

Trabajo de investigación

Acción de promotores de crecimiento sobre la mucosa intestinal de pollos parrilleros Action of growth promoters on the intestinal mucosa of broiler chickens

Silvina Pinto*¹; Ernesto Vignoni²; Cecilia Esquivel²; Florencia Prosdócimo²; Romina Mitarotonda³; Natacha Cerny³; Hebe Barrios⁴; Mauricio De Franceschi²; Mauricio De Marzi³¹Facultad de Ciencias Veterinarias, área de Patología Básica, Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280, CABA, Argentina²Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Luján, Ruta 5 y Avenida Constitución. (6700) Luján. Buenos Aires, Argentina³Laboratorio de Inmunología, Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES), Universidad Nacional de Luján Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, Ruta 5 y Avenida Constitución. (6700) Luján. Buenos Aires, Argentina⁴Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, Ruta 5 y Avenida Constitución. (6700) Luján. Buenos Aires, Argentina

*e-mail: silvina-pinto@hotmail.com

(Recibido 30 de noviembre 2019; aceptado 6 de mayo 2020)

RESUMEN

La búsqueda de productos naturales para reemplazar el uso de antibióticos de síntesis química en la producción aviar se ha incrementado últimamente. Los flavonoides de los extractos vegetales contienen catequinas con propiedades antibacterianas y antioxidantes. En el presente trabajo estudiamos un extracto vegetal polifenólico (EVP) derivado del quebracho colorado (*Schinopsis lorentzii*) como aditivo dietario. Se analizó su efecto (500 g/tonelada de alimento) en pollos parrilleros hasta el día 35 de vida, respecto a un promotor antibiótico, bacitracina metileno disalicilato (BMD) (500 g/tonelada de alimento) y un grupo control que no recibió aditivos. No se observaron diferencias significativas en los parámetros productivos ni en los estudios histológicos e histomorfométricos en varios tramos intestinales, salvo al día 35 en que se encontró un incremento significativo en la relación vellosidad-crypta del íleon, en las aves que recibieron el EVP con respecto al resto de los grupos estudiados. Por otro lado, las aves que recibieron BMD presentaron una disminución significativa en el nivel de IgA secretoria. De esta manera, se postula que el EVP es un excelente candidato para reemplazar a los antibióticos de origen sintético ya que mejoraría la absorción de nutrientes sin interferir en los niveles de IgA secretoria.

Palabras clave: IgA, promotores de crecimiento, mucosa intestinal, pollos, histomorfometría

INTRODUCCIÓN

La crianza intensiva de las aves de corral comerciales debe evitar los potenciales efectos negativos que ésta pueda ocasionar sobre la salud y el bienestar tanto de los animales como de los consumidores, conjuntamente con la sustentabilidad del medio ambiente. Es por ello que, en los últimos años, se ha incrementado la búsqueda de agentes naturales con acción antibacteriana que puedan actuar

ABSTRACT

The search for natural products to replace the use of chemically synthesized antibiotics in avian production has increased lately. Flavonoids in plant extracts contain catechins with antibacterial and antioxidant properties. In the present work we study a polyphenolic vegetable extract (PVE) derived from the quebracho red wood (*Schinopsis lorentzii*) as a dietary additive. Its effect (500 g/ton of feed) in broiler chickens until day 35 of life was analyzed with respect to an antibiotic promoter, bacitracin methylene disalicylate (BMD) (500 g/ton of feed) and a control group that did not receive additives. No significant differences were observed in the productive parameters nor in the histological and histomorphometric studies in various intestinal sections, except for a significant increase in the ileum villus-crypt ratio found in the chickens that received the PVE, on day 35, compared to the rest of the groups under study. On the other hand, the poultry that received BMD presented a significant decrease in the level of secretory IgA. Thus, it is postulated that PVE is an excellent candidate to replace synthetic antibiotics since it would improve the absorption of nutrients without interfering with secretory IgA levels.

Key words: IgA, growth promoters, intestinal mucosa, poultry, histomorphometry

como promotores de crecimiento, o bien que permitan el control de algunos microorganismos, en especial salmonelas en gallinas de postura o clostridios y coccidios en pollos para carne^{1,2}.

Durante los últimos años, la aplicación de antibióticos de síntesis química en forma continua en los alimentos de los animales mejoró significativamente la salud de los mismos disminuyendo la incidencia de enfermedades³. Sin embargo, su uso no terapéutico como promotores

de crecimiento, tomó relevancia al generar mecanismos de resistencia al acumularse sus residuos en carne y huevos⁴. Es por ello que en varios países, en especial de la Unión Europea, al prohibir el uso de antibióticos desde 2006, se han dictado normas que indican su reemplazo, fundamentalmente de aquellos utilizados como promotores de crecimiento y anticoccidiales⁵. Entre las alternativas de reemplazo de los diversos productos utilizados, ya sea como promotores de crecimiento o como anticoccidiales, existe un sinnúmero de recursos de origen natural que cumplen las mismas funciones, sin el riesgo que conlleva la presencia de residuos en carne y huevos. Entre estos se pueden incluir los probióticos, prebióticos, simbióticos (combinación de probióticos y prebióticos), acidificantes orgánicos, antioxidantes y extractos vegetales⁶. Estos últimos, también denominados fitobióticos o agentes fitogénicos, fueron utilizados tradicionalmente con fines terapéuticos en la medicina de todas las culturas originarias, formando parte de su farmacopea⁷. Los mismos son extremadamente heterogéneos y se hallan presentes en raíces, tallos, hojas, flores, frutos y semillas de una gran cantidad de plantas. Son producidos como mecanismo de defensa ante agresiones de todo tipo, en especial las provocadas por microorganismos. Además, presentan una composición química que da lugar a distintos metabolitos secundarios cuyas propiedades pueden ser usadas con fines farmacológicos. Entre los principios activos que producen efectos benéficos sobre la salud de los animales pueden encontrarse polifenoles (taninos, ligninas y flavonoides) como así también aceites esenciales que contienen terpenos, sesquiterpenos, alcoholes, aldehídos, cetonas o parafinas². Tanto polifenoles como aceites esenciales se utilizan como agentes promotores de crecimiento no antibióticos y dadas sus propiedades antifúngicas y antioxidantes, pueden emplearse en la conservación de alimentos⁸.

