

Efecto de aditivos naturales sobre los rendimientos productivos y conteo fecal de ooquistes de conejos infectados con coccidios

Effect of natural additives on performance and faecal oocysts counts of coccidia infected animals

Saiz A.^{1*}, Martín E.¹, Alfonso C.¹, García-Ruiz A.I.¹, Comenge J.², del Cacho E.⁴, Marco M.³

¹ Poultry and Rabbit Research Centre, Nutreco, Casarrubios del Monte, 45950 Toledo

² Fábrica de Casetas, NANTA, Casetas, 50620 Zaragoza.

³ NANTA S.A. Ronda de Poniente 9, Tres Cantos, 28760 Madrid.

⁴ Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, 50013 Zaragoza.

*Dirección de contacto: a.saiz.b@nutreco.com

Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la inclusión en el pienso de dos aditivos naturales (A y B) sobre el conteo de ooquistes, mortalidad y parámetros productivos de animales sometidos a un desafío por infección con coccidios. Se utilizaron 180 gazapos destetados a 28 días y alojados en jaulas individuales. Los animales fueron asignados a 6 tratamientos (30 animales por cada tratamiento) bloqueando por camada. Los tratamientos fueron: T1 y T2 animales alimentados con dieta control (C) sin ningún aditivo añadido; T3, animales alimentados con dieta D con 0,5 % de diclazuril; T4 animales alimentados con dieta A con 300 ppm del aditivo A; T5, animales alimentados con dieta B con 200 ppm del aditivo B; y T6 animales alimentados con la dieta DA con 0,5 % de diclazuril y 300 ppm del aditivo A. Los animales de los tratamientos 2 a 6 fueron desafiados con un inóculo de coccidios, mientras que los animales del tratamiento 1 no sufrieron ningún tipo de desafío. Los animales infectados mostraron mayores mortalidades, peores pesos y rendimientos productivos y mayor carga de ooquistes en heces que los animales no infectados. Aquellos animales que consumieron aditivos naturales no mostraron una mejoría en sus rendimientos, mortalidad o conteo de ooquistes. Se podría concluir que el uso de aditivos naturales en substitución de coccidiostatos no es eficaz para reducir la infección por coccidios ni los efectos que causa sobre los rendimientos productivos o la mortalidad de los animales.

Palabras clave: coccidios, infección, rendimientos, ooquistes, aditivos.

Abstract

The aim of this study was determine the effect of the inclusion in the feed of two natural additives (A and B) on the oocysts count, mortality and performance parameters. One hundred and eighty rabbits weaned at 28 days were allocated in individual cages. Animals were assigned to one of the 6 treatments, blocking by litter. Treatments were: T1 and T2 with animals fed with a control diets with no additive or anticoccidial product added; T3 with animals fed with a diet D which contained 0.5 % of diclazuril; T4 which animals were fed with a diet with 300 ppm of additive A; T5 which animals were fed with a diet B with 200 ppm of additive B; and T6 which animals were fed with a diet DA which contains 0.5 % of diclazuril and 300 ppm of additive A. Animals of treatments 2 to 6 were challenged with an inoculum of coccidian, while T1 animals

were not challenged. Infected animals shown highest levels of mortality, lowest body weight and a higher level of oocysts in faeces. Animals eaten natural additives didn't show any improvement on performance, mortality or oocysts count. It could be concluded that the use of natural additives in substitution of anticoccidial products is not effective to reduce the coccidian infection or its effect on performance and mortality of rabbits.

Keywords: coccidia, infection, performance, oocysts, additives.

Introducción

La coccidiosis puede ser causante de pérdidas considerables en la industria del conejo (Peeters, 1987; Licois y Marlier, 2008). Los conejos pueden ser infectados por 11 especies de coccidios, todos del género *Eimeria*, de las cuales 8 tienen una importancia en cuanto a pérdidas económicas. Su multiplicación y virulencia es variable (4 grados de virulencia), por lo cual el diagnóstico tanto cuantitativo como cualitativo es útil para la determinación del impacto económico que causa (Coudert et al., 1995). Actualmente el control y la prevención de la coccidiosis está basado en la higiene, la bioseguridad y la inclusión profiláctica de coccidiostatos en los piensos. Hoy en día en Europa solo el diclazuril y la robenidina están autorizadas como aditivos en la producción de conejos, en dosis de 1 ppm y 55-66 ppm respectivamente. De cara a buscar alternativas a estos coccidiostatos, que podrían ser prohibidos en el futuro, se están testando otras alternativas como productos naturales añadidos en el pienso.

