

EFECTO DEL TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO *y de la higiene en las bacterias patógenas del tracto respiratorio de terneros de explotaciones lecheras multi-origen*

Durante décadas, el sobreuso de antimicrobianos en sanidad humana y animal ha favorecido la aparición de bacterias resistentes. Por ello, a nivel mundial se han desarrollado guías de un buen uso de antimicrobianos y se han perfilado planes nacionales de reducción de uso de antimicrobianos, especialmente a nivel europeo, llevando a cabo acciones conjuntas, con el fin de reducir su consumo en medicina humana y veterinaria y minimizar su impacto en la selección de bacterias resistentes. A pesar de la implementación de diferentes medidas para reducir este consumo de antimicrobianos en medicina veterinaria, los antibióticos siguen siendo una herramienta necesaria para el control de las enfermedades de origen bacteriano una vez circulan en la granja.

LOURDES MIGURA-GARCIA^{1,2}, SONIA MARTI³, CAROLINA TEJERO⁴, NOEMI GILER^{1,2}, JOSEP TORRA^{5,6}, MARIA DEVANT³

¹ Unitat mixta d'Investigació IRTA-UAB en Sanitat Animal. Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA). Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra, 08193, Catalonia. Spain.

² IRTA. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries Programa de Sanitat Animal. Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA). Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra, Barcelona.

³ IRTA. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries Programa de Producció de Remugants, Torre Marimon, Barcelona

⁴ Merck Sharp & Dohme Animal Health, España

⁵ Col·legi Oficial de Veterinaris de Lleida, Lleida

⁶ Ivars d'Urgell Cooperativa del Camp, Ivars d'Urgell, Lleida

En general, el sistema convencional de engorde de terneros tipo mamón para producción de carne, conlleva la mezcla de terneros procedentes de diferentes explotaciones con el subsecuente transporte de la granja de origen al mercado, y de este a la granja de engorde. Estos terneros cuando llegan a la explotación tras

una fase de alimentación con leche en polvo o lacto-reemplazante y pienso de iniciación pasarán a la fase del engorde. Sin embargo, en el momento de llegada, suelen tener aproximadamente 21 días y normalmente se desconoce el tipo de manejo que han recibido durante su primera etapa de vida. Es decir, se desconoce si han tenido un buen encalostramiento, con una buena

transferencia de inmunoglobulinas y anticuerpos de la madre dotándoles de una buena inmunidad pasiva, los niveles de estrés que han sufrido, alimentación e hidratación durante el transporte o incluso si han sido tratados previamente con antibióticos. Cuando los terneros llegan a la granja, un alto porcentaje de ellos pueden presentar sintomatología compatible



con el síndrome respiratorio bovino (SRB). El SRB engloba un conjunto de enfermedades respiratorias que se presentan como tos, descarga nasal, temperatura, disnea y depresión entre otras. La etiología del SRB es compleja, ya que puede ser causado por diversos virus (virus respiratorio sincitial, Parainfluenza-3) y por bacterias (*Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma bovis*, *Moraxella* spp. e *Histophilus somni*), o por la combinación de ambos, virus-bacteria. Para controlar el proceso de infección y detener la transmisión dentro del lote, normalmente se aplica un tratamiento antimicrobiano metafiláctico a todos los animales del lote una vez establecidos en la granja, basado en los resultados ecográficos y los datos epidemiológicos de la explotación que realiza un diagnóstico del patógeno causante de la enfermedad junto con un test de susceptibilidad antimicrobiana (antibiograma) cada aproximadamente 4 meses. En el estudio que presentamos aquí, hemos evaluado la evolución durante los primeros 30 días de los terneros mediante ecografía pulmonar y el diagnóstico de los patógenos bacterianos respiratorios incluyendo el perfil de resistencias, así como el efecto de la limpieza y la desinfección en la presencia de bacterias multirre-

sistentes en las granjas. Un aspecto del cual no se tienen datos y puede afectar a la transmisión de las resistencias antimicrobianas es la higiene (limpieza y desinfección), reducir la presencia de microorganismos en el ambiente, sobre todo en zonas de contacto (tetinas, comederos, bebederos, suelos) podría reducir la permanencia de bacterias con resistencias antimicrobianas y su transmisión.

