

Tesina de Grado Giannini, Ana Paula - UNNOBA

**EVALUACION DE UN PROBIOTICO (*Enterococcus faecium*) SOBRE EL
DESEMPEÑO DE POLLOS PARRILLEROS**

Tesina

de la alumna

ANA PAULA GIANNINI

Este trabajo ha sido presentado como requisito

para la obtención del título de

INGENIERO AGRONOMO

Carrera: Ingeniería Agronómica

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.

Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

Pergamino, 16 de agosto de 2012

Tesina de Grado Giannini, Ana Paula - UNNOBA

**EVALUACION DE UN PROBIOTICO (*Enterococcus faecium*) SOBRE EL
DESEMPEÑO DE POLLOS PARRILLEROS**

Tesina

de la alumna

ANA PAULA GIANNINI

Jurado Evaluador de Tesis

Méd Vét. (M. Phil.) Angel Patitucci – Ing. Prod. Agrop. Marcelo Schang –

Ing. Zoot. Jonatan Camarasa

Director: **MV, DR. BERNARDO F. IGLESIAS**

Carrera: Ingeniería Agronómica

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.

Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

Pergamino, 16 de Agosto de 2012

Agradecimientos

- A la Comunidad Educativa de la Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, por compartir sus conocimientos y formarme profesionalmente para poder abordar un futuro laboral conforme a mis intereses.
- A la Sección Avicultura del INTA – EEA Pergamino, por dejarme ser parte de una de las experiencias para realizar la Tesina de grado y hacerme sentir parte de la misma habiéndome recibido con la calidez y cordialidad que los caracteriza.
- A mi director de Tesina, Bernardo Iglesias, por orientarme y ayudarme en todo lo referido al trabajo final para poder entregarlo en tiempo y forma, brindando sus competencias con toda disposición y compromiso.
- A mis padres, Analía y Luis, por acompañarme en todo momento, por apoyarme en las decisiones difíciles que me va imponiendo la vida y por brindarme siempre su cariño.
- A mi hermano Nacho, por enseñarme que lo que uno se propone en la vida puede lograrlo y que son tus decisiones las que van marcando el camino de uno, independiente de la de los demás.
- A Gonzalo, por acompañarme en todo momento, alentándome permanentemente, confiando en mi capacidad para lograr las cosas y brindándome todo tu cariño.
- Y a todas las personas que de alguna forma me apoyaron para el desarrollo de este proyecto.

"More and more knowledge and experience is being gained on how probiotics should be used to give reliable results. Through a more exact knowledge of the mode of action of each individual probiotic, it will be possible to make further improvements".

By Professor J. F. Guillot

"Más y más conocimientos y experiencia está siendo adquirida en cómo los probióticos deben ser utilizados para dar resultados fiables. A través de un conocimiento más exacto del modo de acción de cada probiótico, será posible realizar mejoras adicionales".

Por el Profesor J. F. Guillot

Resumen

El uso de antibióticos como promotores de crecimiento (APC) acompañó el crecimiento de la industria avícola en sus comienzos. La aparición de patógenos resistentes a antibióticos supuestamente debido al uso de APC generó la prohibición de su uso por parte de algunos países, tendencia que se acentúa cada vez más. En consecuencia surgen los probióticos como una alternativa a los APC, estos se definen como microorganismos vivos que confieren un beneficio sobre la salud del huésped. Estos microorganismos capaces de ejercer un efecto promotor del crecimiento están presentes en productos alimentarios fermentables y en otros suplementos con microorganismos vivos logrando beneficiar a los animales huéspedes mediante la mejora del equilibrio microbiano. En el intestino del ave, tanto los microorganismos beneficiosos como aquellos potencialmente patógenos deben competir por los mismos nutrientes para crecer y reproducirse. Por lo tanto, cuanto mayor sea la población de las bacterias beneficiosas en el intestino, mayor será el beneficio para el organismo huésped. El *Enterococcus faecium* es uno de los microorganismos utilizados como aditivo probiótico para animales de producción. Es un componente habitual de la flora intestinal capaz de fijarse en la pared intestinal. Gracias a su afinidad por el medio, tiene alta velocidad de multiplicación colonizando rápidamente el tracto intestinal. El objetivo de este trabajo fue evaluar la cepa CRL1385 de *Enterococcus faecium* como alternativa al uso de APC en dietas para pollos parrilleros. Como resultado se encontró que, en condiciones de desafío, los pollos que recibieron el probiótico presentaron un menor consumo (-1,5%) y una mejor conversión alimenticia (-2,3%). En cambio, cuando las aves crecieron en un medio ambiente óptimo

Tesina de Grado Giannini, Ana Paula - UNNOBA

(sin desafío), se observó un mayor consumo (+2,2%) y un mejor peso vivo (+2,0%).

Abstract

The use of antibiotics as grow promoters (AGP) accompanied the growth of the poultry industry from its beginning, the emergence of pathogens resistant to antibiotics related to the use of AGP generated the banning in the use of AGP. As a consequence, probiotics arise as an alternative to AGP; these are defined as live microorganisms that confer a benefit on the health of the host. These microorganisms able to act as a growth promoter are present in fermentable food and in other supplements with microorganisms achieving benefit the host animals by improving the microbial balance. In the gut of the broilers, both beneficial microorganisms as those potentially pathogens must compete for the same nutrients to grow and reproduce. Therefore, the larger the population of beneficial bacteria in the intestine, the greater the competition with pathogenic microorganisms. *Enterococcus faecium* is one of the probiotic microorganisms used as an additive for livestock. It is a common component of the intestinal flora, layered look at the intestinal wall. Due to its affinity for the medium, it has high speed of propagation colonizing the intestinal tract fast. The aim of this study was to evaluate the strain CRL1385 of *Enterococcus faecium* as an alternative to AGP in broiler diets. It was found that, under challenge conditions, the broilers with the probiotic had less feed intake (-1.5%) and better feed conversion ratio (-2.3%). On the other hand, when broilers grew in a good environment (without challenge), the probiotic produce higher feed intake (+2.2%) and better live weight (+2.0%).

Tabla de contenidos

Agradecimientos	3
Resumen.....	5
Abstract.....	7
Tabla de contenidos.....	8
Índice de Tabla.....	10
Índice de Gráficos	11
Índice de Figuras.....	12
Abreviaturas	13
Introducción.....	14
Producción de carne aviar a nivel mundial y en la Argentina.....	14
Uso de antibióticos como promotores de crecimiento.....	18
Probióticos	20
<i>Enterococcus faecium</i>	23
Objetivos	25
General	25
Específicos	25
Materiales y Métodos	26
Instalaciones y animales.....	26
Probiótico.....	27
Tratamientos.....	27

Tesina de Grado Giannini, Ana Paula - UNNOBA

Alimento.....	28
Desafío	29
Mediciones.....	30
Fecha de realización de los ensayos	30
Diseño experimental y análisis estadísticos.....	31
Resultados	32
Prueba sin desafío	32
Pruebas con desafío	34
Discusión	40
Prueba sin desafío	40
Pruebas con desafío	41
Conclusiones.....	44
Bibliografía citada.....	45

Índice de Tabla

Tabla 1- Alternativas a los APC	20
Tabla 2- Tratamientos	27
Tabla 3- Composición y aporte de nutrientes de las dietas experimentales	29
Tabla 4- Consumo sin desafío	32
Tabla 5- Peso sin desafío	32
Tabla 6- Conversión sin desafío.....	33
Tabla 7 - Peso/Conversión sin desafío	33
Tabla 8- Consumo con desafío	35
Tabla 9- Peso con desafío	36
Tabla 10- Conversión con desafío	37
Tabla 11- Peso/Conversión con desafío	39

Índice de Gráficos

Gráfico 1- Plan de Crecimiento a nivel Nacional 2010-2017	15
Gráfico 2- Participación en el volumen de exportaciones por destino del año 2011	16
Gráfico 3- Participación en divisas de exportaciones por destino del año 2011	17
Gráfico 4- Consumo aparente en la Argentina	18
Gráfico 5- Parámetros zootécnicos a los 49 días	33
Gráfico 6- Conversión a diferentes edades con desafío	38

Índice de Figuras

Figura 1- Modelo de cepa de <i>Enterococcus faecium</i>	24
Figura 2- Galpón Experimental	27

Abreviaturas

AGP: Antibiotic growth promoter.

