

## EFECTO DE LA ADICIÓN DE ACIDO FÓRMICO EN EL CONTROL DE LAS INFECCIONES ENTÉRICAS DEL CONEJO

Álvarez-Monteserín E.<sup>1</sup>, Sierra L.<sup>1</sup>, Rebollar P.G<sup>1</sup> y Cardinalli R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto de Producción Animal. E.T.S.I.Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria s/n 28040 Madrid, España.

<sup>2</sup>Dipartimento Biologia Vegetale, Biotecnologie Agroambientali e Zootecniche, Università di Perugia. 06100 Perugia, Italia

### INTRODUCCIÓN

La enteropatía representa uno de los principales problemas sanitarios en las explotaciones cunícolas. En el momento del destete de un gazapo se debe prestar atención a su capacidad digestiva, pero también a otros factores que pueden influir tanto en el normal desarrollo del sistema digestivo como en la aparición de desórdenes intestinales. Éstos pueden ser el estrés, la sobrecarga alimenticia, las indigestiones, las afecciones renales, la fiebre, la alimentación inadecuada (exceso de carbohidratos, almidón o proteínas, etc.), la mala calidad del agua, etc. Todos ellos pueden provocar cambios de la microflora que promueven el desarrollo enteropático de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp. y *Clostridium*, entre otros.

Debido a la incidencia de procesos digestivos diarreicos en los gazapos, los antibióticos se emplean de manera preventiva o como promotores del crecimiento, pero pueden modificar la flora intestinal, alterando el metabolismo y la fermentación bacteriana (Pinheiro et al., 2004). Uno de los antibióticos más empleados en cunicultura es la bacitracina de zinc. Las resistencias en los animales y, a la larga, en los humanos que consumen estas carnes aconseja la reducción en su empleo. Está comprobado que la adición de ácidos orgánicos o de sus sales a las dietas es una alternativa que reduce la frecuencia de diarreas post-destete y la aparición de bacterias enteropatógenas en el estómago (Hansen et al., 2007). Gracias a esto podríamos reducir el uso de antibióticos.

Bockman (1983), afirma que al nacer, el tejido linfoide intestinal de conejo está localizado en el apéndice vermiforme, placas de Peyer y *Sacculus rotundus*, pero no tiene apenas actividad inmune hasta la 3-4 semanas de vida, en las que los folículos linfoides de esta estructura presentan una morfología bien desarrollada. A estas edades se puede aplicar el

destete, pero se trata de un momento de transición, en el que el grado de desarrollo del sistema digestivo (aún adaptado al consumo parcial de leche), y en particular, del sistema inmune asociado a la mucosa intestinal podría no estar completo, haciendo al gazapo mucho más sensible a la aparición de patologías digestivas. Si unimos a esto la falta de desarrollo de la actividad enzimática proteolítica como la pepsina, tripsina y quimiotripsina, responsables de la degradación de la proteína vegetal, cuyo coeficiente de digestibilidad es mucho menor, provocamos un flujo de proteína al ciego superior al deseado, que provocaría un incremento de flora patógena. Como consecuencia, la falta de respuesta a patógenos y la falta de capacidad digestiva determinaría que tras el destete se produzcan un incremento en la aparición de desordenes digestivos (Campín, 2004). Sin duda uno de los tramos más importantes para un conejo, puesto que marca en gran medida su peculiar régimen alimenticio, es el intestino grueso. Éste comienza teniendo una menor importancia relativa que el intestino delgado, para pasar a ser el tramo más desarrollado del sistema digestivo del conejo. Durante el periodo comprendido entre las 3 y 11 semanas, el ciego y el colon se desarrollan mucho más rápido que el resto del cuerpo, más aún cuando tenemos en cuenta su contenido (Lebas y Laplace, 1972).