Para el presente estudio se seleccionaron tres granjas con diferentes programas de limpieza y desinfección y se siguieron dos lotes por granja con 6 meses de diferencia entre lotes. El día antes de la llegada de los terneros se recogieron muestras ambientales de cada una de estas granjas, entre ellas muestras de las camas, paredes y del equipamiento de alimentación incluyendo tetinas, comederos y bebederos. A la llegada de los terneros (D0) se realizaron ecografías pulmonares a todo el lote de animales, y se tomaron hisopos nasales de 20 animales con diferentes grados de lesiones pulmonares. Posteriormente, cada una de las granjas administró el plan vacunal, tratamiento antiparasitario y el tratamiento antimicrobiano establecido por el veterinario y basado en los datos epidemiológicos. El mismo muestreo se repitió después de 30 días en la granja (D30), incluyendo

el muestreo del ambiente con el que se realizaron recuentos de enterobacterias y coliformes.

Respecto a los resultados de las ecografías pulmonares, se siguió el score desarrollado por Adams y Buczinski (2016) y se asignó una puntuación de 1 a los terneros sin anomalías (superficie pleural sana o una cola de cometa aislada dentro de un campo de imagen). Se dio una puntuación de 2 si se observaban colas de cometas en la superficie pleural que eran múltiples y líneas B (coalescencia de múltiples colas de cometas) sin una consolidación pulmonar significativa. Se asignó una puntuación de 3 a los terneros con una o más ubicaciones de consolidación pulmonar ≥ 1 cm. Se asignó una puntuación de 4 a los terneros con consolidación extensa (≥ 6 cm en una o más ubicaciones), absceso dentro del parénquima pulmonar visto como un espacio lleno de líquido encapsulado o derrame pleural significativo (>1 cm). Los 20 hisopos nasales de animales individuales se sembraron en agar sangre y agar chocolate y se incubaron en aerobiosis con 5% de CO_2 a 37°C durante 24h. Las colonias compatibles con *P. multocida*, *M. haemolytica* y *Moraxella* se identificaron en el Vitek y se procedió a hacer el test de susceptibilidad antimicrobiana por

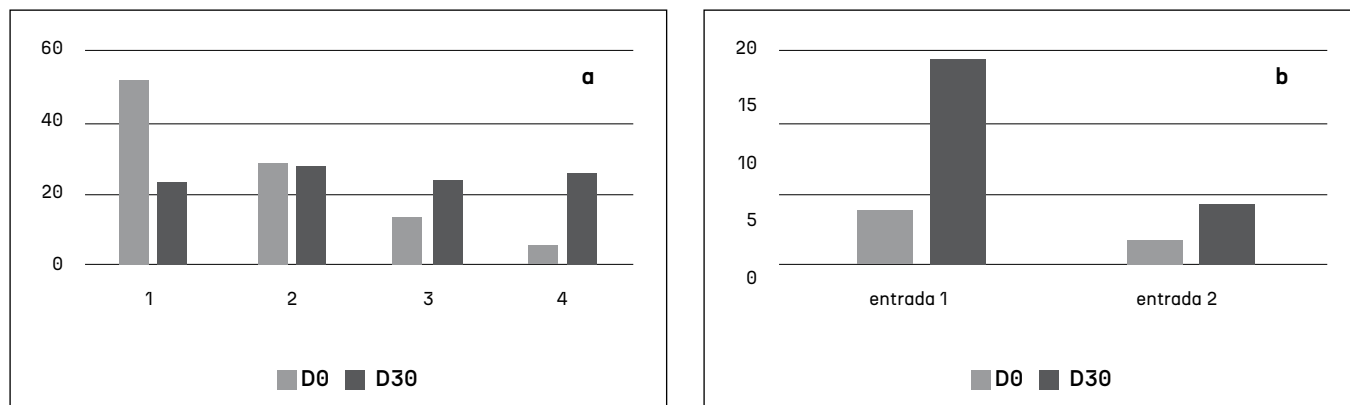


Figura 1. a) Porcentaje de animales a D0 y D30 con scores pulmonares entre 1 y 4, siendo 1 terneros sin anomalías y 4 lesiones severas del pulmón. b) Numero de animales positivos para *P. multocida*, *M. haemolytica* y *Moraxella* spp. en la granja 1, en dos entradas diferentes a D0 y D30

concentración mínima inhibitoria (CMI) usando unas placas comerciales (Sensititre). Debido a la falta de puntos de corte para determinar si los aislados eran resistentes o susceptibles solo se analizaron aquellas combinaciones especie bacteriana y antibiótico para los que hay definidos dichos puntos de corte (*P. multocida* y oxitetraciclina, florfenicol, penicilina, ampicilina, ceftiofur, gentamicina, espectinomicina, sulfadimetoxina, trimetoprim/sulfametoxazol, tilmicosina, tulatromicina, danofloxacina y enrofloxacina.

