenést tapasztaltunk. Varmuzova és mtsai. búzacsírat tartalmazó takarmánykiegészítőt etetve brojlercsirkékkel azt találták, hogy a kimutatható szalmonella mennyisége csak a kezelést követő 14. napra csökkent szignifikáns mértékben a kontrollhoz képest [105]. A probiotikumok esetén számos esetben igazolták, hogy csökkentik a szalmonella kolonizációját csirkében, Pascual és mtsai. *Lactobacillus salivarius* [106], Luoma és mtsai. *Lactobacillus reuteri* esetén találtak szignifikáns csökkenést [107]; Fernandez és mtsai. pedig leírták, hogy a prebiotikumként etetett mannóz-oligoszacharid hozzájárul a *Bifidobacterium* és *Lactobacillus* törzsek vakbélben történő fokozott kolonizációjához, ezáltal csökkentve a szalmonella mennyiségét szignifikánsan [108]. Tabashsum és mtsai. *Lactobacillus casei* esetén mutatták ki, hogy szignifikáns módon csökkenti a szalmonella ürítés mértékét [109]. Számos egyéb növényi kivonat esetén bizonyították a hatékony szalmonella csökkentő hatását, Robinson és mtsai. szalmonellával fertőzött csirkehúst fokhagyma- és gyömbérolajba mártva akár két log CFU-val (99%) történő szalmonella csökkenés lehetőségét írták le [110]. Noel és mtsai. anatóliai bokortölgy és indiai köszméte kivonatok esetén 12,5 mg/ml-es koncentrációban *Salmonella* spp. esetén kifejezett baktericid hatást mutattak ki [111]. Al-Garadi és mtsai. az izógalelevelű lórum növényi kivonata esetén [112],

El-Desoukey és mtsai. varjúhájféle kivonata során bizonyították a hatékony szalmonella-ellenes hatást [113]. Kollanoor-Johny és mtsai. kimutatták, hogy 0,01%-os fahéjaldehid és 0,04%-os eugenol hatékonyan csökkentette a szalmonella invázióját a vakbélben [114]. Kollanoor-Johny és mtsai. transz-fahéjaldehid esetén írták le, hogy hatékonyan képes csökkenteni a vakbél szalmonella tartalmát [115]. Gurram és mtsai. probiotikumot, cikóriát és koriandert etetve azt mutatták ki, hogy szignifikánsan csökkent az ileum szalmonella tartalma [116]. Zou és mtsai. búzacsíra, komló és szőlőmagkivonat keveréket etetve szignifikáns szalmonella mennyiség csökkenést írtak le a bélsárban [117]. Leyva-Diaz és mtsai. azt találták, hogy a réz-acetát, a kurkumin, valamint ezek kombinációja is hatékonyan képes volt a *Salmonella* Typhimurium kolonizációját csökkenteni [118].

A testtömeggyarapodás jelentősen meghaladta a fajtastandardot, amit a jó minőségű *ad libitum* takarmányozásnak tudhatunk be. A takarmányadalékoknak a szalmonellafertőzés melletti súlygyarapodásra gyakorolt hatása csak közvetlenül a fertőzést követő 7. napon volt szignifikánsan jobb a kontroll csoportokhoz képest, a búzacsírával és az enrofloxacinnal kezelt csoportok esetén, amennyiben az ivarhatást figyelembe vettük. Liu és mtsai. cikóriával etetett brojlersirkék esetén szignifikánsan jobb súlygyarapodást mutattak ki [119]. Khoobani és mtsai. kimutatták, hogy mind a probiotikummal és különböző koncentrációjú cikória kivonattal etetett brojlersirke csoportok szignifikánsan jobb súlygyarapodást értek el a kontroll csoporthoz képest [120]. Varmuzova és mtsai. ugyanezt találták kurkumát tartalmazó takarmánykiegészítő etetése mellett [105]. Yang és mtsai. kimutatták brojlersirkék esetén, hogy a harmadik életnaptól kezdve etetett görögszénamag kivonat javította a napi súlygyarapodást [121]. Gurram és mtsai. probiotikumot, cikóriát és koriandert tartalmazó takarmánykiegészítők, illetve ezek kombinációit etetve mindegyik kezelés során szignifikánsan jobb súlygyarapodást mutattak ki a kontroll csoporthoz képest [116]. Zou és mtsai. búzacsíra, komló és szőlőmagkivonat keveréket etetve brojlersirkékkel bizonyos életszakaszban tapasztaltak szignifikánsan jobb súlygyarapodást a kontrollhoz képest [117].

Az egyedi takarmányfogyasztás tekintetében a görögszéna és a negatív kontroll csoport között a 22. napon ($p=0,0289$), valamint a búzacsíra és a negatív kontroll csoport között a 27. napon ($p=0,0095$) és a 29. napon ($p=0,0347$) figyeltünk meg szignifikáns különbséget. A fajlagban csak közvetlenül a fertőzést követően mért 1. hetes életkorban figyelhető meg szignifikáns különbség a búzacsíra-negatív kontroll ($p=0,0017$), a búzacsíra-pozitív kontroll ($p=0,0013$), valamint az enrofloxacin-negatív kontroll ($p=0,0030$) és az enrofloxacin-pozitív kontroll ($p=0,0022$) között. Liu és mtsai. cikóriával etetett brojlersirkék esetén figyeltek

meg szignifikánsan jobb fajlagot [119], Khoobani és mtsai. pedig probiotikummal és különböző koncentrációjú cikória kivonattal etetett brojlercsirkék esetén mutattak ki szignifikánsan jobb fajlagot a kontroll csoporthoz képest [120]. Gurram és mtsai. probiotikumot, cikóriát és koriandert tartalmazó takarmánykiegészítők etetése esetén azonban a takarmányfelvételben nem találtak szignifikáns különbséget, de szignifikánsan javult a fajlag [116].

