

DIPLOMADOLGOZAT

Kántor Kíra

2025



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Genetika és Biotechnológia Intézet

Mezőgazdasági biotechnológus mesterképzési szak

Állati biotechnológia szakirány

**Paprika extraktumok antimikrobiális hatásának vizsgálata
sertés eredetű és potenciálisan humán patogének esetében**

Belső konzulens: Dr. Kovács Zsófia

Egyetemi adjunktus

Belső konzulens intézete, tanszéke: Genetika és

Biotechnológia Intézet, Genetika és Genomika

Tanszék

Belső konzulens: Dr. Juhász Ákos

Tudományos főmunkatárs

Belső konzulens intézete, tanszéke: Genetika és

Biotechnológia Intézet, Mikrobiológiai és

Alkalmazott Biotechnológia Tanszék

Készítette: Kántor Kíra

Gödöllő

2025

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	2
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
2.1 Az állattenyésztés egészségügyi kihívásai.....	4
2.1.1 Multirezisztens baktériumok az állattenyésztésben	4
2.1.2 <i>Escherichia coli</i> szerepe az állati megbetegedésekben	6
2.2 Takarmánykiegészítők szerepe és szabályozása.....	8
2.2.1 Takarmánykiegészítők funkciója az állattenyésztésben.....	8
2.2.2 Hagyományos és korlátozottan alkalmazható takarmánykiegészítők	9
2.2.3 Alternatív takarmánykiegészítők.....	11
2.3 Polifenolokban gazdag paprikák antimikrobiális hatásának vizsgálata.....	15
3. ALKALMAZOTT MÓDSZEREK	19
3.1 Felhasznált baktériumok.....	19
3.2 Izolátumok azonosítása 16S rDNS szekvenálással és biokémiai tesztekkel	20
3.3 Paprika extraktumok elkészítése és HPLC vizsgálata	23
3.4 <i>E. coli</i> izolátumok antibiotikum-rezisztencia tesztje korongdiffúziós módszerrel és agardiffúziós tesztje az extraktumokkal.....	25
3.5 Paprika extraktumok minimális gátló koncentrációjának meghatározása	26
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSŰK	28
4.1 Izolátumok azonosítása 16S rDNS szekvenálással és biokémiai tesztekkel	28
4.2 Antibiotikum-rezisztencia teszt korongdiffúziós módszerrel	30
4.3 Paprika extraktumok antimikrobiális hatásának vizsgálata agardiffúziós teszttel.....	32
4.4 Paprika extraktumok minimális gátló koncentrációjának meghatározása	37
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	41
6. ÖSSZEFOGLALÁS	43
7. IRODALOMJEGYZÉK.....	45
8. TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE	53
8.1 Táblázatok	53
8.2 Ábrák	54
9. MELLÉKLETEK.....	57
10. NYILATKOZATOK	58
10.1 Hallgatói nyilatkozat.....	58
10.2 MI nyilatkozat	59
10.3 Konzulensi nyilatkozat	61

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az emberi népesség növekedése, a globalizáció, a fogyasztói trendek változása az elmúlt időszakban növelte az állati termékek iránti keresletet. Ez az intenzív kereslet folyamatosan növekedő állattenyésztést és termékfeldolgozást vált ki, amely az élelmiszerek széleskörű mozgatásával jár megkönnyítve a fertőzések terjedését. Emellett a termelékenység hatékonyságának növelése érdekében gyakran magas egyedsűrűségű, zárt tartási rendszereket alkalmaznak a gazdaságokban, amelyek tovább fokozzák a járványos megbetegedések, mikrobiális fertőzések, táplálkozási és korai elválasztáskori stressz okozta problémák megjelenésének kockázatát. A sertésenyésztés kiemelt jelentőségű ágazat globálisan, mivel az egyik legnagyobb mennyiségben előállított állati eredetű élelmiszer. A sertéstartásban az egyik legkritikusabb időszak a fiatal malacok elválasztása, amely során az anyatejről leválasztott malacok bélmikrobiótájának egyensúlya nem stabil. Ekkor gyakori hasmenés és növekedéscsökkenés fordulhat elő, aminek oka leggyakrabban az enterotoxikus *Escherichia coli* törzsek, amelyek különböző virulencia faktokkal rendelkeznek, így az utóbbi időben egyre több multirezisztens törzse jelent meg.

A kórokozók elleni védelemben hosszú időn át a takarmányozásban az antibiotikumok játszották a fő szerepet. Az állattenyésztésben megjelent nem csak terápiás célú, hanem kis, folyamatos dózisban megelőző ágensként és növekedésserkentőként való használatuk is, ami tovább fokozta az antibiotikum-rezisztencia kialakulását, ami mára komoly közegészségügyi és élelmiszer-biztonsági problémává vált. Ennek következményeként ma már számos olyan baktériumtörzs ismert, amely több hatóanyagcsoporttal szemben is ellenálló, így a fertőzések kezelése egyre nehezebbé válik. A 21. században így a hatóságok már világszerte szigorú korlátozásokat vezettek be az antibiotikumok és egyéb antimikrobiális rezisztenciát kiváltó vagy kártékony hatású adalékanyagok hozamnövelőként való alkalmazásában. Ez az irány új kutatási utat nyitott meg a természetes eredetű, biztonságos, de hatékony takarmánykiegészítők fejlesztésére terén. Az állattenyésztésnek manapság már nem csupán a termelékenységi hatékonyságra kell hangsúlyt fektetnie, hanem az állati eredetű termékek biztonságosságára, állati jólétre és fenntarthatóságra is.

A korábban alkalmazott takarmánykiegészítők alternatívájaként potenciális lehetőséget jelenthetnek a növényi eredetű bioaktív vegyületek, amelyek jótékony hatással bírnak az állatok

bélflórájára és a kórokozó baktériumok szaporodását gátolják. A növények másodlagos anyagcseretermékei a polifenolok, e csoporton belül pedig az antociánok, amelyek számos pozitív hatással rendelkeznek. Ezek az anyagok antioxidáns, gyulladáscsökkentő és antimikrobiális tulajdonságúak, így hozzájárulhatnak az állattenyésztés javításához. Ezen növények közé tartozik a paprika (*Capsicum annuum*), amely terméseiben található pigmentek antibakteriális potenciálját már több tanulmány is megerősítette, így értékes forrást jelenthetnek az antibiotikumok kiváltásában.

Munkánk során célul tűztük ki előzetesen sertés bélsármintákból izolált baktériumtörzsek jellemzését, amelyeket szeretnénk volna felhasználni antimikrobiális vizsgálatához. Tíz, előzetes tesztek alapján *Escherichia colin*ak feltételezett baktériumot azonosítottunk szelektív táptalajok, biokémiai tesztek és szekvenálás segítségével. Az antibiotikum-rezisztencia meghatározását korongdiffúziós módszerrel szeretnénk volna végezni annak érdekében, hogy igazoljuk a törzsek multirezisztens jellegét. Antibakteriális hatás vizsgálatához a sertésből izolált baktériumok mellett további négy Gram-pozitív és négy Gram-negatív referencia baktériumtörzset is terveztünk bevonni a kísérletbe.

További céljaink közé tartozott a különböző izogén tenyésztési vonalakból származó lila, lila-piros, zöld és zöld-piros paprika extraktumok antimikrobiális hatásának vizsgálatát, különös tekintettel a polifenolos vegyületekre, amely egy új fitogén kiegészítőt jelenthet a takarmánykiegészítők csoportjában. Feladataim közé tartozott többféle oldószer variációval a kivonat előállításának módszerfejlesztése. A vizsgálatokat agardiffúziós teszttel terveztük indítani, majd minimális gátló koncentráció értéket is kívántunk meghatározni az egyes kivonatok esetében.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 Az állattenyésztés egészségügyi kihívásai

Napjainkban az intenzív állattenyésztés egyik legnagyobb kihívása a fertőző betegségek és mikrobiális rezisztencia megjelenése, valamint kezelése. A Föld jelentősen növekvő népességét ipari tekintetben az állományok sűrűségének növelésével próbálják ellátni, amely fokozza a stresszhatásokat, megbetegedések megjelenését, ami gyakori antibiotikum-használatra kényszeríti a gazdaságokat, amelyek tovább fokozzák a kórokozók terjedését és az antibiotikum-rezisztencia kialakulását. Sertések esetében a hasmenéses tünetekkel járó bakteriális betegségek napjainkban is jelentősen korlátozzák globálisan a sertésenyésztés fejlődését és fejlesztését. Óriási gazdasági veszteségeket, kezelési költségeket okoz, illetve csökkenti a növekedési ütemet (Famuyide et al., 2019). Manapság a baromfi termékek az egyik legmagasabb szinten fogyasztott hústermékek világszerte, Európában így pedig a második legtöbbet előállított és fogyasztott hús termék a sertéshús után (EuroStat, 2022). A baromfi termékek nélkülözhetetlenek az emberi táplálkozásban, mivel kimondottan ideálisak erre a célra: gyorsan növekednek, magas a termelékenységük, így az emberi fehérje ellátásuk is kiváló (Escobedo Del Bosque et al., 2022). Az „élelmiszertermelő” állatokban, főképp a brojlercsirkékben és a tojótyúkokban, számos mikroorganizmus jelenlétét figyelik meg a közegészségügy szempontjából betöltött jelentőségük miatt. Az ebben az iparágban legrelevánsabb és az antimikrobiális gyógyszer-rezisztenciával összefüggésbe hozható kórokozók közé tartozik a *Salmonella enterica*, a *Campylobacter spp.* (különösen a *C. jejuni*), az *Escherichia coli*, az *Enterococcus spp.* és a meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (Żbikowska et al., 2020). Annak érdekében, hogy megőrizzük a környezet, a haszonállatok és saját magunk egészségét szükséges az állattenyésztés globális fejlesztése és alternatív antibakteriális termékek felkutatása és előállítása.

2.1.1 Multirezisztens baktériumok az állattenyésztésben

A multirezisztens mikroorganizmusok megjelenése globálisan az egyik legkomolyabb állat- és humánegészségügyi problémává nőtte ki magát az elmúlt évtizedekben. Az antibiotikumok szélesspektrumú és gyakran túlzó használata jelentősen támogatja a rezisztenciáért felelős gének terjedését. Az intenzív termelés tovább fokozza ezeknek a kialakulását. A World

Health Organization (WHO) 2023-as adatai alapján 2019-ben az antibiotikum-rezisztens baktériumok globálisan 1,27 millió haláleset okozói voltak és 4,95 millió esethez szorosan hozzájárultak. Ezen felül komoly gazdasági károk okozói is ezek a törzsek: 2050-re akár 1 billió amerikai dollár plusz költséget is jelenthetnek az egészségügyi szektorban a World Bank számításai szerint. Az állattenyésztés során alkalmazott antibiotikumok okán kialakuló rezisztens baktérium állomány az állati bélrendszerből, trágyából és szennyvízből kijut a környezetbe, ezáltal az állatok között és állatokról emberre is átvihetőek. A gazdaságokban az állat-gazda között létrejövő közvetlen kontaktus és az élelmiszerláncon keresztüli expozíció is jelentős potenciális útvonal a humán populáció irányába (Davies-Wales, 2019).

Egy baktériumot akkor nevezünk multirezisztensnek, ha az legalább egy antibiotikummal szemben rezisztenciát mutat három vagy több antibiotikum csoporton belül. Ha egy baktérium öt vagy annál több osztályra is rezisztens, akkor azt kiterjedten rezisztensnek nevezzük (extensively drug resistant, XDR) illetve, ha szinte minden elérhető antibiotikumra, akkor azokat pedig pán-rezisztensnek (pan-drug-resistant, PDR) hívjuk (ReAct Group, 2024).

Az állattenyésztésben leggyakrabban előforduló multirezisztens kórokozók közé tartoznak az *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus* és *Campylobacter* fajok (Xu C. et al, 2022). További Wang és munkatársai által 2023-ban multirezisztensként azonosított fajok *Bacteroides spp.*, *Clostridium perfringens*. A multirezisztencia kialakulásához több tényező is vezethet, illetve ezeknek az együttes hatása. A génmutációk csökkentik az antibiotikum hatékonyságát azzal, hogy a hatóanyag nem képes a célfehérjéhez kötődni. Antibiotikumokat gátló folyamat még a környezetben maradó hatóanyagok (trágya, szennyvíz), amelyek állandó szelekciós nyomást gyakorolnak a baktérium fajokra, illetve ezeken felül kialakulhat ko-rezisztencia is, miszerint a rezisztenciáért felelős genetikai elem több antibiotikum osztályt is gátolni képes. Emellett a horizontális géntranszfer, tehát a fajok közötti rezisztenciagén átadása is csökkenti az antibiotikum hatékonyságot a mobilis genetikai elemek segítségével, például plazmidok, transzpozonok, integronok által. A legtöbb, rezisztenciáért felelős gén ezeken a mobilis genetikai elemeken található meg. A leggyakrabban állattenyésztésben detektált gének közé tartozik a β -laktám hatóanyag bontásáért felelős gének, ezek a *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M*. Más, antibiotikum hatóanyagot semlegesíteni képes gének a *tetA*, *tetM*, ezek tetraciklin rezisztenciát válthatnak ki. Colistin rezisztenciáért felelős gének a *mcr-1* és *mcr-3*, főleg *E. coli*ban

fordulnak elő. Ezeken felül a makrolid hatóanyag bontásáért felelős gének a *ermB* és *mefA*, illetve az aminoglikozid-rezisztenciában az *aac(3)-II* és *aadA1* gének játszanak jelentős szerepet (Xu C. et al, 2022).

2.1.2 *Escherichia coli* szerepe az állati megbetegedésekben

Az *Escherichia coli* a bélflóra természetes tagja, amely egy pálcika alakú, Gram-negatív baktérium az *Enterobacteriaceae* családon belül. A faj 1885-ben lett elsőként izolálva Theodor Escherich által. Születés után néhány órával az *E. coli* megtelepszik a gyomor-bél traktusban, mint kommenzalista baktérium, azonban bizonyos virulencia faktort szerző patotípusai súlyos hasmenéses és szisztémás megbetegedéseket okozhatnak (Pakbin, 2021).

Az *E. coli* törzseket két fő kategóriába lehet sorolni: bélrendszeri (intesztinális) vagy extraintesztinális (ExPEC) patotípusok. Az ezekhez tartozó főbb betegségek és előfordulások az 1. táblázatban találhatóak. A betegséget okozó képességet egymással együttműködő virulencia faktorok határozzák meg. Ezek közé tartoznak az adhéziós faktorok, amelyek baktérium gazdaszervezet bélhámsejtjeihez való tapadást segítik elő. Ez a virulencia első lépése, mert enélkül nem képesek a baktérium sejtek kolonizálni az emésztőrendszert. Az adhéziós faktorok két csoportra oszthatóak: fimbriális és nem fimbriális. Például az enterotoxikus *E. coli* (ETEC) esetében az adhézióért az F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P), F18 és F41 fimbriális gének felelnek. Más *E. coli* típusoknál nem a fimbriális gének, hanem az *eae* gén és *Tir* receptor játszik ebben fő szerepet. A virulencia faktorokhoz tartoznak még a toxinok, amelyek olyan fehérjék, amik sejtkárosító vagy immunmoduláló hatást fejtenek ki a gazdaszervezetre. Az ETEC törzsek hőlabilis és hőstabil enterotoxinokat is termelnek, amelyek a sejten belüli cGMP (cyclic guanosine-monophosphate) szintet fokozzák, ezzel hasmenést okozva. Az EHEC és STEC törzsek Shiga-toxinokat (*Stx1*, *Stx2*) termelnek, amelyek gátolják a fehérjeszintézist, és súlyos esetben hemolitikus urémiás szindrómát válthatnak ki. További faktornak tekinthető még a mobilis genetikai elemek megléte is. Kiegészítő faktorként megjelenhet még hemolizin, ami egy sejlízist okozó fehérje, főleg az ExPEC és EHEC törzsekben, illetve a megjelenhet még a biofilm képzés képessége is (Gomes et al., 2021).

1. táblázat: Összefoglaló táblázat a patogén *E. coli* törzsek patotípusairól a megjelölt források alapján.
(Forrás: saját munka)

Patotípus	Betegség	Előfordulás	Forrás
ETEC (Enterotoxigenic <i>E. coli</i>)	Hasmenés főként fiatal állatokban	Sertés, borjú, ember	Qadri et al., 2005
EPEC (Enteropathogenic <i>E. coli</i>)	Bélgátokhoz tapadva léziókat okoz újszülöttekben	Ember	Nataro-Kaper, 1998
EHEC/STEC (Enterohemorrhagic/Shiga toxin-termelő <i>E. coli</i>)	Vérzéses székrekedés, hemolitikus urémiás szindróma	Szarvasmarha, ember	Kamali et al., 2010
EIEC (Enteroinvasive <i>E. coli</i>)	Gyulladásos hasmenés	Ember	Croxen et al., 2013
EAEC (Enteropathogenic <i>E. coli</i>)	Krónikus hasmenés	Ember	Gomes et al., 2016
DAEC (Diffusely Adherent <i>E. coli</i>)	Krónikus hasmenés	Ember, ritkán állat	Servin, 2014
AIEC (Adherent-Invasive <i>E. coli</i>)	Crohn-betegséggel hozták összefüggésbe	Ember	Palmela et al., 2018
ExPEC (Extraintestinal Pathogenic <i>E. coli</i>)	Bélrendszeren kívüli fertőzéseket okoz (pl. agyhártyagyulladás, légúti fertőzés)	Ember, állat	Pitout et al., 2012

2.2 Takarmánykiegészítők szerepe és szabályozása

2.2.1 Takarmánykiegészítők funkciója az állattenyésztésben

A takarmánykiegészítők alkalmazása a modern állattenyésztésben a termelési hatékonyság, az immunitás és az állatok általános egészségügyi állapotának javítását szolgálja. Az adalékanyagok lehetővé teszik a tápanyagok jobb hasznosulását és segítenek a környezeti stresszhatások mérséklésében.

