

CONTROL DE LA SALMONELLOSIS EN POLLAS POR EFECTO DE LA MICROFLORA INTESTINAL*

VICTOR J. VERA A. **
HERNAN MORALES A. **
TIRSO DE P. MOLINA **

1. RESUMEN

Se ensayaron dos tipos de microflora intestinal de ave adulta (una de campo y la otra de explotación industrial) para probar su efecto inhibitorio en la colonización de la *Salmonella pullorum* en grupos de pollas de diferentes edades, sin encontrarse diferencias significativas entre una y otra, resultando protegida el 70% de la población y abreviando el período de excreción, cuando se colocaban en contacto con aves diseminadoras de la enfermedad; se estableció que la protección era conferida a aves de 1 días, ya que la resistencia aumentaba con la edad.

* Resumen del trabajo dirigido para optar al título de Maestría en Microbiología del programa de graduados Universidad Nacional - ICA.

** Respectivamente:

DMV que desarrollo el trabajo. Profesor Asistente - Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia - Universidad Nacional de Colombia - Bogotá.

- Director del trabajo D.M.V.Z., MSc Profesor Asociado F.M.V.Z. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Codirector del Trabajo-CMVZ-, MSc, PhD-ejercicio particular.

Parece ser que el mecanismo protector se debe a una exclusión competitiva entre la microflora normal del tracto gastro intestinal y la *Salmonella sp.* por sitios de adherencia en mucosa intestinal.

2. INTRODUCCION

La salmonelosis aviar es una enfermedad bacteriana de distribución mundial, considerada como un grave problema para el desarrollo de la industria avícola.

En algunos países la enfermedad se ha distribuido a pesar de las severas medidas de control (14, 17, 26). La transmisión en nuestro medio se ha facilitado por las deficientes medidas de control tomadas, las cuales han permitido la rápida y difusa expansión, aumentando los costos de producción y reduciendo el suministro de otra fuente de proteína.

La eliminación de animales positivos como medida de control y erradicación de la enfermedad no ha tenido la mejor colaboración de la industria avícola, haciéndose necesario el conocimiento de nuevas metodologías que garanticen el éxito de futuras campañas.

Con el presente trabajo se pretende establecer el papel que juega la microflora intestinal de aves adultas, en la protección de pollos contra *Salmonella pullorum*, determinado con ello las perspectivas para la utilización práctica de este factor como ayuda a la preventión y control de la enfermedad en galpones comerciales.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Cepa experimental

Se empleó la cepa variante de *Salmonella pullorum* obtenida de aislamientos de casos de campo.

3.2. Animales de experimentación

Se hicieron dos grupos con pollos de la raza Shaver Starbo; el primero (90 aves) se utilizó para establecer la dosis infectiva cincuenta y el segundo (192 aves) en la determinación del efecto protector de la microflota intestinal de aves adultas.

3.3. Determinación de la dosis infectiva 50%.

Se determinó en grupos de 30 animales de: 1:14 y 28 días de edad, a partir de diferentes concentraciones de la cepa experimental. La determinación de animales positivos se hizo por aislamiento de *S. pullorum* de los animales sacrificados 24 horas después de la descarga.

3.4. Microflota intestinal protectora

Se utilizó materia fecal de gallinas levantadas en condiciones de campo y materia

fecal de gallinas de explotación avícola industrial. Se cultivaron en anaerobiosis y se suministraron por vía oral individualmente, a diferentes concentraciones en los grupos establecidos por edades.

3.5. Infección con *Salmonella pullorum*

Luego de pretratamiento de los diferentes grupos (12 aves por grupo) con la microflora intestinal de aves de campo y de explotación industrial, se colocaron 48 horas después en contacto con grupos de aves (5 aves) de la misma edad infectadas por la D.I. 50 de *S. Pullorum* correspondiente.

3.6. Aislamiento de *S. Pullorum*

Semanalmente se hizo cultivo bacteriológico individual de materia fecal y se sacrificaron a los 56 días de edad con toma de muestras para cultivo bacteriológico de hígado, bazo, intestino y ciego.

4. R E S U L T A D O S

4.1. Determinación de la D.I. 50 de *S. Pullorum*

Los resultados obtenidos se interpretaron por el método de Red y Muench estableciéndose para pollas de 1 día a $10^{5.3}$ bacterias; de 14 días: $10^{7.25}$ bacterias y de 28 días 10^8 bacterias.

4.2. Determinación del efecto protector de la microflora

Efecto de la edad: Se encontró mayor positividad a la infección con *Salmonella* en aves inoculadas al 1er. día y 14 días de edad.

4.3. Efecto de la Microflora: El mayor número de casos positivos se presentó en aves sin suministro de microflora y al día 28 de edad, no hubo ninguna ave positiva a *Salmonella pullorum*, en los grupos a los cuales se le suministró microflora.

Al análisis de varianza se encontraron diferencias altamente significativas tanto para el efecto de la edad como para el efecto de la microflora.

No hubo diferencias significativas entre la inoculación al 1er. día de edad. Con relación a la microflora, las diferencias fueron altamente significativas entre el grupo sin pretratar con microflora y los pretratados.