A felnevelés vége utáni kórboncolás során mindegyik csoport esetén a vakbélben a nyiroktüszők reaktív gyulladása volt, ami mind a probiotikumokkal, mind a búzacsíra és a görögszéná kivonattal etetett csoportok esetén alacsonyabb volt a kontroll csoportokhoz képest. A 42 napos állatokban is sok esetben megfigyelhető volt a visszamaradt szik.

A kórszövettani paraméterek közül mind a villushosszban és a kriptamélységben a görögszénával kezelt csoport esetén voltak a pozitív és negatív kontrollhoz képest is szignifikánsan jobbak a mért értékek, ami bár önmagában a felszívófelület esetén nem mutatott szignifikáns különbséget az egyes csoportok között, azonban, ha a vizsgált állatok testtömegét is figyelembe vettük, akkor a görögszénával kezelt csoport ($p=0,0015$) és a búzacsírával kezelt csoport esetén ($p<0,0001$), valamint az antibiotikum kontrollként alkalmazott enrofloxacinnal kezelt csoport esetén ($p=0,0400$) is a pozitív kontrollhoz képest szignifikánsan nagyobb volt a felszívófelület mérete. Tehát a kezelések következtében a nagyobb végsúly összefüggést mutatott a felszívófelület nagyságával. Yang és mtsai. harmadik életről kezdve etetett görögszénamag kivonat esetén kimutatták, hogy az megnövelte a villushosszt és a villushossz-kriptamélység arányt [121]. Gurram és mtsai. probiotikumot, cikóriát és koriandert tartalmazó takarmánykiegészítők összes kombinációja esetén szignifikánsan nagyobb villushosszt és kriptamélységet, valamint ezek arányát tapasztalták az ileumban [116]. Kareem és mtsai. hasonló módon probiotikum és inulin kombináció alkalmazása esetén az ileum bélszakasz villushossz és kriptamélység növekedéséről számoltak be [122].

Összességében tehát elmondhatjuk, hogy az eredményeink alapján a legígéretesebb takarmánykiegészítő mind a természetes mutatók, mind az ezeket meghatározó kórszövettani paraméterek tekintetében a görögszénát tartalmazó kivonat. Érdemes jelölt lehet még a búzacsíra kivonat is és megfontolandó ezek kombinációban történő alkalmazása. A kettő együttes alkalmazása, a köztük levő esetleges szinergista hatás feltérképezéséhez azonban további *in vivo* vizsgálatok szükségesek.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az állattenyésztésben alkalmazott antibakteriális szerek felhasználásának szigorítása következményesen maga után vonta az alternatív hatóanyagok iránti piaci igényt. A természetes alapú, növényi kivonatok ígéretes lehetőséget jelentenek az antimikrobiális tulajdonságaiknak, könnyű előállíthatóságuknak és gazdaságosságuknak köszönhetően, mindemellett pedig számos fogyasztói elvárásnak megfelelnek.

Kutatásunk célja három különböző növényi eredetű adalékanyagot tartalmazó takarmánykiegészítő hatékonyságának vizsgálata volt, a baromfifélék körében a mai napig humán- és állategészségügyi kockázatot jelentő szalmonellózis leküzdésében, néztük azok súlygyarapodásra és takarmányértékesítésre gyakorolt hatását, emellett eutanáziát követően makroszkopos és kórszövettani vizsgálatokat végeztünk.

A kutatás során 180 Bábólna Tetra-SL tojóhibrid 6 hetes felnevelési időszaka alatt vizsgáltuk mesterséges szalmonellafertőzést követően a görögszénát, búzacsírárt és probiotikumot tartalmazó készítmények hatékonyságát. Az állatokat randomizált módon, de 1:1 ivararányt tartva 18 csoportra osztottuk, kezelésenként három párhuzamos csoportot és kettős vakpróbát alkalmazva. Klinikai esetekből izolált *Salmonella* Enteritidis és *E. coli* törzsekkel történő vegyes fertőzést alkalmaztunk, 6×10^8 CFU és $2,2 \times 10^8$ CFU mennyiségben, begyszonda segítségével a harmadik életnapon.

A kloáka tamponmintákból történő szalmonella izolálás során a görögszénát tartalmazó készítménynél a 9. életnapig magas szalmonella ürítést tapasztaltunk. Legnagyobb mértékben a probiotikummal és a búzacsíra kivonattal etetett csoportok esetén csökkent a szalmonella ürítés mértéke. A testtömeggyarapodás jelentősen meghaladta a fajtastandardot, de a csoportok között a kiszámolt fajlagban nem volt szignifikáns különbség. A görögszénával kezelt csoport esetén a kórszövettani paraméterek közül a villushosszban és a kriptamélységben a pozitív és negatív kontroll csoportokhoz képest szignifikáns különbséget tapasztaltunk; amennyiben a vizsgált állat testtömegét is figyelembe vettük, akkor mind a búzacsírával, mind a kontrollként antibiotikummal kezelt csoport esetén is szignifikánsan nagyobb volt a felszívófelület mérete a pozitív kontrollcsoportokhoz képest.

Összességében megállapítható, hogy a görögszénát tartalmazó takarmánykiegészítő mutatta a legtöbb pozitív hatást, amit a búzacsíra követett. Ennek alapján érdemes lehet a későbbiekben a kettő kombinált hatását vizsgálni, valamint egy dózis-hatás vizsgálattal kiválasztani a legoptimálisabb adagolást.

8. SUMMARY

The tightening of the use of antibacterial agents in livestock farming has resulted in a subsequent market demand for alternative active substances. Natural-based plant extracts are promising options due to their antimicrobial properties, ease of production, cost-effectiveness, and alignment with a wide range of consumer expectations.

