

Alternativa natural frente a alteraciones patológicas en el tracto digestivo en conejo de cebo

Natural alternative to pathologic alterations on digestive tract in fattening rabbit

Domingo P.*, Martínez C., Olave M., Martín B.

Somvital, Calle Manfredonia 10, naves 1-2, 50197 Zaragoza, España

*Dirección de contacto: info@somvital.com

Resumen

Dos de los mayores problemas de salud pública y sanidad animal son el desarrollo de resistencias a los antimicrobianos y la escasez de tratamientos alternativos. Esta situación ha llevado al desarrollo de un Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN) que tiene por objeto reducir el uso de antibióticos. Por ello, nos vemos en la necesidad de estudiar alternativas eficaces como son los aceites esenciales. El objetivo de este estudio fue la evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales y ácidos orgánicos como posible alternativa natural frente a alteraciones digestivas en conejo de cebo. El producto empleado fue ARVITAL SE[®], formulado a base de extracto de *Allium sativum*, de *Origanum vulgare* y de *Yuca schidigera* y ácidos orgánicos (ácido butírico, láurico, caprílico, fórmico, propiónico y acético). Primero se realizó un estudio *in vitro* para valorar el efecto antibacteriano de ARVITAL SE[®] y posteriormente se diseñaron dos experimentales *in vivo* con diferentes protocolos de aplicación. El estudio *in vitro* corroboró el efecto antibacteriano de ARVITAL SE[®]. Se diseñaron dos protocolos diferentes de administración de ARVITAL SE[®] durante el período de cebo para poder determinar la dosis adecuada. En ambos casos se consiguió criar el grupo experimental sin la administración de antibióticos en agua de bebida. En cambio, el grupo control (no tomó ARVITAL SE[®]) tuvo que ser tratado en ambos experimentales con antibiótico en agua de bebida. Para concluir, la administración de ARVITAL SE[®] ayuda a controlar las alteraciones patológicas producidas en el tracto digestivo en conejo de cebo sin la necesidad de realizar tratamientos con antibiótico en agua de bebida. Adicionalmente, cuando se administra a bajas dosis durante todo el cebo mejora la ganancia media diaria, obteniendo animales con mayor peso final.

Palabras clave: Aceites esenciales, Ácidos orgánicos, Enteropatía, Antibiótico.

Abstract

Two of the main public and animal health problems are the development of antimicrobial resistances and the scarcity of alternative therapies. This situation leads to develop a National Plan against Antibiotic Resistance (PRAN) which its objective is to reduce the use of antibiotics. Therefore, the necessity to study effective alternatives as essential oils is increasing. The aim of this study was to assess the antimicrobial effect of essential oils and organic acids as a possible natural alternative opposite pathologic alteration in fattening rabbits. The product used was ARVITAL SE[®], compound form *Allium sativum*, *Origanum vulgare* and *Yuca schidigera* essence and organic acids (butyric, lauric, caprylic, formic, propionic and acetic acids). Firstly, an *in vitro* research was performed to evaluate the antibacterial effect of ARVITAL SE[®] and subsequently two *in vivo* trials were designed. *In vitro* study corroborated the antibacterial effect of ARVITAL SE[®]. Two trails were designed to decide the most suitable dosage and protocol to administer ARVITAL SE[®] throughout the fattening period. In both *in vivo* studies, the experimental group was not needed to add

antibiotics in drinking water. Additionally, control group (no ARVITAL SE[®] was added in water) had to be treated in both experiments with antibiotic in drinking water. Summarizing, ARVITAL SE[®] helps to control pathologic alterations in digestive tract of fattening rabbits without the need to administrate antibiotic in drinking water. Moreover when ARVITAL SE[®] is administrated at low dosage along all fattening period, average daily gain is improved.

Keywords: Essential oils, Organic acids, Enteropathy, Antibiotic.

Introducción

El uso excesivo e inadecuado de antibióticos durante las últimas décadas ha provocado el desarrollo de bacterias multirresistentes, las cuales constituyen una de las amenazas más serias para la salud pública. Esta situación ha llevado a la elaboración de un Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN) propuesto por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). La primera fase del PRAN en cunicultura se puso en marcha el pasado 1 julio de 2017 con el objetivo de reducir un 30% el consumo de antibióticos a lo largo de los 2 años siguientes (<http://www.resistenciaantibioticos.es/es>).