Los resultados de las ecografías pulmonares muestran como a la entrada (D0) hay más de un 50% de los terneros que están sanos. El lote se trató con tulatromicina un día después de su llegada. Sin embargo, a medida que pasaron los días en la granja se incrementó el porcentaje de animales con lesiones severas, llegando casi a un 50% (clasificación 3 y 4) el D30 (Figura 1a). Igualmente, los aislamientos de los patógenos seleccionados obtenidos en los cultivos microbiológicos de los 20 animales muestreados aumentaron después de 30 días (Figura 1b).

En cuanto a los resultados de CMI, como se puede observar, en la granja 1 (Figura 2) hay un aumento significativo ($p < 0,05$) del porcentaje de cepas de *P. multocida* resistentes a oxitetraciclina, tilmicosina, tulatromicina y sulfonamidas en el segundo muestreo (D30), así como un pequeño

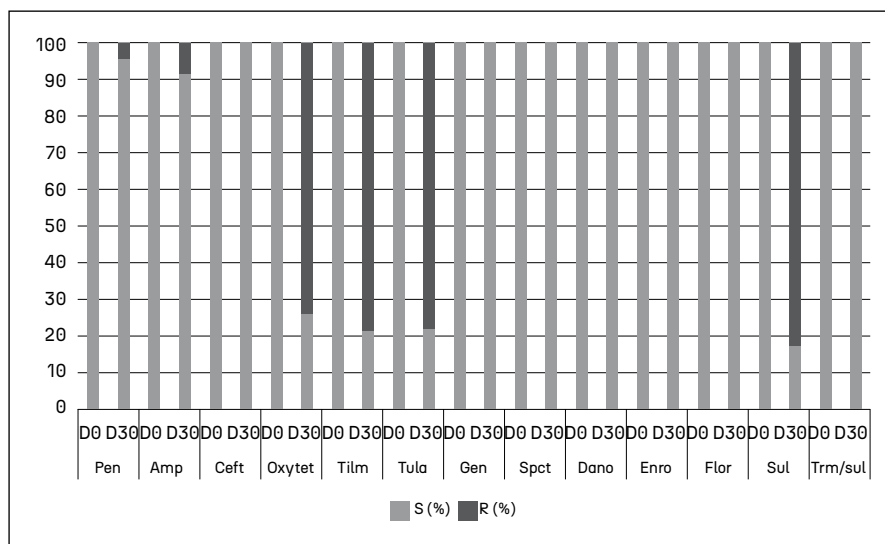


Figura 2. Porcentaje de cepas de *P. multocida* obtenidas en la granja 1 muestreadas a D0 y D30 susceptibles e resistentes a los diferentes antimicrobianos para los cuales hay punto de corte definidos, oxitetraciclina (oxitet), florfenicol (flor), penicilina (pen), ampicilina (amp), ceftiofur (ceft), gentamicina (gen), espectinomicina (spct), sulfadimetoxina (sul), trimetoprim/sulfametoxazol (trm/sul), tilmicosina (Tilm), tulatromicina (tul), danofloxacina (dano) y enrofloxacina (enro)

aumento de resistencia a penicilina y ampicilina, a pesar de que únicamente se administró un tratamiento intramuscular con tulatromicina. El 78% de los aislados a D30 fueron multirresistentes (resistentes a tres o más familias de antimicrobianos diferentes), con un perfil de resistencia a tres familias de antimicrobianos, tetraciclinas, macrólidos (tilmicosina y tulatromicina) y sulfonamidas. En la granja 2, la evolución de las lesiones pulmonares fue algo más

crítica (Figura 3a), pasando de un 40% de animales sanos a D0 a un 61% de animales con lesiones severas (scores 3 y 4). Igualmente, en el segundo muestreo el número de cepas aisladas fue mayor que a D0, especialmente para los animales de la primera entrada (Figura 3b). Ambos lotes se trataron con tulatromicina un día tras su llegada, sulfonamidas en leche 5 días post-llegada, florfenicol 10 días post-llegada y doxiciclina en leche después de 20 días en la granja.