Definíció szerint a takarmánykiegészítők olyan állati takarmányozásban használt termékek, amelyek valamilyen hatást kívánnak elérni a takarmányon, az állaton vagy az állati eredetű élelmiszeren, környezeten. Például a takarmány-adalékanyagokat az ízélmény fokozására használják a takarmányban vagy amiatt, hogy elérjenek az állati termék előállításával valamilyen tápanyag értéket vagy az állat teljesítményét növeljék a megfelelő egészség megőrzése mellett. Ezek a kiegészítők állati élelmiszert képző állatok esetében és házi állatok takarmányában használandóak (Európai Bizottság, 2025).

Csoportosításuk alapján ezek lehetnek:

- technológiai adalékanyagok – például tartósítószeresek, antioxidánsok, emulgeálószeresek, sav szabályozók, silózási adalékanyagok
- érzékszervi adalékanyagok – ízfokozók, színezők
- tápérték adalékanyagok – vitaminok, aminosavak, nyomelemek
- zootechnikai adalékanyagok – emésztést elősegítő szerek
- kokcidiosztatikumok és hisztomonosztatikumok

A takarmány-adalékanyagok nem hozhatók forgalomba, kivéve, ha tudományos értékelést követően, - amely igazolja, hogy az adalékanyagoknak nincs káros hatása az emberi és állati egészségre, valamint a környezetre – engedélyezésre kerültek. Mindkét típusú engedély 10 évig érvényes az EU-ban és az Európai Gazdasági Térségben (EGT). A takarmány-adalékanyagokról szóló rendelet (az 1831/2003/EK rendelet, 2003. szeptember) eljárást hozott létre a takarmány-adalékanyagok engedélyezésére és továbbá ebben a rendeletben szabályozzák a forgalomba hozataluk, címkézésük és felhasználásuk követelményeit (Európai Bizottság, 2025).

2.2.2 Hagyományos és korlátozottan alkalmazható takarmánykiegészítők

Az antibiotikumok az 1940-es években jelentek meg elsőként humán gyógyászatban a felfedezésüket követően, viszont nemsokkal később az állattenyésztésben is elkezdtek őket használni. Kezdetben a bélrendszeri betegségeket kezelték velük és csökkentették a kimondottan patogén baktériumok általi megbetegedések kockázatát is (Zhang et al., 2016). Az antibiotikumokkal sikerült fokozni a takarmányhasznosítási rátát és az állatok méretét is. Továbbá cél volt a kedvezőbb bélflóra kialakulása és a betegségek megelőzése is, amelyet kis, folyamatos dózissal próbáltak elérni (Kirchelle, 2018). Ez gazdaságilag is segítette a termelőket, mivel így az antibiotikumok növekedés serkentőként való alkalmazásával olcsóbbá vált a testtömeggyarapodás és csökkent a takarmány egységre jutó költsége is (Dibner-Richards, 2005).

Az antibiotikumokat hatóanyagok alapján osztályokra bontották, amely később megalapozta a multirezisztencia kifejezés létrejöttét. A β -laktám antibiotikumok, például penicillinek, cefalosporinok a baktérium sejtfalának polipeptidglikán szintézisét gátolják. Egy másik csoport az aminoglikozidok, amelyek a fehérjeszintézist akadályozzák a riboszóma 30S alegységén. Ehhez a csoporthoz tartoznak a gentamicinek, streptomocinek. A tetraciklinek csoportjában tartoznak a tetraciklin, oxitetraciklin és doxiciklin, amik szintén a fehérjeszintézist akadályozzák azzal, hogy gátolják a tRNS bekötődését a riboszóma megfelelő pontjára. A makrolidok (például eritromicin, tilozin) szintén a riboszóma működését blokkolják azzal, hogy megakadályozzák a peptidlánc szintézisét. Közvetlenül a DNS szintézisben végez gátlást a fluorokinolok osztálya, amik a DNS-giráz és a topoizomeráz enzimeket gátolják. Szintén a DNS szintézist gátolja a szulfonamidok/trimetoprimok osztálya, ide tartozik például a szulfametoxazol. További csoport a polimixinek, amik a sejhártyát károsítják. A glikopeptidek kimondottan a Gram-pozitív baktériumokra hatnak a sejtfal szintézis gátlásával (például vankomicin, teikoplanin). Az utolsó csoport pedig a fenikolok, amelyek szintén a fehérjeszintézist blokkolják. Ebben a csoportban vannak a kloramfenikolok és florfenikolok. Az állattenyésztésben leggyakrabban használt csoportok a tetraciklinek, β -laktámok, fluorokinolonok, makrolidok és szulfonamidok (Adzitey, 2015).

Az Európai Unió tagállamaiban 1980-as években kezdett felmerülni, hogy az antibiotikumok állati takarmányozásban adalékanyagként való használata felelős az antibakteriális rezisztencia kialakulásáért. Elsőként önálló nemzeti döntésként Svédország tiltott be 1986-ban minden, nem

terápiás felhasználású antibiotikumot (Alliance to Save Our Antibiotics, 2024). Elsőként az avoparcin tilalmával kezdték el a korlátozásokat 1997-ben az Európai Unióban, amely egy glikopeptid antibiotikum volt (The Poultry Site, 2005). Ezt követően az EU-ban 1999-ben számos más antibiotikum és antibiotikum növekedés serkentőként való használatát is betiltották (például tylosin, spiramycin, bacitracin, virginiamycin, carbadox, olaquinox). További betiltott antibiotikum manapság avilamicin, monenzin és salinomycin is. (Famuyide et al., 2019). A teljes tiltást 2006-ban vezették be az EU-ban egységesen, amelyet a *Regulation (EC) No 1831/2003* szabályozással történt meg. Az Egyesült Államokban az FDA (US Food and Drug Administration) 2016-ban, Kanadában pedig 2017-ben vezettek be a hasonló szigorításokat (Maron et al., 2013). A döntést gazdaságilag is alátámasztja 2015-ben Teillant és munkatársai által készített összefoglalás, amelyben részletezik, hogy míg rövid távon gazdasági előnyt jelentett a termelőknek az antibiotikumok növekedés-serkentőként való alkalmazása, addig hosszabb távon ez externális költségekhez vezethet, mivel csökkenni fog a gyógyszer-hatékonyság és nőni a környezeti terhelés. Továbbá, alkalmazásuk már alapgyakorlatnak számít, így nem jelenthet a jövőben új előnyöket sem a manapság feltörekvő állattartás technológiai és genetikai ismeretek mellett.

Az antibiotikumok mellett több más, nem antibiotikumos takarmány-kiegészítő is korlátozás vagy tiltás alá került az Európai Unióban, mivel hosszú távú alkalmazásuk környezeti vagy egészségügyi kockázatot hordozott. Erre egy példa a cink-oxid (ZnO), amelyet több évtizedig használtak a sertések elválasztáskori hasmenésének (post-weaning diarrhea, PWD) megelőzésére a bélflóra stabilizálásának elérésével. Az elválasztás során jelentkező stressz és étrendváltás gyakran a patogén *Escherichia coli* túlszaporodásához vezet. A ZnO a bélrendszerben antibakteriális, gyulladáscsökkentő, és nyálkahártya-védő hatásával csökkentette a betegség kialakulását, így az antibiotikumok alternatívájaként szolgált (Wei X. et al., 2020). Viszont ennek a kiegészítőnek az Unió szintén betiltotta terápiás dózisban való használatát 2022-ben (Veterinary Medicines Directorate UK, 2022). Más takarmányadalékok például az arzén-alapú kiegészítők, amelyeket az 1940-es évektől használtak főleg a baromfi- és sertéstenyésztésben, mivel fokozta a termékminőséget, növelte az állatok méretét és csökkentette a fertőzések megjelenését. Az Egyesült Államokban az FDA 2013-ban tiltotta be ezeknek a szereknek a használatát, az EU pedig 1999-ben (The Poultry Site, 2017).

Időközben a korlátozásokkal párhuzamosan a közvélemény is fokozatosan felismerte a szintetikus gyógyszerek túlzott alkalmazásából eredő egészségügyi és környezeti kockázatokat, így nőtt az organikus élelmiszerek iránti kereslet (Mohammadi Gheisar és Kim, 2018). Annak érdekében, hogy a romlás ne fokozódjon tovább, szükséges találni és kutatni az antibiotikumokat és az azokat helyettesíteni képes alternatív takarmánykiegészítőket.

2.2.3 Alternatív takarmánykiegészítők

Az alternatív antimikrobiális hatást generáló takarmánykiegészítők esetében rengeteg lehetőség rejlik, hogy azokkal váltsuk le a korábban használt antibiotikumokat, ezzel megelőzve az antibiotikum-rezisztencia széleskörű kialakulását amellet, hogy megőrizzük az állatok és saját magunk egészségét. Számos takarmány-adalékanyagról számoltak már be, hogy potenciális antibiotikum-helyettesítőként szolgálhatnak az állati takarmányokban. Ilyenek például az enzimek, szerves savak, prebiotikumok, probiotikumok, szerves ásványi anyagok, oligoszacharidok, toxinmegkötők és fitogén takarmány-adalékanyagok (Famuyide et al., 2019).

2.2.3.1 Probiotikumok

A probiotikumok elméletét először Metchnikov vetette fel 1907-ben, mikor megfigyelte, hogy bizonyos mikroorganizmusok pozitívan hatnak a bél mikrobiótájára. A probiotikumok fogalma sokáig módosítás alatt állt, majd a Food and Agriculture Organization (FAO) és World Health Organization (WHO) fogalmazta meg 2002-ben a definíciót, amelyet 2013-ban az International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) is elfogadott. A probiotikumok élő, kiválasztott mikroorganizmusok, amelyeket megfelelő mennyiségben alkalmazva egészségügyi előnyt biztosítanak a gazdaszervezet számára (Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, 2002). Hatékonyságukat sok minden befolyásolja, mint például a mikrobatorzs, dózis, állatfaj és életkor. Az állattenyésztés területén elsősorban sertések és baromfik takarmányozására használják jelenleg növekedés serkentőként és terápiás céllal. A probiotikumból különböző készítményeket gyártanak por, szuszpenzió, kapszula, gél, paszta formájában, amelyek így közvetlenül vagy a takarmánnyal együtt közvetetten adagolhatóak

(Markowiak-Śliżewska, 2018). A felhasználhatóságának főbb kritériumait az FAO és WHO munkacsoportja fogalmazta meg, amelyek a következők:

- Pontos taxonómiai azonosítása a felhasznált kultúrának
- Biztonságosság - nincs patogenitás, toxintermelés, antibiotikum-rezisztencia
- Fiziológiás tulajdonságok - nincs sav-tolerancia
- Adhéziós képesség a bélhámsejtekhez
- Vizsgálatokkal igazolt kedvező hatás és dózis meghatározás
- Stabilitás és életképesség a gyártás során

Manapság számos tanulmányban közölték már a probiotikumok pozitív hatásait állatok takarmányozásánál. A vizsgálatok eredményei szerint a probiotikumok különösen hatékonyak a takarmányhasznosítás és a növekedési teljesítmény javításában, valamint a bélrendszeri egyensúly fenntartásában. Például az *Escherichia faecium* bojlercsirkék táplálékába 21 napon át keverve növelte a napi testtömeg-gyarapodást és a tápanyag-hasznosulást (Samli et al., 2007). A *Lactobacillus plantarum* és *L. salivarius* törzsekkel végzett kísérletek szintén a laktobacillusok bélbeli populációjának növekedését és a hasmenés időtartamának csökkenését mutatták ki (Takahashi et al., 2007 és Casey et al., 2007). Egyes vizsgálatokban a probiotikumok a termékminőségre is pozitív hatással voltak: például *Bacillus licheniformis* és *B. subtilis* törzsek alkalmazása növelte a tej zsírtartalmát és fehérjeszintjét tejelő juhoknál (Kritas et al., 2006 és Alexopoulos et al., 2004), valamint javította a tojás minőségét és a héj szilárdságát tojótyúkok esetében (Kurtoglu et al., 2004).

2.2.3.2 Prebiotikumok

A prebiotikumok alkalmazása az 1990-es években kezdődött, majd definíciójukat modernizálva 2016-ban az ISAPP adta meg. A prebiotikumok az új fogalom szerint már nem csak szénhidrátok, hanem lehetnek más vegyületek is, amelyek jótékonyan hatnak az emberi vagy állati mikrobiótára. Lehetnek akár bioaktív vegyületek, mint például polifenolok vagy többszörösen telítetlen zsírsavak is. Legfőbb tulajdonságuk, hogy nem szívódhatnak fel a vékonybélben, hanem a vastagbélbe jutva célzott anyagcsere útvonalon mennek keresztül, ezzel segítve a gazdaszervezet egészségét. A legnépszerűbb, már leírt és alkalmazott prebiotikumok a nem emészthető

poliszacharidok (frukto-oligoszacharidok, galakto-oligoszacharidok). A *Bifidobacterium*-ok által termelt β -fruktanozidáz, β -galaktozidáz enzimek bontják ezeket a vegyületeket, így ezek a jótékony hatású baktériumok el tudnak szaporodni az emésztőrendszerben (Markowiak-Ślizewska, 2018). Wang (2009) szerint öt kritériuma van annak, hogy egy vegyületet prebiotikumnak nevezhessünk: emésztés elleni rezisztenciával rendelkezzen az emésztőrendszer felső traktusában, intesztinális mikroorganizmusok emészteni tudják, jótékony hatással rendelkezzenek a gazdaszervet irányába, szelektíven stimulálják a probiotikumok szaporodását és növekedését, stabilitást mutassanak többféle élelmiszer/takarmány feldolgozási folyamatokban.

A prebiotikumok esetében is rengeteg vizsgálat folyik azok állattenyésztésben való leghatékonyabb alkalmazhatóságáról. Smiricky-Tjardes és munkatársai (2003) sertéseknél 6 héten át transz-galakto-oligoszacharidot (TOS) tartalmazó adalékanyagot vizsgáltak és szignifikáns növekedést tapasztaltak a *Bifidobacterium* és *Lactobacillus* törzsek számában a kontrollcsoporthoz képest. Tzortzis és munkatársai (2005) szintén sertéseken kísérletezett, egy új, *Bifidobacterium bifidum* által termelt GOS-keveréket alkalmazva, amely nemcsak növelte a *Bifidobacterium* számát és az ecetsavszintet, hanem csökkentette a bél pH-ját és gátolta az *E. coli* és *Salmonella* felületi adhézióját. Yusrizal és Chen (2003) brojlersirkéknél a cikóriából származó fruktánok takarmányba keverése során nemcsak a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek aránya nőtt, hanem a testtömeg-gyapodás és takarmányhasznosulás javulását is megfigyelték.

A probiotikumok és prebiotikumok együttes hatása, mint szimbiotikumok hatékonyabban tudják támogatni a bélmikrobióta egyensúlyát és ígéretes antibiotikum alternatívát jelentenek az állattenyésztésben (Markowiak-Ślizewska, 2018).

2.2.3.3 Fitogén adalékanyagok

A biztonságos antibakteriális alternatívákat, például a gyógynövényeket, az ókor óta használják természetes gyógyszerekként és élelmiszer-tartósítószerként (Christaki et al., 2012). A növényi eredetű metabolitok, más néven fitogén anyagcseretermékek az utóbbi években kiemelten kutatottak, mint potenciális új, terápiás, hatékony takarmány-adalékanyagok. Számos növényi kivonat és növényi eredetű termék, például az illóolajok ígéretesnek bizonyulnak a haszonállatok növekedésének és egészségének fokozására. Cél az, hogy ezek hatékonysága

összehasonlítható legyen a hagyományos takarmány-antimikrobiális szerekkel (Omonijo et al., 2018).

A növények iránti érdeklődés a biológiai aktivitásuk széles skálájának köszönhető, amelyek javíthatják az állatok egészségét. Sok növényi kivonat antimikrobiális hatással bír Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok, gombák, vírusok és paraziták ellen (Liu et al., 2018 és Mehrbod et al., 2018), emellett immunmoduláló és gyulladáscsökkentő tulajdonságokat is mutatnak (Bezerra et al., 2020). *In vitro* és *in vivo* vizsgálatok egyaránt alátámasztják, hogy a növényi kivonatok takarmányba történő beépítése fokozhatja a növekedést és az általános egészségi állapotot, ezáltal alternatívát kínálhat az antimikrobiális növekedés serkentőkkel szemben (Famuyide et al., 2019 és Mohammadi Gheisar-Kim, 2018). A növényi kivonatok lehetséges előnyei azonban eltérőek lehetnek az összetételük nagyfokú változatossága miatt, ami megnehezíti a hatékonyságuk összehasonlítását (Liu et al., 2018a).

Számos ismert növény, például a gyömbér, kurkuma, ánizs, koriander, zöld tea, illetve az antocianinokban gazdag gyümölcsök antioxidáns aktivitással rendelkeznek (Nakatani et al., 2000 és Wei-Shibamoto, 2007). Hasonlóan, a fekete bors (*Piper nigrum*), a piros paprika (*Capsicum annuum*) és a chili (*Capsicum frutescens*) is kimutatott antioxidáns hatású (Mohammadi Gheisar-Kim, 2018). A fitogének kedvező tulajdonságai között szerepelnek az emésztőenzimek aktivitásának fokozása, a fehérje- és rostbontás javítása, valamint az immunválasz erősítése (Christaki et al., 2012 és Perumalla et al., 2012). Több tanulmány szerint az illóolajok csökkentik a metán- és ammóniakibocsátást, ami különösen fontos a kérődző állatok fenntartható tartásában. Az illóolajokat tartalmazó takarmányok pozitív hatásait — például a növekedési ráta növekedését és a patogén baktériumok visszaszorulását — baromfiban, sertésben és nyulakban is megfigyelték (Cobellis et al., 2016). A növényi kivonatok a bélflóra összetételére is kedvezően hatnak. Manzanilla et al. (2004) és Nofrarias et al. (2006) kimutatták, hogy az oregánó, fahéj és mexikói bors kivonatot tartalmazó keverékek növelték a gyomortartalom szárazanyag-tartalmát és a *Lactobacillus* fajok arányát. Hasonlóan, Sads és Bilkei (2003) vizsgálatában az 1000 mg/kg dózisu oregánókivonat növelte az elválasztott malacok súlygyarapodását, miközben csökkentette a betegségek előfordulását. Egy másik tanulmányban *E. coli*-val fertőzött malacok esetében a paprika-, kurkuma- és fokhagyma-oleorezin alacsony dózisu (10 mg/kg) hozzáadása csökkentette

a hasmenés gyakoriságát, és javította a bélbolyhok szerkezetét és a bélbarrier integritását (Liu et al., 2018a).