Our study aimed to examine the effectiveness of three feed additives containing different plant-based elements in combating salmonellosis, a significant health risk for both humans and animals in poultry farming. We also investigated their impact on weight gain and feed conversion and conducted macroscopic and histopathological analyses after euthanasia.

In the research, we investigated the efficacy of the formulations containing fenugreek, wheat germ, and probiotics following induced salmonella infection during a 6-week rearing phase involving 180 Bábolna Tetra-SL laying hybrids. The animals were randomly allocated into 18 groups with a 1:1 sex ratio, and each treatment group underwent three parallel evaluations in a double-blind trial. A mixed infection with *Salmonella* Enteritidis and *E. coli* strains, isolated from clinical cases, was administered at 6×10^8 CFU and 2.2×10^8 CFU, respectively, using a biopsy probe on the third day of life.

Salmonella isolation from cloacal swab samples revealed elevated Salmonella shedding until day 9 of life in the fenugreek-treated group. The probiotics and wheat germ extract groups displayed the most substantial reduction in Salmonella shedding. While body weight gain significantly exceeded the breed standard, there were no significant differences in calculated species size among the groups. In the fenugreek-treated group, significant deviations were noted in terms of fork length and crypt depth within the pathological parameters, compared to both the positive and negative control groups. Accounting for the tested animal's body weight, both the wheat germ and antibiotic-treated control groups exhibited significantly larger absorption surface areas than the positive control group.

In conclusion, the findings indicate that fenugreek supplementation yielded the most favourable effects, followed by wheat germ. Therefore, further exploration of their combined effects may be worthwhile in the future, alongside determining the optimal dosage through a dose-response study.

9. IRODALOMJEGYZÉK

- Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B (2019) Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology* 51:72–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
- Ghosh D, Veeraghavan B, Elangovan R, Vivekanandan P (2020) Antibiotic Resistance and Epigenetics: More to It than Meets the Eye. *Antimicrob Agents Chemother* 64:e02225-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.02225-19>
- Baquero F (2021) Threats of antibiotic resistance: an obliged reappraisal. *Int Microbiol* 24:499–506. <https://doi.org/10.1007/s10123-021-00184-y>
- Huemer M, Mairpady Shambat S, Brugger SD, Zinkernagel AS (2020) Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO Rep* 21:e51034. <https://doi.org/10.15252/embr.202051034>
- Larsson DGJ, Flach C-F (2022) Antibiotic resistance in the environment. *Nat Rev Microbiol* 20:257–269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>
- D’Costa VM, King CE, Kalan L, Morar M, Sung WWL, Schwarz C, Froese D, Zazula G, Calmels F, Debruyne R, Golding GB, Poinar HN, Wright GD (2011) Antibiotic resistance is ancient. *Nature* 477:457–461. <https://doi.org/10.1038/nature10388>
- Munita JM, Arias CA (2016) Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr* 4:10.1128/microbiolspec.VMBF-0016–2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C (2021) Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens* 10:1310. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>
- Coculescu B (2009) Antimicrobial resistance induced by genetic changes. *J Med Life* 2:114–123
- Soucy SM, Huang J, Gogarten JP (2015) Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat Rev Genet* 16:472–482. <https://doi.org/10.1038/nrg3962>
- Collignon P, Beggs JJ (2019) Socioeconomic Enablers for Contagion: Factors Impelling the Antimicrobial Resistance Epidemic. *Antibiotics (Basel)* 8:86. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030086>
- Collignon P, Beggs JJ, Walsh TR, Gandra S, Laxminarayan R (2018) Anthropological and socioeconomic factors contributing to global antimicrobial resistance: a univariate and multivariable analysis. *Lancet Planet Health* 2:e398–e405. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(18\)30186-4](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(18)30186-4)
- Mala L, Lalouckova K, Skrivanova E (2021) Bacterial Skin Infections in Livestock and Plant-Based Alternatives to Their Antibiotic Treatment. *Animals (Basel)* 11:2473. <https://doi.org/10.3390/ani11082473>
- Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R (2015) Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
- Toni Poole, Cynthia Sheffield (2013) Use and misuse of antimicrobial drugs in poultry and livestock: Mechanisms of antimicrobial resistance. *Pakistan veterinary journal* 33:266–271
- Lyu J, Yang L, Zhang L, Ye B, Wang L (2020) Antibiotics in soil and water in China—a systematic review and source analysis. *Environmental Pollution* 266:115147. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115147>
- Roth N, Käsbohrer A, Mayrhofer S, Zitz U, Hofacre C, Domig KJ (2019) The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview. *Poult Sci* 98:1791–1804. <https://doi.org/10.3382/ps/pey539>
- Mathieu-Huart A, De Lentdecker C, Riviere G, Sissoko F, Rousselle C (2014) French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety (ANSES) health reference values (RV). *Archives Des Maladies Professionnelles Et De L Environnement* 75:292–301
- Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Salem HM, El-Tahan AM, Soliman MM, Youssef GBA, Taha AE, Soliman SM, Ahmed AE, El-kott AF, Al Syaad KM, Swelum AA (2022) Alternatives to antibiotics for organic poultry production: types, modes of action and impacts on bird’s health and production. *Poult Sci* 101:101696. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101696>
- Lamas A, Miranda JM, Regal P, Vázquez B, Franco CM, Cepeda A (2018) A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*. *Microbiological Research* 206:60–73. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.010>
- Chen H-M, Wang Y, Su L-H, Chiu C-H (2013) Nontyphoid *Salmonella* Infection: Microbiology, Clinical Features, and Antimicrobial Therapy. *Pediatrics & Neonatology* 54:147–152. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2013.01.010>
- Feasey NA, Dougan G, Kingsley RA, Heyderman RS, Gordon MA (2012) Invasive non-typhoidal salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. *Lancet* 379:2489–2499. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61752-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61752-2)
- El-Ghany WAA (2020) Salmonellosis: A food borne zoonotic and public health disease in Egypt. *The Journal of Infection in Developing Countries* 14:674–678. <https://doi.org/10.3855/jidc.12739>
- Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks — United States, 1998–2008. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss6202a1.htm>. Accessed 21 Jan 2023
- Chlebicz A, Ślizewska K (2018) *Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review*. *Int J Environ Res Public Health* 15:863. <https://doi.org/10.3390/ijerph15050863>
- Gut AM, Vasiljevic T, Yeager T, Donkor ONY (2018) *Salmonella* infection – prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: a review. *Microbiology* 164:1327–1344. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000709>
- Chanamé Pinedo L, Mughini-Gras L, Franz E, Hald T, Pires SM (2022) Sources and trends of human salmonellosis in Europe, 2015–2019: An analysis of outbreak data. *International Journal of Food Microbiology* 379:109850. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109850>