El objetivo de este estudio fue determinar la eficacia de dos aditivos naturales (A y B) en la reducción del conteo de ooquistes, mortalidad y empeoramiento de los parámetros productivos de animales sometidos a un desafío por infección con coccidios.

Material y métodos

El estudio se realizó en el Poultry Reseach Centre de Nutreco (Toledo). Siguiendo las recomendaciones de De Blas y Mateos (2010), se formuló una dieta control (C), sin ningún tipo de aditivo o coccidiostato añadido. A partir de esta dieta basal se obtuvieron otras 3 dietas experimentales: una dieta (D) en la que se añadió diclazuril en una concentración del 0,5 %; una dieta A, para la cual se añadió a la dieta basal un aditivo natural A, a una concentración de 300 ppm; una dieta B que se elaboró añadiendo un aditivo B a una concentración de 200 ppm; y una dieta (DA) que contó con una adición de 0,5 % de diclazuril y 300 ppm del aditivo A. Ambos productos son mezclas de extractos vegetales provenientes de plantas como orégano, ajo y tomillo, y en el caso del aditivo A, extracto de regaliz. Se escogieron estos aditivos por su supuesta acción anticoccidiostática.

Estas dietas fueron administradas a 180 gazapos destetados a los 28 días de edad y alojados en jaulas individuales. Todos los animales fueron alimentados desde el destete con las dietas experimentales, y contaron con pienso y agua *ad libitum*. Los animales fueron asignados a 6 tratamientos (30 animales por cada tratamiento) bloqueando por camada, de tal forma que un animal de cada camada estuviera asignado a uno de los 6 tratamientos. Los tratamientos fueron: T1 y T2 animales alimentados con dieta B sin ningún tipo de producto añadido; T3, animales alimentados con dieta D; T4 animales alimentados con dieta A; T5, animales alimentados con dieta B; y T6 animales alimentados con la dieta DA.

Los animales de los tratamientos T2 a T6 fueron desafiados a los 35 días de vida mediante la administración por vía oral de 0,5 ml de inóculo concentrado en *Eimeria*

especifica de conejos, a cada animal independientemente. El inóculo fue preparado en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, por lo que la concentraciones aproximadas de ooquistes inoculados fueron: *Eimeria magna*, 50.000 ooquistes/conejo; *E. media*, 50.000 ooquistes/conejo; *E. intestinalis*, 50.000 ooquistes/conejo; y *E. perforans*, 20.000 ooquistes/conejo.

Se determinó el peso y el consumo de los animales al destete, a los 35 (0 días post infección), 44 (9 días post infección) y 63 días de vida (final de cebo). La mortalidad se controló diariamente. A 41 días de vida, se colocaron bandejas de colecta de heces en 15 animales por tratamiento, recogiendo las deyecciones a los 44 días (9 días post infección) para determinar el conteo de ooquistes en el momento más alto de la infección con coccidios. Tras esto, las bandejas fueron cambiadas, y se recogieron de nuevo heces a los 47 días de vida (12 días post infección). Se realizó un recuento de ooquistes mediante coprología cuantitativa con cámara de McMaster. Para ello, se diluyó 0,5 g de heces en 10 ml de una solución salina sobresaturada. Esta dilución se homogeneizó, y tras un tiempo de flotación se tomó el sobrenadante con una pipeta Pasteur y se llenó la cámara de McMaster, contando el número de ooquistes presentes. El número total de ooquistes por gramo de heces se determinó con la ecuación: $N=n \times d/A$, siendo N el número total de ooquistes por gramo de heces, n el número de ooquistes contados en la cámara, d es la inversa de la dilución (20) y A las dimensiones de la cámara de McMaster en cm^3 ($1 \times 1 \times 0,15 \text{ cm} = 0,15 \text{ cm}^3$).

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa estadístico SAS/STAT (Statistical Systems Institute Inc., Cary, NC, 1999). Tanto los datos productivos como el logaritmo decimal del conteo de ooquistes se analizaron mediante un análisis de varianza con el procedimiento PROC MIXED. La mortalidad fue estudiada mediante un análisis de distribución binomial con el método PROC GENMOD. Se utilizó el Test Tukey para comparar las medias entre sí.

