

Artículo de divulgación

# Evaluación de factores ambientales sobre el número de bacterias coliformes fecales en un sistema de producción porcina de cama profunda

Biotti, E.<sup>1\*</sup>; Butti, L.<sup>1\*</sup>; Pistelli, A.<sup>1\*</sup>; Recanatesi, B.<sup>1\*</sup>; Sangiacomo, T.<sup>1\*</sup>; Vietto, F.<sup>1\*</sup>; Campagna, D.<sup>2</sup>; Pozzi, F. I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Taller de Integración I; <sup>2</sup>Cátedra de Sistemas de Producción Animal; <sup>3</sup>Cátedra de Microbiología Agrícola. FCA-UNR. \*Ex aequo. [pozzi@iicar-conicet.gob.ar](mailto:pozzi@iicar-conicet.gob.ar)

## Introducción

La producción porcina en Argentina en los últimos años ha mostrado un incremento tanto en la producción como en el consumo de carne. Las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Chaco, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Santiago del Estero, Salta y Santa Fe concentran el 83,3% de las unidades productivas (UPs) y el 86,4% de las existencias ganaderas (% de porcinos). Encontrándose en la provincia de Santa Fe el mayor tamaño promedio de rodeo con un valor de 190 cabezas por establecimiento (SENASA, 2022). En dicha provincia, la producción se concentra en el centro sur del territorio, y predominan sistemas de producción que comprenden desde la cría hasta la venta de capones terminados.

Si bien la mayoría de estos sistemas son al aire libre, en las últimas décadas, se incrementó el número de establecimientos que han confinado e intensificado parte o totalmente sus animales (Brunori, 2013), lo cual disminuye los costos de la produc-

ción. Respecto a la intensificación productiva algunos productores han incorporado el "sistema de cama profunda" (Skejich *et al.*, 2015), en el que las instalaciones están constituidas por una estructura tubular en forma de arco que sostiene una cubierta de polipropileno (Galpón). Dentro de los galpones el suelo se recubre con una capa de paja (heno de gramíneas) de entre 50 y 60 cm de profundidad. El módulo de producción porcina de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario utiliza este tipo de sistema para la crianza de cerdos (Figura 1), en donde los lechones luego del destete pasan al galpón de post-destete, donde se alimentan hasta los 70 días de vida, para luego pasar al galpón de engorde donde se alimentarán hasta su venta.

Además de la importancia de la producción porcina en nuestro país, podemos decir que la carne de cerdo es considerada la carne más consumida en el mundo (Chávez Balarezo, 2005; Franco *et al.*, 2013), por lo cual, todo factor que influya en su producción a su vez influi-

rá en el medio. Históricamente, la producción porcina ha traído aparejado el uso indiscriminado de antibióticos del tipo promotores del crecimiento animal (APC). Los APC modifican la digestión y el metabolismo de los animales, haciendo más eficiente el uso de alimentos, repercutiendo favorablemente en la ganancia de peso corporal. Pero a la vez, el uso de estos antibióticos trae aparejado riesgos en la salud de las personas, debido a que tienen la capacidad de generar resistencia cruzada con los empleados en medicina humana. La utilización de APC en la producción animal ya ha sido prohibida en Europa, lo que trajo aparejado problemas en la importación de carne desde países que sigan incorporando estas sustancias en la dieta de los cerdos durante su crianza (Yagüe, 2005).

Debido a lo anterior, es necesario plantearse nuevas alternativas y estrategias de manejo y utilización de sustancias que tengan un efecto similar a los APC sobre la producción porcina. Una de estas estrategias es la utilización de sustancias alternativas denominadas probióticos en la dieta. Los probióticos son productos que contienen microorganismos viables en un número tal que puedan alterar y optimizar la microflora endógena del animal, provocando efectos benéficos sobre el mismo. La mayoría de las bacterias que se utilizan como probióticos en la producción ganadera pertenecen a especies de bacterias de los géneros *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Bacillus*, los cuales compiten con patógenos como *Salmonella* o ciertas cepas de *Escherichia coli*, ya que los enteropatógenos ven aminorada la disponibilidad de sitios de adhesión intestinal (competencia)



Figura 1. Interior del galpón de postdestete (Fuente: Secretaría de Extensión FCA-UNR)

disminuyendo así las toxinas secretadas (Carro, 2002; Castro y Rodríguez, 2005; Chávez Balarezo, 2005). Es importante considerar que estudios previos han reportado un mayor efecto de los probióticos en las primeras semanas de vida de los animales, especialmente en el período posterior al destete (Carro, 2002).

