

Efecto de la adición de un derivado de *Allium sativum* y de un probiótico sobre la población fecal de *Campylobacter jejuni* en broilers infectados experimentalmente

C. MILLÁN, J. SÁNCHEZ, O. CASABUENA y M.I. GRACIA *

Imasde Agroalimentaria, S.L., Madrid, España.

*E-mail: mgracia@e-imasde.com

En el ámbito del proyecto del 7º Programa Marco CAMPYBRO (FP7-SME-2013-605835) se evaluó el efecto de la adición de un derivado de *Allium sativum* y de un probiótico (*B. subtilis*) sobre la infección por *Campylobacter jejuni* en broilers infectados experimentalmente. Se utilizó un total de 84 pollos Ross 308 (50% machos y 50% hembras). Hubo tres tratamientos experimentales, T1: una dieta control basada en cebada, maíz, trigo y soja, T2: T1 más 500 g/t de esporas de *B. subtilis*, y T3: T1 más 800g/t de un extracto de *A. sativum*. Los tratamientos experimentales se aplicaron a las dietas de 21-42d, habiendo recibido previamente todos los animales una dieta común de 0-21. A 14d, los animales recibieron una dosis de 100 µl de una solución que contenía 10⁵ UFC/g de *Campylobacter jejuni* ST-45. Previo a la infección se sacrificaron 9 animales para comprobar que los pollos estaban libres de *Campylobacter*. A 21 días se recogieron los ciegos de 15 pollos y se determinaron los recuentos de *C. jejuni* para asegurar que la infección se había establecido. A 35 y 42 días se evaluaron los conteos a nivel fecal de *C. jejuni* en 10 animales por tratamiento. La infección quedó establecida a 21d post infección, pero no hubo diferencias significativas entre tratamientos para las poblaciones de *C. jejuni* a 35 ó 42d. Se concluye que los aditivos a las dosis testadas no afectaron a las poblaciones cecales de *C. jejuni*, aunque no se valoró la adición de estos aditivos de 1-42d.

Palabras claves: *Campylobacter*; *Allium sativum* extracto; *Bacillus subtilis* probiótico; broiler; CAMPYBRO

An experiment was conducted within the FP7 project CAMPYBRO (FP7-SME-2013-605835) in order to evaluate the effect of supplementation of an extract of *Allium sativum* and a probiotic (*B. subtilis*) on *Campylobacter* counts in broilers artificially infected with *Campylobacter jejuni*. There were three treatments applied from 21 to 42 days of age, T1: Positive controls (*Campylobacter*, no additives), control diet based on barley, maize, wheat and soybean meal, T2: T1 + probiotic at 500 g/t and T3: T1 + extract of *A. sativum* at 800 g/t. Day-of-hatch chicks (n=84), 50% male and 50% female, were offered a common starter diet until 21 days of age. All chicks were orally gavaged with 100 µl of a solution containing 1 x 10⁵ cfu/ml of ST-45 *C. jejuni* strain on day 14. Prior to the infection, cecal contents of 9 birds were collected and analysed. On day 21, cecal contents of 15 birds were collected and *Campylobacter* counts determined in order to assure the *Campylobacter* infection. On days 35 and 42, ceca were collected from 10 birds per treatment and *Campylobacter* counts determined. *C. jejuni* infection was established 7 d post-infection, however no significant differences between treatments were observed in cecal *C. jejuni* counts at 35 and 42 days of age. It is concluded that the additives at the tested doses did not affect the cecal contents of *C. jejuni*, although the effect was not tested for the whole growing period (1-42d).

Keywords: *Campylobacter*; *Allium sativum* extract; *Bacillus subtilis* probiotic; broiler; CAMPYBRO

Introducción

Campilobacteriosis es una enfermedad asociada con la infección en los humanos por la bacteria *Campylobacter spp.*, principalmente *C. jejuni* y *C. coli*. La carne de pollo está considerada como la principal causa de los casos de campilobacteriosis en humanos.

Es posible adoptar en las granjas ciertas medidas de bioseguridad preventivas para reducir así la probabilidad de que los pollos sean colonizados por *Campylobacter*. Por otro lado, en el marco del proyecto europeo CAMPYBRO (FP7-SME-2013-605835), se están evaluando diferentes estrategias nutricionales enfocadas más en buscar una reducción de los recuentos de *Campylobacter* en los pollos. Dentro de las estrategias ensayadas, diferentes extractos de ajo se han mostrado eficaces frente a *Campylobacter* (Peinado et al., 2012; Robin et al., 2013), aunque los resultados *in vitro* no siempre se traducen en reducciones de las poblaciones cecales *in vivo*. Asimismo, recientemente se ha demostrado que la adición de una mezcla de diferentes microorganismos reducía significativamente la contaminación por *C. jejuni* en animales infectados experimentalmente (Ghareeb et al., 2012), pero es necesario continuar la investigación con probióticos con capacidad de esporular para que tenga una aplicación práctica en la industria.

Materiales y métodos

Se utilizó un total de 84 pollos broiler Ross 308 (50% machos y 50% hembras) de 1 a 42 días de edad. Hubo tres tratamientos experimentales aplicados de 21 a 42 días, T1: Control positivo (*Campylobacter*, sin aditivos), dieta control basada en cebada, maíz, trigo y soja, T2: T1 + probiótico basado en *Bacillus subtilis* a 500 g/t y T3: T1 + extracto de *Allium sativum* a 800g/t. Al inicio del ensayo los pollos recibieron una dieta starter común hasta los 21 días de edad. Las dietas se ofrecieron *ad libitum* en forma de harina y no incluyeron coccidiostatos, promotores de crecimiento o antibióticos. El ensayo se llevó a cabo en la Unidad de Bioseguridad Nivel 2 de Imasde Agroalimentaria, S.L. A 14 días de edad y antes de la infección experimental de los animales, se muestrearon los ciegos de 9 animales seleccionados al azar para verificar que los pollos estaban libres de *Campylobacter*. A los 14 días de edad, todos los pollos se inocularon oralmente con 100 μ l de una solución que contenía 1×10^5 ufc/ml de la cepa ST-45 de *C. jejuni*. A los 21 días de edad, se recogieron los ciegos de 15 pollos para determinar los recuentos cecales de *Campylobacter* y asegurar así que se había establecido la infección. Los días 35 y 42, se muestrearon los ciegos de 10 animales por tratamiento y se determinaron los recuentos de *Campylobacter*. La técnica estadística aplicada fue el análisis de varianza (ANOVA). Tras comprobar que las variables se distribuían según una normal, los resultados de los recuentos en forma de \log_{10} se analizaron mediante un diseño completamente al azar por GLM de IBM SPSS Statistics (v. 19.0) con el tratamiento como efecto principal.

Resultados y discusión

El efecto de los tratamientos experimentales, aplicados de 21 a 42 días de edad, sobre los recuentos de *Campylobacter jejuni* en el ciego de pollos broiler se muestra en la tabla y figuras siguientes. No se observó ningún efecto significativo sobre el recuento de *Campylobacter jejuni* a nivel cecal de ninguno de los dos aditivos probados ni a 35 ni a 42 día de edad.

Tabla 1. Efecto del tratamiento experimental (T1: Control, T2: Control + extracto *Allium sativum* y T3: Control + probiótico) sobre los recuentos de *Campylobacter jejuni* (\log_{10} cfu/g) en el ciego de pollos a 21, 35 y 42 días de edad (7, 21 y 28 días post-inoculación).

T	Tratamiento	Días de edad		
		21	35	42
1	CONTROL		7,36	6,30
2	Extracto <i>Allium sativum</i>	8.92	7,66	6,05
3	Probiótico		7,54	6,72
EEM ¹ (n = 10)		--	0.282	0,365
Probabilidad		--	0,7530	0.4350

¹Error estándar de la media (n: número de observaciones).

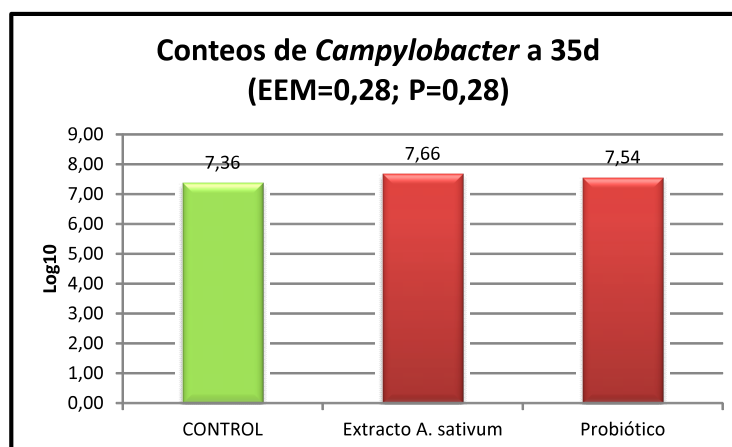


Figura 1. Efecto del tratamiento experimental (T1: Control, T2: Control + extracto *Allium sativum* y T3: Control + probiótico) sobre los recuentos de *Campylobacter jejuni* (\log_{10} cfu/g) en el ciego de pollos a 35 días de edad (21 días post-inoculación).

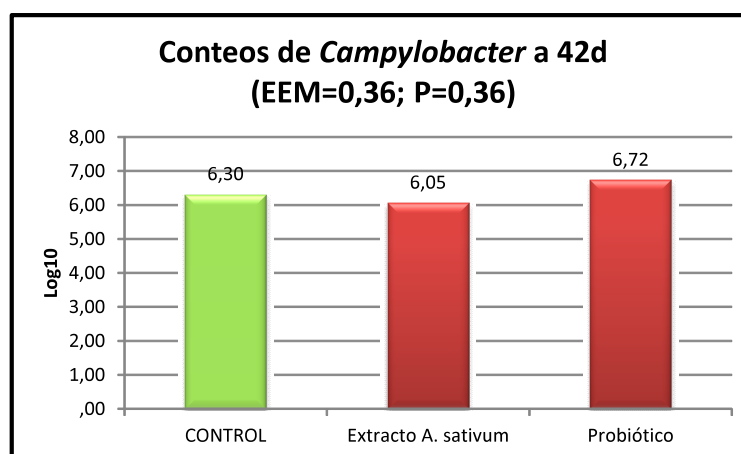


Figura 2. Efecto del tratamiento experimental (T1: Control, T2: Control + extracto *Allium sativum* y T3: Control + probiótico) sobre los recuentos de *Campylobacter jejuni* (\log_{10} cfu/g) en el ciego de pollos a 42 días de edad (28 días post-inoculación).

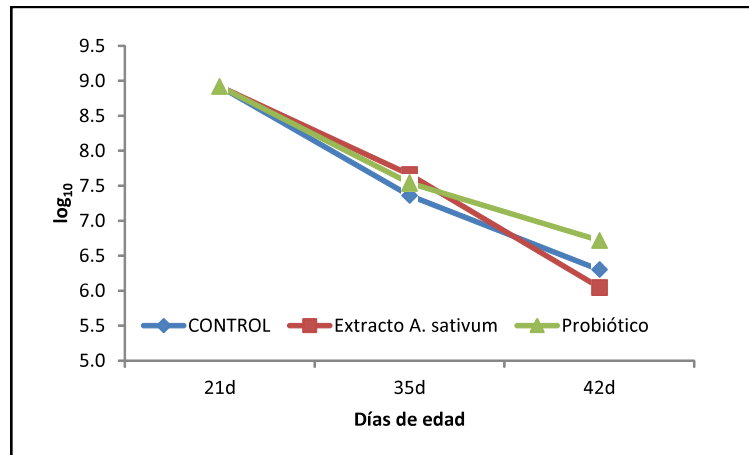


Figura 3. Evolución en el tiempo de los recuentos de *Campylobacter jejuni* (\log_{10} cfu/g) en el ciego de pollos dependiendo del tratamiento experimental (T1: Control, T2: Control + extracto *Allium sativum* y T3: Control + probiótico) a 21, 35 y 42 días de edad (7, 21 y 28 días post-inoculación).

Conclusiones

Del presente estudio podemos concluir que tanto la suplementación de un extracto de plantas (*Allium sativum*) como de un probiótico (*Bacillus subtilis*) en el pienso no afectó, ni positiva ni negativamente, a los recuentos de *Campylobacter jejuni* en los ciegos de pollos de engorde, al menos a las dosis probadas y en el periodo de tiempo durante el que se suplementaron (21 a 42 d).

Referencias

- GHAREEB, K., AWAD, W. A., MOHNL, M., PORTA, R., BIARNÉS, M., BÖHM, J., SCHATZMAYR, G. (2012) Evaluating the efficacy of an avian-specific probiotic to reduce the colonization of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. *Poultry Science* **91**:1825–1832.
- PEINADO, M. J., RUIZ, R., ECHÁVARRI, A., RUBIO, L. A. (2012). Garlic derivative propyl propane thiosulfonate is effective against broiler enteropathogens in vivo. *Poultry Science* **91**: 2148–2157.
- ROBYN, J., RASSCHAERT, G., HERMANS, D., PASMANS, F., HEYNDRIK, M. (2013). Is allicin able to reduce *Campylobacter jejuni* colonization in broilers when added to drinking water? *Poultry Science* **92**: 1408–1418.