



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2019 00770

(22) Data de depozit: 20/11/2019

(41) Data publicării cererii:  
30/04/2020 BOPI nr. 4/2020

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE  
- DEZVOLTARE PENTRU BIOLOGIE ȘI  
NUTRIȚIE ANIMALĂ BALOTEȘTI -  
INCDBNA BALOTEȘTI,  
CALEA BUCUREȘTI, NR.1, BALOTEȘTI, IF,  
RO

(72) Inventatori:  
• GHEORGHE ANCA, STR. 23 AUGUST  
NR. 16, BL. P32, SC. I, ET. 1, AP. 4,  
OTOPENI, IF, RO;  
• DUMITRU MIHAELA,  
STR.INDEPENDENȚEI, NR.40,  
COMUNA CORBEANCA, IF, RO;

• CIURESCU GEORGETA, STR.TRAIAN,  
NR.5, BL.P8, SC.2, ET.1, AP.12, OTOPENI,  
IF, RO;  
• LEFTER NICOLETA AURELIA,  
STR.APUSULUI, NR.96, BL.F, SC.2, ET.9,  
AP.165, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• HĂBEANU MIHAELA, STR.REZERVEI,  
NR.66B, AP.76, ET.4, LOC.ROȘU,  
COM.CHIAJNA, IF, RO;  
• TABUC CRISTINA,  
BD.CONSTRUCTORILOR NR.11, SC.B,  
ET.4, AP.37, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• SORESCU IONUȚ, STR.BAICULEȘTI,  
NR.17, BL.C13, SC.B, ET.5, AP.64,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO

(54) NUTREȚ COMBINAT ÎMBUNĂTĂȚIT PRIN ADAOS  
DE PROBIOTIC PENTRU FURAJAREA PUILOR DE CARNE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un nutreț combinat, pentru furajarea fazială a puilor de carne, îmbunătățit prin adaos de probiotic pe bază de tulpini de *Lactobacillus salivarius* (IBNA41 și IBNA33), în proporție de 1:1, sub formă de pulbere microîncapsulată în doză de 1 g/kg NC. Nutrețul trifazal (start, creștere, finisare), conform invenției, este constituit în procente masice din porumb 46,12...47,28...54,73%, șrot soia 27,2...25,5...19,1%, fasoliță 15%, gluten porumb 4,3...4...3,5%, ulei 2,1...3,4...3,1%, DL-Metionină 0,33...0,25...0,28%, L-Lizină HCL 0,24...0,1...0,22%, carbonat calciu 1,72...1,46...1,28%, fosfat monocalcic

1,63...1,65...1,43%, sare 0,28%, premix colină 0,08%, premix vitamino-mineral pentru pui de carne 1% și 1 g/kg NC produs probiotic, având un conținut de 89,44...89,7...89,95% substanță uscată, 23...22...19,5% proteină brută, 1,4...1,24...1,16% lizină, 1,05...0,95...0,9% metionină + cisteină, 1...0,9...0,79% calciu, 0,7...0,65...0,6% fosfor, 3,27...3,2...3% celuloză, 12,57...12,97...13,22 MJ/kg energie metabolizabilă, în funcție de faza de creștere.

Revendicări: 3



## NUTREȚ COMBINAT ÎMBUNĂȚĂȚIT PRIN ADAOS DE PROBIOTIC PENTRU FURAJAREA PUILOR DE CARNE

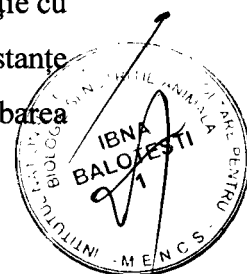
Invenția se referă la un nutreț combinat îmbunătățit prin adaosul unui biopreparat cu rol probiotic destinat furajării faziale a puilor de carne.

Nutrețul combinat clasic reprezintă o asociere a unor materii prime energetice, proteice, adaos de vitamine și minerale într-o proporție care să permită satisfacerea cerințelor nutriționale specifice categoriei de vârstă (Brevet RO106641 B1). Prin urmare, nutrețul combinat clasic asigură funcția primară a hranei, respectiv necesarul de substanțe nutritive pentru creștere, dezvoltare și obținerea de produse.

Dezavantajul major al acestuia fiind acela că nu conține componente antimicrobiene, care să asigure prin efectul lor terapeutic trecerea la o nutriție științifică modernă, bazată pe sănătate.