Una forma de evaluar la microflora intestinal y el efecto de una dieta con probióticos en lechones durante la etapa de post-destete, es mediante la determinación del número de bacterias coliformes fecales presentes en la muestra. Estas bacterias son microorganismos entéricos, Gram negativos, que presentan forma de varilla, no esporuladas, aerobias facultativas, que producen gas al fermentar lactosa. En general se utilizan como bioindicadoras, directamente de contaminación fecal e indirectamente de posible presencia de patógenos, para ello, la bacteria más utilizada es *E. coli* (USDA USCC, 2001; Garrity, 2007). Es importante considerar que el crecimiento y el número de microorganismos dependerá de diversos factores ambientales, como la temperatura, la humedad y la materia orgánica, entre otros (Medigan *et al.*, 2015).

A partir de los antecedentes anteriores se evidencia la necesidad de desarrollar nuevos bioinsumos que incluyan probióticos para la cría de cerdos y evaluar sus efectos en el crecimiento y bienestar animal, a fin de reducir el uso de APC, y de esa manera disminuir el impacto negativo en la salud pública y favorecer el cuidado ambiental. Trabajos previos han demostrado que la actividad de los probióticos pueden producir resultados variables al momento de ser ensayados durante la cría porcina (Carro, 2002), por lo tanto resulta imperativo evaluar si los factores ambientales inciden significativamente en una herramienta de evaluación del efecto de los probióticos como lo es el número de bacterias coliformes presentes en la muestra. Se planteó como objetivo de trabajo: determinar si factores ambientales como temperatura ambiental, humedad, tipo de heno (tamaño) y el número de cerdos por galpón inciden significativamente en el número de bacterias coliformes fecales, a fin de utilizar los resultados obtenidos en futuros ensayos de dietas novedosas en cerdos criados en sistema de cama profunda.

## Materiales y Métodos

### Muestreo

Los muestreos fueron realizados en los galpones de post-destete del módulo de producción porcina de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario. Para ello, se tomaron muestras de Cama Virgen (CV, heno de gramíneas) y de heno de gramíneas + materia fecal a los 15 días (15D) de la entrada de los lechones al galpón, por triplicado. Cada repetición (3) del muestreo constó de 2 muestras: 1 muestra del lado derecho (Oeste) y 1 muestra del lado izquierdo (Este) del galpón. Cada muestra estuvo constituida por el cuarteo de 3 submuestras, para cada lado (réplicas dentro de cada repetición) (Figura 2).

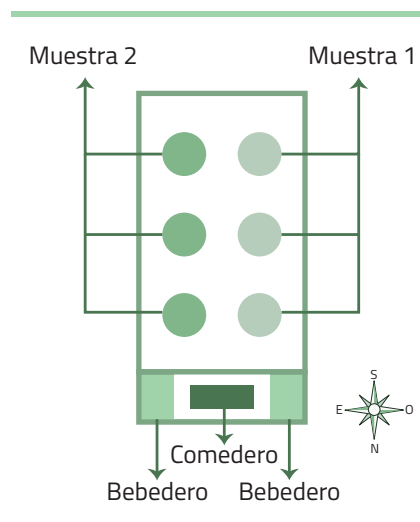


Figura 2. Muestreo de cada repetición en el galpón de post-destete.

### Variables analizadas

A cada una de las muestras obtenidas se les determinó:

1. **Porcentaje de humedad (%H):** se pesaron las muestras antes (muestra húmeda) y luego de su colocación en estufa a 105°C hasta peso constante (muestra seca). A partir de los datos de peso de las muestras, se utilizó la fórmula de Martínez, LE *et al.* (2021):

$$H(\%_{bh}) = \frac{(A - B) \times 100}{(A - C)}$$

Donde:

A = masa de la cápsula + la muestra húmeda (g)

B = masa de la cápsula + la muestra seca a 70 + 5 °C (g)

C = masa de la cápsula (g)

2. **Número más probable de bacterias coliformes fecales.g<sup>-1</sup> de muestra seca (NMP<sub>CF</sub>):** al llegar las muestras de heno de gramíneas al laboratorio, se las lavó en agua estéril a fin de suspender las bacterias coliformes fecales presentes en la muestra (Figura 3). A partir de la suspensión anterior, se procedió a realizar un set de diluciones seriadas que permitan el correcto desarrollo de la técnica de recuento por NMP. En las muestras provenientes de CV fueron necesarias cuatro diluciones seriadas (10<sup>-1</sup>-10<sup>-4</sup>) y en las muestras de 15D se realizaron ocho diluciones (10<sup>-1</sup>-10<sup>-8</sup>). Posteriormente se sembraron las diluciones en el medio de cultivo laurilsulfato (prueba presuntiva). Se incubó a 37 °C durante 48 h. Inóculos de cada uno de los tubos positivos (turbidez y producción de gas en el interior de la campana Durham), fueron sembrados en medio de cultivo EC (prueba de coliformes fecales) y se incubaron a 44,5 °C durante 24-48 h. Se determinó el NMP.g<sup>-1</sup> muestra seca de bacterias coliformes fecales (USDA USCC, 2001), mediante la utilización de calculadora de NMP desarrollada por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (<https://mostprobablenumbercalculator.epa.gov/mpnForm>).

3. **Número de cerdos por galpón (N° C/G):** se obtuvo contando la cantidad de animales presentes en el mismo.

4. **Tamaño del heno (Fino-grueso) (Heno):** Se observó el tamaño general del heno de cada repetición analizada y se lo categorizó en fino (≈0,5cm) o grueso (≈1cm).

5. **Temperatura ambiental media de los días de muestreo (T°):** los valores fueron facilitados por la estación meteorológica de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario.

El análisis estadístico fue realizado con el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2016), el mismo constó de un análisis de la varianza entre los dos tiempos muestreados para la variable NMP, en donde la elección del test dependió de la distribución de dicha variable a partir de la realización del test de normalidad, de Shapiro Wilks modificado, de la variable NMP. Por otro lado se realizó la evaluación de las correlaciones entre variables a partir del análisis de sendero: permite explicar posibles causas

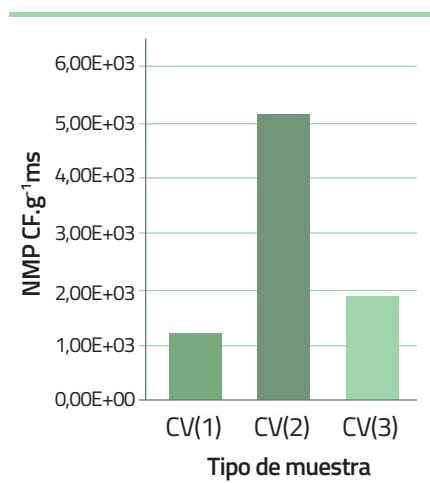
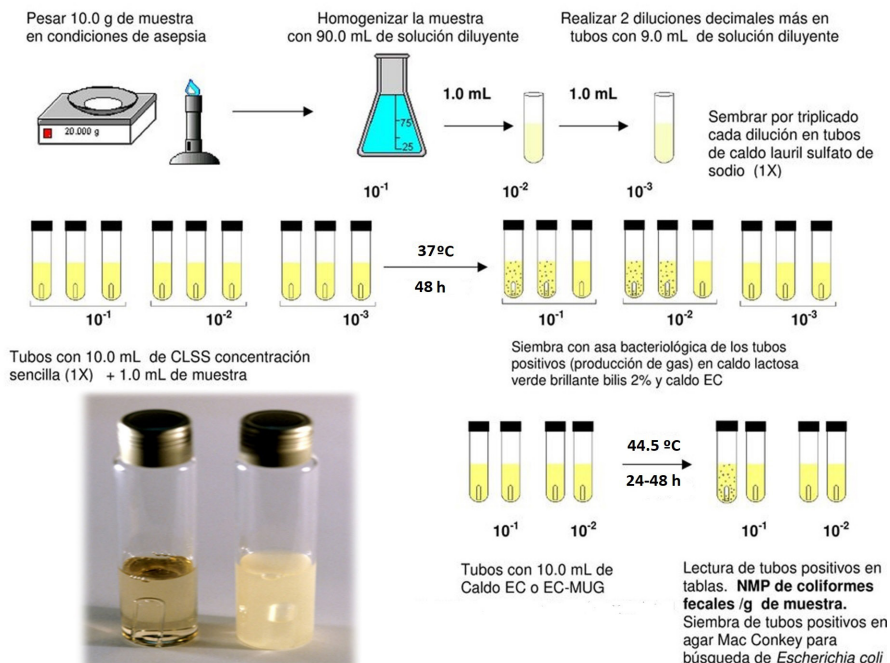


