

Aplicación de bacteriófagos microencapsulados para el control de *Salmonella* en la producción del pollo de engorde

***Salmonella* Control in Broiler Production by Microencapsulated Bacteriophages Feed Added**

Laura Lorenzo-Rebenaque^{1*}, Danish J Malik², Jan Torres-Boncompte³, Pablo Catalá-Gregori^{1,4}, Clara Marin¹, Josep García-Llorens⁴, Sandra Sevilla-Navarro^{1,4}

1 Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, Calle Santiago Ramón y Cajal 20, 45115 Alfara del Patriarca (Valencia), Spain.

*Personal investigador de carácter predoctoral Generalitat Valenciana-Fondo Social Europeo (ACIF/2020/376)

2 Chemical Engineering Department, Loughborough University, Loughborough LE11 3TU, UK

3 Facultad de Medicina, departamento de medicina preventiva y salud pública, Universitat de Valencia.

4 Centro de Calidad Avícola y Alimentación Animal de la Comunidad Valenciana (CECAV), 12539 Castellón, Spain

Autor correspondiente: laura.lorenzorebenaque@uchceu.es

Introducción

Salmonella es una de las principales causas de toxiinfecciones alimentarias a nivel mundial, siendo los productos avícolas una de las principales fuentes de infección humana [1]. Para su control en Europa, se llevan a cabo estrictas medidas de bioseguridad aplicadas a nivel de campo, sin embargo, cada año siguen surgiendo más de 50.000 casos de salmonelosis humana en la UE [1-2]. Por ello, en los últimos años se han estudiado diferentes herramientas alimentarias de control de la bacteria, como son los probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, aceites esenciales, o los bacteriófagos [3]. Los bacteriófagos son virus que infectan selectivamente a las bacterias, alterándolas hasta

destruirlas [3]. El empleo oral de bacteriófagos microencapsulados es una herramienta prometedora por su fácil aplicación en granja, en la que además se ha demostrado que son capaces de alcanzar el lugar de acción de *Salmonella*, el ciego [4]. En este contexto, el objetivo de este estudio es la evaluación del efecto de la aplicación del bacteriófago microencapsulado como aditivo alimentario en la dieta starter para evitar la colonización horizontal de *Salmonella* Enteritidis durante el ciclo productivo.

Material y métodos

El fago FGS011 empleado en este estudio ha sido aislado en el CECAV y microencapsulado en la Universidad de Loughborough con el polímero aniónico Eudragit® L100 [4]. El estudio de campo tuvo lugar en una granja experimental (CITA-IVIA, Segorbe). Los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética de la misma institución de acuerdo con la Directiva 2010/63/UE. Un total de 100 pollitos de 1 día se dividieron en dos naves idénticas según los dos grupos experimentales (control vs L100), y se criaron en condiciones estándar de producción. En cada grupo experimental, el 50 % de las aves (n=25) fueron desafiadas con 10^5 UFC de la cepa de campo de *Salmonella* Enteritidis vía oral. Los animales del grupo L100 recibieron el bacteriófago FGS011, microencapsulado, como aditivo alimentario (1 g/kg, 5,5 UFP/g) con la dieta starter (hasta el día 21). Los animales del grupo control recibieron una dieta basal sin bacteriófagos. Durante el estudio, se tomaron hisopos cloacales de 30 animales por grupo (15 infectados y 15 no infectados) dos veces por semana. La detección de *Salmonella* se llevó a cabo siguiendo la ISO/TS 6579-1:2017. Todos los datos obtenidos se analizaron empleando el paquete estadístico SPSS 27.0 software package; SPSS Inc., Chicago, IL, 2002. Para ello se empleó un modelo lineal generalizado y se tomaron como diferencias estadísticamente significativas una P-value < 0,05).

Resultados

Los resultados del estudio mostraron que la aplicación del bacteriófago redujo significativamente la excreción de *Salmonella* en los animales no infectados en la cuarta semana (27 ± 8.1 vs $7 \pm 4.1\%$; P-value < 0.05) (Figura 1). Además, *Salmonella* no se detectó en los animales no infectados del grupo L100 al final del ciclo productivo (semanas 5 y 6).

