

Efecto del uso de prebióticos sobre la microbiota cecal en pollos parrilleros (*Gallus Gallus*)

M. J. Vaira ¹, G. Ocaña ², A. Mazzuca ³, O. Sánchez Negrette ⁴, M. E. Díaz Critelli ⁵,
P. Jiménez ⁵, R. Pereyra ⁵, V. San Juan ⁵, M. Villazón ⁵, M. Vilte Aramburu ⁵

Resumen

Los prebióticos pueden tener efectos positivos sobre las aves, no solo a nivel intestinal sino también sistémico. Se utilizaron 198 pollos parrilleros machos, separándolos en tres grupos. A dos grupos se suplementó el alimento con prebióticos diferente, B1 (Fructooligosacárido) y B3 (Cynara más Colina), provistos por Bedson S. A. Se realizaron faenas a los 7, 14 y 45 días.

Se registró peso corporal, y se recolectaron diferentes muestras: bazo y bolsas de Fabricio; plasma, y se determinaron proteínas, albúminas, transaminasas; ciegos, para determinar el número de microorganismos cecales.

El recuento de bacterias mesófilas y lácticas fue mayor en B3, luego en B1 y por último en el grupo control. El número de bacterias coliformes fue similar en los tres grupos, aunque valores de *E. coli* fueron menores con B1, luego con B3, y por último el grupo control.

La mínima mortandad y la mayor conversión alimenticia fueron alcanzadas por el grupo tratado con B1. Los dos prebióticos mejoraron en forma sistémica a las aves, siendo mejor el B1.

Palabras clave: Pollos parrilleros - prebióticos - microorganismos cecales

Introducción

Los probióticos y los prebióticos han sido consumidos por centurias, tanto como componentes naturales del alimento como en alimentos

fermentados. El interés en la microbiología intestinal y el uso dietario de prebióticos y probióticos data de final de 1800 y comienzos de 1900. Numerosos estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que la microbiota comensal intesti-

1 Adjunta Cátedra de Microbiología. mjvaira@gmail.com.

2. Adjunto Cátedra de Producción de Aves y especies no tradicionales.

3. Auxiliar Docente Cátedra Inmunología.

4. Adjunta Cátedra Inmunología.

5. Alumno.

nal inhibe patógenos, y que su disturbio puede aumentar la susceptibilidad a la infección. El stress tiene efectos deprimentes sobre el sistema inmune y el epitelio intestinal, y a su vez el sistema neuroendócrino está íntimamente relacionado con la respuesta inmune del sistema epitelial. Investigaciones realizadas con humanos y modelos murinos han mostrado que el consumo de prebióticos y probióticos, produce una reducción en los niveles de colonización de patógenos, alteración del sistema inmune, prevención de cáncer, reducción de triglicéridos, colesterol y de algunos compuestos tóxicos (1).

Las enfermedades entéricas son un importante problema para la industria avícola debido a que causan pérdidas productivas, aumentan la mortalidad y además pueden contaminar los productos avícolas de consumo humano, produciendo enfermedades de transmisión alimentaria. La composición de la microbiota intestinal permanece estable en aves sanas. Además de patógenos y antibióticos que primariamente afectan la flora intestinal, los estresores ambientales tales como: carencia alimentaria, temperaturas extremas, variaciones de humedad ambiental, transporte, pueden destruir el balance normal de la ecología microbiana intestinal (2). Es por esto que el uso de antibióticos como promotores de crecimiento ha sido la piedra angular en la industria avícola, favoreciendo la cría de animales en confinamiento. Sin embargo, la generación de cepas de patógenos resistentes a antibióticos, hizo que el uso rutinario de antibióticos en animales sea ahora menos común (3). Es necesario buscar alternativas para prevenir y tratar infecciones bacterianas comunes a los animales de cría en confinamiento. Probióticos y Prebióticos, son dos de las varias alternativas que reducen las enfermedades en las granjas y la consecuente contaminación de sus productos (4). Un probiótico ha sido defini-

do como «un suplemento alimentario constituido por microorganismos vivos que benefician al huésped animal por proveer un balance microbiano intestinal» (5) Estas bacterias promotoras de la salud, están siendo usadas en la cría de aves de corral, en lugar de los antibióticos, como una alternativa para controlar el crecimiento de microorganismos desfavorables. Un prebiótico se define como «ingrediente alimentario no digerible que produce efectos beneficiosos al huésped estimulando el crecimiento y/o actividad de uno o un número limitado de bacterias en el colon» (6). De esta manera remueven patógenos del tracto intestinal y estimulan el sistema inmune. Los más usados son fructo-oligosacáridos, lactulosa, malto-oligosacáridos, rafinosa, manosa, Bailey et al, 1994 (7) y Patterson and Burkholder, 2003(4) demostraron claramente la reducción de la colonización por *Salmonella* al usar fructo-oligosacárido como prebiótico.

Los fructooligosacáridos (FOS) se pueden utilizar para sustituir el uso de antibióticos para mejorar el crecimiento y la eficiencia en la producción de pollos parrilleros (8, 9, 10 11). Se pueden clasificar como oligosacáridos no digeribles, porque los enlaces β entre los monómeros de fructosa no pueden ser hidrolizados por enzimas de origen endógeno. Como consecuencia de ello, los FOS son utilizados como sustratos para la microflora gastrointestinal (12). La utilización de FOS como suplemento en la dieta ha demostrado que aumenta el crecimiento de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* pero inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* y *Salmonella* en el intestino grueso (13, 14, 15, 16).

Los oligofruetosacáridos, oligofruetosanos, glucofructosanos, inulinos, oligosacáridos resistentes o simplemente FOS (17), son carbohidratos principalmente compuestos por la fructosa y algunos escasos residuos de glucosa (18).

No obstante, a diferencia del término glucanos, los fructanos envuelven no sólo a las moléculas de alto peso molecular, sino que se cobija bajo esta definición a las moléculas de bajo peso molecular, las cuales suelen estar íntimamente asociadas a las primeras (19). El espectro es muy amplio e involucra muchos polisacáridos de muy diversa naturaleza.