Existe una amplia variedad de especies vegetales que contienen principios activos con probadas y variadas actividades *in vitro* e *in vivo*, como orégano (*Origanum vulgare*), canela (*Cinnamomum verum*), ajo (*Allium sativum*), menta (*Mentha*), anís (*Pimpinella anisum*) y remolacha (*Beta vulgaris*)⁹. Además, se ha descrito que algunos extractos vegetales poseen acciones antibacterianas, antifúngicas, anticoccidiales y antioxidantes. Asimismo, en algunos casos, se ha demostrado que pueden estimular la producción de enzimas digestivas como lipasas y amilasas¹⁰.

Los flavonoides presentes en los extractos vegetales derivados de los polifenoles son posiblemente los más difundidos para uso en producción animal debido a la presencia de catequinas, que les confieren propiedades antibacterianas¹¹. Estos actúan sobre la porción lipídica de la membrana plasmática de los microorganismos patógenos provocando disminución del consumo de oxígeno y alteración de la cadena respiratoria⁶. En ese sentido, se describió que los extractos polifenólicos derivados de las catequinas, son capaces de combatir a los *Staphylococcus aureus* betalactámicos resistentes¹².

Tradicionalmente se ha designado a los promotores de crecimiento empleados en la industria avícola como "Antibióticos Promotores de Crecimiento". Sin embargo, la aparición de resistencia a los antibióticos y las regulaciones implementadas fundamentalmente por la Unión Europea motivaron a que actualmente se utilice el término genérico "Agentes Promotores de Crecimiento" (APC)¹³. Se considera que los APC deben generar efectos favorables en los animales de producción y no representar un riesgo para la salud humana. Es por ello que el empleo de extractos vegetales que combinen varios efectos beneficiosos para

la salud animal y la producción no significaría un peligro a la salud humana, como sí lo son los antibióticos de síntesis química.

En el presente trabajo determinamos la acción de dos promotores de crecimiento: un antibiótico, la bacitracina metileno disalicilato y un extracto vegetal polifenólico, con la finalidad de comparar sus efectos en la mucosa intestinal, y tejidos linfoides (bolsa de Fabricio, timo y bazo), como así también sobre la secreción de anticuerpos en contenido intestinal de pollos parrilleros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tratamiento con promotores de crecimiento

Se utilizaron 144 pollos parrilleros hembras de elevada uniformidad (peso al momento de llegada de la planta de incubación entre 42 y 52 g) de la línea Cobb 500, de un día de edad, provenientes de una planta comercial de la zona de influencia de la Universidad Nacional de Luján. Los protocolos empleados fueron avalados por el Comité de Bioética de la Universidad Nacional de Luján mediante DISPSEACAD 072-18. Los pollitos no recibieron vacunas en su crianza ni en la planta de incubación, sólo poseían la inmunidad materna recibida en forma pasiva. Se les suministró alimento formulado por el INTA Pergamino, uno iniciador, del 1° al 17° día, y uno terminador, del 18° al 35° día (Tabla 1) y agua *ad libitum*. Las pruebas experimentales fueron realizadas en el bioterio avícola de la Universidad Nacional de Luján, en jaulas experimentales, en un ambiente semicontrolado con temperatura de 28° a 32° del día 1 al 20 y de 24° a 21° del día 21 al 35. Cada jaula consta de un comedero manual tipo canaleta, bebedero tipo *niple*, y un tanque dosificador de agua. Las jaulas experimentales están distribuidas en tres bloques de cuatro jaulas cada uno de 38 cm de alto, 50 cm de ancho y 57 cm de profundidad, las que cuentan con fuentes luminarias que también cumplen la función de calefaccionar a las aves y se complementan con un calefactor y un extractor de aire para regular la temperatura y ventilar respectivamente.

Se evaluaron dos agentes promotores de crecimiento (APC), bacitracina metileno disalicilato (BMD Alpha®) y un extracto vegetal polifenólico (EVP, BioquinaPorfenc®) obtenido de quebracho colorado (*Schinopsis lorentzii*)^{1,2}. Los mencionados promotores de crecimiento fueron enviados por el INTA Pergamino, donde se realizaron las mezclas y preparados en las correspondientes bolsas según el tratamiento. El diseño se elaboró con cuatro repeticiones en forma randomizada de 12 aves cada una. Los grupos fueron:

- Grupo 1 (G1): animales control que no recibieron aditivos en la dieta, n = 48.
- Grupo 2 (G2): animales que recibieron BMD (500 g/ tonelada de alimento), n=48.
- Grupo 3 (G3): animales que recibieron EVP (500 g/ tonelada de alimento), n=48.

Los grupos 2 y 3 recibieron los promotores de crecimiento desde el día 1 al 35 de edad.

A los 7, 14, 21, 28 y 35 días se recolectaron los datos de los parámetros productivos, consumo (pesando el alimento que se les daba y el que dejaban), peso e índice de conversión alimenticia final.

