

CZU: 612.3:579.86

ACȚIUNEA DIVERSELOR RAȚII ALIMENTARE ASUPRA PROCESULUI DE MULTIPLICARE A STREPTOCOCILOR INTESTINALI

Victoria BOGDAN, Tudor STRUTINCHI,
Maria TIMOȘCO, Aliona VELCIU, Valentina STROCOV

Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie

În mod experimental, atât în condiții *in vitro*, cât și *in vivo*, a fost dovedită acțiunea benefică sau prebiotică a variantei cu numărul 5 a rațiilor alimentare, elaborate în premieră în cadrul Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie, asupra procesului de multiplicare și dezvoltare a streptococilor intestinali din genul *Enterococcus*, în special, *E. faecium*, care prezintă un interes major pentru menținerea sănătății tubului digestiv, precum și pentru industria farmaceutică.

Cuvinte-cheie: acțiune prebiotică, rație alimentară, proces de multiplicare, streptococi intestinali, tub digestiv, industrie farmaceutică.

THE ACTION DIFFERENT FOOD RATIONS ON THE MULTIPLICATION PROCESS OF INTESTINAL STREPTOCOCCUS

Experimentally under *in vitro* and *in vivo* conditions, the beneficial or prebiotic action of the 5th version of food rations developed for the first time at the Institute of Physiology and Sanocreatology on the process of multiplication and development of streptococci intestinal species of the genus *Enterococcus*, particularly *E. faecium*, which are of major interest in maintaining the health of the digestive tract as well as for the pharmaceutical industry.

Keywords: prebiotic action, food ration, multiplication process, intestinal streptococci, digestive tract, pharmaceutical industry.

Introducere

În informația bibliografică existentă se atrage atenția la dependența bacteriocenozei intestinale de factorul alimentar [1-3]. În cadrul Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie au fost realizate unele cercetări în această direcție, în special în scopul selectării rațiilor alimentare cu structura calorică determinată. Astfel de rații au manifestat impact pozitiv în optimizarea valorii numerice a microorganismelor intestinale, ceea ce a argumentat recomandarea lor spre utilizare în scopul menținerii optimale a bacteriocenozei intestinale în cazul neadministrării probioticelor [4- 8].

A fost studiată influența unor rații și adaosuri sau aditivi alimentari (cu valoare calorică variată și conținut de proteine de diversă origine ș.a.), demonstrându-se oportunitatea recomandării pentru practică numai a celor rații, care au acțiune benefică asupra indicilor cantitativi ai reprezentanților microbieni intestinali [9-11]. Aceasta se referă, preponderent, la bacteriile în formă de bacili, însă se cunoaște că microflora intestinală include cca 55-60% de bacterii în formă de coci. Unii autori atenționează că streptococii intestinali dispun de unele proprietăți utile pentru organism sau de activitate biologică sporită (antagonistă, adezivă, sintetizatoare ș.a.) [12-14], iar alții demonstrează că unele specii de bacterii au impact pozitiv asupra sănătății organismului [15, 16].

În baza celor expuse, se propune că ar fi rațional de utilizat streptococii intestinali la elaborarea preparatelor noi cu destinație prebiotică [17-20].

Astfel, scopul lucrării rezidă în studierea mai detaliată a modului de acțiune a diferitelor rații alimentare (elaborate în premieră în cadrul Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie) asupra procesului de multiplicare și dezvoltare a streptococilor intestinali ce prezintă interes pentru industria farmaceutică.

Material și metode

Pentru atingerea scopului propus au fost realizate două serii de experimente. Prima a fost realizată *in vitro* și a inclus șapte loturi. În această serie au fost supuse testării șase variante de rații alimentare elaborate în premieră în cadrul Laboratorului „Alimentație și Digestie Sanocreatologică” al Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie. Rațiile au servit și în calitate de material de studiu. În seria a doua, investigațiile au fost efectuate *in vivo* cu utilizarea animalelor de laborator (șobolani albi, linia WISTAR). În acest experiment a fost testată acțiunea rațiilor alimentare selectate în prima serie asupra procesului de multiplicare și dezvoltare a streptococilor intestinali din genul *Enterococcus*. Pentru aceasta, la începutul și la sfârșitul experimentelor de

la toate animalele experimentale au fost acumulate mostre de conținut intestinal (rectal). Mostrele au fost supuse cercetărilor cu utilizarea metodelor microbiologice clasice [16]. Inocularea lor a fost realizată pe mediul nutritiv electiv agarizat, recomandat pentru enterococi (produs și comercializat de către firma „Himedia”). Peste 72 de ore după incubarea mostrelor inoculate pe cutii Petri la temperatura de $37\pm 1^\circ\text{C}$ au fost calculați indicii cantitativi ai enterococilor la 1 g de conținut intestinal (prin înmulțirea numărului de colonii la diluția mostrei). Rezultatele finale sunt exprimate în logaritmi zecimali (log).