Resultados y discusión

En la tabla 1 se muestran los resultados del recuento de ooquistes, a 9 días post infección (44 días de vida), que es el momento en el cual la infección por coccidios es más alta, produciéndose el mayor daño en la mucosa intestinal (Peters et al., 1984) y a 12 días post-infección (47 días de vida), cuando la infección ya empieza a disminuir (Gregory y Catchpole, 1986). En efecto se observó como el conteo de ooquistes fue mucho más alto a 41 días que a 47 días de vida.

Tabla 1. Número de ooquistes por gramo de heces.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6		
Infección	NO	SI	SI	SI	SI	SI		
Dieta	C	C	D	A	B	DA	EEM	P > f
Conteo de ooquistes, 44 d	131.711 ^c	364.155 ^a	275.434 ^b	445.232 ^a	404.867 ^a	148.598 ^{bc}	52.877	***
Conteo de ooquistes, 47 d	52.178 ^c	79.925 ^{ab}	59.712 ^{abc}	98.927 ^a	94.868 ^a	40.370 ^c	10.095	***

T1: no infectados; T2: infectados; T3: infectado + diclazuril; T4: infectado + aditivo A; T5: infectado + aditivo B; T6: infectado + diclazuril+aditivo A

Dieta C: sin aditivo; Dieta D: 0,5 % de diclazuril; Dieta A: 300 ppm de aditivo A; Dieta B: 200 ppm de aditivo B; Dieta DA: 0,5% de diclazuril + 300 ppm de aditivo A.

***: $p < 0,001$. EEM: Error estándar de la media.

Aunque se aislaron convenientemente a los animales del grupo no desafiado con el inóculo de coccidios, se encontraron ooquistes en las heces de los animales que no sufrieron desafío, aunque en menor cantidad que en las heces de los animales que sufrieron desafío. Esta contaminación pudo ser debida al contacto de las heces con orina de animales infectados. Comparando los distintos tratamientos de los animales que fueron desafiados, se observó una menor carga de ooquistes en el caso de los animales que consumieron coccidiostato que aquellos que no lo hicieron, aun consumiendo los aditivos naturales, los cuales no mostraron una reducción en la carga de coccidios. Sin embargo, la adición conjunta del aditivo A y coccidiostato sí produjo una reducción en el número de ooquistes en heces, lo que puede mostrar cierto efecto sinérgico entre el diclazuril y el aditivo A.

Estos resultados son paralelos a los encontrados en los parámetros zootécnicos, los cuales se muestran en las tablas 2 y 3. En la tabla 2 se muestran los parámetros productivos entre la infección y el momento de máxima infección de los animales (35 a 44 días) en el cual se pudo observar claramente un mejor peso, crecimiento, e índice de conversión en los animales no infectados que en los que sí fueron infectados, los cuales sufrieron en empeoramiento severo en su crecimiento, consumo en índice de conversión, lo que muestra que el desafío con coccidios mediante esta técnica fue eficaz.

Comparando los tratamientos que recibieron los animales infectados se observaron los peores resultados en los animales que no consumieron coccidiostato, independientemente de si consumieron algún aditivo natural. Sin embargo, la adición conjunta del aditivo A y coccidiostato sí produjo una mejora en el peso, la ganancia y el índice de conversión con respecto al resto de los animales infectados, aunque su peso no llegó a alcanzar al de los animales no sometidos a infección. La mortalidad, aunque no estadísticamente significativa, es ampliamente menor en los animales no infectados que en los animales sometidos a desafío, y mayor en aquellos animales que no consumieron coccidiostato y/o aditivos naturales.

