

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DIÉTETICA CON EUGENOL SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS, MICROBIOTA Y MORFOLOGÍA INTESTINAL EN POLLOS DE CARNE

Solà-Oriol, D.¹, Nofrarías, M.², Anguita, M.¹, Barroeta, A.C.¹ y Gasa, J.¹

¹ Grup de Nutrició, Maneig i Benestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments. UAB.Facultat de Veterinària, 08193 Bellaterra, Barcelona. David.sola@uab.cat.

²Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), UAB-IRTA, Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra 08193, Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Hace más de dos años que la UE prohibió el uso de antibióticos como promotores del crecimiento en los piensos de avicultura. Por ello, se están estudiando diferentes alternativas a dichas sustancias que permitan mejorar la sanidad animal, la productividad y la seguridad alimentaria. Actualmente, se invierten grandes esfuerzos en investigación desde el punto de vista alimentario, para el desarrollo de alternativas a las sustancias antimicrobianas como son los probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y extractos de plantas. Estudios recientes con aceites esenciales han presentado mejoras tanto a nivel productivo como inmunitario.

Essenpro.a[®] es un producto que ha sido desarrollado en base a una mezcla de aceites esenciales que presenta una concentración superior al 5% de extracto de *Syzygium aromaticum* (clavo). El componente principal del aceite de extracción del clavo es el eugenol (72-90%), además incluye otros aceites esenciales como el acetyl-eugenol, la vainillina y la beta-cariofilina, y también presenta algunos flavonoides y triterpenoides. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la inclusión de Essenpro.a[®] en las dietas para pollos de engorde sobre los rendimientos productivos, la microbiota intestinal y la morfometría intestinal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el presente estudio se utilizaron un total de 240 pollos 'broiler' (*Ross 308*) de un día de vida y con un peso medio de $39,6 \pm 0,71$ g. A día 0 los animales fueron distribuidos en 40 corrales de 20 pollos (8 replicas/tratamiento) repartidas en 4 salas (10 corrales/sala). Se prepararon 5 piensos experimentales de acuerdo a cinco niveles crecientes de Essenpro.a[®] (T1=0ppm, T2=100ppm, T3=200ppm, T4=1000ppm y T5=2500ppm). Para cada tratamiento se formularon 3 especificaciones diferentes de la misma dieta: una dieta de inicio (0 a 20 días) en base a maíz soja formuladas para contener 3075 kcal/kg EM, 20,5% PB y 1,27% de Lisina, una dieta de crecimiento (20 a 35 días) y una de acabado (35 a 42 días) ambas en base a cebada y soja formuladas para contener 3199 kcal/kg EM, 20,0% PB y 1,15% de Lisina y 3175 kcal/kg EM, 18,5% PB y 0,97% de Lisina, respectivamente. A su vez, se plantearon dos pautas de administración del producto experimental, bien administrándolo durante todo el ciclo productivo (0 a 42 días) o bien con la retirada del mismo en la fase de acabado (35 a 42 días). Los piensos experimentales fueron administrados *ad libitum* en forma de granulado. El consumo de pienso y el peso de los animales fueron registrados semanalmente (a los 7, 14, 21, 28 y 35 días) para poder calcular el consumo medio diario, la ganancia media diaria (GMD) y el índice de conversión (IC). Durante la realización del experimento, se estudio la modificación de la microbiota intestinal y la morfología intestinal como consecuencia de la incorporación en el pienso de Essenpro.a[®]. Para ello, se procedió al sacrificio y recogida de tejido ileal y muestras de contenido cecal de 12 animales del tratamiento control (T-1) así como del tratamiento Essenpro.a[®] 100 ppm (T-2) a los 21 y 42 días de edad.

Las muestras de contenido cecal fueron procesadas mediante PCR cuantitativa, para la determinación del número total de *Enterobacteriaceae* y de *Lactobacillus spp*, utilizando la metodología descrita por Castillo et al. (2007). Por otra parte, se determinó la altura de las vellosidades, la profundidad de las criptas, el número de linfocitos en el epitelio intestinal y en la lámina propia en los cortes histológicos de las muestras de tejido ileal recogidas a 21 y 42 días.

Los diferentes parámetros productivos estudiados fueron analizados por día con ANOVA con 5 tratamientos experimentales y 3 salas mediante la subrutina GLM del paquete estadístico SAS®. El modelo matemático utilizado fue: $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ij}$, donde Y es la variable dependiente, α_i es el efecto del tratamiento experimental (T1 a T5), β_j es el efecto sala (1 a 4) y $\alpha\beta_{ij}$ es la interacción entre el tratamiento experimental y la sala. En el caso del estudio de la microbiota cecal y la morfometría intestinal, el modelo utilizado fue $Y_i = \mu + \alpha_i + \varepsilon_i$, donde Y es la variable dependiente, α_i es el efecto del tratamiento experimental (T1 y T2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron mejoras del IC asociados a la incorporación de 100 y 200 mg/kg de Essenpro.a® en el período de 0 a 35 días. Durante este período, los animales que consumieron la dieta con 200 mg/kg de Essenpro.a® presentaron mejor IC que los animales de la dieta control (1,63 vs 1,76; $P < 0,05$). También se pudo observar que los animales que consumieron la dieta con 100 mg/kg de Essenpro.a® presentaron un mejor IC hasta los 42 días que los animales de la dieta control (1,92 vs 1,85; $P < 0,05$). Dosis de inclusión superiores a 200 mg/kg no presentaron mejora ni en GMD ni IC respecto al grupo control, presentando valores inferiores a los observados para la dosis de inclusión de 200 mg/kg. Puede considerarse que el mayor peso vivo observado para los animales que consumieron la dieta con 100 mg/kg de Essenpro.a® va asociado a la mejor eficiencia previamente citada. Aquellos grupos en los que se retiró el producto durante la última semana (200, 1000 y 2500 mg/kg) tendieron a presentar ($P = 0,108$) mejor IC respecto a la dieta control. Se sugiere que dicha mejora podría estar asociada a la mejora observada durante el periodo previo a la retirada.