Rezultate și discuții

Rezultatele obținute în prima serie de experimente sunt reflectate în Tabelul 1.

Datele acestui tabel demonstrează că inocularea pe mediu nutritiv electiv a enterococilor speciei *E. faecium* în mod separat a asigurat multiplicarea lor până la nivelul cantitativ de 8,69 log/ml și decoctul a șase variante de rații alimentare nou-elaborate a contribuit la obținerea diferitelor rezultate. Reiese că rațiile alimentare utilizate au acționat în mod diferit asupra procesului de multiplicare a enterococilor, asigurând divers nivel de dezvoltare a acestor bacterii (de la 6,17 până la 8,77. log/ml).

Tabelul 1

Valoarea numerică a bacteriilor genului *Enterococcus* inoculate *in vitro* separat și în comun cu rațiile alimentare nou-elaborate

Lotul	Modul de inoculare: *separat, ** ^A în comun cu 6 variante de rații alimentare	Cantitatea celulelor microbiene vii la 1 ml de suspensie, logaritmi zecimali (log/ml)	Deosebirea față de martor, %
I	*	8,69±0,65	
II	**1	6,38±0,39	-26,58
III	**2	6,63±0,39	-23,70
IV	**3	6,17±0,48	-28,99
V	**4	8,59±0,63	- 1,15
VI	**5	8,77±0,67	+ 0,92
VII	**6	8,50±0,64	- 2,18

Notă: Lotul I – martor (inocularea *E. faecium* în mod separat); loturile II-VII – experimentale (inocularea *E. faecium* în comun cu decoctul a șase variante de rații alimentare respectiv loturilor).

Analizând deosebirea procentuală din tabel față de martor, a fost constatat că în seria de experimente variantele rațiilor alimentare cu numerele 1-4 și 6 au acționat asupra procesului de multiplicare a enterococilor în mod inhibitoriu, iar cu nr.5 – stimulatoriu, contribuind la creșterea neesențială a numărului de bacterii. De menționat că specia *Enterococcus faecium* în procesul investigațional a reflectat sensibilitate diferită la componența primară a rațiilor alimentare.

Așadar, a fost constatat că asupra enterococilor speciei *E. faecium* cea mai considerabilă acțiune a fost manifestată de către varianta cu nr.1, iar cea mai mică – cu nr.5 ale rațiilor alimentare testate. Influență intermediară s-a observat în variantele cu nr.4 și 6. De aceea, în continuare, aceste variante de rații nou-elaborate au fost supuse testării *in vivo*. Astfel, s-a argumentat necesitatea realizării seriei a doua de experimente.

În scopul confirmării rezultatelor obținute *in vitro*, au fost supuse testării patru variante de rații alimentare nou-elaborate. Dintre acestea, cele cu nr.4, 5 și 6 au fost selectate comparativ cu prima, aceasta fiind considerată în calitate de lot-martor. Caracteristica lor cantitativă, conform indicilor de bază, precum și loturile animalelor de laborator (șobolani ai liniei VISTAR) sunt indicate în Tabelul 2.

Tabelul 2

Caracteristica cantitativă a rațiilor alimentare nou-elaborate și experimentate *in vivo*, %

Componentele de bază	Cantitatea (în %), conform variantelor rațiilor alimentare testate / numărul loturilor de animale			
	1/I	4/II	5/III	6/IV
Proteine	8	11	12	14
Lipide	35	29	27	25
Glucide	57	60	61	61

Experimentele au fost realizate prin determinarea masei corporale a animalelor experimentale și a indicilor cantitativi ai bacteriilor din genul *Enterococcus*.

Rezultatele studiilor au fost fixate la începutul și la sfârșitul experimentelor (peste 60 de zile după acțiunea rațiilor alimentare supuse testării) și sunt relatate în Tabelele 3 și 4.

Tabelul 3

Masa corporală a șobolanilor utilizați la experimentarea diverselor variante ale rațiilor alimentare

Lotul	Greutatea șobolanilor în g/1 animal, conform timpului determinării		Adaos la masa vie a corpului, g/1 animal	Energia de creștere, g/1 animal	Deosebirea față de datele de la început, %
	Inițial	Final			
I	242,4±17,96	325,2±26,70	82,8	1,37±0,23	34,15
II	242,8±13,49	356,2±22,58	113,4	1,89±0,44	46,70
III	242,0±15,36	368,8±21,60	126,8	2,11±0,45	52,39
IV	242,8±12,22	352,6±29,64	109,8	1,83±0,47	45,22

Notă: Lotul I – a primit prima varianta (martor); lotul II – varianta 4; lotul III – varianta 5 și lotul IV – varianta 6 de rații alimentare experimentale (indicate în Tab.1).