El objetivo de este trabajo es valorar el efecto de la adición de bacitracina de zinc o de ácidos orgánicos e inorgánicos sobre los parámetros productivos y el estado sanitario de gazapos a través del estudio del desarrollo del tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron un total de 120 conejos de 28 días de edad alojados en las instalaciones de la Universidad de Perugia que fueron divididos al azar en tres grupos: el primero (grupo control), alimentado con un pienso comercial de engorde, un segundo grupo con el mismo pienso al que se le incorporó el antibiótico Bacitracina de zinc (150 ppm) (BZ). Al tercer grupo se le adicionó ácido fórmico (0,4%) (AF). Todos fueron infectados experimentalmente con un inóculo de 2 ml que contenía *Cl. Perfringens* tipo A ( $10^9$  colonias) y *E. coli* tipo O-103 ( $10^9$  colonias).

Los animales fueron sacrificados a la edad de 66 días, determinándose: la mortalidad en el periodo experimental, el peso de los animales al inicio y final del experimento, la ganancia media diaria y el índice de conversión, el pH del ciego y la concentración de  $\text{NH}_3$ .

Un tramo de 5 cm de longitud y una placa de Peyer del yeyuno de cinco animales por grupo se conservaron en una solución de paraformaldehído al 10% hasta su análisis en la Universidad Politécnica de Madrid. Estas muestras se deshidrataron, se incluyeron en parafina, se fijaron y al menos 3 cortes de 6  $\mu\text{m}$  de grosor se tiñeron con hematoxilina-eosina. Sobre estos cortes ya teñidos y empleando un microscopio (Olympus BX40) acoplado a una cámara digital asociada a un programa informático de análisis de imágenes (ImageJ v 1.26 Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA) se determinaron la longitud de las vellosidades intestinales y las dimensiones de los folículos linfoides de las placas de Peyer (Castellini et al., 2006).

El análisis de los datos se realizó con el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System, 1999-2001). Todas las variables fueron sometidas a un análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM (General Linear Model). Los resultados se muestran en tablas como medias corregidas por mínimos cuadrados.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

No se observaron diferencias en el peso vivo de los gazapos al destete (28 días de edad) ni al sacrificio (66 días de edad). La ganancia media diaria y el índice de conversión también fueron similares en los tres grupos. Sin embargo, tras el sacrificio se observó que el tamaño del ciego fue mayor en el grupo control y aunque no hubo diferencias en el pH cecal, la cantidad de amoniaco en el contenido del mismo fue también más elevado en este grupo. Según Carabaño y Fraga (1989), la principal fuente de nitrógeno para las bacterias cecales es el amoniaco. Una parte del amoniaco (25% aproximadamente) que se produce en el ciego procede de la degradación de la urea que entra en el mismo por vía sanguínea. El resto procede de la utilización de residuos nitrogenados de la dieta y de compuestos nitrogenados endógenos. El amoniaco, además, puede ser empleado en la síntesis de proteína bacteriana o de urea en el hígado.

Tabla 1. Efecto de la adición de Bacitracina de Zinc (BZ; 150 ppm) o ácido fórmico (AF; 0,4%) a la dieta de gazapos en cebo infectados con un inóculo de *Cl. Perfringens* y *E. coli*, sobre algunos parámetros productivos.

	<b>CONTROL</b>	<b>AF</b>	<b>BZ</b>	<b>DSE</b>
Peso vivo (28d) g	1150	1063	1118	152
Peso vivo (66d) g	2135	2118	2113	183
GMD (g/d)	25,9	27,1	26,1	3,4
IC	3,00	3,10	3,05	0,55
Mortalidad %	29 B	21 AB	13 A	5*
Ciego vacío % PV	11,9b	8,9a	8,6a	0,9
pH	5,9	5,7	5,9	0,3
NH <sub>3</sub> µmol/g	19,4b	13,7a	18,7b	1,7

A,B:  $P < 0,001$

Los porcentajes de mortalidad de los conejos del grupo control fueron superiores a los de los grupos BZ y AF. Aunque el aparato gastrointestinal y ciego de los gazapos sacrificados presentó un peso similar a los descritos por otros autores en gazapos de la misma edad (Espinosa, 2002), los resultados obtenidos en cuanto al área de los folículos linfoides en el grupo control fue notablemente mayor a los demás grupos. Probablemente en este grupo la necesidad de aumentar la defensa frente al inóculo de bacterias suministrado, activó la respuesta inmune localizada a nivel del tejido linfoide que compone las placas de Peyer. Además, se pudo comprobar que las vellosidades intestinales en el grupo AF fueron de mayor longitud pudiendo indicar un menor grado de lesión en la superficie de los mismos.

