

Caso clínico de contaminación bacteriana en un centro de inseminación porcina (2ª parte)

En el *Caso clínico* de este mes os ofrecemos la segunda parte del caso que se inició en la anterior entrega y que presentó nuestro compañero Manuel Toledo Castillo, de la empresa Juan Jiménez SAU ubicada en Lorca (Murcia), en el II Certamen de Casos Clínicos de Porcino organizado por Intega y patrocinado por Pfizer Salud Animal.

Resumen de lo publicado

Se trata de un caso en un centro de inseminación para 160 verracos donde se detecta una disminución en la calidad seminal de las dosis conservadas tres días (disminución de la motilidad). Se determina una contaminación por *Serratia marcescens* y se ponen en marcha diversos protocolos de higienización (de los propios animales, del agua de consumo), se extreman las medidas de cuidado en la extracción y aún así sigue presente la contaminación en las dosis. Se decide añadir un antibiótico exógeno al diluyente (puesto que no se quiere cambiar dicho diluyente que da buenos resultados). Para ello se diseña una prueba para evitar efectos indeseables derivados de esta adición de antibiótico.

Diseño de la prueba de adición de antibiótico

Se utilizaron dos eyaculados (uno de verraco ibérico y el otro de blanco) que previamente habían sido identificados como contaminados y se le añadieron distintas concentraciones de ceftioflur polvo soluble (Excenel® de 4 gramos) y se comprobó la motilidad a los 3 y 7 días después del envasado. Se comprobó el efecto de la adición de 4 gramos de ceftiofuir (polvo soluble) al volumen de diluyente necesario para 300 o para 600 dosis para verificar el comportamiento de las dosis en cuanto a sus indicadores básicos de calidad (motilidad, aglutinación, contaminación). Se comprobó que la adición al volumen para 300 dosis no producía ningún efecto en la calidad espermática a los distintos días de control.

Una vez comprobado el punto anterior, las dosis fueron sometidas a dos factores:

- **Duración del transporte:** Se compararon dosis que permanecieron en el laboratorio del centro de inseminación con dosis que se sometieron a transportes de larga y corta duración, como elemento de estrés en las dosis.
- **Incrementos de la temperatura de conservación,** para favorecer el crecimiento bacteriano y desafiar la capacidad de frenar el crecimiento



y mantener la conservación de las dosis. Se compararon dosis que se mantuvieron a 25° C y muestras a las que se les subió la temperatura de 16° C durante las primeras 24 horas a 25° C y dosis a las que se les subió la temperatura desde 22° C a 25° C.



Tabla 1. Pruebas de motilidad y contaminación bacteriana combinando los distintos parámetros estudiados.

	Verraco	Ruta	Motilidad 1 ^{er} día		Motilidad 2 ^o día		Motilidad 3 ^{er} día		Motilidad 4 ^o día		Motilidad 6 ^o día		Contaminación
			D	D+A	D	D+A	D	D+A	D	D+A	D	D+A	
PRUEBA TRANSPORTE	1 (Ibérico)	Lab	8	8	8	8	8	8	7	8	7	8	No hay bacterias
	2 (Blanco)	Lab	8	8	8	8	8	8	7	8	6	8	No hay bacterias
	1 (Ibérico)	Corta	8	8	8	8	8	8	7	8	7	8	No hay bacterias
	2 (Blanco)	Corta	8	8	8	8	8	8	7	8	6	8	No hay bacterias
	1 (Ibérico)	Larga	8	8			7	8	7	8	6 (agl)	8	
	2 (Blanco)	Larga	8	8			7	8	6	8	6 (agl)	8	
PRUEBA ESTRÉS TÉRMICO	1 (Ibérico)	1 día T ^a = 25°C	8	8	8	8	7	8	7	8	6	8	No hay bacterias
	2 (Blanco)	1 día T ^a = 25°C	8	8	8	8	7	8	6	8	6	8	No hay bacterias
	1 (Ibérico)	2 días T ^a = 25°C	8	8	7	8	6	7	6	7	5 (bac)	7	Hay bacterias
	2 (Blanco)	2 días T ^a = 25°C	8	8	7	8	6 (agl)	7	6 (agl)	7	5 (bac)	7	Hay bacterias
	1 (Ibérico)	3 días T ^a = 25°C	8	8	8	8	6	7	6 (bac)	7	5 (bac)	7	Hay bacterias
	2 (Blanco)	3 días T ^a = 25°C	8	8	8	8	6	7	6 (bac)	7	5 (bac)	7	Hay bacterias
	1 (Ibérico)	T ^a = 22°C hasta T ^a = 25°C	8	8	8	8	6	7	6 (bac)	7	5 (bact)	7	Hay bacterias
	2 (Blanco)	T ^a = 22°C hasta T ^a = 25°C	8	8	8	8	6 (agl)	7	6 (bac)	7	5 (bac)	7	Hay bacterias
	1 (Ibérico)	24 h T ^a = 16°C hasta T ^a = 25°C	8	8	8	8	6	7	6 (bac)	7	5 (bac)	7	Hay bacterias
	2 (Blanco)	24 h T ^a = 16°C hasta T ^a = 25°C	8	8	8	8	6	7	6 (bac)	7	5 (bac)	7	Hay bacterias

Donde: D= dosis con diluyente de larga duración; D+A= Dosis con diluyente de larga duración y antibiótico añadido; bac= presencia de contaminación bacteriana; agl= dosis aglutinada.