Posteriormente, en cada uno de los tiempos indicados anteriormente, se sacrificaron por dislocación cervical¹⁴, 4 aves por grupo, a razón de una por repetición. La eutanasia cumplió con las normas de bioética de la Universidad Nacional de Luján. Las necropsias de los animales respetaron los pasos de una inspección general del estado

Tabla 1. Raciones del día 1 al 17 y del día 18 al 35 administradas a pollos parrilleros hembra de la línea Cobb (n=144)

<i>Ingredientes</i>		<i>Raciones</i>	
<i>Cod.</i>	<i>Nombre</i>	<i>Cobb's 1-17 días</i>	<i>Cobb's 18-35 días</i>
1	Maíz Semidentado	64,896	67,270
21	Soja Poroto Vapor	1,035	8,241
30	Soja Harina (40)	25,991	16,759
51	Conchilla	0,450	0,432
55	Carne Harina <50 Grasa	6,398	6,190
75	Premix	0,200	0,200
76	Sal	0,382	0,310
80	Lisina	0,241	0,230
81	DL-Metionina	0,230	0,199
82	Treonina	0,077	0,068
90	Colina	0,050	0,050
	Totales	100,000	100,000
2	Proteína	19,3485	18,1030
3	Lípidos	4,1830	5,3252
4	Fibra Cruda	2,6127	2,7722
5	Ceniza	4,2911	3,9318
6	Ca	1,0000	0,9600
7	P Total	0,7197	0,6977
8	P Disponible	0,5000	0,4800
10	Na	0,2200	0,1900
11	K	0,7150	0,6726
12	Cl	0,3150	0,2712
15	EMA	2.950,0260	3.038,0611
16	EMV Aves	3.238,0000	3.333,0000
20	Lisina	1,1681	1,0780
21	Metionina	0,5437	0,4975
22	Met+Cis	0,8371	0,7726
23	Triptofano	0,2055	0,1884
24	Treonina	0,7936	0,7332
25	Arginina	1,2888	1,1834
26	Valina	0,9549	0,9084
27	Isoleucina	0,8042	0,7508
28	Leucina	1,6216	1,5290
29	Histidina	0,4651	0,4339
40	Lisina Dig.	1,0800	0,9900
41	Metionina Dig.	0,5163	0,4698
42	Met+CisDig.	0,7776	0,7128
43	TriptofanoDig.	0,1836	0,1683
44	TreoninaDig.	0,7020	0,6435
45	Arginina Dig.	1,2112	1,0995
46	ValinaDig.	0,8572	0,8101
47	Isoleucina Dig.	0,7354	0,6788
48	Leucina Dig.	1,5073	1,4138
49	Histidina Dig.	0,4110	0,3779
64	18:2 Ac. Linoleico	2,0026	2,6665
65	18:3 Ac. Linolénico	0,1153	0,2050

externo y apertura de la cavidad celómica con evaluación de los órganos *in situ*. Se realizó la extracción de muestras de duodeno, yeyuno, íleon, ciego y órganos linfoides (bolsa de Fabricio, timo y bazo), para la evaluación histológica en todos los casos e histomorfométrica en los diferentes tramos de intestino. Se realizó, además, un raspaje intestinal para la determinación de IgA secretoria.

Ninguna de las aves, de los diferentes grupos bajo estudio murió durante el ensayo, mientras que las aves sobrantes fueron entregadas a la granja de la Universidad Nacional de Luján.

Evaluación histológica e histomorfométrica

Las muestras de duodeno se tomaron a nivel de la flexura, las de yeyuno en la unión con el divertículo de Meckel, mientras que las de íleon y ciego en la unión ileocecal. Luego, se fijaron en formol al 10% y se procesaron bajo procedimientos estandarizados, realizando cortes que se colocaron en *cassettes* para ser deshidratados en alcoholes

de graduaciones crecientes y su posterior aclaramiento en xilol. La inclusión en parafina se realizó en estufa a 56°C, durante 1,5 h. Los preparados se obtuvieron mediante cortes del taco de parafina con un micrótopo de rotación Rietchert-Jung. Cada corte de 5 micras se coloreó con hematoxilina-eosina.

La observación de los diferentes tramos intestinales comprendió una evaluación cualitativa y cuantitativa de las características histológicas. La evaluación cualitativa se llevó a cabo mediante observador ciego utilizando planillas, desarrolladas por el autor, donde se consignó la pérdida de integridad de las vellosidades de la mucosa intestinal y la presencia de infiltrado inflamatorio mediante el registro de graduación de lesiones de 1 a 4, siendo 1 sin lesión y 4 lesión severa (Tabla 2)¹⁵.

Por otro lado, la evaluación cuantitativa se realizó con el programa *Image J* (NIH USA). Se determinó la longitud de las vellosidades, la profundidad de las criptas de Lieberkühn (ambas expresadas en micras) y se calculó la relación

Tabla 2. Graduación de las lesiones histológicas de cada tramo intestinal de pollos parrilleros.

Graduación	Pérdida de la integridad	Inflamación
1	Ausencia de lesión	Ausencia de lesión
2	Engrosamiento de las vellosidades con leve degeneración vacuolar de los enterocitos	Edema en la lámina propia con leve infiltrado linfomonocitario
3	Engrosamiento de las vellosidades con moderada degeneración vacuolar de los enterocitos y fusión de vellosidades en forma aislada	Hiperemia en la lámina propia con moderado infiltrado linfomonocitario
4	Engrosamiento de las vellosidades con severa de los enterocitos y fusión en masa de las vellosidades	Hiperemia con extravasación eritrocitaria y severo infiltrado degeneración vacuolar linfomonocitario

Tabla 3. Graduación de las lesiones histológicas en la bolsa de Fabricio.

Graduación	Bolsa de Fabricio
1	Sin particularidades
2	Disminución de hasta el 30% de linfocitos con incremento de los repliegues de la mucosa y formación de quistes intraepiteliales
3	Disminución de entre el 30 y 70% de linfocitos en la corteza con la mucosa replegada y formación de quistes intrafolliculares
4	Disminución de más del 70% de linfocitos en la corteza, con necrosis de los folículos o fibrosis

Tabla 4. Graduación de las lesiones histológicas en el timo.