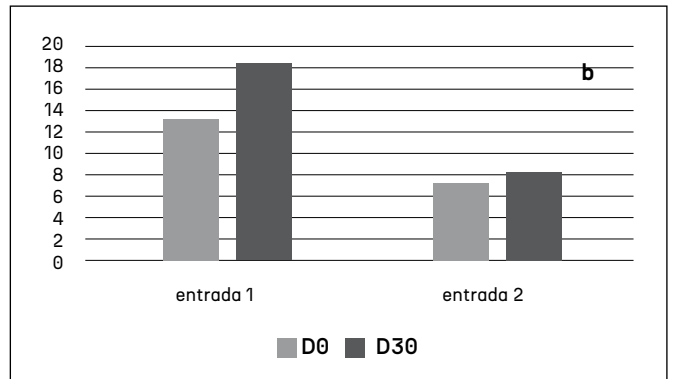
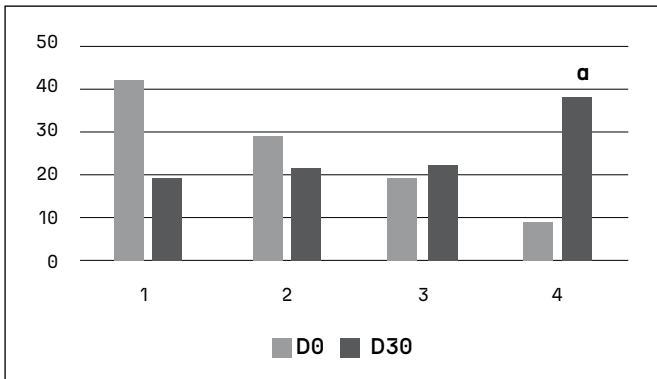


Figura 1. a) Porcentaje de animales a D0 y D30 con scores pulmonares entre 1 y 4, siendo 1 terneros sin anomalías y 4 lesiones severas del pulmón. b) Número de animales positivos para *P. multocida*, *M. haemolytica* y *Moraxella* spp. en la granja 2, en dos entradas diferentes a D0 y D30

En esta granja (**Figura 4**), también se observó un aumento significativo de cepas resistentes a oxitetraciclina, macrólidos (tilmicosina y tulatromicina), gentamicina, espectinomicina, las dos fluoroquinolonas testadas (danofloxacina y enrofloxacina), y sulfonamidas a D30. Todos los aislados provenientes de la segunda entrada fueron multi-resistentes, con un promedio de resistencias a 6 antimicrobianos (mínimo 3 y máximo 9). El fenotipo más común fue resistencia a oxitetraciclina, tilmicosina, tulatromicina, gentamicina, espectinomicina y sulfonamidas.

En el caso de la granja 3 (**Figura 5a**), se partía de un estado de salud de los animales mejor comparado con las otras dos granjas (58% de animales sanos) pero a D30 las lesiones severas aumentaron hasta el 55% (score 3 y 4). Los tratamientos administrados

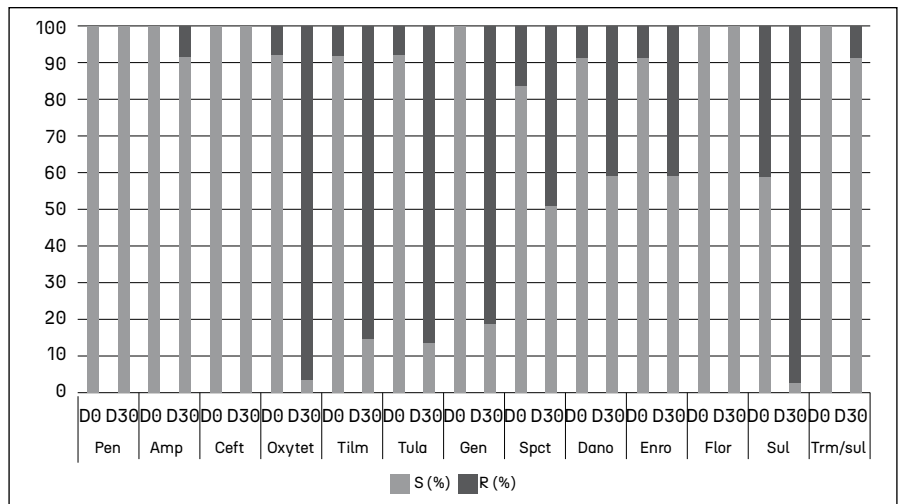


Figura 4. Porcentaje de cepas de *P. multocida* obtenidas en la granja 2 muestreadas a D0 y D30 susceptibles e resistentes a los diferentes antimicrobianos para los cuales hay punto de corte definidos, oxitetraciclina (oxitet), florfenicol (flor), penicilina (pen), ampicilina (amp), ceftiofur (ceft), gentamicina (gen), espectinomicina (spct), sulfadimetoxina (sul), trimetoprim/sulfametoxazol (trm/sul), tilmicosina (Tilm), tulatromicina (tul), danofloxacina (dano) y enrofloxacina (enro).