Probioticele sunt „*microorganismele vii care, administrate în cantități adecvate, conferă un beneficiu sănătății gazdei*”, această definiție fiind larg acceptată și adoptată de Asociația Științifică Internațională pentru Probiotice și Prebiotice (FAO/OMS, 2001).

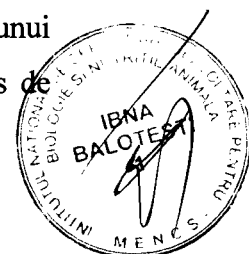
Bacteriile lactice, în special tulpinile de *Lactobacillus*, sunt frecvent utilizate ca probiotice. Tulpinile de *Lactobacillus* au o capacitate ridicată de aderare la epiteliul intestinal și sunt capabile să populeze intestinul puilor de carne încă din prima zi de la ecloziune (Fuller, 1973), fiind considerate a fi flora bacteriană normală a tractului gastro-intestinal (TGI) la pui (Kizerwetter-Swida și Binek, 2005). Pentru a avea o aplicare mai specifică tulpinile bacteriene utilizate ca probiotice pentru păsări trebuie izolate din microflora naturală a TGI al aceluiași tip de pasăre (Kizerwetter-Swida și Binek, 2005; Piątek și col., 2012). Studii anterioare au arătat că modalitățile de acțiune prin care probioticele promovează sănătatea intestinală și îmbunătățesc performanțele nu sunt încă pe deplin cunoscute (Edens, 2003; Parvez și col., 2006; Kabir, 2009; Ng și col., 2009; Vilá și col., 2010; Lee și col., 2010). Cele mai cunoscute mecanisme prin care probioticele exercită efecte benefice sunt echilibrarea microflorei intestinale și reglarea funcției imune. Probioticele ajută la stabilirea unui microambiant în intestin care favorizează microorganismele benefice și reduc colonizarea bacteriilor patogene (excludere competitivă) prin: (1) crearea unui mediu ostil pentru speciile bacteriene patogene (prin producerea de acid lactic, acizi grași cu lanț scurt și reducerea pH-ului); (2) competiție cu organismele patogene pentru spațiu și nutrienți; (3) producerea și secreția de substanțe antibacteriene (de exemplu, bacteriocine de *Lactobacillus*, *Bacillus* sp.); și (4) inhibarea



aderenței și translocării organismelor patogene (Fuller, 1989; Netherwood și col., 1999; Schneitz, 2005; Ng și col., 2009; Brown, 2011). De asemenea, este cunoscut faptul că probioticele contribuie la menținerea sănătății intestinale prin favorizarea creșterii celulelor ce căpтуșesc epiteliile intestinale, stimularea răspunsului imun și prin mecanisme implicate în supraviețuirea celulară (prin producerea de citokine care îmbunătățesc regenerarea celulelor epiteliale și inhibă apoptoza), îmbunătățirea selectivității permeabilității barierei epiteliale (modularea joncțiunilor strânse cito-scheletice și epiteliale) și creșterea sintezei de mucină (Chichlowski și col., 2007; Ng și col., 2009; Brown, 2011). De asemenea, acestea joacă un rol important în digestia și retenția nutrienților prin creșterea activității enzimelor digestive și îmbunătățirea descompunerii nutrienților nedigestibili (Jin și col., 2000; Ciorba, 2012; Ng și col., 2009; Wang și Gu, 2010). Probioticele își exercită, de asemenea, acțiunea prin reducerea producției de amine toxice și amoniac în intestine (Chiang și Hsieh, 1995). Un alt mecanism important al acțiunii probioticelor include modularea și reglarea răspunsului imun prin reducerea citokinelor pro-inflamatorii, creșterea producției secretorii de IgA și promovarea răspunsurilor imune specifice și nespecifice împotriva agenților patogeni, activarea macrofagelor, creșterea producției de citokine prin limfocite intraepiteliale (Ng și col., 2009; Lee și col., 2010). Astfel, un organism probiotic ideal ar trebui să poată rezista procesării și depozitării, să supraviețuiască în mediul acid gastric, să adere la epitelii sau mucus în intestine, să producă compuși antimicrobieni și să moduleze răspunsurile imune (Edens, 2003; Patterson și Burkholder, 2003; Cheng și col., 2014). Cu toate acestea, nu toate tulpinile bacteriene prezintă toate proprietățile menționate anterior și în selectarea tulpinilor sau a combinațiilor lor trebuie să se aibe în vedere obținerea unor efecte benefice maxime *in vivo*. Măsuri pentru protejarea microorganismelor în timpul trecerii lor prin tractul gastro-intestinal, cum ar fi microîncapsularea, ar trebui luate în considerare pentru a asigura viabilitatea și colonizarea intestinului (Han și col., 2013).