APC: Antibiótico promotor de crecimiento.

CERELA: Centro de referencia de lactobacilos.

UFC/g: Unidades formadoras de colonias por gramo.

Tn: Tonelada.

Introducción

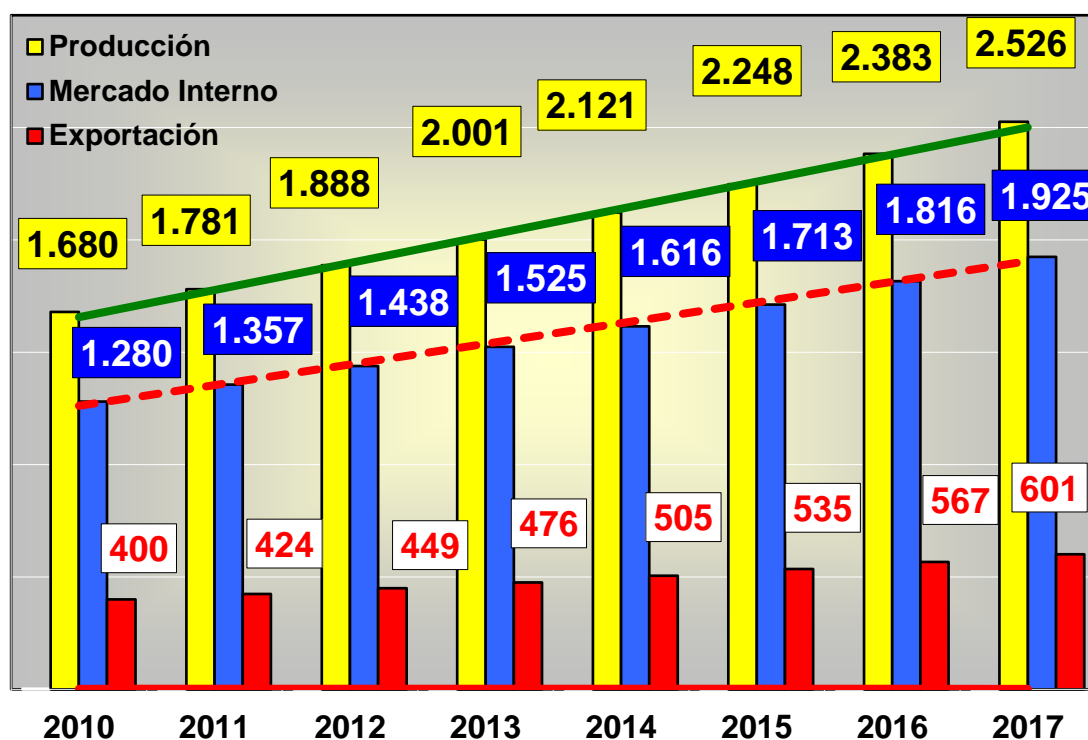
Producción de carne aviar a nivel mundial y en la Argentina

En el año 2011 la producción mundial de carne aviar alcanzó más de 81 millones de tn, representando un incremento de 8,9% en relación con el año 2010. Se estima que para 2012 la misma será de más de 82 millones de tn. (Mair, Beczkowski, & Lamelas, 2011)

A nivel mundial la Argentina mantiene un espacio en el mercado internacional ocupando el 8º lugar como productor y el 5º como exportador. (Mair, Beczkowski, & Lamelas, 2011)

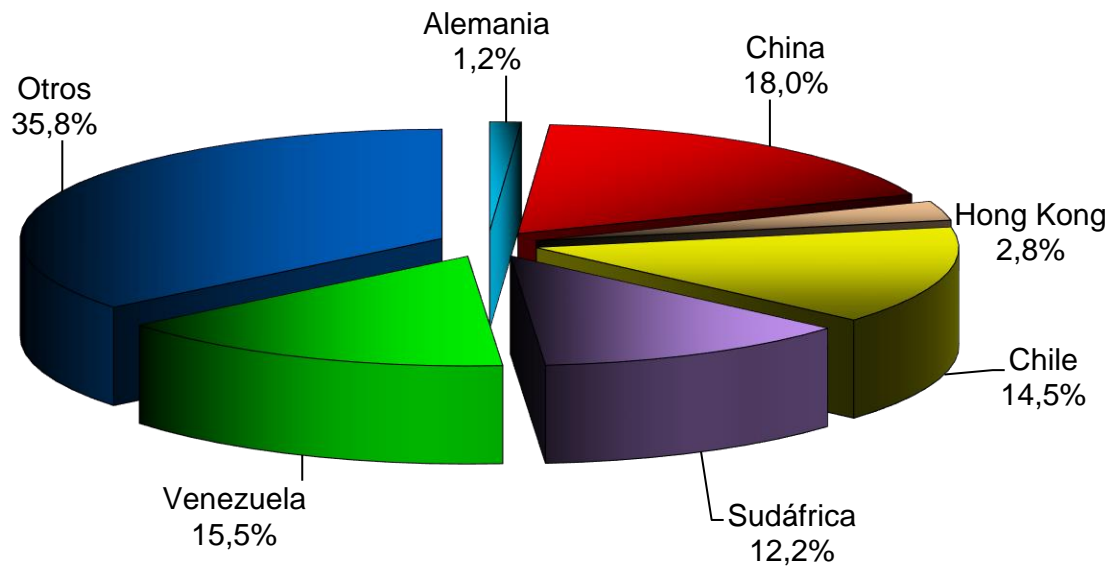
En el Gráfico 1 (Domenech, 2010) se puede observar que la producción local proyecta un aumento lineal a lo largo de los años, impulsada por aumento en el consumo interno y la exportación.

