

## UPOTREBA PROPOLISA I PČELINJEG PELUDA U HRANIDBI PILIĆA - PRIRODNI NAČIN ZAŠTITE ZDRAVLJA POTROŠAČA

Ivana Klarić<sup>1\*</sup>, Matija Domaćinović<sup>1</sup>, Mirela Pavić<sup>2</sup>, Ivan Miškulin<sup>3</sup>,  
Maja Miškulin<sup>3</sup>, Zvonimir Steiner<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Heinzelova 55, 10000 Zagreb

<sup>3</sup>Sveučilište u Osijeku, Medicinski fakultet, Cara Hadrijana 10 E, 31000 Osijek

Izvorni znanstveni rad

### Sažetak

**Uvod:** Propolis i pčelinji pelud pripadaju skupini prirodnih tvari životinjskog i biljnog podrijetla, s osobito izraženim antimikrobnim i antioksidativnim svojstvima. Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj dodatka propolisa i pčelinjeg peluda u hranidbi tovnih pilića na prisustvo odabranih bakterijskih uzročnika u obriscima kloake pilića.

**Ispitanici i metode:** U obriscima kloake tovnih pilića Ross 308 provenijencije, hranjenih s (pokusne skupine pilića) ili bez (kontrolna skupina pilića) dodatka propolisa i pčelinjeg peluda, uzorkovanih 21. i 42. dana tova, određivana je prisutnost bakterijskih vrsta iz rodova *Campylobacter* i *Salmonella*, te bakterijske vrste *Escherichia coli*. Pri izolaciji istraživanih mikrobnih kultura postupalo se u skladu s Hrvatskim normama koje se temelje na propisanim ISO standardima i to za *Campylobacter sp.* (HRN EN ISO 10272-1, 2008), *Salmonella sp.* (HRN EN ISO 6579, 2003) i *E. coli* (HRN ISO 16649-2, 2001).

**Rezultati:** Obrisci kloake svih skupina tovnih pilića uzorkovanih 21. i 42. dana tova bili su negativni na prisutnost *Campylobacter sp.* Istraživanjem je utvrđen smanjeni broj obrisaka kloake pozitivnih na prisutnost *E. coli* u pokusnim skupinama pilića 42. dana tova u odnosu na 21. dan tova te potpuni izostanak prisutnosti *Salmonella sp.* u pokusnim skupinama pilića 42. dana tova u odnosu na 21. dan tova.

**Zaključak:** Propolis i pčelinji pelud imaju snažan baktericidni učinak u kloaki tovnih pilića pri čemu je u javnozdravstvenom smislu posebno značajan utjecaj spomenutih dodataka na *Salmonella sp.*

**Ključne riječi:** propolis, pčelinji pelud, tovni pilići, hranidba, obrisci kloake

### Uvod

U Republici Hrvatskoj trend je potrošnje piletine, u odnosu na druge vrste mesa, u stalnom porastu. To se može protumačiti time što je meso tovnih pilića zadovoljavajuće nutritivne kvalitete, prihvatljivo je po cijeni te odgovara po organoleptičkim svojstvima zahtjevima potrošača (Kralik i sur., 2012). Opisani trendovi porasta proizvodnje mesa peradi, poglavito pilećeg mesa, u cijelome svijetu odraz su, dakako, tržišne potražnje za ovom vrstom mesa te stalnog porasta njegove konzumacije i to kako u razvijenim dijelovima svijeta tako i u zemljama u razvoju (Haščić i sur., 2011). Meso peradi karakterizirano je najboljom konverzijom nutrijenata u meso, slijedom čega je cijena proizvodnje, kao i cijena pilećeg mesa, na svjetskom tržištu relativno niska u usporedbi s drugim vrstama mesa (Haščić i sur., 2013). Konzumacija mesa izravno se naslanja na ekonomsku moć potrošača te je stoga osjetljiva na socioekonomske prilike u pojedinim zemljama, a što uz relativno nisku cijenu pilećeg mesa također doprinosi većoj konkurentnosti prema drugim vrstama mesa (Magdelaine i sur., 2008; Haščić i

sur., 2011). Popularnosti pilećeg mesa te njegovoj rastućoj potrošnji uz već spomenute čimbenike svakako je pridonijela i duga tradicija uzgoja peradi u gotovo svim dijelovima svijeta, neosporna dijetetska te nutritivna vrijednost pilećeg mesa, izostanak kulturoloških te religijskih prepreka za konzumaciju ove vrste mesa, ali i kriza u području sigurnosti hrane nastala krajem 90-ih godina prošlog stoljeća zbog govede spongiformne encefalopatije (Kralik i sur., 2011; Pirvutoiu i Popescu, 2012).