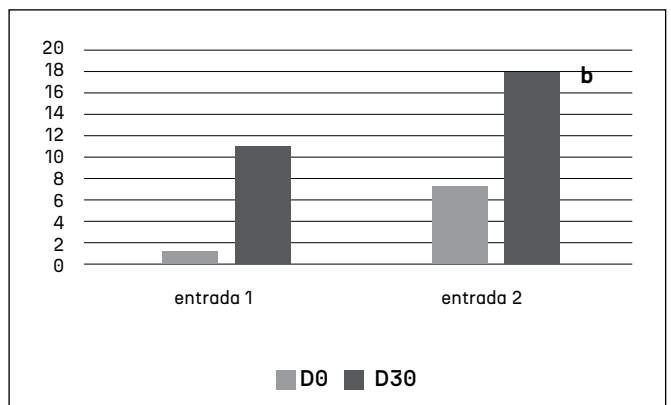
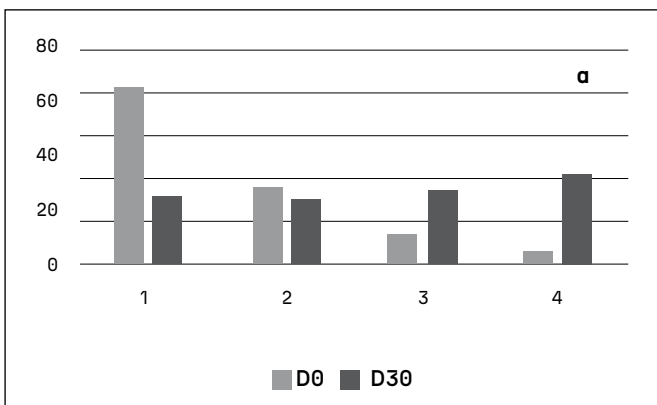


Figura 5. a) Porcentaje de animales a D0 y D30 con scores pulmonares entre 1 y 4, siendo 1 terneros sin anomalías y 4 lesiones severas del pulmón. b) Número de animales positivos para *P. multocida*, *M. haemolytica* y *Moraxella* spp. en la granja 3, en dos entradas diferentes a D0 y D30

a ambos lotes fueron tulatromicina un día después de la llegada, sulfadiazina-trimetoprima durante 6 días comenzando 4 días post entrada y dos inyecciones intramusculares de amoxicilina a día 10 y 12 post entrada. Los resultados de la bacteriología fueron similares a los observados en las granjas 1 y 2 (Figura 5b). En la primera entrada, solo un animal de los 20 muestreados fue positivo para *P. multocida* mientras que a D30, 11 animales fueron positivos. En esta misma granja en el segundo lote y D0, 6 animales fueron positivos y a D30, el número de terneros positivos aumentó significativamente a 18.

En esta granja encontramos que un 10% de las cepas aisladas a D0 eran resistentes a penicilina y ampicilina. También se observó un incremento de las resistencias en las cepas de *P. multocida* obtenidas a D30 (Figura 6), especialmente para oxitetraciclina, espectinomocina y sulfonamidas. A pesar del tratamiento con tulatromicina, el 90% de las cepas aisladas a D30 fueron susceptibles para este antimicrobiano, igualmente el tratamiento con amoxicilina no seleccionó resistencias para este antimicrobiano. Sin embargo, el 90% de las cepas obtenidas en la segunda visita fueron multirresistentes. El perfil de resistencia más común entre estas cepas fue oxitetraciclina, espectinomocina y sulfonamidas.

En relación con la limpieza y desinfección de las granjas, a D0 los recuentos de enterobacterias y coliformes fueron bajos, excepto en la granja 1 donde se observaron recuentos de hasta $8,4 \times 10^4$ en los comederos. Sin embargo, en las tres granjas se detectó un aumento significativo en la magnitud de los recuentos de enterobacterias y coliformes después de D30, especialmente en las tetinas (Tabla 1).