28. Antunes P, Mourão J, Campos J, Peixe L (2016) Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection* 22:110–121. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.004>
29. Khan FY, Al-Ani A, Ali HA (2009) Typhoid rhabdomyolysis with acute renal failure and acute pancreatitis: a case report and review of the literature. *International Journal of Infectious Diseases* 13:e282–e285. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.11.009>
30. Khan FY, Kamha AA, Alomary IY (2006) Fulminant hepatic failure caused by *Salmonella paratyphi A* Infection. *World J Gastroenterol* 12:5253–5255. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i32.5253>
31. Crump JA (2019) Progress in Typhoid Fever Epidemiology. *Clin Infect Dis* 68:S4–S9. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy846>
32. Masuet-Aumatell C, Atouguia J (2021) Typhoid fever infection – Antibiotic resistance and vaccination strategies: A narrative review. *Travel Medicine and Infectious Disease* 40:101946. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101946>
33. World Health Organization (2011) The immunological basis for immunization series: module 20: salmonella enterica serovar Typhi (typhoid) vaccines
34. Kacprzak E, Stefaniak J, Skoryna-Karcz B, Wojtacha A, Bolewska B, Juszczak J (2002) [Diagnostic difficulties in febrile travellers returning from the tropics. Two cases of typhoid fever imported from India]. *Pol Merkur Lekarski* 13:509–515
35. Olarte J, Galindo E (1973) *Salmonella typhi* resistant to Chloramphenicol, Ampicillin, and Other Antimicrobial Agents: Strains Isolated During an Extensive Typhoid Fever Epidemic in Mexico. *Antimicrob Agents Chemother* 4:597–601
36. Wain J, Hendriksen RS, Mikoleit ML, Keddy KH, Ochiai RL (2015) Typhoid fever. *The Lancet* 385:1136–1145. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62708-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62708-7)
37. Crump JA, Sjölund-Karlsson M, Gordon MA, Parry CM (2015) Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clin Microbiol Rev* 28:901–937. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-15>
38. Lutful Kabir SM (2010) Avian Colibacillosis and Salmonellosis: A Closer Look at Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Control and Public Health Concerns. *Int J Environ Res Public Health* 7:89–114. <https://doi.org/10.3390/ijerph7010089>
39. Henderson SC, Bounous DI, Lee MD (1999) Early Events in the Pathogenesis of Avian Salmonellosis. *Infect Immun* 67:3580–3586
40. Andino A, Hanning I (2015) *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. *ScientificWorldJournal* 2015:520179. <https://doi.org/10.1155/2015/520179>
41. Rabsch W, Hargis BM, Tsolis RM, Kingsley RA, Hinz KH, Tschäpe H, Bäuml AJ (2000) Competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* by *Salmonella gallinarum* in poultry. *Emerg Infect Dis* 6:443–448
42. Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Saad AM, Salem HM, Ashry NM, Abo Ghanima MM, Shukry M, Swelum AA, Taha AE, El-Tahan AM, AbuQamar SF, El-Tarabily KA (2021) Essential oils and their nanoemulsions as green alternatives to antibiotics in poultry nutrition: a comprehensive review. *Poult Sci* 101:101584. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101584>
43. Palombo EA (2006) Phytochemicals from traditional medicinal plants used in the treatment of diarrhoea: modes of action and effects on intestinal function. *Phytother Res* 20:717–724. <https://doi.org/10.1002/ptr.1907>
44. Schultes RE (1978) The Kingdom of plants In: WAR Thomson (ed.), *Medicines from the earth. Medicines from the Earth* New York, NY: McGraw-Hill Book Co 208:
45. Phanchana M, Harnvoravongchai P, Wongkuna S, Phetruen T, Phothichaisri W, Panturat S, Pipatthana M, Charoensutthivarakul S, Chankhamhaengdech S, Janvilisri T (2021) Frontiers in antibiotic alternatives for *Clostridioides difficile* infection. *World Journal of Gastroenterology* 27:7210. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i42.7210>
46. Cowan MM (1999) Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev* 12:564–582
47. Tsuchiya H, Sato M, Miyazaki T, Fujiwara S, Tanigaki S, Ohyama M, Tanaka T, Inuma M (1996) Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol* 50:27–34. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(96\)85514-0](https://doi.org/10.1016/0378-8741(96)85514-0)
48. Allen HK, Trachsel J, Looft T, Casey TA (2014) Finding alternatives to antibiotics. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1323:91–100. <https://doi.org/10.1111/nyas.12468>
49. Gadde U, Kim WH, Oh ST, Lillehoj HS (2017) Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal Health Research Reviews* 18:26–45. <https://doi.org/10.1017/S1466252316000207>
50. Guo FC, Kwakkel RP, Soede J, Williams BA, Verstegen MWA (2004) Effect of a Chinese herb medicine formulation, as an alternative for antibiotics, on performance of broilers. *British Poultry Science* 45:793–797. <https://doi.org/10.1080/00071660400012741>
51. Bravo D, Pirgozliev V, Rose SP (2014) A mixture of carvacrol, cinnamaldehyde, and capsicum oleoresin improves energy utilization and growth performance of broiler chickens fed maize-based diet. *J Anim Sci* 92:1531–1536. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6244>
52. Bravo D, Ionescu C (2008) Meta-analysis of the effect of a mixture of carvacrol, cinnamaldehyde and capsicum oleoresin in broilers. In: *Poultry Science. POULTRY SCIENCE ASSOC INC 1111 N DUNLAP AVE, SAVOY, IL 61874-9604 USA*, pp 75–75
53. Brenes A, Viveros A, Goñi I, Centeno C, Sáyago-Ayerdy SG, Arija I, Saura-Calixto F (2008) Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Poult Sci* 87:307–316. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00297>