Muchas plantas, como la achicoria (*Cichorium intybus*) y la alcachofa (*Cynara scolymus*), tienen enzimas complejas para la síntesis de FOS que no se rigen por una simple cinética de Michaelis-Menten y cuya actividad depende de la concentración de sustrato y de enzima (20): 1-fructosiltransferasa (1-SST), β fructan-1-fructosiltransferasa (1-FFT), 6G fructosiltransferasa (6G-FFT) y 6-fructosiltransferasa (6-SFT).

Las alcachofas son plantas tuberculosas que tienen un rendimiento de cinco hasta siete toneladas por acre y que generalmente se desarrollan bien en todo tipo de suelos excepto aquellos muy arcillosos (21). Todo el contenido de material de reserva de las alcachofas se encuentra no en forma de almidón si no en forma de inulina cuyos contenidos son variables según la región y la modalidad de cultivo (22). El principal componente de la inulina de la alcachofa es la fructosa, (23, 24, 25). El grado de polimerización en las alcachofas suele encontrarse por lo general vinculado con las temperaturas de almacenamiento poscosecha, (26).

El extracto de alcachofa (EA) (*Cynara Scolymus L.*) ha sido utilizado desde la antigüedad para mitigar las sobrecargas hepáticas. Componentes del EA han resultado beneficiosos en dietas conteniendo micotoxinas (27).

El ciego constituye un complejo ecosistema que comprende hasta 50 especies diferentes de bacterias que constituyen una flora mayoritariamente anaeróbica estricta acompañada por

cantidades menores de flora facultativa, cuya actividad y cantidad se ve afectada por la fisiología gastrointestinal y por los sustratos de fermentación con los que éstas dispongan (28).

Los principales sustratos fermentativos para el crecimiento bacteriano son los carbohidratos.

Los fructanos, dada su composición química (enlaces β (2-1) no son degradados a nivel de estómago ni de intestino delgado (29, 30, 31), siendo resistentes a la acción de las enzimas del intestino delgado y a las pancreáticas (32, 33). Las bacterias gram negativas del colon logran sintetizar toda una serie de enzimas sacarolíticas que sí pueden metabolizar a los oligofruetosacáridos (34), los cuales son fermentados anaeróticamente especialmente si su grado de subdivisión es bajo (35). La cinética de fermentación está ligada entonces al grado de polimerización, ya que aquellas moléculas de más de 10 monómeros son fermentadas en el doble de tiempo que aquellas de menor tamaño (36).

El proceso fermentativo es efectuado principalmente por bacterias lácticas y bifidobacterias, a diferencia de los clostridios, bacteroides y coliformes que no pueden metabolizar en esta forma a los fructanos, especialmente si son de cadena corta (37, 38). Estudios aún por profundizar sugieren una mayor eficiencia en la fermentación de las *Bifidobacterium* por sobre las demás bacterias lácticas (39). Las bifidobacterias poseen β -fructofuranosidasa capaz de hidrolizar los enlaces β (2-1) y α (1-2), que les permite aprovechar directamente los fructanos, lo que indica una alta especificidad de las bifidobacterias por este sustrato (40, 41). De hecho se ha determinado que las *Bifidobacterium* prefieren a los fructanos por sobre a la glucosa como sustratos fermentativos (42).

No obstante no es del todo conocido cuales cepas de las bacterias lácticas y *Bifidobacterium*

son las responsables de la metabolización de fructanos en sus diferentes etapas (43).

Las bifidobacterias constituyen hasta un 25 % de la flora del colon, y durante su competencia al fermentar los fructanos contribuyen a la disminución y hasta anulación de cepas patogénicas que son sensibles al medio ácido (44), entre las que se encuentran *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *S.aureus*, *E.coli*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella*, *Veillonella* y *Clostridium difficile* (41, 39,45). La prevención y reducción de los patógenos se da debido también a la producción de bacteriocinas y otros agentes antimicrobianos, la competencia por sitios de adhesión en las mucosas, la competencia por nutrientes y la producción de inhibidores como el lactato y el acetato (46).

Numerosos estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que la flora normal intestinal inhibe microorganismos patógenos, que las perturbaciones de la microbiota intestinal puede aumentar la susceptibilidad a infección, y que la adición de prebióticos y probióticos aumenta la resistencia a la infección (47, 48).

Los patógenos intestinales se encuentran con una defensa multifacética por parte del hospedador, pH gástrico bajo, tránsito rápido a través secciones del tracto intestinal, así como la flora normal intestinal, el epitelio, y el sistema inmunológico. Los lactobacilos y las bifidobacterias parecen ser sensibles al estrés, y estas poblaciones tienden a disminuir cuando un ave se encuentra bajo estrés. Los mecanismos propuestos para explicar la inhibición del patógeno mediante la microbiota intestinal incluye la competencia por los nutrientes, la producción de toxinas y demás compuestos (ácidos grasos volátiles, bajo pH, y bacteriocinas), la competencia por sitios de unión en el epitelio intestinal, y la estimulación del sistema inmune (5, 49, 48). Es-

tos mecanismos no son mutuamente excluyentes, y algunos microorganismos pueden cambiar el efecto de un solo mecanismo, mientras que otros pueden utilizar varios mecanismos. Alpha

Es importante señalar que el uso de antibióticos no sólo influye en las poblaciones microbianas intestinales y sus actividades, sino que afectan el metabolismo de los animales alterando específicamente la función intestinal (50).

El tracto gastrointestinal tiene un papel vital en la digestión y absorción de los nutrientes necesarios para el mantenimiento y el crecimiento. La proliferación de patógenos intestinales, a menudo provocan respuestas inflamatorias que causan pérdidas de productividad, aumento de la mortalidad y mayor contaminación de los productos avícolas.

