Efecto del *Enterococcus faecium* en el desarrollo y crecimiento intestinal de pollos de engorde - Effect of *Enterococcus faecium* in the development and growth of intestinal broilers

## Cartagena Vásquez, Byron 1 | Mejía Hernández, Javier 2.

- 1 Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.
- 2 Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas.

Contacto:cartbyron@gmail.com javier\_mejiahz@hotmail.com

#### Resumen

En la alimentación, los animales se exponen a bacterias y sustancias tóxicas, donde el epitelio intestinal actúa como una barrera natural ante estos patógenos presentes en el lumen intestinal. La ingesta de bacterias probióticas influye positivamente sobre el desarrollo y función de órganos digestivos, mejorando los parámetros fisiológicos, nutricionales e inmunológicos de este. El objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes dosis (1g/qq, 1.75g/qq y 2g/qq) de cepa probiótica Enterococcus faecium, sobre el crecimiento y desarrollo intestinal en pollos de engorde durante su etapa productiva. La investigación se realizó en la unidad experimental de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, San Salvador; durante seis meses. Se utilizaron 100 pollos de engorde (Arbor Acres) de un día de edad; se emplearon cuatro grupos con cuatro repeticiones, constituidas por seis unidades experimentales cada uno. La cepa probiótica se adiciono mediante premezcla manual en 200 gramos de calcio, para su posterior incorporación al concentrado comercial, en las proporciones ya establecidas por los tratamientos del ensayo. La cepa se utilizó en el tiempo recomendado por el fabricante para garantizar su viabilidad, sacrificándose 11 aves por tratamiento mediante el método de degüello al cumplirse las seis semanas de vida con el propósito de obtener los intestinos, conservándose en formalina al 10% para la posterior realización de cortes histológicos de los intestinos extraídos para ser observados en un microscopio óptico donde se medió la altura y ancho de las vellosidades intestinales y la profundidad de las criptas en micras por medio del software "AmScope®".

La inclusión de *Enterococcus faecium* en la alimentación de pollos de engorde en dosis de 1.75g/qq de concentrado mejoraron el crecimiento y desarrollo intestinal, en vellosidades con altura de 1211.34μm, ancho 147.7μm, y criptas menos profundas 164.30μm (p<0,05); se vio reflejado en pollos con un peso final de 2,195.5g a la sexta semana, ganancia diaria

promedio de 58.75g durante la semana seis e índice de conversión alimenticia de 1.85 (p<0,05), ofreciendo una ventaja en la industria avícola pues puede ser utilizado en la alimentación durante todo el ciclo productivo como promotor de crecimiento, logrando percibir un aumento significativo en el peso de los pollos de engorde, obteniendo beneficios económicos y comerciales.

Palabras clave: Enterococcus faecium, Probiótico, Desarrollo intestinal. Pollos de engorde.

#### **Abstract**

In feeding the animals are exposed to bacteria and toxic substances where the intestinal epithelium acts as a natural barrier against these pathogens present in the intestinal lumen. The intake of probiotic bacteria positively influenced the development and function of digestive organs improving the physiological, nutritional and immunological parameters of this. The main objective of this research was to evaluate different doses (1g/qq, 1.75g/qq y 2g/qq) of probiotic strains of Enterococcus faecium on intestinal growth and development in broiler chickens during their productive stage. The research project was carried out in the Experimental unit of the Faculty of Agronomic Sciences San Salvador, University of El Salvador, during six month. Carried out the upbringing of 100 broiler chickens (Arbor Acres) of one day of age; Four groups were used with four repetitions, constituted by six experimental units each. The probiotic strain was added by means of a premix manual in 200 grams of calcium for its later incorporation to the commercial concentrate, in the proportions already established by the treatments of the test. The strain was used at the time recommended by the manufacturer to ensure its viability, 11 birds are sacrificed by treatment by slaughter method at the end of six weeks of life with the purpose of obtaining the instestines, preserved in 10% formalin for the subsequent realization of histological sections of the intestines extracted to be observed in an optical microscope where the height and width of the intestinal villi and the depth of the crypts in microns were measured by means of the software "AmScope®".

The inclusion of *Enterococcus faecium* in the diet of broiler chickens at a dose of 1.75 g/qq of concentrate improved intestinal growth and development, in villi with height of 1211.34  $\mu$ m and width 147.7 $\mu$ m, and crypts less deep 164.30  $\mu$ m (p<0.05); which was reflected in chickens with a final weight of 2,195.5g at the sixth week, average daily gain of 58.75g during week six and feed conversion index of 1.85 (p<0.05), offering an advantage in the

poultry industry because it can be used in food throughout the production cycle as a promoter of growth, managing to perceive a significant increase in the weight of broilers, obtaining economic and commercial benefits.

**Keywords:** *Enterococcus faecium.* Probiotic, Intestinal development, Broiler chickens.

#### 1. Introducción

La avicultura es una actividad que ha alcanzado grandes avances en las últimas décadas, esto se debe principalmente a la acción conjunta entre genética, sanidad, manejo y nutrición (Chávez. *et al.* 2016).

En los sistemas de producción tradicionales, en los cuales se maneja una alta densidad de aves en el galpón, éstas se enfrentan a diferentes agentes patógenos que pueden ocasionar enfermedades y afectar negativamente la producción. Para evitar este problema, a nivel mundial a lo largo de los años se han utilizado los antibióticos como promotores de crecimiento (APC), los cuales mejoran la tasa de crecimiento, la salud y el bienestar de los animales (Chávez. 2014).

En la actualidad hay una preocupación creciente sobre patógenos alimenticios que se transmiten de los animales de la granja a la población humana, incluso en los países más desarrollados debido a la ausencia de alternativas; la mayoría de los intentos para controlar la microflora gastrointestinal en pollos se han hecho hasta ahora sobre la base del uso de antibióticos de amplio espectro. Sin embargo, la reciente y creciente preocupación por la diseminación de genes resistentes a antibióticos ha conducido a la prohibición del uso profiláctico de muchos antibióticos. Por tal motivo, como estrategia terapéutica de origen nutricional se ha propuesto el uso de probióticos, ya que se ha reportado que estos podrían mejorar los parámetros productivos, nutricionales, fisiológicos, como un mayor largo de vellosidades intestinales y menor profundidad de criptas en algunas especies animales (Chávez. 2016). Sin embargo, ninguno de estos productos alternativos desarrollados hasta ahora ha proporcionado una solución general que resulte efectiva en una amplia variedad de condiciones (Apajalahti y Kettunen 2002), se ha demostrado que su uso favorece la microbiota intestinal, esencial para descomponer sustancias alimenticias no digeridas previamente, aumentar la respuesta inmune y mantener la integridad de la mucosa intestinal, considerándose importantes también en la producción de vitaminas sobre todo las del complejo hidrosoluble, traduciéndose en mejores desempeños para la industria

avícola (Pratt *et al.* 2002). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación está orientado a evaluar el efecto entre diferentes dosis del *Enterococcus faecium* en el crecimiento y desarrollo intestinal y parámetros zootécnicos de pollos de engorde durante un periodo de 6 semanas (42 días) mediante la realización de técnicas histológicas, con el fin de promover una alternativa viable que pueda sustituir el uso de antimicrobianos como promotores de crecimiento en este rubro.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Ubicación, duración y unidades experimentales.

El estudio se desarrolló en un periodo de 10 meses, comprendidos entre las fases de planificación, de campo y de laboratorio. Se utilizaron 100 pollos de engorde de un día de edad, de la línea Arbor Acres, los cuales se distribuyeron aleatoriamente en cuatro tratamientos, suministrándoles diferentes dietas compuestas de alimento comercial y distintas dosis en gramos por quintal de alimento, de la cepa probiótica *Enterococcus faecium* (presentación comercial Cylactin 2.0.® en microcápsulas para su inclusión en el alimento).

#### 2.2. Metodología de campo.

La fase de campo se llevó a cabo en un área del vivero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, (13°43.14.04" Latitud Norte y 89°12'15.56" longitud oeste) a 710 m.s.n.m., humedad relativa del 72% y una temperatura promedio de 72%. Utilizándose 100 pollos de engorde de un día de edad, de la línea Arbor Acres®, criados en una galera con dimensiones de 4.5 metros de largo, 6 metros de ancho y una altura de 2.5 metros, con piso de tierra, techo de lámina acanalada tipo zinc y paredes con malla galvanizada, Se construyeron cuatro divisiones con dimensiones de 2.50 metros de largo, 80 cm de ancho y 80 cm de alto. Como cama, se utilizó viruta de madera, como fuente de calor se utilizaron focos incandescentes, en una relación de 1 watt/pollo, implementándose un plan de vacunación recomendado para pollo de engorde. Se tomó el peso inicial en forma individual (g) y el de la parvada; posteriormente se realizaron tomas de peso semanalmente hasta completar las 6 semanas, hasta el sacrificio de la población, registrándose datos durante el ciclo productivo de consumo diario, alimento rechazado, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia. Se evaluaron 4 grupos (T0= alimento comercial (testigo), T1= alimento comercial +1.75g CP, T2= alimento comercial + 1 g CP, y

T3= alimento comercial + 2.5g CP), con 4 repeticiones y 6 unidades experimentales por cada grupo, ubicados en galeras en una relación de 10 pollitos por m². La cepa probiótica *Enterococcus faecium* (presentación comercial en microcápsulas) se adicionó mediante premezcla del probiótico en 200 gramos de calcio para su posterior incorporación al concentrado, realizando este procedimiento de forma semanal para garantizar la viabilidad de la cepa. todos los individuos se alimentaron de acuerdo con la etapa cronológica, utilizándose concentrado iniciador (23% proteína), desde el día 1 hasta el día 21, y luego concentrado finalizador (19% proteína), considerando tres días de transición para el cambio del alimento.

## 2.3. Sacrificio y obtención de intestinos.

Se realizó al cumplirse las seis semanas de vida de los pollos mediante el método de degüello, siendo sometidas a ayuno de 12 horas para favorecer su vaciado con el propósito de obtener los intestinos, realizándose la extracción desde la salida de la molleja hasta la entrada del recto, cortando inmediatamente después de las válvulas ileocecales. Los intestinos se conservaron en formalina al 10% hasta su procesamiento.

## 2.4. Metodología de laboratorio.

Se realizó en el laboratorio de Histotecnología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador. Se realizaron dos cortes longitudinales por muestra a nivel del ileón para su procesamiento utilizando el método propuesto por Montalvo (2010), iniciando con la fijación de tejidos, en formalina al 10%; posteriormente se realizó la deshidratación, aclaramiento e inclusión en parafina de los tejidos. Luego se realizaron cortes de 6 micras de grosor los cuales fueron teñidos con eosina-hematoxilina para el posterior análisis microscópico de las criptas y vellosidades.

## 2.5. Evaluación microscópica y análisis morfométrico.

Los cortes histológicos se analizaron cuantitativamente mediante un procesamiento de imágenes digitales computarizadas; se capturaron imágenes con una cámara microscópica digital. Se midió la longitud de 15 vellosidades intestinales (altura y ancho) y la profundidad de 15 criptas (intestinales) por muestra, por medio del software "AmScope", determinándose un valor promedio para cada una.

#### 2.6. Análisis estadístico.

Se realizó la prueba estadística de diferencia mínima significativa. Para determinar el efecto producido por la variable independiente (adición de distintas dosis de cepa probiótica en el alimento), se registraron las variables dependientes: ganancia de peso semanal, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad, crecimiento de vellosidades intestinales y profundidad de criptas intestinales.

### 2.7. Análisis socioeconómico.

La relación beneficio/costo se analizó según los parámetros de la CIMMYT (Centro de Investigación de Mejoramiento del Maíz y Trigo) evaluando los costos a través de un presupuesto tomando en cuenta los costos fijos y análisis de dominancia basándose en una tasa marginal de retorno, lo cual permitió mostrar la mejor relación beneficio costos dentro de los tratamientos utilizados.

## 3. Resultados y discusión.

## 3.1. Ganancia de peso.

Para la ganancia de peso, al adicionar cualquiera de las tres dosis de *Enterococcus faecium* en la dieta de los pollos de engorde, se alcanzaron mejores ganancias de peso semanal, en comparación con los pollos alimentados únicamente con concentrado comercial, los mejores rendimientos se obtuvieron en el tratamiento 1 (con adición de 1.75 g de *Enterococcus faecium* por quintal de alimento) con una ganancia diaria promedio de 58.75g durante la semana seis y un peso final de 2,195.5g por tratamiento a la sexta semana, existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos (P<0.05), coincidiendo con lo reportado por Chávez (2014) que expresa que la inclusión de probióticos, específicamente de *E. faecium*, mejoró los parámetros productivos (P<0.05) como: peso, conversión, porcentaje de supervivencia, índice productivo y eficiencia alimenticia.

#### Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=4.75284

Error: 17.2927 gl: 40

Tratamientos Medias n E.E.

TO 1905.20 11 1.25 A

T2 1994.39 11 1.25 B

T3 2103.80 11 1.25 C

T1 2195.40 11 1.25 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Estadísticamente el tratamiento T1 obtuvo mejores resultados en los pesos finales presentando una media de 2195.4, seguido del tratamiento T3 con una media de 2103.8, luego el tratamiento T2 con una media de 1994.39 y finalizando con el tratamiento T0 presentando una media de 1905.2.

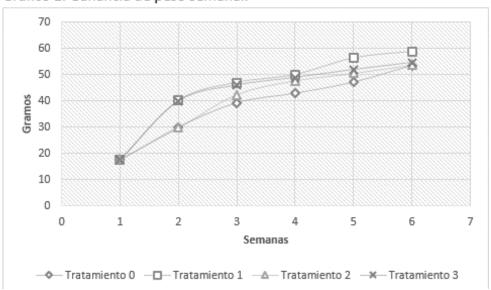


Grafico 1. Ganancia de peso semanal.

Las medias de los pesos de los tratamientos en estudio mostraron diferentes efectos en la ganancia de peso, obteniendo los mayores desempeños el tratamiento T1 que corresponde a la dieta de concentrado + 1.75 g de probiótico seguido de T3, T2 y T0.

### 3.2. Conversión alimenticia.

Los valores del índice de conversión alimenticia semanal de los tratamientos en estudio, mostraron diferentes efectos en la ganancia de peso, obteniendo los mejores desempeños el tratamiento T1 con 1.85 (el ave necesita 1.85 lbs de alimento para producir 1 lbs de carne) correspondiendo a la dieta de concentrado + 1.75 g de probiótico seguido de T3, T2 y T0. Contrastando con H. E. Samli et al. (2007). que expresó que al adicionar una cepa de *Enterococcus faecium* en la dieta de pollos de engorde en una presentación experimental se

obtuvieron índices de conversión alimenticia de 1.99, valores superiores a los reflejados en la presente investigación, lo que puede deberse a los avances relacionados con la estabilidad de las microcapsulas que cubren los organismos probióticos que permiten una mayor eficiencia en desempeño.

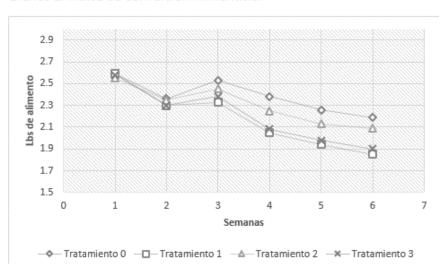


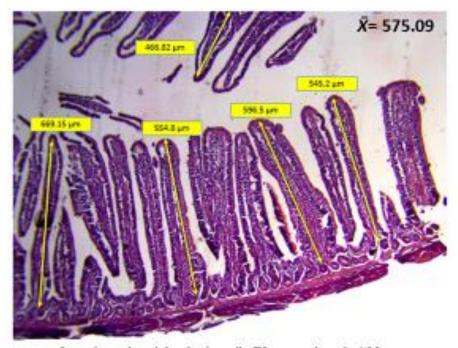
Grafico 2. Índice de Conversión Alimenticia.

#### 3.3. Mortalidad.

Con respecto a la variable mortalidad, los tratamientos experimentales se comportaron de manera similar, existiendo una única muerte en el tratamiento T1, relacionada más con factores ambientales que con agentes infecciosos, sin embargo el uso de probióticos representa una alternativa de prevención de patologías digestivas en la industria avícola, Cobos. et al. (2006) menciona que Los probióticos ayudan a mejorar el proceso digestivo, promover un ambiente intestinal sano, modificando la composición o actividad de la microflora intestinal. Enterococcus faecium, ha sido utilizada en la prevención de problemas diarreicos en animales jóvenes, y que presumiblemente también beneficia el proceso crecimiento-finalización, al proporcionar un mejor ambiente intestinal, permitiendo mayor aprovechamiento de los nutrientes y disminuyendo la cantidad de muertes relacionadas con trastornos digestivos, la adición de probióticos en la dieta permite aumentar la respuesta inmune y mantener la integridad de la mucosa intestinal, esto favoreciendo a competir a la zonas de adherencia a nivel intestinal, creando de esta forma una barrera protectora ante los agentes patógenos.

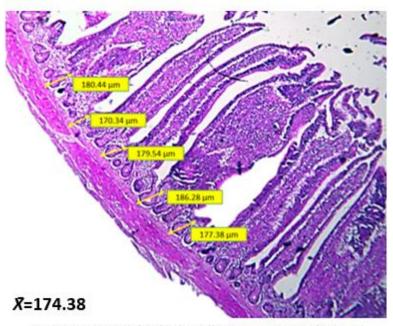
#### 3.4. Desarrollo Intestinal.

Las vellosidades intestinales se observaron las estructuras con un largo mayor en los tratamientos con adición de cepa probiótica, presentando mejores resultados el T1, donde el valor promedio fue de 1211.34  $\mu$ m, seguido del tratamiento T3 con valor promedio de 1149.59  $\mu$ m y T2 con un promedio 888.71  $\mu$ m (P<0.05), valores superiores a los de una ave con dieta basal que oscilan una altura de 612  $\mu$ m según lo manifestado por Van der Klis y Jansman (2002).



Corte intestino delgado de pollo TO a una vista de 100x

En cuanto a las criptas intestinales se observaron las estructuras con una profundidad menor en los tratamientos con adición de cepa probiótica reflejándose en mayores peso al final de ciclo productivo, siendo menos profundas las criptas pertenecientes al T3 con un valor promedio 147.7 µm, seguido del T1, T2 y por último el T0 con un valor promedio de 174.38 (P<0.05). Concordando con lo expresado por Martínez D. (2017) quien manifestó que en las criptas se lleva a cabo la restitución de enterocitos que recubren la vellosidad y al necesitarse un reemplazo más eficiente de la capa de estos, la actividad proliferativa es también mayor en las criptas, en consecuencia, el mayor largo de las criptas está asociado a un mayor gasto nutricional.



Corte intestino delgado de pollo TO a una vista de 100x

El análisis del comportamiento productivo de los pollos durante 42 días refleja que los animales bajo acción probiótica (T1, T2, T3) mostraron una mejora en los índices de desarrollo intestinal con respecto a los animales control (T0) (P<0.05), siendo estos los que alcanzaron mayor peso y largo de vellosidades a la sexta semana, en contraste con aquellos alimentados únicamente con concentrado comercial que presentaron pesos (1905.2 g) y largo de vellosidades intestinales inferiores (575.09 μm), tal y como expresa Chávez *et al.* (2016), Que reporta que la inclusión de probióticos específicamente *E. faecium*, en la alimentación de pollos de engorde, mejoraron la profundidad de criptas y el diámetro y altura de vellosidades intestinales (p<0,01) lo cual se refleja en una mayor ganancia de peso, desarrollo y crecimiento de órganos de importancia digestiva, específicamente intestino; lo que podría mejorar la absorción de nutrientes y por consiguiente la salud de los animales.

## 4 .Análisis Económico.

# 4.1 Presupuesto Parcial.

Presupuesto parcial.

		Tratamientos			
	Unidad	T0	T1	T2	T3
Rendimiento promedio	Libras	102.5	120	107.5	115
Rendimiento ajustado	Libras	92.25	108	96.75	103.5
Beneficios brutos	\$/trat	96.86	113.4	101.5	108.6
Costos variables	\$	78.5	85.25	84.5	86
Costo de probiótico	\$	0	1.75	1.00	2.50
Costo concentrado	s	52.50	52.50	52.50	52.50
Electrolitos y vitaminas	\$	0.75	0.75	0.75	0.75
Biruta de madera	\$	2.50	2.50	2.50	2.50
Mano de obra	\$	20	25	25	25
Vacunas	\$	2.75	2.75	2.75	2.75
Costos fijos	\$	45.50	45.50	45.50	45.50
Infraestructura	\$	35	35	35	35
Luz	\$/trat al mes	8	8	8	8
Agua	\$/trat al mes	2.50	2.50	2.50	2.50
Beneficios netos		18.36	28.15	17	22.6

Interpretación: El tratamiento que obtuvo el mayor beneficio neto fue el T1 (con adición de 1.75g de la cepa probiótica) con \$28.15, seguido por el t3 con \$22.6, el t1 con 18.36 y por último el t2 con \$17.00.

## 4.2 Análisis de dominancia:

Cuadro 3. Análisis de dominancia

Tratamiento	Costos variables	Beneficios netos	
ТО	78.5	18.36	
T2	84.5	17 D	
T1	85.25	28.15	
T3	86	22.6 D	

Con base a lo anterior, se puede concluir que los tratamientos t2 y t3 son dominados ya que presentan beneficios netos menores y costos variables mayores, comparados con el resto de los tratamientos que poseen beneficios netos mayores y menores costos variables.

# 4.3. Tasa de retorno marginal.

TRMg= ΔBN/ΔCV\*100

TRMg= 28.15-18.36/85.25-78.5

TRMg= 9.79/6.75\*100= 145%

Esto refleja que el avicultor al invertir en la adición de *Enterococcus faecium* en la dieta de los pollos de engorde, le reproducirá una tasa de retorno marginal de 145%.

Es decir, que por cada dólar invertido en la adición de la nueva tecnología, el avicultor espera recuperar su dólar, mas \$1.45 adicional.

### 5. Conclusiones.

La adición de probiótico (*E. faecium*), en la alimentación para pollos de engorde demuestra tener efectos positivos sobre los parámetros zootécnicos como ganancia de peso, conversión alimenticia y pesos finales, al adicionar la dosis de 1.75 g de cepa probiótica por quintal de alimento concentrado.

E. Faecium demostró tener efectos favorables sobre el desarrollo y crecimiento intestinal, reflejándose en el mayor crecimiento y grosor de las vellosidades intestinales y una menor profundidad de las criptas intestinales, favoreciendo así la absorción de nutrientes y una mejor eficiencia nutricional.

Económicamente la adición de E. faecium, demostró tener mejor relación beneficio-costo viéndose reflejado en un aumento en el rendimiento económico para los productores y en la disminución de antibióticos en el producto de consumo final.

#### 6. Recomendaciones.

Basado en los resultados de ésta investigación, el uso de *Enterococcus faecium* en la alimentación de pollos de engorde, es una alternativa que debe ser considerada para eliminar el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en la industria avícola, ya que aumentan el desarrollo y crecimiento del intestino, permitiendo mejorar el aprovechamiento de nutrientes y la salud intestinal de las aves.

## 7. Bibliografía.

APAJALAHTI, J; KETTUNEN, A. 2002. Efecto de la dieta sobre la flora microbiana en el tracto gastrointestinal de ave. In XVIII Curso de especialización FEDNA. (18, 2002, Barcelona, España). Dieta y microflora de las aves. Kantvik, Finland. P 41-42.

CHÁVEZ, L. 2014. Evaluación de cepas probióticas (*L. acidophilus, L. casei y E. faecium*) como inmunomoduladores nutricionales en pollos de engorde. Master en Ciencias Agrarias. Medellín. Colombia. Universidad Nacional de Colombia.

CHÁVEZ, L.A., LÓPEZ, A. Y PARRA, J. E. 2016. Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas. Medellín. Colombia. Universidad Nacional de Colombia. P 51-52

Cobos, M.A, Reyes, I. Figueroa, J.L, Sánchez-Torres, M.T, Zamora, V y Cordero, J.L. 2006. Probiótico (*Enterococcus faecium*) adicionado a dietas estándar y con baja proteína para cerdos. Estado de México, MX. Programa de ganadería. Campus Montecillo, P 10.

Martínez, D. 2017. Desarrollo de un sistema de variables histológicas como indicadores de salud intestinal y eficiencia nutricional. Lima, Perú. P 8-15

MONTALVO. C. 2010. Técnicas Histológicas, D.F, México. Universidad Autónoma de México. 1-196 pg.

Pratt, E.V, Ros, S.P. y Keeling, A. 2002. Effect of ambient temperatura on losses of volatile nitrogen compounds from stored laying hen manure. Bioresources Tech.

Samli, H.E, Senkoylu, N. Koc, F. Kanter M, Agma A, 2007. Effects of Enterococcus faecium and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. Tekirdag, Turkey, Namık Kemal University, Department of Animal Science, P 3-8.

Van der. K y Jansman, 2002. Actuaciones nutricionales para mitigar problemas de salud intestinal en aves. Manager poultry research, Schothorst feed research.