En cada uno de los casos se compararon dosis que sólo llevaban el diluyente de larga duración con muestras que llevaban el diluyente de larga duración suplementados con ceftiofur. Los resultados de las pruebas combinadas aparecen en la tabla 1.

De estos resultados se desprende que tanto las dosis de control que se quedan en el centro como las dosis que tienen un transporte por ruta corta, no manifiestan diferencias ni en calidad seminal motilidad seminal, que fue el indicador estudiado, ni en contaminación bacteriana, al comparar las dosis solo con el diluyente comercial de larga duración y las que tenían antibiótico añadido. Tan solo se observó una

cierta reducción de la motilidad a los 6 días en las muestras que solo tenían diluyente de larga duración. En las dosis que se transportaron por ruta larga (periodo de transporte de más de 5 horas), sí se observaron que las dosis solo con diluyente de larga duración presentaban aglutinación en el control que se realizó conservación al 6^o día, aunque no se encontró contaminación.

En el resto de ensayos, en los cuales se sometieron a las dosis a diferentes protocolos de incremento de la temperatura de conservación, se encontraron diferencias significativas en cuanto a la vitalidad de los espermatozoides de las dosis, siendo éstas más pronunciadas en las dosis que no tenían antibiótico añadido,

que presentaban mayores niveles de aglutinación y una bajada importante en la motilidad aglutinación, pero también se encontró contaminación bacteriana.

En ninguna de las dosis con diluyente suplementado con antibiótico se observaron fenómenos de aglutinación, ni contaminación bacteriana en las dosis que sometíamos a transporte e incrementos en la temperatura de conservación, para incrementar las posibilidades de proliferación bacteriana y simular los posibles cambios térmicos que acontecen a las dosis en condiciones de campo. Por lo tanto, la adición de ceftiofur 4 gramos en polvo soluble en estas condiciones aporta una mayor seguridad en los transportes y conservación de las dosis seminales en granjas. Este beneficio será de especial importancia en la época de verano, que es la época del año en la cual encontramos mayor contaminación en los eyaculados, por las condiciones de alojamiento del centro de inseminación que nos ocupa. Y además las temperaturas ambientales podrían ayudar a proliferar las contaminaciones bacterianas.

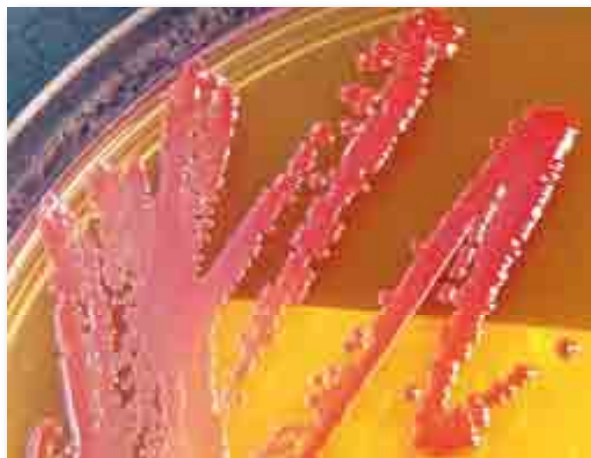
Con toda la información obtenida en esta prueba se decidió protocolarizar el uso de antibiótico añadido al diluyente, para reducir la contaminación y así reducir el riesgo de dosis con baja motilidad y aglutinación en periodos de mayor conservación y aumentar por lo tanto la calidad de las dosis que llegan a las granjas

Otro de los factores que ayudó a determinar rápidamente la desviación que existía sobre los objetivos marcados para los parámetros de calidad de las dosis fue contar con un sistema de auditoría externa, además de los propios sistemas de control. Esta auditoría monitoriza la calidad de las dosis producidas de forma periódica y complementa la información propia. Un ejemplo de evaluación en dicho sistema de auditoría aparece en la *Figura 1*.

Como se puede observar, en estos controles se monitorizan todos los parámetros de calidad seminal que tienen relevancia sobre los parámetros de fertilidad y fecundidad.

