Nota de Prensa, para su publicación:

GO: "Uso Racional y Prudente de Antibióticos en Producción Porcina"

https://porcinosostenible.com/

Submedida 16.1_GO1: Apoyo para la creación de Grupos Operativos de la AIE en Materia de Productividad y Sostenibilidad Agrícola
Gasto Auxiliable: 19.800,00 euros
Expediente: VA/16/0077/G01

Submedida 16.1_GO2: Apoyo para el funcionamiento de Grupos Operativos de la AIE en Materia de Productividad y Sostenibilidad Agrícola
Gasto Auxiliable: 203.494,75 euros
Expediente: 47/18/125/G02

Esta Operación ha sido cofinanciada por la Unión Europea a través del FEADER

Junta de Castilla y León

FONDO EUROPEO AGRÍCOLA DE DESARROLLO RURAL: EUROPA INVIERTE EN LAS ZONAS RURALES

https://ec.europa.eu/agriculture/rural-development-2014-2020_es

CONTENIDO

1. Introducción 3

2. Actividades realizadas - conclusiones 4

2.1. Estudio de brotes de enfermedad, identificación del agente causal y estudio de la resistencia antibiótica en las bacterias patógenas identificadas. 4

2.1.1. Patología respiratoria / sistémica 4

2.1.2. Patología entérica 5

2.1.3. Caracterizacion molecular de la resitencia 6

2.2. Actividad: Medidas de bioseguridad y consumo de antimicrobianos en las granjas de cerdos de la Comunidad Autónoma de Castilla y León 7

2.3. Actividad: Valoración in vitro e in vivo de una selección de estrategias para el control de las principales enfermedades de etiología bacteriana en las explotaciones porcinas de CyL. 11

2.3.1. Evaluación in vitro de desinfectantes 11

2.3.2. Evaluación de protocolos de limpieza y desinfección en granja 13

2.3.3. Suplementación con lactoferrina en agua de bebida durante el destete.....16

2.3.4. Suplementación con ácido láurico en el pienso durante destete 18

RESISTENCIAS DE LOS PRINCIPALES AGENTES DIGESTIVOS Y RESPIRATORIOS EN LA PRODUCCIÓN PORCINA DE CASTILLA Y LEÓN: RACIONALIZACIÓN Y USO PRUDENTE DE LOS ANTIBIÓTICOS

1. INTRODUCCIÓN

Ejecutado el proyecto del Grupo Operativo “Uso prudente y racional de antibióticos en producción porcina”, realizado durante los años 2018, 2019, 2020 y 2021, se redacta el siguiente informe para su publicación.

El proyecto del grupo operativo ha sido formado por las siguientes empresas de Castilla y León

- AGROCESA.
- COBADU
- COPESE
- COPISO
- PROGATECSA
- UVESA
- SAT HMNOS. CHICO
- PROINSERGA ALIMENTACIÓN
- NUTRIGANSE

Ha sido elaborado - desarrollado por:

- El grupo de investigación DIGESPORC integrado en el Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de León.
- El grupo de investigación BACRESPI integrado en el Departamento de Sanidad Animal, de la Facultad de Veterinaria de León.
- El grupo de investigación NEWTEC, adscrito al ICTAL (Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos) de la Universidad de León.
- El Centro de Pruebas de Porcino (CPP) que pertenece a la Subdirección de Investigación y Tecnología Agraria del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACYL; Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León)

Y dirigido por los **Dres. Ana Carvajal Urueña y César B. Gutiérrez Martín**, de los grupos de investigación DIGESPORC y BACRESPI, respectivamente.

2. ACTIVIDADES REALIZADAS - CONCLUSIONES

2.1. ESTUDIO DE BROTES DE ENFERMEDAD, IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL Y ESTUDIO DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN LAS BACTERIAS PATÓGENAS IDENTIFICADAS.

2.1.1. PATOLOGÍA RESPIRATORIA / SISTÉMICA

ESTUDIO DE BROTES DE ENFERMEDAD RESPIRATORIA Y MENINGITIS

Se recibieron un total de 222 muestras procedentes de brotes de enfermedad respiratoria y/o cuadros de meningitis durante la fase de destete.

Las bacterias más prevalentes fueron *Streptococcus suis* y *Pasteurella multocida,* seguidas por *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Glaesserella parasuis* (*Haemophilus parasuis*) (Figura 1). Para todas ellas se estudiaron, por técnicas moleculares, los principales factores de virulencia.

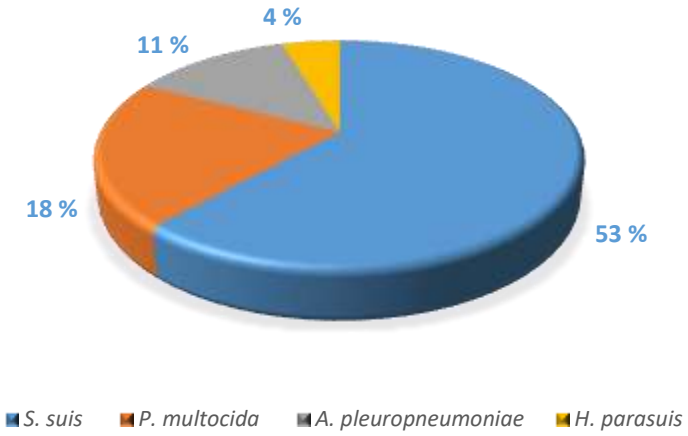


Figura1: Bacterias más prevalentes

De forma general, la resistencia parece ser un fenómeno menos extendido entre los patógenos respiratorios en comparación con los entéricos.

Los aislados de *Streptococcus suis* fueron muy sensibles a la oxitetraciclina y clortetraciclina (96,7 y 95 %, respectivamente), así como al florfenicol (90 %), todos ellos antibióticos de uso prudente, categoría D, según la clasificación de la Agencia Europea del Medicamento (EMA). Las proporciones más elevadas de resistencia entre los aislados de *S. suis* se han observado para la penicilina (38,2 %), la ampicilina (35 %) y la enrofloxacina (26,7 %).