Figura 4. NMP de coliformes fecales.g<sup>-1</sup> de materia seca (NMP CF.g<sup>-1</sup> ms) en la Cama Virgen (CV), en cada repetición.

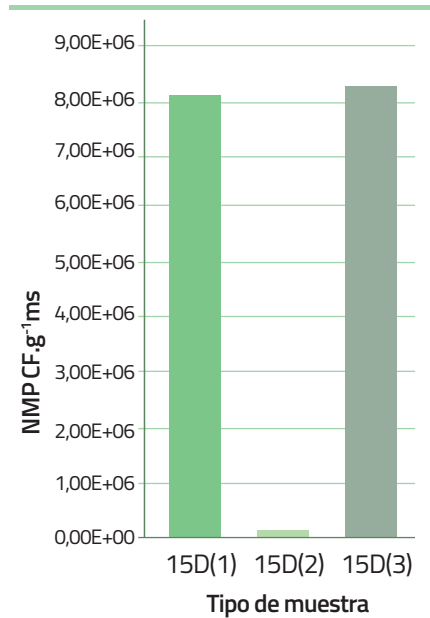


Figura 5. NMP de coliformes fecales.g<sup>-1</sup> de materia seca (NMP CF.g<sup>-1</sup> ms) a los 15 días (15D) del ingreso de los cerdos al galpón, en cada repetición.

Figura 3. Protocolo de determinación del NMP de bacterias coliformes fecales. Adaptado de Camacho *et al.* (2009).

Resultados de las variables medidas								
Repetición	Muestra	NMP <sub>CF</sub> NMP	NMP <sub>CF</sub> promedio	%H	%H promedio	T°	N° C/G	Heno
1	CV	9,8x10 <sup>2</sup> 1,6x10 <sup>3</sup>	1,3x10 <sup>3</sup>	4,44 4,44	4,44	19,05	99	Fino
	15D	1,3x10 <sup>6</sup> 1,5x10 <sup>7</sup>	8,4x10 <sup>6</sup>	17,65 28,60	23,13	18,06		
2	CV	8,9x10 <sup>2</sup> 9,4x10 <sup>3</sup>	5,1x10 <sup>3</sup>	16,98 52,74	34,86	11,80	152	Grueso
	15D	1,8x10 <sup>5</sup> 8,4x10 <sup>4</sup>	1,3x10 <sup>5</sup>	18,64 53	35,82	12,45		
3	CV	1,6x10 <sup>3</sup> 2,3x10 <sup>3</sup>	2x10 <sup>3</sup>	5,40 8,10	6,75	8,75	125	Fino
	15D	2,8x10 <sup>5</sup> 1,7x10 <sup>7</sup>	8,4x10 <sup>6</sup>	24,44 33,33	28,88	12,75		

Tabla 1: NMP<sub>CF</sub>: Número más probable de bacterias coliformes fecales.g<sup>-1</sup> de muestra seca %H: Porcentaje de humedad. T°: Temperatura ambiental media de los días de muestreo. N° C/G: Número de cerdos por galpón. CV: Cama virgen. 15D: 15 días.

de las correlaciones observadas entre una variable respuesta (NMP<sub>CF</sub>) y una serie de variables causales (%H, N° C/G, Heno, T°) (Di Rienzo *et al.*, 2016).

**Resultados y Discusión**

Los valores obtenidos para las variables NMP<sub>CF</sub>, %H, T°, N° C/G y Heno se muestran en la Tabla 1. Las figuras 4 y 5 muestran los resultados del NMP CF para las tres repeticiones de los muestreos

realizados en CV y a los 15D, respectivamente.