Graduación	Timo
1	Sin particularidades
2	Disminución de hasta el 30% de linfocitos
3	Disminución de entre el 30 y 70% de linfocitos en la corteza
4	Disminución de más del 70% de linfocitos en la corteza

Tabla 5. Graduación de la depleción linfocítica perivascular en el bazo.

Graduación	Bazo
1	Ausente
2	Leve
3	Moderada
4	Severa

vellosidad–cripta, midiendo 5 vellosidades y 5 criptas.

Los órganos linfoides fueron clasificados empleando una graduación de las lesiones, según las características histológicas (Tablas 3, 4 y 5). El conteo de los centros germinativos tipo I o maduros a 5X en 10 campos fueron empleados como indicadores de inmunidad humoral¹⁶.

Determinación de niveles de IgA secretoria

En otro orden se evaluaron los niveles de IgA secretoria en contenido intestinal en los tiempos indicados anteriormente. Para ello se procedió a realizar raspajes de las mucosas en la zona del divertículo de Meckel (yeyuno-íleon) de los pollos sometidos a los diferentes tratamientos. Las muestras obtenidas se suspendieron en *buffer* frío 1 mM EDTA, 0.4 M NaCl, 0.1 mM PMSF, 0.5% BSA y 0.05% Tween 20. Luego, se sometieron a agitación durante 2 min y posteriormente se incubaron durante 1,5 h a 4°C. Finalmente, las muestras se centrifugaron a 20000 g durante 15 min. El sobrenadante resultante se empleó para la determinación de IgA secretoria mediante la técnica de ELISA según las indicaciones del fabricante (ChickenIgA ELISA Kit, Bethyl Laboratories Inc.). Para normalizar los datos obtenidos se analizó la relación ng IgA total/mg proteínas totales. Estas últimas se determinaron empleando el método de Bradford (100 mg de Coomassie Brilliant Blue G-250 en 50 ml de etanol, 100 ml de ácido fosfórico al 85%, ajustando a 1 l con agua) frente a patrones de concentraciones conocidas de albúmina.

Análisis estadísticos

Los resultados del estudio fueron analizados estadísticamente con el test de ANOVA de dos vías y el test *post hoc* de comparación múltiple de Bonferroni (Graph-PadPrism, GraphPad Software, San Diego, CA versión 5). Los resultados fueron determinados como estadísticamente significativos cuando se obtuvo un valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Los parámetros productivos determinados en las condiciones de crianza del bioterio no presentaron diferencias significativas entre los grupos estudiados tanto al evaluar el peso, el consumo y la conversión alimenticia (Figura 1).

En los análisis histológicos realizados, de los tres grupos en los diferentes tramos intestinales, no se observaron lesiones (resultados no mostrados), sugiriendo que los APC empleados no afectan a los órganos estudiados. Por otro lado, tampoco se observaron lesiones en los órganos linfoides (bazo, timo, bolsa de Fabricio), responsables fundamentales de la respuesta inmune de las aves¹⁷.

La histomorfometría evidenció que la relación vellosidad-cripta fue superior en el íleon y ciego en los grupos que recibieron aditivos (G2 y G3; datos no mostrados), pero solo se observaron resultados estadísticamente significativos en el íleon del G3, respecto al control, al día 35 (Figuras 2 y 3). Estos resultados son concordantes con el incremento de la longitud de las vellosidades en íleon y la disminución de la profundidad de las criptas en

