

MONITORIZAREA BACTERIILOR DIN GENUL SALMONELLA SPP. ÎN CADRUL UNOR INCUBATOARE

* JUNCU OLGA, STARCIUC NICOLAE, *OSADCI NATALIA,
*ANTOHHI TATIANA, *MANCIU ALEXANDRU, *MALANCEA NICOLAE,
*CIUCLEA AUREL, ** MOSCALIC ROMAN

*Universitatea Agrară de Stat din Moldova

** Institutul Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară

Abstract. The proposal of investigations was to establish the presence of Salmonella spp. serotypes on incubation wastes (eggshells) from incubators for broilers and laying hens with destination for individuals and farmer's needs. The bacteriological examinations have shown that the hatching enclosures remain associated bacterial microflora and the predominant bacterial forms was represented by Streptococcus, Staphylococcus, Salmonella spp., E. coli, and fungal. In most examined samples, the bacterial forms were associated by two or three contaminants including Salmonella spp. Bacterial forms isolated from chickens hatched shells have shown that the majority of antibiotics used in poultry grow had the reduced susceptibility et the bacterial isolate forms. The most effective bacterial growth inhibition was obtained by florfenicol with the inhibition zone until 13 mm.

Key words: Eggs, Incubator, Microflora, Embryos, Colonies, Poultry.

INTRODUCERE

La momentul actual produsele avicole prezintă un interes deosebit în alimentația omului, iar consumatorii devin din ce în ce mai conștienți de aspectele igienice ale vieții și alimentației lor cât și de multiplele cazuri de îmbolnăviri alimentare ce se datorează consumului de ouă, carne sau preparate din carne, cauza fiind microorganismele prezente în flora intestinală a păsărilor sănătoase sau bolnave, care nu au fost detectate la inspecțiile veterinare de rutină [1,4,7]. Măsurile de prevenire a salmonelozei aviare prezintă un complex de activități sanitare veterinare care prevăd monitorizarea riscului de contaminare cu bacterii din genul Salmonella spp. pe tot lanțul producerii atât a păsărilor pentru carne, cât și a ouălor de consum, dar mai cu seamă a ouălor destinate pentru incubație [5,9].

Microorganismele patogene prezente inițial în număr redus în produsele avicole, se se pot înmulți atunci când produsul este prelucrat, transportat, depozitat. În momentul ponteii, conținutul oului provenit de la o pasăre sănătoasă este în general steril. În pofida microflorei de contaminare inițială, ouăle rezistă destul de bine agresiunilor microbiene. Când coaja este integră, ea reprezintă o barieră mecanică importantă față de pătrunderea microorganismelor în ou. Cuticula care acoperă coaja are proprietăți bacteriostatice, iar membranele cochiliere, deși poroase, formează o barieră mecanică suplimentară, relativ dificil de traversat [3,6,8].

Totuși, după pontă, suprafața cojii oului este contaminată cu diverse microorganisme. Numeric, ele pot ajunge până la câteva milioane/cm² de coajă. În acest stadiu, contaminarea superficială este datorată în principal microorganismelor Gram pozitive (Micrococcaceae). Flora de contaminare a ouălor este relativ constantă, principalele microorganisme aparținând genurilor Pseudomonas,

Salmonella, E.coli, Citrobacter, Proteus ș.a. Multe dintre bacteriile aparținând genurilor enumerate sunt psihrotrofe. Alterările ouălor cu bacterii psihrotrofe sunt grave sub raport economic și igienic, deoarece pot interveni în condițiile conservării ouălor prin refrigerare, iar modificările organoleptice se evidențiază foarte târziu [2,8].

Pentru ouăle destinate incubării importantă este starea lor de contaminare atât externă cât și internă. Contaminarea internă este ocazională și poate fi dată, în special, de microorganisme patogene și facultativ patogene ce pătrund în ou în perioada de formare (la păsări bolnave). Dintre microorganismele de contaminare internă amintim mai periculoase se consideră bacteriile din genul Salmonella, cu speciile: Salmonella enteridis, Salmonella galinarium. Acestea pot să provină fie de la păsări care au suferit îmbolnăvirea, fie din contaminare externă (dejecția altor păsări). Procentul de ecluziune a ouălor pentru incubare și starea de sănătate a puilor în primele zile de viață în mare măsură depinde de calitatea ouălor destinate pentru incubație, proveniența acestora de la efective de păsări favorabile de boli infecțioase, cât și starea de contaminare externă și internă [4,7].