Propolis je prirodni smolasti pčelinji proizvod (Shahryar i sur., 2011). Kemijski sastav sirovog propolisa te njegova boja i aroma ovise o njegovu botaničkom i geografskom porijeklu (Talas i Gulhan, 2009; Guo i sur., 2011). Kemijski je sastav propolisa vrlo složen. Do danas je u njemu identificirano više od 200 hranjivih tvari. Biološka aktivnost propolisa ovisi o aktivnim tvarima polifenolske frakcije, uglavnom o flavonoidima, ali i o aromatskim kiselinama, esterima fenolne kiseline, triterpenima, lignanima i slično (Bankova i sur., 2000; Tatli Seven i sur., 2009). Spomenute bioaktivne komponente propolisa ujedno su odgovorne za baktericidne, antiviralne, antifungalne,

antiprotozoalne te antiparazitske, analgetske, antiupalne, antioksidativne, lokalne anestetizirajuće, citostatske odnosno antitumorske te imunostimulirajuće i imunomodulirajuće učinke propolisa kod ljudi i životinja (Talas i Gulhan, 2009; Eyng i sur., 2013).

Pčelinji pelud sastoji se od muških spolnih stanica biljaka (Haščik i sur., 2011a; Babińska i sur., 2012; Pascoal i sur. 2014). U njoj je do danas otkriveno oko 250 različitih kemijskih tvari, uključujući ugljikohidrate, masti, bjelančevine, vitamine, makro i mikroelemente, antibiotike (inhibine), hormone, enzime, organske kiseline, esencijalna ulja, rutin i druge (Babińska i sur., 2012). Pčelinji je pelud zapravo kuglasta nakupina, sastavljena od peludnih zrnaca (muških spolnih stanica biljaka) pomiješanih s nektarom i pčelinjim izlučevinama (Čuboň i sur., 2013; Haščik i sur., 2011a; Hleba i sur., 2013). Bioaktivne komponente pčelinjeg peluda uključuju flavonoide, fenolne kiseline i njihove derivate koji su, ujedno, odgovorni za baktericidne, antiviralne, antifungalne, analgetske, antiupalne, antioksidativne, antikancerogene te imunostimulirajuće i imunomodulirajuće učinke ovih spojeva kod ljudi i životinja (Babińska i sur., 2012; Kačániová i sur., 2013).

Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj dodatka propolisa i pčelinjeg peluda u hranidbi tovnih pilića na prisustvo odabranih bakterijskih patogena u obriscima kloake pilića.

## Materijali i metode

Za potrebe ovog istraživanja korišteno je ukupno 200 jednodnevnih pilića provenijencije Ross 308. Praktični dio istraživanja je proveden na obiteljskom gospodarstvu u Valpovačkoj Satnici. Ukupno 200 pilića provenijencije Ross 308 ravnomjerno raspoređenih spolova, početne tjelesne mase od 38 do 44 g bilo je podijeljeno u 5 skupina (40 pilića u svakoj skupini); jedna kontrolna skupina (K) i četiri pokusne skupine (P1, P2, P3, P4). Zbog učinkovitijeg praćenja svih promatranih pokazatelja svi su pilići 7. dana pokusa bili označeni (prstenovani). Tov pilića podnim načinom držanja na drvenoj strugotini trajao je 6 tjedana (42 dana). Pilići su od 1. – 21. dana istraživanja bili hranjeni starter (21,02 % sirovih bjelančevina), a od 22. – 42. dana istraživanja finišer (19,15 % sirovih bjelančevina) smjesom prema recepturi Tvornice za stočnu hranu Valpovka, Valpovo. Hranidba kao i napajanje pilića tijekom istraživanja bili su po volji. Kontrolna skupina (K) pilića tijekom cijelog istraživanja bila je hranjena krmnom smjesom bez dodataka dok su u smjese kojima su bile hranjene pokusne skupine pilića (P1, P2, P3, P4) bili umiješani dodatci – propolis i/ili pčelinji pelud, svaki dodatak zasebno ili u njihovoj kombinaciji u određenom omjeru. Propolis je primijenjen u usitnjenom (hladno mljevenom) obliku, a pčelinji pelud je također bio usitnjen prije umješavanja u smjesu. Umješavanje propolisa i pčelinjeg peluda obavljeno je u Tvornici za stočnu hranu Valpovka, Valpovo u vertikalnoj miješalici čime je osigurana dobra homogenizacija smjese (Tablica 1).