Gráfico 1- Plan de Crecimiento a nivel Nacional 2010-2017



En el Gráfico 2; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se muestran los destinos hacia donde se realizan las exportaciones. (Mair, Beczkowski, & Lamelas, 2011)

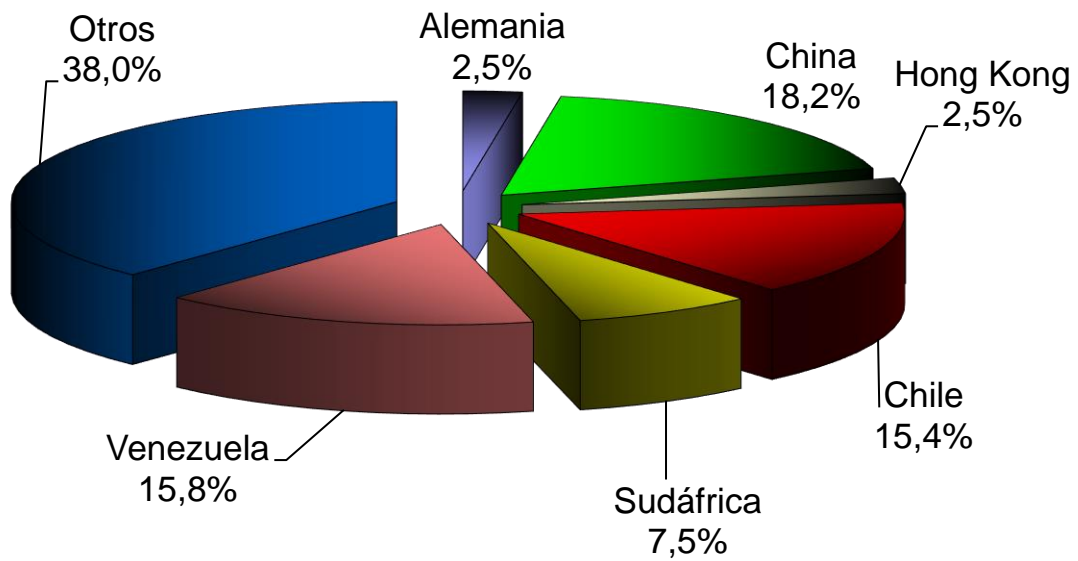
Gráfico 2- Participación en el volumen de exportaciones por destino del año 2011



El Gráfico 3 muestra el destino de las exportaciones expresado en dólares.

(Mair, Beczkowski, & Lamelas, 2011)

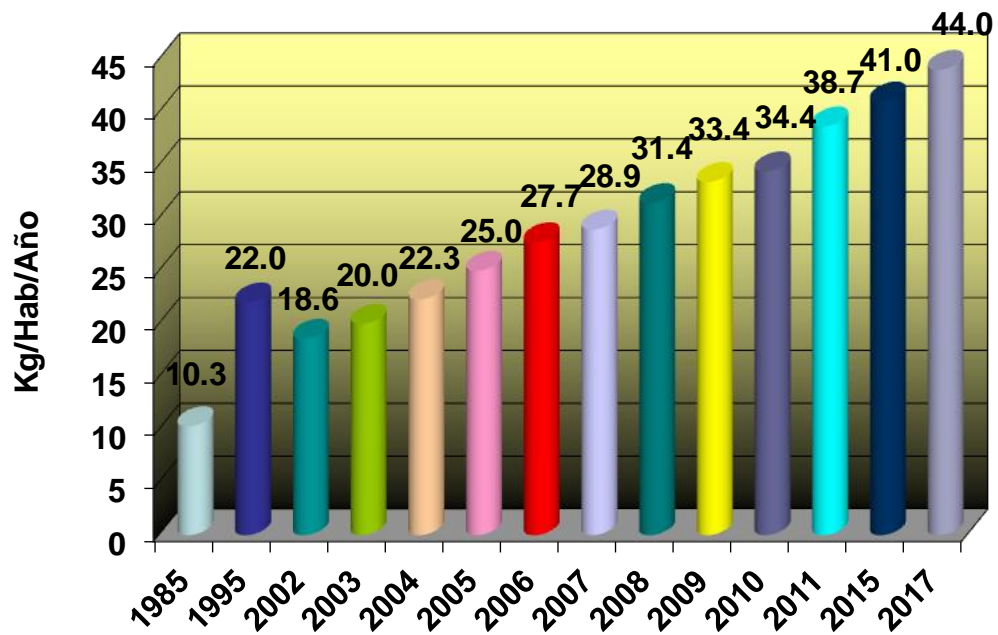
Gráfico 3- Participación en divisas de exportaciones por destino del año 2011



Durante el año 2011 la producción de pollos en la Argentina creció un 11% en relación al año precedente. La demanda interna se mantiene firme al marcar un consumo récord de 38,7 kg/hab/año de pollo.

El Gráfico 4 muestra la evolución en el consumo per cápita de carne de pollo para la Argentina. (MinAgri) (2011)

Gráfico 4- Consumo aparente en la Argentina



Uso de antibióticos como promotores de crecimiento

La propiedad de los antibióticos de mejorar las tasas de crecimiento animal se conoce desde finales de la década de 1940/50, cuando se observó que las aves alimentadas con productos de la fermentación de la bacteria *Streptomyces aureofaciens* mejoraban su desarrollo. Posteriormente se confirmó esa propiedad en múltiples antibióticos y para diversas especies animales. En 1949 se aprueban diferentes grupos de antibióticos como promotores de crecimiento en varios países europeos y en los Estados Unidos. (Karaoglu & Durdag, 2005)

Ante la presunción que los APC usados en la alimentación de animales podrían generar resistencia bacteriana y consecuentemente perjuicios para la salud humana, el comité científico del consejo europeo ha dado lugar a una prohibición en la alimentación con antibióticos (Karaoglu & Durdag, 2005), que se basa en “el principio de precaución”. De esta manera se fueron prohibiendo

paulatinamente diferentes antibióticos como promotores de crecimiento. Los cuatro antibióticos que restaban: avilamicina, flavofosfolipol, monensina sódica y salinomicina fueron prohibidos en el año 2006, siendo los dos últimos permitidos como coccidiostatos en pollos. (Cepero Briz, 2005)

Desde la prohibición de los APC, se observó una mayor predisposición de los pollos a la enteritis necrótica, enfermedad multifactorial causada por *Clostridium perfringens*, cuando se utilizaron vacunas atenuadas como sistema de prevención de la coccidiosis. Ello se debería a la eliminación de la protección que ofrecerían los coccidiostatos. (Cepero Briz, 2005)

Como consecuencia de este tipo de patologías se observó un incremento medio de la mortalidad, menor peso, aumento del índice de conversión y menor homogeneidad de parvadas (Cepero Briz, 2005; Azcona, 2009). Por todo esto surge la necesidad de contar con alternativas a los APC (Tabla 1).

Tabla 1- Alternativas a los APC

Tipo de aditivo	Posible mecanismo de acción
Aceites esenciales y extractos de plantas	Múltiples, depende de la composición
Ácidos	Inhibición del crecimiento bacteriano
Prebióticos	Estímulo del crecimiento de bacterias deseables en el tracto intestinal
Probióticos	Introducción de bacterias deseables en el tracto intestinal
Inmunoestimulantes	Reducción de las infecciones subclínicas
Enzimas	Eliminación de los efectos antinutricionales de los Polisacáridos No Amiláceos

(Santomá, Pérez de Ayala, & Gutierrez del Alamo, 2006).

