

FLORA INTESTINAL DE LAS AVES. ESTUDIO DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

Por Suárez Ramos, P. S. y
Gutiérrez Panizo, C

INTRODUCCION

En los últimos años, la microbiología del tracto intestinal de las aves ha sido profusamente estudiada y abordada desde diferentes puntos de vista, pero la mayor parte de la bibliografía consultada dedica sus investigaciones al grupo de gérmenes anaerobios. Los *Clostridium* y *Bacteroides* en general, han sido los mas estudiados, mientras que la familia ENTEROBACTERIACEAE lo ha sido en menor cuantía.

TIMS⁸, ya había analizado la flora intestinal de aves sanas en tres grupos de pollos de 18 días, 7 y 20 semanas, hallando que la flora total fue similar en los tres grupos. Simultáneamente, SALANITRO y BLAKE⁵ estiman que las enterobacterias –fundamentalmente *E. coli*– suponen el 4,9 % de la flora fecal de broilers de 5 semanas de edad.

El presente trabajo aborda un análisis de la familia ENTEROBACTERIACEAE en el colon de aves sanas, desde que éstas llegan a la granja con un día, hasta que su puesta alcanza el 80 % (31 semanas) y, las influencias posibles del contenido cuali-cuantitativo sobre los índices de producción.

MATERIAL Y METODOS

Se valora cuali y cuantitativamente, tras su aislamiento e identificación, los miembros de la familia ENTEROBACTERIACEAE del colon de dos lotes de ponedoras pesadas, estirpe COBB, alojadas a una distancia de 200 kms uno de otro y entre los que existían diferencias notorias de medio ambiente y

An. Fac. Vet. León, 1977, 23, 29-36.

manejo. De ellas, sacrificamos 104 aves, estudiándolas desde 1 día de edad hasta que alcanzan una puesta superior al 80 %, hecho que acontece entre las 31 semanas (el 85,4 %) y las 32 semanas de edad (el 87 %). El protocolo de vacunación de estos animales es el común en las explotaciones avícolas intensivas comprendiendo, Marek, Newcastle, Bronquitis infecciosa y encefalomyelitis; el corte de picos se realiza a las dos semanas de vida de las gallinas.

Se toman las muestras en pollitas de 1,4 y 7 días y de 2, 3, 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27 y 31 semanas, completando de esta forma los 13 grupos de muestras estudiados. Sacrificamos 4 pollitas por lote y muestra, alcanzando así un total de 104 aves analizadas.

A lo largo de las experiencias utilizamos los siguientes medios:

Agar infusión de cerebro y corazón y caldo de la casa Difco, como medio enriquecido para gérmenes totales.

Agar verde brillante, agar de Mc Conkey y Agar SS (Difco) como medios selectivos y diferenciales para enterobacterias y, Agar para contaje en placa (Difco), utilizado en el recuento total de viables aerobios.

En todos los casos utilizamos el método de Gram modificado (HUCKER) como coloración diferencial primaria.

Toma de muestras.—Las muestras de colon se toman tras el sacrificio de las aves por sección yugular y apertura abdominal, seguida de ligadura de la parte correspondiente del intestino en la que se practica una incisión para extraer un gramo de su contenido, a partir del cual se realiza una dilución madre al 1/10 y sucesivas al 1/100 y 1/1.000 siguiendo lo descrito por ELAZHARY y col.². Seguidamente sembramos 1 ml de cada dilución obteniendo tres placas de cada uno de los medios y diluciones; en algunos de los casos la contaminación hizo necesaria una nueva dilución 1/10.000.

La identificación se realiza siguiendo el criterio de EWING y EDWARDS³ y el Manual de BERGEY¹.

Aquellos gérmenes aerobios no pertenecientes a la familia ENTEROBACTERIACEAE son identificados y archivados para ser objeto de otra serie de experiencias en una nueva publicación.

RESULTADOS

Los resultados del lote 1 se expresan en la gráfica y cuadro 1, los contenidos en gérmenes aerobios totales y ENTEROBACTERIACEAE se expresan en log₁₀ del número de colonias por gramo.

El número total de viables aerobios experimenta un brusco descenso a los 15 días, para volver a ascender en la muestra número 5 y mantenerse con inflexiones suaves tendentes al aumento hasta el final del muestreo, alcanzando el máximo a las 27 semanas (muestra n.º 12), coincidiendo con la iniciación de la puesta.

El contenido en ENTEROBACTERIACEAE lo expresamos según el esquema:

E. coli, se aísla en todas las aves.

K. pneumoniae y *K. rhinoschleromatis*, en las muestras 2 y 10.

E. liquefaciens, muestras 9, 10 y 12.

S. arizona, en la 4, 5, 7, 8, y 9.

C. freundii, en las 5, 6, 7 y 9.

E. tarda, muestra n.º 12.

S. marcescens, aislada en las muestras 3 y 6.

SHIGELLA (spp) se manifestó en las muestras 3 y 9.