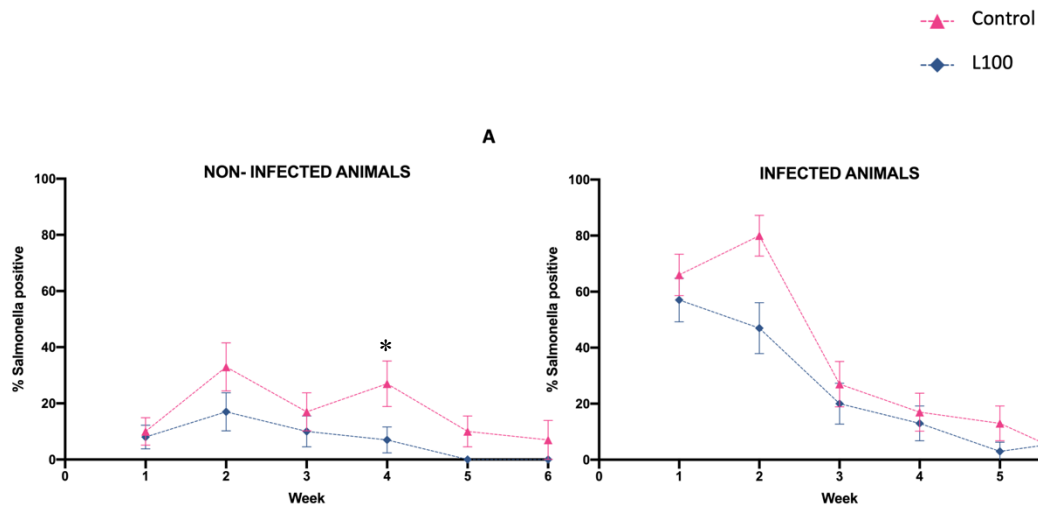


Figura 1. Porcentaje de animales positivos a *Salmonella*. (A) Animales no desafiados con *Salmonella* (transmisión horizontal de la bacteria). (B) Animales desafiados con *Salmonella*. * indica diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y L100 P-value < 0,05.

Discusión y conclusiones

La terapia fágica se considera una herramienta prometedora para el control de *Salmonella* en avicultura [3]; sin embargo, encontrar la forma de aplicación más efectiva continúa siendo un desafío. Estudios previos han demostrado que L100 es capaz de alcanzar el lugar de colonización de *Salmonella*, el ciego, en ausencia de la bacteria [4]. Diferentes autores destacan que, aunque el BF sin encapsular sea capaz de llegar al final del TGI, su eliminación del organismo es mucho más rápida que la de aquellos BF que están encapsulados [5]. Hay diferentes factores, como la rápida eliminación de los BF por la inmunidad del hospedador, las interacciones con la mucosa intestinal y con la microbiota intestinal que interaccionan con el BF pudiendo variar su acción, siendo necesarios más estudios que incluyan estos factores [5-6]. Los resultados de este estudio muestran que *Salmonella* se ha reducido significativamente en diferentes momentos del ciclo, aunque la eliminación total en los animales infectados no fue posible [7-8]. Esta situación podría deberse a su naturaleza intracelular, lo que dificultaría su eliminación total [9], siendo necesario estudiar nuevos protocolos de aplicación de fagos o su combinación con otras medidas de control (probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos).

Los resultados de este estudio ponen de manifiesto que la aplicación de L100 en la dieta starter puede ayudar a reducir la transmisión horizontal de *Salmonella* y obtener animales libres de la bacteria al final del ciclo, sin embargo, siguen siendo necesarios más estudios que incluyan nuevos protocolos de administración del bacteriófago para asegurar su máxima eficacia frente a *Salmonella*.

Referencias

- [1] European Food Safety Authority. EFSA J. 19(12):6971 (2021)
- [2] R (UE) n°517/2011 del Consejo, de 25 de mayo de 2011
- [3] Wernicki A et al. Virology Journal 14:179 (2017)
- [4] Lorenzo-Rebenaque et al. Animals 12(2):144 (2021)
- [5] Colom, J., et al. Sci Rep.7:1-10(2017)
- [6] Dąbrowska, K., Med Res Rev.39:2000-25(2019)
- [7] Colom et al. Appl Environ Microbiol 81:4841-9 (2015)
- [8] Nabil et al. Infect Ecol Epidemiol 8(1):1539056 (2018)
- [9] Lee et al. Rev Bras Cienc Avic 17(4) (2015)