Por otra parte, a los 21 días, se pudo observar que los animales que consumieron la dieta con un nivel de inclusión de 100 mg/kg de Essenpro.a® presentaron mayor recuento de *Lactobacillus spp* (log UFC) a nivel cecal ($P < 0,05$), que hizo disminuir la ratio *Enterobacterias:Lactobacillus spp* ($P < 0,05$) respecto los animales del grupo control. Sin embargo a los 42 días de edad, los recuentos de *Enterobacteriaceae* y *Lactobacillus spp* no se vieron modificados por el tratamiento experimental. De acuerdo con los resultados presentados por Wise et al. (2007), tanto el nivel de *Lactobacillus spp* como la relación entre *Enterobacteriaceae* y *Lactobacillus spp* a nivel cecal, serían más similares a una dieta que contiene antibióticos, lo que podría sugerir que la inclusión de 100 mg/kg de producto favorecería el desarrollo de *Lactobacillus spp*.

En cuanto a la morfometría intestinal, no se observaron alteraciones asociadas al tratamiento experimental (100 mg/kg de Essenpro.a®) ni en la altura de las vellosidades ni en la profundidad de las criptas así como tampoco entre la ratio entre ambos parámetros ni a los 21 ni 42 días de vida. Sin embargo, en el tejido linfoide asociado al ileon se pudo observar mayor número de linfocitos intraepiteliales (día 21 $P < 0,01$; día 42 $P = 0,09$), así como mayor densidad de células en la lámina propia (día 21 $P < 0,01$) en los animales que consumieron la dieta con 100 mg/kg de Essenpro.a® respecto a los animales del grupo control (Tabla 1). Tanto el mayor número de linfocitos como de células en la lámina propia se puede interpretar como una mayor respuesta inmunitaria del animal, tal y como se ha demostrado a determinadas dosis de eugenol en modelos murinos (Vishteh et al., 1986).

Se puede concluir que la inclusión de 100 mg/kg de Essenpro.a® durante el ciclo de crecimiento permite mejorar el IC en pollos de engorde y aumentar el número de *Lactobacillus spp* a nivel cecal y mejorar la relación *Enterobacteriaceae:Lactobacillus* respecto los animales del grupo control. Asimismo la suplementación de 100 mg/kg de Essenpro.a® en los piensos para pollos de carne pueden tener un efecto positivo sobre la activación de la respuesta inmune, sin alterar la integridad de la mucosa tanto a nivel ileal como cecal.

Tabla 1. Resultados del estudio de la morfometría ileal a los 21 y 42 días.

	Tratamiento		Std	(Pr>F)
	Control	100 mg/kg Essempro.a®		
21 días				
Altura vellosidades (µm)	786,5	761,5	63,76	NS
Profundidad criptas (µm)	160,2	163,6	18,14	NS
Relación Vellosidades:Criptas	5,07	5,07	0,761	NS
Linfocitos intraepiteliales en 100µm	1,55	2,22	0,321	**
Densidad células lámina propia	5,98	6,83	0,451	**
Densidad linfocitos lámina propia	1,53	1,46	0,347	NS
42 días				
Altura vellosidades (µm)	1026,4	955,6	151,14	NS
Profundidad criptas (µm)	240,0	252,7	50,45	NS
Relación Vellosidades:Criptas	4,50	3,98	1,123	NS
Linfocitos intraepiteliales en 100µm	2,72	3,53	0,739	t
Densidad células lámina propia	9,47	9,79	0,702	NS
Densidad linfocitos lámina propia	2,96	2,94	0,522	NS

Los valores son medias (n =6). NS: P>0,1; t:P<0,10, *:P<0,05; **:P<0,01

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Castillo, M., Martín-Orue, S.M., Nofrarias, M., Manzanilla, E.G. y Gasa, J. 2007. *Veterinary Microbiology* 124: 239-247.
- Vishteh A., Thomas I. y Imamura T. 1986. *Immunopharmacology* 12:187-192.
- Wise, M.G. y Siragusa, G.R. 2007. *Journal of Applied Microbiology* 102:1138-1149.

EFFECT OF DITEARY EUGENOL SUPPLEMENTATION ON BROILER PERFORMANCE AND INTESTINAL MICROBIOLOGY AND MORPHOLOGY

ABSTRACT: The aim of the present work was to evaluate the effect of dietary Essenpro.a® supplementation (a product based on a blend of essential oils with > 5% of *Syzygium aromaticum* extract) on growth performance, intestinal microbiology and intestinal morphology. Five experimental treatments consisting of increasing levels of Essenpro.a® inclusion: 0 (control T-1), 100 (T-2), 200 (T-3), 1000 (T-4) y 2500 (T-5) mg/kg were randomly distributed amongst 40 replicates of 20 broilers. A reduction in the feed gain ratio was observed by the effect of Essenpro.a® at the inclusion level of 100 mg/kg during the whole productive cycle (1.92 control vs. 1.82 100 mg/kg) and at 200 mg/kg from 0 to 35 days (1.76 control vs 1.63 200 mg/kg). The *Enterobacteriaceae* counts at caecal level were not affected by Essenpro.a® supplementation in 21d-old animals, nevertheless the number of *Lactobacilli* (9,62 vs 9,18; P<0.05) was highly increased respect to the control diet. Moreover, Essenpro.a® inclusion at 100 mg/kg was able to modulate intestinal immune response.

Keywords: *Eugenol; Broilers; Immune response.*