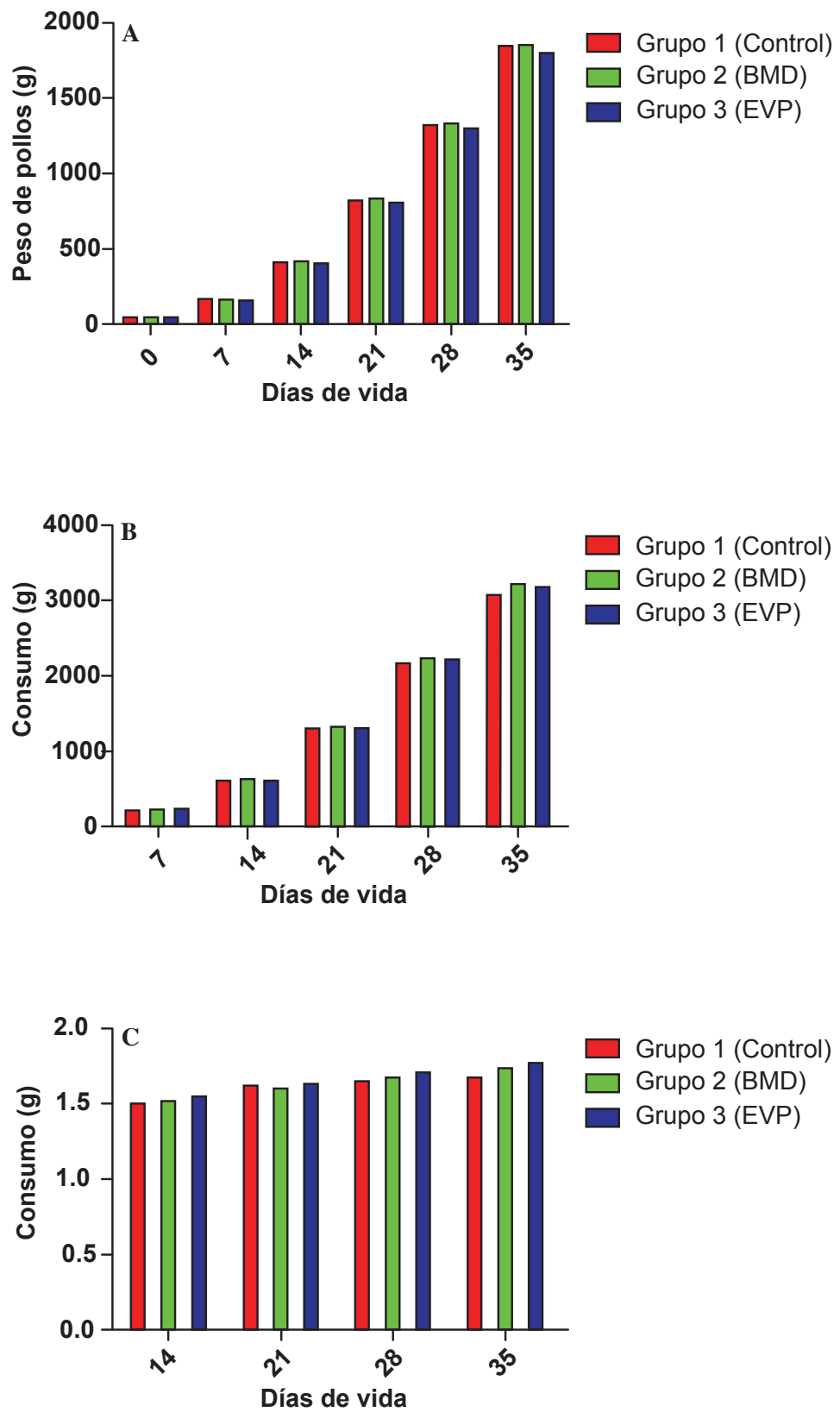


Figura 1. Peso (A), consumo (B) y conversión alimenticia (relación consumo/peso) (C) en 144 pollos durante los primeros 35 días de vida. G1: control; G2: BMD (bacitracina metileno disalicilato); G3: EVP (extracto vegetal polifenólico), para todos los grupos n=48 (datos presentados como media y desvío estándar).

duodeno, ciego e íleon observados al día 35 en las aves tratadas con aditivos no antibióticos (Figura 4).

Al determinar la relación entre IgA total y proteínas totales en contenido intestinal, se observó en el G2 una disminución de los niveles de IgA secretoria para el día 35 de tratamiento en forma significativa respecto a los niveles observados sin aditivos, mientras que en el G3 se

mantenía en los mismos niveles (Figura 5). Las aves del grupo control (G1) presentan incrementos en los valores relativos de IgA. Por otro lado, se observa que las aves del G2 comienzan a presentar menores niveles de IgA/proteínas a partir del día 28 pero esta disminución solo es significativa al día 35.

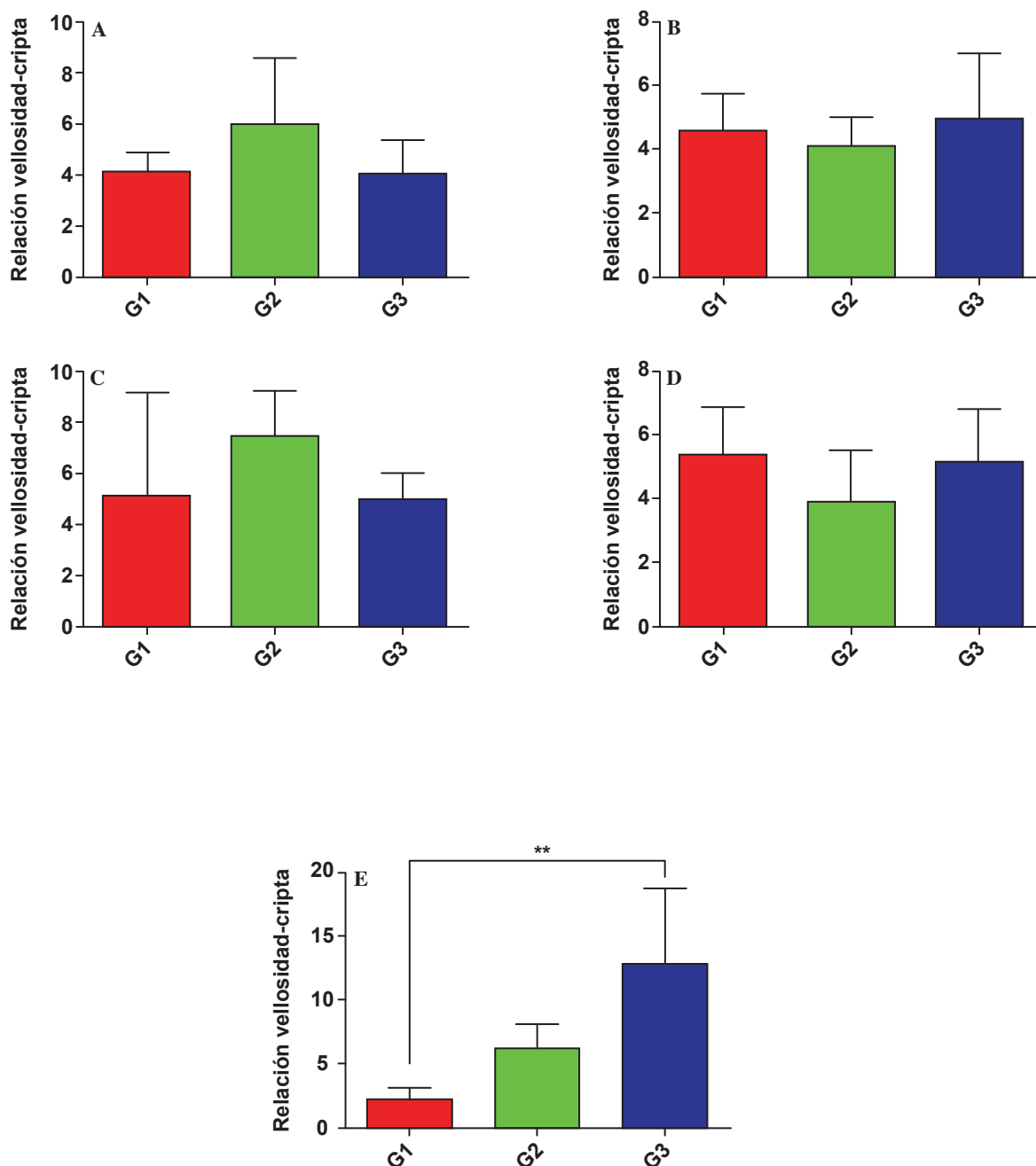


Figura 2. Relación vellosidad-cripta en el íleon de pollos parrilleros según grupos de estudio a los 7 (A), 14 (B), 21 (C), 28 (D) y 35 (E) días de vida. G1: control; G2: BMD (bacitracina metileno disalicilato); G3: EVP (extracto vegetal polifenólico). Para todos los grupos n= 4/días de vida (datos presentados como media y desvío estándar).

* p < 0,05, ** p < 0,01



Figura 3. Imágenes histológicas del íleon a los 35 días en pollos parrilleros: longitud de la vellosidad (V) y profundidad de la cripta (C). A: G1 Control; B: G3 EVP (extracto vegetal polifenólico). (Hematoxilina & Eosina 100x)

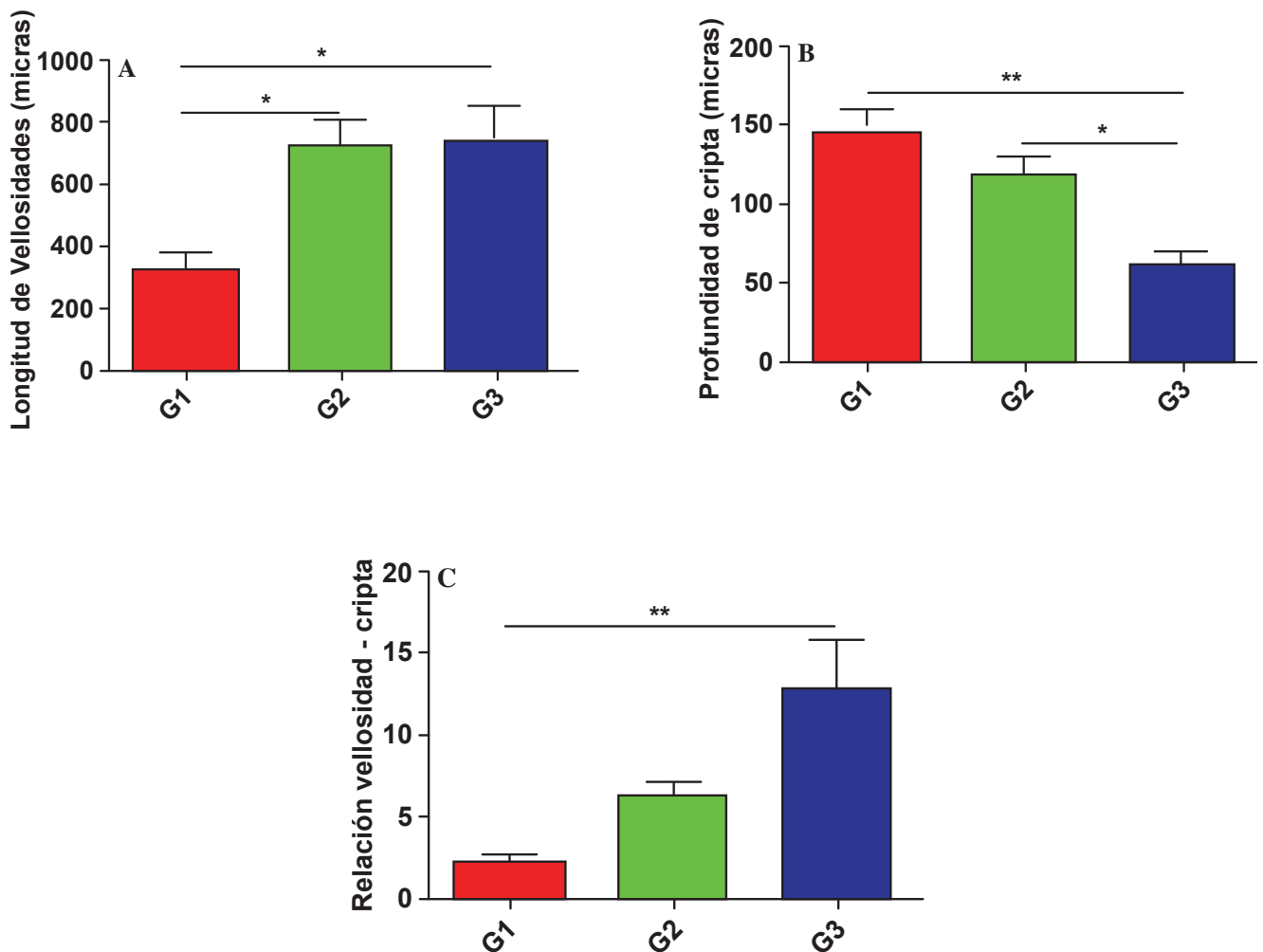


Figura 4. Histomorfometría del íleon de pollos parrilleros: longitud de la vellosidad, profundidad de las criptas y relación vellosidad-cripta según grupos de estudio y días de vida. G1: control; G2: BMD (bacitracina metileno disalicilato); G3: EVP (extracto vegetal polifenólico). Para todos los grupos n=4/días de vida (datos presentados como media y desvío estándar).

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

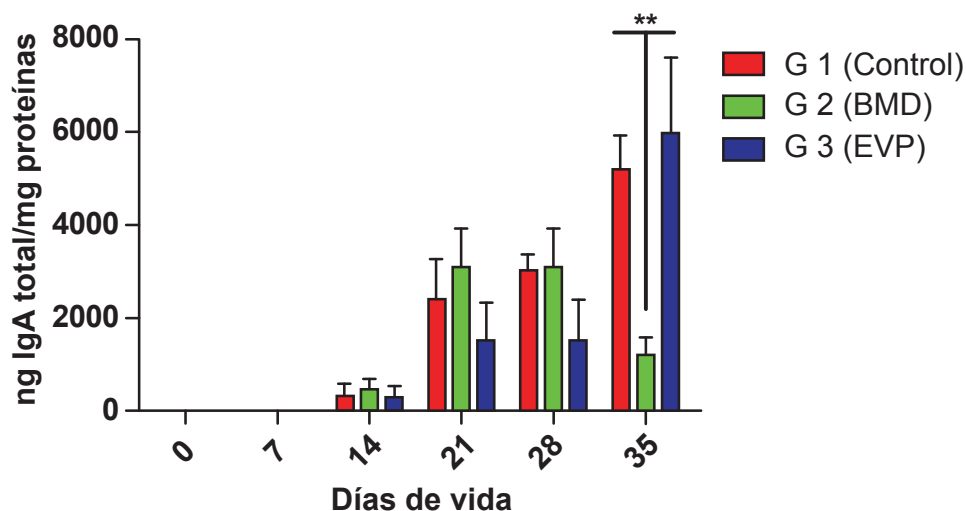


Figura 5. Relación entre IgA total y proteínas totales en pollos parrilleros según grupos de estudio y días de vida. G1: control; G2: BMD (bacitracina metileno disalicilato); G3: EVP (extracto vegetal polifenólico). Para todos los grupos $n = 4$ /días de vida (datos presentados como media y desvío estándar).

** $p < 0,01$.

DISCUSIÓN

Ninguno de los APC empleados afecta la producción aviar por lo que, en principio, se podría postular que el EVP sería un posible sustituto de los antibióticos de síntesis química. Esto se basa en que el empleo en la dieta, de ambos productos, no influiría en los parámetros productivos pero el EVP tiene la ventaja de no inducir la generación de microorganismos resistentes.

La arquitectura histológica no se vio afectada por la administración de los diferentes APC.

Por otro lado el grupo con EVP mejoró la relación vellosidad-cripta en íleon. Esto es coincidente con Choct¹⁸, quien asocia el suministro en la dieta de agentes promotores de crecimiento a la combinación de manano-oligosacáridos, monensina y zinc bacitracina, al incremento de la relación vellosidad-cripta en yeyuno. También Awad¹⁹, encuentra resultados semejantes en aves que recibieron probióticos y desafiadas con tricotecenos (DON), las cuales manifiestan tanto en duodeno como yeyuno, un incremento de la relación vellosidad-cripta, frente a los controles.

Estos resultados demostraron que con el uso de aditivos se produjo un incremento en la longitud de las vellosidades dando lugar de esta manera a una mayor superficie de absorción de los nutrientes. Ello, conjuntamente con la menor profundidad de las criptas observada en las aves que recibieron el EVP, constituiría un buen indicador de la mejora en la salud intestinal, ya que las criptas son las responsables de la producción de los enterocitos como parte del mecanismo de la renovación de las vellosidades. La disminución de la profundidad de las criptas y el aumento del largo de las vellosidades se corresponden con un aumento en la capacidad de absorción de nutrientes⁶. Si bien no se observaron mejoras en los parámetros productivos, estos resultados indicarían una mejora en la salud intestinal de las aves que reciben aditivos naturales y por ende estarían mejor preparadas para soportar un proceso infeccioso.

El APC antibiótico empleado disminuyó la presencia de

IgA secretoria. Las aves del grupo control (G1) presentan incrementos en los valores relativos de IgA, lo que corresponde con el proceso de maduración de la respuesta inmune. Las aves del G2 presentan menores niveles de IgA/proteínas, esto se asocia a la acción antibiótica del BMD, ya que éste afecta a la microbiota normal de las aves²⁰ y como consecuencia podría estar afectando la respuesta inmune de la mucosa intestinal²¹. Los resultados observados para el G3 indicarían que el EVP permite mantener el proceso de producción de IgA al mismo nivel que los controles ya que este no afectaría la flora normal intestinal, manteniendo la salud del pollo y su sistema inmune mejor preparado ante la aparición de un potencial agente patógeno.

Salvo pocas excepciones, los patógenos ingresan al hospedador por rupturas de las barreras que separan el exterior del medio interno del animal. La superficie de las mucosas intestinales, respiratorias y reproductivas representan, por mucho, la mayor superficie de contacto con el medio externo de un animal. El intestino es el sitio de mayor desarrollo, residencia e ingreso de microorganismos patógenos a los tejidos internos con las consecuentes alteraciones fisiológicas y clínicas. Por lo tanto una respuesta inmune efectiva es esencial para combatir una plétora de patógenos en este tejido²². En este sentido el EVP resulta un aditivo muy útil que mantiene niveles altos de IgA secretoria, respecto a los APC antibióticos como el BMD. También conserva la integridad de la mucosa para evitar que se altere la barrera física e incrementa la superficie de absorción en las vellosidades. Estos hallazgos coinciden con los resultados de Huan²³, donde en cerdos que recibieron isoflavonas, un subtipo de los flavonoides, se vio incrementado el nivel de la IgA en mucosa y el aumento del largo de las vellosidades intestinales. Los extractos vegetales polifenólicos empleados fueron catequinas del grupo de los flavonoides por lo que nuestros resultados son similares a lo hallado en otras especies productivas. Asimismo, otro flavonoide utilizado por Du⁹, es el carvacrol, principio activo del orégano, quien en pollos encontró un aumento de anticuerpos séricos y un aumento en la relación

en la relación vellosidad–cripta.

Finalmente se puede concluir que:

- los dos promotores de crecimiento evaluados generaron una respuesta similar en cuanto a los parámetros productivos.
- el BMD induce una menor secreción de anticuerpos en la mucosa intestinal (IgA secretoria).
- EVP y BMD mostraron en la histomorfometría igual relación vellosidad – cripta en duodeno, yeyuno y ciego. Mientras que en el íleon sólo el EVP demostró aumentar

la relación vellosidad–cripta en forma estadísticamente significativa, incrementando de esta manera la superficie de absorción.

Por todo lo descrito el EVP se presenta como una muy buena alternativa en reemplazo de los antibióticos para ser utilizados en producción.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

REFERENCIAS

1. Prosdócimo F, Batallé M, Sosa N, De Franceschi M, Barrios H. Determinación in vitro del efecto antibacteriano de un extracto obtenido de quebracho colorado, *Schinopsis lorentzii*. In Vet 2010; 12(2): 139-143.
2. Cejas E, Pinto S, Prosdócimo F, Batallé M, Barrios H, Tellez G, De Franceschi M. Evaluation of Quebracho Red Wood (*Schinopsis lorentzii*) Polyphenolic Vegetable Extract for the Reduction of Coccidiosis in Broiler Chicks. Int J Poult Sci 2011; 10(5): 344-349.
3. Diarra M, Malouin F. Antibiotics in Canadian poultry productions and anticipated alternatives. Front Microbiol 2014; 5(282): 1-15.
4. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). Resolución 594/15 (2015).
5. Diario Oficial de la Unión Europea, Reglamento (CE) N° 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de Septiembre de 2003 sobre los aditivos en la alimentación animal.
6. Qureshi S, Banday MT, Shakeel I, Adil S, Mir MS, Beigh YA y col. Histomorphological studies of broiler chicken fed diets supplemented with either raw or enzyme treated dandelion leaves and fenugreek seeds. Vet World 2016; 9(3): 269-275.
7. Font Quer P. Plantas medicinales. El Dioscórides Renovado. ISBN: 978-84-8307-242-4. España. 1999. Editorial Península. p 896.
8. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia, da planta ao medicamento. 5° ed. Brasil. Porto Alegre. Editora UFRGS. 2007. p1104.
9. Du E, Wang W, Gan L, Li Z, Guo S, Guo Y. Effects of thymol and carvacrol supplementation on intestinal integrity and immune responses of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. J Anim Sci Biotechnol 2016; 7:19.
10. William P, Losa R. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. World Poultry 2001; 17(4): 14-15.
11. Kamboh AA, Zhu W. Individual and combined effects of genistein and hesperidin on immunity and intestinal morphometry in lipopolysaccharide-challenged broiler chickens. Poult Sci 2014; 93: 2175–2183.
12. Stapleton PD, Shah S, Anderson JC, Hara Y, Hamilton Miller JMT, Taylor PW. Modulation of Beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates. Int J Antimicrob Agents 2004; 23(5): 462-7.
13. De Franceschi M, Pinto S, Iglesias B. Estrategias para evaluar alternativas a los promotores de crecimiento. XXII Congreso Latinoamericano de Avicultura. 2011. Buenos Aires. (consultado octubre 2019). Disponible en <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/promotores-de-crecimiento-aves-t29027.htm>
14. American Veterinary Medical Association. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. (consultado octubre 2019). Disponible en: https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020_Euthanasia_Final_1-15-20.pdf.
15. Gibson-Corley KN, Olivier AK, Meyerholz DK. Principles for Valid Histopathologic Scoring in Research. Vet Pathol 2013; 50(6): 1007-1015.
16. Graczyk S, Kuryszko J, Madej J. Reactivity of Spleen Germinal Centres in Immunized and ACTH-treated Chickens. Acta Vet. Brno 2003; 72: 523-531.
17. Davison F, Kasper B, Schat K. Avian Immunology 1° edición. USA: Elsevier. 2008. P496.
18. Choct M. Managing gut health through nutrition. Br Poult Sci 2009; 50(1): 9-15.
19. Awad WA, Buhm J, Razzazi-Fazeli E, Ghareeb K, Zentek J. Effect of Addition of Probiotic Microorganism to Broiler Diets Contaminated with Deoxynivalenol on Performance and Histological Alterations of Intestinal villi of Broiler Chickens. Poult Sci 2006; 85: 974-979.
20. Robinson K, Sage B, Yingping X, Wentao L, Qing Y, Huiling Z y col. Differential Impact of Subtherapeutic Antibiotics and Ionophores on Intestinal Microbiota of Broilers Microorganisms 2019; 7(9): 282; doi:10.3390/microorganisms7090282.
21. Scott N, Andrusaitė A, Andersen P, Lawson M, Alcon-Giner C, Leclaire C y col. Antibiotics induce sustained dysregulation of intestinal T cell immunity by perturbing macrophage homeostasis. Sci Transl Med. 2018; 10(464): doi:10.1126/scitranslmed.aao475521.
22. Xing Y, Wang S, Fan J, Oso AO, Kim SW, Xiao D y col. Effects of dietary supplementation with lysine-yielding *Bacillus subtilis* on gut morphology, cecal microflora, and intestinal immune response of Linwu ducks. J AnimSci 2015; 93: 3449–3457.
23. Huang L, Ma X, Jiang Z, Hu Y, Zheng C, Yang X y col. Effects of soybean isoflavone on intestinal antioxidant capacity and cytokines in young piglets fed oxidized fish oil. J Zhejiang Univ Sci B (Biomed & Biotechnol) 2016; 17(12): 965–974.



Este artículo está bajo una Licencia Creative Commons. Atribución-No Comercial-Sin Derivadas 4.0 Internacional <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>