Los antibióticos han sido utilizados en las dietas de pollos parrilleros para mejorar el crecimiento y controlar a los patógenos intestinales. Sin embargo, las cuestiones relacionadas con el desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos han conducido a la demanda del público a limitar el uso de antibióticos en la agricultura animal (51). El intestino de pollos parrilleros alberga una diversa microflora, que consiste en microorganismos beneficiosos y patógenos.

El apego a las superficies de las mucosas es un requisito previo para la colonización exitosa de las bacterias entéricas, de lo contrario, las bacterias se excretan rápidamente a través de las propiedades hidrocínéticas del intestino.

Las preocupaciones que involucran el uso de antibióticos como promotores del crecimiento y el desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos han llevado a los investigadores a investigar diversos métodos de conservación y mejora del rendimiento de aves de corral en ausencia de antibióticos promotores del crecimiento.

En base a lo anterior, podemos concluir que

si bien hay muchos antecedentes que avalan los beneficios del uso de probióticos, entendemos que estos beneficios se logran con un suministro continuo y en exactas condiciones a lo largo de todo el periodo de cría. Siendo los probióticos, como ya definimos antes, seres vivos, son muchas las variables que deben ser estandarizadas para lograr ese objetivo. Por esto y basado también en los ensayos realizados por nosotros anteriormente, decidimos evaluar la acción de «prebióticos» en la ganancia de peso de pollos parrilleros y justificar esto en las modificaciones microbiológicas, bioquímicas, morfológicas y del sistema inmune.

Materiales y métodos

Manejo de las aves

Se trabajó con 198 pollos parrilleros machos recién nacidos de la línea Cobb. Para los ensayos se separaron en 3 lotes, 2 experimentales y 1 control, todos con 66 machos. Un grupo recibió alimento suplementado con prebiótico B1 (Fructooligosacárido), otro grupo fue suplementado con el prebiótico B3 (Cynara + Colina) y el tercer grupo fue el control que solo recibía alimento sin suplementar.

Se efectuó un estricto control sanitario. Durante todo el ensayo se permitió el consumo de alimento y agua *ad libitum*.

Los pollitos BB (n= 198) recién llegados de planta de incubación se acondicionaron para su crianza, brindándoles temperatura, alimentación y luz adecuada.

Para brindar estas temperaturas se utilizaron estufas a cuarzo con 2 velas de 600w cada una, alternando una y otra vela y lámparas alógenas de 300w que se colocaron a 50 centímetros del piso.

Para alojar a las aves se construyó un galpón

semiabierto de 3 x 6 (18 m²) que tiene paredes de mampostería en ambos extremos hasta 1 metro de altura y mallas metálicas de alambre tejido hasta el techo con cortinas y plásticos; también mallas de alambre tejido en laterales. El techo es de chapa aluminizada térmica.

El piso, de tierra. En la primera semana se usó bebedero BB para la administración del agua, posteriormente bebederos automáticos (planetarios). A ambos lotes se les administró el alimento adecuado para su edad (pre iniciador, iniciador y terminador según corresponde a esta producción) por medio de comederos tipo Tolba de 12 kg

En el caso de los animales tratados, para asegurar un correcto mezclado del producto con el alimento, se efectuó una premezcla con la cantidad de producto a dosificar en 5 – 10 kg de alimento y luego se incorporó a la mezcla final. El agua se suministró a través de bebederos automáticos tipo planetario conectados a recipientes de 10 litros que están en el interior del galpón.

Las aves se pesaron individualmente y el consumo de comida se determinó semanalmente; al final de la experiencia se registró el peso de cada una de las aves. Se calculó la relación ganancia en peso/alimento consumido.

Recolección de muestras

A los 7 y 14 días de crianza, se faenaron 6 animales de cada grupo. Los restantes animales se sacrificaron a los 45 días de edad. La faena se realizó acorde a las directrices para el sacrificio de animales de la OIE dentro del código sanitario para animales terrestres. Cada animal fue pesado antes de su sacrificio

Para la determinación de microorganismos cecales, se tomaron asépticamente los ciegos de las aves.

Estudios Microbiológicos del contenido cecal

Se analizó individualmente a las 6 aves faenadas a los 7 y 14 días, pero a los ciegos obtenidos de la faena a los 45 días se los agrupó en 6 pooles.

Los análisis realizados fueron exactamente iguales para el grupo control y los grupos suplementados.

El contenido cecal se tomó y recolectó en forma aséptica y fue procesado inmediatamente en el Laboratorio de Microbiología.

Las muestras de 1 g de contenido cecal se mezclaron en 9 ml de agua peptonada esterilizada y se homogeneizó utilizando un vortex durante 30 segundos.

Cada muestra cecal homogeneizada se diluyó en serie de 10^{-1} a 10^{-9} . Un ml de la dilución correspondiente fue sembrada en profundidad, por duplicado, en medios de agar selectivos para enumeración de los grupos bacterianos en estudio.

Para la determinación de bacterias lácticas se empleó agar MRS (OXOID) incubándolo a 30°C , anaeróticamente, durante 72 horas. Para

la determinación de coliformes y E. coli se usó el medio de cultivo VRB (Fluorocult de MERCK), se incubó a 37°C , anaeróticamente, durante 48 horas. Para el recuento de bacterias mesófilas aerobias se utilizó el medio Plate Count Agar (de OXOID), incubándolas a 37°C , aeróticamente, por 48 horas.

Luego de la incubación correspondiente, se realizó el recuento de las colonias en la dilución correspondiente, calculando las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de contenido cecal. El valor promedio de ambas placas se utilizó para el análisis estadístico

Análisis Estadísticos

Las variables cuantitativas se analizaron mediante un Análisis de la Varianza (ANOVA) con un nivel de significación del 1% ($P < 0,01$). La mínima diferencia significativa (LSD) se utilizó para separar los valores medios (52). Los análisis se realizaron con el programa Excel 2007.