Tabla 2. Efecto de la adición de Bacitracina de Zinc (BZ; 150 ppm) o ácido fórmico (AF; 0,4%) a la dieta de gazapos en cebo infectados con un inóculo de *Cl. Perfringens* y *E. coli*, sobre el tejido linfoide de las placas de Peyer.

	<b>CONTROL</b>	<b>AF</b>	<b>BZ</b>	<b>P</b>
Área de la Placa de Peyer mm <sup>2</sup>	8,77 ± 0,92	8,21 ± 0,84	8,82 ± 1,02	n.s.
Folículos/PP	6,20 ± 0,83	6,33 ± 0,76	5,80 ± 0,83	n.s.
Área folículos mm <sup>2</sup>	0,51 ± 0,02 B	0,47 ± 0,02B	0,39 ± 0,02A	0,001
Longitud vellosidades	269,43 ± 9,91a	360,08 ± 12,7b	304,51 ± 14,39b	0,05

A,B:  $P < 0,001$ ; a,b:  $P < 0,05$

Figura 1. Placas de Peyer de los diferentes grupos de animales. Detalle de los folículos linfoides.



Como conclusión es posible afirmar que la introducción de ácido fórmico en el pienso podría favorecer la reducción en la incidencia de la enteropatía en el conejo, pudiendo sustituir a un antibiótico de elección en cunicultura como es la bacitracina de zinc, ya que la valoración histológica de las placas de Peyer y la longitud de las vellosidades intestinales nos han confirmado su eficacia.

## AGRADECIMIENTOS

Los estudios histológicos de este trabajo han sido financiados por el proyecto CICYT (AGL-2005-0196).

## BIBLIOGRAFÍA

- Bockman D.E. 1983. Functional histology of appendix. Arch Histology Jp, 46: 271-92.
- Campín J. 2004. Efecto del tipo de proteína vegetal en piensos de arranque sobre el desarrollo del sistema inmune, la actividad enzimática y los parámetros digestivos en gazapos destetados precozmente. Proyecto Trabajo Final de Carrera. E.T.S.I. Agrónomos de Madrid, Universidad Politécnica de Madrid, España.
- Castellini C., Cardinali R., Rebollar P.G., Dal Bosco A., Jimeno V., Cossu M.E. 2007. Feeding fresh chicory (*Chicoria intybus*) to young rabbits: Performance, development of gastrointestinal tract and immune functions of Appendix and Peyer patch. Animal Feed Science and Technology, 134, 56-65.
- Espinosa, A. (2002). Estudio del destete transitorio de la camada sobre el crecimiento de los gazapos y la capacidad reproductiva de la hembra. Trabajo fin de carrera. E.T.S.I. Agrónomos de Madrid, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.
- Hansen C.F., Riis A.L., Bresson S., Højbjerg o., Jensen B.B. 2007. Feeding organic acids enhances the barrier function against pathogenic bacteria of the piglet stomach. Livestock Science, doi: 10.1016/j.livsci.2007.01.059.
- Lebas, F. et Laplace, J.P. 1972. Mensurations viscérales chez le lapin. I. Croissance du foie, des reins et des divers segments intestinaux entre 3 et 11 semaines d'âge. Annales de Zootechnie 21, 337-347.
- Pinheiro V., Mourão J.L. Alves A., Rodrigues M., Saavedra M.J. 2004. Effect of zinc bacitracin on the performance, digestibility and caecal development of growing rabbits. En Proc. VIII World Rabbit Congress, 942-947.