Luând în considerare cele menționate mai sus, scopul cercetărilor noastre a fost de a stabili prezența și diversitatea microflorei prezente la unele incubatoare din republică care furnizează puii cu vârsta de o zi pentru necesitățile crescătorilor particulari, cât și a unor întreprinderi avicole.

MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul de cercetare a servit probele din coji de ouă prelevate de la incubatoarele ce asigură cu puii de găină cu vârsta de o zi proprietarii din sectorul particular și unii producătorii de ouă și de carne din republică,

Investigațiile microbiologice au fost efectuate în cadrul laboratorului de microbiologie a Catedrei Clinică II a facultății de Medicină Veterinară, UASM. Cojile de ouă au fost prelevate din dulapurile de ecluziune conform cerințelor sanitare veterinare de la patru incubatoare plasate în diferite regiuni ale republicii, care asigurau cu pui de o zi unele întreprinderi avicole pentru creșterea puilor broiler, cât și pui pentru necesitățile proprietarilor individuali din regiunile rurale ale republicii. În mod aleatoriu au fost prelevate câte 3 probe de material pentru examinare de la fiecare incubator. Ulterior, în laborator au fost efectuate însămînțări pe mediile de cultură: Nutrient agar, Endo Agar, SSA (Salmonella Shigella Agar), Sabouraud Dextroze Agar, Bismut sulfid agar. Ca indicatori pentru monitorizarea s-a stabilit prezența și structura morfologică a coloniilor bacteriene crescute pe mediile de cultură, iar ulterior din coloniile bacteriene au fost pregătite frotiuri care au fost colorate prin metoda Gram și examinate la microscopul biologic, obiectiv 10x100.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Pe figurile 1-4 sunt reprezentate unele din coloniile de microorganisme care predominant s-au dezvoltat pe mediile de cultură.



Fig. 1 Colonii asociate de Strepto și Stafilococi pe mediul Agarul peptonat

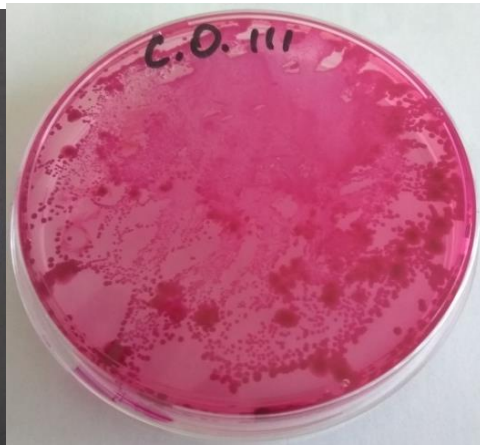


Fig. 2 Colonii de *E. Coli* pe mediul Endo

În rezultatul investigațiilor bacteriologice s-a stabilit că în toate probele cojilor de la puii eclozionați de la toate incubatoarele persistă o floră bacteriană asociată. Pe figura 1 sunt prezentate coloniile de *Streptococi* și *Stafilococi* care au forma rotundă sau ovală, de culoare alb – surie, plasate separat sau în grămezi, fiind răspândite pe toată suprafața plăcii Petri, predominant central. Numărul acestora a variat de la 135 pînă la 320 colonii. O creștere intensivă a coloniilor de *E.coli* a fost prezentă concomitent la toate probele examinate (fig. 2), culoarea coloniilor fiind roșie cu intensitate pînă la bordo, cu luciul metalic, plasate pe toată suprafața plăcii Petri, numeric acestea au constituit de la 178 la 355 colonii.



Fig. 3 Colonii de *Salmonella spp.* pe mediul SSA



Fig. 4 Colonii de *Salmonella spp.* pe mediul SSA

Coloniile de *Salmonella spp.* au avut o creștere de la moderat pînă la intensivă în probele examinate. Unele din rezultatul dezvoltării coloniilor de *Salmonella spp.* sunt prezentate pe figurile 3 și 4. Pe mediul Salmonella Sigiella Agar coloniile de *Salmonella spp.* sunt de culoare cafeniu – închis, cu centru de o culoare mai intensă iar la periferie mai deschisă, plasate uniform pe suprafața plăcilor Petri, cu o variație numerică de 78 pînă la 274 colonii.

Concomitent au fost pregătite frotiuti din coloniile microorganismelor și examinate la microscopul biologic. Rezultatele acestui studiu sunt prezentate pe figurile 5-8. Pe figura 5 și 6 sunt reprezentați *Streptococi* și *Stafilococi* izolați din cojile prelevate de la incubatoare, în cazul când frotiurile au fost preparate din coloniile microbiene ce sau dezvoltat pe mediul nutrient agar, care sunt dispersați practic uniform în tot câmpul microscopului, plasați în formă de lanțișor, separati cite unul, doi sau în grămezi sub diferite forme, avînd forma sferică și de culoare albastră.

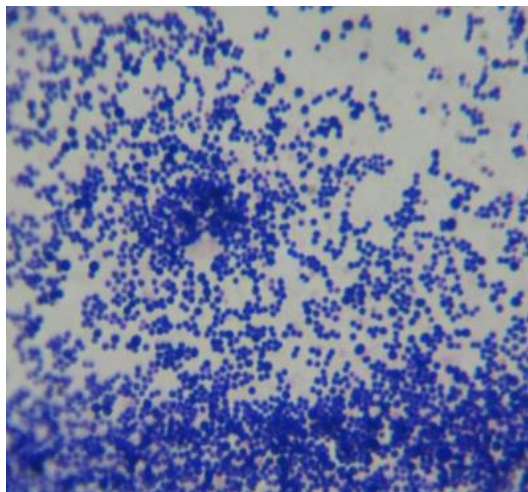


Fig.5 *Streptococi* și *Stafilococi*
(colonii de pe mediul nutrient agar, ob. 10x80)

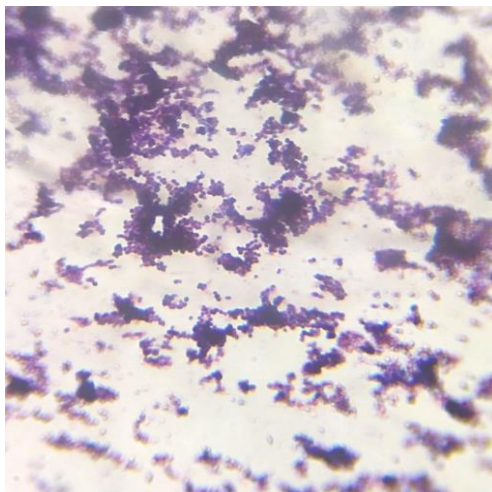


Fig. 6 *Stafilococi* (colonii de pe mediul nutrient agar, ob. 10x80)

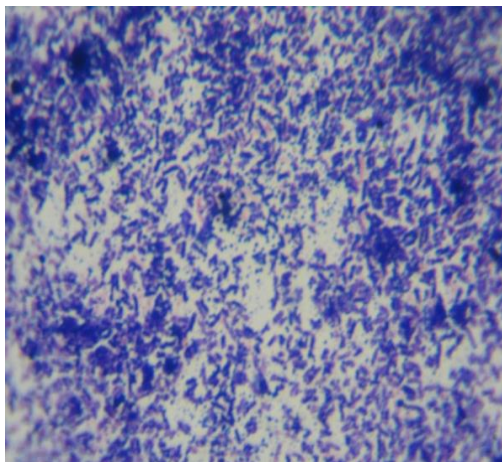


Fig.7 Forme de *Streptococi*, *Salmonella spp.*, și *E.coli*, (colonii de pe mediul SSA, ob. 10x80)



Fig. 8 Fungi și drojdii (colonii de pe mediul Sabouraud Dextroze Agar, ob. 10x80)

În cazul când frotiurile au fost preparate din coloniile microbiene se s-au dezvoltat pe mediul Salmonella Shigella agar (Fig. 7), se observă reprezentă colonii de microorganisme în asociere înde predomină, *Streptococii*, de culoare albastră, bacterii din genul *Salmonella spp.*, *E coli*, care au forma de bastonașe cu capetele ovale de culoare rozov. Pe figura 8 sunt prezentate unele forme de fungi și drojdii în asociere cu Streptococi. În acest caz frotiurile au fost preparate din coloniile ce au crescut pe mediul Sabouraud Dextroze Agar. Ulterior, flora bacteriană izolată a fost

testată la sensibilitatea față de unele antibiotice care au o utilizare mai frecventă în creșterea păsărilor.

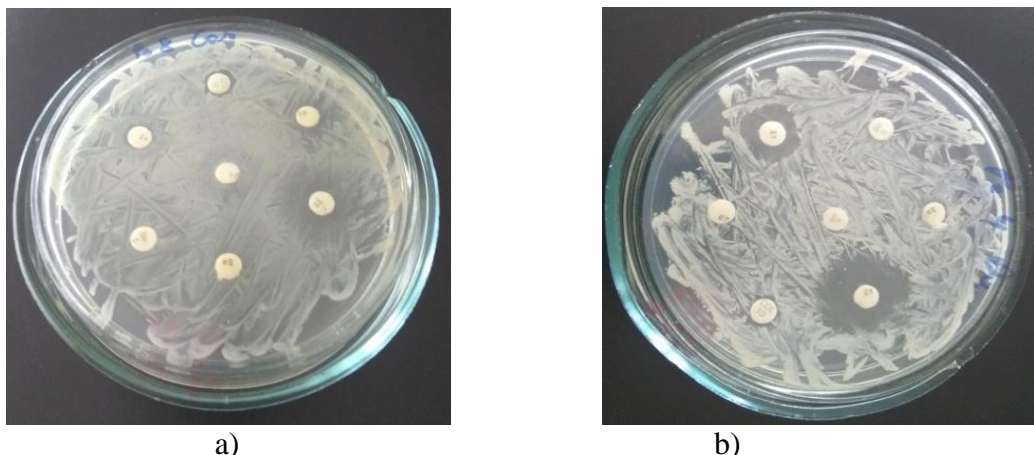


Fig.9 a) și b) Antibiograma (zona de inhibiție a creșterii coloniilor de microorganisme)

Ca urmare a acestui studiu s-a stabilit o sensibilitate moderată a microflorei izolată față de unele antibiotice, avînd parametri după cum urmează: Eurosol 5mg – 4 mm, Florfenicol 30mg – 13 mm, Oxitetraclîn 30mg – 8mm, Genta plus 10mg - 3mm, Tilmivap 15mg – 0 mm. Rezultatul acestui studiu este reprezentat pe figurile 9 a) și b. Cel mai sensibil antibiotic față de microflora izolată sa dovedit a fi Florfenicolul , unde zona de inhibiție a coloniilor bacteriene a constituit 13mm, iar ce-a mai redusă acțiune a fost obținută la preparatul tilmivap avînd indecele o mm.

CONCLUZII

1. Investigațiile bacteriologice au demonstrat că în dulapurile de ecloziune pentru puii de găină persistă o microfloră bacteriană asociată în care predomină formele bacteriene reprezentate de *Srteptococii*, *Stafilococii*, *Salmonella spp.*, *E. Coli* și o floră micotică.
2. Prezența bacteriilor din genul *Salmonella spp.* prezintă un risc major de contaminare a puilor și de apariție a pulorozei în primele zile de viață cu eventuale pierderi economice semnificative.
3. Formele bacteriene izolate din cojile de la incubatoare au demonstrat că majoritatea din antibacterienele utilizate în creșterea păsărilor prezintă o sensibilitate redusă asupra bacteriilor, mai eficient fiind florfenicolul cu zona maximală de inhibiție a creșterii coloniilor bacteriene de 13 mm.

BIBLIOGRAFIE

1. Anca M. Galiș, Marcq Ch., Marlier D., et al. Control of Salmonella contamination of Shell Eggs - Preharvest and Postharvest Methods. Volume 12, Issue 2, 2013, p. 155-182.
2. Arnold ME, Martelli F, McLaren I, Davies RH. Estimation of the rate of egg contamination from Salmonella-infected chickens. Zoonoses Public Health. 2014, 61:p.18–27.

3. De Knecht L.V, Pires S.M, Hald T. Attributing foodborne salmonellosis in humans to animal reservoirs in the European Union using a multi-country stochastic model. *Epidemiol Infect.* .2015, 143: p.1175–1186.
4. Esaki H, Shimura K, Yamazaki Y, Eguchi M, Nakamura M. National surveillance of *Salmonella* Enteritidis in commercial eggs in Japan. *Epidem. Infect.*, 2013, 141: p.941–943.
5. Gantois I, Ducatelle R., Pasmans F., et. al. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella enteritidis*. *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 33, Issue 4, July 2009, p. 718–738.
6. Jones DR, Cox NA, Guard J, Fedorka-Cray PJ, Buhr RJ, Gast RK, et al. Microbiological impact of three commercial laying hen housing systems. *Poult. Sci.*, 2015, 94: p.544–551.
7. O’Brien S.J. The “decline and fall” of nontyphoidal *Salmonella* in the United Kingdom. *Clin. Infect. Dis.*, 2013, 56: p.705-710.
8. Trampel D.W, Holder T.G, Gast R.K. Integrated farm management to prevent *Salmonella* Enteritidis contamination of eggs. *J Appl. Poult. Res.*, 2014, 23: p.353–365.
9. Williams S.M, Dufour-Zavala L, Jackwood M.W, et al. *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*. Jacksonville, FL: American Association of Avian Pathologists. 2016, p. 103–112.