Por el contrario, los aislados de *Pasteurella multocida* fueron en su gran mayoría resistentes a las tetraciclinas, clortetraciclina (77,8 % de aislados resistentes) y oxitetraciclina (66,7 %); a la gentamicina (55,6 %) y a la tiamulina (55,6 %). Las mayores proporciones de aislados sensibles en esta especie bacteriana correspondieron a dos antibióticos de importancia crítica en medicina humana, como

son las cefalosporinas de tercera generación (100 % de aislados sensibles al ceftiofur) y las quinolonas (94,4 % de aislados sensibles al enrofloxacino). Se obtuvieron, igualmente, buenos datos de sensibilidad a algunos antibióticos de la categoría C, como la tulatromicina (94,4 % de aislados sensibles), la tilmicosina (88,9 %), el florfenicol (88,9 %) y el tartrato de tilosina (77,8 %).

Los aislados de *Actinobacillus pleuropneumoniae* son frecuentemente resistentes a ampicilina (68,8 %) y las tetraciclinas (50 %). En este caso, los antibióticos de elección incluyen el trimetoprim-sulfametoxazol (62,5 % de aislados sensibles) entre los del grupo D y la gentamicina (93,8 %) y kanamicina (68,8 %), entre los del grupo C.

Finalmente, se determinó la resistencia en los escasos aislados de *Haemophillus parasuis* recuperados. El 100 % fueron resistentes a las tetraciclinas y el 50 % a la ampicilina y el trimetoprim-sulfametoxazol. La eritromicina, entre los antibióticos del grupo C, o el ceftiofur, la enrofloxacina y la colistina, todos ellos del grupo B, mostraron los mejores valores de eficacia, con un 75 % de aislados sensibles.

2.1.2. PATOLOGÍA ENTÉRICA

ESTUDIO DE LOS BROTES DE ENFERMEDAD DIGESTIVA

Los resultados más relevantes en el estudio de la etiología de los brotes de enfermedad digestiva se muestran a continuación.

En las diarreas neonatales cabe destacar que no se identificó la presencia de aislados enterotoxigénicos de *Escherichia coli,* probablemente a consecuencia del uso generalizado de vacunas en las reproductoras. El agente etiológico más común en esta etapa fueron los rotavirus de tipo C, identificados en el 21,7 % de los brotes, seguidos de los rotavirus A (8,7 %). El aislamiento de *Clostridium perfringens* tipo A es un hallazgo habitual, tanto en lechones con diarrea como en animales sanos, siendo, por tanto, escasa su relevancia diagnóstica.

Por su parte, *E. coli* enterotoxigénico estuvo implicado en la etiología del 42,9 % de los brotes de diarrea en destete, detectándose *Lawsonia intracellularis* en una elevada proporción de las muestras de diarrea en esta etapa (38,1 %) y, en menor medida, *Salmonella enterica* (9,5 %). Los rotavirus también parecen ser un agente etiológico de relevancia (26,2 %), fundamentalmente los rotavirus A.

En las diarreas en cebo y reproductoras *L. intracellularis* fue el agente etiológico más frecuentemente identificado, en un 76,5 % de los brotes investigados, seguido por *Brachyspira hyodysenteriae* (58,8 %), agente etiológico de la disentería porcina, y *S. enterica* (35,3 %). Fueron frecuentes las infecciones mixtas, que implican más de un agente etiológico de diarrea.

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN PATÓGENOS ENTÉRICOS

La resistencia es un importante problema en el caso de los aislados patógenos de *E. coli* porcinos, recuperados de brotes entéricos. Todos los aislados evaluados fueron resistentes a la ampicilina, presentando también una alta resistencia a la sulfadimetoxina (93,9 %), tetraciclinas (93,9 %), trimetoprim-sulfametoxazol (90,9 %), espectinomicina (78,8 %), gentamicina (63,6 %), neomicina (57,6 %) y florfenicol (45,5 %). En menor medida, *E. coli* también fue resistente a los antibióticos de uso crítico, incluidos en la categoría B de la Agencia Europea del Medicamento (EMA), entre los que se incluyen danofloxacino (33,3 %), enrofloxacino (27,3 %) y ceftiofur (9,1 %).

A pesar de que el uso de antibióticos no es una estrategia adecuada para el control de las diarreas asociadas a clostridios, por estar asociada a fenómenos de disbiosis, podemos mencionar que *C. perfringens* es particularmente resistente a la clortetraciclina (69,0 %) y oxitetraciclina (58,6 %), y, en menor medida, a la penicilina (58,6 %) y clindamicina (24,1 %). De forma similar, *Clostridioides difficile* es resistente a las tetraciclinas y la penicilina. Por el contrario, todos los aislados de *C. perfringens* y *C. difficile* han sido sensibles al florfenicol y la gran mayoría a ampicilina.

Los aislados de *S. enterica* son particularmente resistentes a la ampicilina (90 %), sulfadimetoxina (90 %), clortetraciclina (90 %) y oxitetraciclina (80 %) y, en menor medida, al trimetoprim-sulfametoxazol (30 %), espectinomicina (30 %) y florfenicol (10 %). Sin embargo, ninguna *Salmonella* presentó resistencia a la gentamicina ni a la neomicina.

B. hyodysenteriae muestra frecuentemente sensibilidad reducida o resistencia a los limitados antibióticos disponibles: las pleuromutilinas, lincosamidas y macrólidos.

La realización de pruebas de sensibilidad antimicrobiana antes de comenzar un tratamiento antibiótico es siempre muy recomendable, especialmente en el caso de los procesos entéricos en los que se sospeche de la participación de *E. coli* o de espiroquetas intestinales.