Una alternativa natural a los antibióticos podría ser el uso de aceites esenciales debido al gran poder antimicrobiano que poseen. Está demostrado que tanto los extractos de ajo como de orégano presentan efectos antimicrobianos frente a bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Arthrobacter protophormiae*) y Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas fragi*) (Nadoushan *et al.*, 2011; Mozaffari Nejad *et al.*, 2014; Puškárová *et al.*, 2017) así como efectos antiparasitarios frente a coccidios (*Eimeria spp.*) (Abu-Akkada *et al.*, 2010; Kowalska *et al.*, 2012). Por otra parte, también se les atribuyen beneficios como la mejora de la respuesta inmunitaria (Alagawany *et al.*, 2016) y de los índices productivos (mayor ganancia de peso y mejora de la calidad de la canal) (Rotolo *et al.*, 2013; Cardinali *et al.*, 2015).

Además los ácidos orgánicos, como el ácido butírico, láurico, caprílico, fórmico y propiónico, se utilizan en la alimentación animal para reducir el pH del pienso, mejorar la digestibilidad de los nutrientes y, debido a su marcado efecto antimicrobiano, para controlar el crecimiento y proliferación de bacterias, hongos y levaduras (Marzo *et al.*, 2001).

Por lo tanto, debido a que dos de los mayores problemas de salud pública y sanidad animal son el desarrollo de resistencias a los antimicrobianos y la escasez de tratamientos alternativos, el objetivo de este estudio fue plantear una alternativa natural frente a patologías digestivas en conejo de cebo. Para ello, se evaluaron los efectos antimicrobianos de un preparado a base de aceites esenciales y ácidos orgánicos.

Material y métodos

1.- Composición de ARVITAL SE[®]

ARVITAL SE[®] está compuesto por extracto de *Allium sativum* (ajo), extracto de *Origanum vulgare* (orégano), extracto líquido de *Yuca schidigera* (yuca), ácidos orgánicos (ácido butírico, láurico, caprílico, fórmico, propiónico y acético) y emulsionantes (glicerol).

2.- Estudio *in vitro* del efecto antibacteriano de ARVITAL SE[®]

Para determinar la inhibición del crecimiento de la cepa de *Escherichia coli* (ATCC 25922) y de *Salmonella spp.* se realizó la prueba de sensibilidad antibacteriana por difusión en agar. Para ello la concentración bacteriana se ajustó al estándar 0.5 de la escala Mc Farland y posteriormente ambas cepas se cultivaron respectivamente en placas Petri con agar Mueller Hinton. A los 5 minutos se colocaron 3 discos en cada placa: un disco con ARVITAL SE[®] y

dos discos control, uno con colistina 10µg y otro con doxiciclina 30µg. Transcurridas 24 horas de incubación en estufa a 37°C, se midió el diámetro del halo de inhibición formado. Estos ensayos se realizaron por triplicado.

3.- Estudio in vivo del efecto de ARVITAL SE®

El estudio se realizó en un núcleo de selección genética con conejos F1 (línea maternal). Todos los animales tuvieron disponibilidad de agua *ad libitum* y pienso comercial premedicado con 400 mg/kg de oxitetraciclina 20% y 35 mg/kg de valnemulina 10% desde los 21 días de edad hasta 7 días antes del sacrificio. Los últimos 7 días de cebo consumieron pienso de retirada.

En los casos de aparición de brote infeccioso, el Grupo Control (GC) se trató con medicamento vía oral y el Grupo Experimental (GE) con ARVITAL SE®.

3.1.- Experimental 1: ARVITAL SE® administrado durante todo el cebo

El estudio constó de dos grupos: GC de 324 animales, no recibieron ARVITAL SE®; GE de 324 animales, se les administró 400 ppm de ARVITAL SE® diarios desde el destete hasta la salida a matadero.

3.2.- Experimental 2: ARVITAL SE® administrado durante 10 días tras el destete

El estudio constó de dos grupos: GC de 378 animales, no recibieron ARVITAL SE®; GE de 378 animales, se les administró 600 ppm de ARVITAL SE® diarios durante los 10 primeros días.