A modo de conclusión

A pesar de que el patrón de infecciones pulmonares y resistencias siguió la misma dinámica en las tres granjas evaluadas, la granja 2 tuvo un incremento más elevado de lesiones pulmonares muy severas (4) junto con un mayor porcentaje de resistencias

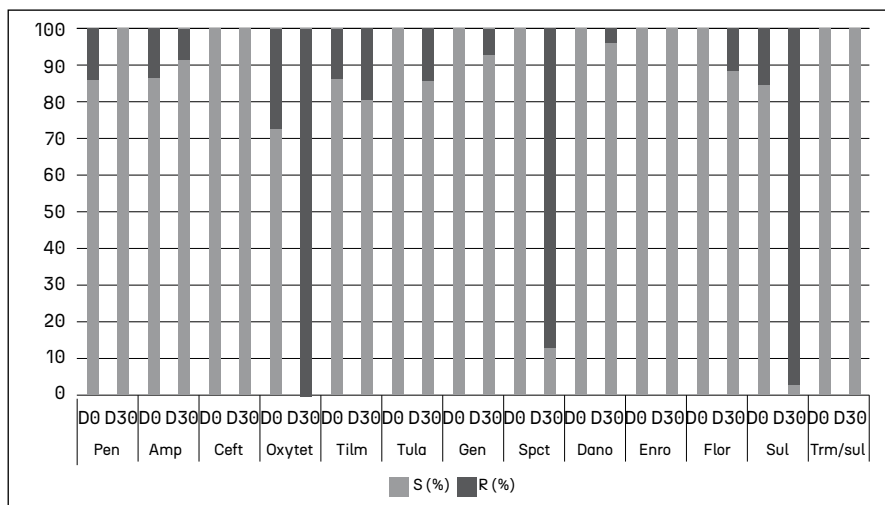


Figura 4. Porcentaje de cepas de *P. multocida* obtenidas en la granja 2 muestreadas a D0 y D30 susceptibles i resistentes a los diferentes antimicrobianos para los cuales hay punto de corte definidos, oxitetraciclina (oxitet), florfenicol (flor), penicilina (pen), ampicilina (amp), ceftiofur (ceft), gentamicina (gen), espectinomocina (spct), sulfadimetoxina (sul), trimetoprim/sulfametoxazol (trm/sul), tilmicosina (Tilm), tulatromicina (tul), danofloxacina (dano) y enrofloxacina (enro).

TABLA 1
Aumento de las lesiones severas (score 4) y en la magnitud de coliformes y enterobacterias a D30 en cada una de las granjas muestreadas

	INCREMENTO EN LESIONES SEVERAS SCORE 4 (%)	MAGNITUD DE COLIFORMES EN TETINAS D30	MAGNITUD DE ENTEROBACTERIAS EN TETINAS D30
Granja 1	19,8	10^3	10^3
Granja 2	29,5	10^6	10^6
Granja 3	24,7	10^5	10^5

(Tabla 1). Además, la evaluación de la limpieza en la granja mostró que, con el tiempo, la magnitud de las concentraciones de enterobacterias y coliformes era superior que las detectadas en las otras dos granjas. Esto podría indicar que una peor higiene favorece la persistencia de bacterias multirresistentes en la granja, así como la colonización del tracto respiratorio de los terneros una vez que el efecto del antibiótico ha remitido. Curiosamente, en las tres granjas, las lesiones pulmonares aumentaron a pesar de los tratamientos, y los aislados de *P. multocida* recuperados a D0 eran prácticamente susceptibles a todos los antimicrobianos testados, mientras que a D30 eran mayoritariamente multirresistentes.

Estos resultados sugieren que los tratamientos antimicrobianos recibido a D0, además de evitar el crecimiento de bacterias patógenas, tienen un efecto negativo en la microbiota beneficiosa que coloniza el tracto respiratorio, favoreciendo la recolonización de este por bacterias multirresistentes que circulan en la granja. En este sentido, se han de buscar estrategias para mejorar la higiene y ajustar los tratamientos durante esta primera etapa en la granja de engorde evitando las mezclas de familias de antimicrobianos diferentes.

Bibliografía

Queda a disposición del lector interesado en el correo electrónico: redaccion@editorialagricola.com