**Tablica 1.** Shema provedbe istraživanja

**Table 1.** The scheme of the study

Skupine pilića	Hranidba pilića
K	krmna smjesa
P1	krmna smjesa + 0,25 g propolis/kg smjese + 20 g pčelinji pelud/kg smjese
P2	krmna smjesa + 0,5 g propolis/kg smjese
P3	krmna smjesa + 1,0 g propolis/kg smjese
P4	krmna smjesa + 20 g pčelinji pelud/kg smjese

Za svaku skupinu pilića predviđen je odjeljak veličine 3 m<sup>2</sup>, uzdignut od betonskog poda 15 cm, te je imao drveni pod, vlastiti izvor svjetla, hranilicu i pojilicu. Tijekom prvih 7 dana pilići su držani u manjim odjeljcima unutar izgrađenog odjeljka, a do završetka tova u spomenutim izgrađenim odvojenim odjeljcima unutar jednog objekta. Svi odjeljci su bili sagrađeni jedan do drugoga, ali odvojeni žičano-drvenim pregradama čime je omogućena zajednička i jednaka mikroklima za sve pokusne životinje. Posebna pažnja pridavana je primjeni preventivnih zoohigijenskih mjera, koje su podrazumijevale redovito održavanje čistoće u vanjskom okolišu objekta za tov, predprostoru odjeljaka unutar objekta za tov te u samim odjeljcima za tov.

Dva puta tijekom istraživanja (21. i 42. dana) uzorkovani su obrisci kloake odabranih pokusnih životinja, u kojima se u mikrobiološkom laboratoriju utvrđivala prisutnost *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. i *E.coli*. Nacjepeljivanje hranjivih podloga obavljeno je prema shemama za *Campylobacter* sp. (HRN EN ISO 10272-1, 2008), *Salmonella* sp. (HRN EN ISO 6579, 2003) i *E. coli* (HRN ISO 16649-2, 2001), nakon čega je na svakoj podlozi utvrđena prisutnost ili odsutnost ispitivanih mikroorganizama. Brisovi kloaka su uzimani suhim, sterilnim brisovima, originalno zatvorenim na drvenom štapiću, na način da se svaki štapić nakon uzimanja uzorka vraćao u pripadajuću epruvetu. Uzeto je ukupno 50 uzoraka

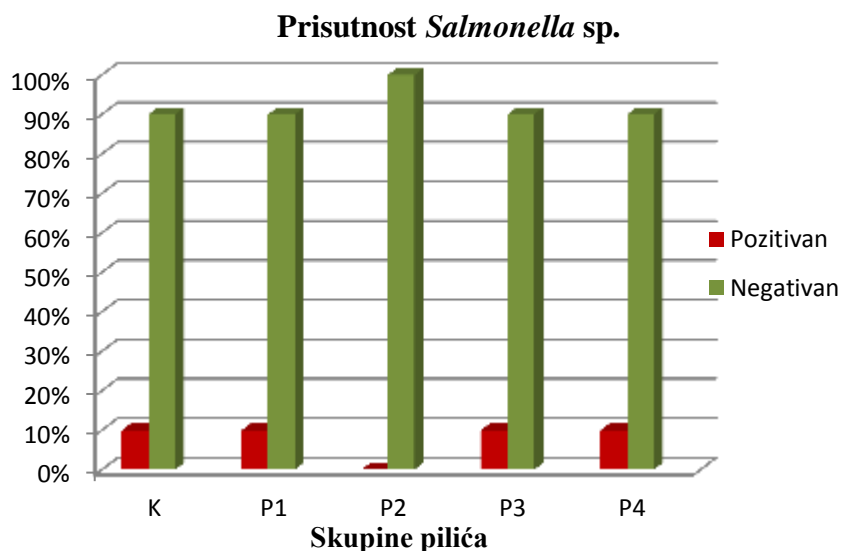
brisovala, po deset uzoraka iz svake skupine. Uzorci brisovala su bili transportirani u prijenosnom hladnjaku te su istog dana dopremljeni u mikrobiološki laboratorij, gdje je započeta analiza u razdoblju unutar 3 sata od uzorkovanja. Za potrebe naciepljivanja upotrijebljene su gotove podloge za *Campylobacter* sp. (Karmali agar), *Salmonella* sp. (kromogeni *Salmonella* agar) i *E.coli* (kromogeni *E. coli* agar). Mikrobiološke pretrage svih prikupljenih uzoraka bile su izvršene u Službi za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije.