Resultados

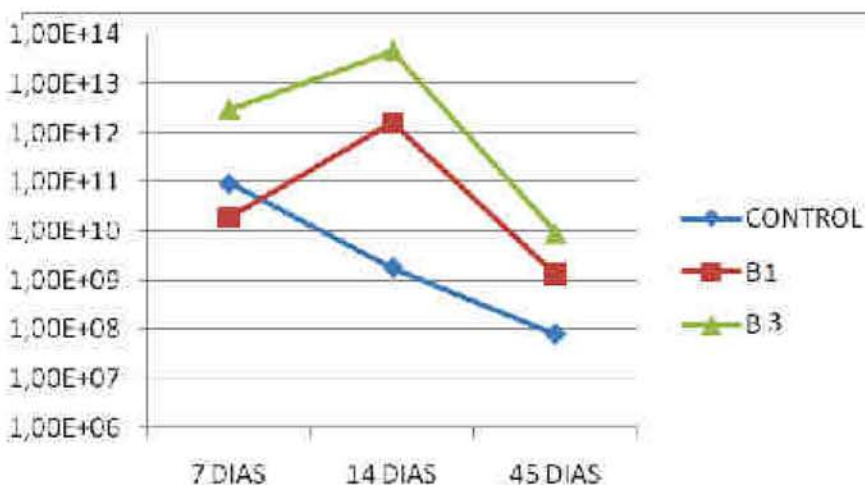


Gráfico N° 1: Recuento de bacterias mesófilas aerobias totales en el contenido cecal de pollos parrilleros

Efecto del uso de prebióticos sobre la microbiota cecal en pollos parrilleros (Gallus Gallus)

El recuento de bacterias mesófilas aerobias fue mayor al control en los dos grupos suplementados con prebióticos en prácticamente todo el ciclo productivo del pollo.

Se realizó un análisis de varianza para determinar si existe diferencia significativa en cuanto al recuento de bacterias mesófilas aerobias entre los grupos suplementados y el control (tabla 1)

Tabla 1: análisis de varianza entre los tres grupos para el recuento de bacterias mesófilas aerobias

Análisis de varianza						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,532E+13	2	7,66E+12	14,4896698	0,00504683	5,14325285
Dentro de los grupos	3,1719E+12	6	5,2866E+11			
Total	1,8492E+13	8				

Como el valor de F es mayor al F crítico y el valor de $p < 0,01$, podemos decir que existe dife-

rencia significativa entre los diferentes grupos con respecto al recuento de bacterias mesófilas aerobias.

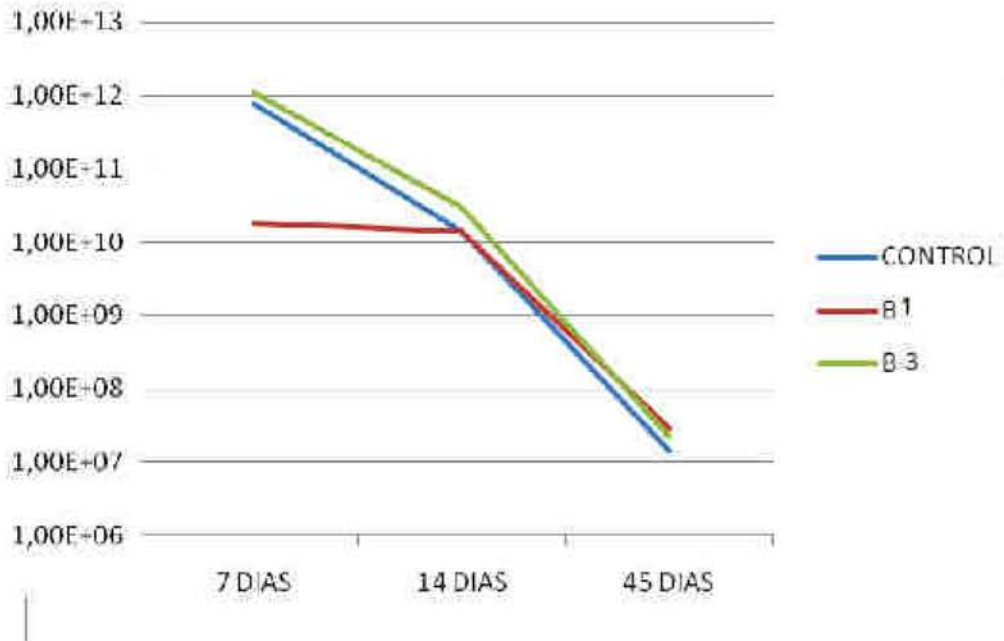


Gráfico N° 2: Recuento de bacterias coliformes totales en el contenido cecal de pollos parrilleros

Se realizó un análisis de varianza para determinar si existe diferencia significativa en cuanto

al recuento de bacterias coliformes entre los grupos suplementados y el control (tabla 2)

Tabla 2: análisis de varianza entre los tres grupos para el recuento de bacterias coliformes cecales aerobias

Análisis de varianza						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,7653E+27	2	8,8264E+26	7,10490023	0,00271612	3,28491765
Dentro de los grupos	4,0996E+27	33	1,2423E+26			
Total	5,8648E+27	35				

Como el valor de F es mayor al F crítico y el valor de $p < 0,01$, podemos decir que existe diferencia significativa entre los diferentes grupos con respecto al recuento de bacterias coliformes cecales.