3.3.- Evaluación de los resultados

3.3.1.- Evaluación del uso de medicamentos: Se evaluó y comparó entre los dos grupos del estudio la necesidad de realizar un tratamiento con antibióticos en agua de bebida.

3.3.2.- Evaluación de la mortalidad y el agente causal: Diariamente se revisaron los animales y contabilizaron las bajas. Se realizaron necropsias de todas las bajas y se tomaron muestras de intestino delgado, ciego, intestino grueso y heces para determinar la causa de la muerte. Las muestras se sembraron en Agar MacConkey, Agar XLD y Agar Mueller Hinton para el aislamiento de bacterias y la presencia de *Clostridium perfringens* y/o *Clostridium spiroforme* se diagnosticó mediante tinción de Gram. Se realizó un análisis coprológico para determinar la presencia o ausencia de *Eimeria spp.* y *Passalurus ambiguus*.

3.3.3.- Evaluación del incremento de peso: El 20% de los animales del experimental 1 fueron pesados a los 38 y a los 64 días de vida. El 20% de los animales del experimental 2 fueron pesados a los 36, 46, 56 y 65 días de vida.

4.- Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado con el programa IBM SPSS Statistics 16. El estudio estadístico de las diferencias del diámetro del halo de inhibición se analizó con la prueba t de Student, el incremento de peso con el análisis de varianza unifactorial (ANOVA) y la prueba Chi-cuadrado fue utilizada para analizar la mortalidad. El nivel de significancia fue establecido en $p < 0,05$.

Resultados y discusión

1.- Evaluación de los resultados in vitro del efecto antibacteriano de ARVITAL SE®

Como se puede observar en la tabla 1 ARVITAL SE® presenta efecto antibacteriano *in vitro*, siendo significativo ($p < 0,01$) el halo de inhibición de ARVITAL SE® con respecto al de los antibióticos control. Dichos resultados son similares a los obtenidos por Nadoushan *et al.*

(2011) y Puškárová *et al.* (2017), los cuales demostraron el efecto antibacteriano del extracto de ajo y orégano en enterobacterias como *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

Tabla 1. Halos de inhibición de colistina, doxiciclina y ARVITAL SE[®].

	CT10 (mm)	D30 (mm)	ARVITAL SE [®] (mm)
<i>Escherichia coli</i>	11*	19*	16
<i>Salmonella spp.</i>	14*	8*	11

CT10: colistina 10µg. D30: doxiciclina 30µg. Los datos están presentados con una DE±1. *indica diferencias estadísticamente significativas (p<0,01) de cada grupo control comparado con el grupo ARVITAL SE[®].

2.- Evaluación de los resultados in vivo del efecto de ARVITAL SE[®] administrado durante todo el cebo (experimental 1)

A los 43 días de vida se empezó a observar animales con diarrea en el GC por lo que se decidió iniciar un tratamiento en agua de bebida con enrofloxacina 10% durante 5 días. Tras el tratamiento los animales se recuperaron sin necesidad de volver a medicar. Por otro lado, en el grupo al que se le administró ARVITAL SE[®] no se observaron signos de enteropatía y no hubo necesidad de tratar con antibiótico.

La mortalidad fue similar en ambos grupos del estudio (GC=4,63%; GE=4,32%). Únicamente se reportó una baja más en GC siendo este resultado no significativo (p=0,849).

Finalmente, en la evaluación del peso se observó mayor ganancia media diaria e incremento total de peso en el GE (Tabla 2).

Tabla 2. Evaluación del incremento de peso.

	Grupo Control	Grupo Experimental	p
Peso vivo 38 días (g)	1.010±14	1.090±14	**
Peso vivo 64 días (g)	1.870±18	1.990±22	**
Ganancia media diaria (g/día)	33,2±0,3	35,0±0,6	**
Incremento total peso (g)	862,2±6,5	909,6±15,2	**

Los datos están presentados como media±EEM. **indica diferencias estadísticamente significativas (p<0,01) entre los grupos.

3.- Evaluación de los resultados in vivo del efecto de ARVITAL SE[®] administrado durante 10 días tras el destete (experimental 2)

En este segundo estudio en ambos grupos se observó un brote infeccioso a los 50 días de vida. El GC tuvo que ser tratado con enrofloxacina 10% durante 5 días mientras que al GE se le administró 600 ppm diarios de ARVITAL SE[®] durante 7 días. No fue necesario administrar antibiótico en el GE.