### Rezultati i rasprava

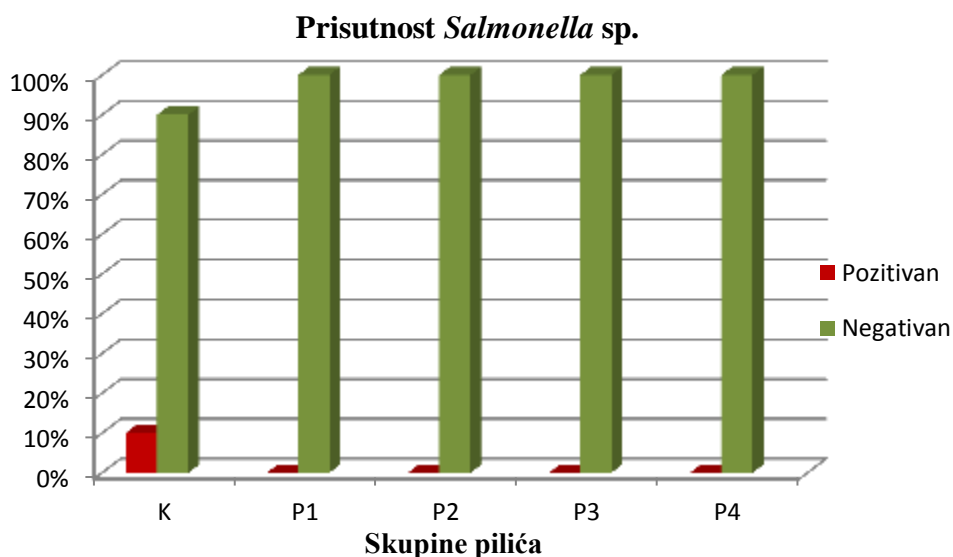
U obriscima kloake odabranih pokusnih životinja, uzorkovanih 21. i 42. dana tova, utvrđivala se prisutnost *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. i *E. coli*.

Na Slici 1 su rezultati analize obrisaka kloake pilića, uzorkovanih 21. dana tova, na prisutnost *Salmonella* sp., prikazani po skupinama. Vidljivo je kako su svi obrisci kloake pokusnih životinja P2 skupine bili negativni na prisutnost *Salmonella* sp. dok je u skupinama K, P1, P3 i P4 prisutnost *Salmonella* sp. utvrđena u 10 % (1/10) uzorkovanih obrisaka kloake.

Na Slici 2 su rezultati analize obrisaka kloake pilića uzorkovanih 42. dana tova, na prisutnost *Salmonella* sp., prikazani po skupinama. Vidljivo je kako su svi obrisci kloake pokusnih životinja P1, P2, P3 i P4 skupine bili negativni na prisutnost *Salmonella* sp., dok je u skupini K prisutnost *Salmonella* sp. utvrđena u 10 % (1/10) uzorkovanih obrisaka kloake.



**Slika 1.** Prisutnost *Salmonella* sp. u obriscima kloake pilića 21. dana tova  
**Fig. 1.** The presence of *Salmonella* spp. in chicken's cloacal swabs on day 21 of fattening



**Slika 2.** Prisutnost *Salmonella* sp. u obriscima kloake pilića 42. dana tova  
**Fig. 2.** The presence of *Salmonella* spp. in chicken's cloacal swabs on day 42 of fattening

Istraživanje je također pokazalo kako su svi obrisci kloake pokusnih životinja P1, P2, P3 i P4 skupina 21. dana tova bili pozitivni na prisutnost *E. coli*, dok je u skupini K pozitivnost na *E. coli* bila utvrđena u 90 % (9/10) uzorkovanih obrisaka kloake. Nadalje je utvrđeno kako su 42. dana tova svi obrisci kloake pokusnih životinja K, P3 i P4 skupina bili pozitivni na prisutnost *E. coli*, dok je u skupinama P1 i P2 pozitivnost na *E. coli* utvrđena u 90 % (9/10) uzorkovanih obrisaka kloake. Naposljetku je utvrđeno kako su obrisci kloake pokusnih životinja svih skupina bili negativni na prisutnost *Campylobacter* sp. kako 21. dana tova tako i 42. dana tova.