La República Argentina, como país exportador, debe adecuarse a las restricciones del uso de APC. Al haber diversidad de alternativas, más las que vayan surgiendo, se necesita de una herramienta que permita evaluar la eficacia de estos productos. (Azcona, 2009)

Así como en el caso de los APC, algunos de estos aditivos no antibióticos sólo se muestran eficaces cuando los animales se encuentran ante algún tipo de desafío. (Azcona, 2009)

Probióticos

La primera vez que se utilizó la palabra probiótico fue en 1965 por Lilley y Stillwell para describir sustancias secretadas por microorganismos que estimulaban el crecimiento de otros, en contraposición al término antibiótico. (Fuller, 1989)

Los probióticos se definen como microorganismos vivos tales como bacterias o levaduras que, cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio en la salud del huésped. Estos microorganismos capaces de ejercer un efecto promotor del crecimiento están presentes en

productos alimentarios fermentables y en otros suplementos con microorganismos vivos logrando beneficiar a los animales huéspedes mediante la mejora del equilibrio microbiano. Tratamientos con probióticos pueden reducir o eliminar patógenos potenciales y toxinas, liberar nutrientes, antioxidantes, factores de crecimiento y factores de coagulación, estimular la motilidad del intestino y modular y adaptar el mecanismo de defensa del sistema inmune por medio de la normalización de alteraciones en la flora intestinal. (Capcarova & Col., 2008)

Los probióticos, también son definidos como microorganismos viables que exponen un efecto beneficioso en la salud del huésped cuando son ingeridos. (Salminen & Col., 1998)

Para que un organismo sea considerado probiótico debe cumplir los siguientes requisitos:

- ❖ Caracterización *in vitro*: a) estabilidad fenotípica y genotípica y b) patrones de utilización de carbohidratos y proteínas.
- ❖ Resistencia a la acidez gástrica.
- ❖ Resistencia a la bilis.
- ❖ Adhesión al epitelio intestinal.
- ❖ Resistencia a lisozima (opcional).
- ❖ Capacidad de utilizar prebióticos (opcional).
- ❖ Ensayos *in vivo* e *in vitro* que demuestren el (los) efecto(s) probiótico(s) adjudicado(s).
- ❖ Carácter GRAS (“Generally Regarded As Safe”: reconocido como seguro para la salud).

- ❖ No presentar resistencia a antibióticos, ni determinantes de patogenicidad.

En el intestino del ave, tanto los microorganismos beneficiosos como aquellos potencialmente patógenos pueden competir por los mismos nutrientes para crecer y reproducirse. Por lo tanto, cuanto mayor sea la población de las bacterias beneficiosas en el intestino, mayor será la competencia contra los microorganismos patógenos.

En la actualidad, los probióticos mejor estudiados son las bacterias lácticas, en particular, *Lactobacillus sp.* y *Bifidobacterium sp.* Hay muchos mecanismos por los cuales los probióticos mejoran la salud intestinal, incluyendo la estimulación de la inmunidad, la competencia por los nutrientes limitados, la inhibición de la adherencia epitelial y mucosa, inhibición de la invasión del epitelio y la producción de sustancias antimicrobianas, entre otras (Cancho Grande & Col., 2000). Sin embargo, su efecto regulador de la flora intestinal es, sin duda, uno de los más importantes. (Fernández, Mesia, & Crespo, 2002)

Los probióticos, pueden ser usados exitosamente como herramienta nutricional en la alimentación de pollos para promover el crecimiento, modular la microflora del intestino e inhibir patógenos, inmunomodulación y la promoción de calidad de la carne de pollos. (Kabir, 2009)

Los probióticos ayudan a las aves a resistir notablemente infecciones en el tracto intestinal (Ahmad, 2006), pero su aplicación en los alimentos requiere de una cuidadosa evaluación. (Capcarova & Col., 2008)

Enterococcus faecium

Es una bacteria Gram positiva (Gram+), anaeróbica facultativa y productora de ácido láctico. Se conoce que las bacterias Gram+ son productoras de bacteriocinas, proteínas que inhiben el crecimiento de otras bacterias estrechamente relacionadas y de microorganismos patógenos. (Lauková, Mareková, & Javorsky, 1992)

El *Enterococcus faecium* es uno de los microorganismos utilizados como aditivo probiótico para animales de producción. Como componente habitual de la flora intestinal (mayor afinidad por el medio), goza de dos capacidades fundamentales para su efecto probiótico:

- Capacidad de fijarse en la pared intestinal.
- Alta velocidad de multiplicación, gracias a su afinidad por el medio.

Estas dos cualidades, le permiten una rápida colonización del tracto intestinal y la formación, junto a la flora láctica endógena, de una barrera biológica que sirve de defensa frente a enterobacterias patógenas. Se podría decir que su mecanismo de acción es la creación de un medio hostil para los microorganismos patógenos.

Una vez que *Enterococcus faecium* llega al intestino se producen los siguientes efectos como resultado de su actividad metabólica:

- ❖ Incremento en la producción de enzimas.
- ❖ Estimulación de la inmunidad local.
- ❖ Inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos.
- ❖ Estimulación de la producción enzimática endógena en animales jóvenes.

La Figura 1 muestra un modelo de una cepa perteneciente a la bacteria en estudio, *Enterococcus faecium*.

Figura 1- Modelo de cepa de *Enterococcus faecium*



Enterococcus faecium estimula otras bacterias lácticas en el intestino delgado, especialmente *Lactobacillus*. (Capcarova & Col., 2008)

Objetivos

General

Evaluación de un probiótico a base de *Enterococcus faecium* como alternativa al uso de APC en dietas para pollos parrilleros.

Específicos

- Evaluar el probiótico bajo condiciones de desafío sobre el desempeño de las aves.
- Evaluar el probiótico sin condiciones de desafío sobre el desempeño de las aves.

Materiales y Métodos

Se llevaron a cabo cuatro experiencias en las instalaciones de la sección avicultura del INTA – EEA Pergamino. Una de ellas se realizó sin desafío y las tres restantes con desafío.

Instalaciones y animales

Las aves se alojaron en galpones experimentales divididos en lotes de 1.5 m² con piso de viruta de madera, comederos tolva, bebederos nipple y sistema de calefacción automático.

En la experiencia sin desafío se emplearon 210 pollitos y en aquellas con desafío se emplearon 252 pollitos Cobb-500 machos de un día de vida, provenientes de un mismo lote de reproductoras ubicado en la ciudad de Colón y perteneciente a la firma Granja Tres Arroyos. En cada experiencia las aves se distribuyeron en 2 tratamientos (con y sin probiótico, BioPro[®]) con 7 repeticiones de 15 aves cada una para la prueba sin desafío y 18 aves para las pruebas con desafío y de esta forma se contó con una densidad de 10 y 12 aves/m², respectivamente.

En la **Figura 2** se puede observar una imagen del galpón experimental.

Figura 2- Galpón Experimental



Probiótico

El probiótico evaluado fue la cepa CRL1385 del *Enterococcus faecium* aislada por el grupo de investigación del CERELA, conocida como BioPro® que posee una concentración mínima de *Enterococcus faecium* de 1×10^9 UFC/g de producto. El mismo se empleó a una dosis de 1 kg/tn en el alimento iniciador (1 a 14 días) y luego a 0,5 kg/tn hasta el final de la experiencia.

Tratamientos

Los tratamientos que se evaluaron se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2- Tratamientos

Tratamientos	Descripción
1.- BioPro®	Dieta basal + BioPro® CRL 1385 (1,0 kg/tn hasta 14 d, luego 0,5 kg/tn)
2.- Control	Dieta basal sin aditivos

Alimento

Las aves recibieron las dietas experimentales *ad-libitum* divididas en cuatro fases, Iniciador de 1 a 14 días, Crecimiento de 15 a 28 días, Terminador de 29 a 42 días y Última Semana de 43 a 49 días de vida. Una de las pruebas con desafío culminó a los 42 días por disponibilidad de facilidades experimentales. En consecuencia las comparaciones de los resultados se realizaron a dicha edad.