5. D I S C U S I O N

Se ha demostrado ampliamente que la microflora intestinal de aves adultas interfiere con la colonización de la *Salmonella sp.* de ubicación local a nivel del tracto digestivo (14, 19, 37), sin que hasta el momento se haya estudiado la posibilidad de protección por la microflora intestinal para salmonellosis sistémica a excepción del estudio realizado por Silva y colaboradores (30) con *S. Gallinarum*.

El presente trabajo se realizó con pollas comerciales a diferentes edades con el fin de establecer la susceptibilidad o resistencia a la infección, aunque para Snoeyembos y colaboradores (37) no hay diferencia ni con raza, sexo o línea, cuando se pretratan con microflora intestinal, mientras que para otros investigadores hay una marcada infectividad de la *S. gallinarum* en relación con susceptibilidad genética y edad del huésped (10, 16, 34).

La microflora que se suministró fue obtenida de cultivo anaeróbico de materia fecal de gallinas adultas, con base en las experiencias concluyentes de Ochi y colaboradores (13), aunque se pensó que el mecanismo de protección era dado por una mezcla de bacterias aeróbicas y anaeróbicas (37). La microflora fue suministrada antes de ponerse en contacto las aves pretratadas con las infectadas con *S. pullorum*, por existir una competición directa entre la microflora y la bacteria patógena por los sitios de adherencia en la mucosa intestinal (12, 32, 33, 36).

Lo anterior sugiere que la exclusión competitiva puede ser no solo de valor en la protección contra *Salmonella sp.*, sino también contra otras infecciones neonatales como la infección por *Escherichia coli* (23).

Es importante tener en cuenta que el suministro de estas preparaciones lleva la posibilidad de introducir otro tipo de patógenos a las aves.

Ha sido difícil establecer cuál es exactamente la bacteria o grupo de bacterias que ejercen este efecto aunque se ha demostrado protección con *Clostridium sp.* hasta por 33 días (24), con *Streptococcus faecalis sp.* en piso de alambre (32) entre otras.

Estas aves fueron mantenidas con raciones libres de antibióticos, ya que estudios previos han establecido que varios de éstos y otros químicos pueden eliminar algunos componentes de la flora intestinal (20, 37).

Los resultados obtenidos con respecto a la eliminación por materia fecal de *S. Pullorum* establecieron una protección del 70% para animales pretratados con microflora, en contraposición con el grupo de aves sin pretratar que fue del 100%, lo cual confirma hallazgos previos sobre la bondad de la microflora para salmonellas de ubicación local (31, 32) y para *S. gallinarum* de carácter sistemático (30). El número de animales positivos fue decreciente con la edad y la microflora abrevió el tiempo de infección.

Aunque estadísticamente no hubo diferencias significativas, se tuvo un mejor efecto para la microflora intestinal proveniente de aves de campo con relación a la microflora de aves de granja, mantenida con raciones comerciales (Figuras 1 y 2).

Lo anterior indica que con la integración a las raciones alimenticias de antibacterias

nos y otras sustancias que puedan promover el desarrollo de las aves, se está produciendo un desequilibrio en el ecosistema intestinal coincidiendo ésto con lo expresado por Lloyd y colaboradores (12).

La constitución de la microflora en el ave adulta, trae como consecuencia hacerla refractaria a la infección (18), lo que coincide con los resultados obtenidos para animales de 28 días de edad a los cuales no se les recuperó la *S. pullorum* de su materia fecal.

Aunque para el día 49 (último día de toma de materia fecal) no se logró ningún aislamiento de *S. pullorum*, hubo persistencia de la enfermedad al aislarlo de órganos internos el día 56, lo cual explica la eliminación periódica de *S. pullorum* de acuerdo a escapes que tienen de estos órganos donde originan la infección primaria (6).

Los resultados obtenidos establecen una perspectiva promisoria dentro del control de la pullorosis sugiriendo que, la exclusión competitiva de la microflora intestinal junto con otras metodologías, como lisofilización de la microflora para hacer de ésta una práctica simple en su utilización a gran escala, y estudios que caractericen el agente responsable de efecto protectivo, podrían ser de invaluable ayuda en el control de la enfermedad.

6. S U M M A R Y

It was tested two types of intestinal microflora of adult chickens (one from field and other from the industrial exploitation) for testing their inhibitory effect in the colonization of the *Salmonella pullorum* in groups of pullets of different ages, without finding significant differences between them, resulting protected the 70% of the population and abbreviating the period of excretion when were placed in contact with the seeders birds it was found that the protection was given in pullets of one day; old because the resistance increased with the age.

The protective mechanism appears to be a consequence of competitive exclusion between the normal intestinal microflora of the gastrointestinal tract and the *Salmonella* sp. by sites of attachment on the intestinal mucosa.

9. BIBLIOGRAFIA

1. ASERKOFF, B.; BENNETT, J. V. Effect on antibiotic therapy in acute salmonellosis on the fecal excretion of salmonellae. *The New England Journal Medicine.* v. 281 No. 12, p. 636-640. 1969.
2. BARNES, E. The avian intestinal flora with particular reference to the possible ecological significance of the anaerobic bacteria. *American Journal Clinical Nutrition* (Estados Unidos) v. 25, p. 1474-1479. 1972.
3. BARNES, E. Ecological concepts of the anaerobic flora in the avian intestine. *American Journal Clinical Nutrition.* (Estados Unidos) v. 30, p. 1973-1798. 1977.
4. ;, MEAD, G.; BARNUN, D. The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. *British Poultry Science.* v. 13, p. 311-326. 1972.
5. BOWMAN, P.; CUMMING, G.; LLOYD, B. Further studies on competitive exclusion in controlling salmonella infections in young chicks. *Proc. 1 St. A Asian Poultry and Stock Feed Convention.* Melbourne Australia. p. 318-319. 1976.
6. CALNEK, B.; HEMBOLDLT, C.; REID, W.; YODER, H. Sixth ed. United States, Editorial Board, 1972. 100 p.
7. COSTERTON, J.; GEESEY, G.; CHENG, K. How bacteria stick, *Scientific American* (Estados Unidos) v. 238 No. 1, p. 86-95. 1978.
8. DIXON, L. Effect of antibiotic treatment on duration of excretion of *Salmonella typhimurium* by children. *British Medical Journal* v. 2, p. 1343-1345. 1965.
9. FULLER, R. Epithelial attachment and other factors controlling the colonization of the intestine of the gnotobiotic chicken by lactobacilli. *Journal Applied Bacteriology* (Estados Unidos) v. 45 No. 3, p. 389-395. 1978.
10. GARREN, H.; HILL, O. Agglutination antibody titers of young white leghorn and rhode island reds following inoculation with live and inactivated *Salmonella gallinarum* cultures. *Poultry Science* (Estados Unidos) v. 38, p. 918-922. 1959.
11. HUGHES, K. Recent knowledge of the strict anaerobes of the gut. *Australian Veterinary Journal.* v. 48, p. 508-514. 1972.
12. LLOYD, A.; CUMMING, R.; KENT, R. Prevention of *Salmonella typhimurium* infection in poultry by pretreatment of chickens and pults with intestinal extracts. *Australian Veterinary Journal.* v. 53, p. 82-87. 1977.

13. MILNER, K.; SHAFFER, M. Bacteriology studies of experimental salmonella infections in chicks. *The Journal of Infectious Diseases* (Estados Unidos) v. 90 No. 1, p. 81-96. 1952.
14. NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of salmonella infection in broiler production. *Nature* (Inglaterra) v. 241, No. 5386, p. 210-211. 1973.
15. OCHI, T.; MITSUOKA, T.; SEGA, T. Untersuchungen über die darmflora des, huhnes. III Mitteilung: Die Entwickl und der Darmflora von Küken bis zum Huhm. *Zentbl. Bakt. Parasit. Kde. Abt. 1 orig.* v. 193, p. 80-95. 1964.
16. PEUZNER, I.; TROWBRIDGE, C.; NORDSKOG, A. Mortality differences associated eith divergent selection for immune response to *salmonella pullorum* within B blood group genotypes in chickens. *Poultry Science* (Estados Unidos) v. 57, p. 1180. 1978.
17. RAEVOURI, M.; SEUNA, E.; NURMI, E. An epidemic of *S. infantis* infection in Finnish broiler chickens in 1975-1976. *Acta Veterinary Scandinavica* v. 19, p. 317-330. 1978.
18. RANTALA, M. Cultivation of bacterial flora able to prevent the colonization of *Salmonella infantis* in the intestine of broilers chickens, and its use. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica Section B.* v. 82 No. 1, p. 75-80. 1974.
19. .; NURMI, E. Prevention of the growth of *Salmonella infantis* in chicks by the flora of the alimentary tract of chickens. *British Poultry Science.* v. 14, p. 627-630. 1973.
20. .; . Hazards involver in the use losis in broiler chickens. *Journal Hygiene* (Inglaterra) v. 72, p. 349-354. 1974.
21. REED, L.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty per cent end points. *The American Journal of Hygiene* (Estados Unidos) v.27 No. 3, p. 493-497. 1938
22. REYES, C.P. *Diseño de experimentos aplicados*. México, Editorial Trillas 1980. 112 - 195 p.
23. RIBGY, C.; PETTIT, J. Observations on competitive exclusion for preventing *Salmonella thyphimurium* infection of broiler chickest. *Avian Diseases* (Estados unidos) v. 24 No. 3, p. 604-615. 1982.
24. .; ROBERTSON. The effect of normal intestinal lora on the salmonella carrier state in poultry with special reference to *S. thompson* and *S. thyphimurium* in Proc. Int. Symp on *Salmonella* and prospects for control. University of Guelph

(Canadá) 1977

25. ROSENSTEIN, B. Salmonellosis in infante and children. Epidemiologic and therapeutic considerations. Journal Pediatric (Estados Unidos) v. 70, p. 1 - 7 . 1967