Cuando se analizó la presencia de *E. coli* se vio que, al finalizar el estudio, el grupo suplementado con B1 tenía un número menor a B3 y que B3 tenía un número menor al grupo control (Gráfico N°3)

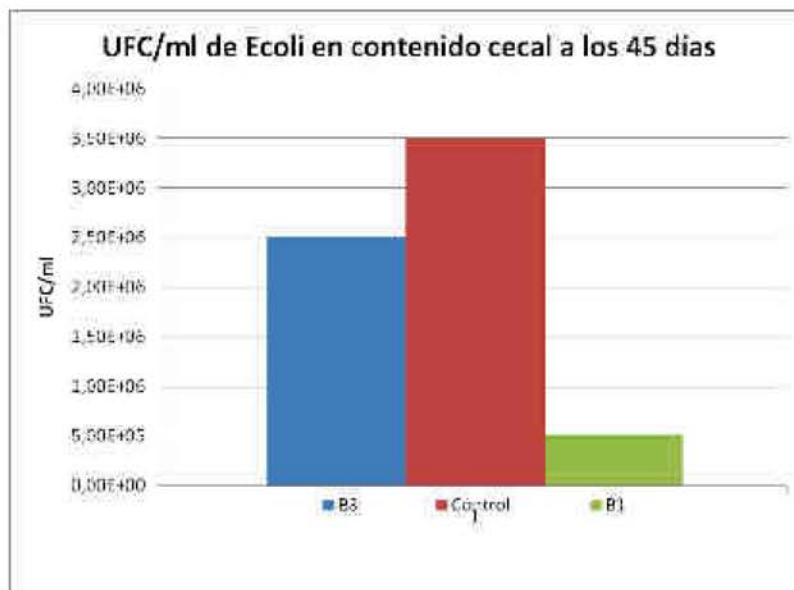


Gráfico N° 3: Recuento de *E. coli* del contenido cecal de pollos parrilleros a los 45 días

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existe diferencia significativa en cuanto al recuento de *E. coli* en contenido

cecal entre los grupos suplementados (B3 y B1) y el control (Tabla N°3)

Efecto del uso de prebióticos sobre la microbiota cecal en pollos parrilleros (Gallus Gallus)

Tabla N° 3: Análisis de varianza entre los tres grupos para el recuento de E. coli en el ciego de los pollos a los 45 días

Análisis de varianza							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	2,2004E+26	2	1,1002E+26	15,6319447	1,675E-05	3,28491765	
Dentro de los grupos	2,3226E+26	33	7,0382E+24				
Total	4,523E+26	35					

Como el valor de F es mayor al F crítico y el valor de $p < 0,01$, podemos decir que existe diferencia significativa entre los diferentes grupos con respecto al recuento de E. coli en el ciego de los pollos parrilleros a los 45 días.

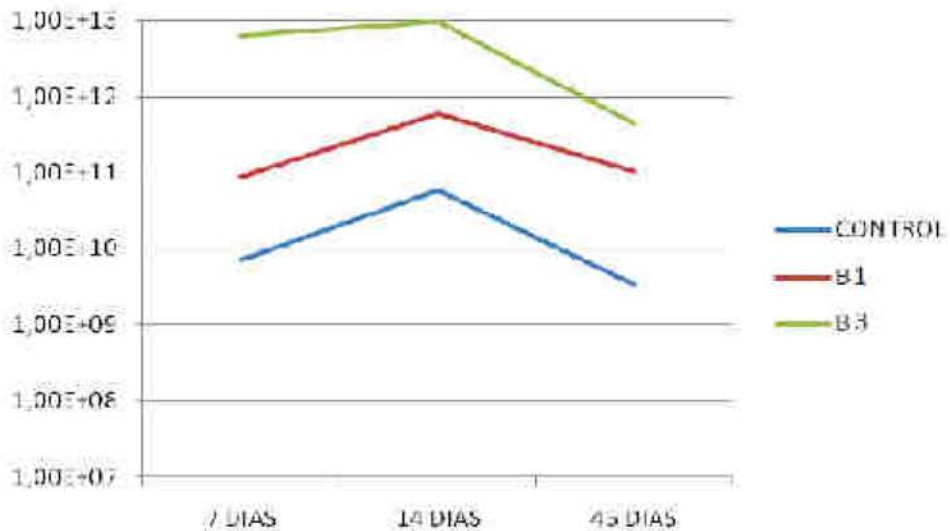


Gráfico N°4: Recuento de bacterias lácticas en el contenido cecal de pollos parrilleros

Se realizó un análisis de varianza para determinar si existe diferencia significativa en cuanto al recuento de bacterias lácticas entre los grupos suplementados y el control (tabla N°4)

Tabla 4: análisis de varianza entre los tres grupos para el recuento de bacterias lácticas del ciego

Análisis de varianza							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	1,532E+13	2	7,66E+12	14,4896698	0,00504683	5,14325285	
Dentro de los grupos	3,1719E+12	6	5,2866E+11				
Total	1,8492E+13	8					

Como el valor de F es mayor al F crítico y el valor de $p < 0,01$, podemos decir que existe diferencia significativa entre los diferentes grupos con respecto al recuento de bacterias lácticas en el ciego de los pollos parrilleros.

Posteriormente se realizará un test de Tukey para determinar entre qué grupos es la diferencia estadística obtenida.

Discusión

En nuestro trabajo de investigación pudimos ver que las bacterias autóctonas beneficiosas, mesófilas y lácticas, alojadas en los ciegos de los pollos parrilleros, aumentaron en su número en los dos grupos suplementados con dos prebióticos diferentes (B1 y B3) con respecto al grupo control.

La explicación de este efecto beneficioso en la microbiota de los ciegos por parte de los prebióticos no está muy clara aún. Se acepta que el principal efecto beneficioso directo atribuible a los prebióticos es inducir cambios en la microflora intestinal por la estimulación selectiva de bacterias promotoras de crecimiento (6). Las bacterias lácticas autóctonas se las considera beneficiosas, ya que pueden contribuir positivamente a mejorar el equilibrio microbiano intestinal a través de una reducción en el establecimiento de especies patógenas en el intestino y en última instancia, para mejorar la salud del huésped (6, 4).

Respecto de los prebióticos compuestos por oligosacáridos, su efecto se podría explicar considerando que la fermentación de los fructanos por parte de los microorganismos del ciego trae como consecuencia una disminución en el pH, debido a los productos generados (ácidos carboxílicos, lactato y acetato) (44, 33, 53). La disminución en el pH provocada al fermentarse los fructanos presentes en los alimentos y darse

una intensa generación de ácidos carboxílicos de cadena corta, da como resultado una alta tasa de mortalidad de patógenos intestinales sensibles a la acidificación disminuyendo paralelamente sus posibilidades de colonización y translocación (6, 32, 54, 38, 55); no obstante una sobreacidificación debida a altas concentraciones de ácidos orgánicos podría verse vinculada con una inducción de lesiones a la mucosa intestinal comprometiendo su función de barrera (56).