54. Leusink G, Rempel H, Skura B, Berktyto M, White W, Yang Y, Rhee JY, Xuan SY, Chiu S, Silversides F, Fitzpatrick S, Diarra MS (2010) Growth performance, meat quality, and gut microflora of broiler chickens fed with cranberry extract. *Poult Sci* 89:1514–1523. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00364>
55. Allen HK, Levine UY, Looft T, Bandrick M, Casey TA (2013) Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends in Microbiology* 21:114–119. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.11.001>
56. Brenes A, Roura E (2010) Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology* 158:1–14. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.007>
57. Franz C, Baser K, Windisch W (2010) Essential oils and aromatic plants in animal feeding – a European perspective. A review. *Flavour and Fragrance Journal* 25:327–340. <https://doi.org/10.1002/ffj.1967>
58. Yousefi M, Khorshidian N, Hosseini H (2020) Potential Application of Essential Oils for Mitigation of *Listeria monocytogenes* in Meat and Poultry Products. *Front Nutr* 7:577287. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.577287>
59. Wang X, Shen Y, Thakur K, Han J, Zhang J-G, Hu F, Wei Z-J (2020) Antibacterial Activity and Mechanism of Ginger Essential Oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Molecules* 25:3955. <https://doi.org/10.3390/molecules25173955>
60. Ramsey JT, Shropshire BC, Nagy TR, Chambers KD, Li Y, Korach KS (2020) Essential Oils and Health. *Yale J Biol Med* 93:291–305
61. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem Toxicol* 46:446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
62. Poutaraud A, Michelot-Antalik A, Plantureux S (2017) Grasslands: A Source of Secondary Metabolites for Livestock Health. *J Agric Food Chem* 65:6535–6553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00425>
63. Anand U, Nandy S, Mundhra A, Das N, Pandey DK, Dey A (2020) A review on antimicrobial botanicals, phytochemicals and natural resistance modifying agents from Apocynaceae family: Possible therapeutic approaches against multidrug resistance in pathogenic microorganisms. *Drug Resistance Updates* 51:100695. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2020.100695>
64. Cardoso MJ, Nicolau AI, Borda D, Nielsen L, Maia RL, Møretør T, Ferreira V, Knøchel S, Langsrud S, Teixeira P (2021) Salmonella in eggs: From shopping to consumption—A review providing an evidence-based analysis of risk factors. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 20:2716–2741. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12753>
65. De Knecht LV, Pires SM, Hald T (2015) Attributing foodborne salmonellosis in humans to animal reservoirs in the European Union using a multi-country stochastic model. *Epidemiol Infect* 143:1175–1186. <https://doi.org/10.1017/S0950268814001903>
66. Gast RK, Jones DR, Guraya R, Anderson KE, Karcher DM (2021) Research Note: Contamination of eggs by *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in experimentally infected laying hens in indoor cage-free housing. *Poult Sci* 100:101438. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101438>
67. Gautron J, Dombre C, Nau F, Feidt C, Guillier L (2022) Review: Production factors affecting the quality of chicken table eggs and egg products in Europe. *Animal* 16:100425. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100425>
68. Bonnefous C, Collin A, Guilloteau LA, Guesdon V, Filliat C, Réhault-Godbert S, Rodenburg TB, Tuytens FAM, Warin L, Steinfeldt S, Baldinger L, Re M, Ponzio R, Zuliani A, Venezia P, Väre M, Parrott P, Walley K, Niemi JK, Leterrier C (2022) Welfare issues and potential solutions for laying hens in free range and organic production systems: A review based on literature and interviews. *Front Vet Sci* 9:952922. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.952922>
69. Whiley H, Ross K (2015) Salmonella and Eggs: From Production to Plate. *Int J Environ Res Public Health* 12:2543–2556. <https://doi.org/10.3390/ijerph120302543>
70. De Reu K, Grijspeerd K, Messens W, Heyndrickx M, Uyttendaele M, Debevere J, Herman L (2006) Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *Int J Food Microbiol* 112:253–260. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.011>
71. Howard ZR, O'Bryan CA, Crandall PG, Ricke SC (2012) Salmonella Enteritidis in shell eggs: Current issues and prospects for control. *Food Research International* 45:755–764. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.030>
72. Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, Van Immerseel F (2009) Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. *FEMS Microbiology Reviews* 33:718–738. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00161.x>
73. Foley SL, Nayak R, Hanning IB, Johnson TJ, Han J, Ricke SC (2011) Population Dynamics of *Salmonella enterica* Serotypes in Commercial Egg and Poultry Production. *Appl Environ Microbiol* 77:4273–4279. <https://doi.org/10.1128/AEM.00598-11>
74. Konkol D, Popiela E, Korczyński M (2020) The effect of an enriched laying environment on welfare, performance, and egg quality parameters of laying hens kept in a cage system. *Poult Sci* 99:3771–3776. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.04.017>
75. Mench JA, Sumner DA, Rosen-Molina JT (2011) Sustainability of egg production in the United States—The policy and market context. *Poultry Science* 90:229–240. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00844>
76. Michel V, Berk J, Bozakova N, van der Eijk J, Estevez I, Mircheva T, Relic R, Rodenburg TB, Sossidou EN, Guinebreière M (2022) The Relationships between Damaging Behaviours and Health in Laying Hens. *Animals (Basel)* 12:986. <https://doi.org/10.3390/ani12080986>
77. Hannah JF, Wilson JL, Cox NA, Cason JA, Bourassa DV, Musgrove MT, Richardson LJ, Rigsby LL, Buhr RJ (2011) Comparison of shell bacteria from unwashed and washed table eggs harvested from caged laying hens and cage-free floor-housed laying hens. *Poultry Science* 90:1586–1593. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01115>