Las dietas fueron formuladas con el software N-utrition 2.0 (programación lineal a mínimo costo) (N-utrition, 2003) según las recomendaciones de Cobb (Cobb, 2008) y de proteína ideal (Rostagno & Col., 2005). Los ingredientes principales fueron maíz, poroto de soja desactivado, harina de soja, harina de carne y conchilla (Tabla 3). La elaboración de las mismas se llevó a cabo en la planta de fabricación de alimentos balanceados de la Sección Avicultura del INTA – EEA Pergamino y se suministró bajo la forma de harina.

Tabla 3- Composición y aporte de nutrientes de las dietas experimentales

Edad (Días)	0 – 14	14 – 28	29 – 42	43 – 49
Maíz Semidentado	57,334	62,491	64,209	67,668
Soja Poroto Vapor	13,116	17,841	25,384	22,480
Soja Harina	22,753	13,085	4,080	4,207
Conchilla	0,424	0,516	0,498	0,608
Carne Harina	5,450	5,120	4,904	4,081
Premix Vit/Min	0,200	0,200	0,150	0,150
Sal	0,353	0,285	0,265	0,284
Lisina	0,090	0,148	0,182	0,200
DL-Metionina	0,229	0,236	0,246	0,229
Treonina	0,000	0,028	0,053	0,062
Colina	0,050	0,050	0,030	0,030
Nutrientes (%)				
Proteína	21,00	19,00	18,00	17,00
Lípidos	5,76	6,58	7,75	7,31
Ca	0,90	0,88	0,84	0,78
P Total	0,69	0,65	0,63	0,58
P Disponible	0,45	0,42	0,40	0,35
Ca/P Disp.	2,00	2,10	2,10	2,23
EMV (Kcal/Kg)	3288	3383	3476	3476
Lisina	1,20	1,10	1,06	1,00
Metionina	0,57	0,55	0,55	0,52
Met+Cis	0,89	0,84	0,82	0,78
Triptófano	0,24	0,21	0,19	0,18
Treonina	0,80	0,74	0,72	0,69
Arginina	1,45	1,27	1,18	1,09

No se suministró coccidiostato en el alimento, en su lugar se utilizó Diclazuril (Vetribac-D®) (0,25 ml/l) en agua de bebida hasta el 6^{to} día de vida para prevenir una infección temprana de coccidios.

Desafío

El desafío se efectuó según una metodología desarrollada por un acuerdo INTA – Porfenc SRL basada en la reutilización de cama con el asperjado de 11

mL/m² de una solución 1x10⁹ de *Escherichia coli* a los 7, 14 y 21 días de edad, aumento de la densidad (de 10 a 12 aves/m²) e inoculación de ooquistes de coccidias (*Eimeria sp.*) vía ingluvial (20.000 ooquistes/ave) al 3^{er} día de vida.

En el caso de la experiencia sin desafío, se llevó a cabo según los estándares de pruebas nutricionales que se realizan en dicha estación experimental, a saber cama nueva y 10 aves/m².

Mediciones

Semanalmente se determinó el peso corporal, el consumo de alimento y la mortandad. Con estos datos se calculó la conversión alimenticia y la relación peso/conversión.

La relación peso/conversión surge de una simplificación del Factor de eficiencia productiva europeo, resultando:

$$\frac{\text{Peso}}{\text{Conversión}} = \frac{\text{Peso}^2}{\text{Consumo}}$$

Fecha de realización de los ensayos

La prueba sin desafío se realizó en mayo - junio de 2012.

Las pruebas con desafío se realizaron:

Ensayo n°3: se realizó en abril - mayo de 2012.

Ensayo n°2: se realizó en noviembre - diciembre de 2011

Ensayo n°1: se realizó en abril - mayo de 2011

Diseño experimental y análisis estadísticos

La prueba de crecimiento sin desafío fue realizada empleando un diseño en bloques completos aleatorizado. Cada tratamiento contó con 7 réplicas. Para el caso de las pruebas con desafío se empleó un arreglo factorial (3 ensayos x 2 tratamientos, con y sin BioPro®).

Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando un análisis de varianza de dos vías con el software InfoSTAT (Di Rienzo & Col., 2012); en los casos que hubo diferencias significativas ($p \leq 0,05$) las medias fueron separadas por la prueba de comparaciones múltiples de Duncan.

Resultados

Prueba sin desafío

En las Tabla 4 a Tabla 7 se muestran los resultados zootécnicos obtenidos sin desafío.

Las aves del tratamiento con BioPro® consumieron más alimento (Tabla 4), siendo las diferencias significativas a los 21, 28 y 49 días de vida ($p \leq 0,05$).

Tabla 4- Consumo sin desafío

Tratamientos	Edad				
	21	28	35	42	49
BioPro	1040 ^a	1945 ^a	2993	4194	5347 ^a
Control	1009 ^b	1890 ^b	2941	4133	5234 ^b
<i>Probabilidad</i>	0,02	0,02	0,06	0,2	0,02
Coef. de Var. %	1,7	1,5	1,2	1,6	1,2

Medias en una misma columna con diferente superíndice difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$).

Las aves del tratamiento con BioPro® pesaron más que el Control a lo largo de toda la experiencia (Tabla 5) siendo las diferencias significativas a los 21 y 49 días de vida ($p \leq 0,05$).

Tabla 5- Peso sin desafío

Tratamientos	Edad				
	21	28	35	42	49
BioPro	769 ^a	1322	1902	2559	2837 ^a
Control	745 ^b	1302	1890	2526	2782 ^b
<i>Probabilidad</i>	<0,01	0,20	0,60	0,40	0,04
Coef. de Var. %	0,7	1,6	1,8	2,5	1,2

Medias en una misma columna con diferente superíndice difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$).

No se encontraron diferencias en conversión alimenticia (Tabla 6) al comparar los tratamientos sin aplicar condiciones de desafío ($p > 0,05$).

Tabla 6- Conversión sin desafío

Tratamientos	Edad				
	21	28	35	42	49
BioPro	1,354	1,472	1,574	1,640	1,885
Control	1,354	1,452	1,556	1,636	1,882
<i>Probabilidad</i>	0,98	0,20	0,20	0,86	0,85
Coef. de Var. %	1,5	1,6	1,4	1,9	1,5

Las diferencias en la relación peso/conversión a favor del tratamiento con BioPro® (Tabla 7) solo fueron significativas los 21 días de vida ($p \leq 0,05$).