La prevención y reducción de los patógenos se da debido también a la producción de bacteriocinas y otros agentes antimicrobianos, la competencia por sitios de adhesión en las mucosas, la competencia por nutrientes y la producción de inhibidores como el lactato y el acetato (46).

Los productos de la fermentación están constituidos por un 55% de ácidos grasos volátiles de cadena corta (ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico), 10% de gases (CO_2 , CH_4 , H_2) y un 35% de biomasa bacteriana para un valor energético total de 1,0 a 1,5 kcal/g (57, 54, 33). La mayor parte de los ácidos grasos producidos son ampliamente absorbidos en la sangre desde donde son distribuidos al hígado y a los tejidos periféricos induciendo cambios en el metabolismo de las grasas y de la glucosa (39, 58). Estudios recientes indican que algunas de estas moléculas también cumplen papeles importantes como moduladores de vías metabólicas primordiales. El butirato producido en la fermentación está asociado por ejemplo con la producción de mucinas, que son complejos de glicoproteínas que componen el gel que recubre el epitelio gastrointestinal. El proceso fermentativo y sus productos pueden ser relacionados entonces con un efecto beneficioso importante (40).

La colonización de una población de lactobacilos intestinales y bifidobacterias se ha aso-

ciado con la competencia y la exclusión de agentes patógenos (40, 59) y la secreción de sustancias antimicrobianas contra los patógenos (46, 60, 61).

En concordancia con investigaciones previas (62), los resultados del presente estudio demostraron que los prebióticos puede tener un efecto estimulante sobre el crecimiento de las bacterias lácticas en el tracto gastrointestinal de los pollos parrilleros, en comparación con el grupo control.

En contraste con estos resultados, otros investigadores han observado poco o ningún efecto de prebióticos en la microbiota intestinal en pollos parrilleros (63, 64, 65).

En nuestro trabajo se pudo observar la reducción del número de *E. coli* en los grupos suplementados con prebióticos con respecto al control, al final del ciclo productivo, concordando con otros trabajos que sugieren que los Mannanligosacaridos reducen la concentración de *E. coli* y *Campylobacter* en el ciego, pero esta respuesta sólo se observó a los 34 días (66).

Conclusiones

Luego de investigar los efectos en la flora microbiana cecal en los pollos parrilleros, después de haber suplementado el alimento con dos tipos de prebióticos diferentes, B1 (Fructooligosacárido) y B3 (*Cynara* más *Colina*), provistos por Bedson S. A., pudimos afirmar que el número de bacterias lácticas y de bacterias mesófilas aisladas de los ciegos, fue mayor y estadísticamente significativa ($p < 0,01$) con respecto a los recuentos realizados en el grupo control.

Con respecto a las bacterias coliformes también existió diferencia estadísticamente significativa entre los grupos suplementados con prebióticos y el grupo control.

El recuento de *E. coli* fue estadísticamente menor en los grupos suplementados con prebió-

ticos al final del ciclo productivo.

Los mecanismos por los cuales las bacterias autóctonas intestinales inhiben patógenos incluyen la competencia para los sitios de colonización, la competencia por los nutrientes, la producción de compuestos tóxicos, o la estimulación de la respuesta inmune del sistema. Estos mecanismos no son mutuamente exclusivos, y la inhibición puede comprender uno, varios o todos estos mecanismos.

Considerando que los prebióticos con los que se suplementó la dieta estaban constituido por FOS (B1) y Extracto de Alcachofa (B3) y teniendo en cuenta que la reserva de glúcidos en la planta de Alcachofa está representada casi en su totalidad por fructanos, podemos concluir que la suplementación con dichas sustancias prebióticas en la alimentación de pollos parrilleros, influye positivamente en el contenido microbiano de los ciegos. Aumenta el recuento de bacterias que forman parte de la flora normal, tales como bacterias lácticas, mesófilas y coliformes. Mientras que el recuento de bacterias patógenas, tales como *E. coli*, fue menor en los grupos tratados con prebióticos.

Referencias

1. Martine S Alles, Ralf Hartemink, Saskia Meyboom, Jan L Harryvan, Katrien MJ Van Laere, Fokko M Nagengast, and Joseph GAJHautvast. 1999. Effect of transgalactooligosaccharides on the composition of the human intestinal microflora and on putative risk markers for colon cancer. *Am J Clin Nutr.* 69: 980-91.
2. Lan, Y., B. A. Williams, M. W. A. Versteegen, R. Patterson, and S. Tamminga. 2004. Soy oligosaccharides in vitro fermentation characteristics and its effect on caecal

- microorganisms of young broiler chickens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 133:286–297.
3. Jin L. Z., Y. W. Ho, N. Abdullah, and S. Jalaludin, 1998. Growth Performance, Intestinal Microbial Populations, and Serum Cholesterol of Broilers Fed Diets Containing *Lactobacillus* Cultures. *Poultry Science* 77:1259-1265
 4. Patterson, J. A., and K. M. Burkholder. 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poult. Sci.* 82:627–631.
 5. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66:365–378
 6. Gibson, G. R., and M. B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125:1401–1412.
 7. Bailey, J. S., L. C. Blankenship, and N. A. Cox. 1994. Effect of fructooligosaccharide on *Salmonella* colonization of the chicken intestine. *Poult. Sci.* 70:2433–2438.
 8. Ammerman, E., C. Quarles, and P. V. Twining. 1988a. Effect of fructooligosaccharide on feed efficiency in floor-pen reared male broilers. *Poult. Sci.* 67(Suppl. 1):1. (Abstr.)
 9. Ammerman, E., C. Quarles, and P. V. Twining. 1988b. Broiler response to the addition of dietary fructooligosaccharides. *Poult. Sci.* 67(Suppl. 1):46. (Abstr.)
 10. Ammerman, E., C. Quarles, and P. V. Twining. 1989. Evaluation of fructooligosaccharides on performance and carcass yield of male broilers. *Poult. Sci.* 68(Suppl. 1):167. (Abstr.).
 11. Wu, T. X., X. J. Dai, and L. Y. Wu. 1999. Effects of fructooligosaccharide on the broiler production. *Acta Agric. Zbejiangensis* 11:85–87.
 12. Roberfroid, M. B. ; Loo, J. V. ; Gibson, G. R. ; Van, L. J. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *Journal of Nutrition* 128(1): 11-19.
 13. Hidaka, H., T. Eida, and T. Hamaya. 1986. Livestock feed containing inulooligosaccharides and breeding of livestock by using the same. European Patent N° 017026A2.
 14. Choi, K. H., H. Namkrng, and I. K. Paid. 1994. Effects of dietary fructooligosaccharide on the suppression of intestinal colonization of salmonella typhimurium in broiler chickens. *Korean J. Anim. Sci.* 36:271–284.
 15. Bunce, T. J., M. D. Howard, G. L. Allee, and L. W. Pace. 1995. Protective effects of fructooligosaccharide (FOS) in prevention of mortality and morbidity from infectious *E. coli* K:88 challenge. *J. Anim. Sci.* 73(Suppl. 1):69. (Abstr.)
 16. Xu, Z. R., C. H. Hu, and M. Q. Wang. 2002. Effects of fructooligosaccharide on conversion of L-tryptophan to skatole and indole by mixed populations of pig fecal bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 48:83–89.
 17. Hogarth, A. J. ; Hunter, D. E. ; Jacobs, W. A.; Garleb, K. A. ; Wolf, B. W. 2000. Ion chromatographic determination of three fructooligosaccharide oligomers in prepared and preserved foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(11):5326-5330.

18. Yun, J. W. 2003. Fructooligosaccharides: occurrence, preparation and applications (en línea). Consultado 24 Octubre 2013. Disponible en: <http://biho.tae.ac.kr/~jwyun/yun15.htm>.
19. Suzuki, M.; Chatterton, N. J. 1996. Science and technology of fructans. CRC Press. USA.
20. Vijin, I.; Smeekens, S. 1999. Fructan: more than a reserve carbohydrate? *Plant Physiology* 120: 351-359.
21. Raccuia, S. A.; Melilli, M. G.; Scandurra, S. 2004. Potential utilization of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. subsp. *scolymus* (L.) Hegl] crop residues: biomass for energy and roots for inulin production. *Acta Horticulturae* 660: 607-613.
22. Schultheis, J. 1999. Growing Jerusalem Artichokes. N. C State University Information Leaflets. USA.
23. Douglas, J. A.; Scheffer, J. J. C.; Sims, I. M.; Triggs, C. M. 2002/2003. Maximizing fructooligosaccharide production in yacon. *Agronomy New Zealand* (32/33): 49-55.
24. Gibson, G. R., E. R. Beatty, X. Wang, and J. H. Cummings. 1994. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 108:975-982.
25. López, D.; Navarro, M. D.; Rojas Melgarejo, F.; Hiner, A. N. P.; Chazarras, S.; Rodríguez, J. N. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry* 66(12): 1476-1484.
26. Saengthongpinit, W.; Sajjaanantakul, T. 2005. Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Postharvest Biology and Technology* 37(1): 93-100.
27. Stoev S. D., Stefanov M., Denev S., Radic B, Domijan A. and Peraica M., 2004. Experimental micotoxicosis in chickens induced by Ocratoxin A and Penicillic Acid and intervention with natural plant extract. *Vet. Res. Com* 28: 727-746.
28. Mcbain, A. J.; Macfarlane, G. T.; Vonk, R. J. 1997. Investigations of bifidobacterial ecology and oligosaccharide metabolism in a three stage compound continuous culture system. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 32(222): 32-40.
29. Flamm, G.; Glinsmann, W.; Kritchevsky, D.; Prosky, L.; Roberfroid, M. 2002. Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 41(5): 353-362.
30. Cherbut, C. 2002. Inulin and oligofructose in the dietary fiber concept. *British Journal of Nutrition* 87(2): S159-S162.
31. Rosado, J.; Ordanza, M. 2003. Prebióticos y probióticos: efectos e implicaciones en la fisiología de la nutrición (en línea). Consultado 28 septiembre 2013. Disponible <http://www.nutrar.com/detalle.asp?ID=2358>.
32. Niness, K. 1999. Breakfast foods and the health benefits of inulin and oligofructose. *Cereal Foods World* 44(2): 79-81.
33. Lendorio, R. 2003. Oligosacáridos como ingredientes funcionales (en línea). Consultado 24 octubre. 2013. Disponible en: <http://>