Promatrajući rezultate mikrobioloških analiza obrisaka kloake tovnih pilića uzorkovanih 21. dana pokusa na prisutnost *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. i *E. coli*, uočava se kako su obrisci kloake pilića svih skupina bili negativni na prisutnost *Campylobacter* sp., kako su obrisci kloake pilića svih skupina bili visoko pozitivni (P1 - P4 skupina 100 %; K skupina 90 % pozitivnih) na prisutnost *E. coli* te kako su obrisci kloake pilića svih skupina bili uglavnom negativni (P2 skupina 100 %; K, P1, P3 i P4 skupina 90 % negativnih) na prisutnost *Salmonella* sp. Promatrajući rezultate mikrobioloških analiza obrisaka kloake tovnih pilića uzorkovanih 42. dana pokusa na prisutnost *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. i *E. coli*, uočava se kako su obrisci kloake pilića svih skupina i dalje bili negativni na prisutnost *Campylobacter* sp., kako su obrisci kloake pilića svih skupina i dalje bili visoko pozitivni (K, P3, P4 skupina 100 %; P1 i P2 skupina 90 % pozitivnih) na prisutnost *E. coli*, dok su obrisci kloake pilića svih skupina bili uglavnom negativni (P1 - P4 skupina 100 %; K skupina 90 % negativnih) na prisutnost *Salmonella* sp. Iz ovih je rezultata vidljivo kako je dodatak propolisa i/ili pčelinjeg peluda krmnoj smjesi za tov pilića u P1 i P2 skupini pilića 42. dana pokusa doveo do smanjivanja broja obrisaka pozitivnih na prisutnost *E. coli*, te do potpunog izostanka prisutnosti *Salmonella* sp. 42. dana pokusa u P1, P3 i P4 skupinama pilića koje su 21. dana pokusa bile 10 % pozitivne na *Salmonella* sp.

Perad je vrlo osjetljiva na patogene bakterije kao što su *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. i *E. coli* koji ugrožavaju zdravlje te rast životinja (Kačanićová i sur., 2012). Spomenute bakterije su uz to najčešće proučavani patogeni koji se prenose hranom, a namirnice koje najčešće kontaminiraju i putem kojih mogu ugroziti zdravlje čovjeka uključuju meso peradi te jaja, potom gotova jela spravljena od spomenutih sirovina te mliječne proizvode, ali i voće i povrće (Kim i Bhunia, 2008; Pochop i sur., 2011). Rezultat ovog istraživanja, prema kojem je dodatak propolisa

i/ili pčelinjeg peluda krmnoj smjesi za tov pilića doveo do potpunog izostanka prisutnosti *Salmonella* sp. 42. dana pokusa u P1, P3 i P4 skupinama pilića koje su 21. dana pokusa bile 10 % pozitivne na *Salmonella* sp., sukladno je istraživanju Pochop i sur. (2011), čije je istraživanje također pokazalo pozitivan učinak propolisa protiv *Salmonella* sp. koji je kod ovih autora utvrđen u svim pokusnim skupinama pilića (koje su konzumirale smjesu s dodatkom propolisa) u odnosu na kontrolnu skupinu pilića. Autori su istaknuli kako su sve pokusne skupine pilića u njihovu istraživanju bile u mogućnosti inhibirati te eliminirati *Salmonella* sp. što je bilo vidljivo upravo kroz pozitivan učinak propolisa na kolonizaciju gastrointestinalnog sustava pilića svih pokusnih skupina. Potonje se tumači antimikrobnim svojstvom propolisa, pri čemu se navodi kako se njegov učinak očituje putem njegova direktnog baktericidnog djelovanja (Pochop i sur., 2011). Opisani učinak propolisa i/ili pčelinjeg peluda na *Salmonella* sp. posebno je značajan u epidemiološkom smislu imajući na umu kako su danas, među više od 200 poznatih bolesti koje se prenose hranom, salmoneloze još uvijek u najvećem broju zemalja među vodećima (Puntarić i Ropac, 2010). S tim u vezi bitno je istaknuti kako je spomenuti baktericidni učinak propolisa na salmonela dokazan u slučaju tzv. netifusnih salmonela kao što su *S. enteritidis* te *S. typhimurium* (Orsi i sur., 2007), a koje su najznačajniji uzročnici trovanja hranom u većini zemalja pa tako i u Hrvatskoj, pri čemu nerijetko uzrokuju i veće ili manje epidemije otrovanja (Puntarić i Ropac, 2010). O snazi baktericidnog učinka propolisa i/ili pčelinjeg peluda na *Salmonella* sp. govori i činjenica kako su upravo *Salmonella* sp. uz *Enterococcus* među svim aerobnim te fakultativno anaerobnim gram-pozitivnim te gram-negativnim bakterijama najotpornije na antimikrobni učinak pčelinjih proizvoda (Stepanović i sur., 2003), a u ovom je istraživanju dokazano kako su pokusne skupine pilića koje su bile pozitivne na *Salmonella* sp. nakon primjene spomenutih dodataka prestale to biti. Nadalje je utvrđeno kako je propolis obično puno učinkovitiji kod gram-pozitivnih bakterija te plijesni negoli kod gram-negativnih bakterija (Drago i sur., 2000). Pri tome naravno antimikrobni učinak propolisa i/ili pčelinjeg peluda dominantno ovisi o njegovom kemijskom sastavu (prvenstveno o količini flavonoida, fenolne kiseline i njezinih derivata) (Kročko i sur., 2012) na koji utječe geografsko i biljno podrijetlo ovih pčelinjih proizvoda te način njihove ekstrakcije (Carpes i sur., 2007; Pochop i sur., 2011). Uzimajući u obzir rezultate ovog istraživanja i sve prethodno spomenuto, jasno je kako isti direktno svjedoče o iznimnoj kvaliteti kemijskog sastava hrvatskoga