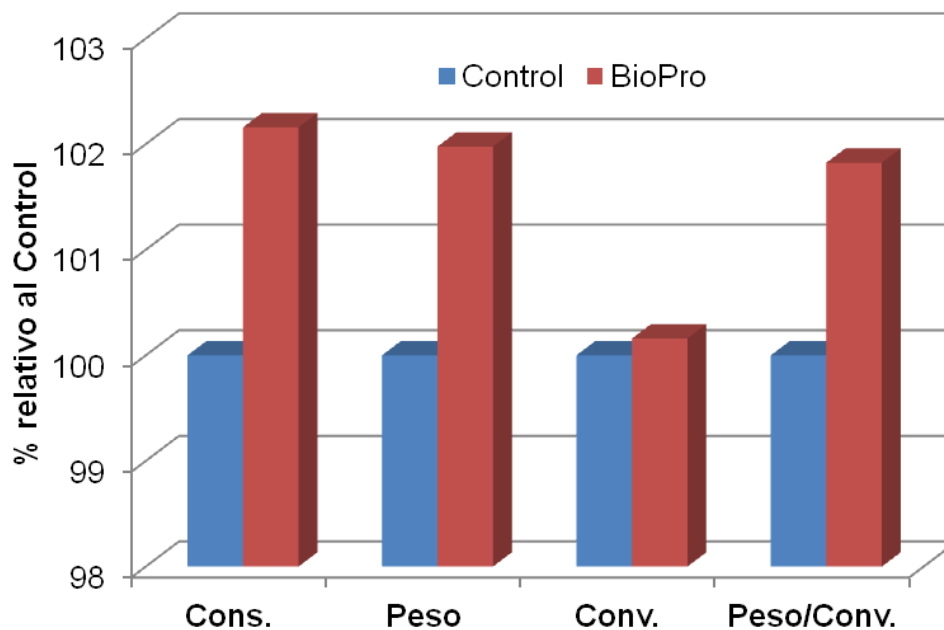
Tabla 7 - Peso/Conversión sin desafío

Tratamientos	Edad				
	21	28	35	42	49
BioPro	568 ^a	898	1215	1561	1507
Control	550 ^b	897	1209	1544	1480
<i>Probabilidad</i>	0,02	0,92	0,78	0,67	0,27
Coef. de Var. %	1,6	2,8	3	4,1	2,5

Medias en una misma columna con diferente superíndice difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$).

En el Gráfico 5 se incluyen los resultados a los 49 días.

Gráfico 5- Parámetros zootécnicos a los 49 días



Bajo condiciones sin desafío, con la inclusión de BioPro® en el alimento, se logró incrementar el consumo y el peso vivo (2,2% y 2,0% respectivamente).

Pruebas con desafío

En las Tabla 8 a Tabla 11 se muestran los resultados zootécnicos obtenidos con las experiencias con desafío.

La Tabla 8 muestra que las aves de la Experiencia 3 fueron las que consumieron menos alimento, seguidas por las de la Experiencia 2, con diferencias significativas a los 28 días ($p \leq 0,05$). A partir de los 35 días no se encontraron diferencias en consumo entre las Experiencias 1 y 2 ($p > 0,05$) mientras que, las aves de la Experiencia 3 continuaron con los consumos más bajos ($p \leq 0,05$).

En cuanto al efecto de BioPro® bajo condiciones de desafío, las aves consumieron menos alimento que aquellas del tratamiento Control con diferencias significativas a partir de los 28 días de vida ($p \leq 0,05$).

Tabla 8- Consumo con desafío

	Edad			
	21	28	35	42
Experiencia 1				
BioPro	1233 ^a	2103	3271	4690
Control	1245 ^a	2128	3315	4760
Experiencia 2				
BioPro	1163 ^a	1975	3235	4434
Control	1168 ^a	2012	3297	4515
Experiencia 3				
BioPro	1062 ^b	1855	3162	4642
Control	1107 ^a	1934	3214	4705
Efecto Experiencia				
1	1239	2116 ^a	3293 ^a	4725 ^a
2	1166	1994 ^b	3266 ^a	4674 ^a
3	1085	1894 ^c	3188 ^b	4475 ^b
Efecto Tratamiento				
BioPro	1153	1978 ^b	3223 ^b	4589 ^b
Control	1174	2025 ^a	3275 ^a	4660 ^a
Probabilidad				
Experiencia	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Tratamiento	<0,01	<0,01	0,04	0,04
Interacción	0,03	0,30	0,96	0,97
Coef. de Var. %	1,7	2,4	2,5	2,3

Medias en una misma columna y grupo con diferente superíndice difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$).

El la Tabla 9 se muestra que las aves de la Experiencia 1 fueron las que más pesaron seguidas por las de la Experiencia 3 (exceptuando el día 21) que culminó a los 42 días con igual peso que las de la Experiencia 1. Las aves de la Experiencia 2 crecieron menos que las de las restantes Experiencias ($p \leq 0,05$).

No se observaron diferencias en peso entre el tratamiento con BioPro® y el Control ($p > 0,05$).

Tabla 9- Peso con desafío

	Edad			
	21	28	35	42
Experiencia 1				
BioPro	909	1385	1980	2705
Control	902	1386	1979	2706
Experiencia 2				
BioPro	874	1252	1924	2530
Control	871	1275	1927	2512
Experiencia 3				
BioPro	790	1339	2001	2707
Control	774	1331	1983	2662
Efecto Experiencia				
1	906 ^a	1386 ^a	1980 ^a	2705 ^a
2	873 ^b	1263 ^c	1926 ^b	2521 ^b
3	782 ^c	1335 ^b	1992 ^a	2685 ^a
Efecto Tratamiento				
BioPro	852	1326	1968	2648
Control	855	1331	1963	2627
Probabilidad				
Experiencia	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Tratamiento	0,58	0,68	0,75	0,33
Interacción	0,41	0,59	0,87	0,68
Coef. de Var. %	2,6	3,0	2,8	2,6

Medias en una misma columna y grupo con diferente superíndice difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$).

En la Tabla 10 se puede observar que la Experiencia 2 mostró las conversiones más altas a lo largo de toda la prueba ($p \leq 0,05$), mientras que las Experiencias 1 y 3 no difirieron entre sí a los 42 días ($p > 0,05$).

Por otra parte, se observó que las aves que recibieron alimento con BioPro® mostraron una mejor conversión en comparación con el Control a lo largo de toda la experiencia ($p \leq 0,05$).