Tabla 2. Parámetros productivos de los conejos de 35 a 44 días de vida.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6		
Infección	NO	SI	SI	SI	SI	SI		
Dieta	C	C	D	A	B	DA	EEM	P > f
PV, g	1324a	968,6c	1066b	991,4c	971,9c	1080b	17,69	***
GMD, g/d	52,75a	13,58c	21,20b	13,81c	12,78c	24,82b	1,515	***
DFI, g/d	102,3a	56,21d	67,50b	57,89cd	56,64d	65,72bc	2,056	***
FCR	1,895b	4,722a	4,482a	5,015a	5,045a	2,989ab	0,178	***
Mortalidad, %	0	20,00	10,00	10,00	6,666	6,666	-	0.6197

T1: no infectados; T2: infectados; T3: infectado + diclazuril; T4: infectado + aditivo A; T5: infectado + aditivo B; T6: infectado + diclazuril+aditivo A

Dieta C: sin aditivo; Dieta D: 0,5 % de diclazuril; Dieta A: 300 ppm de aditivo A; Dieta B: 200 ppm de aditivo B; Dieta DA: 0,5% de diclazuril + 300 ppm de aditivo A.

***: $p < 0,001$. EEM: Error estándar de la media.

En la tabla 3 se muestra los datos del periodo de 44 a 62 días de vida de los animales, en el que ya la infección de coccidios empieza a remitir, lo cual se observa con un crecimiento compensatorio de los animales y una disminución de la mortalidad, el cual es más acusado en los animales que habían sufrido más durante el periodo de infección (tratamientos 3, 4 y 5), aunque en ningún caso llegan al peso de los animales que no sufrieron infección.

Tabla 3. Parámetros productivos de los conejos de 44 a 62 días de vida.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6		
Infección	NO	SI	SI	SI	SI	SI		
Dieta	C	C	D	A	B	DA	EEM	P > f
PV 44 días, g	2322a	1987c	2145b	2101bc	2048bc	2130b	29,55	***
GMD, g/d	55,38b	57,15ab	60,20a	61,60a	59,25ab	58,66ab	1,098	***
DFI, g/d	161,3a	143,5b	160,1a	153,2ab	149,0ab	149,6ab	3,118	***
FCR	2,914a	2,512bc	2,647b	2,484c	2,505bc	2,533bc	0,0407	***
Mortalidad, %	6,666	6,666	0	3,333	6,666	3,333	1,013	0,9794

T1: no infectados; T2: infectados; T3: infectado + diclazuril; T4: infectado + aditivo A; T5: infectado + aditivo B; T6: infectado + diclazuril+aditivo A

Dieta C: sin aditivo; Dieta D: 0,5 % de diclazuril; Dieta A: 300 ppm de aditivo A; Dieta B: 200 ppm de aditivo B; Dieta DA: 0,5% de diclazuril + 300 ppm de aditivo A.

***: $p < 0,001$. EEM: Error estándar de la media.

A la vista de los resultados mostrados, se puede concluir que el uso de aditivos naturales en sustitución de coccidiostatos no es eficaz para reducir de la infección por coccidios ni los efectos que causa sobre los rendimientos productivos o la mortalidad de los animales. A la vista de los resultados mostrados, se puede concluir que el uso de aditivos naturales en sustitución de coccidiostatos no es eficaz para controlar la infección por coccidios ni los efectos que estos causan sobre los rendimientos productivos o la mortalidad de los animales.

Agradecimientos

Nuestro agradecimientos al todo el equipo de cunicultura de NANTA y a todo el personal del PRRC.

Bibliografía

- Coudert P., Licois D., Drouet-Viard F. 1995. *Eimeria* species and strains of rabbits. In Eckert J., Braun R., Shirley M.W., Coudert P. (eds) *Guidelines on techniques in coccidiosis research*. COST 89/820 Biotechnology, pp. 52-73.
- De Blas, C., Mateos, G. G. (2010). 12 Feed Formulation. *Nutrition of the rabbit*, CABI International, UK, pp:222.
- Gregory M.W., Catchpole J. 1986: Coccidiosis in rabbits: the pathology of *Eimeria flavescens* infection. *Int. J. Parasitol.*, 16:131-145.
- Licois D., Marlier D. 2008. Pathologies infectieuses du lapin en élevage rationnel. *INRA Prod. Anim.*, 21:257-268.
- Peeters J.E., Pohl P., Charlier G. 1984: Infectious agents associated with diarrhoea in commercial rabbits: a field study. *Ann. Rech. Vét.*, 15:335-340.
- Peeters J.E. 1987. Etiology and pathology of diarrhoea in weaning rabbits. In: Auxilia M.T. (ed) *Rabbit production systems including welfare*. CEE, Luxemburg, 127-137.

SAS Institute. 2001. *SAS/STAT[®] User's Guide (Release 8.2)*. SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.