Cumpliendo los objetivos de criar animales sin antibióticos, cabe destacar que únicamente hubo un 1,5% más de bajas en el GE siendo este resultado no significativo (p=0,305). Como se muestra en la tabla 3 se observó presencia de *Escherichia coli*, *Eimeria spp.* y tanto de *Clostridium perfringens* como de *Clostridium spiroforme* en el GC, mientras que en el GE solo se observó presencia de *Escherichia coli* y un porcentaje muy pequeño de muestras con *Clostridium perfringens* y/o *Eimeria spp.* Estos resultados demuestran que ARVITAL SE[®] tiene eficacia frente a bacterias tanto Gram-negativas como Gram-positivas y también frente a coccidios.

Por otro lado, se observó una mayor ganancia media diaria (GC=31,5±0,8g; GE=30,0±0,4g) e incremento total de peso (GC=913,2±22,4g; GE=869,4±11,7g) en el GC al final del cebo, siendo resultados no significativos (p=0,111).

Tabla 3. Porcentaje de patógenos presentes en las muestras.

	Grupo control (%)	Grupo experimental (%)	p
<i>Escherichia coli</i>	100,0	100,0	n.s.
<i>Clostridium perfringens</i>	57,4	20,0	**
<i>Clostridium spiroforme</i>	42,9	<1,0	**
<i>Salmonella spp.</i>	<1,0	<1,0	n.s.
<i>Eimeria spp.</i>	28,6	10	**
<i>Passalurus ambiguus</i>	<1,0	<1,0	n.s.

**indica diferencias estadísticamente significativas (p<0,01) entre los grupos. n.s.: no significativo (p>0,05).

Conclusiones

La administración de ARVITAL SE® ayuda a controlar las alteraciones patológicas producidas en el tracto digestivo en conejo de cebo sin la necesidad de realizar tratamientos con antibiótico en agua de bebida. Además, cuando se administra a bajas dosis durante todo el cebo mejora la ganancia media diaria obteniendo animales con mayor peso final.

Bibliografía

- Abu-Akkada S.S., Oda S.S., Ashmawy K.I. 2010. Garlic and hepatic coccidiosis: prophylaxis or treatment?. *Tropical Animal Health and Production*, 42(7):1337-1343.
- Alagawany M., Ashour E., Reda, F. 2016. Effect of dietary supplementation of garlic (*Allium sativum*) and turmeric (*Curcuma longa*) on growth performance, carcass traits, blood profile and oxidative status in growing rabbits. *Annals of Animal Science*, 16(2):489-505.
- Cardinali R., Cullere M., Dal Bosco A., Mugnai C., Ruggeri S., Mattioli S., Castellini C., Trabalza M., Dalle Zotte A. 2015. Oregano, rosemary and vitamin E dietary supplementation in growing rabbits: Effect on growth performance, carcass traits, bone development and meat chemical composition. *Livestock Science*, 175:83-89.
- Kowalska D., Bielański P., Nosal P., Kowal J. 2012. Natural alternatives to Coccidiostats in rabbit nutrition. *Annals of Animal Science*, 12(4):561-574.
- Marzo I., Urdí L., Costa-Baltori P. 2001. Nuevas estrategias en la alimentación del conejo: aditivos y alternativas al uso de antibióticos. *Nuestra Cabaña*, 312:78-91.
- Mozaffari Nejad A.S., Shabani S., Bayat M., Hosseini S.E. 2014. Antibacterial effect of garlic aqueous extract on *Staphylococcus aureus* in hamburger. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(11):134.
- Nadoushan M.J., Nadoushan S.A., Owlia P. 2011. Evaluation of in-vivo antibacterial effects of garlic aqueous extract on *Salmonella typhimurium*-infected Rabbits. *International Journal of Infectious Diseases*, 15.
- Pušková A., Bučková M., Kraková L., Pangallo D., Kozics K. 2017. The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells. *Scientific Reports*, 15;7(1):8211.
- Rotolo L., Gai F., Nicola S., Ivo Z., Brugiapaglia A., Gasco L. 2013. Dietary supplementation of oregano and sage dried leaves on performances and meat quality of rabbits. *Journal of Integrative Agriculture*, 12:1937-1945.