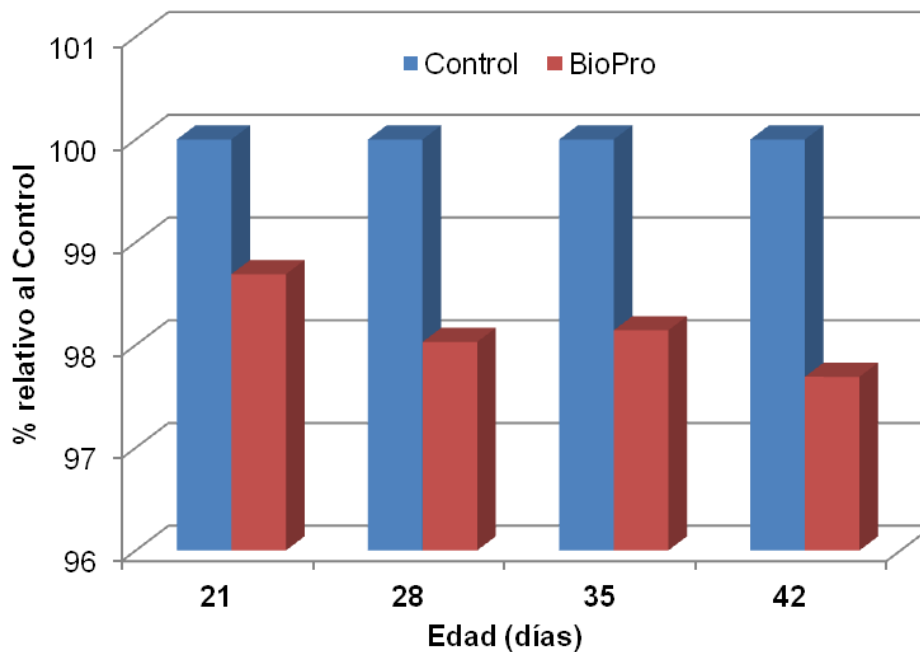
Tabla 10- Conversión con desafío

	Edad			
	21	28	35	42
Experiencia 1				
BioPro	1,357	1,519	1,652	1,734
Control	1,380	1,535	1,675	1,759
Experiencia 2				
BioPro	1,335	1,481	1,681	1,752
Control	1,338	1,518	1,711	1,798
Experiencia 3				
BioPro	1,372	1,475	1,580	1,715
Control	1,402	1,513	1,621	1,769
Efecto Experiencia				
1	1,369 ^a	1,527 ^a	1,663 ^b	1,747 ^b
2	1,337 ^b	1,450 ^b	1,696 ^a	1,775 ^a
3	1,387 ^a	1,494 ^b	1,601 ^c	1,742 ^b
Efecto Tratamiento				
BioPro	1,355 ^b	1,492 ^b	1,638 ^b	1,734 ^b
Control	1,373 ^a	1,522 ^a	1,669 ^a	1,775 ^a
Probabilidad				
Experiencia	<0,01	<0,01	<0,01	0,02
Tratamiento	0,04	<0,01	<0,01	<0,01
Interacción	0,39	0,50	0,60	0,47
Coef. de Var. %				
	2,0	1,8	1,4	1,8

Medias en una misma columna y grupo con diferente superíndice difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$).

En el Gráfico 6 se puede observar que las diferencias en conversión entre la dieta con BioPro® y el Control se fueron incrementando con la edad de 1,3% a 2,3% a los 21 y 42 días de vida, respectivamente.

Gráfico 6- Conversión a diferentes edades con desafío



En la Tabla 11 se puede observar que hubo diferencias entre Experiencias en la relación peso/conversión. Las aves de la Experiencia 2 mostraron peores resultados que las Experiencias 1 y 3 ($p \leq 0,05$), excepto a los 21 días donde no hubo diferencias entre la Experiencia 1 y la 2 ($p > 0,05$).

Las experiencias 1 y 3 no difirieron entre sí ($p > 0,05$), salvo a los 21 donde la Experiencia 3 presentó peor relación y a los 35 días donde la misma Experiencia presentó mejor relación.

Por otra parte, se observó que las aves que recibieron alimento con BioPro® mostraron una mejor relación peso/conversión en comparación con el Control a lo largo de toda la experiencia siendo las diferencias significativas solo a los 42 días ($p \leq 0,05$).

Tabla 11- Peso/Conversión con desafío

	Edad			
	21	28	35	42
Experiencia 1				
BioPro	670	912	1198	1560
Control	654	903	1182	1539
Experiencia 2				
BioPro	653	846	1145	1444
Control	653	841	1126	1398
Experiencia 3				
BioPro	564	908	1266	1579
Control	564	880	1224	1507
Efecto Experiencia				
1	662 ^a	908 ^a	1190 ^b	1550 ^a
2	653 ^a	843 ^b	1136 ^c	1421 ^b
3	564 ^b	894 ^a	1245 ^a	1543 ^a
Efecto Tratamiento				
BioPro	629	889	1203	1528 ^a
Control	624	875	1178	1481 ^b
Probabilidad				
Experiencia	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Tratamiento	0,50	0,24	0,07	0,01
Interacción	0,67	0,70	0,69	0,50
Coef. de Var. %	4,3	4,3	3,7	3,9

Medias en una misma columna y grupo con diferente superíndice difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$).

Discusión

El presente estudio se enfocó en evaluar el efecto del probiótico BioPro® como alternativa al uso de los APC, sobre el consumo, el peso y la conversión de pollos parrilleros.

En cuanto a las diferencias entre experiencias, las mismas se pueden explicar por las condiciones estacionales bajo las cuales fueron llevadas a cabo las experiencias, a saber: Experiencia 1 y 3 en condiciones invernales y la Experiencia 2, estival, lo que hizo que, a grandes rasgos, las aves de esta última consuman menos alimento, pesen menos y presenten peor conversión alimenticia y peor relación peso/conversión.

Prueba sin desafío

Cuando las aves se encontraron bajo condiciones óptimas de desarrollo, se observó un incremento en el consumo de alimento, en concordancia con lo hallado por diversos autores (Katoch & Col, 1998; Banday & Risam, 2001) y el grupo de Bansal (2011) que estudiaron el rol y la eficiencia de probióticos como potencial modulador del estado saludable del intestino y el desempeño de pollos parrilleros.

El mayor consumo de alimento por parte de las aves con probiótico sin desafío llevó a que el peso corporal sea más alto que el control, encontrando similares resultados a los del grupo de Bansal (2011). A su vez, otros investigadores también encontraron que aves alimentadas con dietas con probióticos fueron significativamente más pesadas que aquellas que fueron alimentadas sin estos. (Dandhe & Col, 1993; Azcona, 2009)

Kabir & Col (2004) realizaron una experimentación de cuatro tratamientos: dos grupos de aves suplementadas con probióticos (varias cepas de diferentes bacterias (A y B) y los dos grupos restantes sin suplementación (C y D), a su vez los grupos B y C fueron vacunados contra la enfermedad del Gumboro y Ranikhet. De esta manera, los autores también encontraron que la suplementación con probióticos tuvo efectos positivos sobre la ganancia de peso vivo y fue significativamente mayor respecto de las aves sin probióticos. En el presente ensayo (con *Enterococcus faecium*) también se encontraron mejoras significativas en peso bajo condiciones óptimas de crecimiento (sin desafío).

En concordancia con otros autores, la conversión alimenticia en el presente trabajo no se vio afectada al usar el probiótico en aves sin condiciones de desafío. (Ahmad, 2006, Markovic & Col, 2009)

Pruebas con desafío

Bajo condiciones de desafío, el consumo de las aves disminuyó respecto del control con diferencias significativas a partir de los 28 días de vida en concordancia con Marcovich & Col (2009), salvo que estos últimos no describen haber realizado algún tipo de desafío.

Cuevas & Col. (2000) hallaron, al investigar el efecto de un probiótico como promotor de crecimiento, que el probiótico adicionado a la dieta de pollos parrilleros tuvo un efecto promotor del crecimiento y disminuyó la muerte por *Salmonella*.

Por su parte, Markovic & Col. (2009) encontraron que pollos parrilleros alimentados con suplementaciones probióticas llegaron a faena con un peso significativamente mayor, al igual que el grupo de Dhande (Dhande & Col., 1993) que al alimentar a las aves con un probiótico estas fueron significativamente más pesadas con mejoras en la conversión alimenticia y calidad de carne.