78. Jones DR, Anderson KE, Guard JY (2012) Prevalence of coliforms, Salmonella, Listeria, and Campylobacter associated with eggs and the environment of conventional cage and free-range egg production. *Poultry Science* 91:1195–1202. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01795>
79. Gast RK, Jones DR, Guraya R, Anderson KE, Karcher DM (2020) Research Note: Horizontal transmission and internal organ colonization by Salmonella Enteritidis and Salmonella Kentucky in experimentally infected laying hens in indoor cage-free housing. *Poult Sci* 99:6071–6074. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.006>
80. Vecerek V, Vecerkova L, Voslarova E (2019) Comparison of the frequency of patho-anatomic findings in laying hens with findings in broiler chickens and turkeys detected during post-mortem veterinary inspection. *Poultry Science* 98:5385–5391. <https://doi.org/10.3382/ps/pez364>
81. Jibril AH, Okeke IN, Dalsgaard A, Olsen JE (2021) Association between antimicrobial usage and resistance in Salmonella from poultry farms in Nigeria. *BMC Vet Res* 17:234. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02938-2>
82. Badawy S, Yang Y, Liu Y, Marawan MA, Ares I, Martinez M-A, Martínez-Larrañaga M-R, Wang X, Anadón A, Martínez M (2021) Toxicity induced by ciprofloxacin and enrofloxacin: oxidative stress and metabolism. *Crit Rev Toxicol* 51:754–787. <https://doi.org/10.1080/10408444.2021.2024496>
83. Ma B, Mei X, Lei C, Li C, Gao Y, Kong L, Zhai X, Wang H (2020) Enrofloxacin Shifts Intestinal Microbiota and Metabolic Profiling and Hinders Recovery from Salmonella enterica subsp. enterica Serovar Typhimurium Infection in Neonatal Chickens. *mSphere* 5:e00725–20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00725-20>
84. Morales-Barrera E, Calhoun N, Lobato-Tapia JL, Lucca V, Prado-Rebolledo O, Hernandez-Velasco X, Merino-Guzman R, Petrone-García VM, Latorre JD, Mahaffey BD, Teague KD, Graham LE, Wolfenden AD, Baxter MFA, Hargis BM, Tellez G (2016) Risks Involved in the Use of Enrofloxacin for Salmonella Enteritidis or Salmonella Heidelberg in Commercial Poultry. *Front Vet Sci* 3:72. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00072>
85. Das T, Rana EA, Dutta A, Bostami MdB, Rahman M, Deb P, Nath C, Barua H, Biswas PK (2021) Antimicrobial resistance profiling and burden of resistance genes in zoonotic Salmonella isolated from broiler chicken. *Vet Med* 8:237–244. <https://doi.org/10.1002/vms3.648>
86. Jansen W, van Hout J, Wiegel J, Iatridou D, Chantziaras I, De Briyne N (2022) Colistin Use in European Livestock: Veterinary Field Data on Trends and Perspectives for Further Reduction. *Vet Sci* 9:650. <https://doi.org/10.3390/vetsci9110650>
87. Li Q, Qian C, Zhang X, Zhu T, Shi W, Gao M, Feng C, Xu M, Lin H, Lin L, Lu J, Lin X, Li K, Xu T, Bao Q, Li C, Zhang H (2022) Colistin Resistance and Molecular Characterization of the Genomes of mcr-1-Positive Escherichia coli Clinical Isolates. *Front Cell Infect Microbiol* 12:854534. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.854534>
88. Apostolakis I, Piccirillo A (2018) A review on the current situation and challenges of colistin resistance in poultry production. *Avian Pathology* 47:546–558. <https://doi.org/10.1080/03079457.2018.1524573>
89. Huttner A, Bielicki J, Clements MN, Frimodt-Møller N, Muller AE, Paccaud J-P, Mouton JW (2020) Oral amoxicillin and amoxicillin–clavulanic acid: properties, indications and usage. *Clinical Microbiology and Infection* 26:871–879. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.11.028>
90. Gharieb RM, Tartor YH, Khedr MHE (2015) Non-Typhoidal Salmonella in poultry meat and diarrhoeic patients: prevalence, antibiogram, virulotyping, molecular detection and sequencing of class I integrons in multidrug resistant strains. *Gut Pathog* 7:34. <https://doi.org/10.1186/s13099-015-0081-1>
91. Rafiq K, Islam MR, Siddiky NA, Samad MA, Chowdhury S, Hossain KMM, Rume FI, Hossain MK, Mahub-E-Elahi A, Ali MZ, Rahman M, Amin MR, Masuduzzaman M, Ahmed S, Ara Rumi N, Hossain MT (2022) Antimicrobial Resistance Profile of Common Foodborne Pathogens Recovered from Livestock and Poultry in Bangladesh. *Antibiotics (Basel)* 11:1551. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111551>
92. Bangera SR, Umakanth S, Chowdhury G, Saha RN, Mukhopadhyay AK, Ballal M (2019) Poultry: a receptacle for non-typhoidal Salmonellae and antimicrobial resistance. *Iran J Microbiol* 11:31–38
93. Sohail MN, Rathnamma D, Priya SC, Isloor S, Naryanaswamy HD, Ruban SW, Veeregowda BM (2021) Salmonella from Farm to Table: Isolation, Characterization, and Antimicrobial Resistance of Salmonella from Commercial Broiler Supply Chain and Its Environment. *Biomed Res Int* 2021:3987111. <https://doi.org/10.1155/2021/3987111>
94. Becker B, Cooper MA (2013) Aminoglycoside Antibiotics in the 21st Century. *ACS Chem Biol* 8:105–115. <https://doi.org/10.1021/cb3005116>
95. Ranjbar Malidareh N, Firouzi S, Ranjbar Malidareh N, Habibi H (2013) In vitro and in vivo susceptibility of Salmonella spp. isolated from broiler chickens. *Comp Clin Path* 22:1065–1068. <https://doi.org/10.1007/s00580-012-1527-1>
96. Gad AH, Abo-Shama UH, Harclerode KK, Fakhr MK (2018) Prevalence, Serotyping, Molecular Typing, and Antimicrobial Resistance of Salmonella Isolated From Conventional and Organic Retail Ground Poultry. *Front Microbiol* 9:2653. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02653>
97. Shah DH, Paul NC, Sischo WC, Crespo R, Guard J (2017) Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated Salmonella serotypes. *Poultry Science* 96:687–702. <https://doi.org/10.3382/ps/pew342>
98. Khan MAS, Rahman SR (2022) Use of Phages to Treat Antimicrobial-Resistant Salmonella Infections in Poultry. *Vet Sci* 9:438. <https://doi.org/10.3390/vetsci9080438>
99. (2018) CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 11. th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
100. Vetési F, Mészáros J (1998) A háziállatok diagnosztikai boncolása. *Mezőgazda Kiadó*
101. 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>