2.1.3. CARACTERIZACION MOLECULAR DE LA RESITENCIA

En el marco del Grupo Operativo se han desarrollado estudios de caracterización molecular de las resistencias a antibióticas en aislados bacterianos de origen porcino. Los resultados más destacados obtenidos nos permiten concluir lo siguiente:

- La resistencia y multirresistencia es un fenómeno muy común en aislados de *Escherichia coli* con factores de virulencia como *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), *E. coli* verotoxigénico (VTEC) o *E. coli* enteropatógeno (EPEC). Esta resistencia fue significativamente superior a la observada en aislados comensales de esta misma especie bacteriana. Este hecho puede ser consecuencia de una co-selección que favorece la presencia de aislados con determinantes genómicos de resistencia y factores de virulencia.
- La elevada prevalencia cepas con resistencia y multirresistencia y la gran variedad de determinantes genómicos de resistencia en los aislados de *E. coli*

hacen necesario el empleo de técnicas de secuenciación de genomas para el estudio del resistoma en estos aislados. Además, estas técnicas pueden proporcionar información sobre elementos genéticos móviles que faciliten la transferencia de esas resistencias y de factores de virulencia, así como de la posible relación dentro del genoma de los determinantes de resistencia y de virulencia, tal y como se indica en el punto anterior.

- El estudio de los genes de resistencia más comunes a beta-lactamasas, tetraciclinas o macrólidos no permitió predecir la resistencia fenotípica mostrada por los aislados de *Pasteurella multocida*. La realización de antibiogramas es, por tanto, una herramienta esencial para el manejo de las infecciones por este patógeno en las granjas de cerdos.
- La caracterización molecular de los aislados de *Streptococcus suis* demostró la asociación entre factores de virulencia y resistencia. Los aislados que presentaron tres o más de estos factores de virulencia fueron en su mayoría multirresistentes. Existió asociación entre la resistencia fenotípica a tetraciclinas y macrólidos y la presencia de los genes *tetO* y *ermB*, respectivamente. Por el contrario, no existió asociación entre la resistencia a fenicoles y la presencia del gen *fexA.* Finalmente, destacar que los aislados de *S. suis* del serotipo 9 mostraron con gran frecuencia perfiles de multirresistencia.
- La comparación del resistoma en bacterias, tanto entéricas como del ambiente, aisladas de explotaciones con mayor o menor uso de antibióticos reveló la existencia de diferencias significativas, con una mayor presencia de determinantes de resistencia y, particularmente, de determinantes asociados a elementos genéticos móviles, en las granjas con mayor uso de antibióticos. Este hecho justifica los esfuerzos que realicen para reducir el consumo de antibióticos en la producción porcina puesto que repercutirán en una menor carga de determinantes de resistencia y, especialmente, en una menor capacidad de transferencia horizontal de la resistencia bacteriana.

2.2. ACTIVIDAD: MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD Y CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS EN LAS GRANJAS DE CERDOS DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE CASTILLA Y LEÓN

En el marco del Grupo Operativo "*Uso racional y prudente de antibióticos en producción porcina*" se recopiló información relativa a la bioseguridad y al uso de antibióticos en granjas porcinas de Castilla y León, repitiendo esta evaluación al inicio y al final del periodo investigado (2018/19 y 2021).

En relación con la bioseguridad de las explotaciones comprobamos que, para ambos periodos de tiempo, de acuerdo a los valores obtenidos mediante una herramienta informática de evaluación de bioseguridad, las explotaciones participantes obtuvieron puntuaciones de bioseguridad externa (es decir, aquella relacionada con la prevención de la entrada de agentes infecciosos a la explotación), significativamente superiores a las calificaciones para la bioseguridad interna, aquella que previene la diseminación de agentes infecciosos presentes dentro de la granja. Podemos destacar que la bioseguridad total de las explotaciones mejoró de forma significativa a lo largo del

proyecto (Figura 2). Este incremento se ha debido, principalmente, a actuaciones asociadas a la bioseguridad externa, ligadas al control de visitas y trabajadores. Adicionalmente, se observa una cierta mejora de la bioseguridad interna, en la fase de partos y lactancia.

En lo relativo al uso de antibióticos hemos comprobado que las penicilinas y, en menor medida, las tetraciclinas son los antibióticos más empleados (Figura 3). A lo largo del desarrollo del proyecto hemos constatado una reducción significativa del uso de los antibióticos más críticos, los clasificados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) como categoría B o de uso restringido. Así, hemos demostrado una reducción significativa del uso de quinolonas y de cefalosporinas de tercera generación. Ninguna de las granjas participantes en el estudio empleó polimixinas en el año 2021, durante la fase final del proyecto. También hemos apreciado una reducción significativa del uso de lincosamidas. Por el contrario, hemos detectado un incremento significativo del uso de penicilinas y de sulfonamidas potenciadas, ambos antibióticos de categoría D, que parecen estar sustituyendo a otros antibióticos más críticos en las granjas de cerdos de la región. Aunque los resultados son prometedores, es necesario continuar con esta dinámica en la reducción de uso de antibióticos en ganadería porcina, mitigando así el impacto de las resistencias a los antimicrobianos y, en consecuencia, garantizando la salud pública, animal y ambiental.

Figura 2. Bioseguridad en las explotaciones porcinas de Castilla y León. Puntuación de (0-100) para bioseguridad total, externa e interna, desgranadas, a su vez, en subcategorías más específicas al inicio (2018-2019) y final del estudio (2021). Las diferencias entre ambos periodos se determinaron mediante la prueba de "Wilcoxon signed-rank".