P. vulgaris, aislado por primera y única vez en la muestra n.º 5.

El contenido mínimo corresponde a las pollitas de 1 día y el máximo a las aves con 5 semanas de edad. El resto de los géneros de la familia que nos ocupa no se encontraron en ninguna de las experiencias.

Los resultados del lote n.º 2 se expresan en la gráfica y cuadro 2. El contenido de viables aerobios totales se expresa con suaves oscilaciones, un descenso a los 15 días que coincide con el corte de picos. Ascende bruscamente para el muestreo siguiente y desde aquí se mantiene con elevaciones sucesivas y uniformes hasta el final.

El contenido de ENTEROBACTERIACEAE es también similar y ligeramente inferior al obtenido en el primer lote, presenta menos oscilaciones que aquel, situándose el máximo en la muestra 11 (23 semanas), tras la iniciación de la puesta.

E. coli, se aisló de las muestras 2 y 4, no aparece en la 5 para hacerse constante hasta el final a partir de la número 6.

K. rhinoschleromatis, únicamente en la muestra número 6.

E. liquefaciens, procedente de las experiencias 4, 5, 7, 9 y 10.

S. arizona, en las muestras 5, 7, 10 y 13.

C. freundii, presente sólo en la primera mitad del ciclo, muestra n.º 2.

S. marcescens, procedente de las muestras 3 y 6.

E. carotovora, la encontramos a partir de la muestra 9 y hasta el final.

El resto de los géneros de la familia no fueron aislados por nosotros en ninguna de las muestras analizadas.

DISCUSION

En ambos lotes, el menor contenido microbiano se obtuvo de las aves de 1 día. Ascende con suaves oscilaciones experimentando un descenso entre los 7 y 15 días, coincidiendo con el corte de picos. El contenido mayor en ENTEROBACTERIACEAE se establece en las 5 semanas para el lote n.º 1 y las 31 semanas para el segundo lote. Para la muestra n.º 7 (7 semanas de edad),

época de la restricción de la alimentación, el número total de elementos de la familia experimenta un ligero descenso.

Señalamos que para las aves del lote 2 los resultados son concordantes con los expuestos por TIMS⁸, en cuanto al contenido cuali-cuantitativo de los animales, tomando siempre como referencia animales de la misma edad. El lote n.º 1, parece presentar unos datos más oscilantes, con ciertas características peculiares, probablemente en dependencia directa con cada uno de los factores que rodean al grupo en estudio (temperatura, época del año, manejo y fundamentalmente el factor humano como elemento de difusión, etc.). No obstante, las diferencias apreciadas no han sido en ningún momento altamente significativas.

Consideramos que para ponedoras de raza pesada, las 19 semanas de edad, es el momento en el que la flora entérica de las aves tiende a estabilizarse, ya que hasta las 31 semanas de vida, los cambios cuali-cuantitativos no son notables.

RESUMEN

Se ha estudiado la familia ENTEROBACTERIACEAE en el colon de aves de raza pesada de 2 lotes diferentes a lo largo de 31 semanas; encontrando que el número total de ENTEROBACTERIACEAE es mínimo en las aves de 1 día, ascendiendo suavemente hasta las 19 semanas en que se estabiliza. Factores de manejo como cortes de picos y restricción de la alimentación acusan ligeras depresiones en el contenido. Cualitativamente están presentes todos los géneros de la familia a excepción de YERSINIA, ERWINIA, HAFNIA y los subgéneros I y II de SALMONELLA.