propolis i/ili pčelinjeg peluda, odnosno o tome kako su isti iznimno bogati flavonoidima što je razvidno i iz njihove kemijske analize. Uspoređujući pak pozitivnost na *Salmonella* sp. kod K skupine pilića koja je 21. i 42. dana pokusa iznosila 10 %, može se reći kako je ona usporediva iako viša od pozitivnosti na *Salmonella* sp. utvrđenoj u istraživanju Irwin i sur. (1989) provedenom u Kanadi (gdje je utvrđeno 3,8 % pozitivnih obrisaka kloake na *Salmonella* sp. kod pilića) te također viša od pozitivnosti na *Salmonella* sp. utvrđenoj u istraživanju Hanson i sur. (2002) koje je provedeno na Tajlandu (i gdje je utvrđeno 2,0 % pozitivnih obrisaka kloake na *Salmonella* sp. kod pilića). U ovom je istraživanju nadalje utvrđeno kako su obrisci kloake pokusnih životinja svih skupina bili visoko pozitivni na prisutnost *E. coli* (90 – 100 %) što je sukladno s rezultatima istraživanja Hanson i sur. (2002) provedenom na Tajlandu gdje je utvrđena pozitivnost na prisutnost *E. coli* kod pilića iznosila 39 %. Zanimljiv rezultat ovog istraživanja odnosi se na činjenicu kako su na kraju pokusa propolis i/ili pčelinji pelud doveli do eliminacije *Salmonella* sp. iz obrisaka kloake pilića pokusnih skupina dok su ti obrisci i dalje bili visoko pozitivni na prisutnost *E. coli*. Ovaj rezultat može se protumačiti time što *E. coli* pripada grupi bakterija koje su normalni stanovnici crijeva mnogih životinja i ljudi, gdje pomažu u probavi hrane (Uzunović-Kamberović, 2009). Vezano uz rezultate ovog istraživanja koji su pokazali kako su obrisci kloake pokusnih životinja svih skupina bili negativni na prisutnost *Campylobacter* sp. i to kako 21. tako i 42. dana tova, može se reći kako su rezultati u suprotnosti s rezultatima sličnog istraživanja provedenog u Češkoj gdje je utvrđeno kako je čak 50 % istraživanih uzoraka obrisaka kloake pilića bilo pozitivno na prisutnost ove bakterije (Bardon i sur., 2009). Ovakvi rezultati odraz su primjene strogih biosigurnosnih mjera u primarnoj peradarskoj proizvodnji u Republici Hrvatskoj, a primjenom kojih se smanjuje broj zaraženih jata peradi te ujedno značajno smanjuje rizik za potrošače (Horvatek Tomić i sur., 2011).

## Zaključak

Ovo je istraživanje pokazalo kako propolis i/ili pčelinji pelud imaju snažan baktericidni učinak na bakterije prisutne u kloaki tovnih pilića pri čemu je u javnozdravstvenom smislu posebno značajan utjecaj spomenutih dodataka na *Salmonella* sp. čime se na prirodan način uspješno osigurava zdravstvena ispravnost i sigurnost pilećeg mesa te time štiti ali i ujedno unaprjeđuje zdravlje potrošača koji to meso konzumiraju.

## Literatura

- Babińska, I., Kleczek, K., Szarek, J., Makowski, W. (2012): Modulating effect of propolis and bee pollen on chicken breeding parameters and pathomorphology of liver and kidneys in the course of natural infection with *Salmonella enteritidis*. *The Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 56, 3-8.
- Bankova, V. S., De Castro, S. L., Marcucci, M. C. (2000): Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31, 3-15.
- Bardon, J., Kolar, M., Cekanova, L., Hejnar, P., Koukalova, D. (2009): Prevalence of *Campylobacter jejuni* and its resistance to antibiotics in poultry in the Czech Republic. *Zoonoses and Public Health* 56, 111-116.
- Carpes, S. T., Beghini, R., de Alencar, S. M., Masson, M. L. (2007): Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras* 31, 1818-1825.
- Čuboň, J., Haščík, P., Elimam, I., Garlík, J., Kačániová, M., Mohammed, H. A. (2013): The influence of bee pollen on the meat chemical composition for broiler's Ross 308 muscles. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science* 2 (Special issue 1), 1128-1137.
- Drago, L., Mombelli, B., De Vecchi, E., Fassina, M. C., Tocalli, L., Gismondo, M. R. (2000): *In vitro* antimicrobial activity of propolis dry extract. *Journal of Chemotherapy* 12, 390-395.
- Eyng, C., Murakami, A. E., Pedroso, R. B., Silveira, T. G. V., Lourenço, D. A. L., Garcia, A. F. Q. M. (2013): Crude propolis as an immunostimulating agent in broiler feed during the starter phase. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina* 34, 2511-2522.
- Guo, S., Fu, S., Shen, Z., Zhang, Z., Xu, Q. (2011): Chemical composition, biological activity and application in animal science of propolis – A review. *Advances in Biomedical Engineering – Book of papers of the 2011 International Conference on Agricultural and Biosystems Engineering, Hong-Kong, China* 1-2, 98-100.
- Hanson, R., Kaneene, J. B., Padungtod, P., Hirokawa, K., Zeno, C. (2002): Prevalence of *Salmonella* and *E. coli*, and their resistance to antimicrobial agents, in farming communities in northern Thailand. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 33, 120-126.
- Haščík, P., Garlík, J., Elimam, I. O. E., Kačániová, M., Pochop, J., Bobko, M., Kročko, M., Benczová, E. (2011): Sensor quality of poultry meat after propolis application. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 1, 172-186.
- Haščík, P., Elimam, I. O. E., Bobko, M., Kačániová, M., Pochop, J., Garlík, J., Kročko, M., Čuboň, J., Vavrišínová, K., Arpášová, H., Capcarova, M., Benczová, E. (2011a): Oxidative stability of chicken meat after pollen extract application in their diet. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science* 1, 70-82.

- Haščik, P., Garlík, J., Elamin I. O. E., Kačániová, M., Kňazovická, V. (2013): The effect of the propolis extract on broiler Hubbard JV internal fat. *Proceedings of the 13th risk factors of food chain, Gödöllő, Hungary*.
- Hleba, L., Pochop, J., Felšöciová, S., Petrová, J., Čuboň, J., Pavelková, A., Kačániová, M. (2013): Antimicrobial effect of bee collected pollen extract to Enterobacteriaceae genera after application of bee collected pollen in their feeding. *Animal Science and Biotechnologies* 46, 108-113.
- Horvatek Tomić, D., Lohman Janković, I., Prukner-Radovčić, E. (2011): Bakterije roda *Campylobacter* spp. u primarnoj proizvodnji peradi u Republici Hrvatskoj. U: Simpozij povodom dana prof. dr. sc. Frana Mihaljevića s međunarodnim sudjelovanjem „Sveobuhvatno zdravlje – ispravnost hrane i prevencija zoonoza“ Knjiga sažetaka. Zagreb, Hrvatska, 09.12.2011.
- HRN EN ISO 6579 (2003): Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti *Salmonella* spp
- HRN EN ISO 10272-1 (2008): Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje *Campylobacter* spp. – Metoda dokazivanja.
- HRN ISO 16649-2 (2001): Metoda brojenja beta – glukuronidaza pozitivnih *Escherichia coli* – brojenje kolonija pri 44 °C uporabom 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide.
- Irwin, R. J., McEwen, S. A., Clarke, R. C., Meek, A. H. (1989): The prevalence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* and antimicrobial resistance patterns of nonverocytotoxin-producing *Escherichia coli* and *Salmonella* in Ontario broiler chickens. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 53, 411-418.
- Kačániová, M., Rovna, K., Arpášova, H., Čuboň, J., Hleba, L., Pochop, J., Kunová, S., Hašek, P. (2012): In vitro and in vivo antimicrobial activity of propolis on the microbiota from gastrointestinal tract of chickens. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 47, 1665-1671.
- Kačániová, M., Haščik, P., Arpášová, H., Pavelková, A., Petrová, J., Hleba, L., Pochop, J., Rovná, K. (2013): Enterococcus genus identification isolated from gastrointestinal tract of chickens after bees products application using MALDI TOF MS biotyper. *Animal Science and Biotechnologies* 46, 114-118.
- Kim, H., Bhunia, A. K. (2008): SEL, a selective enrichment broth for simultaneous growth of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 4853-4866.
- Kralik, G., Škrtić, Z., Kralik, Z., Đurkin, I., Grčević, M. (2011): Kvaliteta trupova i mesa Cobb 500 i Hubbard classic brojerskih pilića. *Krmiva* 53, 179-186.
- Kralik, Z., Kralik, G., Grčević, M., Radišić, Ž. (2012): Kvaliteta trupova i mesa pilića hranjenih smjesama s dodatkom selena. *Krmiva* 54, 123-132.
- Kročko, M., Čanigová, M., Bezeková, J., Lavová, M., Hašek, P., Ducková, V. (2012): Effect of nutrition with propolis and bee pollen supplements on bacteria colonization pattern in gastrointestinal tract of broiler chickens. *Animal Science and Biotechnologies* 45, 63-67.
- Magdelaine, P., Spiess, M. P., Valceschini, E. (2008): Poultry meat consumption trends in Europe. *World's Poultry Science Journal* 64, 53-63.
- Orsi, R. O., Sforcin, J. M., Funari, S. R. C., Fernandes-Jr, A., Rodrigues, P., Bankova, V. (2007): Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on *Salmonella* serovars. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 13, 748-757.
- Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., Estevinho, L. M. (2014): Biological activities of commercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology* 63, 233-239.
- Pirvutoiu, I., Popescu, A. (2012): Analysis of Poultry Meat Market in the E.U.-27. *Animal Science and Biotechnologies* 45, 440-447.
- Pochop, J., Kačániová, M., Hleba, L. (2011): Effect of propolis extracts in chickens diet against *Salmonella typhimurium* detected by real – time PCR. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 1, 113-125.
- Puntarić, D., Ropac, D. (2010): Epidemiologija zaraznih bolesti. Medicinska naklada, Zagreb.
- Shahryar, H. A., Namvari, M., Nourollahi, H., Tili, A. S. (2011): Effect of alcoholic extract propolis on immune system in broiler chickens. *Journal of Basic and Applied Scientific Research* 1, 2094-2097.
- Stepanović, S., Antić, N., Dakić, I., Švabić-Vlahović, M. (2003): In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological Research* 158, 353-357.
- Talas, Z. S., Gulhan, M. F. (2009): Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1994-1998.
- Tatli Seven, P., Yilmaz, S., Seven, I., Cerci, I.H., Azman, M. A., Yilmaz, M. (2009): Effects of propolis on selected blood indicators and antioxidant enzyme activities in broilers under heat stress. *Acta Veterinaria Brno* 78, 75-83.
- Uzunović-Kamberović, S. (2009): Medicinska mikrobiologija. Štamparija Fojnica d.d., Fojnica, Bosna i Hercegovina.