102. R Core Team (2020) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
103. Reiczig J, Harnos A, Solymosi N (2014) Biostatistika nem statisztikusoknak, javított utánnomás. Pars Kft., Budapest
104. Linear Mixed Model - an overview | ScienceDirect Topics. <https://www.sciencedirect.com/topics/mathematics/linear-mixed-model>. Accessed 4 Sep 2023
105. Varmuzova K, Matulova ME, Gerzova L, Cejkova D, Gardan-Salmon D, Panhéleux M, Robert F, Sisak F, Havlickova H, Rychlik I (2015) Curcuma and Scutellaria plant extracts protect chickens against inflammation and Salmonella Enteritidis infection. Poult Sci 94:2049–2058. <https://doi.org/10.3382/ps/pev190>
106. Pascual M, Hugas M, Badiola JJ, Monfort JM, Garriga M (1999) Lactobacillus salivarius CTC2197 prevents Salmonella enteritidis colonization in chickens. Appl Environ Microbiol 65:4981–4986. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.11.4981-4986.1999>
107. Luoma A, Markazi A, Shanmugasundaram R, Murugesan GR, Mohnl M, Selvaraj R (2017) Effect of synbiotic supplementation on layer production and cecal Salmonella load during a Salmonella challenge. Poult Sci 96:4208–4216. <https://doi.org/10.3382/ps/pex251>
108. Fernandez F, Hinton M, Van Gils B (2002) Dietary mannan-oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to Salmonella Enteritidis colonization. Avian Pathol 31:49–58. <https://doi.org/10.1080/03079450120106000>
109. Tabashsum Z, Peng M, Alvarado-Martinez Z, Aditya A, Bhatti J, Romo PB, Young A, Biswas D (2020) Competitive reduction of poultry-borne enteric bacterial pathogens in chicken gut with bioactive Lactobacillus casei. Sci Rep 10:16259. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73316-5>
110. Robinson K, Assumpcao ALFV, Arsi K, Donoghue A, Jesudhasan PRR (2022) Ability of Garlic and Ginger Oil to Reduce Salmonella in Post-Harvest Poultry. Animals (Basel) 12:2974. <https://doi.org/10.3390/ani12212974>
111. Nair A, Balasaravanan T, Jadhav S, Mohan V, Kumar C (2020) Harnessing the antibacterial activity of Quercus infectoria and Phyllanthus emblica against antibiotic-resistant Salmonella Typhi and Salmonella Enteritidis of poultry origin. Vet World 13:1388–1396. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1388-1396>
112. Al-Garadi MA, Qaid MM, Alqhtani AH, Pokoo-Aikins A, Al-Mufarrej SI (2022) In vitro phytochemical analysis and antibacterial and antifungal efficacy assessment of ethanolic and aqueous extracts of Rumex nervosus leaves against selected bacteria and fungi. Vet World 15:2725–2737. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.2725-2737>
113. El-Desoukey RMA, Albarakaty FM, Alzamel NM, AlZain MN (2022) Ethnobotanical, phytochemical and antimicrobial activity of Halexylon salicornicum (Ramth) as a graze and promising shrub against selected animal microbes. Saudi J Biol Sci 29:103328. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103328>
114. Kollanoor-Johny A, Mattson T, Baskaran SA, Amalaradjou MA, Babapoor S, March B, Valipe S, Darre M, Hoagland T, Schreiber D, Khan MI, Donoghue A, Donoghue D, Venkitanarayanan K (2012) Reduction of Salmonella enterica serovar enteritidis colonization in 20-day-old broiler chickens by the plant-derived compounds trans-cinnamaldehyde and eugenol. Appl Environ Microbiol 78:2981–2987. <https://doi.org/10.1128/AEM.07643-11>
115. Kollanoor Johny A, Darre MJ, Donoghue AM, Donoghue DJ, Venkitanarayanan K (2010) Antibacterial effect of trans-cinnamaldehyde, eugenol, carvacrol, and thymol on Salmonella Enteritidis and Campylobacter jejuni in chicken cecal contents in vitro1 1Mention of a trade name, proprietary product, or specific equipment does not constitute a guarantee or warranty by the USDA and does not imply its approval to the exclusion of other products that are suitable. Journal of Applied Poultry Research 19:237–244. <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00181>
116. Gurram S, Chinni Preetam V, Vijaya Lakshmi K, Raju MVLN, Venkateswarlu M, Bora S (2022) Synergistic effect of probiotic, chicory root powder and coriander seed powder on growth performance, antioxidant activity and gut health of broiler chickens. PLoS One 17:e0270231. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270231>
117. Zou Q, Meng W, Li C, Wang T, Li D (2023) Feeding broilers with wheat germ, hops and grape seed extract mixture improves growth performance. Front Physiol 14:1144997. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1144997>
118. Leyva-Diaz AA, Hernandez-Patlan D, Solis-Cruz B, Adhikari B, Kwon YM, Latorre JD, Hernandez-Velasco X, Fuente-Martinez B, Hargis BM, Lopez-Arellano R, Tellez-Isaias G (2021) Evaluation of curcumin and copper acetate against Salmonella Typhimurium infection, intestinal permeability, and cecal microbiota composition in broiler chickens. J Anim Sci Biotechnol 12:23. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00545-7>
119. Liu HY, Ivarsson E, Jönsson L, Holm L, Lundh T, Lindberg JE (2011) Growth performance, digestibility, and gut development of broiler chickens on diets with inclusion of chicory (Cichorium intybus L.). Poult Sci 90:815–823. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01181>
120. Khoobani M, Hasheminezhad S-H, Javandel F, Nosrati M, Seidavi A, Kadim IT, Laudadio V, Tufarelli V (2019) Effects of Dietary Chicory (Chicorium intybus L.) and Probiotic Blend as Natural Feed Additives on Performance Traits, Blood Biochemistry, and Gut Microbiota of Broiler Chickens. Antibiotics (Basel) 9:5. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9010005>
121. Yang L, Chen L, Zheng K, Ma Y-J, He R-X, Arowolo MA, Zhou Y-J, Xiao D-F, He J-H (2022) Effects of fenugreek seed extracts on growth performance and intestinal health of broilers. Poult Sci 101:101939. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101939>
122. Kareem KY, Loh TC, Foo HL, Akit H, Samsudin AA (2016) Effects of dietary postbiotic and inulin on growth performance, IGF1 and GHR mRNA expression, faecal microbiota and volatile fatty acids in broilers. BMC Vet Res 12:163. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0790-9>