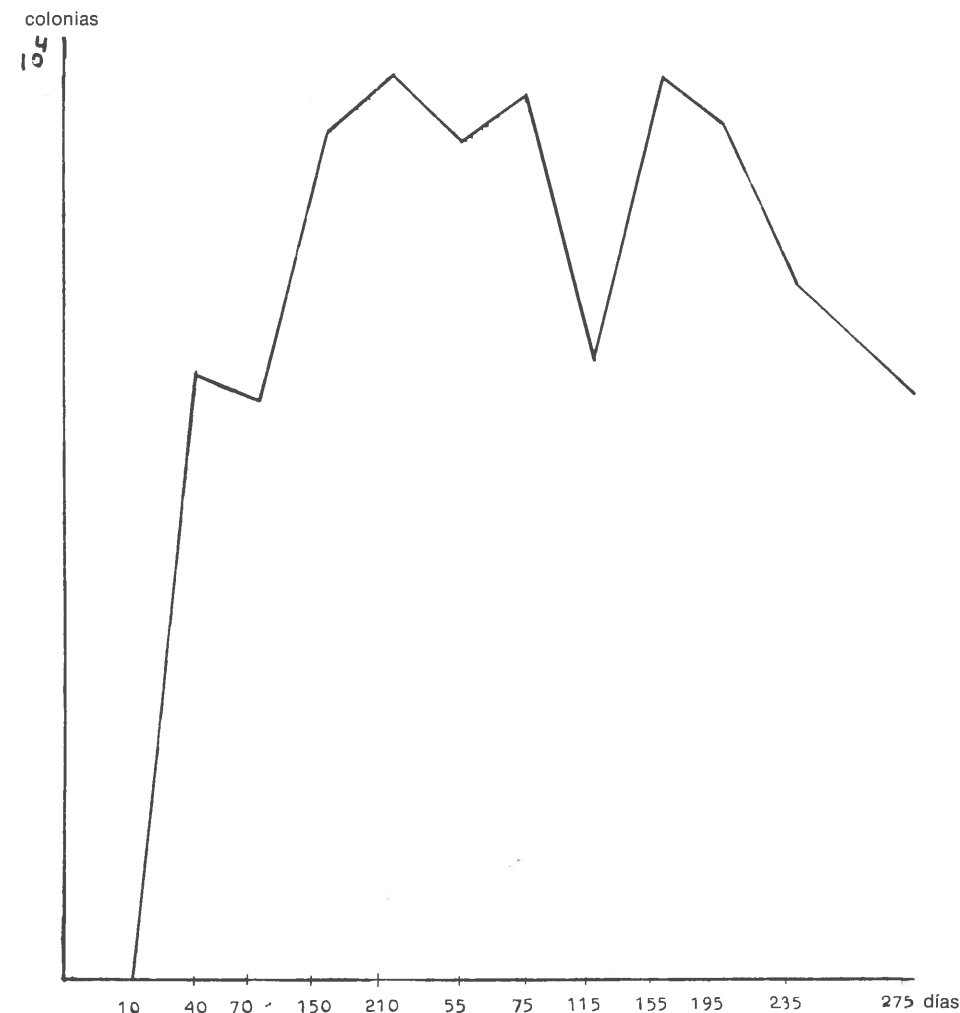
SUMMARY

A study has been carried out on ENTEROBACTERIACEAE family in the colon of birds from heavy breed pertaining to two different lots throughout 31 weeks. The total number of ENTEROBACTERIACEAE found in one-day old birds in minimum and it increases gently until 19 weeks where it stabilizes. Handling and administration factors such as beak cut and feeding restriction show some slight variations in ENTEROBACTERIACEAE contents. Qualitatively all the genera of the above family are present except YERSINIA, ERWINIA, HAFNIA and SALMONELLA sub-genera I and II.

BIBLIOGRAFIA

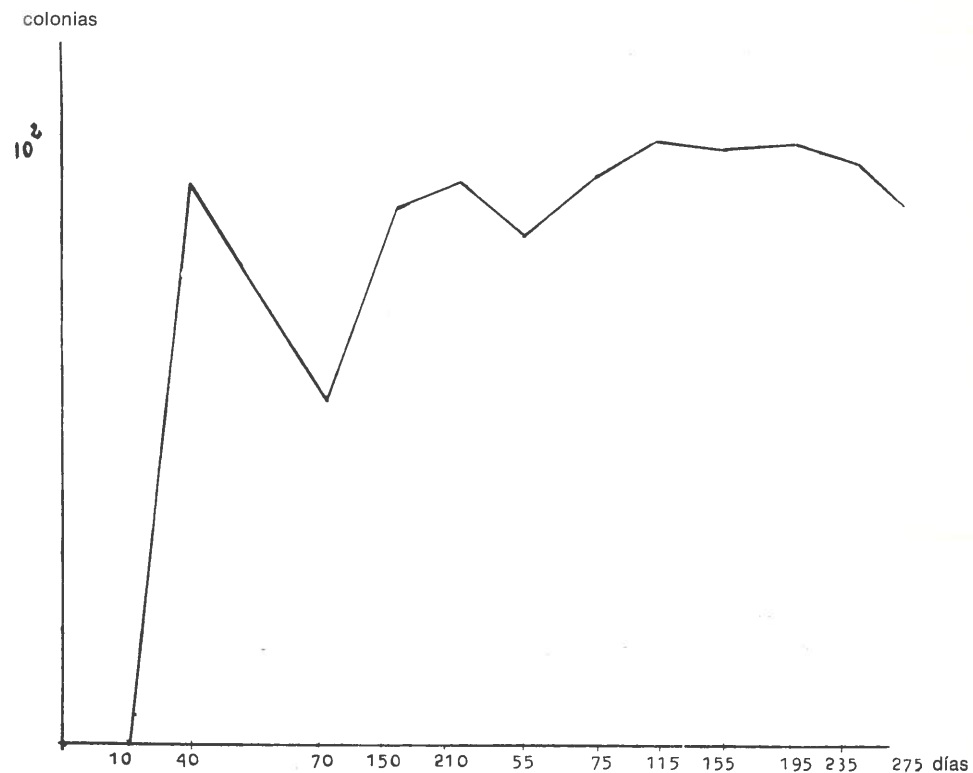
- 1) BERGEY (1974).-*Manual determinative bacteriology* (8). Ed. Williams & Wilkins. Baltimore.
- 2) ELAZHARY, M. y TREMBLAY, A. (1973).-A preliminary study on the intestinal flora of caecum and colon of eighth ten and 12 weeks old swine. *Can. J. Comp. Med.* **37**: 369-374.
- 3) EWING, W. y EDWARDS, P. (1966).-*Identification of ENTEROBACTERIACEAE*. Burgess Publishing Company. Minnesota.

