

EFFECTO DE LAS PAREDES CELULARES DE LEVADURA (*S. CEREVISIAE*) EN DIETAS DE POLLOS INOCULADOS CON LPS (*E. COLI*)

Badia R.^{1,4}, Morales R.^{1,2}, Auclair E.², García F.³, Iborra A.⁴, Martínez P.⁴, Brufau J.¹

¹IRTA, Dep. Nutrición Animal, Apartado 415; 43280 Reus. (Roger.Badia@irta.es)

²Lesaffre Feed Additives (LFA-Francia) y ³(Saf-Agri. México)

⁴Instituto de Biotecnología y de Biomedicina, Unidad de Inmunología, Universidad Autónoma de Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Los pollos de engorde están sometidos a condiciones de alta densidad en las granjas avícolas, siendo susceptibles a los desafíos bacterianos tales como *E. coli* o sus endotoxinas. Los lipopolisacáridos (LPS) bacterianos constituyen el componente principal de las membranas externas de las bacterias gram-negativas (*Salmonella spp* o *E.coli*), que se encuentran, de forma común, en el ambiente de las granjas avícolas. En pollos, la inoculación de LPS induce un importante estímulo para el sistema inmunológico (Millett *et al.*, 2007). Algunos estudios muestran que los pollos de engorde inoculados con LPS reducen su productividad. Este descenso se relaciona con la acción de interleuquinas producidas durante la fase inflamatoria aguda. Por otra parte, diversos estudios muestran los efectos inmunomoduladores de los β -glucanos en mamíferos; la mayor parte de dichos estudios se centran en el aumento en la actividad funcional de los macrófagos y de los neutrófilos (Tzianabos, 2000). En concreto, el β -1,3/1,6-glucano de la pared celular del *Saccharomyces cerevisiae*, es reconocido como una molécula extraña por el sistema inmunológico en mamíferos, peces y aves. Recientemente, Huff *et al.* (2005) han sugerido que la suplementación de las dietas con β -1,3/1,6-glucano puede tener gran valor para reducir las pérdidas de producción causadas por las enfermedades derivadas de la infección por *E. coli*. La pared de celular de la levadura (PCL) de *S. cerevisiae*, contiene gran cantidad de polisacáridos β -1,3/1,6-glucano (Aguilar-Uscanga, 2003), por ello, PCL puede ser utilizada como una fuente de polisacáridos (β -1,3/1,6-glucano y mananoligosacáridos) en la dieta del pollo de engorde.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 192 pollos broilers (Ross 308) alojados en jaulas con 8 aves de 1 a 14 días y 6 aves de 14 a 21 días. En el diseño experimental se establecieron 4 tratamientos distribuidos al azar en 6 bloques. Los tratamientos fueron: control, LPS, PCL y LPS+PCL. EL número de réplicas por tratamiento fue de 6. La dosis de PCL (*S. cerevisiae*) utilizada fue de 500 mg/kg alimento. Se utilizaron dietas en harina sin coccidiostáticos, antibióticos promotores crecimiento, ni enzimas para el alimento, la composición de la dieta experimental se muestra en la *tabla 1*. El agua y el alimento fueron suministrados *ad libitum* durante toda la prueba que duro 21 días. Se inoculó LPS (1mg LPS/kg) el día 4 de vida por vía intraperitoneal y el día 7 por vía subcutánea. Los parámetros inmunológicos se evaluaron mediante la respuesta de hipersensibilidad ante fitohemaglutinina (150 μ g PHA-P/ave), así como también por la determinación del peso relativo del bazo y la bolsa de Fabricio a los 21 días de edad. Al final del experimento se calcularon los promedios de peso vivo, ganancia diaria de peso (GPD), consumo diario de alimento (CDA) e índice de conversión alimenticia (IC). Los datos (media \pm SEM) se analizaron mediante la prueba de Duncan y los datos originales expresados en porcentajes fueron transformados a la raíz cuadrada del arco seno para su posterior análisis estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pollos inoculados con LPS de *E. coli* mostraron menores ganancias de peso ($P < 0.05$) respecto a los pollos alimentados con PCL (*Tabla 2*). Aparentemente, el menor peso del grupo tratado con LPS pudo deberse a una reducción en el consumo del alimento. Dicha reducción fue numérica ($P > 0.05$) entre el grupo control y el grupo LPS, y significativa ($P < 0.05$) en el caso del grupo control y el grupo LPS+PCL. A pesar

