



Caso clínico de contaminación bacteriana en un centro de inseminación porcina (1ª parte)

En el *Caso clínico* de este mes tenderéis la oportunidad de leer el caso 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. Dada la extensión del mismo, os lo presentaremos en dos entregas.

El centro que nos ocupa en este caso, tiene una capacidad para 160 verracos, en cama de paja, con una cuarentena para el alojamiento de 10 verracos; la producción de dosis es de unas 350.000 anuales, siendo el 70% de la producción en dosis de 40 ml y 1.500 millones de espermatozoides útiles y el 30% restante en dosis de 90 ml y 3.000 millones de espermatozoides útiles.

Además de los controles en el centro referidos a la calidad del semen, se realizan diversos protocolos de control de contaminación y calidad, entre los que destacamos:

- Control *in situ* de la contaminación, mediante placas de cultivo para enterobacterias (Figura 1).

- Control de las rutas (valoración de la motilidad, conservación y contaminación).
- Control de las temperaturas de transporte y de las neveras de conservación, con sonda (gráficas y control de las temperaturas).

En cuanto a la contaminación de los eyaculados, es conocido que puede tener varios orígenes:

- Malas prácticas en las extracciones (fallos en los protocolos de higiene de la recogida de las dosis).
- Piel, pelo, heces o secreciones del verraco, que pueden contaminar los eyaculados.
- El agua de consumo de los animales también puede ser una fuente externa, por lo que los controles rutinarios de contaminación y el protocolo de cloración deben de ser revisados periódicamente.
- La ventilación y los sistemas de refrigeración pueden ser fuentes de contaminación ambiental, así como el polvo, por lo que la higiene de los mismos debe estar monitorizada.
- El agua de dilución de las dosis, que en este centro pasa por sistemas de luz ultravioleta para su higienización.
- Contaminación de cualquiera de los sistemas de conducción, por lo que todos sin excepción deben ser limpiados y desinfectados.

Gracias a los controles antes mencionados comenzamos a notar que, en las dosis conservadas más de tres días, la motilidad de los espermatozoides se encontraba disminuida con respecto a las valoraciones que se habían realizado en el centro, y se sospechó que pudiera tratarse de una contaminación de los eyaculados. Este fenómeno se puede deber a que el metabolismo bacteriano provoca una fuerte acidosis del medio afectando a los espermatozoides. Para confirmar esta sospecha, se procedió al envío de muestras a distintos laboratorios para el

Determinación positiva	Muestra	Recuento
<i>Serratia marcescens</i>	2 y 3	+++
Recuento de hongos y levaduras ufc/ml	1	10 ¹
Recuento de hongos y levaduras ufc/ml	2	2X10 ¹
Recuento de hongos y levaduras ufc/ml	3	10 ¹
Recuento de hongos y levaduras ufc/ml	4	3X10 ¹
Recuento aerobios mesófilos 30°C ufc/ml	1	4
Recuento aerobios mesófilos 30°C ufc/ml	2	192
Recuento aerobios mesófilos 30°C ufc/ml	3	256
Recuento aerobios mesófilos 30°C ufc/ml	4	1

Tabla 1. Resultados de aislamiento e identificación de presencia bacteriana en muestras de semen.



Antibiótico	Antibiograma 1	Antibiograma 2
Ceftiofur	R	I
Espectinomícina	R	R
Gentamicina	R	R
Ampicilina	R	R
Colistina	S	S
Estreptomícina	R	--
Enrofloxacina	R	R
Neomicina	R	R
Penicilina	R	--
Apramicina	S	S
Amoxicilina	--	R
Amoxicilina+clavulánico	--	R
Oxitetraciclina	--	R
Marbofloxacina	--	R
Sulfametoxazol+Trim.	--	R

Donde: R= Resistente, S= Sensible e I= indiferente

Tabla 2. Resultados de los antibiogramas realizados sobre las cepas de *S. marcescens* aisladas en las muestras de semen.



Figura 1: Placas de cultivo, con distintos grados de contaminación de eyaculados.

Muestra	Agente/Recuento	Resultados gérmenes/100 ml	Dictamen
Laboratorio	Recuento mesófilos	0,21 UFC/ml	Agua apta
	Coliformes totales	Negativo	
	Estreptococos totales	Negativo	
	<i>Clostridium perfringens</i>	Negativo	
Verracos	Recuento mesófilos	0,85 UFC/ml	Agua no apta
	Coliformes totales	11	
	Estreptococos totales	960	
	<i>Clostridium perfringens</i>	Negativo	

Tabla 3. Analítica del agua de bebida y del laboratorio.

análisis de la posible fuente y de la bacteria que pudiera estar implicada en el caso. Los resultados de la analítica aparecen en la Tabla 1.

Sobre estos aislamientos se realizaron dos antibiogramas en dos laboratorios independientes para identificar los antibióticos eficaces frente a la bacteria. Los resultados aparecen en la Tabla 2.



Figura 2: a) Sistemas de higienización del agua en el punto de entrada al centro. b) Sistemas de higienización de agua en el laboratorio.

Ante estos resultados se procedió, por protocolo, al envío de muestras de agua para eliminar fuentes secundarias de contaminación, ya que las bacterias del género *Serratia* son enterobacterias y lo normal es que la fuente sean los propios verracos. Se enviaron muestras procedentes tanto del laboratorio de procesado del semen como del agua que consumían los verracos. Los resultados aparecen en la Tabla 3.

Se aprecia en estos resultados que el agua de consumo de los verracos estaba contaminada, por lo que se procedió a instalar un sistema automático de pre-acondicionamiento mediante acidificación de la misma, añadido al sistema automático de cloración que ya existía (Figura 2).

Como medidas complementarias, se insistió en la higiene de la extracción de las dosis, en incrementar la limpieza y extremar el cuidado durante la extracción, que se estaba realizando de acuerdo al protocolo establecido.

A pesar de ello, la contaminación bacteriana seguía presente y por lo tanto la calidad seminal era inadecuada. Esto, debido a los pliegos de calidad internos del centro, impedía la salida de dosis en esas condiciones, por lo que se procedió a instaurar un protocolo para la disminución de la contaminación. Puesto que se habían probado distintos diluyentes y se contaba con uno de larga duración que producía buenos resultados en cuanto a fertilidad, prolificidad y conservación, se decidió suplementar dicho diluyente con un antibiótico exógeno, para poder controlar la contaminación. Sin embargo, se sabe que la adición de antibióticos puede afectar de manera notable a la viabilidad espermática, al interactuar con los antibióticos ya presentes en el propio diluyente. Para evitar este efecto, se decidió diseñar una prueba.

Nota. El diseño de dicha prueba y la resolución del caso aparecerán en la sección "Caso clínico" del próximo número de Anaporc.

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