Estudio económico

Utilizando un simulador de costes, sabiendo que existe una correlación negativa entre



Colonia de *Serratia Marcencens*.

aglutinación y la fertilidad, y suponiendo una bajada de la prolificidad en las granjas de 0,5 lechones nacidos vivos, la contaminación de las dosis puede dar lugar a un coste añadido de un euro por lechón destetado. También se produciría un sobrecoste al aumentar la duración del ciclo por incremento de las repeticiones y por lo tanto un menor número de partos por cerda y año.

Conclusiones

- La contaminación de los eyaculados es frecuente en los centros de inseminación y debemos de contar en los mismos de protocolos para su inmediata detección y control.
- En este caso, la contaminación con *S. marcencens* estaba produciendo disminuciones significativas en la vitalidad de los eyaculados a los pocos días de conservación, pero había que contemplar factores desencadenantes, como era el transporte y las variaciones de temperatura, que ejercían un fuerte efecto.
- Cuando se decida añadir un antibiótico a un determinado diluyente es necesario realizar pruebas en el propio centro, para eliminar las posibilidades de que ocurran interacciones entre los antibióticos del propio diluyente y el antibiótico añadido, que pueden dar lugar a bajar la viabilidad espermática.

Figura 1: Modelo de los datos obtenidos durante la auditoría externa para las dosis seminales producidas en el centro de inseminación..

Código	pH	Osm	Conc	Mot	Aglu	FA	Ca	Co	Pi	Gp	Gd	Acro	Host	Ac	M y L
18007	7,40	317	51,00	90	0	0,0	0,0	4,0	0,0	7,0	7,0	97,0	71,0		
18009	7,19	317		90	0	72,0	1,0	11,0	0,0	7,0	8,0	91,0	84,0		
18112	7,18	314		90	0	22,0	2,0	10,0	0,0	3,0	7,0	92,0	82,0		
21001	7,38	301	44,30	90	0	23,0	0,0	8,0	0,0	7,0	8,0	94,0	78,0		
21002	7,34	314	36,00	90	0	24,0	0,0	9,0	1,0	7,0	7,0	94,0	73,0		
21002	7,25	315	35,50	90	0	39,0	2,0	12,0	0,0	7,0	13,0	92,0	76,0		
21005	7,15	315		90	0	19,0	1,0	8,0	1,0	7,0	7,0	90,0	85,0		
21006	7,17	316		90	0	77,0	0,0	12,0	1,0	8,0	8,0	97,0	87,0		
21007	7,34	318	21,00	90	0	13,0	0,0	3,0	1,0	1,0	5,0	81,0	83,0		
21008	7,20	315	36,00	90	0	19,0	0,0	7,0	0,0	5,0	7,0	93,0	81,0		
21009	7,28	316		90	0	9,0	0,0	6,0	0,0	0,0	3,0	91,0	82,0		
231004	7,18	316	25,00	90	0	25,0	1,0	12,0	1,0	7,0	4,0	85,0	86,0		
2905	7,17	315	57,00	90	0	74,0	1,0	17,0	0,0	1,0	8,0	97,0	89,0		
4152	7,18	314		90	0	7,0	0,0	7,0	0,0	4,0	1,0	96,0	74,0		
51087	7,21	312		90	0	18,0	1,0	4,0	1,0	7,0	5,0	91,0	88,0		
61007	7,31	317	21,00	90	0	4,0	0,0	2,0	1,0	0,0	1,0	91,0	86,0		
8815	7,26	319		90	0	15,0	0,0	4,0	2,0	1,0	3,0	97,0	75,0		
Agua	6,13														
Diluyente	7,16	317													
Diluyente	7,14	315													

Donde Osm= osmolaridad, conc= concentración, Mot= motilidad, Aglu= aglutinación, FA= formas anormales, Ca, Co, Pi, Gp y Gd= diversas anomalías espermáticas, Acro= integridad acrosomial, Host= test de endósmosis.

- El control de las entradas de pienso y agua, debe ser riguroso y se debe disponer de registros de todos estos controles, y tener procedimientos de higiene y desinfección.
- En la actualidad existen diluyentes para la recogida seminal que bajan las contaminaciones, y de momento los tenemos en periodo de prueba, pero pueden ser una excelente herramienta.
- Disponer en los centros de una auditoría externa de control y monitorización de dosis, es indispensable para su buen funcionamiento y rentabilidad productiva y económica.
- Procedimiento de limpieza y desinfección del laboratorio y las verraqueras, así como de los potros y mantener los registros de todas estas acciones, nos ayuda a corregir las desviaciones en los indicadores de calidad, ya que los fallos son detectados rápidamente.
- El protocolo de higiene de la recogida y del procesamiento debe estar presente y disponer de registros de los mismos.
- Protocolo de monitorización de la contaminación en el centro muy claro; identificación mediante placas de cultivo y envío a los distintos laboratorios para la identificación de los distintos agentes.

Aportaciones a esta sección

Guillermo Ramis Vidal - guiramis@um.es

Francisco José Pallarés Martínez - pallares@um.es

Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia