

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ „ION IONESCU DE LA BRAD” IAȘI
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
Domeniul Medicină Veterinară
Specializarea Boli infecțioase**

EMILIA CIOCÎRLAN

TEZĂ DE DOCTORAT

**Conducător științific,
Prof. Univ. Dr. Tudor Perianu**

IAȘI, 2008

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ „ION IONESCULE DE LA BRAD” IAȘI
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
Specializarea Boli infecțioase**

EMILIA CIOCÎRLAN

**CERCETĂRI PRIVIND PATOLOGIA
INFECȚIOASĂ DE INCUBAȚIE**

**Teză pentru obținerea titlului științific de
„Doctor în medicină veterinară”**

**Conducător științific,
Prof. Univ. Dr. Tudor Perianu**

IAȘI, 2008

Rezumat

Ouăle și carnea de pasăre sunt alimente cu numeroase calități, ceea ce face ca, în viitor producția lor să crească în mod constant, lucru care reiese și din datele publicate de revistele internaționale de specialitate, de mare prestigiu. Astfel, calitățile dietetice ale acestora le determină să fie utilizate în numeroase maladii și în perioada de convalescență, iar valoarea lor trofico-biologică ridicată, ca și acceptarea folosirii lor de către toate popoarele, indiferent de religie, le recomandă cu prisosință pentru a fi consumate fără niciun fel de restricții. Iată de ce, în următorii ani, creșterea producției de ouă și carne de pasăre, va fi deosebit de spectaculoasă, în unele zone. După previziunile înscrise în „Poultry International”, în anul 2010, în Statele Unite ale Americii, se vor consuma 500 de ouă pe locuitor, iar în 2040, 86 kg carne de pasăre, din care 27 kg carne de curcan.

Rentabilitatea în sectorul avicol depinde de posibilitățile de realizare a unei producții mari de carne și ouă cu un minimum de cheltuieli. Știința și practica avicolă au recurs în creșterea și întreținerea păsărilor productive, la metode mai întâi semiindustriale, apoi industriale.

Prin incubație se înțelege procesul de dezvoltare a embrionului cu viață latentă din oul fecundat până la obținerea unui pui sau boboc de o zi, cu viabilitate normală, sub influența anumitor factori fizici, într-o anumită perioadă de timp, caracteristică fiecărei specii sau chiar unei rase de păsări.

Incubația ouălor poate fi naturală, când factorii fizici necesari dezvoltării embrionare sunt asigurați de pasărea cloșcă și artificială, când acești factori sunt asigurați de incubatoare.

Ouăle proaspete sunt foarte rezistente la contaminarea microbiană, cu condiția să provină de la păsări sănătoase, hrănite rațional, adăpostite în condiții igienice și beneficiare ale unui microclimat corespunzător.

Un grad mai mare de periculozitate pentru viața embrionilor îl prezintă însă microorganismele responsabile de declanșarea unor boli infecțioase și care se transmit direct de la păsările bolnave sau trecute prin boală la sâmburele de viață din discul germinativ al ouălor.

Rezistența deosebită față de contaminarea microbiană a ouălor proaspete este dată, în principal, de prezența membranelor, care protejează gălbenușul, cel mai vulnerabil component structural al ouălor la atacul microbian. În plus, lizozima conținută de albuș, exercită o puternică acțiune bactericidă. Spre deosebire de ouăle proaspete, cele vechi și păstrate incorect, sunt improprii nu numai pentru incubație, ci și pentru consumul public, fiind ușor contaminate de microorganismele existente în mediul ambiental.

Un grad și mai mare de periculozitate pentru viața embrionilor îl prezintă însă microorganismele responsabile de declanșarea unor boli infecțioase și care se transmit direct de la păsările bolnave sau trecute prin boală la sâmburele de viață din discul germinativ al ouălor.

Sursele principale de infecție a ouălor și implicit a embrionilor ce se dezvoltă în aceste ouă sunt păsările bolnave și cele trecute prin boală, care elimină timp îndelungat germenii prin fecale, determinând contaminarea așternutului, cuibarelor, apei și a hranei.

În lucrare s-a urmărit a cerceta flora bacteriană aerobă de incubație, care poate influența procentul de ecloziune, atât în condiții naturale cât și artificiale, dar și patogenitatea germenilor izolați și identificați.

Lucrarea cuprinde 167 pagini, fiind redactată în IX capitole și este structurată în două părți. Prima parte (Cap. I, II și III) sintetizează principalele date bibliografice din literatura de specialitate privitor la infecțiile bacteriene aerobe de incubație și constituie „Stadiul actual al cunoașterii”, iar partea a doua (Cap. IV, V, VI, VII și VIII) se referă la cercetări proprii. Fiecare capitol din partea a 2-a a tezei, are în cuprins material și metode de lucru, rezultatele obținute cu discutarea lor și concluzii parțiale. În capitolul IX sunt sintetizate în cele 29 de concluzii finale, principalele aspecte desprinse în urma cercetărilor efectuate.

În lucrare sunt expuse 21 de tabele, 95 figuri, iar bibliografia cuprinde 130 titluri.

Prima parte a lucrării, reprezintă o sinteză a literaturii referitoare la etiologia patologiei infecțioase de incubație, cu accente asupra morfologiei oului de incubat, a factorilor care influențează calitatea oului, precum și la stadiul actual pe plan mondial, al cercetărilor întreprinse pentru fundamentarea științifică a acțiunii agenților patogeni de natură bacteriană asupra oului și a embrionului.

În capitolul I sunt prezentate datele disponibile la ora actuală legate de morfologia oului de incubat.

Capitolul II, tratează factorii care influențează calitatea oului de incubat înainte de depunere, după ce a fost depus, precum și factorii care influențează procesul de incubație. Au fost trecute în revistă metodele de împerechere și raportul de sexe, întreținerea păsărilor de reproducție, recoltarea, depozitarea și alegerea ouălor de incubat, precum și factorii care influențează procesului de incubație.

Capitolul III, prezintă etiologia infecțiilor de incubație. Sunt prezentate infecțiile produse de microorganisme condiționat patogene (*Proteus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*), ca și infecțiile determinate de microorganisme patogene, *Salmonella* spp. (tifo-puloroza și paratifozele aviare).

Premisele de la care s-a pornit în efectuarea cercetărilor proprii a fost aceea de a evidenția unele particularități ale infecțiilor bacteriene în condițiile incubației artificiale, ca și

unele aspecte ale procesului de incubație în condiții naturale la diferite specii de păsări (găini și rațe).

În partea a 2-a „Cercetări proprii”, redactată în V capitole, investigațiile au urmărit „flora bacteriană aerobă a ouălor de găină și de rață, înainte de a fi incubate” (cap. IV.), „flora bacteriană aerobă a ouălor incubate recoltate de la păsări crescute în sistem intensiv” (cap.V), „flora bacteriană aerobă a ouălor incubate (la cloșcă) recoltate de la păsări crescute în sistem extensiv, gospodăresc” (cap.VI), „activitatea antibacteriană a unor chimioterapice asupra tulpinilor bacteriene aerobe izolate” (cap.VII) și „strategia de supraveghere și prevenire a infecțiilor bacteriene aerobe de incubator” (cap.VIII).

În capitolul IX sunt sintetizate „concluziile finale” desprinse în urma cercetărilor bacteriologice, privind infecțiile bacteriene aerobe de incubație.

Cercetările privind flora bacteriană a ouălor pentru reproducție înainte de a fi introduse la incubator (cap.IV) efectuate pe un număr de 547 ouă din care 290 de găină și 257 de rață, cu vechime de 24 (125 respectiv 165) ore și de 20 (170 respectiv 87) zile de la depunere, neincubate (normale), a dus la izolarea a 67 tulpini bacteriene aerobe, ceea ce reprezintă 12,24%,

Flora bacteriană aerobă izolată a fost identificată ca aparținând speciilor: *Bacillus cereus* 20 (3,66%) tulpini, *Staphylococcus aureus* 14 (2,38%) tulpini, *Escherichia coli* 13 (2,35 %) tulpini, *Proteus vulgaris* 12 (2,17 %) tulpini și *Salmonella* spp. 8 (1,46 %) tulpini. Se poate observa că, deși oul dispune de mijloace de protecție naturale (coajă, membrane cochiliere, cuticula, precum și bogăția albușului în lizozim), totuși este expus invadării de către diverse microorganisme. Proporția bacteriilor aerobe prezente în componentele structurale (gălbenuș, albuș și coajă), este de 8,20-11,20 % pentru ouăle proaspete, cu o vechime de 24 ore de la depunere și de 14,40-25,08 % pentru cele cu o vechime de 20 de zile, păstrate în condiții obișnuite de temperatură și umiditate.

Flora bacteriană aerobă izolată este diferită în funcție de componenta structurală, de vechime și de proveniența ouălor (găină sau rață). Astfel, în ceea ce privește componenta structurală, se observă că din albușul celor 547 ouă de găină și de rață nu s-a izolat nici o tulpină bacteriană, în timp ce din gălbenuș s-a izolat 1 (0,58%) tulpină de *Salmonella* spp. de la ouăle de rață.

De pe coaja ouălor proaspete de găină s-au izolat 7 (11,20%) tulpini, iar de pe coaja celor vechi de 20 de zile un număr de 16 (9,60%) tulpini. În schimb, de pe coaja ouălor proaspete de rață s-au izolat 13 (7,54%) tulpini de bacterii aerobe și 16 (18,24%) de pe coaja celor vechi de rață.

Prezența unui procent diferit de germeni izolați de pe coajă, se explică prin gradul de murdărire cu materii fecale a oului, ca urmare a modului de depunere diferit la rață față de găină, gradului de umectarea a suprafeței sale și de condițiile de depozitare și păstrare.

Rezultatele obținute prezintă pe lângă interesul epidemiologic și o importanță socială, de sănătate publică, întrucât semnaleză izolarea frecventă a lui *Bacillus cereus* și *Proteus vulgaris* din ouă, germeni cunoscuți ca factori potențiali toxiinfecțioși de natură alimentară la om.

Cercetările privind incidența infecțiilor bacteriene aerobe a ouălor introduse la incubator provenite de la păsări crescute în sistem intensiv (Cap.V), s-au efectuat în perioada 2005-2007, pe 281 probe de material patologic, reprezentat de: 132 ouă de găină cu embrionii morți, în vârstă de 17-18 zile, 76 pui neviabili, morți după ecloziune, în vârstă de 1-2 zile și 73 deșeuri de incubație (cojile ouălor).

Examenul bacteriologic a dus la izolarea și identificare a 178 de tulpini bacteriene aerobe, ceea ce reprezintă 63,10%.

Flora bacteriană aerobă izolată este reprezentată de speciile bacteriene: *Escherichia coli* 52 (18,81%) tulpini, *Proteus vulgaris* 46 (16,37%), tulpini, *Staphylococcus aureus* 27 (9,60%) tulpini, *Bacillus cereus* 27 (9,60%) tulpini, *Streptococcus spp.* 13 (4,66%) tulpini și *Salmonella spp.* 3 (1,06%) tulpini.

Din rezultatele obținute se observă că în materialul patologic examinat predomină o floră bacteriană aerobă condiționat patogenă reprezentată de *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* și *Streptococcus spp.*, dar și de germeni potențial patogeni, cu importanță epidemiologică, *Salmonella spp.* Astfel, cele 3 tulpini de *Salmonella* s-au izolat 2 (66,66%) tulpini de pe cojile de ouă după ecloziune (deșeuri) și 1 (33,34%) din embrioni. Tulpinile izolate, biochimic și serologic au fost identificate ca aparținând speciilor : *Salmonella djugu* 2 (66,66%) tulpini și *Salmonella typhimurium* 1 (33,34 %) tulpină.

De menționat că, *Salmonella typhimurium*, considerată în general ca urmare a capacității sale mari de adaptare, ca fiind cea mai răspândită și ca un serotip predominant, s-a izolat numai o tulpină, ceea ce reprezintă 33,34%.

Cercetările bacteriologice privind incidența infecțiilor bacteriene aerobe a embrionilor de găină și de rață, proveniți din ouă incubate în sistem extensiv-gospodăresc (la cloșcă) (cap.VI), au condus la izolarea a 108 (42,67%) tulpini bacteriene aerobe, în majoritate condiționat patogene reprezentată din genurile: *Bacillus*, *Proteus*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* și *Salmonella*

Tulpinile bacteriene aerobe izolate diferă în funcție de proveniența materialului cercetat. Astfel, din cele 127 probe de material patologic recoltat de la ouăle embrionate de găină s-au

izolat și identificat 42 (33,14%) tulpini, iar din 126 probe de material patologic provenit de la ouăle embrionate de rață, s-au izolat 67 tulpini, reprezentând 53,17%.

Speciile bacteriene izolate diferă în funcție de proveniența materialului patologic. Astfel, din probele provenite de la ouăle embrionate de găină s-au izolat *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* și *Staphylococcus aureus*, iar din cele recoltate de la ouăle de rață *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* și *Salmonella spp.*

Germeii izolați, în majoritatea cazurilor erau asociați câte doi sau câte trei, mai frecvent întâlnindu-se asociația *Bacillus cereus* – *Proteus vulgaris* sau *Escherichia coli* – *Proteus vulgaris* – *Bacillus cereus*.

În capitolul VII intitulat „ Cercetări privind activitatea antibacteriană a unor chimioterapice față de unele tulpini bacteriene aerobe”, s-a investigat „in vitro” activitatea a 10 substanțe antibacteriene, față de 226 tulpini izolate în perioada 2002-2007 din diverse materiale patologice (ouă embrionate de găină, pui de găină neviabili, deșeuri de incubație).

Rezultatele obținute au evidențiat că, activitatea antibacteriană față de flora bacteriană aerobă, diferă în funcție de substanțele utilizate. Astfel, cele mai active s-au dovedit gentamicina (89,78%), urmate în ordine descrescătoare de amoxicilină (87,61%), kanamicină și furazolidonă cu (87,17%), ampicilină (79,38%), cloramfenicol (78,31%), eritromicină (34,51%), tetraciclină 28,87%, colistin (28,87%) și streptomycină (8,84%). Streptomycină, colistinul, tetraciclină și eritromicină s-au dovedit mai puțin active, majoritatea tulpinilor izolate (42,47 – 77,45%) fiind rezistente. De asemenea, activitatea antibacteriană a substanțelor cercetate diferă și în funcție de specia bacteriană examinată. Astfel, tulpinile de *Proteus vulgaris* s-au dovedit foarte sensibile față de acțiunea kanamicinei (78,78%), amoxicilinei (78,78%), gentamicinei (72,28%), furazolidon (56,07%) și ampicilină (68,78%), sensibile la streptomycină (39,39 % și eritromicină (37,39%) și rezistente față de activitatea tetraciclinei (53,02%) și cloramfenicol (48,50%).

Escherichia coli s-a dovedit foarte sensibilă la acțiunea gentamicinei (71,96 %), kanamicinei (66,10 %), colistin (63,67 %) și furazolidonei (52,43 %); sensibilă față de activitatea cloramfenicolului (37,81 %) și amoxicilinei (29,39 %); rezistentă la activitatea tetraciclinei (63,67 %), eritromicinei (62,21 %), streptomicinei (57,33 %) și ampicilinei (52,43 %).

Staphylococcus aureus foarte sensibil la gentamicină (97,62 %)), amoxicilină (95,24 %), ampicilină (83,34 %) și kanamicină (83,24 %); sensibil la furazolidon (53,62 %) și colistin (30,94 %) ; rezistent la streptomycină (64,48 %) și cloramfenicol (57,16 %).

Bacillus cereus s-a dovedit foarte sensibil la amoxicilină (93,56%), kanamicină (87,12 %) , gentamicină (83,90%) și ampicilină 54,00%); sensibil la acțiunea tetraciclinei (58,14 %) și

colistin (41,86%) și rezistent 100% la acțiunea eritromicinei (41,86%) și cloramfenicol (38,64%), iar Salmonella spp. foarte sensibilă la activitatea amoxicilinei (80,00%), gentamicinei (80,00%), ampicilinei (60,00%), kanamicinei (60,00%) și furazolidon (60,00%), sensibile la tetraciclină (80,00%) și cloramfenicol (60,00%), rezistente la activitatea amoxicilinei, tetraciclinei și eritromicinei 100%.

Sensibilitatea florei bacteriene aerobe izolate este evidentă la chimioterapicele care s-au folosit în mică măsură sau de loc în scop profilactico-curativ sau ca biostimulator în hrana păsărilor

Prin aplicarea și respectarea cu rigurozitate a măsurilor strategice de supraveghere și prevenire a infecțiilor bacteriene de incubație (cap.VIII), s-a obținut atât micșorarea procentului de ouă nefecundate (de la 1,85 la 0,9%), cât și al embrionilor morți (de la 8,41% la 7,8%). În schimb a crescut procentul puilor viabili de la 63,11% la 77,90%.