Si bien en el presente trabajo no se realizaron estudios a nivel del epitelio intestinal, otros autores (Ahmad, 2006) explican que en pruebas donde los pollos se encuentran en condiciones desfavorables, el estrés afecta el sistema inmune y el epitelio intestinal de los mismos, y con la utilización de probióticos se estimula la inmunidad de las aves de dos maneras: la flora proveniente de los probióticos migran a lo largo de la pared intestinal y se multiplican en un grado limitado y por otro lado, el antígeno liberado por los organismos que mueren son absorbidos estimulando el sistema inmune. Es decir, que la suplementación con probióticos ayuda y repara las deficiencias de la flora intestinal, mejorando la resistencia a infecciones o reduciéndolas. A su vez, Ahmad (2006) encontró que los pollos alimentados con probióticos lograron mayor peso que otros grupos pero no detectó ninguna diferencia en conversión alimenticia. Estos resultados no concuerdan con los obtenidos con la prueba sin desafío debido a que en esta no hubo diferencias significativas en el peso, pero la conversión de los pollos alimentados con probiótico fue mejor.

Awad, Ghareeb, & Bohm (2008) definieron que la asociación de probióticos y prebióticos, refiriéndose como a una asociación simbiótica, puede mejorar la tasa de supervivencia de probióticos durante el pasaje a través del tracto

digestivo, contribuyendo así a estabilizar o realzar los efectos de los mismos. Si bien, en este trabajo solo se analizó una cepa bacteriana sin prebiótico, vale la pena remarcar este estudio, donde los datos obtenidos indicaron que la inclusión simbiótica a la dieta mejoró el peso corporal y la ganancia de peso de pollos parrilleros. La ganancia diaria de peso fue significativamente mayor para pollos alimentados con dietas simbióticas comparada con la de aquellos pollos alimentados con la dieta control sin probióticos.

Conclusiones

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que:

- ➡ Cuando las aves no sufrieron un desafío se observó un mayor consumo (+2,2%) y un mejor peso (+2,0%) con BioPro® en el alimento.
- ➡ Cuando las aves fueron expuestas a condiciones más parecidas a las de campo (con desafío) con BioPro® se observó un menor consumo acumulado (-1,5%) y por consiguiente una mejor conversión alimenticia (-2,3%) en las aves.

Bibliografía citada

Ahmad, I. (2006). Effect of Probiotics on Broilers Performance. *International Journal of Poultry Science* 5 (6), 593-597.

Awad, W., Ghareeb, K., & Bohm, J. (2008). Intestinal Structure and Function of Broiler Chickens on Diets Supplemented with a Synbiotic Containing Enterococcus faecium and Oligosaccharides. *International Journal of Molecular Sciences*, 2205-2216.

Azcona, J. O. (2009). Perspectivas de la nutrición avícola. *1º Curso- Situación actual de la cadena avícola y salud humana*.

Banday, M. T., & Risam, K. S. (2001). Growth performance and carcass characteristics of broiler chicken fed with probiotics. *Indian Journal of Poultry Science* 36, 252-255.

Bansal, G. R., Singh, V. P., & Sachan, N. (2011). Effect of Probiotic Supplementation on the Performance of Broilers. *Asian Journal of Animal Science* 5 (4), 277-284.

Cancho Grande, B., García Falcon, M. S., & Simal Gándara, J. (2000). El uso de los antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual. *Cienc. Technol. Aliment.* 3(1), 39-47.

Capcarova, M., Kolesarova, A., Massanyi, P., & Kovacik, J. (2008). Selected Blood Biochemical and Haematological Parameters un Turkeys after an Experimental Probiotic Enterococcus faecium M-74 Strain

Administration. *International Journal of Poultry Science* 7 (12), 1194-1199.

Cepero Briz, R. (2005). Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la Unión Europea: Causas y consecuencias. *Dpto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.*

Cobb. (2008). *Broiler nutrition supplement*. Recuperado el 27 de Febrero de 2001, de <http://www.cobb-vantress.com>

Cuevas, A. C., Gonzáles, E. Á., Huguenin, M. T., & Domínguez, S. C. El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. 2000. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de Mexico, México.

Dhande, V. U., Kukde, R. J., Lende, R. M., & Sarode, D. B. (1993). Effect of giprobiotic on performance of broilers. *Poultry Guide* 30, 39-41.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2012). InfoStat. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Obtenido de <http://www.infostat.com.ar>

Domenech, R. (2010). Nuevos Paradigmas en la Expansión de la Avicultura de Carne. 2° Curso - *La Cadena Avícola y la Salud Humana* (págs. 7-18). Buenos Aires: FANUS.

- Fernández, J., Mesia, J., & Crespo, N. (2002). Nuevos avances en la aplicación de probióticos. *Enterococcus faecium* CECT4515, efecto directo sobre flora intestinal. *Anaporc. Revista de Porcinocultura* 226, págs. 77-88.
- Fuller, R. Probiotics: Their development and use. *Probiotics: Their development and use*. Russet House, Three Mile Cross, Reading, UK.
- Kabir, S. L. (2009). The Role of Probiotics in the Poultry Industry. *International Journal of Molecular Sciences* , 3531-3546.
- Kabir, S. L., Rahman, M. B., Rahman, M. M., & Ahmed, S. U. (2004). The Dynamics of Probiotics on Growth Performance and Immune Response in Broilers. *International Journal of Poultry Science* 3 (5), 361-364.
- Karaoglu, M., & Durdag, H. (2005). The Influence of Dietary Probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) Supplementation and Different Slaughter Age on the Performance, Slaughter and Carcass Properties of Broilers. *International Journal of Poultry Science* 4 (5), 309-316.
- Katoch, B. S., Bhatt, R. S., Dogra, K. K., Gupta, R., Sharma, K. S., & Sharma, C. R. (1998). Performance of select strains of *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus lactis* and *Saccharomyces cerevisiae* alone and in different combinations in broilers. *Indian Journal of Animal Science* 68, 178-182.
- Lauková, A., Mareková, M., & Javorsky, P. (1992). *Detection and antimicrobial spectrum of a bacteriocin-like substance produced by Enterococcus faecium CCM4231*. Hlinkova 1/B, 040 01 Kosice, Slovakia: Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences.

- Mair, G., Beczkowski, G., & Lamelas, K. Boletín Avícola Anuario 2011. *Boletín Avícola*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires.
- Marković, R., Sefer, D., Krstić, M., & Petrujkic, B. (2009). Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Arch Med Vet* 41, 163-169.
- MinAgri. (s.f.). *Ministerio de Agricultura, Ganaderia y Pesca*. Recuperado el 02 de 08 de 2012, de <http://www.minagri.gob.ar>
- N-utrition [software de formulación de raciones]. (2003). Desarrollo de Aplicaciones para Procesos Productivos. Colón, Entre Ríos, Argentina.
- Rostagno, H., Teixeira, A. L., Lopes, D. J., Gomes, P., de Oliveira, R., & Lopes, D. (2005). Tablas brasileñas para aves y cerdos. Composición de alimentos y requerimientos nutricionales. 2nd ed. Departamento de Zootecnia, UFV, Vicosa, Brasil.
- Salminen, S., Wright, A. v., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., M. de Vos, W., y otros. (1998). Demonstration of safety of probiotics. *International Journal of Food Microbiology* 44, 93-106.
- Santomá, G., Pérez de Ayala, P., & Gutierrez del Alamo, A. (2006). Producción de broilers sin antibióticos promotores del crecimiento. *En XLIII Simposio Científico de Avicultura, Barcelona, España*.