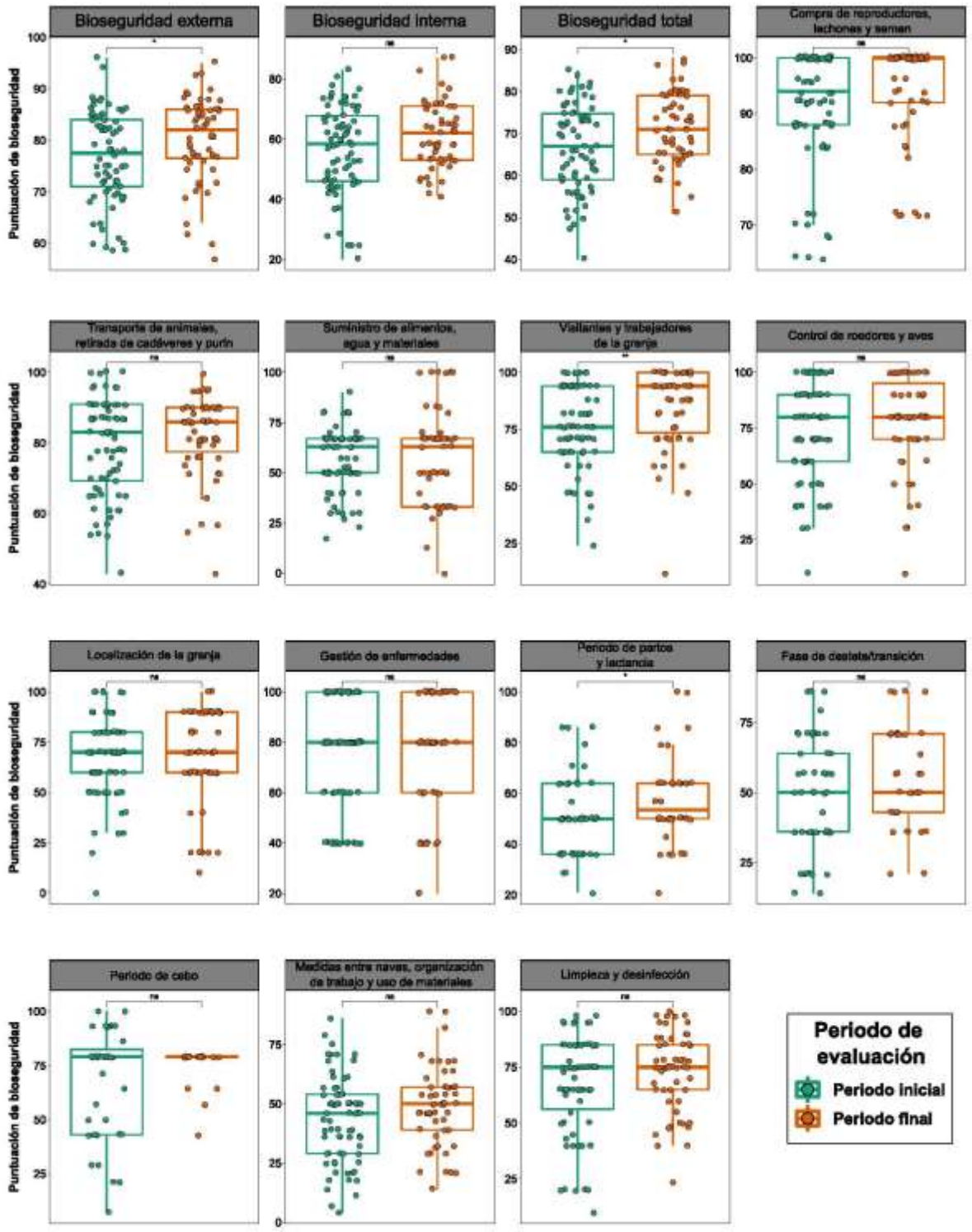
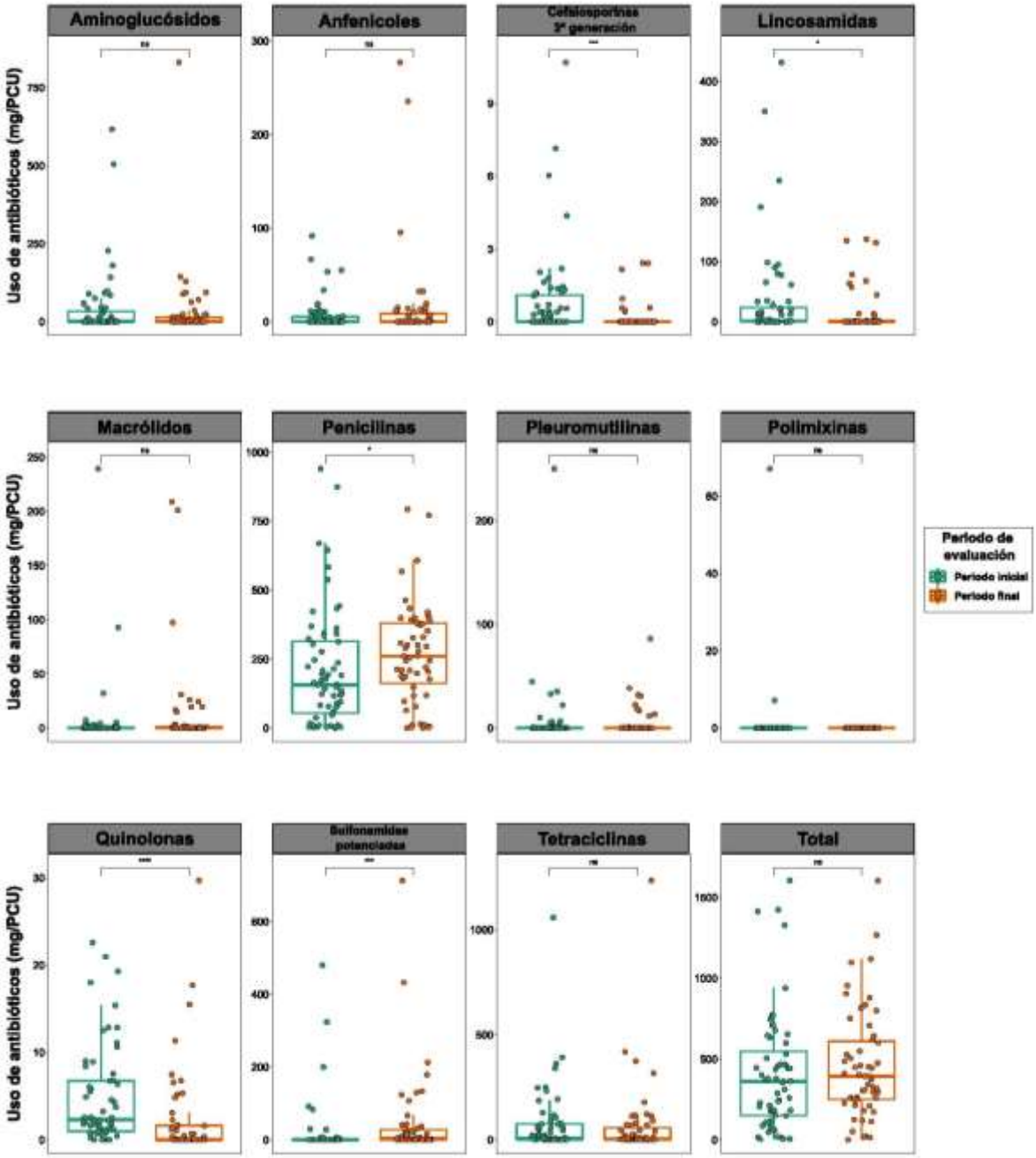