- /www.icofma.es/vocalias/alimentacion/oligosacaridos1.htm.
34. Delzenne, N. M. ; Daubioul, C. ; Neyrinck, A. ; Lasa, M. ; Taper, H. S. 2002. Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects. *British Journal of Nutrition* 87(2): S255-S259.
 35. Rabe, E. 1999. Effects of processing on dietary fiber in foods. In: Sunsoo, S; Prosky, L ; Dreher, M. eds. Complex carbohydrates in foods. New York. Marcel Drekker Inc. 676 p.
 36. Roberfroid, M. B., J. A. E. Vanloo, and G. R. Gibson. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J. Nutr.* 128:11-19.
 37. Hopkins, M. J. ; Cummings, J. H. ; Macfarlane, G. T. 1998. Inter-species differences in maximum specific growth rates and cell yields of bifidobacteria cultured on oligosaccharides and other simple carbohydrate sources. *Journal of Applied Microbiology.* 85(2) 381-386.
 38. Butel, M. J. ; Catala, I. ; Waligora dupriet, A. J. ; Taper, H. ; Tessedre, A. C. ; Durao, J. ; Szyliet, O. 2002a. Protective effect of dietary oligofructose against cecitis induced by clostridia in gnotobiotic quails. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 13(3): 166-172.
 39. Roberfroid, M. 2001. Prebiotics: preferential substrates for specific germs. *American Journal of Clinical Nutrition* 65(5):405-408.
 40. Roberfroid, M. B. 1999. Dietary fiber properties and health benefits of non digestible oligosaccharides. In: Sunsoo, S; Prosky, L. ; Dreher, M. eds. Complex carbohydrates in foods. New York. Marcel Drekker Inc. 676 p.
 41. Perrin, S. ; Warchol, M. ; Grill, J. P. ; Schneider, F. 2001. Fermentations of fructooligosaccharides and their components by *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 on batch culture in semi synthetic medium. *Journal of Applied Microbiology* 90(6):859-865.
 42. Wang, N. ; Park, S. 1997. Phloem transport of fructans in the crassulace acid metabolism species *Agave deserti*. *Plant Physiology.* 116(2): 709-714.
 43. Kaplan, H. ; Hutkins, R. W. 2000. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 66(6): 2682-2684.
 44. Durieux, A. ; Fougnyes, C. ; Jacobs, H. ; Simon, J. P. 2001. Metabolism Of Chicory Fructooligosaccharides by bifidobacteria. *Biotechnology Letters* 23(18):1523-1527.
 45. Fuchs, A. 1987. Potentials for non food utilization of fructose and inulin. *Starke* 10:335-343.
 46. Gibson, G. R. 2004. From probiotics to prebiotics and a healthy digestive system. *Journal of Food Science* 69(5): M141-M143.
 47. Stavric, S., and E. T. Kornegay. 1995. Microbial probiotics for pigs and poultry. Pages 205–231 in *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. R. J. Wallace, and A. Chesson, ed. VCH, New York.
 48. Rolfe, R. D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.* 130:396S–402S.

49. Fuller, R. and Gibson, G. R., 2000. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *J. Nutr.* 130:391S-395S.
50. Anderson, D. B., V. J. McCracken, R. I. Aminov, J. M. Simpson, R. I. Mackie, M. W. A. Verstegen, and H. R. Gaskins. 2000. Gut microbiology and growth-promoting antibiotics in swine. *Pig News Inf.* 20:1115N-1122N.
51. Smith, D. L., J. A. Johnson, A. D. Harris, J. P. Furuno, E. N. Perencevich, and J. G. Morris. 2003. Assessing risks for a preemergent pathogen: Virginiamycin use and the emergence of streptogramin resistance in *Enterococcus faecium*. *Lancet Infect. Dis.* 3: 241-249.
52. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie, 1980. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. 2nd Ed. McGraw-Hill Book Co., New York, NY.
53. Tokunaga, T. 2004. Novel physiological function of fructooligosaccharides. *BioFactors* 21(1/4): 89-94.
54. Murphy, O. 2001. Non polyol low digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *British Journal of Nutrition* 85(1): S47-S53.
55. Butel, M. J. ; Catala, I. ; Waligora dupriet, A. J. ; Taper, H. ; Tessedre, A. C. ; Durao, J. ; Szyliet, O. 2002b. Oligofructose and experimental model of neonatal necrotizing enterocolitis. *British Journal of Nutrition* 87(2): S213-S219.
56. Bruggencate, S. J. M. 2004. Dietary non-digestible carbohydrates and the resistance to intestinal infections. Tesis Doctoral. Wageningen, Holanda. Wageningen University. 159 p.
57. Loo, V. ; Van, L. 1995. Voedingsvezels inuline en oligofructose als aanvulling op voeding. *Voeding* 56: 4, 610.
58. Giacco, R. ; Clemente, G. ; Luongo, D. ; Lasorella, G. ; Fiume, I. ; Brouns, F. ; Bornet, F. ; Patti, L. ; Cipriano, P. ; Rivellese, A. A. ; Riccardi, G. 2004. Effects of short-chain fructo-oligosaccharides on glucose and lipid metabolism in mild hypercholesterolaemic individuals. *Clinical Nutrition* 23(3): 331-340.
59. Van der Wielen, P. W., L. J. Lipman, F. Van Knapen, and S. Biesterveld. 2002. Competitive exclusion of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis by *Lactobacillus crispatus* and *Clostridium lactatifermentans*
60. Jin, L. Z., Y. W. Ho, N. Abdullah, M. A. Ali, and S. Jalaludin. 1996a. Influence of dried *Bacillus subtilis* and lactobacilli cultures on intestinal microflora and performance in broilers. *Asianaustralas. J. Anim. Sci.* 9: 397-403.
61. Jin, L. Z., Y. W. Ho, N. Abdullah, M. A. Ali, and S. Jalaludin. 1996b. Antagonistic effects of intestinal lactobacillus isolates on pathogen of chicken. *Lett. Appl. Microbiol.* 23: 67-71.
62. Rada, V., D. Duskova, M. Marounek, and J. Petr. 2001. Enrichment of bifidobacteria in the hen caeca by dietary inulin. *Folia Microbiol. (Praha)* 46: 73-75.
63. Yusrizal, Y., and T. C. Chen. 2003. Effect of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance, serum cholesterol and intestinal length. *Int. J. Poult. Sa.* 2: 214-219.

64. Biggs, P., and C. Parsons. 2005. The effect of oligosaccharides on growth performance, nutrient utilization and cecal microbes in young chicks. *Poult. Sci.* 84(Suppl. 1):151. (Abstr.)
65. Rehman, H., P. Hellweg, D. Taras, and J. Zentek. 2008. Effects of dietary inulin on the intestinal short-chain fatty acids and microbial ecology in broiler chickens as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Poult. Sci.* 87: 783-789.
66. Fernandez, F., M. Hinton, and B. Van Gils. 2002. Dietary mannan oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to *Salmonella* Enteritidis colonization. *Avian Pathol.* 31: 49-58.

Agradecimientos

Empresas BEDSON por la donación de los prebióticos utilizados en este ensayo
Avícola SOFÍA por la donación de los pollos BB.
Consejo de Investigación de la UCASAL.