Analiza datelor din Tabelul 3 denotă că masa corporală a animalelor experimentale a confirmat impactul pozitiv al rațiilor alimentare experimentate, fiind cu valoare nutritivă variată. Cea mai mică creștere a fost manifestată în cazul administrării primei variante de rație alimentară nou-elaborate (lotul I), deoarece s-a observat o creștere cu 34,15%. Celelalte variante de rații alimentare testate au contribuit la creșterea intensivă a masei corporale, comparativ cu masa corporală stabilită la începutul experimentelor (la variantele 4, 5 și 6 – respectiv, cu 46,70, 52,39 și 45,22%). Deci, conform dezvoltării animalelor, a fost constatat că cea mai optimă s-a dovedit a fi varianta cu nr.5 (lotul III).

În continuare, a fost determinată acțiunea rațiilor nominalizate asupra bacteriilor din genul *Enterococcus* (ca parte componentă a florei microbiene intestinale). Datele experimentale obținute sunt prezentate în Tabelul 4.

Tabelul 4

Indicii numerici ai enterococilor în conținutul intestinal al șobolanilor aflați sub acțiunea diverselor rații alimentare

Lotul	Genul micro-organismelor	Cantitatea celulelor microbiene la 1 g de conținut intestinal, logaritmi zecimali (log)		Deosebirea, %	
		la începutul experimentului	la sfârșitul experimentului	comparativ cu datele de la început	comparativ cu lotul I
I	En	5,11±0,36	8,65±0,42	+69,27	
II	En	5,50±0,39	6,58±0,48	+19,63	-23,93
III	En	5,67±0,41	6,63±0,39	+16,93	-23,35
IV	En	5,23±0,22	6,17±0,41	+17,97	-28,67

Notă: Loturile de animale corespund cu cele din Tabelul 2.

În baza datelor din Tabelul 4 se poate afirma că rația testată în lotul-martor (I) a exercitat impact negativ asupra procesului de multiplicare a reprezentanților microbieni determinați. Ceea ce a contribuit la dezvoltarea abundentă a microorganismelor facultative din genul *Enterococcus*, fiind și de categorie condiționat patogenă. Fapt confirmat de către indicii numerici de la sfârșitul experimentului, care s-au dovedit a fi mai mari (cu 69,27 %), comparativ cu nivelul acestora la începutul lui. Însă, concomitent menționăm că rațiile alimentare testate în loturile experimentale au demonstrat impact pozitiv, ceea ce s-a confirmat prin valoarea numerică a bacteriilor cercetate, care în loturile II, III și IV a fost mai mică, respectiv cu 23,93, 23,35 și 28,67%.

Așadar, în baza rezultatelor obținute s-a constatat că rațiile alimentare testate asupra procesului de multiplicare și dezvoltare a streptococilor intestinali au reflectat acțiune cu intensitate diferită, însă cea mai benefică a fost varianta cu nr.5. Deci, se poate afirma că indicii cantitativi ai enterococilor depind în mare măsură de componența rațiilor alimentare. De aceea, considerăm că valoarea lor numerică poate fi reglată și menținută nu doar cu ajutorul preparatelor microbiene cu acțiune probiotică, ci și prin utilizarea rațiilor alimentare, care reflectă influență prebiotică asupra streptococilor intestinali (pe exemplul variantei 5 a rațiilor experimentate).

Concluzii

1. S-a constatat oportunitatea testării rațiilor alimentare nou-elaborate inițial în condiții *in vitro*, pentru selectarea variantei cu acțiune optimă.

2. Streptococii intestinali, în special specia *E. faecium*, au reacționat prompt la componența rațiilor alimentare testate prin schimbarea indicilor lor cantitativi.

3. Experimental s-a dovedit că acțiunea variantei cu numărul 5 a rațiilor alimentare, elaborate în premieră în cadrul Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie, este benefică sau că exercită influență prebiotică asupra procesului de multiplicare și dezvoltare a streptococilor intestinali, atât în condiții *in vitro*, cât și *in vivo*.

Referințe:

1. FLINT, H.J., DUNCAN, S.H., SCOTT, K.P., LOUIS, P. Interactions and competition within the microbial community of the human colon: links between diet and health. In: *Environ. Microbiol.*, 2007, no 9(5), p.1101-1111.
2. MOUNTZOURIS, K.C., BALASKAS, C., FAVA, F. et al. Profiling of composition and metabolic activities of the colonic microflora of growing pigs fed diets supplemented with prebiotic oligosaccharides. In: *Anaerobe*, 2006, no 12(4), p.178-85.
3. YUAN, J.P., WANG, J.H., LIU, X. Metabolism of dietary soy isoflavones to equol by human intestinal microflora-- implications for health. In: *Mol. Nutr. Food Res.*, 2007, no 51(7), p.765-781.
4. BLAUT, M., CLAVEL, T. Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. In: *J. Nutr.*, 2007, no 137 (3 Suppl 2), p.751-755.
5. STRUTINSCHI, T., TIMOȘCO, M., VELCIU, A. ș.a. Influența rațiilor alimentare cu diversă structură calorică asupra unor reprezentanți ai microflorei intestinale condiționat patogene. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*, 2012, nr.5, p.138-140.
6. STRUTINSCHI T., TIMOȘCO M., VELCIU, A., BOGDAN, V. Particularitățile acțiunii rațiilor alimentare cu proteine de diversă origine asupra unor reprezentanți ai bacteriocenozei intestinale. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2013, nr.1, p.77-82.
7. STRUTINSCHI, T., TIMOȘCO, M., VELCIU, A. ș.a. Impactul rațiilor alimentare în procesul de multiplicare și dezvoltare a unor reprezentanți ai bacteriocenozei intestinale. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2016, nr.1(91), p.21-27.
8. ФУРДУЙ, Ф.И., ЧОКИНЭ, В.К., ФУРДУЙ, В.Ф. и др. *Трактат о научных и практических основах санокреатологии*. Том 1. Проблема здоровья. Санокреатология. Потребность общества в ее развитии. Кишинэу, 2016. 228 с.
9. FOULQUIÉ MORENO, M.R., SARANTINOPOULOS, P., TSAKALIDOU, E., DE VUYST, L. The role and application of enterococci in food and health. In: *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, no 106(1), p.1-24.
10. СТРУТИНСКИЙ, Ф.А., ТИМОШКО, М.А., СТРОКОВА, В.Н. Пищевой фактор, кишечная микрофлора и здоровье организма. В: *Психофизиологические и висцеральные функции в норме и патологии: Материалы VII международной научной конференции*. Киев, 2014, с.147.
11. ЧЕРВИНЕЦ, В.М. и др. Скрининг непатогенных антагонистически активных штаммов *Enterococcus faecium*. В: *Ж. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол.*, 2007, №1, с.57-61.
12. BASSETT, S.A., YOUNG, W, BARNETT, M.P. et al. Changes in composition of caecal microbiota associated with increased colon inflammation in interleukin-10 gene-deficient mice inoculated with *Enterococcus* species. In: *Nutrients*, 2015, no 7(3), p.1798-1816.
13. YERMOLENKO E., CHERNISH A., ALESHINA G. et al. Antagonistic activity of *Enterococcus faecium* L3 against different groups of pathogenic streptococci. In: *New Insights Into and Old Enemy*, 2006, p.363-366.
14. ГАРМАШЕВА, И.Л., КОВАЛЕНКО, Н.К. Биологическая активность и безопасность энтерококков. В: *Микробиол. журн.*, 2011, Т.73, №4, с.77-84.
15. ЕРМОЛЕНКО, Е.И. Бактериоцины энтерококков: проблемы и перспективы использования (обзор литер.). В: *Вестник СПб. ун-та. Серия 11*, 2009, вып.3, с.78-93.
16. ГАРМАШЕВА, И.Л., КОВАЛЕНКО, Н.К. Методы идентификации и таксономия энтерококков. В: *Микробиол. журн.*, 2010, Т.72, №5, с.49-58.

17. TIMOȘCO, M., BOGDAN, V., VELCIU, A. Elucidarea oportunității includerii enterococilor autohtoni în componența preparatelor microbiene, destinate fortificării sănătății. În: *Buletin de perinatologie*, 2015, nr.2, p.60-65.
18. PENDERS, J., THUIS, C., VINK, C. et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. In: *Pediatrics*, 2006, no 118(2), p.511-521.
19. STRUTINSCHI, T., TIMOȘCO, M. Impactul factorilor alimentari și microbieni în sănătatea sistemului digestiv. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*, 2013, nr.3, p.232-233.
20. ЦЕПИТОВА, Н.Е., СЫЧЁВА, М.В., КАРТАШОВА, О.Л. Скрининг штаммов энтерококков с целью разработки на их основе препаратов-пробиотиков. В: *Вестник ОГУ*, 2015, №13(188).

Date despre autori:

Victoria BOGDAN, doctorandă, Școala doctorală *Științe Biologice*, Universitatea de Stat „Dimitrie Cantemir”; cercetător științific în LCȘ *Alimentația și Digestia Sanocreatologică*, Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie.

E-mail: victoriabogdan@gmail.com

Tudor STRUTINSCHI, doctor habilitat, conferențiar cercetător; șef LCȘ *Alimentația și Digestia Sanocreatologică*, Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie.

Maria TIMOȘCO, doctor habilitat; consultant științific în LCȘ *Alimentația și Digestia Sanocreatologică*, Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie.

Prezentat la 02.04.2018