2.3 Polifenolokban gazdag paprikák antimikrobiális hatásának vizsgálata

A polifenolok növényi eredetű másodlagos anyagcseretermékek, amelyeket elsősorban pozitív tulajdonságaik okán kutatják. A növényi kivonatok fő bioaktív vegyületei a polifenolok, amelyek összetétele és koncentrációja a növénytől, a növény részeitől, a földrajzi eredettől, a betakarítási szezontól, a környezeti tényezőktől, a tárolási körülményektől és a feldolgozási technikáktól függően változik. Ezek a fenolos vegyületek a növények tekintetében elsősorban védekező szerepet játszanak, amely megmutatkozik a rovarriasztásban, az UV sugárzással szembeni ellenállásban és a genetikai mutációk elleni hatékony védekezésben is (Sora et al., 2015 és Leng et al., 2022).

A polifenoloknak két nagy csoportja van, a flavonoidok és nem flavonoid polifenolok: a flavonoidoknak alapvetően 15 szénatomos flaván-vázuk van. Ez általában két aromás gyűrűből és egy központi szénatomból áll. A nem-flavonoid polifenoloknak eltérő az alapvázuk, nem tartalmazzák a 15 szénatomos rendszert. Szerepük tekintetében a flavonoidok főleg növényekben fordulnak elő és erőteljes antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatásuk van, illetve a színeképzésben és stressztoleranciában is jelentőségük van. A nem-flavonoid molekulák általában nagyobbak, komplexebb hatásmechanizmussal rendelkeznek, de szintén antioxidáns hatásúak. Főleg kávéban, magvakban, illetve faanyagokban fordulnak elő (Anand et al., 2022).

Az antociánok a polifenolok csoportjába tartozó flavonoid vegyületek, amelyek vízben oldhatóak és a növényi sejtek vakuólumában tárolva színezik meg a szöveteket piros, lila, kék színekre. Funkcionális szempontból erős gyulladáscsökkentő és antimikrobiális hatással rendelkeznek gyakran együtt hatva más polifenolokkal. Antimikrobiális hatásukat több tanulmány is vizsgálta (2. táblázat) az elmúlt években és azt találták, hogy az antibakteriális hatásért a következő mechanizmusok felelnek: sejtmembrán és sejtfal permeabilitás károsítása, intracelluláris interakciók gátlása, autolízis, biofilm kialakulásának gátlása (Cisowska et al., 2011 és Deng et al., 2024).

2. táblázat: Összefoglalás az elmúlt években mért összpolicenol-tartalomról a kivonószerek függvényében különböző színű és fajú paprikák esetében (Forrás: saját munka)

Minta	Kivonószert	Mért totál polifenol tartalom	Forrás
<i>Capsicum annuum</i> L. (zöld-piros)	metanol	2096 – 7689 µg/g	Hamed et al., 2019
<i>Capsicum frutescens</i> L. (piros)	etanol (80%)	4992.40 ± 27.17 µg GAE/g	Zhuang et al., 2012
<i>Capsicum annuum</i> L. (piros)	etanol (80%)	2138.04 ± 13.59 µg GAE/g	Zhuang et al., 2012
<i>Capsicum annuum</i> L. (piros)	etanol (80%)	3823.91 ± 54.35 µg GAE/g	Zhuang et al., 2012
<i>Capsicum annuum</i> L. (zöld)	etanol (80%)	1816.03 ± 50.27 µg GAE/g	Zhuang et al., 2012
<i>Capsicum annuum</i> L. (zöld)	etanol (80%)	1370.38 ± 74.73 µg GAE/g	Zhuang et al., 2012
<i>Capsicum annuum</i> L. (piros)	etanol (80%)	2104.08 ± 88.32 µg GAE/g	Zhuang et al., 2012
<i>Capsicum annuum</i> L. (zöld)	etanol (80%)	1078.26 ± 13.59 µg GAE/g	Zhuang et al., 2012
<i>Capsicum annuum</i> L. (zöld)	etanol (80%)	2294.29 ± 33.97 µg GAE/g	Zhuang et al., 2012
<i>Capsicum annuum</i> L. (zöld)	etanol (80%)	1090.49 ± 25.82 µg GAE/g	Zhuang et al., 2012
<i>C. frutescens</i>	hexán (20%)	4.9 ± 0.44 mg GAE /g	Nascimento et al., 2014
<i>C. frutescens</i>	acetonitril (10%)	110.6 ± 1.03 mg GAE /g	Nascimento et al., 2014
<i>C. frutescens</i>	etanol (80%)	9,1 ± 0,07 GAE mg/g	Nascimento et al., 2013

Ezek a pozitív tulajdonságok mind összhangban vannak az állattenyésztés céljaival, tehát a bélrendszer egészségének megtartásával, állattartás és fertőzések okozta stressz enyhítésével és az antibiotikum függőség redukálásával (Zhang et al., 2025).

Az antioxidáns hatás vizsgálata van túlsúlyban az elmúlt időszakban megjelent kutatásokban, de a mikrobiális gátlás tesztelése is célponttá kezdett válni. Valková és munkatársai (2021) *in vitro* vizsgálták különböző chili paprikák Gram-negatív (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica*) és Gram-pozitív (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*) baktérium csoportokra ható antimikrobiális hatását korongdiffúziós teszttel. A tanulmányban ezen felül élesztő fajokra ható gátlást is mértek, ugyanezzel a módszerrel. Az eredményeik alapján a gátlási zónák átmérője általában 1–5 mm között mozgott, ami gyenge–közepes aktivitásnak felel meg. Ennek ellenére a fajták között markáns különbségek figyelhetők meg a színintenzitással összefüggésben. A Rocoto Orange fajta mutatta a legszélesebb spektrumú és legerőteljesebb aktivitást. Ez arra utal, hogy karotinoidokban gazdag termés hatékony komponenseket tartalmazhat a Gram-negatív baktériumok gátlásában. A Peruvian Purple és a Fidalgo Roxa fajták, amelyek antociánban gazdag chili típusok, jellemzően közepes aktivitást mutattak: a Gram-pozitív baktériumok esetében 4–4,5 mm-es zónák voltak mérhetőek, míg a Gram-negatív törzsekre gyengébb hatás mutatkozott (1–3,7 mm). A Cherry Chocolate fajta, amely alacsonyabb antocián-tartalommal rendelkezik közepes aktivitást mutatott. Az Aji Amarillo, amely sárgás-narancs színű fajta, minden kórokozó ellen a legalacsonyabb aktivitást mutatta (jellemzően 3–4 mm közötti értékekkel), ami alátámasztja a polifenol- és antocián-tartalom, valamint az antibakteriális hatás közötti összefüggést. Ezzel a vizsgálattal összehasonlítva antimikrobiális aktivitást mért még Añibarro-Ortega és társai 2024-ben. Ők etanollal kivont *Capsicum annuum* mintákat teszteltek különböző Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok ellen, amelyek kétféle típusúak voltak: piros (IBPP – Italian bell pepper plant) és sárga (HBPP – Holland bell pepper plant). Tanulmányuk alapján a piros paprika kivonat minden esetben alacsonyabb minimális gátló koncentrációt (MIC) eredményezett, mint a sárga fajta, amely alátámasztja Valková et al. (2021) eredményeit. A MIC értékek 0,76–3,07 mg/mL tartományban mozogtak, ami hasonló tartományt jelent Ekom és társai 2021-ben végzett kísérleteivel, ahol ők 64–2048 µg/mL minimális gátló koncentrációt mértek az egyes baktériumokkal (több *S. aureus* törzs, több *E. coli* törzs, *P. aeruginosa*) szemben. Ekom és társai vizsgálatában a kivonószert

metanol volt. Az eredményeik alapján a legérzékenyebb baktérium *S. aureus* volt, míg a legellenállóbb az *E. coli* törzsek. Ez a kutatás az *in vitro* vizsgálat mellett *in vivo* módon patkány modelleken is vizsgálta a paprika extraktumok antibakteriális hatását. A vizsgálathoz mesterségesen fertőzött sebekkel (*S. aureus*szal beoltott) rendelkező patkányokat használtak, ahol a sebeket paprikakivonattal kezelték, majd mérték a gyógyulási rátát kontrollokkal összehasonlítva. A kivonatokat különböző koncentrációban gél formájában juttatták a sebekre és azokról mintát véve eltérő napokon mérték a telepkepző egységek (TKE) számát. Ezen felül nézték a sebgyógyulás mértékét is (szövettan, sebméret stb.). A gél alkalmazása a fertőzött sebek kezelésében jelentősen felgyorsította a sebzáródást és szignifikánsan csökkentette a *Staphylococcus aureus* TKE számát a fertőzési helyen, ezzel alátámasztva a feltételezést, hogy a paprika extraktum *in vivo* körülmények között is antibakteriális hatással rendelkezik. Ezt a vizsgálatokban a paprikák összes polifenol- és flavonoid-tartalmával magyarázták.

A fentebb felsorolt tanulmányok alapján a paprika-kivonatok antibakteriális aktivitása nagyságrendileg hasonló a különböző extrakciós módszerek esetén (etanol/metanol/acetonitril), de a színanyagban gazdagabb kivonatok következetesen magasabb antibakteriális hatást gyakorolnak.

3. ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

3.1 Felhasznált baktériumok

A vizsgálatokhoz alkalmazott baktériumokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Mikrobiológia és Alkalmazott Biotechnológia Tanszéke biztosította számomra.

Az antimikrobiális hatás tesztekhez egyrészt törzsgyűjteményes referencia törzseket (négy Gram-pozitív és négy Gram-negatív baktérium, 3. táblázat) másrészt a tanszék munkatársai által korábban sertés bélsármintából izolált, feltételezhetően multirezisztens *Escherichia coli* törzset (4. táblázat) használtunk fel. Ezen sertés eredetű izolátumok korábban nem lettek pontosan beazonosítva (csupán szelektív táptalajokkal) ezért szükséges volt a tényleges azonosításuk (biokémiai tesztek és szekvenálás) és pontos antibiotikum rezisztencia profiljuk meghatározása. Munkám során a baktériumokat Nutrient táptalajon tartottam fent. Az inkubáció 37 °C-on történt aerob környezetben 24 órán keresztül.

3. táblázat: A felhasznált referencia baktériumok és azok American Type Culture Collection (ATCC) kódja
(Forrás: saját munka)

ATCC kód	Baktérium faj	Gram tulajdonság
25922	<i>Escherichia coli</i>	Gram-negatív
13076	<i>Salmonella enterica</i>	Gram-negatív
10876	<i>Bacillus cereus</i>	Gram-pozitív
29213	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram-pozitív
10145	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram-negatív
13883	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram-negatív
6633	<i>Bacillus subtilis</i>	Gram-pozitív
19433	<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram-pozitív

4. táblázat: A felhasznált feltehetően *E. coli* izolátumok egyedi azonosítója (Forrás: saját munka)

Izolátum sorszám	Egyedi azonosító
1	C0691
2	C0722
3	C0723
4	C0726
5	C0758
6	C0761
7	C0836
8	C1075
9	C1076
10	C1235

3.2 Izolátumok azonosítása 16S rDNS szekvenálással és biokémiai tesztekkel

A feltehetően *E. coli* izolátumok azonosítását 16S rDNS szekvenálásával végeztük el. Ez a gén kb. 1500 bp hosszúságú és konzerválódott régió is található benne, amelyre univerzális primereket illesztve fajra jellemző változékonny régiók (V1 - V9) alapján végezhető el az azonosítás.

A szekvenálási folyamat első lépése a DNS extrakció volt, amely a Macherey-Nagel NucleoSpin Tissue protokoll alapján történt. A következő lépésben a 16S rDNS gén amplifikálása történt, amit PCR-rel végeztünk Bio-Rad iCycler készülékben ThermoScientific™ DreamTaq polimeráz felhasználásával a gyártói protokoll alapján. Az általunk választott primerpár a 27f és 1492r voltak (5. táblázat).

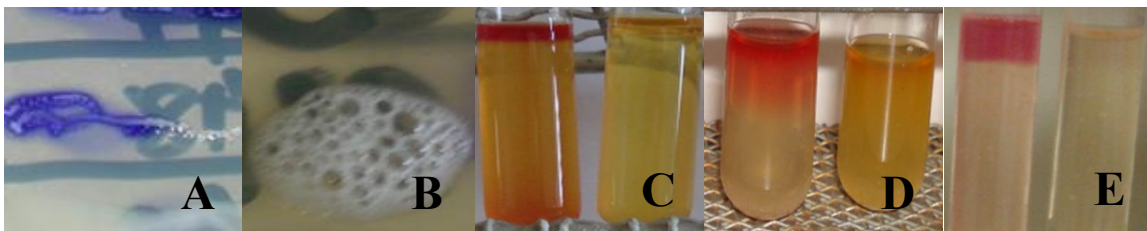
5. táblázat: PCR-hez választott primerpár és azok adatai. A primer kötőhelyek pozíciói *E. coli* 16S rRNS génjére vonatkoznak. (Forrás: saját munka)

Primer név	Szekvencia 5' - 3'	Kötőhely (bp)	Annellálási hőmérséklet (°C)	GC tartalom (%)
27f (forward) primer	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	8 - 27	50,3	47,5
1492r (reverse) primer	GGTTACCTTGTTACGACTT	1492 - 1510	46,5	42,1

A kapott termékeket az agaróz gélelektroforézist követően a gélből kivágtuk és visszatisztítottuk a Macherey-Nagel NucleoSpin Gel and PCR Clean-Up kit segítségével a gyártói ajánlás alapján. A PCR termékek visszatisztítását követően a direkt szekvenálást a BIOMI Kft., Gödöllő végezte, majd biztosította a kiértékelendő szekvenciákat kromatogramok formájában. A kiértékelés során elvégeztük a kromatogramok áttekintését és eltávolítottuk a gyenge minőségű szakaszokat, illetve manuálisan korrigáltuk a hibásan megadott bázisokat, amennyiben szükséges volt. Ezt a *Chromas 2.6.6 szoftverrel* (Technelysium Pty Ltd., South Brisbane, Ausztrália) végeztük. A tisztított szekvenciákat kiértékeltem az *NCBI BLASTn* (National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD, USA) program segítségével.

Az izolátumokat fajszinten alapvetően ENTEROtest 24N (Erba Lachema) tesztkittel azonosítottuk, de további kiegészítő vizsgálatokat is végeztünk (oxidáz és kataláz teszt, indolteszt, metilvörös és VP teszt). Az oxidáz és kataláz teszttel azonosítottuk azokat a baktériumokat, amelyek Gram-negatívak és fakultatív anaerob csoportba tartoznak. Az indol teszt a baktériumok triptofán-bontó képességét vizsgálja az indol Kovács-reagens segítségével történő kimutatásával. A metilvörös teszt a baktérium kevert savas fermentációját mutatja ki a pH csökkenésével, amely során az indikátor vörösre vált. A Voges-Proskauer (VP) teszt a baktérium acetoin termelését mutatja ki glükóz fermentációja során. A tesztek és a pozitív, illetve negatív eredményei a 1. ábrán láthatóak.

1. ábra: „A” Oxidáz teszt - kék/lila szín a pozitív reakció, „B” Kataláz teszt - a képen a pozitív reakció (pezsgés) látszódik, „C” Indol teszt - pozitív reakció balra, negatív reakció jobbra, „D” Metilvörös teszt - pozitív reakció balra, negatív reakció jobbra, „E” VP teszt - pozitív reakció balra, negatív reakció jobbra
(Forrás: Dr. Juhász Ákos)



Az ENTEROtest 24N egy tesztpanel, amely főképp az *Enterobacteriaceae* családba tartozó bélbaktériumok azonosítására szolgál. A teszt során 24 biokémiai próbára adott mintázat alapján egy kódot generálunk, majd azt a teszthez tartozó szótárral “lefordítva” kapjuk meg az adott

mintában található baktérium fajszintű azonosítását. A tesztpanel három tesztcsíkból áll, amelyen nyolc-nyolc zseb, tehát összesen 24 db zseb található. Ezek a zsebek specifikus táptalajokat és szubsztrátokat tartalmaznak, amelyeket a mintában található baktérium vagy képes metabolizálni, vagy nem és az ez által bekövetkező színváltozást olvassuk le vizuálisan (2. ábra).

A vizsgálatot a gyártói protokoll alapján végeztük el. A zsebekbe pipettázandó minták elkészítése úgy történt, hogy a korábban leoltott, 24 órás tenyészetekből 1 McFarland (McF) töménységű baktérium szuszpenziókat készítettünk fiziológiás sóoldat segítségével. A protokoll szerint minden egyes zsebbe pipettáztunk 100-100 µL elkészített szuszpenziót, majd a megadott szubsztrátok esetében (URE, ARG, ORN, LYS, HS) cseppentettük a zsebekbe 3 csepp paraffinolajat, mivel azok anaerob környezetben lezajló reakciók. Az inkubálást 37°C-on végeztük 24 órán keresztül.

2. ábra: ENTEROtest 24N-ben használt tesztcsíkok struktúrája a pozitív és negatív reakciók színével. (Forrás: ENTEROtest 24N használati útmutató)

1		H	G	F	E	D	C	B	A
		URE	ARG	ORN	LYS	H.S	SCI	MAL	ONP
	⊕	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●
	⊖	● ●	●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	○
2		H	G	F	E	D	C	B	A
		SAL	SOR	MIB	CEL	LAC	TRE	MAN	GLR
	⊕	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●
	⊖	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	○
3		H	G	F	E	D	C	B	A
		DUL	ADO	ART	SUC	INO	RAF	ESL	BYX
	⊕	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●
	⊖	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	○

A teszt értékelése részleteiben az következőkben leírtak szerint történik. A teszt során felhasznált tesztcsíkokat a megadott sorrendben egymás alá helyezük és értékeljük a pozitív reakciókat. Az, hogy melyik tesztcsíkon van pozitív reakció, súlyozott: az első tesztcsíkon +1 pontot érnek, a másodikon +2 pontot, a harmadikon pedig +4 pontot. A negatív reakciók mindig 0 pontot érnek (3. ábra).

Ezeket az értékeket egymás alatt összeadva kapunk meg egy nyolc számjegyből álló kódot, amelyet az ENTEROtest 24N CODE BOOK alapján lehet lefordítani. A teszt 100%-os nemzetségszintű és jó megbízhatóságú fajszintű azonosítást ígér.