- 4) DE MIGUEL PALOMINO (1977).-Estudio del género Salmonella y otras enterobacteriaceas en el intestino de pollos de mataderos. (Comunicación personal). En prensa.
- 5) SALANITRO, J. y BLAKE, I. (1974).-Studies on the caecal microflora of commercial broilers chickens. *Appl. Microbiol.* **28**: 439-447.
- 6) SUÁREZ RAMOS, P. S. (1976).-Ecosistema de las explotaciones avícolas. I. Variaciones en la flora aerobia con especial referencia a ENTEROBACTERIACEAE. Tesis Doctoral. D. Legal Z: 706-76.
- 7) SUÁREZ RAMOS, P. S. (1976).-Ecosistema de las explotaciones avícolas. II. Variaciones en la Familia ENTEROBACTERIACEAE y el Género BACILLUS. *An. Fac. Vet. Zaragoza*, **2**: 294-309.
- 8) TIMS, L. (1968).-Observation of the bacterial flora in the alimentary tract in three age groups of normal chickens. *Brit. Vet. J.*, **124**: 470-477.



GRAFICA N.º 1

Expresión gráfica del número de ENTEROBACTERIACEAE hallado en el colon de las aves del lote número 1.



GRAFICA N.º 2

Expresión gráfica del número de ENTEROBACTERIACEAE hallado en el colon de las aves del lote número 2.

CUADRO N.º 1
Flora intestinal aerobia de las aves del lote n.º 1. N.º colonias / gramo.
Contenido total y ENTEROBACTERIACEAE = log₁₀. N.º col / gr.

	1 día	4 días	7 días	15 días	21 días	5 seman.	7 seman.	11 seman.	15 seman.	19 seman.	23 seman.	27 seman.	31 seman.
CONTENIDO TOTAL	2,90	2,91	2,62	2,84	3,90	2,90	3,38	2,90	3,60	3,00	3,90	3,90	3,60
ENTEROBACTERIACEAE	0,00	2,00	1,84	2,62	3,00	2,60	2,88	2,04	2,95	2,65	2,20	2,08	1,84
E. coli	1	34	19	10	107	760	540	90	450	438	265	600	200
K. pneumoniae		6							3				
E. liquefaciens									250	9		42	
S. arizona				40	92		120	20	32				
C. freundii					19	158	105	149					
E. tarda												158	
S. marcescens			43			83							
SHIGELLA			38					19					
HAFNIA													
P. vulgaris					2								
ERWINIA													
YERSINIA													

CUADRO N.º 2
Flora intestinal aerobia de las aves del lote n.º 2. N.º colonias / gramo
Contenido total y ENTEROBACTERIAEAE = log₁₀ . n.º col / gr.

	1 dia	4 dias	7 dias	15 dias	21 dias	5 seman.	7 seman.	11 seman.	15 seman.	19 seman.	23 seman.	27 seman.	31 seman.
CONTENIDO TOTAL	3,47	3,71	3,47	3,44	4,30	4,07	3,90	3,97	3,74	3,69	4,03	4,07	4,00
ENTEROBACTERIAEAE	0,00	1,74	1,32	1,11	1,60	1,76	1,50	1,77	2,00	1,94	2,00	1,85	2,34
E. coli	31			1		30	18	60	14	29	98	65	20
K. pneumoniae						6							
E. liquefaciens				2	16		1		12	2			
E. arizona					24		11			1			10
C. freundii		15											
E. tarda													
S. marcescens			10			1							
SHIGELLA			21			22			4			1	6
HAFNIA													
E. carotovora									12	7	66	21	7
ERWINIA													
YERSINIA													