## THE USE OF PROPOLIS AND BEE POLLEN IN CHICKENS FEEDING - A NATURAL WAY TO PROTECT THE HEALTH OF CONSUMERS

Ivana Klarić<sup>1\*</sup>, Matija Domaćinović<sup>1</sup>, Mirela Pavić<sup>2</sup>, Ivan Miškulin<sup>3</sup>,  
Maja Miškulin<sup>3</sup>, Zvonimir Steiner<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agriculture, Vladimira Preloga 1, HR-31000 Osijek, Croatia

<sup>2</sup>University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, Heinzelova 55, HR-10000 Zagreb, Croatia

<sup>3</sup>Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine, Cara Hadrijana 10E, HR-31000 Osijek, Croatia

*Original scientific paper*

### Summary

**Introduction:** Propolis and bee pollen belong to a group of natural substances of animal and vegetable origin, with a particularly expressed antimicrobial and antioxidant properties. The aim of this study was to determine the effect of propolis and bee pollen in chickens feeding to the presence of selected bacterial pathogens in chicken's cloacal swabs.

**Materials and Methods:** In cloacal swabs of Ross 308 broiler chickens, fed with (the experimental groups of chickens) or without (control group of chickens) the addition of propolis and bee pollen, sampled on days 21 and 42 of the study, the presence of *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., and *E. coli* was established. Detection of previously mentioned bacterial strains was done following the ISO detection methods for *Campylobacter* spp. (ISO 10272-1, 2008), *Salmonella* spp. (ISO 6579, 2003) and *E. coli* (ISO 16649-2, 2001).

**Results:** Cloacal swabs of all groups of chickens that were sampled on days 21 and 42 of the study were negative for the presence of *Campylobacter* spp. The study revealed the reduced number of cloacal swabs positive for the presence of *E. coli* in the experimental groups of chickens on day 42 of fattening comparing to the 21st day of fattening and the complete absence of the *Salmonella* spp. in experimental groups of chickens on day 42 of fattening comparing to the 21st day of fattening.

**Conclusion:** Propolis and bee pollen have a strong bactericidal effect in chicken's cloaca while from the public health aspect the influence of these additives on *Salmonella* spp. is particularly significant.

*Keywords:* propolis, bee pollen, broilers, feeding, cloacal swabs