Cu toate că în numeroase publicații se arată îmbunătățirea performanțelor la păsări (broileri, găini ouătoare și curcani), există studii în care utilizarea probioticelor la păsări prezintă un efect de stimulare a creșterii limitat și variabil, sau absent (Karaoglu și Durdag, 2005; O'Dea și col., 2006; Lee și col., 2010; Waititu și col., 2014). Aceste rezultate inconsecvente în utilizarea probioticelor sunt atribuite diferențelor privind doza și tipul tulpinii utilizate, durata de administrare, variațiile de procesare, și mediul.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția revendicată constă în realizarea unui nutreț combinat destinat furajării faziale a puilor de carne, îmbunătățit prin adaos de



probiotic bazat pe amestecul de tulpini bacteriene de *Lactobacillus salivarius* în vederea ameliorării stării de sănătate și a productivității acestora. Tulpinile de *L. salivarius* au fost izolate din conținutul intestinal de pasăre, identificate, caracterizate fenotipic și probiotic, și evaluate în vederea obținerii și optimizării unor produse bacteriene probiotice cu rol de aditiv furajer. Tulpinile identificate cu codurile de referință IBNA 41 și IBNA 33, au fost conservate pe mediu nutritiv selectiv MRS agar și bulion, rezistă până la 90 zile la 4°C și temperatura camerei, și până la 2 ani cu adaos de glicerol 20% la temperatura de - 80°C; sunt conservate în Colecția de tulpini bacteriene a Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Biologie și Nutriție Animală (IBNA Balotești).

În particular, prezenta invenție face referire la includerea în nutrețul combinat neconvențional a unui produs probiotic bazat pe amestecul unor tulpini bacteriene de *Lactobacillus salivarius* (IBNA 41 și IBNA 33), în proporție de 1:1, sub formă de pulbere obținută prin microîncapsulare, în doză de 1 g/kg NC cu o concentrație de  $1,62 \times 10^8$  UFC/g, care poate constitui o alternativă la substanțele antimicrobiene clasice/antibiotice, a căror utilizare ca promotori de creștere a fost interzisă în industria furajelor pentru păsări din ianuarie 2006 (Regulation 1831/2003/EC; Ordinul 199/2006).

Nutrețul combinat, conform invenției revendicate, înlătură dezavantajul specificat anterior prin aceea că prezintă o asociere de materii prime furajere care permit un optim nutrițional și este îmbunătățit prin adaos de probiotic bazat pe amestecul unor tulpini bacteriene de *L. salivarius*, IBNA 41 și IBNA 33, în proporție de 1:1, sub formă de pulbere obținută prin microîncapsulare, în doză de 1 g/kg NC, cu o concentrație de  $1,62 \times 10^8$  unități formatoare de colonii per gram (UFC/g). Acțiunea probiotică a acestor tulpini de *L. salivarius* la nivelul organismului puilor de carne a fost potențată prin: i) structura nutrețului combinat, care acoperă cerințele nutriționale specifice acestei categorii de păsări și ii) utilizarea microîncapsulării, ca metodă inovativă de menținere a viabilității bacteriilor, în vederea protejării și extinderii duratei de depozitare a acestora în noua formă de prezentare (Chávarri și col., 2014), în cazul prezentei invenții, sub formă de pulbere.

Nutrețul combinat îmbunătățit prin adaos de probiotic mix *L. salivarius* IBNA 41: IBNA 33 (1:1), conform invenției revendicate, are ca obiectiv principal îmbunătățirea stării de sănătate prin rolul imunomodulator și de modificare a compoziției microflorei intestinale.