3. ábra: Az ENTEROtest 24N kiértékelése. A 3x8 oszlop eredményeit leolvastva kapjuk meg a nyolc számjegyből álló kódot. Például az első oszlopban ureáz tesztre adott pozitív reakció +1 pontot ér, szalicin tesztre adott reakció negatív, így az 0 pontot és illetve a dulcitolra is negatív eredmény volt, így az is 0 pontot ér. Ezeket összeadva a kód első számjegye 1. (Forrás: ENTEROtest 24N használati útmutató)

URE + 1	ARG + 1	ORN - 1	LYS + 1	H2S - 0	SCI - 0	MAL - 0	ONP + 1
SAL - 0	SOR + 2	MLB - 0	CEL + 2	LAC - 0	TRE + 2	MAN - 0	GLR + 0
DUL - 0	ADO + 4	ART + 4	SUC - 0	INO - 0	RAF - 0	ESL - 0	BXY + 0
1	7	4	3	0	2	0	1

3.3 Paprika extraktumok elkészítése és HPLC vizsgálata

A kísérletek során felhasznált paprika terméseket Csilléry Gábor nemesítő biztosította. A vizsgálatokhoz liluló és nem liluló, cseresznye típusú, *Capsicum annuum* alapfajú, közel izogén nemesítési vonalak termését gyűjtöttük be, gazdasági érettségben – amikor a termések lilák, illetve zöldek –, illetve teljes biológiai érettségben, mikor a lila és zöld termések egyöntetűen piros színt vesznek fel (4. ábra).

4. ábra: Lila és zöld cseresznyepaprikák (Forrás: Dr. Kovács Zsófia, 2025)



Az erek és magok eltávolítása után a termésfalat liofilizáltuk, majd összeőröltük. Az őrleményt különböző oldószerkeverégekben (6. táblázat) rázattuk 4°C-on. Az egész éjszakás rázatást követően 5 percig ultrahangos fürdőbe helyeztük az oldatokat. Az oldószer elpárologtatása után a koncentrációt 100 mg/ml-re állítottuk be ugyanazzal az oldószerrel, amelyet a kivonáshoz használtunk.

A minták antocián- és polifenol-összetételének értékelését nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával, diódasoros detektorral (HPLC–DAD) végeztük. A kivonatkészítéshez 0,5 g fagyasztva szárított paprikaőrleményt 25 ml 70:30 (V/V) arányú 3% metafoszforsav:metanol eleggyel kevertünk. A keveréket 15 percig rázattuk 300 rpm fordulaton, majd 5 percig ultrahangos fürdőben kezeltük, ezt követően 5000 g-n 5 percig centrifugáltuk, végül 0,22 µm pórusméretű fecskendőszűrőn átszűrve fiolákba töltöttük.

6. táblázat: A tesztekhez felhasznált oldószer-elegyek (*Forrás: saját munka*)

Kivonat	Oldószer elegy	Vizsgálat
1	69% steril víz	Agardiffúziós teszt Minimális gátló koncentráció meghatározása
	30% metanol	
	1% hangyasav	
2	89% steril víz	Minimális gátló koncentráció meghatározása
	10% metanol	
	1% hangyasav	
3	90% steril víz	Agardiffúziós teszt
	10% DMSO (dimetil-szulfoxid)	

A mérésekhez Hitachi Chromaster HPLC rendszert használtunk a következő oszloppal: Supelco Ascentis® Express 90 Å C18-PCP, 15 cm × 4,6 mm, 2,7 µm. A gradiens elúcióhoz 1% orto-foszforsav (A) és acetonitril (B) mobil fázisokat alkalmaztunk. A gradiensprogram 1% B-vel indult az A fázisban, 20 perc alatt 20% B-re emelkedett, 10 percig izokratikus maradt, majd 5 perc alatt 30% B-re váltott, újabb 10 percig izokratikus maradt, végül 5 perc alatt visszaállt 1% B-re. A DAD detektálás 190–700 nm tartományban történt. A készülék üzemeltetését és az adatok feldolgozását az *EZChrome Elite* szoftverrel végeztük. A mennyiségi meghatározás az egyes vegyületek maximális elnyelési hullámhosszán mért csúcsterület alapján, a Sigma-Aldrich (Merck, Budapest, Magyarország) által forgalmazott standard oldatokhoz viszonyítva történt. Amennyiben standard nem állt rendelkezésünkre, a vegyületeket feltételezeten azonosítottuk spektrális karakterisztikájuk, kromatográfiai viselkedésük és az irodalmi adatok alapján. Az eredményeket µg/g szárazanyagban adtuk meg (9. Mellékletek – 1. melléklet)

3.4 *E. coli* izolátumok antibiotikum-rezisztencia tesztje korongdiffúziós módszerrel és agardiffúziós tesztje az extraktumokkal

Az *E. coli* minták azonosítását követően ellenőriztük azok antibiotikumokkal szembeni érzékenységüket. A tesztet a Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) M02 és M100 szabványai alapján végeztük el. Ezt követően végeztük el az agardiffúziós tesztet is, amelynek célja volt a négyféle paprikából elkészített kivonatok antimikrobiális hatásának vizsgálata. A teszthez felhasznált kivonatokot kétféle oldószer segítségével készítettük el. Az első oldószer (Kivonat 1) egy metanolos szer volt, amely 30% metanol, 69% desztillált víz és 1% hangyasav elegye volt. A másik alkalmazott oldószer (Kivonat 3) dimetil-szulfoxidot (DMSO) tartalmazott 10%-ban és 90%-ban desztillált vizet.

A vizsgálat során mind egyes izolátum esetében két párhuzamosban egy 9 cm átmérőjű Petri-csészébe 22,5 mL Mueller-Hinton táptalajt (Biolab) öntöttünk. Az izolátumokat már egy friss, 24 órás tiszta tenyészetekről oltottuk ezekre a lemezekre, miután fiziológiás oldat segítségével beállítottuk a koncentrációjukat 0,5 McF értékre. A megszilárdult táptalajok felszínére szélesztettünk 50-50 μL -t az egyes szuszpenziókból.

Ezután helyeztük fel az öt antibiotikum-korongot a lemezekre steril csipesszel, illetve a többi lemezre öt-öt 6 mm átmérőjű lyukat fűrtünk steril dugúfúróval, amelyekbe az elkészített kivonatokból 100-100 μL -t adagoltunk automata pipettával. Negatív kontrollként a paprika kivonathoz felhasznált kétféle oldószerrel használtunk fel a lemezeken lévő 5. lyukba (középre) mérve. A korongok lehelyezésénél és lyukak fűrásánál ügyelni kell arra, hogy azok ne közvetlenül a csésze szélén helyezkedjenek el, de kellő távolságra legyenek egymástól, hogy a kialakult gátlási zónák ne csússzanak össze és mérhetőek legyenek teljes szélességükben. Ezt követően inkubáltuk a lemezeket a 35 ± 1 °C-on 17 ± 1 óráig. Az inkubálást követően a mértük a korongok és lyukak körül kialakult gátlási zóna átmérőjét. Az antibiotikum-rezisztencia mérés eredményeinek értékelésénél használtuk a CLSI M100 szabvány leírását, amely antibiotikumként meghatározza a gátlási zónákhoz tartozó érzékenységi kategóriákat (7. táblázat). Ez alapján minden antibiotikum esetében különböző zónaátmérő-határok jelzik, hogy a vizsgált törzs az adott hatóanyagra érzékeny, gátolt vagy rezisztens. Az adatok feldolgozása Microsoft Excel 365 szoftverben történt.

7. táblázat: Teszteléshez használt standard antibiotikum korongok és eredményeik értelmezése (Forrás: CLSI M100 szabvány)

Kód	Antibiotikum hatóanyag és dózis	Zóna átmérő (mm) és interpretáció		
		Érzékeny	Gátolt	Rezisztens
AM10	10 µg ampicillin	≥ 17	14-16	≤ 13
CZ30	30 µg cefazolin	≥ 23	20-22	≤ 19
S10	10 µg streptomycin	≥ 15	12-14	≤ 11
CN10	10 µg gentamicin	≥ 15	13-14	≤ 12
K30	30 µg kanamycine	≥ 18	14-17	≤ 13
TE30	30 µg tetracilin	≥ 15	12-14	≤ 11
F300	300 µg nitrofuantoin	≥ 17	15-16	≤ 14
C30	30 µg chloramphenicol	≥ 18	13-17	≤ 12
NOR10	10 µg norfloxacin	≥ 17	13-16	≤ 13
TMP5	5 µg trimethoprim	≥ 16	11-15	≤ 10

3.5 Paprika extraktumok minimális gátló koncentrációjának meghatározása

Az agardiffúziós tesztet követően elvégeztük az egyes eltérő színű paprikákból készített kivonatok minimális gátló koncentrációjának (MIC) meghatározását mikrodilúciós módszerrel CLSI M07 szabványa alapján. A vizsgálat során alapvető célunk a módszerfejlesztés volt, majd a leghatékonyabbnak ítélt módszerrel a MIC értékek meghatározása. A teszthez a nyolc választott referencia baktérium fajt alkalmaztuk.

A felhasznált két kivonat 30% metanol, 69% steril desztillált víz, 1% hangyasav elegye (Kivonat 1) és 10% metanol, 89% steril desztillált víz, 1% hangyasav elegye (Kivonat 2) volt. A két kivonattól felező hígítást készítettünk steril desztillált víz hozzáadásával. A teszt során elsőként az oldószerek, majd az egyes kivonatok MIC értéket határoztuk meg. A végső vizsgált oldószer és kivonat koncentrációk a következők voltak: 50%, 25% ... 0,20% (v/v). A hígítási tagokból 100 -100 µL-t két párhuzamosban vittünk fel egy 96-lyukú mikrotiter lemez zsebeibe, majd ezeket 100 µL inokulummal oltottuk be. Az inokulum elkészítéséhez a baktériumok 24 órás telepekből származtak. A tenyészetekből 0,5 McF koncentrációjú baktérium szuszpenziót készítettünk 2x tömény Mueller-Hinton (Biolab) tápoldat segítségével, majd tovább hígítottuk

150-szeresére ezeket. Ezzel egyidejűleg (minta nélküli) növekedési kontrollt és (minta és baktérium nélküli) sterilitás tesztet is végeztünk. A mikrotiter lemezeket 35 ± 1 °C-on 18 ± 1 óráig inkubáltuk, majd ezt követően spektrofotometriásan mértük le őket és értékeltük a kapott abszorbancia értékeket.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1 Izolátumok azonosítása 16S rDNS szekvenálással és biokémiai tesztekkel

Az általunk elvégzett DNS izolálásnak, majd szekvenálásnak az volt a célja, hogy meghatározzuk az izolátumok taxonómiai hovatartozását, majd ezeket az eredményeket biokémiai tesztekkel egészítettük ki. Az eredmények tekintetében csak a már általunk kiválasztott tíz izolátum eredményeit közlöm.

Elsőként az összes szekvencia esetén elvégeztem egy többszörös szekvencia illesztést vagy másnéven Multi Sequence Alignment-et (MSA), hogy lássam, hogy a tíz izolátum szekvenált génszakasza mennyiben tér el egymástól. Az MSA-t az EMBL-EBI honlapján végeztem el az ott elérhető *Clustal OMEGA* szoftver segítségével. Az egymáshoz illesztett tíz szekvencia összességében öt nukleotid esetén nem mutattak teljes egyezést egymással. Ezt követően az NCBI BLASTn programját alkalmazva hasonlítottam össze az egyedi szekvenciákat az adatbázisba (GenBank) feltöltött szekvenciákkal. Ennek eredményei a 8. táblázatban találhatóak.

8. táblázat: Az egyedi szekvenciákra kapott BLAST eredmények faj névvel és százalékos egyezéssel (percent identity). Minden feltüntetett esetben a lefedettség 100%-os volt. *(Forrás: saját munka)*

Egyedi törzs azonosító	BLAST eredménye – faj név	BLAST eredménye – Egyezés %
C0691	<i>Escherichia coli</i>	100%
C0722	<i>Escherichia coli</i>	100%
C0723	<i>Escherichia coli</i>	100%
C0726	<i>Escherichia coli</i>	100%
C0758	<i>Escherichia coli</i>	100%
C0761	<i>Escherichia coli</i>	100%
C0836	<i>Escherichia coli</i>	100%
C1075	<i>Escherichia coli</i>	100%
C1076	<i>Escherichia coli</i>	100%
C1235	<i>Escherichia coli</i>	100%

Az összes izolátumot *Escherichia coli* fajként tudtam azonosítani az illesztést követően. Több izolátum esetében is 100%-os egyezést találtam ezen felül *E. fergusonii* és *Shigella* fajokkal is. Ennek az lehetett a magyarázata, hogy ezek a fajok igen közeli rokonságban állnak egymással és a 16S rDNS szekvenciák alapján nem különíthetők el egymástól.

A szekvenálást biokémiai tesztekkel egészítettük ki. A biokémiai tesztekkel történő azonosítás alapja az ENTEROtest 24N volt, de mielőtt ezt alkalmaztuk volna elvégeztünk néhány kiegészítő tesztet (oxidáz, kataláz, indol, metilvörös és VP teszt), hogy kiszűrjük az esetleges nem *Enterobacteriaceae* baktériumokat. *E. coli* esetében az elvárt eredmény negatív oxidáz és pozitív kataláz teszt. Pozitív metilvörös teszt és ezzel párhuzamosan negatív VP teszt. *E. coli* esetében jellemző a triptofán bontás is, amit pozitív indol teszt képes kimutatni. Eredményeinket a 9. táblázat mutatja be.

9. táblázat: Az izolátumok azonosításához elvégzett biokémiai gyorsteszték (Forrás: saját munka)

Egyedi azonosító	Oxidáz teszt eredménye	Kataláz teszt eredménye	Indol teszt eredménye	Metilvörös teszt eredménye	VP teszt eredménye
C0691	-	+	+	+	-
C0722	-	+	+	+	-
C0723	-	+	+	+	-
C0726	-	+	+	+	-
C0758	-	+	+	+	-
C0761	-	+	+	+	-
C0836	-	+	-	+	-
C1075	-	+	+	+	-
C1076	-	+	+	+	-
C1235	-	+	+	+	-

Egy kivétellel az az összes izolátum az elvárt, *E. colira* jellemző eredményt adta. Az egyetlen eltérés csupán az egyik izolátum negatív indol tesztje volt. A korábban említett pozitív és negatív tesztek a fajra jellemzőek, de az izolátumok akár 1-5%-a is adhat eltérő eredményt, különösen az indol teszt esetében, mivel a triptofanáz enzim génjében bekövetkező akár egyetlen pontmutáció az enzim működésképtelenségéhez vezet.

A következőkben fajsinten azonosítottuk az izolátumokat az ENTEROtest 24N tesztpanellel. A sorszám vagy kód meghatározása után az ENTEROtest 24N CODE BOOK alapján kerestük ki és rendeltük hozzá ezekhez a sorszámokhoz az azonosított faj nevet. A szekvenálás és

biokémiai tesztek eredményei alapján az összes izolátumot egyértelműen *Escherichia colinak* azonosítottuk (10. táblázat).

10. táblázat: Kapott ENTEROteszt azonosítók és az azokhoz tartozó faj-megállapítások és az izolátumokhoz rendelt Tanszéki azonosítók (Forrás: saját munka)

Egyedi azonosító	ENTEROteszt azonosító	Azonosított faj
C0691	02212263	<i>Escherichia coli</i>
C0722	42252623	<i>Escherichia coli</i>
C0723	06612221	<i>Escherichia coli</i>
C0726	02010223	<i>Escherichia coli</i>
C0758	06612223	<i>Escherichia coli</i>
C0761	62213263	<i>Escherichia coli</i>
C0836	02313223	<i>Escherichia coli</i>
C1075	02352623	<i>Escherichia coli</i>
C1076	02352623	<i>Escherichia coli</i>
C1235	22212263	<i>Escherichia coli</i>

4.2 Antibiotikum-rezisztencia teszt korongdiffúziós módszerrel

A korongdiffúziós tesztet a tíz *E. coli* izolátummal végeztük el. A multirezisztens törzsek olyan mikroorganizmusok, amelyek legalább három különböző antibiotikum-csoporttal (eltérő hatásmechanizmusú) szemben mutatnak ellenállást (Magirakos et al., 2012). Az antimikrobiális rezisztencia vizsgálatok célja, hogy meghatározzák a vizsgált baktériumtörzsek antibiotikumokkal szembeni érzékenységi profilját. Ennek során az egyes antibiotikumok gátlási zónájának átmérőjét mértük, amely alapján a törzsek érzékeny (S), gátolt (I) vagy rezisztens (R) kategóriába sorolhatók. A 11. táblázatban az egyes izolátumok mért gátlási zóna-átmérők láthatóak milliméterben.

11. táblázat: Mért átlagos zónaátmérők (mm) törzsenként és antibiotikum csoport alapján. A korong átmérője 6 mm volt, így a 6.0 eredmények esetén valójában nincs gátlás. (Forrás: saját munka)

Azonosító	AM10	CZ30	S10	CN10	K30	TE30	F300	C30	NOR10	TMP5
C0691	6.0	19.5	10.0	20.0	19.5	6.0	16.5	6.0	28.0	6.0
C0722	6.0	18.0	14.0	19.0	19.0	6.0	18.5	11.0	28.0	6.0
C0723	6.0	18.5	6.0	11.5	18.0	6.0	18.0	8.0	30.0	28.0
C0726	6.0	20.5	7.0	6.0	18.5	6.0	20.0	11.0	27.0	6.0
C0758	6.0	19.0	6.0	12.0	17.5	8.0	19.0	8.0	34.0	32.0
C0761	6.0	17.0	6.0	17.5	17.0	6.0	16.5	26.0	30.0	6.0
C0836	6.0	19.0	6.0	15.5	17.0	7.0	19.0	9.0	28.0	6.0
C1075	6.0	19.0	6.0	19.0	6.0	6.0	15.5	22.0	26.0	6.0
C1076	6.0	19.0	6.0	18.0	6.0	7.5	14.5	26.0	28.0	6.0
C1235	6.0	18.0	6.0	15.5	17.0	6.0	15.5	6.0	30.0	6.0

Az antibiotikum-érzékenységi vizsgálat eredményei (12. táblázat) azt mutatták, hogy a vizsgált *Escherichia coli* izolátumok több hatóanyagcsoporttal szemben is rezisztenciát mutattak, ami multirezisztens fenotípusra utal. Az ampicillin (AM10) és a tetraciklin (TE30) esetében minden törzs teljes rezisztenciát mutatott. Ezzel szemben a norfloxacin (NOR10) hatóanyag minden vizsgált törzssel szemben hatékonynak bizonyult, egyetlen izolátum sem mutatott rezisztenciát. A trimetoprim (TMP5) iránti érzéketlenség általánosnak bizonyult, szinte minden törzs esetében rezisztenciát jelezve (a minták 20%-a bizonyult érzékenynek, 80%-uk pedig rezisztensnek). Hasonló eredményeket figyeltem meg a cefazolin (CZ30) esetében is, ahol az a törzsek 10%-át gátolta a növekedésben, viszont a törzsek 90%-a rezisztenciát mutatott. A gentamicin (CN10) és kanamycin (K30) többnyire hatékonynak bizonyultak, bár néhány esetben közepes gátlási zónák jelentkeztek, szintén azt jelezve, hogy az izolátumok egy része kevésbé érzékeny az adott antibiotikumra. A gentamicin esetében a baktérium törzsek 70%-a volt érzékeny és 30%-uk rezisztens, míg a kanamycinnél 40%-uk mutatott érzékenységet, 40%-uknál volt gátlás és 20%-uk ellenállt. A nitrofurantoin (F300) a legtöbb törzs esetében érzékenységet vagy köztes

értéket eredményezett, ami a szer jó *in vitro* hatékonyságát mutatja (50% volt érzékeny, 40%-ukat gátolt és 10% volt rezisztens).

12. táblázat: A kapott zónaátmérők értékelése. R = rezisztens, I = gátolt, S = érzékeny. (Forrás: saját munka)

Azonosító	AM10	CZ30	S10	CN10	K30	TE30	F300	C30	NOR10	TMP5
C0691	R	R	R	S	S	R	I	R	S	R
C0722	R	R	I	S	S	R	S	R	S	R
C0723	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S
C0726	R	I	R	R	S	R	S	R	S	R
C0758	R	R	R	R	I	R	S	R	S	S
C0761	R	R	R	S	I	R	I	S	S	R
C0836	R	R	R	S	I	R	S	R	S	R
C1075	R	R	R	S	R	R	I	S	S	R
C1076	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R
C1235	R	R	R	S	I	R	I	R	S	R

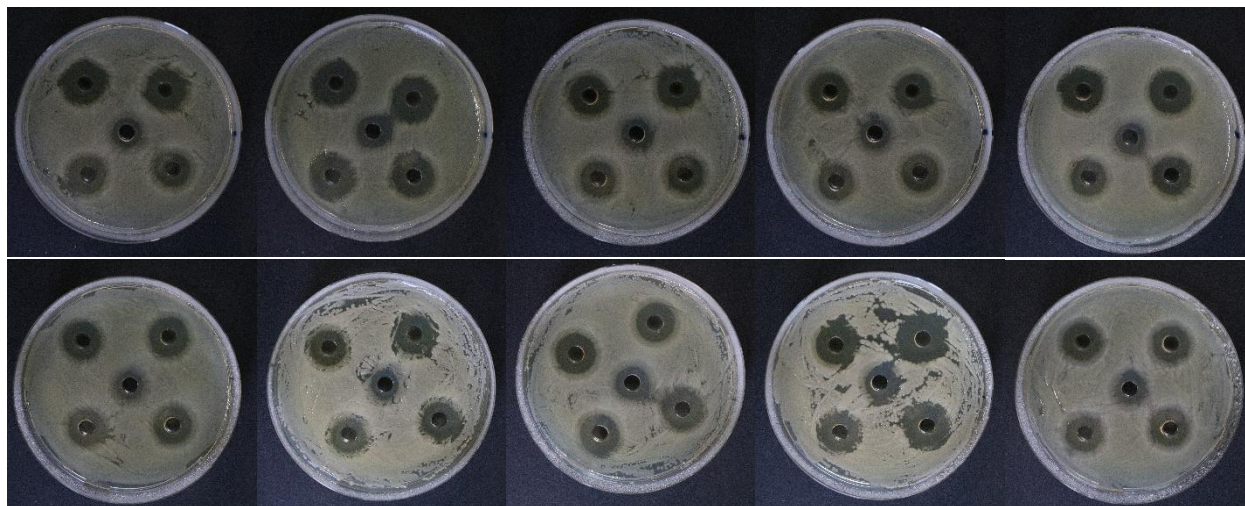
4.3 Paprika extraktumok antimikrobiális hatásának vizsgálata agardiffúziós teszttel

Az antimikrobiális hatás összehasonlítását a négyféle paprika minta esetében két eltérő oldószerrel (Kivonat 1 és Kivonat 3) végeztük el (2. táblázat). A táptalajra a már korábban lejegyzett módon baktérium szuszpenziót szélesztettem a tíz általunk választott *E. coli* izolátumból, majd 6 mm átmérőjű lyukakat fúrtunk és ezekbe mértem bele a kivonatokat.

A gátlási zónák átlagosan a Kivonat 1 esetében 14,5 mm és 20 mm között mozogtak izolátumonként és színenként. Az eredmények az. 5. ábrán láthatóak. A legnagyobb antimikrobiális hatása a lila paprikának volt. Ez esetében a mért minimum érték 16 mm volt, a maximum érték pedig 20 mm, amely a legmagasabb érték volt az összes kivonat esetében. A mért zónák átlaga $17,6 \pm 1,4$ mm volt. Az átlagok alapján a második leghatékonyabb kivonat a zöld volt, $17,25 \pm 1,0$ mm, majd ezt követte a zöld-piros $16,35 \pm 1,1$ mm átlagértékkel és végül a

legkevésbé hatékony a lila-piros színű paprika $16,0 \pm 1,14$ mm átlagos zónaátmérővel. A legérzékenyebb izolátum a C0723 és C1076, míg a legkevésbé érzékeny a C0722 és C0836 volt.

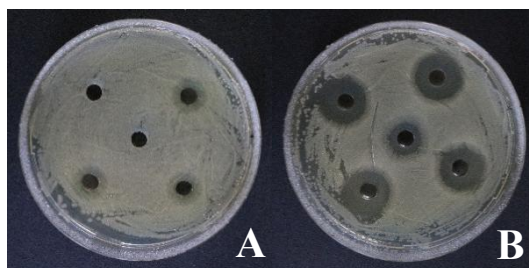
5. ábra: Gátlási zónák a Kivonat 1 esetén az *E. coli* izolátumokkal szemben. Felső sor balról jobbra haladva: C0723, C0726, C0758, C0722, C0691, alsó sor balról jobbra haladva: C0836, C01075, C0761, C01076, C01235. Fúrt lyukakban felül balra lila paprika, jobbra zöld. Alul balra lila-piros és jobbra zöld-piros paprika eredménye. Középen oldószer kontroll (30% metanol tartalmú kivonószer) (Forrás: saját kép)



Ezek a mért adatok alátámasztják Valková és munkatársai (2021) mérését is: a gátlási zónák ugyanolyan tartományban mozognak, mint az általunk mértek és hasonlóképp összefüggést állapítottak meg a magas színanyagtartalom és a gátlási zóna mérete között. A mi méréseinkben viszont a sertés eredetű izolátumok, mint Gram-negatív *E. coli* baktériumok jellemzően magasabb gátlási zónákat produkáltak (korrigálva a korong méretével), mint az általuk jegyzett 1 - 3,7 mm.

A Kivonat 3 esetében főként leolvashatatlan gátlási zónákat tapasztaltam (6. ábra „A”). Ezen oldószer esetében a kontroll egyik esetben sem generált feltisztulási zónát, tehát az oldószer önmagában nem gátolt, illetve a kivonatokkal együtt sem tapasztaltam számottevő leolvasható zónákat. Egyedül a lila paprika esetében találtam pár izolátum esetében gátlási zónát. A teljes polifenol- és antocián-tartalom, illetve antimikrobiális hatás összefüggésének meghatározásában ezeket az adatokat nem használtam fel.

6. ábra: C0761 izolátum gátlási zónái összehasonlítva a Kivonat 1 és Kivonat 3 eredményeit inkubációt követően. „A”: DMSO-t tartalmazó Kivonat 3 gátlása, „B”: Metanolos Kivonat 1 gátlása. Fürt lyukakban felül balra lila paprika, jobbra zöld. Alul balra lila-piros és jobbra zöld-piros paprika eredménye. Középen oldószer kontroll („A” - 10% DMSO tartalmú kivonószer és „B” – 30% metanol tartalmú kivonószer).
(Forrás: saját kép)



A továbbiakban a különböző színű paprikákban meghatározott összpolicenol- és összzantocián-tartalom értékeit (9. Melléklet – 1. melléklet) lineáris regressziós elemzéssel vetettük össze az egyes *E. coli* izolátumokra mért gátlási zónákkal. Az ehhez tartozó adatok a 13. táblázatban találhatóak. A lineáris regresszió során a független változó a totál polifenol-, illetve totál antocián-tartalom, míg a függő változó az adott baktériumtörzsre mért gátlási zónaátmérő volt. Az $R^2 \geq 0,6$ értéket elérő eredményeket erős korrelációnak tekintettük. A lineáris trendvonal illesztése után kapott determinációs együtthatók a 14. táblázatban olvashatók izolátumonként.

13. táblázat: Átlagolt mért teljes polifenol- és átlagolt teljes antocián-tartalom az egyes eltérő színű paprikák esetében és átlag gátlási zóna átmérők (mm) izolátumonként. L = lila, LP = lila-piros, Z = zöld, ZP = zöld-piros. (Forrás: saját munka)

Szín	Polifenol tartalom ($\mu\text{g/g}$)	Antocián tartalom ($\mu\text{g/g}$)	Mért gátlási zónák izolátumonként (mm)									
			C0691	C0722	C0723	C0726	C0758	C0761	C0836	C1075	C1076	C1235
L	3021,57	1153,74	19,5	16	20	17	18	18	16	16,5	18,5	16,5
LP	1036,99	156,245	16	15	18	17	15,5	16,5	15	14,5	17,5	15
Z	1601,22	0	17,5	15,5	18	18	17,5	17,5	17	17	19	15,5
ZP	1264,37	0	15	15,5	16,5	17	16,5	17	16	15,5	19	15,5

A lineáris regresszió alapján a vizsgált tíz *E. coli* izolátum közül három (C0691, C0723, C1235) mért gátlási zónája mutatott az összpolicenol- és összzantocián-tartalommal is erős pozitív korrelációt ($R^2 \geq 0,6$). További három izolátum (C0722, C0761, C0758) esetében a totál polifenol-tartalommal erős összefüggés ($R^2 \geq 0,6$) jelentkezett, de az antocián-tartalommal már csak mérsékelt kapcsolat volt kimutatható. A fennmaradó törzseknél (C0726, C0836, C1075, C1076) a korreláció gyenge vagy hiányzó volt. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a paprika kivonatok antimikrobiális aktivitásában a polifenolos vegyületek játszhatnak inkább szerepet, mert az összpolicenol-tartalom több izolátum esetében is szorosabb összefüggést mutatott a gátlási zónák méretével, mint az összzantocián-tartalom. Mivel az antociánok a polifenolok egyik alcsoportját alkotják, a két paraméter közötti különbség az összefüggés erősségében arra utalhat, hogy a kivonatok antimikrobiális hatását más, polifenolos vegyületek is befolyásolhatják.

14. táblázat: Lineáris regresszió R^2 értékei izolátumonként gátlási zóna - átlagolt polifenol- és antocián-tartalom esetében. Zölddel jelölve a mindkét esetben erős kapcsolatot, narancssárgával jelölve a polifenolnál erős, antociánnál közepesen erős kapcsolatot. (Forrás: saját munka)

Izolátum azonosító	R^2 értékek	
	Totál polifenol – gátlási zóna	Totál antocián – gátlási zóna
C0691	0,84	0,7
C0722	0,83	0,54
C0723	0,73	0,80
C0726	0,09	0,15
C0758	0,71	0,34
C0761	0,83	0,48
C0836	0,07	0,03
C1075	0,36	0,08
C1076	0,04	0,02
C1235	0,95	0,76

Ezt követően komponens szinten kerestünk kapcsolatot a hatás és hatóanyag-tartalom között Pearson féle korrelációs együttható megállapításával (r) azon törzsek esetében, ahol a kapcsolat erősnek vagy közepesnek bizonyult a polifenolok és antociánok esetében egyaránt. A

delfinidin-származékok (antociános vegyületek) szinte minden vizsgált izolátumnál magas korrelációt ($r = 0,7-0,9$) mutattak (15. táblázat). Emellett kaffeoil-hexozid, kumaroil-kínasav, kaffeoil-kínasav, naringenin-dihexozid, luteolin-diglükózid is szoros pozitív kapcsolatban állt az antibakteriális hatással több izolátum esetén is (16. táblázat), amelyek a mért egyéb polifenolos vegyületek 50%-a. Tehát feltételezhetően az antimikrobiális hatáshoz nagyobb pozitív mértékben járulnak hozzá az antociános vegyületek, mint az egyéb, nem szint biztosító vegyületek.

15. táblázat: Összes mért delfinidin-származékok r értéke azon izolátumok esetében, ahol a lineáris regressziónál $R^2 \geq 0,6$ értéket kaptam. Zölddel jelölve a magas korrelációs értékeket ($r \geq 0,7$) és narancssárgával jelölve azok, melyeknél közepes értéket ($0,4 < r < 0,7$) tapasztaltam. (Forrás: saját munka)

Azonosítók	delfinidin-3-rutinozid-glükózid	delfinidin-3-rutinozid	delfinidin-3-kaffeoil-rutinozid-3-glükózid	delfinidin-3-cisz-kumaroil-rutinozid-5-glükózid	delfinidin-3-transz-kumaroil-rutinozid-5-glükózid	delfinidin-3-feruloil-rutinozid-5-hexozid
C0691	0,799	0,689	0,816	0,830	0,835	0,843
C0722	0,618	0,996	0,665	0,711	0,731	0,766
C0723	0,904	0,540	0,904	0,899	0,896	0,888
C0758	0,467	0,883	0,515	0,563	0,584	0,622
C0761	0,587	0,918	0,630	0,675	0,694	0,727
C01235	0,782	0,973	0,818	0,853	0,868	0,893

16. táblázat: Egyéb polifenolos vegyületek r értéke azon izolátumok esetében, ahol a lineáris regressziónál $R^2 \geq 0,6$ értéket kaptam. A táblázatban azok a vegyületek szerepelnek, melyeknél legalább az izolátumok felénél jelentkezett pozitív erős ($r \geq 0,7$) korreláció. Zölddel jelölve a magas korrelációs értékeket ($r \geq 0,7$) és narancssárgával jelölve azok, melyeknél közepes értéket ($0,4 < r < 0,7$) tapasztaltam. (Forrás: saját munka)

Azonosítók	kaffeoil-hexozid	kumaroil-kínasav	kaffeoil-kínasav	naringenin-dihexozid	luteolin-diglükózid
C0691	0,826	0,770	0,989	0,588	0,656
C0722	0,706	0,728	0,778	0,930	0,710
C0723	0,615	0,532	0,955	0,515	0,737
C0758	0,923	0,938	0,797	0,714	0,465
C0761	0,891	0,895	0,862	0,780	0,584
C01235	0,660	0,657	0,870	0,945	0,839

4.4 Paprika extraktumok minimális gátló koncentrációjának meghatározása

A mérés során célunk volt meghatározni elsőként a felhasznált oldószerek minimális gátló koncentrációját, hogy ehhez hasonlítva tudjuk elvégezni a kivonatok minimális gátló koncentrációjának determinációját is. Az oldószerek méréséhez kétféle oldószert (Kivonat 1: 30% metanol és Kivonat 2: 10% metanol) és a nyolc referencia baktériumfajt használtuk. Ezt követően mértük a lila kivonat hatását már csak egyféle oldószerral (Kivonat 1). A továbbiakban pedig a háromféle kivonat (lila, zöld, zöld-piros) hatását két referencia baktérium fajjal a kivonatok kis mennyisége miatt. A kontrollok tekintetében azt vártuk, hogy a vak minta (V) esetében ne legyen növekedés, ez szolgál a tesztben negatív kontrollként is, ami azt bizonyítja, hogy a tápoldat, amelyet felhasználtunk steril, nincs benne szennyeződés. Illetve ez szolgált nullpontként vagy másnéven “blankként” a spektrofotometriás mérésnél is, ehhez viszonyítjuk a többi minta abszorbanciáját. A pozitív kontroll (0) esetén növekedést várunk, ez mutatja meg a tesztben, hogy a törzs képes növekedni. Ez adta a 100%-os növekedési referenciaértéket, amihez mértük a gátlást.

Az oldószér MIC értékének megállapításánál azt tapasztaltuk, hogy a 10% metanolt tartalmazó oldószér (Kivonat 2) már önmagában is mutatott gátló hatást. Ez a minimális érték a -3. tag esetében kezdődik, mivel az itt található értékek egyeznek meg nagyságrendileg a vak mintánál mért optikai denzitás értékekkel. A magasabb hígításokban (-4, -5) a baktériumok növekedése ismét megfigyelhető volt, ami az oldószér-hatás koncentráció függőségét igazolja. A -3. tag a 10%-os oldószér esetében 0,63%-os metanol koncentrációnak felel meg. A mért eredményeket a 7. ábrán közlöm.

7. ábra: Kivonat 2 (10% metanol) esetében mért optikai denzitás értékek a nyolc választott referencia baktérium fajjal. V = vak minta, 0 = pozitív kontroll, T = tömény minta, -1-től -5-ig pedig a hígítási tagok. Kék színnel jelezve azt, ahol nem volt növekedés, zöld színnel jelezve az egyértelmű növekedést, sárga színnel pedig a gátlást. (Forrás: saját munka)

V	0,064	0,055	0,054	0,055	0,055	0,056	0,055	0,054	0,055	0,055	0,056	0,057	0,057	0,056	0,055	0,057	0,055	0,055
0	0,942	0,946	0,671	0,718	0,693	0,641	0,575	0,571	1,419	1,424	0,802	0,992	0,393	0,303	0,317	0,276	0,061	0,063
-5	0,967	0,986	0,681	0,715	0,703	0,680	0,464	0,483	1,315	1,341	0,588	0,553	0,206	0,312	0,228	0,287	0,052	0,053
-4	1,012	0,995	0,661	0,721	0,487	0,450	0,268	0,361	1,269	1,285	0,538	0,602	0,359	0,328	0,158	0,159	0,054	0,054
-3	0,055	0,057	0,052	0,053	0,053	0,054	0,053	0,053	0,053	0,054	0,054	0,055	0,052	0,053	0,052	0,053	0,054	0,054
-2	0,062	0,063	0,066	0,060	0,057	0,057	0,057	0,057	0,057	0,057	0,056	0,058	0,057	0,057	0,059	0,061	0,057	0,058
-1	0,057	0,057	0,057	0,059	0,057	0,059	0,061	0,056	0,061	0,064	0,063	0,062	0,055	0,057	0,057	0,058	0,057	0,059
T	0,060	0,057	0,058	0,060	0,059	0,059	0,060	0,056	0,059	0,060	0,059	0,061	0,058	0,059	0,059	0,059	0,061	0,064
	<i>E. coli</i>	<i>S. enterica</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>	Sterilitás teszt									

A 30% metanolt tartalmazó oldószer esetében is hasonló értékeket figyeltünk meg (8. ábra). Ebben az esetben is a -3. tagra jellemző koncentráció érték volt a legkisebb gátló érték, amely jelenleg 1,88%-os metanol koncentrációnak megfeleltethető. Abban az esetben, ha a metanol az antibakteriális hatás kizárólagos tényezője, úgy ezek az eredmények egymással ellentmondásban állnak, mivel a magasabb metanol koncentrációjú oldószer esetében hígabb tagnál jelent volna meg a minimális gátló érték. Tehát valószínűleg nem csak a metanol felel a teljes gátlásért.

8. ábra: Kivonat 1 (30% metanol) esetében mért optikai denzitás értékek a nyolc választott referencia baktérium fajjal. V = vak minta, 0 = pozitív kontroll, T = tömény minta, -1-től -5-ig pedig a hígítási tagok. Kék színnel jelezve azt, ahol nem volt növekedés, zöld színnel jelezve az egyértelmű növekedést, sárga színnel pedig a gátlás. (Forrás: saját munka)

V	0,06	0,055	0,054	0,054	0,054	0,054	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,056	0,055	0,055	0,056	0,055	0,055	0,056
0	0,99	1,003	0,708	0,696	0,607	0,828	0,528	0,537	1,166	1,142	0,681	0,756	0,17	0,351	0,269	0,252	0,059	0,063
-5	1,058	1,079	0,679	0,699	0,596	0,792	0,4	0,422	1,105	1,119	0,623	0,63	0,146	0,225	0,253	0,267	0,053	0,054
-4	1,102	1,072	0,685	0,71	0,47	0,427	0,415	0,342	0,981	1,024	0,524	0,606	0,294	0,302	0,175	0,175	0,054	0,054
-3	0,053	0,052	0,053	0,054	0,054	0,053	0,053	0,054	0,053	0,055	0,055	0,053	0,053	0,053	0,054	0,054	0,054	0,054
-2	0,058	0,058	0,058	0,056	0,056	0,057	0,056	0,057	0,057	0,057	0,058	0,057	0,057	0,057	0,058	0,058	0,058	0,058
-1	0,062	0,058	0,059	0,059	0,06	0,061	0,057	0,059	0,058	0,059	0,06	0,061	0,057	0,058	0,059	0,059	0,059	0,059
T	0,066	0,061	0,065	0,062	0,062	0,062	0,06	0,06	0,059	0,059	0,06	0,066	0,064	0,059	0,059	0,059	0,059	0,058
	<i>E. coli</i>	<i>S. enterica</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>	Sterilitás teszt									

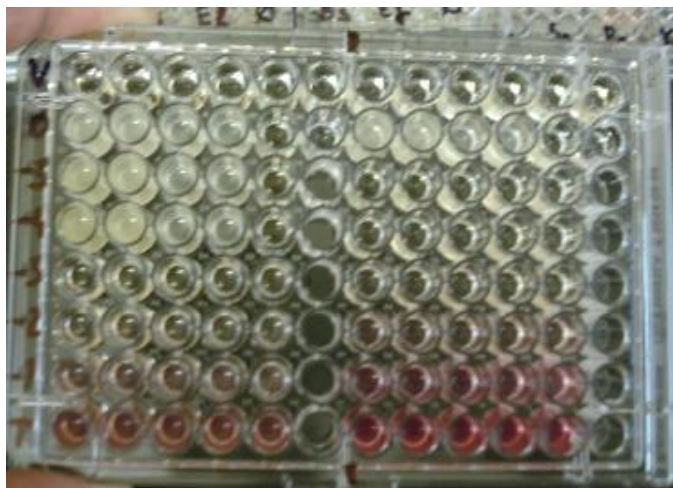
Ezt követte a kivonatoknak a tesztelése, amelyet a lila paprika kivonatával kezdtünk, mivel ez tűnt a korábbi eredmények alapján a legígéretesebbnek. A vizsgálathoz ugyanúgy készítettünk Kivonat 1 és Kivonat 2 oldószereket. Hígítási tagonként a lila kivonathoz vakot is készítettünk és ezekhez hasonlítottuk az értékeket. Tehát abban az esetben, ha a baktérium szuszpenziót tartalmazó zsebknél az adott hígítású kivonat OD értéke magasabb volt, mint a baktérium mentes ugyanazon hígítású kivonaté, ott tapasztalható növekedés. A lila kivonat tesztelésénél a következő eredményeket tapasztaltuk. A negatív vak kontrollhoz képest a 10% metanol tartalmú kivonat esetében a gátló koncentráció ugyanúgy a -3. tag (végkoncentráció szerint 6,25%-os kivonat) volt, mint a csak oldószerrel végzett kísérletnél mindkét baktérium esetében. Ennél a hígítási tagnál csökkent az optikai denzitás arra az értékre, amelyet a kontrollnál mért a fotométer. A 30% metanol tartalmú kivonat esetében a gátló koncentráció már -5. tagnál (végkoncentráció szerint 1,56%-os kivonat) jelentkezett mindkét baktérium tekintetében. Mivel ennél hígabb tagot nem vizsgáltunk, így ezt feleltettük meg az eredmények szerint a minimális gátló koncentrációnak a lila kivonat tekintetében. Így megállapítható, hogy az általunk elvégzett kísérletben feltehetőleg a 30% metanolos kivonatban az aktív komponensek jelentősebben fejtik ki az antibakteriális hatásukat.

Továbbá a két baktérium egymáshoz képest ugyanolyan mértékű érzékenységet mutat a két eltérő oldószerrel készített extraktum esetén. Az eredmények a 9. és 10. ábrán láthatóak.

9. ábra: Lila paprikából készített Kivonat 1 (30% metanol) és Kivonat 2 (10% metanol) esetében mért optikai denzitás értékek *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* baktériumokkal. V = vak minta, 0 = pozitív kontroll, T = tömény minta, -1-től -5-ig pedig a hígítási tagok. Kék színnel jelezve azt, ahol nem volt növekedés, zöld színnel jelezve az egyértelmű növekedést, sárga színnel a gátlást, szürke színnel pedig a lila kivonat vakja baktérium nélkül. (Forrás: saját munka)

V	0,054	0,055	0,054	0,054	0,055	0,056	0,055	0,055	0,055	0,055	0,057	0,056
0	0,947	0,964	0,564	0,513	0,06		0,963	0,974	0,515	0,57	0,062	
-5	1,146	1,217	0,503	0,428	0,078		0,063	0,063	0,071	0,073	0,062	
-4	1,373	1,399	0,522	0,483	0,089		0,079	0,077	0,078	0,076	0,076	
-3	0,12	0,128	0,121	0,117	0,111		0,096	0,097	0,098	0,096	0,094	
-2	0,2	0,206	0,203	0,185	0,222		0,14	0,139	0,14	0,137	0,148	
-1	0,338	0,374	0,359	0,366	0,509		0,303	0,283	0,275	0,314	0,529	
T	0,656	0,657	0,696	0,677	0,713		0,667	0,619	0,69	0,641	0,762	
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		kivonat	üres	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		kivonat	üres
	10% MetOH lila kivonat						30% MetOH lila kivonat					

10. ábra: A 10. ábrán látható lemez kiosztás fotója az inkubációt követően. Első 6 oszlopban a Kivonat 1 látható, a 7.-12. oszlopban pedig a Kivonat 2. Az ábrán jól láthatóak a lila kivonat hígítási tagjai, miszerint a T legtöményebbtől a -5. tagig világosodnak a zsebek, illetve a zsebekben levő opálosság jelzi a baktérium felnövekedését. (Forrás: Dr. Juhász Ákos, 2025)



Ezt követően három kivonat vizsgálatát végeztük el, amelyek a lila, zöld és a zöld-piros kivonatok voltak. Oldószerek tekintetében csak a Kivonat 1 került felhasználásra, mivel az előző

mérések alapján azt találtuk a leghatékonyabbnak a bioaktív hatóanyagok extrahálására. A mért értékek a 11. ábrán láthatóak. Az eredményekből látszik, hogy a lila paprika esetében a vakhoz képest a gátlásnál mért denzitás értékek magasabbak. Ennek oka a lila szín töménysége, amelyet hasonlítani lehetett volna hígítási kontrollhoz, mint a csak lila paprikával végzett mérésnél, de ezt nem tudtuk elvégezni a kivonat mennyisége miatt. Ennek tudatában értékeltük az eredményeket.

11. ábra: Lila, zöld és zöld-piros paprikából készített Kivonat 1 (30% metanol) esetében mért optikai denzitás értékek *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* baktériumokkal. V = vak minta, 0 = pozitív kontroll, T = tömény minta, -1-től -5-ig pedig a hígítási tagok. Kék színnel jelezve azt, ahol nem volt növekedés, zöld színnel jelezve az egyértelmű növekedést, sárga színnel a gátlás. (Forrás: saját munka)

V	0,057	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,057
0	0,838	0,823	0,417	0,383	0,815	0,838	0,374	0,381	0,833	0,88	0,392	0,501
-8	0,892	0,888	0,439	0,396	0,891	0,878	0,437	0,434	0,884	0,933	0,46	0,523
-7	0,914	0,922	0,465	0,419	0,934	0,947	0,46	0,628	0,937	0,916	0,44	0,525
-6	0,97	0,964	0,376	0,368	1,012	0,983	0,42	0,389	0,963	0,937	0,372	0,478
-5	0,072	0,067	0,097	0,127	0,058	0,056	0,252	0,196	0,053	0,056	0,056	0,058
-4	0,088	0,078	0,08	0,08	0,059	0,06	0,059	0,06	0,056	0,057	0,056	0,059
-3	0,129	0,116	0,117	0,118	0,064	0,065	0,066	0,065	0,061	0,062	0,061	0,061
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	lila kivonat				zöld kivonat				zöldpiros kivonat			

E. coli esetében az előző mérésben is megállapított -5. tagra jellemző 1,56%-os kivonat koncentráció volt a legalacsonyabb gátló érték mindhárom kivonat tekintetében. *S. aureus* esetében a lila és a zöld színű paprikából készített extraktumoknál magasabb koncentráció volt szükséges a gátláshoz, számszerűleg a -4. tagnál, tehát a 3,13% kivonatokat tartalmazó minta volt az inhibitor. A zöld paprika esetében a -5. tagnak megfelelő 1,56%-os minta volt a küszöbérték. Lineáris regressziós analízist készítve azt tapasztaltam, hogy gyenge kapcsolat $0,1 < R^2 < 0,25$ mutatkozik az összpolicfenol- és antocián-tartalom, illetve a gátló koncentrációk között, de ez a kis mértékű korreláció valószínűsíthetőleg az adatok hiánya miatt jelentkezett. Így ezek alapján nem lehet statisztikailag kapcsolatot kimutatni a policfenol- és antocián tartalom és a gátló koncentráció között. Az antociánok hozzájárulása a jelen adatok alapján nem különíthető el egyértelműen, így a módszerrel több vizsgálatot is érdemes lenne elvégezni a későbbiekben.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A vizsgálatainknak alapvetően két célja volt. Az egyik, hogy a sertés székletből izolált baktériumokat azonosítani és jellemezni tudjuk molekuláris biológiai és biokémiai módszerekkel. A 16S rDNS gén szekvenálás kiértékelése során az egyes izolátumok között minimális eltérést lehetett csak kimutatni, döntően az izolátumok *E. coli*ként azonosíthatóak voltak, azonban több izolátum esetében is a szekvenált szakasz teljes hasonlóságot mutatott *Shigella* fajokkal vagy más *Escherichia* fajokkal. Ennek háttérében valószínűleg az állhat, hogy a minták igen közeli rokonságban álló törzsekből származnak, így kiegészítőleg elvégeztük a biokémiai tesztek. A biokémiai gyorsteszték és az ENTEROtest 24N segítségével megerősítettük a szekvenálás eredményét azzal, hogy az összes előzetesen szelektált izolátum mind *Escherichia coli* fajhoz tartozott.

A jellemzett izolátumokkal elvégeztünk antibiotikum-rezisztencia tesztet, hogy azok közül kiválasszunk multirezisztens tenyészeteket a kivonatok hatékonyságának vizsgálatához. Nagymértékű rezisztencia az ampicillin, tetraciklin és trimetoprim korongoknál volt megfigyelhető. Az eredmények alátámasztották a globális aggodalmat okozó antibiotikumnyomás kockázatait és azt, hogy érdemes alternatív antimikrobiális anyagok vizsgálata.

A másik célja a munkánknak az volt, hogy különböző színű paprikák (*Capsicum annuum*) antimikrobiális hatását vizsgáljuk meg az azonosított izolátumokkal és nyolc referencia baktérium fajjal (négy Gram-pozitív és négy Gram-negatív) szemben. A módszerfejlesztés során a kivonat készítéséhez többféle oldószert használtunk fel, ezek közül a metanolos oldószerral készített kivonatok jelentősen nagyobb gátlási zónákat produkáltak az agardiffúziós teszt során, mint a DMSO-val, így a minimális gátló koncentráció meghatározásánál is ezt a hatóanyagot tartalmazó kivonószert vizsgáltuk. Ez arra utalhat a mi esetünkben, hogy a metanol hatékonyabban képes a polifenolos vegyületek és antociánok extrakciójára, így erősebb biológiai aktivitást biztosítva. A legmagasabb antimikrobiális hatékonyságot a lila paprikák mutatták az agardiffúziós teszt során az *E. coli* izolátumokkal szemben: több izolátum esetében is egyértelmű pozitív korreláció volt kimutatható az antociánok mennyisége és az antimikrobiális gátlás mértéke között. Fontos megjegyezni, hogy a parika kivonatok nagyjából hasonló hatékonyságúak voltak mind a tíz *E. coli* izolátummal szemben, ami arra utal, hogy alternatív antimikrobiális hatású szerek hatékonyak lehetnek multirezisztens mikrobák esetében is.

A minimális gátló koncentráció meghatározásánál a kísérletek korlátozottan értékelhetőek voltak, mivel kevés kivonat állt rendelkezésünkre, így ezt a vizsgálatot mindenképp érdemes lenne szélesebb körben elvégezni és optimalizálni. Mivel a módszer további optimalizálásra szorul a multirezisztens *E. coli* izolátumok esetében a pontos MIC meghatározást egyelőre nem tudtuk elvégezni.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A fokozódó népesség és állati termékekre való egyre magasabb igény okán az elmúlt évtizedekben az intenzív állattenyésztésben megnövekedett a bakteriális fertőzések kockázata. Ezek megelőzésére és kezelésére a gyakran alkalmazott antibiotikumok hozzájárultak a multirezisztens baktériumok megjelenéséhez, amely nem csak az állategészségügyre, de az élelmiszerbiztonságra is veszélyt jelent. Az antibiotikum rezisztencia terjedése miatt egyre nagyobb szükség van az alternatív takarmánykiegészítők kutatására.

A vizsgálatunk célja különböző színű paprikákból készített (*Capsicum annuum*) kivonatok teljes polifenol- és antocián-tartalmának, valamint ezek antimikrobiális hatásának vizsgálata volt sertés eredetű multirezisztens *Escherichia coli* izolátumok és referencia baktérium fajokkal szemben. Az izolátumokat elsőként 16S rDNS szekvenálással, biokémiai tesztekkel és ENTEROtest 24N teszttel sikeresen azonosítottuk és jellemeztük *E. coli* fajokként. Elvégeztük az izolátumok antibiotikum-rezisztencia tesztjét is, amelyből kiderült, hogy több multirezisztensként jellemezhető, így ezekből tíz mintát választottunk ki a további teszteléshez. Több izolátum esetében is 100%-os rezisztencia volt kimutatható ampicillin és tetraciklin csoportokra.

A paprika kivonatok polifenolos vegyületek koncentrációjának mérést végeztük el HPLC-vel. A paprikákat többféle kivonattal is elkészítettük, ezek közül a metanolos adta a legjobb eredményeket az agardiffúziós tesztnél. Ezzel a teszttel tanulmányoztuk elsőként a különböző színű kivonatok antibakteriális hatását az *E. coli* izolátumokra. Több izolátum esetén is pozitív korrelációt tudtam kimutatni a kivonatok antocián-tartalma és a gátló hatás között. Ezt követően szeretnénk volna a paprikák minimális gátló koncentrációjának (MIC) meghatározásának a módszerét fejleszteni, majd a legígéretesebbel MIC értékeket meghatározni. A mérést csak a referencia fajokkal végeztük el részben a korlátozott mennyiségű kivonat miatt, részben pedig azért, mert a módszer további optimalizálásra szorul. A kis mintaszám és hasonló MIC értékek okán nem tudtam statisztikailag kapcsolatot kimutatni az összpolicifenol-, összantocián-tartalom, illetve az inhibíciós koncentráció között.

A munkánk során tapasztaltak megerősítették, hogy a paprika bioaktív vegyületei antimikrobiális tulajdonságokkal rendelkeznek és potenciális alternatívát jelenthetnek a takarmánykiegészítők világában ezzel hozzájárulva az antibiotikum-rezisztencia kialakulásának

megfékezéséhez és az állattenyésztés fenntarthatóbb gyakorlatához, ugyanakkor ipari alkalmazásuk további kutatást igényel stabilitás, dózis meghatározás és költséghatékonyság terén is.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Zhang, S., Wang, Y., Ye, J., Fan, Q., Lin, X., Gou, Z., Jiang, S., 2023. Dietary supplementation of bilberry anthocyanin on growth performance, intestinal mucosal barrier and cecal microbes of chickens challenged with *Salmonella Typhimurium*. *J Anim Sci Biotechnol* 14, 15. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00799-9>
2. Famuyide, I.M., Aro, A.O., Fasina, F.O., Eloff, J.N., McGaw, L.J., 2019. Antibacterial activity and mode of action of acetone crude leaf extracts of under-investigated *Syzygium* and *Eugenia* (Myrtaceae) species on multidrug resistant porcine diarrhoeagenic *Escherichia coli*. *BMC Veterinary Research* 15, 162. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1914-9>
3. Liu, Y., Espinosa, C.D., Abelilla, J.J., Casas, G.A., Lagos, L.V., Lee, S.A., Kwon, W.B., Mathai, J.K., Navarro, D.M.D.L., Jaworski, N.W., Stein, H.H., 2018. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. *Animal Nutrition* 4, 113–125. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.01.007>
4. Mohammadi Gheisar, M., and Kim, I.H., 2018. Phytobiotics in poultry and swine nutrition – a review. *Italian Journal of Animal Science* 17, 92–99. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1350120>
5. Beigh, Y.A., Ganai, A.M., Ahmad, H.A., 2017. Prospects of complete feed system in ruminant feeding: A review. *Vet World* 10, 424–437. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.424-437>
6. Maron, D.F., Smith, T.J., Nachman, K.E., 2013. Restrictions on antimicrobial use in food animal production: an international regulatory and economic survey. *Global Health* 9, 48. <https://doi.org/10.1186/1744-8603-9-48>
7. Leng, Z., Zhong, B., Wu, H., Liu, Z., Rauf, A., Bawazeer, S., Suleria, H.A.R., 2022. Identification of Phenolic Compounds in Australian-Grown Bell Peppers by Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization-Quadrupole-Time-of-Flight-Mass Spectrometry and Estimation of Their Antioxidant Potential. *ACS Omega* 7, 4563–4576. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c06532>
8. Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66, 401–436. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00093-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00093-X)
9. Anand, S., Sowbhagya, R., Ansari, M.A., Alzohairy, M.A., Alomary, M.N., Almalik, A.I., Ahmad, W., Tripathi, T., Elderdery, A.Y., 2022. Polyphenols and Their Nanoformulations: Protective Effects against Human Diseases. *Life* 12, 1639. <https://doi.org/10.3390/life12101639>
10. Choi, M.-H., Kim, M.-H., Han, Y.-S., 2022. Physicochemical properties and antioxidant activity of colored peppers (*Capsicum annuum* L.). *Food Sci Biotechnol* 32, 209–219. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01177-x>

11. Feed additives (2025). European Food Safety Authority
12. Feed additives. European Commission.
13. Valková, V., Ďúranová, H., Ivanišová, E., Galovičová, L., Godočíková, L., Borotová, P., Kunová, S., Miklášová, K., Lopašovský, L., Mňahončáková, E. and Kačániová, M., 2021. Antioxidant and antimicrobial activities of fruit extracts from different fresh chili peppers. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 20(4), pp.465–472. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2021.0997>
14. Nascimento, P.L.A., Nascimento, T.C.E.S., Ramos, N.S.M., Silva, G.R., Gomes, J.E.G., Falcão, R.E.A., Moreira, K.A., Porto, A.L.F., Silva, T.M.S., 2014. Quantification, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Phenolics Isolated from Different Extracts of *Capsicum frutescens* (Pimenta Malagueta). *Molecules* 19, 5434–5447. <https://doi.org/10.3390/molecules19045434>
15. Ekom, S.E., Tamokou, J.-D.-D., Kuete, V., 2021. Antibacterial and Therapeutic Potentials of the *Capsicum annum* Extract against Infected Wound in a Rat Model with Its Mechanisms of Antibacterial Action. *BioMed Research International* 2021, 4303902. <https://doi.org/10.1155/2021/4303902>
16. EuroStat Agricultural Production – Livestock and meat, 2022 https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Agricultural_production_-_livestock_and_meat#Poultry
17. Poultry production | Gateway to poultry production and products | FAO [WWW Document], n.d.. PoultryProduction. URL <https://www.fao.org/poultry-production-products/production/en/> (accessed 8.24.25).
18. Żbikowska, K., Michalczuk, M., Dolka, B., 2020. The Use of Bacteriophages in the Poultry Industry. *Animals* 10, 872. <https://doi.org/10.3390/ani10050872>
19. Nordeste, R., Tessema, A., Sharma, S., Kovač, Z., Wang, C., Morales, R., Griffiths, M.W., 2017. Molecules produced by probiotics prevent enteric colibacillosis in pigs. *BMC Vet Res* 13, 335. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1246-6>
20. Mohlatlole, R.P., Madoroba, E., Muchadeyi, F.C., Chimonyo, M., Kanengoni, A.T., Dzomba, E.F., 2013. Virulence profiles of enterotoxigenic, shiga toxin and enteroaggregative *Escherichia coli* in South African pigs. *Trop Anim Health Prod* 45, 1399–1405. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0377-4>
21. Nagy, B., Fekete, P.Z., 1999. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet Res* 30, 259–284.

22. Zhang, W., Zhao, M., Ruesch, L., Omot, A., Francis, D., 2007. Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains recently isolated from young pigs with diarrhea in the US. *Vet Microbiol* 123, 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.02.018>
23. Salcedo, J., Barbera, R., Matencio, E., Alegría, A., Lagarda, M.J., 2013. Gangliosides and sialic acid effects upon newborn pathogenic bacteria adhesion: an in vitro study. *Food Chem* 136, 726–734. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.078>
24. Escobedo Del Bosque, C.I., Grahl, S., Nolte, T., Mörlein, D., 2022. Meat Quality Parameters, Sensory Properties and Consumer Acceptance of Chicken Meat from Dual-Purpose Crossbreeds Fed with Regional Faba Beans. *Foods* 11, 1074. <https://doi.org/10.3390/foods11081074>
25. Omonijo, F.A., Ni, L., Gong, J., Wang, Q., Lahaye, L., Yang, C., 2018. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Anim Nutr* 4, 126–136. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.001>
26. Liu, Y., Espinosa, C.D., Abelilla, J.J., Casas, G.A., Lagos, L.V., Lee, S.A., Kwon, W.B., Mathai, J.K., Navarro, D.M.D.L., Jaworski, N.W., Stein, H.H., 2018. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. *Anim Nutr* 4, 113–125. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.01.007>
27. Mehrbod, P., Abdalla, M.A., Njoya, E.M., Ahmed, A.S., Fotouhi, F., Farahmand, B., Gado, D.A., Tabatabaian, M., Fasanmi, O.G., Eloff, J.N., McGaw, L.J., Fasina, F.O., 2018. South African medicinal plant extracts active against influenza A virus. *BMC Complement Altern Med* 18, 112. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2184-y>
28. Bezerra, F.W.F., Salazar, M.D.L.A.R., Freitas, L.C., De Oliveira, M.S., Dos Santos, I.R.C., Dias, M.N.C., Gomes-Leal, W., Andrade, E.H.D.A., Ferreira, G.C., Carvalho, R.N.D., 2020. Chemical composition, antioxidant activity, anti-inflammatory and neuroprotective effect of *Croton matourensis* Aubl. Leaves extracts obtained by supercritical CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids* 165, 104992. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104992>
29. Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., Florou-Paneri, P., 2012. Aromatic Plants as a Source of Bioactive Compounds. *Agriculture* 2, 228–243. <https://doi.org/10.3390/agriculture2030228>
30. Perumalla, A.V.S., Hettiarachchy, N.S., Ricke, S.C., 2012. Current Perspectives on Probiotics in Poultry Preharvest Food Safety, in: Callaway, T.R., Ricke, S.C. (Eds.), *Direct-Fed Microbials and Prebiotics for Animals*. Springer New York, New York, NY, pp. 89–120. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1311-0_7
31. Cobellis, G., Yu, Z., Forte, C., Acuti, G., Trabalza-Marinucci, M., 2016. Dietary supplementation of *Rosmarinus officinalis* L. leaves in sheep affects the abundance of rumen methanogens and other microbial populations. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 7, 27. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0086-8>

32. Simitzis, P.E., 2017. Enrichment of Animal Diets with Essential Oils—A Great Perspective on Improving Animal Performance and Quality Characteristics of the Derived Products. *Medicines* 4, 35. <https://doi.org/10.3390/medicines4020035>
33. Nofrarias, M., Manzanilla, E.G., Pujols, J., Gibert, X., Majó, N., Segalés, J., Gasa, J., 2006. Effects of spray-dried porcine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaned pigs1. *J Anim Sci* 84, 2735–2742. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-414>
34. Manzanilla, E.G., Perez, J.F., Martin, M., Kamel, C., Baucells, F., Gasa, J., 2004. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs1. *J Anim Sci* 82, 3210–3218. <https://doi.org/10.2527/2004.82113210x>
35. Sads, P.R. & Bilkei, G.. (2003). The effect of oregano and vaccination against Glässer's disease and pathogenic *Escherichia coli* on postweaning performance of pigs. *Irish Veterinary Journal*. 56. 611-615.
36. Zhang, Shuhong & Wu, Qingping & Zhang, Jumei & Lai, Zebing & Zhu, Xuemei. (2016). Prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance of enterotoxigenic *Escherichia coli* in retail ready-to-eat foods in China. *Food Control*. 68. 236-243. 10.1016/j.foodcont.2016.03.051.
37. World Health Organization, 2012. The evolving threat of antimicrobial resistance : options for action.
38. Levy SB, Marshall B: Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat Med* 2004, 10:S122–129.
39. Sora, G.T.S., Haminiuk, C.W.I., da Silva, M.V., Zielinski, A.A.F., Gonçalves, G.A., Bracht, A., Peralta, R.M., 2015. A comparative study of the capsaicinoid and phenolic contents and in vitro antioxidant activities of the peppers of the genus *Capsicum*: an application of chemometrics. *J Food Sci Technol* 52, 8086–8094. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1935-8>
40. Deng, H., Zhu, J., Tong, Y., Kong, Y., Tan, C., Wang, M., Wan, M., Meng, X., 2021. Antibacterial characteristics and mechanisms of action of *Aronia melanocarpa* anthocyanins against *Escherichia coli*. *LWT* 150, 112018. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112018>
41. Nakatani, N., 2000. Phenolic antioxidants from herbs and spices. *Biofactors* 13, 141–146. <https://doi.org/10.1002/biof.5520130123>
42. Wei, A., Shibamoto, T., 2007. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. *J Agric Food Chem* 55, 1737–1742. <https://doi.org/10.1021/jf062959x>
43. Regueira-Iglesias, A., Balsa-Castro, C., Blanco-Pintos, T., Tomás, I., 2023. Critical review of 16S rRNA gene sequencing workflow in microbiome studies: From primer selection to advanced data analysis. *Molecular Oral Microbiology* 38, 347–399. <https://doi.org/10.1111/omi.12434>

44. dos Santos, H.R.M., Argolo, C.S., Argôlo-Filho, R.C., Loguercio, L.L., 2019. A 16S rDNA PCR-based theoretical to actual delta approach on culturable mock communities revealed severe losses of diversity information. *BMC Microbiology* 19, 74. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1446-2>
45. Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D.L., Rice, L.B., Stelling, J., Struelens, M.J., Vatopoulos, A., Weber, J.T. and Monnet, D.L., 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), pp.268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
46. Gomes, T.A.T., Elias, W.P., Scaletsky, I.C.A., Guth, B.E.C., Rodrigues, J.F., Piazza, R.M.F., Ferreira, L.C.S. and Martinez, M.B. (2021) *Virulence Factors of Enteric Pathogenic Escherichia coli: A Review. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11:738485.
47. Qadri, F., Svennerholm, A.M., Faruque, A.S.G. and Sack, R.B. (2005). *Enterotoxigenic Escherichia coli in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. Clinical Microbiology Reviews*, 18(3), pp.465–483.
48. Nataro, J.P. and Kaper, J.B. (1998). *Diarrheagenic Escherichia coli. Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), pp.142–201.
49. Karmali, M.A., Gannon, V. and Sargeant, J.M. (2010). *Verocytotoxin-producing Escherichia coli (VTEC). Clinical Microbiology Reviews*, 23(3), pp.450–475.
50. Croxen, M.A., Law, R.J., Scholz, R., Keeney, K.M., Wlodarska, M. and Finlay, B.B. (2013). *Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), pp.822–880.
51. Gomes, T. A., Elias, W. P., Scaletsky, I. C., Guth, B. E., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M., Ferreira, L. C., & Martinez, M. B. (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian journal of microbiology*, 47 Suppl 1(Suppl 1), 3–30. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>
52. Servin A. L. (2014). Pathogenesis of human diffusely adhering *Escherichia coli* expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): current insights and future challenges. *Clinical microbiology reviews*, 27(4), 823–869. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-14>
53. Palmela, C., Chevarin, C., Xu, Z., Torres, J., Sevrin, G., Hirten, R., Barnich, N., Ng, S. C., & Colombel, J. F. (2018). Adherent-invasive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease. *Gut*, 67(3), 574–587. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314903>
54. Pitout, J. D.D. (2012). Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: A Combination of Virulence with Antibiotic Resistance. *Frontiers in Microbiology*. Vol.3. DOI=10.3389/fmicb.2012.00009

55. Alliance to Save Our Antibiotics (2024). *A history of antibiotic abuse*.
56. Adzitey, F. (2015). *Antibiotic Classes and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates from Selected Poultry; A Mini Review*. *World's Veterinary Journal*, 5(3), pp. 36–41.
57. Yongliang Zhuang, Long Chen, Liping Sun, Jianxin Cao (2012). Bioactive characteristics and antioxidant activities of nine peppers. *Journal of Functional Foods*. Volume 4, Issue 1. 2012, Pages 331-338, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.01.001>.
58. Wahyuni, Y., Ballester, A. R., Sudarmonowati, E., Bino, R. J., & Bovy, A. G. (2011). Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruits of thirty-two diverse accessions: variation in health-related compounds and implications for breeding. *Phytochemistry*, 72(11-12), 1358–1370. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.03.016>
59. Hamed, M., Kalita, D., Bartolo, M. E., & Jayanty, S. S. (2019). Capsaicinoids, Polyphenols and Antioxidant Activities of *Capsicum annuum*: Comparative Study of the Effect of Ripening Stage and Cooking Methods. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(9), 364. <https://doi.org/10.3390/antiox8090364>
60. FAO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002;30.04–01.05.2002, London, Ontario, Kanada.
61. Markowiak, P., Śliżewska, K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathog* 10, 21 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13099-018-0250-0>
62. Samli, H. E., Senkoğlu, N., Koc, F., Kanter, M., & Ağma, A. (2007). Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. *Archives of Animal Nutrition*, 61(1), 42–49. <https://doi.org/10.1080/17450390601106655>
63. Zeyner, A., Boldt, E., 2006. Effects of a probiotic *Enterococcus faecium* strain supplemented from birth to weaning on diarrhoea patterns and performance of piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90, 25–31. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2005.00615.x>
64. Takahashi S, Egawa Y, Simojo N, et al. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* strain Lq80 to weaning piglets stimulates the growth of indigenous lactobacilli to modify the lactobacillal population. *J Gen Appl Microbiol*. 2007;53:325–32.
65. Casey PG, Gardiner GE, Casey G, et al. A 5-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in pigs challenged with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Appl Environ Microb*. 2007;73:1858–63.

66. Kritas SK, Govaris A, Christodoulopoulos G, et al. Effect of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* supplementation of Ewe's feed on sheep milk production and young lamb mortality. *J Vet Med Ser.* 2006;53:170–3.
67. Alexopoulos C, Georgoulakis IE, Tzivara A, et al. Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and performance of sows and their litters. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2004;88:381–92.
68. Kurtoglu V, Kurtoglu F, Seker E, et al. Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol. *Food Addit Contam.* 2004;21:817–23.
69. Wang Y. Prebiotics: present and future in food science and technology. *Food Res Int.* 2009;42:8–12.
70. Smiricky-Tjardes MR, Grieshop CM, Flickinger EA, et al. Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. *J Anim Sci.* 2003;81:2535–45.
71. Tzortzis G, Goulas AK, Gee JM, et al. A novel galactooligosaccharide mixture increases the bifidobacterial population numbers in a continuous in vitro fermentation system and in the proximal colonic contents of pigs in vivo. *J Nutr.* 2005;135(7):1726–31.
72. Yusrizal X, Chen TC. Effect of adding chicory fructans in feed on fecal and intestinal microflora and excreta volatile ammonia. *Int J Poult Sci.* 2003;2:188–94.
73. World Health Organization, 2023. Antimicrobial resistance
74. ReAct Group (2024). Multidrug-resistant bacteria. ReAct – Action on Antibiotic Resistance.
75. Xu, C., Kong, L., Gao, H., Cheng, X., Wang, X., 2022. A Review of Current Bacterial Resistance to Antibiotics in Food Animals. *Front. Microbiol.* 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.822689>
76. Wang, H., Qi, J.-F., Qin, R., Ding, K., Graham, D.W., Zhu, Y.-G., 2023. Intensified livestock farming increases antibiotic resistance genotypes and phenotypes in animal feces. *Commun Earth Environ* 4, 123. <https://doi.org/10.1038/s43247-023-00790-w>
77. Davies, R., Wales, A., 2019. Antimicrobial Resistance on Farms: A Review Including Biosecurity and the Potential Role of Disinfectants in Resistance Selection. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 18, 753–774. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12438>
78. Pakbin, B., Brück, W.M., Rossen, J.W.A., 2021. Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review. *Int J Mol Sci* 22, 9922. <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
79. Assessing The Results Of The EU Ban On Antibiotic Feed Additives. 2005. The Poultry Site. <https://www.thepoultrysite.com/articles/assessing-the-results-of-the-eu-ban-on-antibiotic-feed-additives>

80. Veterinary Medicines Directorate. 2022. Withdrawal of marketing authorisations of veterinary medicines containing Zinc Oxide
81. Poultry Feed with Arsenic More Problematic than Assumed? 2017. The Poultry Site <https://www.thepoultrysite.com/news/2017/05/poultry-feed-with-arsenic-more-problematic-than-assumed>
82. Wallace, T.C., Giusti, M.M., 2019. Anthocyanins-Nature's Bold, Beautiful, and Health-Promoting Colors. *Foods* 8, 550. <https://doi.org/10.3390/foods8110550>
83. Beattie, J., Crozier, A., Duthie, G., 2005. Potential Health Benefits of Berries. *CNF* 1, 71–86. <https://doi.org/10.2174/1573401052953294>
84. Zhang, L., Wang, Y., Cao, Y., Wang, F., Li, F., 2025. Review: Enhancing the Bioavailability and Stability of Anthocyanins for the Prevention and Treatment of Central Nervous System-Related Diseases. *Foods* 14, 2420. <https://doi.org/10.3390/foods14142420>
85. Cisowska, A., Wojnicz, D., Hendrich, A.B., 2011. Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Nat Prod Commun* 6, 149–156.
86. Deng, H., Meng, X., Xue, B., Li, L., 2025. Unveiling the antibacterial potential of anthocyanins - a comprehensive review on this natural plant extract. *Crit Rev Food Sci Nutr* 65, 5417–5430. <https://doi.org/10.1080/10408398.2024.2411411>
87. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*. 15th ed. CLSI standard M2. Wayne, PA: CLSI; 2023.
88. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 34th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: CLSI; 2024.
89. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. 12th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: CLSI; 2023.

8. TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE

8.1 Táblázatok

1. táblázat: Összefoglaló táblázat a patogén *E. coli* törzsek patotípusairól a megjelölt források alapján. (Forrás: saját munka) - 7. oldal
2. táblázat: Összefoglalás az elmúlt években mért összpolicenol-tartalomról a kivonószerek függvényében különböző színű és fajú paprikák esetében (Forrás: saját munka) - 16. oldal
3. táblázat: A felhasznált referencia baktériumok és azok American Type Culture Collection (ATCC) kódja (Forrás: saját munka) - 19. oldal
4. táblázat: A felhasznált feltehetően *E. coli* izolátumok egyedi azonosítója (Forrás: saját munka) - 20. oldal
5. táblázat: PCR-hez választott primerpár és azok adatai. A primer kötőhelyek pozíciói *E. coli* 16S rRNS génjére vonatkoznak. (Forrás: saját munka) - 20. oldal
6. táblázat: A tesztekhez felhasznált oldószer-elegyek (Forrás: saját munka) - 24. oldal
7. táblázat: Teszteléshez használt standard antibiotikum korongok és eredményeik értelmezése (Forrás: CLSI M100 szabvány) - 26. oldal
8. táblázat: Az egyedi szekvenciákra kapott BLAST eredmények faj névvel és százalékos egyezéssel (percent identity). Minden feltüntetett esetben a lefedettség 100%-os volt. (Forrás: saját munka) - 28. oldal
9. táblázat: Az izolátumok azonosításához elvégzett biokémiai gyorsteszték (Forrás: saját munka) - 29. oldal
10. táblázat: Kapott ENTEROteszt azonosítók és az azokhoz tartozó faj-megállapítások és az izolátumokhoz rendelt Tanszéki azonosítók (Forrás: saját munka) - 30. oldal
11. táblázat: Mért átlagos zónaátmérők (mm) törzsenként és antibiotikum csoport alapján. A korong átmérője 6 mm volt, így a 6.0 eredmények esetén valójában nincs gátlás. (Forrás: saját munka) - 31. oldal

12. táblázat: A kapott zónaátmérők értékelése. R = rezisztens, I = gátolt, S = érzékeny. (Forrás: saját munka) - 32. oldal

13. táblázat: Átlagolt mért teljes polifenol- és átlagolt teljes antocián-tartalom az egyes eltérő színű paprikák esetében és átlag gátlási zóna átmérők (mm) izolátumonként. L = lila, LP = lila-piros, Z = zöld, ZP = zöld-piros. (Forrás: saját munka) - 34. oldal

14. táblázat: Lineáris regresszió R^2 értékei izolátumonként gátlási zóna - átlagolt polifenol- és antocián-tartalom esetében. Zölddel jelölve a mindkét esetben erős kapcsolatot, narancssárgával jelölve a polifenolnál erős, antociánnál közepesen erős kapcsolatot. (Forrás: saját munka) - 35. oldal

15. táblázat: Összes mért delfinidin-származékok r értéke azon izolátumok esetében, ahol a lineáris regressziónál $R^2 \geq 0,6$ értéket kaptam. Zölddel jelölve a magas korrelációs értékeket ($r \geq 0,7$) és narancssárgával jelölve azokat, melyeknél közepes értéket ($0,4 < r < 0,7$) tapasztaltam. (Forrás: saját munka) - 36. oldal

16. táblázat: Egyéb polifenolos vegyületek r értéke azon izolátumok esetében, ahol a lineáris regressziónál $R^2 \geq 0,6$ értéket kaptam. A táblázatban azok a vegyületek szerepelnek, melyeknél legalább az izolátumok felénél jelentkezett pozitív erős ($r \geq 0,7$) korreláció. Zölddel jelölve a magas korrelációs értékeket ($r \geq 0,7$) és narancssárgával jelölve azokat, melyeknél közepes értéket ($0,4 < r < 0,7$) tapasztaltam. (Forrás: saját munka) - 36. oldal

8.2 Ábrák

1. ábra: „A” Oxidáz teszt - kék/lila szín a pozitív reakció, „B” Kataláz teszt - a képen a pozitív reakció (pezsgés) látszódik, „C” Indol teszt - pozitív reakció balra, negatív reakció jobbra, „D” Metilvörös teszt - pozitív reakció balra, negatív reakció jobbra, „E” VP teszt - pozitív reakció balra, negatív reakció jobbra (Forrás: Dr. Juhász Ákos) - 21. oldal

2. ábra: ENTEROtest 24N-ben használt tesztcsíkok struktúrája a pozitív és negatív reakciók színével. (Forrás: ENTEROtest 24N használati útmutató) - 22. oldal

3. ábra: Az ENTEROtest 24N kiértékelése. A 3x8 oszlop eredményeit leolvastva kapjuk meg a nyolc számjegyből álló kódot. Például az első oszlopban ureáz tesztre adott pozitív reakció +1 pontot ér, szalicin tesztre adott reakció negatív, így az 0 pontot és illetve a dulcitolra is negatív

eredmény volt, így az is 0 pontot ér. Ezeket összeadva a kód első számjegye 1. (Forrás: ENTEROtest 24N használati útmutató) - 23. oldal

4. ábra: Lila és zöld cseresznyepaprikák (Forrás: Dr. Kovács Zsófia, 2025) - 23. oldal

5. ábra: Gátlási zónák a Kivonat 1 esetén az *E. coli* izolátumokkal szemben. Felső sor balról jobbra haladva: C0723, C0726, C0758, C0722, C0691, alsó sor balról jobbra haladva: C0836, C01075, C0761, C01076, C01235. Fúrt lyukakban felül balra lila paprika, jobbra zöld. Alul balra lila-piros és jobbra zöld-piros paprika eredménye. Középen oldószer kontroll (30% metanol tartalmú kivonószer) (Forrás: saját kép) - 33. oldal

6. ábra: C0761 izolátum gátlási zónái összehasonlítva a Kivonat 1 és Kivonat 3 eredményeit inkubációt követően. „A”: DMSO-t tartalmazó Kivonat 3 gátlása, „B”: Metanolos Kivonat 1 gátlása. Fúrt lyukakban felül balra zöld paprika, jobbra zöld-piros. Alul balra lila és jobbra lila-piros paprika eredménye. Középen oldószer kontroll („A” - 10% DMSO tartalmú kivonószer és „B” – 30% metanol tartalmú kivonószer). (Forrás: saját kép) - 34. oldal

7. ábra: Kivonat 2 (10% metanol) esetében mért optikai denzitás értékek a nyolc választott referencia baktérium fajjal. V = vak minta, 0 = pozitív kontroll, T = tömény minta, -1-től -5-ig pedig a hígítási tagok. Kék színnel jelezve azt, ahol nem volt növekedés, zöld színnel jelezve az egyértelmű növekedést, sárga színnel pedig a gátlást. (Forrás: saját munka) - 37. oldal

8. ábra: Kivonat 1 (30% metanol) esetében mért optikai denzitás értékek a nyolc választott referencia baktérium fajjal. V = vak minta, 0 = pozitív kontroll, T = tömény minta, -1-től -5-ig pedig a hígítási tagok. Kék színnel jelezve azt, ahol nem volt növekedés, zöld színnel jelezve az egyértelmű növekedést, sárga színnel pedig a gátlás. (Forrás: saját munka) - 38. oldal

9. ábra: Lila paprikából készített Kivonat 1 (30% metanol) és Kivonat 2 (10% metanol) esetében mért optikai denzitás értékek *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* baktériumokkal. V = vak minta, 0 = pozitív kontroll, T = tömény minta, -1-től -5-ig pedig a hígítási tagok. Kék színnel jelezve azt, ahol nem volt növekedés, zöld színnel jelezve az egyértelmű növekedést, sárga színnel a gátlást, szürke színnel pedig a lila kivonat vakja baktérium nélkül. (Forrás: saját munka) - 39. oldal

10. ábra: A 10. ábrán látható lemez kiosztás fotója az inkubációt követően. Első 6 oszlopban a Kivonat 1 látható, a 7.-12. oszlopban pedig a Kivonat 2. Az ábrán jól láthatóak a lila kivonat hígítási tagjai, miszerint a T legtöményebbtől a -5. tagig világosodnak a zsebek, illetve a zsebekben levő opálosság jelzi a baktérium felnövekedését. (Forrás: Dr. Juhász Ákos, 2025) - 39. oldal

11. ábra: Lila, zöld és zöld-piros paprikából készített Kivonat 1 (30% metanol) esetében mért optikai denzitás értékek *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* baktériumokkal. V = vak minta, 0 = pozitív kontroll, T = tömény minta, -1-től -5-ig pedig a hígítási tagok. Kék színnel jelezve azt, ahol nem volt növekedés, zöld színnel jelezve az egyértelmű növekedést, sárga színnel a gátlás. (Forrás: saját munka) - 40. oldal

9. MELLÉKLETEK

1. melléklet: HPLC-vel meghatározott különböző színű paprikák átlagolt C-vitamin tartalma, teljes polifenol- és antocián-tartalma illetve az egyedi komponensek koncentrációja $\mu\text{g/g}$ szárazanyagban

Szín	Átlag / C-vitamin	Átlag / totál polifenol	Átlag / totál antocián	Átlag / delfinidin-3-rutinozid-glükózid	Átlag / delfinidin-3-rutinozid	Átlag / delfinidin-3-kafeoil-rutinozid-3-glükózid	Átlag / delfinidin-3-cisz-kumaroil-rutinozid-5-glükózid	Átlag / delfinidin-3-transz-kumaroil-rutinozid-5-glükózid	Átlag / delfinidin-3-feruloil-rutinozid-5-hexozid
L	5526,84	3021,57	1153,74	46,57	3,07	54,02	45,11	840,00	29,06
LP	11335,51	1036,99	156,25	13,28	0,00	12,31	7,49	115,86	2,47
Z	3977,54	1601,22	0,00	0,00	1,37	0,00	0,00	0,00	0,00
ZP	10941,23	1264,37	0,00	0,00	1,63	0,00	0,00	0,00	0,00

Átlag / sziringinsav-diglükózid	Átlag / kumársav-hexozid	Átlag / kafeoil-dihexozid	Átlag / kafeoil-hexozid	Átlag / dikafeoil-kinasav-származék A	Átlag / kumaroil-kinasav	Átlag / kafeoil-kinasav	Átlag / katekin	Átlag / naringenin-dihexozid	Átlag / klorogénsav	Átlag / p-kumársav
0,78	16,21	0,00	711,42	1,26	26,60	84,55	43,58	121,54	21,40	0,00
9,47	10,05	2,93	75,05	23,44	5,70	32,78	69,89	50,62	124,68	29,62
5,00	76,02	0,00	783,81	23,82	30,02	48,62	33,84	64,26	44,12	0,00
0,52	20,74	4,32	154,77	10,64	11,39	22,48	143,51	88,91	150,08	54,90

Átlag / elleasav	Átlag / cisz-kumársav	Átlag / transz-kumársav	Átlag / dikumársav-hexozid	Átlag / dikafeoil-kinasav-származék B	Átlag / luteolin-diglükózid	Átlag / epigenin	Átlag / dikafeoil-glükózid	Átlag / kvercitrin-glükózid	Átlag / rutin
6,70	34,13	26,38	73,23	62,39	13,42	0,00	18,73	51,55	22,58
0,00	31,01	96,69	5,07	86,83	8,60	23,89	7,82	0,00	11,90
12,25	0,00	0,00	0,00	18,97	6,94	0,00	0,00	68,66	0,00
0,00	0,00	0,00	0,00	42,19	8,87	15,83	0,00	22,95	0,00

10. NYILATKOZATOK

10.1 Hallgatói nyilatkozat

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve:	Kántor Kíra
A Hallgató Neptun kódja:	TP4740
A dolgozat címe:	Paprika extraktumok antimikrobiális hatásának vizsgálata sertés eredetű és potenciálisan humán patogének esetében
A megjelenés éve:	2025
A konzulens intézetének neve:	Genetika és Biotechnológia Intézet
A konzulens tanszékének a neve:	Genetika és Genomika Tanszék, Mikrobiológiai és Alkalmazott Biotechnológia Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem. Továbbá kijelentem, hogy a dolgozat elkészítése során alkalmazott mesterséges intelligencia-eszközök (pl. szöveggenerálás, nyelvi javítás, fordítás, adatelemzés) használata nem helyettesítette a saját kutatási és alkotói munkámat, azok alkalmazását a források között vagy a módszertani részben feltüntettem, és a szakmai-etikai elvárásoknak megfelelően jártam el.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.


Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után

nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: 2025 év november hó 10 nap


Hallgató aláírása

10.2 MI nyilatkozat

Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

1. Általános adatok

Hallgató neve:	Kántor Kíra
Neptun-kódja:	TP4740
Képzési szint (a megfelelőt jelölje X-szel):	<input type="checkbox"/> BSc/BA x <input checked="" type="checkbox"/> MSc/MA <input type="checkbox"/> Doktori (PhD) <input type="checkbox"/> Egyéb:
Tantárgy neve/kódja*:	Diplomadolgozat
A munka címe:	Paprika extraktumok antimikrobiális hatásának vizsgálata sertés eredetű és potenciálisan humán patogének esetében

* doktori értekezés esetén nem kitöltendő

2. Nyilatkozat az MI használatáról

Alulírott, etikai felelősségem teljes tudatában az alábbi nyilatkozatot teszem:

(Kérjük, válasszon egyet az alábbi lehetőségek közül!)

- A) Nem alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.
(Amennyiben ezt jelölte, a további táblázatok kitöltése nem szükséges.)
- B) Alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.
(Kérjük, töltsse ki a vonatkozó táblázatokat!)

3. A mesterséges intelligencia használatának részletezése

I. TÁBLÁZAT: Asszisztensi vagy kisebb mértékű felhasználás (pl. fordítás, nyelvi korrektúra, ötletelés stb.)

(Ezen felhasználások esetében a konkrét promptok és válaszok csatolása nem szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott MI-eszköz neve és verziója	Érintett rész (ha nem a szöveg egészére vonatkozik)
Nehéz nyelvezetű szakirodalmi hivatkozások fordítása	ChatGPT 5	2. Szakirodalmi áttekintés
Excel használatában való segítség	ChatGPT 5	4. Eredmények és értékelésük

II. TÁBLÁZAT: Jelentős tartalmi hozzájárulás (pl. egy teljes ábra vagy egy hosszabb szövegrész generálása)

(Ezekben az esetekben a felhasznált kulcsfontosságú promptok és az MI által adott nyers válaszok dokumentálása és a munka mellékletében való csatolása szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott eszköz verziója, elérhetősége	MI-neve,	Az érintett fejezet / ábra / táblázat pontos sorszáma	A prompt-naplót tartalmazó melléklet bejegyzésének sorszáma

3/A. Oktató által előírt kiegészítő szabályok (ha vannak)

Amennyiben az adott tantárgy oktatója vagy témavezetője az MI-eszközök használatára vonatkozóan külön szabályokat vagy elvárásokat határozott meg, kérjük, az alábbi mezőben foglalja össze ezeket:

Pl. az MI használatának tilalma bizonyos feladattípusokra; csak konkrét eszköz használata engedélyezett; eltérő hivatkozási elvárások; dokumentációs forma stb.

Oktató vagy témavezető által előírt szabályok:

.....

.....

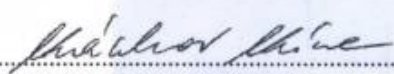
.....

.....


4. Minden hallgatóra vonatkozó nyilatkozat:

Kijelentem, hogy az MI által esetlegesen generált tartalmakat minden esetben kritikailag felülvizsgáltam, szerkesztettem és a munkába illesztettem. A leadott munka minden eleméért, annak eredetiségéért és tudományos helytállóságáért teljes körű felelősséget vállalok. Tudomásul veszem, hogy a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem a benyújtott munkát mesterséges intelligencia detektorral ellenőrizheti, és eljárást kezdeményezhet, amennyiben a nyilatkozatom valótlan vagy hiányos.

Kelt: Budapest, 2025. 11. 10.

.....


Hallgató aláírása

.....


Konzulens/Témavezető aláírása

Legjobb tudomásom szerint, az egyetem nem bízik meg enkönt a konzulenseknek az AI használata mértékében ellenőrzésükre.

10.3 Konzulensi nyilatkozat

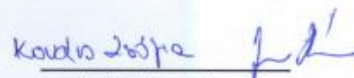
NYILATKOZAT

Kántor Kíra (hallgató Neptun azonosítója: TP474O) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem*²

Kelt: Gödöllő, 2025.11.10.


belső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendó.

² A megfelelő aláhúzendó.