de que la utilización de PCL en la dieta de las aves no fue capaz contrarrestar los efectos negativos del LPS en el peso de las aves, el uso de PCL mejora la eficiencia alimenticia de estas aves ($P<0.05$). El grupo LPS+PCL mostró un índice de conversión menor respecto al grupo LPS, y semejante en relación a los grupos control y con PCL (Tabla 2). Los resultados para parámetros inmunológicos se muestran en la tabla 3. Respecto a los órganos linfoides, se observó una reducción ($P<0.05$) del peso relativo de la bolsa de Fabricio en los grupos inoculados con LPS respecto a los grupos control y PCL. No obstante, los animales inoculados con LPS+PCL no mostraron la disminución ($P<0.05$) en el peso relativo de la bolsa de Fabricio. El menor peso relativo de la bolsa de Fabricio puede deberse a la movilización de los linfocitos B hacia los ganglios periféricos como consecuencia del estímulo provocado por el propio LPS (Nakamura *et al.*,1986 y El Tayeb y Hanson, 2001). La respuesta de hipersensibilidad cutánea fue superior ($P<0.05$) en los grupos PCL y LPS+PCL respecto al control. Los macrófagos y neutrófilos, células responsables de la respuesta inmune innata, reconocen estructuras conservadas de forma común en patógenos, como el LPS (Kogut *et al.*,2005), así como a los β -glucanos (Taylor *et al.*, 2002) que están presentes la pared celular de levaduras. Estas células también desempeñan una función de enlace con la respuesta inmune adquirida mediante citocinas proinflamatorias (p.ej; IL1, IL6, TNF α) y que modulan y dirigen la posterior respuesta adquirida (Werling y Jungi, 2003). Parece que este tipo de sustancias pueden modular o contrarrestar los efectos adversos en eficiencia alimenticia y órganos linfoides del ave provocados por endotoxinas bacterianas como LPS de *E. coli*. Por ello, es necesario ampliar el conocimiento de los mecanismos de acción por los que las PCL del *S. cerevisiae* y sus β -glucanos actúan sobre las células del sistema inmune y las respuestas que desencadenan.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Tzianabos A. 2000. *Clinical microbiology reviews*. 13 (4);523-533.
- Aguilar-Uscanga B, François J. 2003. *Letters in Applied Microbiology*. 37; 268-274.
- Millet S, Bennett J, Lee K, Hau M, Klasing K. 2007. *Developmental and comparative immunology*. 31;188-201.
- Huff GR, Huff WE, Rath NC, Tellez G. 2006. *Poultry Sciences*. 85(4);613-8
- Taylor P, Brown G, Reid D, Willment, Martinez-Pomares L, Gordon S, Wong S. 2002. *The Journal of immunology*.169;3876-3882.
- Kogut MH, Iqbal M, He H, Philbin V, Kaiser P, Smith A. 2005. *Developmental and comparative immunology*. 29;791-807.
- Werling D, Jungi T. 2003. *Veterinary immunology and immunopathology*. 91;1-12.
- Nakamura K, Imada Y, Maeda M. 1986. *Veterinary Pathology*. 23(6);712-717.
- El Tayeb A, Hanson R. 2001. *Avian diseases*. 45 (2);313-320.

Tabla 1.- Composición y análisis químico calculado de la dieta experimental.

Ingredientes	(%)
Maíz	25.00
Trigo	10.00
Cebada	24.16
Torta de soja (48%)	27.13
Aceite de soja	4.00
Soja extrusionada	4.75
Otros*	4.97
<i>Análisis calculado</i>	
Energía (kcal EM/kg)	3000.00
Proteína bruta (%)	21.50
Metionina + cistina total (%)	0.96
Lisina total (%)	1.27
Calcio total (%)	1.20
Fósforo disponible (%)	0.45

*Carbonato de calcio, fosfato bicálcico, aminoácidos sintéticos, sal, núcleo de vitaminas y minerales.

Tabla 2.- Efectos de la incorporación en la dieta de paredes celulares de levadura (PCL), sobre los parámetros productivos (0-21 días) de pollos inoculados con lipopolisacárido (LPS) de *E. coli*.

Tratamiento	Peso medio (g)	GDP (g/d)	CDA (g/d)	IC (g/g)
Control	749,68 ± 14,16 ^a	33,61 ± 0,66 ^a	44,96 ± 0,88 ^a	1,338 ± 0,010 ^b
LPS	684,63 ± 16,81 ^b	30,51 ± 0,79 ^b	42,58 ± 0,97 ^{ab}	1,396 ± 0,018 ^a
PCL	744,4 ± 19,12 ^a	33,35 ± 0,91 ^a	44,28 ± 1,04 ^a	1,328 ± 0,012 ^b
PCL+LPS	692,93 ± 8,25 ^b	30,91 ± 0,38 ^b	41,56 ± 0,58 ^b	1,344 ± 0,014 ^b

Las tablas muestran la media por tratamiento (6 réplicas de 6 aves) ± SEM. Las medias dentro de una misma columna con distinta letra son diferentes estadísticamente (P<0.05), prueba de Duncan.

Tabla 3.- Efectos de las PCL sobre los pesos relativos de los principales órganos linfoides expresados como % del peso del ave (21 días) y la respuesta de hipersensibilidad cutánea (14 días) de pollos inoculados con LPS de *E. coli*.

Tratamiento	Órganos linfoides (%)		Hipersensibilidad cutánea (mm)
	Bazo	Bolsa de Fabricio	
Control	0.114 ± 0.01 ^a	0.348 ± 0.02 ^a	0,24 ± 0,02 ^b
LPS	0.111 ± 0.01 ^a	0.246 ± 0.02 ^b	0,35 ± 0,06 ^{ab}
PCL	0.116 ± 0.01 ^a	0.318 ± 0.03 ^a	0,43 ± 0,04 ^a
PCL+LPS	0.105 ± 0.09 ^a	0.291 ± 0.01 ^{ab}	0,47 ± 0,07 ^a

Las tablas muestran la media por tratamiento (n =18 en cada tratamiento) ± SEM. Las medias dentro de una misma columna con distinta letra son diferentes estadísticamente (P<0.05), prueba de Duncan.