Nutrețul combinat destinat furajării faziale a puilor de carne, într-o combinație preferată conține: porumb 46,12...47,28...54,73%, șrot soia 27,20...25,50...19,10%, fasoliță 15,00%, gluten porumb 4,30...4,00...3,50%, ulei 2,10...3,40...3,10%, DE-



Metionină 0,33...0,25...0,28%, L-Lizină HCL 0,24...0,10...0,22%, carbonat de calciu 1,72...1,46...1,28%, fosfat monocalcic 1,63...1,65...1,43%, sare 0,28%, premix colină 0,08%, premix vitamino-mineral pentru pui de carne 1,00% și **1 g/kg NC produs probiotic *L. salivarius* IBNA 41: IBNA 33 (1:1), cu o concentrație de  $1,62 \times 10^8$  UFC/g.**

Nutrețul combinat, conform invenției revendicate, prezintă următoarea compoziție chimică: 89,44...89,70...89,95% substanță uscată, 23...22...19,50% proteină brută, 1,40...1,24...1,16% lizină, 1,05...0,95...0,90% metionină+cistină, 1,00...0,90...0,79% calciu, 0,70...0,65...0,60% fosfor, 3,27...3,20...3,00% celuloză, 12,57...12,97...13,22 MJ/kg energie metabolizabilă.

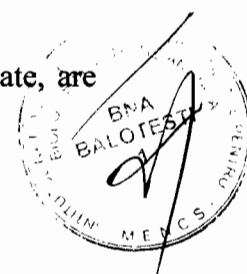
Nutrețul combinat destinat furajării faziale a puilor de carne, conform invenției, prezintă următoarele avantaje:

- asigură sub aspect cantitativ și calitativ necesarul de nutrienți pentru pui de carne în faza de start, creștere și finisare;
- permite asocierea efectelor nutrienților cu cele antibacteriene din aditivul furajer cu efect probiotic obținut din tulpini de *L. salivarius* IBNA 41: IBNA 33 (1:1);
- efecte benefice asupra stării de sănătate prin reducerea lipidelor plasmatică (total colesterol și trigliceride);
- îmbunătățește microflora intestinală prin proliferarea populațiilor bacteriene benefice în detrimentul celor patogene;
- nu este poluant prin dejecții;
- nu prezintă risc pentru operator și toxicitate pentru păsări, în cazul respectării condițiilor de păstrare și termenului de depozitare.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a nutrețului combinat conform invenției revendicate:

Pentru obținerea nutrețului, materiile prime se dozează după care se macină într-o moară cu ciocănele. Porumbul, șrotul de soia, fasolița și glutenul de porumb se introduc într-un malaxor pentru omogenizare. Se adaugă treptat uleiul și restul microingredientelor. Se continuă amestecarea 6 min. Nutrețul combinat astfel obținut, se prezintă sub formă de sub formă de făină cu o granulație de 2,8 mm, și se administrează ca amestec unic de hrană la puii de carne, pe faze de creștere. Produsul are o valabilitate de 60 zile de la data fabricației în condiții de păstrare la temperatura mediului ambiant și depozitare în spații corespunzătoare.

Nutrețul combinat astfel obținut combinat, conform invenției revendicate, are



structura redată în tabelul 1.

Tabelul 1. Structura nutrețului combinat destinat furajării faziale a puilor de carne

Ingrediente (%)	Faze de creștere		
	Start (0-10 zile)	Creștere (11-24 zile)	Finisare (25-35 zile)
Porumb	46,12	47,28	54,73
Șrot soia (46% PB)	27,20	25,50	19,10
Fasoliță (23% PB)	15,00	15,00	15,00
Gluten porumb (62% PB)	4,30	4,00	3,50
Ulei	2,10	3,40	3,10
DL-Metionină	0,33	0,25	0,28
L-Lizină HCl	0,24	0,10	0,22
Carbonat calciu	1,72	1,46	1,28
Fosfat monocalcic	1,63	1,65	1,43
Sare	0,28	0,28	0,28
Premix colină	0,08	0,08	0,08
Premix vitamino-mineral*	1,00	1,00	1,00
Probiotic mix <i>L. salivarius</i> IBNA 41: IBNA 33 (1:1)**	-/+	-/+	-/+
<b>Caracteristici nutriționale</b>			
Energie Metabolizabilă (EM, MJ/kg)	12,57	12,97	13,22
Substanță uscată, %	89,44	89,70	89,95
Proteină brută, %	23,00	22,00	19,50
Lizină, %	1,40	1,24	1,16
Metionină + Cistină, %	1,05	0,95	0,90
Calciu, %	1,00	0,90	0,79
Fosfor total, %	0,70	0,65	0,60
Celuloză brută, %	3,27	3,20	3,00

\*Premixul vitamino-mineral inclus în nutrețul combinat conține/Kg nutreț: 1 100 000 UI vitamina A; 200 000 UI vitamina D3; 2700 UI vitamina E; 300 mg vitamina K3; 200 mg vitamina B1; 400 mg vitamina B2; 1485 mg vitamina B3; 2700 mg vitamina B5; 300 mg vitamina B6; 4 mg vitamina B7; 100 mg vitamina B9; 1,8 mg vitamina B12; 2000 mg vitamina C; 8000 mg Mn; 8000 mg Fe; 500 mg Cu; 6000 mg Zn; 152 mg I; 18 mg Se; 37 mg Co; 6000 mg antioxidant.

\*\*Produs probiotic mix *L. salivarius* IBNA 41: IBNA 33 (1:1) = 1 g/kg NC.

În mod obișnuit, nutrețul combinat clasic, destinat furajării faziale a puilor, se bazează de porumb, șrot soia, gluten porumb, ulei, aminoacizi de sinteză (DL-metionină, L-lizină HCl), carbonat calciu, fosfat monocalcic, sare, premix colină și premix vitamino-mineral.

Nutrețul combinat, conform invenției, s-a diferențiat pe de o parte prin includerea fasoliței în proporție de 15%, substituind parțial șrotul de soia, respectiv 17,82% în faza de start, 19,20% în faza de creștere și 23,90% în faza de finisare, și pe de altă parte prin



adaosul de probiotic pe bază de tulpini de *L. salivarius* IBNA 41 și IBNA 33, în proporție de 1:1, sub formă de pulbere obținută prin microîncapsulare, în doză de 1 g/kg NC cu o concentrație de  $1,62 \times 10^8$  UFC/g.

Utilizarea nutrețului combinat, conform invenției revendicate, contribuie la obținerea de performanțe productive comparabile, redate în tabelul 2.

Tabelul 2. Performanțe productive

Item	Spor, total perioada (g)	Spor mediu zilnic (g)	Consum mediu zilnic (g)	Consum specific (g:g)
C	1961,10	57,67	97,89	1,70
F	1936,09	56,94	98,02	1,72
C <sup>+</sup> LS	1921,40	56,51	98,18	1,74
F <sup>+</sup> LS	1920,00	56,47	98,13	1,73
SEM	7,32	0,36	0,48	0,03
<b>Efecte</b>				
<b>Dietă</b>				
C, 0% fasoliță	1941,25	57,10	98,03	1,72
F, 15% fasoliță	1928,04	56,70	98,08	1,73
<b>Probiotic mix <i>L. salivarius</i> IBNA 41: IBNA 33 (1:1)</b>				
Nu	1948,60	57,31	97,96	1,71
Da	1920,70	56,49	98,15	1,73
<i>Valoare P</i>				
Dietă	NS	NS	NS	NS
LS	NS	NS	NS	NS
Dietă x LS	NS	NS	NS	NS

C, 0% fasoliță; C<sup>+</sup> LS, 0% fasoliță + produs probiotic; F, 15% fasoliță; F<sup>+</sup>LS, 15% fasoliță + produs probiotic; NS, Diferențe nesemnificative P>0,05.

În continuare este prezentat profilul plasmatic lipidic (tabelul 3). Concentrația de colesterol total s-a redus cu 8,77% și trigliceride cu 11,28%, ca urmare a utilizării nutrețului combinat îmbunătățit prin adaos de probiotic mix *L. salivarius* IBNA 41: IBNA 33 (1:1), conform invenției revendicate.

Nutrețului combinat îmbunătățit prin adaos de probiotic mix *L. salivarius*, conform invenției, are un efect hipocolesterolemic.

Tabelul 3. Parametri lipidici plasmatici



Item	Total Colesterol	HDL-Colesterol	Trigliceride	Glucide
C	114,60	71,05	54,80	251,80
F	118,00	68,38	53,40	250,40
C <sup>+</sup> LS	107,00	69,55	49,20	256,00
F <sup>+</sup> LS	105,20	69,30	46,80	268,00
SEM	2,21	1,23	0,82	2,85
<b>Efecte</b>				
<i>Dietă</i>				
C, 0% fasoliță	110,80	70,30	52,00	253,90
<b>F, 15% fasoliță</b>	<b>110,60</b>	<b>68,84</b>	<b>50,10</b>	<b>259,20</b>
<i>Probiotic mix L. salivarius IBNA 41: IBNA 33 (1:1)</i>				
Nu	116,30	70,92	54,10	251,10
<b>Da</b>	<b>106,10</b>	<b>69,42</b>	<b>48,00</b>	<b>262,00</b>
<i>Valoare P</i>				
Dietă	NS	NS	NS	NS
<b>LS</b>	<b>0,02</b>	NS	<b>0,0001</b>	NS
Dietă x LS	NS	NS	NS	NS

C, 0% fasoliță; C<sup>+</sup> LS, 0% fasoliță + produs probiotic; F, 15% fasoliță; F<sup>+</sup>LS, 15% fasoliță + produs probiotic; NS, Diferențe ne semnificative P>0,05; Diferențe semnificative P<0,05.

În continuare se prezintă rezultatele privind pH-ul intestinal și populația bacteriană la nivel intestinal, respectiv în cecum (tabelul 4). Utilizarea nutrețului combinat revendicat are efecte pozitive asupra populațiilor benefice din cecum, în detrimentul populațiilor patogene, respectiv s-a observat o creștere semnificativă a numărului de *Lactobacillus* sp. cu 8,58% și reducerea semnificativă a populațiilor de Coliformi cu 12,33%, *Clostridium* sp. cu 12,35% și *E. coli* β-hemolitic cu 46,88%.

Din analiza bacteriologică a dejecțiilor recoltate la 35 zile (tabelul 5), se observă că administrarea nutrețului combinat revendicat a redus semnificativ flora patogenă, respectiv coloniile de *Enterobacteriaceae* și Stafilococi, și a crescut semnificativ numărul de *Lactobacillus* sp. cu 2,94% (P<0,05). *Salmonella* sp. nu a fost detectată în dejecții.





Tabelul 4. pH și microfloră intestinală - cecum

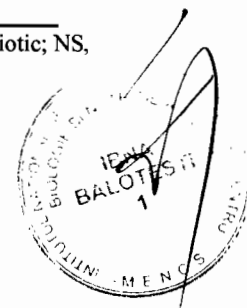
Items	pH	<i>Lactobacillus</i> sp.	Coliformi	<i>Clostridium</i> sp.	<i>Enterococcus</i> sp.	<i>E. coli</i> β- hemolitic	<i>Salmonella</i>
C	6,88	8,413	6,765	6,155	5,891	3,466	abs
F	6,88	8,107	7,135	6,286	6,095	3,120	abs
C <sup>+</sup> LS	6,76	9,061	6,709	5,670	5,095	1,898	abs
F <sup>+</sup> LS	6,94	9,011	5,477	5,235	5,580	1,600	abs
SEM	0,06	0,12	0,18	0,14	0,26	0,47	-
<b>Efecte</b>							
<b>Dietă</b>							
C, 0% fasoliță	6,82	8,738	6,737	5,913	5,494	2,682	-
F, 15% fasoliță	6,91	8,559	6,307	5,761	5,838	2,360	-
<b>Probiotic mix <i>L. salivarius</i> IBNA 41: IBNA 33 (1:1)</b>							
Nu	6,88	8,261	6,950	6,221	5,999	3,293	-
Da	6,85	9,036	6,093	5,453	5,338	1,749	-
<b>Valoare P</b>							
Dietă	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-
LS	NS	0,01	0,05	0,03	NS	0,02	-
Dietă x LS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-

C, 0% fasoliță; C<sup>+</sup> LS, 0% fasoliță + produs probiotic; F, 15% fasoliță; F<sup>+</sup>LS, 15% fasoliță + produs probiotic; NS, Diferențe ne semnificative P>0,05; Diferențe semnificative P<0,05.

Tabelul 5. Compoziția bacteriologică a dejecțiilor (35 zile)

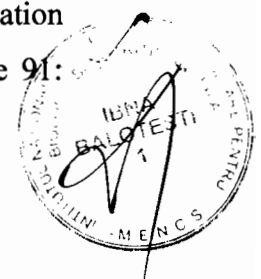
Items	<i>Enterobacteri</i> <i>aceae</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>Stafilococi</i>	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Lactobacillus</i> sp.
C	12,45	11,25	8,93	abs	10,10
F	12,45	11,23	8,88	abs	10,50
C <sup>+</sup> LS	12,42	11,22	8,85	abs	10,30
F <sup>+</sup> LS	12,40	11,21	8,80	abs	10,70
SEM	0,002	0,01	0,01	-	0,004
<b>Efecte</b>					
<b>Dietă</b>					
C, 0% fasoliță	12,44	11,23	8,87	-	10,20
F, 15% fasoliță	12,43	11,22	8,86	-	10,60
<b>Probiotic mix <i>L. salivarius</i> IBNA 41: IBNA 33 (1:1)</b>					
Nu	12,45	11,24	8,93	-	10,20
Da	12,40	11,21	8,82	-	10,50
<b>Valoare P</b>					
Dietă	NS	NS	NS	-	0,001
LS	0,03	NS	0,001	-	0,003
Dietă x LS	NS	NS	NS	-	NS

C, 0% fasoliță; C<sup>+</sup> LS, 0% fasoliță + produs probiotic; F, 15% fasoliță; F<sup>+</sup>LS, 15% fasoliță + produs probiotic; NS, Diferențe ne semnificative P>0,05; Diferențe semnificative P<0,05.



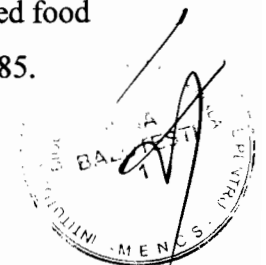
**Bibliografie**

1. Brown M. 2011. Modes of action of probiotics: recent developments. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10:1895–1900.
2. Brevet de invenție nr. 106641 B1. Nutreț combinat pentru rumegătoare și porcine.
3. Chavarri, M., Maranon, I., Carmen, M., 2012. Encapsulation technology to protect probiotic bacteria. Chapter 23. *Probiotics*. <https://doi.org/10.5772/50046>.
4. Cheng G, Hao H, Xie S, Wang X, dai M, Huang L and Yuan Z. 2014. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Frontiers in Microbiology* 5: 217.
5. Chiang SH and Hsieh WM. 1995. Effect of direct fed microorganisms on broiler growth performance and litter ammonia level. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 8: 159–162.
6. Chichlowski J, Croom J, McBride BW, Havenstein GB and Koci MD. 2007. Metabolic and physiological impact of probiotics or Direct-Fed-Microbials on poultry: a brief review of current knowledge. *International Journal of Poultry Science* 6: 694–704.
7. Ciorba M. A. 2012. A Gastroenterologist's guide to probiotics. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 10: 960–968.
8. Edens FW. 2003. An alternative for antibiotic use in poultry: probiotics. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 5: 75–97
9. FAO/WHO. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria; FAO/WHO: Córdoba, Argentina, p. 1–34.
10. Fuller R. 1973. Ecological studies on the *Lactobacillus* flora associated with the crop epithelium of the fowl. *J. Appl. Microbiol.*, 36: 131-139.
11. Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365–378.
12. Fuller R. 2001. The chicken gut microflora and probiotic supplements. *Poult. Sci.*, 38: 189-196.
13. Han W, Zhang XL, Wang DW, Li LY, Liu GL and Zhao YX. 2013. Effects of microencapsulated *Enterococcus faecalis* CG1.0007 on growth performance, antioxidation activity, and intestinal microbiota in broiler chickens. *Journal of Animal Science* 91:

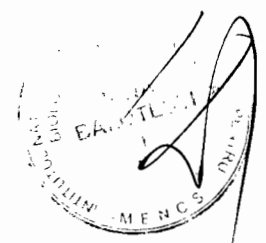


4374–4382.

14. Kabir SML. 2009. The role of probiotics in the poultry industry. *International Journal of Molecular Sciences* 10: 3531–3546.
15. Karaoglu M, Durdag H. 2005. The influence of dietary probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation and different slaughter age on the performance, slaughter and carcass properties of broilers. *International Journal of Poultry Science* 4: 309–316
16. Kizerwetter-Swida M, Binek M. 2005. Selection of potentially probiotic *Lactobacillus* strains towards their inhibitory activity against poultry enteropathogenic bacteria. *Polish J. Microbiol.*, 54: 287-294.
17. Khaksefidi A, Ghoorchi T. 2006. Effect of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chicks. *Poult. Sci.* 43: 296-300.
18. Lee KW, Lee SH, Lillehoj HS, Li GX, Jang SI, Babu US, Park MS, Kim DK, Lillehoj EP, Neumann AP, Rehberger TG and Siragusa GR. 2010. Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. *Poultry Science* 89: 203–216.
19. Hayek SA, Gywali R, Ibrahim SA. 2013. Antimicrobial Natural Products. In: MeÂandez-Vilas A, editor. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education.* 910-921.
20. Jin LZ, Ho YW, Abdullah N and Jalaludin S. 2000. Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with *Lactobacillus* cultures. *Poultry Science* 79: 886–891.
21. Nayebpor M, Farhomand P, Hashemi A. 2007. Effects of different levels of direct fed microbial (Primalac) on growth performance and humoral immune response in broiler chickens. *J Anim Vet Adv.* 6: 1308-1313.
22. Netherwood T, Gilbert HJ, Parker DS, and O'Donnell AG. 1999. Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 5134–5138.
23. Ng SC, Hart AL, Kamm MA, Stagg AJ and Knight SC. 2009. Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflammatory Bowel Diseases* 15: 300–310.
24. O'Dea, EE, GMFasenko, GE Allison, DR Korver, GW Tannock, LL Guan. 2006. Investigating the effects of commercial probiotics on broiler chick quality and production efficiency. *Poult. Sci.* 85:1855-1863.
25. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology* 100: 1171–1185.



26. Patterson JA, Burkholder KM. 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science* 82: 627–631.
27. Piątek J, M Gibas-Dorna, A Olejnik, H Krauss, K Wierzbicki, W Żukiewicz-Sobczak, M Głowacki. 2012. The viability and intestinal epithelial cell adhesion of probiotic strain combination: in vitro study. *Ann. Agric. Environ. Med.* 19:99-102.
28. Schneitz C. 2005. Competitive exclusion in poultry – 30 years of research. *Food Control* 16: 657–667.
29. Song D, Hayek S, Ibrahim S. 2012. Recent Application of Probiotics in Food and Agricultural Science. INTECH Open Access Publisher.
30. Vilà B, Esteve-Garcia E, Brufau J. 2010. Probiotic microorganisms: 100 years of innovation and efficacy; modes of action. *World's Poultry Science Journal* 65: 369–380.
31. Wang Y, Gu Q. 2010. Effect of probiotic on growth performance and digestive enzyme activity of Arbor Acres broilers. *Research in Veterinary Science* 89: 163–167.
32. Waititu SM, Yitbarek A, Matini E, Echeverry H, Kiarie E, Rodriguez-Lecompte JC, Nyachoti CM. 2014. Effect of supplementing direct-fed microbials on broiler performance, nutrient digestibilities, and immune responses. *Poultry Science* 93: 625–635.
33. Willis WL, Isikhuemhen OS, Ibrahim SA. 2007. Performance assessment of broiler chickens given mushroom extract alone or in combination with probiotics. *Poult. Sci.* 86: 1856-1860.
34. Regulation 1831/2003/EC on additives for use in animal nutrition.
35. Ordinul ANSVSA 199/2006.



**REVENDICĂRI:**

1. Nutreț combinat destinat furajării faziale a puilor de carne, caracterizat prin aceea că are în componență porumb 46,12...47,28...54,73%, șrot soia 27,20...25,50...19,10%, fasoliță 15,00%, gluten porumb 4,30...4,00...3,50%, ulei 2,10...3,40...3,10%, DL-Metionină 0,33...0,25...0,28%, L-Lizină HCL 0,24...0,10...0,22%, carbonat de calciu 1,72...1,46...1,28%, fosfat monocalcic 1,63...1,65...1,43%, sare 0,28%, premix colină 0,08%, premix vitamino-mineral pentru pui de carne 1,00% și 1 g/kg NC produs probiotic.
2. Nutreț combinat destinat furajării faziale a puilor de carne, conform revendicării 1, în structura căruia se introduce un produs probiotic pe bază de tulpini de *Lactobacillus salivarius* IBNA 41 și IBNA 33, în proporție de 1:1, sub formă de pulbere obținută prin microîncapsulare, în doză de 1 g/kg NC cu o concentrație de  $1,62 \times 10^8$  UFC/g.
3. Nutreț combinat destinat furajării faziale a puilor de carne, conform revendicării 1 și 2, caracterizat prin aceea că se prezintă sub formă de făină, culoare galben-cenușie, miros și gust normal, plăcut, și un conținut de: 89,44...89,70...89,95% substanță uscată, 23...22...19,50% proteină brută, 1,40...1,24...1,16% lizină, 1,05...0,95...0,90% metionină+cistină, 1,00...0,90...0,79% calciu, 0,70...0,65...0,60% fosfor, 3,27...3,20...3,00% celuloză, 12,57...12,97...13,22 MJ/kg energie metabolizabilă, în funcție de faza de creștere.