Figura 3. Uso de antibióticos en las explotaciones porcinas de Castilla y León, expresado en mg/PCU y desglosado por clases de antibióticos al inicio (2018-2019) y final del estudio (2021). Las diferencias entre ambos periodos se determinaron mediante la prueba de "Wilcoxon signed-rank".



2.3. ACTIVIDAD: VALORACIÓN IN VITRO E IN VIVO DE UNA SELECCIÓN DE ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL DE LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES DE ETIOLOGÍA BACTERIANA EN LAS EXPLOTACIONES PORCINAS DE CYL.

2.3.1. EVALUACIÓN IN VITRO DE DESINFECTANTES

Eficacia de desinfectantes comerciales

Nuestros resultados han demostrado la necesidad de trabajar para la mejora de la bioseguridad interna en las explotaciones porcinas de Castilla y León (actividad 2). Entre las medidas de bioseguridad interna ocupa un lugar destacado la limpieza y desinfección de las instalaciones que unida a un estricto manejo todo dentro-todo fuera puede cortar ciclos de transmisión de patógenos entre lotes de animales.

Los protocolos de limpieza y desinfección de los corrales o salas deben comenzar con una retirada de restos de heces, comida y suciedad incrustada. En un segundo paso, los suelos y paredes deben lavarse durante un determinado tiempo, con detergente y agua caliente si es posible, con el objetivo de ablandar la suciedad y los residuos restantes, y tras ello, aclararse con agua a presión. Finalmente, se debe proceder a la aplicación de un desinfectante aprobado para su uso general en granja y siguiendo las instrucciones del fabricante.

Numerosos factores afectan al resultado final de los protocolos de limpieza y desinfección incluyendo la eficacia de los desinfectantes empleados. Es por ello que hemos llevado a cabo un estudio *in vitro* de la eficacia de desinfectantes comerciales empleados en explotaciones porcinas. Los resultados fueron muy favorables para la gran mayoría de los desinfectantes y patógenos estudiados (Tabla 1 y Tabla 2). Cabe destacar un excelente comportamiento de los desinfectantes basados en peróxido de hidrogeno frente a patógenos respiratorios. *Poliformo*® y *Limoseptic*® tuvieron una baja eficacia sobre *Streptococcus suis* y *Pasteurella multocida* mientras que Virkon-S® y, en menor medida, Limoseptic® mostraron una eficacia reducida frente a algunos aislados de *Brachyspira hyodysenteriae*.

También se evaluó la eficacia de un biocida comercial, ALZOGUR®, indicado para el tratamiento de purines en granjas de cerdos con el fin de garantizar la eliminación de *B. hyodysenteriae*. Para ello se simularon en el laboratorio las condiciones de uso de este producto sobre las fosas de purines (altura mínima de purín 10 cm, tratamiento con ALZOGUR® al 30 % v/v y aclarado con agua tras una hora de tratamiento), demostrándose una reducción superior a 10^4 unidades formadoras de colonias o ufc/ml de *B. hyodysenteriae* tras 96 horas de exposición (eficacia superior al 99,99 %).

Finalmente, se evaluó *in vitro* la actividad bactericida del ozono frente a microorganismos presentes de forma habitual en el ambiente de las explotaciones, incluyendo bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, Gram negativas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas fluorescens* o, incluso, una levadura, *Candida albicans*. El equipo biocida empleado fue *Total Clean TCL-OZ100UV60*, tratándose un volumen de 100 l de aire. Se comprobó que la exposición a una concentración de ozono de 1,5 ppm era capaz de eliminar por completo las

bacterias y levaduras viables. Por el contrario, la exposición a una concentración inferior, de 1 ppm, produjo una reducción del 30,4 % para las bacterias estudiadas y del 46,7 % para las levaduras.

Tabla 1. Eficacia *in vitro* de una selección de desinfectantes comerciales sobre bacterias del complejo respiratorio

	Unidades formadoras de colonias o UFC tras 1 minuto de contacto con el desinfectante			
Desinfectante	***Streptococcus suis***	***Pasteurella multocida***	***Haemophiluss parasuis***	***Actinobacillus pleuroneumoniae***
LIMOSEPTIC®	$2{,}3x10^3$	$5{,}1x10^2$	0	0
POLIMORFO®	$5{,}7x10^2$	$7x10^2$	0	0
CR-36®	0	0	0	0
VIRKON®	0	0	0	0
YODERMINA®	0	0	0	0
MEDADES OXI®	0	0	0	0
MEGADES NOVO®	0	0	0	0
SANITAS FORTE®	0	0	0	0
MEVIFORTE PLUS®	0	0	0	0
DESPADAC®	0	0	0	0
BIOPLAQUEN PEROX®	0	0	0	0
VIROBACTER®	0	0	0	0
HYPRELVA NET®	0	0	0	0
ETANOL 70 %	$6x10^3$	0	0	0
Solución salina estéril	$3{,}9x10^8$	$1{,}2x10^7$	$4{,}9x10^6$	$8{,}1x10^6$

Tabla 1

Tabla 2. Eficacia *in vitro* de una selección de desinfectantes comerciales frente a *Brachyspira hyodysenteriae*. Se muestra el recuento de bacterias supervivientes (media ± desviación estándar de las unidades formadoras de colonias o ufc por ml expresadas como logaritmo) tras la exposición de 10 aislados de campo a cada uno de los desinfectantes evaluados (método de dilución-neutralización teniendo en cuenta la Norma Europea EN 1656:2009).

DESINFECTANTE (% v/v)	Aislados									
	IT-1	IT-18	IT-39	IT-40	IT-45	IT-48	IT-67	IT-68	IT-83	IT-85
ETANOL 70 %	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
VIRKON-S® (1 %)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	4,7 ± 0,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	5,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	4,8 ± 0,6
CR-36® (100 %)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
YODERMIN® (100 %)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
POLIFORMO® (2 %)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
LIMOSEPTIC® (1 %)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,5 ± 0,5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
MS MEGADES OXY® (0,5 %)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
MS MEGADES NOVO® (0,75 %)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
CONTROLES (sin desinfectante)	7,9± 0,4	7,7 ± 0,6	7,5 ± 0,3	7,5 ± 0,0	7,5 ± 0,1	7,5 ± 0,5	7,5 ± 0,6	7,4 ± 1,0	7,6 ± 1,0	8,0 ± 0,4

Tabla 2

2.3.2. EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN EN GRANJA

Eficacia *in vivo* de los protocolos de limpieza y desinfección en granjas porcinas

Teniendo en cuenta los buenos resultados mostrados por la gran mayoría de los desinfectantes comerciales en su evaluación en condiciones de laboratorio, se llevó a cabo, en una segunda etapa, una evaluación de protocolos de limpieza y desinfección en granjas de cerdos. Factores como la presencia de materia orgánica y biofilms, los tiempos de secado, la utilización o no de detergentes, características del agua como su pH o dureza o de las superficies a limpiar como el tipo de material, porosidad o presencia de fisuras o grietas, condiciones ambientales como el flujo de aire, temperatura o humedad y la carga microbiana afectan a la eficacia de estos protocolos de limpieza y desinfección, haciendo necesarios estudios en granja.

Se llevaron a cabo muestreos en 29 granjas al completarse los protocolos de limpieza y desinfección rutinarios, incluyendo suelos y paredes, así como comederos, bebederos y otros equipos, determinando la eficacia en base a los recuentos de microorganismos indicadores. Las granjas remitieron, además, información detallada sobre los protocolos y desinfectantes empleados. En algún caso y a petición de las empresas participantes se llevaron también a cabo valoraciones de la eficacia de los protocolos en camiones de transporte de cerdos. Los resultados nos permiten concluir

la eficacia de estos protocolos solo puede ser clasificada de moderada en algunos casos (más del 75 % de los casos), muy buena en un 10 % de los casos, y regular en el 15 % restante. Cabe destacar que las salas de transición fueron las que obtuvieron mejores valores, seguidas de las de madres y, por último, con mayor contaminación se situaron los cebaderos.

Las bacterias *Escherichia coli, Streptococcus xylosus* y el género *Bacillus* fueron encontrados en casi todos los casos, perteneciendo lo más probable a microbiota ambiental y no a microorganismos necesariamente patógenos. En cualquier caso, son excelentes indicadores de contaminación ambiental.

La retirada de materia orgánica, el desmontaje adecuado de los espacios y equipos y los tiempos de secado son, en base a nuestros resultados, los puntos críticos que limitan la eficacia de los protocolos de limpieza y desinfección en las granjas de cerdos.

Adicionalmente, evaluamos la eficacia, en condiciones de campo, de los protocolos de limpieza y desinfección frente a *Brachyspira hyodysenteriae* en dos granjas con disentería porcina. En este caso se muestrearon suelo y paredes de los corrales tras el vaciado de animales y antes de la limpieza, después de la limpieza y antes de la desinfección y tras la desinfección. Nuestros resultados demuestran que es posible detectar por técnicas moleculares *B. hyodysenteriae* en el 45 % de los corrales tras la salida de los animales. La concentración del patógeno en estos corrales es relativamente elevada (Tabla 1) y puede ser origen de infección para nuevos lotes alojados en los mismos. Aunque su concentración disminuyó de forma significativa, aun fue detectada por técnicas moleculares en el 28 % de estos corrales tras la limpieza y en el 20 % tras la desinfección (Tabla 1). Los datos del estudio reflejan diferencias en la eficacia de los protocolos en las explotaciones evaluadas, resultado que puede ser consecuencia de factores humanos y que nos permite concluir la importancia de realizar adecuadamente las actividades de limpieza y desinfección.

Finalmente, hemos evaluado en condiciones de granja un protocolo de desinfección basado en el empleo de ozono. Para ello se compararon los recuentos de bacterias indicadoras en dos salas de una misma explotación, la sala A en la que se empleó un desinfectante comercial, y la sala B en la que empleó una concentración de 1 ppm de ozono. Los resultados fueron muy similares para ambas salas permitiéndonos concluir que la desinfección con ozono presenta una eficacia similar a la realizada de forma convencional con un desinfectante comercial. Como ventajas de estos sistemas de desinfección podemos mencionar la ausencia de residuos tóxicos y que no es necesario esperar al secado tras la desinfección.

Equipamiento y sensores para la ozonización en granja

En un segundo muestreo se compararon los resultados obtenidos empleando tres concentraciones de ozono, 1, 1,2 y 1,5 ppm, así como agua ozonizada en zonas como comederos, bebederos y juguetes.

Al tratarse, en este caso, de salas diáfanas, el ozono funcionó muy bien en superficies (suelos y paredes) mientras que el agua ozonizada fue eficaz en comederos, bebederos, placas calefactoras y juguetes.

Todo ello nos permite concluir que la desinfección con ozono a 1,5 ppm y utilizando agua ozonizada en los equipos o ubicaciones de más difícil acceso puede ser una buena alternativa a los desinfectantes convencionales. Como hemos indicado anteriormente, entre sus ventajas destaca que no deja residuos y que las instalaciones donde se emplea el ozono pueden ser utilizadas al poco tiempo de la desinfección. Al igual que en los desinfectantes convencionales, es fundamental la limpieza previa a la desinfección porque la presencia de materia orgánica dificulta su efecto bactericida.

Tabla 3. Eficacia de los protocolos de limpieza y desinfección en granjas afectadas de disentería porcina. Se muestra la concentración estimada (media ÷ desviación estándar) de *Brachyspira hyodysenteriae* por PCR a tiempo real expresada como logaritmo de unidades formadoras de colonias o ufc por ml en los corrales muestreados.

			RESULTADOS COMBINADOS	GRANJA A #	GRANJA B #
Tras el vaciado de animales y antes de la limpieza (AL)	Corrales muestreados	Total	56	8	48
		Positivos	25	6	19
		%	44,6	75	39,6
	Concentración de *B. hyodysenteriae*	log ufc/ml	5,7 ± 1,0	6,3 ± 0,9	5,6 ± 1,1
Tras la limpieza y antes de la desinfección (DL)	Corrales muestreados	Total	25	6	19
		Positivos	7	1	6
		%	28,0	16,7	31,6
	Concentración de *B. hyodysenteriae*	log ufc/ml	4,3 ± 0,4	4,5 ± 0,2	4,3 ± 0,5
Tras la desinfección (DD)	Corrales muestreados	Total	25	6	19
		Positivos	5	1	4
		%	20,0	16,7	21,1
	Concentración de *B. hyodysenteriae*	log ufc/ml	4,0 ± 0,6	3,2 ± 0,1	4,2 ± 0,4

Tabla 3: # En la granja A el protocolo de limpieza y desinfección incluyó lavado a presión y desinfección con HYPRED FORCE 7®; En la granja B incluyó remojo previo con agua fría y detergente, lavado a presión con agua fría y desinfección final con MS MEGADES OXY®.

2.3.3. SUPLEMENTACIÓN CON LACTOFERRINA EN AGUA DE BEBIDA DURANTE EL DESTETE

Actividad de la lactoferrina en granja

Se valoró en un ensayo experimental en granja el efecto de suplementación del agua con lactoferrina a una dosis de 0,5 g/l sobre la productividad y la incidencia de enfermedad en la fase de destete. El estudio se llevó a cabo sobre un total de 233 lechones destetados (28 días de edad) que se distribuyeron en 10 corrales (23-24 lechones por corral). Los animales de cinco de los corrales recibieron agua suplementada con lactoferrina durante las dos primeras semanas tras el destete (grupo lactoferrina) mientras que los animales de otros cinco corrales no recibieron tratamiento (grupo control). Todos los animales recibieron idéntico pienso pre-starter y starter (Figura 1), suplementado con óxido de zinc.

Se pesaron los animales de cada uno de los corrales al inicio del seguimiento (día 7 de octubre de 2021), al cambio de pienso pre-starter a starter (día 20 de octubre de 2021) y antes de pasar al cebadero (día 4 de noviembre de 2021) (Figura 4). Adicionalmente, se anotó el consumo de pienso para cada uno de los corrales en las fechas en que se realizaron los muestreos y se tomaron muestras de heces de 5 animales de cada corral con el fin de llevar a cabo un seguimiento de la microbiota digestiva.

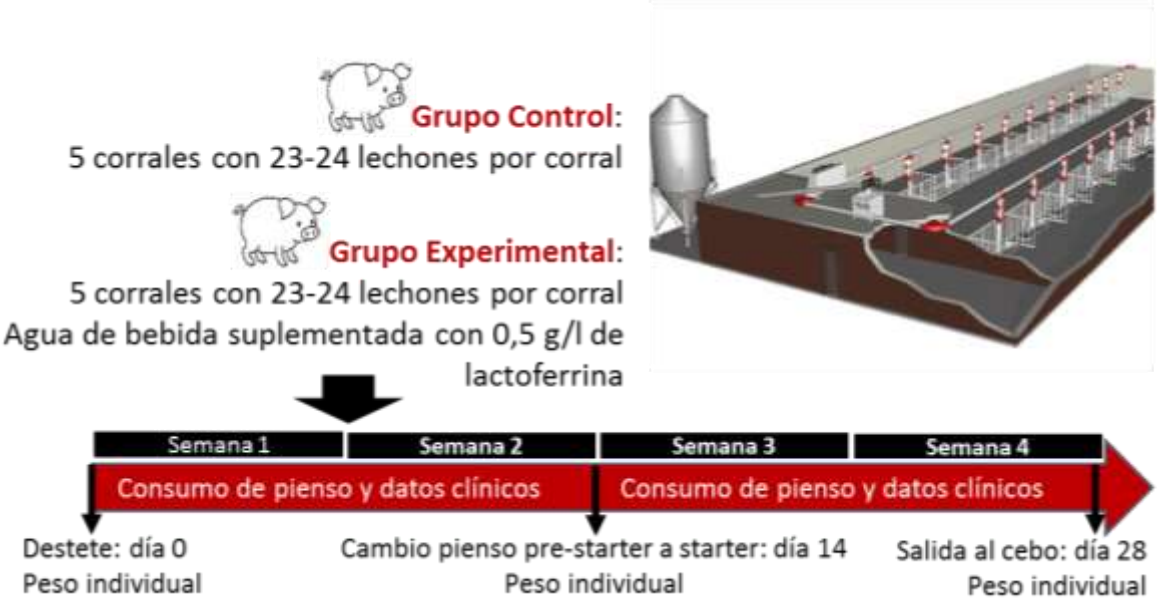


Figura 4: Diseño experimental del estudio para determinar la actividad de la lactoferrina administrada en agua de bebida durante las dos primeras semanas tras el destete en parámetros productivos y sanitarios.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4. Tanto la ganancia media diaria (GMD) como el índice de conversión mostraron mejores valores en el grupo tratado, sin alcanzar las diferencias significación estadística. Los cerdos que recibieron lactoferrina también tuvieron un consumo de pienso ligeramente superior.

En lo que respecta a la incidencia de enfermedades en el periodo de seguimiento, se produjeron dos bajas asociadas a cuadros de meningitis en el grupo control y una en el grupo que recibió lactoferrina, todas ellas en los días 9-10 postdestete. No se presentaron diarreas en las dos primeras semanas en ninguno de los dos grupos, pero si entre las semanas 3 y 4, coincidiendo con el cambio de pienso pre-starter, suplementado con óxido de zinc (3000 ppm) a starter (sin óxido de zinc). Sin embargo, la incidencia fue similar en ambos grupos no siendo necesario instaurar medicación antibiótica en niguno de los corrales.

Tabla 4: Resultados obtenidos tras la suplementación del agua de bebida con lactoferrina (0,5 g/l) durante las dos primeras semanas tras el destete. El periodo 1 corresponde a las semanas 1 y 2 tras el destete (pienso pre-starter) y el periodo 2 a las semanas 3 y 4 tras el destete (pienso starter). El pienso empleado en ambos grupos fue el mismo y no incluyó antibióticos, aunque si óxido de zinc (3000 ppm durante las primeras dos semanas).

Grupo	Ganancia Media Diaria (kg) Media (DE)			Consumo de pienso (kg) Media (DE)	Índice de Conversión Media (DE)
	Periodo		Total	Periodo 1	Periodo 1
	1	2			
Control	0,276 (0,031)	0,4139 (0,054)	0,347 (0,036)	94,3 (4,51)	1,407 (0,164)
Lactoferrina	0,292 (0,014)	0,447 (0,0322)	0,369 (0,017)	98,4 (2,30)	1,339 (0,107)

Tabla 4

2.3.4. SUPLEMENTACIÓN CON ÁCIDO LÁURICO EN EL PIENSO DURANTE DESTETE

Actividad del ácido láurico en granja

Se valoró en un ensayo experimental en granja el efecto de suplementación de la dieta con dos dosis diferentes de ácido láurico. Esta experiencia se llevó a cabo en la etapa de transición sobre un total de 144 lechones destetados (25 días de edad) que se distribuyeron en 6 corrales (24 lechones por corral). Los animales de dos de los corrales recibieron pienso pre-starter y starter sin aditivo (sin antibióticos ni óxido de zinc), grupo control; los animales de dos de los corrales recibieron pienso pre-starter y starter (sin antibióticos ni óxido de zinc) suplementados con 2 kg de ácido láurico por tonelada, grupo 2 kg/t; los animales de dos de los corrales recibieron pienso pre-starter y starter (sin antibióticos ni óxido de zinc) suplementados con 4 kg de ácido láurico por tonelada, grupo 4 kg/t (Figura 5).

Los animales de todos los grupos experimentales fueron pesados individualmente al inicio del seguimiento (día 22 de septiembre de 2021), al cambio de pienso pre-starter a starter (día 7 de octubre de 2021) y antes de pasar al cebadero (día 4 de noviembre de 2021) (Figura 5). Adicionalmente, se anotó el consumo de pienso para cada uno de los corrales en las fechas en que se realizaron los muestreos y se tomaron muestras de heces e hisopos nasales de 10 lechones elegidos al azar con el fin de llevar a cabo un seguimiento de la microbiota tanto digestiva como nasal.

Figura 5: Diseño experimental del estudio para determinar la actividad del ácido laúrico suplementado en el pienso durante la fase de destete en parámetros productivos y sanitarios.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.

Los valores de **ganancia media diaria (GMD)** durante los 43 días del experimento fueron de 0,307 kg para cada animal del grupo control, de 0,305 kg para cada animal del grupo 2 kg/t y de 0,322 kg para cada animal el grupo 4 kg/t, valores muy similares, aunque algo más elevados en el grupo que recibió la dosis más alta de ácido láurico. El **consumo de pienso** fue ligeramente más elevado en el grupo control (28,64 kg/cerdo) en comparación con los grupos que recibieron ácido láurico (grupo 2 kg/t: 27,17 kg/cerdo y grupo 4 kg/t: 27,48 kg/cerdo). Finalmente, el **índice de conversión** mostró una leve mejoría (más pienso convertido en kilo productivo) en el grupo que recibió 4 kg/t (2,02) frente al grupo control (2,29). Las diferencias no alcanzaron significación estadística.

En lo que respecta a la mortalidad y morbilidad durante el periodo de seguimiento, tampoco se observaron diferencias entre los grupos suplementados con ácido laúrico y el grupo control, siendo muy limitada la incidencia de procesos patológicos.

Tabla 5: Resultados obtenidos tras la suplementación del pienso con dos dosis de ácido láurico (2 kg/t y 4 kg/t) durante la etapa de transición. El periodo 1 corresponde a las semanas 1 y 2 tras el destete (pienso pre-starter) y el periodo 2 a las semanas 3 a 6 tras el destete (pienso starter). El pienso empleado en los tres grupos fue el mismo, con la única diferencia del suplemento de ácido láurico, y no incluyó antibióticos ni óxido de zinc.

Grupo	Ganancia Media Diaria (kg) Media (DE)			Consumo de pienso total por corral (kg)			Índice de Conversión Media		
	Periodo		Total	Periodo		Total	Periodo		Total
	1	2		1	2		1	2	
Control	0,033 (0,02)	0,18 (0,03)	0,213 (0,07)	140	1120	1260	1,65	2,41	2,29
2 kg/t	0,030 (0,02)	0,198 (0,05)	0,228 (0,07)	130	1120	1250	1,69	2,19	2,12
4 kg/t	0,037 (0,02)	0,205 (0,04)	0,242 (0,07)	144	1120	1264	1,52	2,11	2,02

Tabla 5