

CZU 636.52/.58:612.336.3

## INFLUENȚA BIOMASEI DIN STREPTOMICETE ASUPRA MICROFLOREI TRACTULUI INTESTINAL AL PUIILOR DE GĂINĂ

*Alexandr MANCIU**Universitatea Agrară de Stat din Moldova*

**Abstract.** The composition of intestinal microflora in chickens under the influence of some products with probiotic and antibiotic effect was studied. The chickens of Rhode Island breed (4 groups of 20 chickens each) received: biomass produced by streptomycetes (1g/kg), culture liquid of streptomycetes (1ml/chicken), oxytetracycline in the drinking water (1 g/l of water) and the preparation Immunobak (0.2 g/chicken). At the age of 1 day, 15, 55 and 75 days, lavages of intestinal mucosa were taken and inseminations on nutritive media were performed (Bismuth sulfite agar, peptone agar, Endo, Levin) with the purpose of assessing microbiological indicators. It was established that bacterial load increases with age of the chicks. The number of colonies obtained from the lavages collected from chickens at the age of 55 and 75 days are almost identical, with a small insignificant variation. Intestinal microflora consists of a great proportion of bifidobacteria, streptococci and *E. coli*, the colonies of *Bacteroides* and *Enterococcus* strains being less representative.

**Key words:** Chickens; Probiotics; Antibacterials; Streptomyces; Intestinal microflora.

**Rezumat.** S-a studiat componența microflorei intestinale la puii de găină sub acțiunea unor produse cu efect probiotic și antibiotic. Puilor de găină de rasa Rhode Island (4 loturi a câte 20 de pui fiecare) le-au fost administrate: biomasă produsă de streptomicete (1g/kg), lichid cultural de streptomicete (1ml/pui), oxitetracilină în apa de băut (1 g/l apă) și preparatul Immunobak (0,2 g/pui). La vârsta de o zi, 15, 55 și 75 de zile au fost prelevate lavaje de la nivelul mucoasei intestinale și au fost efectuate însămânțări pe medii nutritive (Bismut sulfat agar, agar peptonat, Endo, Levin) pentru evaluarea indicilor microbiologici. S-a stabilit că odată cu vârsta puilor crește și încărcătura bacteriană. Numărul de colonii obținute din lavajele colectate de la pui la vârstele de 55 și 75 de zile este aproximativ identic, cu o marjă a variației nesemnificativă. Microflora intestinală este alcătuită într-o proporție mai mare, din bifidobacterii, streptococi și *E. coli*, mai puțin reprezentative fiind coloniile de tulpini de *Bacteroides* și *Enterococcus*.

**Cuvinte-cheie:** Pui de găină; Probiotice; Antibacteriene; Streptomicete; Microfloră intestinală.

### INTRODUCERE

În contextul creșterii constante a populației globale – de la 3 miliarde în 1959 la mai mult de 7 miliarde în prezent, în mai multe regiuni ale lumii persistă subnutriția. Conform mai multor rapoarte ale organizațiilor de profil, aproape un miliard de oameni sunt subnutriți. Până în 2050 fermierii vor trebui să dubleze cota de producție pentru a satisface cerințele pentru alimentație. Astfel, lumea are nevoie de o producție de alimente cu o creștere anuală de 2,5% pentru următorii 10 ani (Alireza, S., Seyed, M. D. 2014). Luând în considerare aceste statistici, mulți cercetători și experți în nutriție afirmă că producția de carne de pasăre poate juca un rol esențial în creșterea producției de alimente. Produsele obținute din industria aviară pot aduce contribuții pozitive în alimentația persoanelor cu venituri mici, fiind considerate alimente calitative și sănătoase la prețuri accesibile, în comparație cu carnea de altă origine (Matveeva, T. 2009).

Pentru a spori performanțele puilor de găină, cum ar fi răspunsul imun, starea de sănătate intestinală, reducerea morbidității și a mortalității, îmbunătățirea digestiei și a raportului de conversie a furajelor, în rațiile nutritive ale puilor de găină sunt introduși aditivi, mai ales cu efect antibacterian, care adesea provoacă tulburări gastrointestinale, concomitent favorizând apariția tulpinilor bacteriene rezistente la antibiotice – una dintre problemele esențiale în domeniu. În acest context, o atenție deosebită este acordată utilizării probioticelor și altor produse similare, care au capacitatea de a modula microflora intestinală pentru o compoziție mai favorabilă și contribuie la atingerea unor indici de producție mai înalți (Alireza, S., Seyed, M. D. 2014).

Un indicator important al stării sănătății organismului puilor este starea microflorei intestinale, considerată cel mai important factor al homeostaziei, din moment ce valoarea maximă a acestui grup de microorganisme variază în limitele  $10^{10}$ – $10^{11}$  per gram la conținutul intestinal (Gong, J. et al. 2002). Intestinul subțire este colonizat, în principal, de lactobacili, urmași de streptococi și enterobacterii, iar

cecumul este colonizat de anaerobi și un număr mic de anaerobi facultativi (Lu, J., Idris, U., Harmon, B., Hofacre, C. et al. 2003).

Importanța studiului respectiv a devenit mult mai mare odată cu interzicerea utilizării antibioticelor ca promotori de creștere și cu manifestarea interesului agenților economici din ramura avicolă de a produce produse calitative, fiind astfel nevoiți să utilizeze alte produse cu indicații similare antibioticelor, însă care nu presupun efecte adverse cum ar fi antibiotico-rezistența, reziduurile etc. Totodată, noile orientări ale consumatorilor spre produsele organice impun identificarea unor produse ecologice capabile să înlocuiască pe deplin antibacterienele sau chiar probioticele obținute în condiții industriale.

## MATERIAL ȘI METODĂ

Cercetările efectuate au avut scopul de a studia influența comparativă a unor produse cu efect probiotic și a unor antibacteriene asupra numărului de colonii bacteriene izolate din intestinul puilor de găină. Ca indicatori s-a stabilit componența microflorei intestinale, precum și numărul total de colonii bacteriene crescute pe diferite medii bacteriene nutritive.

Cercetările de bază au fost efectuate la Catedra clinică II a Facultății de Medicină Veterinară și Știința Animalelor a Universității Agrare de Stat din Moldova, Laboratorul de Microbiologie al Instituției Publice "Centrul Republican de Diagnostic Veterinar", cu respectarea cerințelor prevăzute.

Obiectul cercetărilor l-au constituit puii de rasa Rhode Island, începând cu prima zi de viață. Au fost studiați următorii indici: componența microflorei intestinale și numărul total de colonii bacteriene.

În acest scop au fost formate 5 grupe a câte 20 de pui:

- grupa I – lot martor;
- grupa a II-a – cu administrare de biomasă produsă de streptomicete, în doză de 1g/kg;
- grupa a III-a – cu administrare de lichid cultural produs de unele streptomicete, zilnic, în doză de 1ml/pui;
- grupa a IV-a – cu administrare, în primele 5 zile, de oxitetraciclină în apa de băut, în doză de 1g/l;
- grupa a V-a – cu administrare de probiotic Immunobak, zilnic, conform instrucțiunii, în doză de 0,2 g/pui.

Puii au fost întreținuți în condiții de bunăstare conform reglementărilor prevăzute pentru această categorie de păsări. Administrarea furajelor s-a făcut manual, în hrănitore, iar apa a fost asigurată constant.

Puii selectați au avut aceeași vârstă, greutate și dezvoltare corporală, fiind indemni de boli infecțioase și parazitare.

De la puii supuși experimentului, la vârsta de o zi, 15, 55 și, respectiv, 75 de zile, au fost prelevate lavaje pentru evaluarea indicilor microbiologici. Pentru stabilirea variației microflorei intestinale au fost prelevate probe de la nivelul mucoasei intestinale și au fost efectuate însămânțări pe mediile nutritive obținute, fiind, ulterior, supuse incubării la 37°C timp de 48 ore.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele investigațiilor microbiologice sunt prezentate în figurile 1-4, examinate peste 48 de ore de incubare. Pe toate aceste medii au crescut culturi bacteriene ce fac parte din componența bacteriocenozei tubului digestiv la puii de găină (streptococi, bifidobacterii, *E. coli*, *Bacteroides* ș.a.). Doar pe mediul Bismut sulfat agar nu s-a observat creșterea și dezvoltarea culturilor bacteriene, acest mediu fiind specific îndeosebi pentru culturile de *Salmonella* spp. Pe mediul Agar peptonat (fig. 1) coloniile de microorganisme au crescut pe toată suprafața plăcilor Petri, având forma sferică sau ovală, de culoare surie. Concomitent, pe mediul Endo, coloniile de microorganisme au culoarea brună-roșietică, cu luciu metalic, specific pentru cultura *E. coli* (fig. 3). Pe mediul Bismut sulfat agar (fig. 2) coloniile microbiene sunt de dimensiuni variabile, cu intensitate medie de creștere, cu forma rotundă sau ovală de culoare cenușie, caracteristică pentru *Enterooccus*, iar pe mediul Levin intensitatea de creștere a coloniilor a fost cea mai înaltă, coloniile microbiene având dimensiuni mici, de culoare roșu-închis, caracteristică pentru bifidobacterii.

În tabelele 1-4 sunt prezentate datele referitoare la monitorizarea numărului de colonii crescute pe mediile nutritive menționate.

Conform datelor din tabelul 1, compoziția cantitativă a microflorei intestinale la puii de o zi este compusă



**Figura 1.** Colonii de streptococi pe mediul Agar peptonat



**Figura 2.** Colonii de enterococi pe mediul Bismut sulfat agar



**Figura 3.** Colonii de *E. coli* pe mediul Lewin

preponderent din tulpini de *E. coli*, care alcătuiesc 38,72%, fiind urmate de bifidobacterii și *Bacteroides*, în proporție de 21,27% și, respectiv, 20%, iar într-un număr mai mic au fost înregistrate coloniile de Streptococi, reprezentând 11,48% și *Enterococcus*, în raport de 8,51%.

Analizând datele obținute, observăm că odată cu vârsta puilor crește și încărcătura bacteriană, fapt ce determină și dezvoltarea numărului de colonii pe mediile menționate. Deducem că numărul de colonii obținute din lavajele colectate de la pui la vârstele de 15, 55 și 75 de zile, prezintă variații ale indicilor în funcție de tulpina bacteriană.

Microflora intestinală este alcătuită, într-o proporție mai mare, de bifidobacterii, streptococi și *E. coli*, iar mai puțin reprezentative sunt

coloniile de tulpini de *Bacteroides* și *Enterococcus*.

În baza datelor prezentate în tabelele de mai sus putem constata o variație a numărului de colonii bacteriene izolate de la diferite grupe. Astfel, observăm o variație nesemnificativă între grupele de pui I, II și III, însă cu valori mai mari în grupa a II-a, unde, la puii cu vârsta de 15 zile, predomină coloniile de bifidobacterii, streptococi și *Bacteroides*. Ulterior, diferența se diminuează.

La vârsta de 15 zile, conform datelor din tabelul 2, cel mai mare număr de colonii de streptococi a fost stabilit pe mediile însămânțate cu lavajele prelevate de la puii din grupa a V-a (985 colonii), iar cele mai mari valori ale numărului de colonii de bifidobacterii au fost stabilite la puii din a V-a grupă (630 colonii). În același timp, cele mai puține colonii - 107 au fost înregistrate la puii din grupa a III-a. Coloniile de *E. coli* au crescut cel mai intens pe mediile însămânțate cu lavaje prelevate de la puii din grupa a III-a (665 colonii). O creștere mai puțin intensivă a coloniilor a fost observată la probele prelevate de la puii din grupa a V-a (101 colonii).

Un număr semnificativ de colonii de *Bacteroides* s-a înregistrat la puii din grupa a II-a (270 colonii), însă o intensitate mai redusă a dezvoltării tulpinilor respective s-a înregistrat la puii din grupa a III-a (88 colonii). Concomitent un număr de colonii de *Enterococcus* cu valori mai ridicate au fost stabilite la puii din grupa a I-a (206 colonii). Totodată, valori mai scăzute au fost înregistrate la puii din grupa a IV-a (19 colonii).

La vârsta puilor de 55 de zile, conform datelor din tabelul 3, numărul de colonii ale tulpinilor bacteriene de streptococi a predominat la puii din grupa a V-a (772 colonii). Tot la această grupă de pui, cele mai mari valori au fost stabilite și la coloniile de bifidobacterii (896 colonii). Coloniile de *E. coli* s-au dezvoltat

**Tabelul 1.** Compoziția cantitativă a microflorei intestinale la puii cu vârsta de o zi

Culturi identificate	Streptococi	Bifidobacterii	<i>E. coli</i>	<i>Bacterioides</i>	<i>Enterococcus</i>
Nr. colonii	81±0,1	150±0,34	273±0,23	141±0,32	60±0,42

**Tabelul 2.** Compoziția cantitativă a microflorei intestinale la puii cu vârsta de 15 zile

Culturi identificate	Grupa I (colonii)	Grupa II (colonii)	Grupa III (colonii)	Grupa IV (colonii)	Grupa V (colonii)
Streptococi	252± 0,2	270± 0,27	243± 0,11	82± 0,2	985± 0,44
Bifidobacterii	131± 0,41	154± 0,24	107± 0,08	202± 0,32	630± 0,19
<i>E. coli</i>	620± 0,04	533± 0,32	665± 0,44	222± 0,08	101± 0,27
<i>Bacterioides</i>	115± 0,18	270± 0,46	88± 0,19	163± 0,41	98± 0,14
<i>Enterococcus</i>	206± 0,42	34 ± 0,5	130± 0,02	19 ± 0,29	75± 0,13

**Tabelul 3.** Compoziția cantitativă a microflorei intestinale la puii cu vârsta de 55 de zile

Culturi identificate	Grupa I (colonii)	Grupa II (colonii)	Grupa III (colonii)	Grupa IV (colonii)	Grupa V (colonii)
Streptococi	261± 0,33	275± 0,12	266± 0,11	248± 0,42	772± 0, 5
Bifidobacterii	245± 0,11	198± 0,24	221± 0,16	298± 0,12	896± 0,39
<i>E. coli</i>	597± 0,43	614± 0,32	664 ± 0,04	722 ± 0,4	114± 0,16
<i>Bacterioides</i>	233± 0,5	69 ± 0,16	155 ± 0,07	63± 0,11	83± 0,09
<i>Enterococcus</i>	17 ± 0, 27	144 ± 0,33	123 ± 0,21	165± 0,09	102 ± 0,44

**Tabelul 4.** Compoziția cantitativă a microflorei intestinale la puii cu vârsta de 75 de zile

Culturi identificate	Grupa I (colonii)	Grupa II (colonii)	Grupa III (colonii)	Grupa IV (colonii)	Grupa V (colonii)
Streptococi	297 ± 0,4	330 ± 0,3	297 ± 0,19	299 ± 0,5	804± 0, 22
Bifidobacterii	304 ± 0,15	296 ± 0,23	317 ± 0,3	431 ± 0,48	831± 0,15
<i>E. coli</i>	452 ± 0,37	488 ± 0,15	476 ± 0,5	378 ± 0,14	314± 0,43
<i>Bacterioides</i>	44 ± 0,5	64 ± 0,35	101 ± 0,23	56 ± 0,36	43± 0,18
<i>Enterococcus</i>	65 ± 0,08	99 ± 0,21	119 ± 0,47	137 ± 0,17	101 ± 0,27

cel mai intens pe mediile însămânțate cu lavaje prelevate de la puii din grupa a IV-a (722 colonii), iar cel mai mic număr de colonii bacteriene a fost înregistrat la puii din grupa a V-a (114 colonii).

Cel mai înalt număr de colonii de *Bacterioides* a fost înregistrat la puii din grupa a I-a (233 colonii), iar coloniile de *Enterococcus* au manifestat cele mai înalte valori la puii din grupa a IV-a (165 colonii).

La vârsta puilor de 75 de zile, conform datelor din tabelul 4, numărul de colonii ale tulpinilor bacteriene de streptococi a continuat să predomine la puii din grupa a V-a (804 colonii), iar ale coloniilor de bifidobacterii - la puii din grupa a V-a (831 colonii). Concomitent, coloniile de *E. coli* s-au dezvoltat cel mai intens din lavajele prelevate de la puii din grupa a II-a (488 colonii).

La această vârstă a puilor, o intensitate mai redusă de creștere a fost înregistrată și la coloniile de *Bacterioides*. Totuși cele mai mari valori (101 colonii) au fost înregistrate la puii din grupa a III-a. Coloniile de *Enterococcus* continuă să înregistreze cele mai ridicate valori la puii din grupa a IV-a (137 colonii).

## CONCLUZII

1. Numărul de colonii bacteriene în intestinul puilor de găină crește concomitent cu vârsta puilor, microflora acestora fiind constituită prioritar din streptococi, bifidobacterii, *E. coli*, *Bacterioides*.

2. Utilizarea produselor cu efect medicamentos obținute ca urmare a creșterii tulpinilor de streptomicete stimulează dezvoltarea încărcăturii bacteriene simbiotă de la nivelul mucoasei intestinale a puilor de găină. În același timp, utilizarea oxitetracilinei produce un efect bacteriocid și bacteriostatic asupra microflorei simbiote intestinale, îndeosebi asupra tulpinilor de streptococi și *E. coli*, fiind necesar timp îndelungat pentru restabilire.

3. Utilizarea probioticului Immunobak stimulează creșterea numărului de colonii de streptococi și bifidobacterii, care cresc și se dezvoltă acaparând suprafețe la nivelul mucoasei intestinale în detrimentul celorlate tulpini bacteriene existente.

### REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. ALIREZA, S., SEYED, M.D. (2014). Effect of symbiotic on the intestinal microflora of chicken. In: Applied Poultry Research, vol. 23(1), pp. 1-6. DOI 10.3382/japr.2012-00709.
2. GONG, J., FORSTER R.J., YU, H., CHAMBERS, J.R., SABOUR, PM., WHEATCROFT, R., CHEN, S. (2002). Diversity and phylogenetic analysis of bacteria in the mucosa of chicken caeca and comparison with bacteria in the cecal lumen. In: FEMS Microbiology Letters, vol. 208, pp. 1-7. ISSN 1574-6968.
3. LU, J., IDRIS, U., HARMON, B., HOFACRE, C., MAURER, J., LEE, M. (2003). Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. In: Applied and Environmental Microbiology, vol. 69 (11), pp 6816-6824. ISSN 0099-2240.
4. MATVEEVA, T. (2009). The use of probiotics in growing broiler chickens. In: Proc. Kuban State. Agrarian University. Series Veterinary Science, vol. 1, pp. 294-296.
5. PROIETTI, P.C., Dal BOSCO, A., HILBERT, F., FRANCIOSINI, M.P., CASTELLINI, C. (2009). Evaluation of intestinal bacterial flora of conventional and organic broilers using culture-based methods. In: Italian Journal of Animal Science, vol. 8(1), pp. 51-63. DOI 10.4081/ijas.2009.51
6. RAKHSHAN, M., SHIVAZAD, S., MOUSAVI, M., AND ZAGHARI, M. (2010). The effect of probiotics teknomoss on gut morphology and intestinal bacterial population in broiler chicken. In: 4th Iranian Animal Science Congress, Tehran University, Tehran-Karaj, Iran, pp. 703-706.
7. Van der WIELEN, P.W., KEUZENKAMP, D.A., LIPMAN, L.J., van KNAPEN, F., BIESTERVELD, S. (2002). Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. In: Microbial Ecology, pp. 312-318. DOI 10.1007/ s00248-002-2015-y.

Data prezentării articolului: 23.08.2016

Data acceptării articolului: 25.10.2016