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni témavezetőmnek, dr. Kerek Ádámnak, hogy lehetőséget biztosított számomra, hogy elmerülhessek a kutatás tudományos világában. Szeretnék külön köszönetet mondani a rengeteg segítségéért és türelméért, kiváló oktatói készségéért, illetve az akadálymentes közös munkáért.

Köszönettel tartozom dr. Jerzsele Ákos tanszékvezető úrnak, aki lehetőséget adott, hogy a Gyógyszertani és Méregtani Tanszéken végezhessem kutatásomat, és biztosította a kutatáshoz szükséges feltételeket. Köszönöm Borbás Éva, állatgondozó nélkülözhetetlen munkáját. Szeretném megköszönni a tanszék munkatársainak, Balogh Katalinnak és Pénzes Imre Tamásnének a laboratóriumi munkákban nyújtott segítséget, előkészítő munkákat. Továbbá köszönöm dr. Mag Patrik és Csirmaz Bence segítségét az állatkísérletek kivitelezése közben.

Köszönöm a Patológiai tanszék részéről dr. Dobra Péter munkáját, a kórbonctani minták kiértékelésével és a kórszövettani vizsgálatok elkészítésével kapcsolatban. A statisztikai elemzésekben dr. Fehérvári Péter nyújtott nélkülözhetetlen segítséget. Köszönet illeti a Dr. Bata Zrt. képviselőjében dr. Bata Zsófiát és dr. Molnár-Nagy Vivianát, akik a projekt finanszírozásához járultak hozzá. Köszönet illeti a szakmai koordinációban nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért dr. Bárdos Krisztinát és professzor dr. Ózsvári László egyetemi tanár urat.

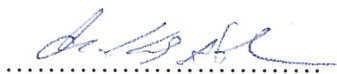
Végül pedig szeretnék köszönetet mondani családomnak, a folyamatos támogatásért.

A kutatás a 2020-1.1.2-PIACI-KFI-2021-00202 „Természetes alapú komplex takarmány adalékok fejlesztése a baromfi mikrobiom optimalizálásának érdekében” projekt támogatásával valósult meg. Az RRF-2.3.1-21-2022-00001 számú projekt a Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszköz és Nemzeti Helyreállítási Alapból nyújtott támogatásával, az RRF-2.3.1-21 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **Dr. Kerek Ádám**, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Szabó Ábel**, **negyedik** évfolyamos hallgató „*Növényi alapú antibiotikum alternatívák in vivo hatékonyságának meghatározása házityúk szalmonellózisa esetén*” című dolgozatát átolvastam és jóváhagytam, részvételét támogatom az Állatorvostudományi Egyetem 2023. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján. Továbbá nyilatkozom, hogy a feltöltött TDK dolgozat plágiumellenőrzésen sikeresen átesett és az esetlegesen feltárt egyezőség az Egyetemi iránymutatásoknak/szabályoknak megfelel.

Budapest, 2023. szeptember 20.



Dr. Kerek Ádám
témavezető