Al realizar el test de Shapiro Wilks modificado, se determinó que la variable NMP<sub>CF</sub> no se distribuye normalmente (p<0,0001). Debido a ello se trabajó con el método no paramétrico test de Wilcoxon para comparar las medias de NMP<sub>CF</sub> entre CV y 15D, obteniéndose una diferencia significativa entre las mismas (p=0,0022). Sumado a lo anterior, más allá de que los gráficos de barra mostraban un NMP<sub>CF</sub>

mayor en el muestreo de CV y menor en el muestreo a los 15D, ambos en la repetición 2, las diferencias no resultaron significativas al realizar un análisis de la varianza no paramétrico Kruskal Wallis dentro de cada tipo de muestra (CV y 15D) (comparando entre repeticiones) siendo los p-valores para CV: p=0,6667 y para 15D: p=0,3333.

Por otro lado, cuando se evaluaron las diferencias de media del NMP<sub>CF</sub> entre las diferentes categorías de Heno (F y G), las mismas tampoco resultaron significativas dentro de CV (p>0,9999) y de 15D (p=0,1333).

Cuando se correlacionó en las muestras tomadas a los 15D, las variables Heno y

NMP<sub>CF</sub> con el análisis particionado por el lado del galpón (Izquierdo o Derecho) se determinó una correlación negativa entre las variables del lado izquierdo ( $p=0,0384$ , coeficiente = -1) en que se tomó la muestra, por lo cual para el lado izquierdo del galpón podemos decir que se obtuvo un mayor NMP<sub>CF</sub> cuando el heno de la cama era más fino. No se observó correlación de las variables anteriormente nombradas cuando no se realizó la partición por lados del galpón ( $p=0,2781$ ). No se evidenciaron correlaciones entre NMP<sub>CF</sub> y Heno para CV aunque se haya particionado por lado del galpón (Derecho  $p=0,5914$ ; Izquierdo  $p=0,0558$ ). Cuando se analizó la correlación entre %H y NMP<sub>CF</sub> solo se obtuvo una correlación positiva (coeficiente = 0,94;  $p=0,0047$ ) en el tipo de muestra CV, mientras que a los 15 días no hubo correlación ( $p=0,8864$ ). En cuanto a la variable T° solo se obtuvo una correlación positiva a los 15D considerando como partición los lados del galpón (15D: Derecho: Coeficiente = 1;  $p=0,0193$ ). No hubo ningún tipo de correlación para la variable N° C/G a los 15D.

Con lo obtenido en el análisis de varianza y en las correlaciones de variables, queda en evidencia que los factores ambientales medidos en el presente estudio no afectarían significativamente el NMP<sub>CF</sub> si se trabaja con los valores promedio de NMP<sub>CF</sub> por galpón sin distinguir entre los lados del mismo. Para los 15D de la toma de muestra, la correlación negativa entre Heno y NMP<sub>CF</sub> en el lado izquierdo del galpón a los 15D de toma de muestra, puede estar relacionada con la técnica de obtención del NMP, a mayor tamaño de Heno es más difícil resuspender la muestra para realizar las diluciones decimales. Además, a mayor volumen o grosor del heno, menor será la superficie de contacto con las excretas de los cerdos. En cuanto a la T° la correlación positiva encontrada estaría relacionada con la supervivencia de las bacterias coliformes fecales en temperaturas más elevadas. El hecho de que se hayan encontrado correlaciones solo cuando se consideraban los lados del galpón está relacionado con el uso sectorizado que hacen los cerdos en el mismo. Siendo el sector Noreste (izquierdo) el utilizado para las excretas y el sector Suroeste (derecho) el utilizado para el descanso.

## Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos, es posible afirmar que los factores ambientales analizados en el presente trabajo como temperatura ambiental, humedad, tipo de heno (tamaño) y el número de cerdos por galpón, no inciden significativamente en el NMP de bacterias coliformes fecales promedio por galpón, por lo cual dichos factores podrían no ser considerados a la hora de evaluar resultados en futuros ensayos de dietas novedosas en cerdos criados en sistema de cama profunda.

## Agradecimientos

Agradecemos a la empresa Advanced Biotechnology Company SA (ABIOTEC) por su contribución financiera y académica en el desarrollo del presente artículo.

## Bibliografía

Brunori, J. (2013). Producción de cerdos en Argentina. Situación. Oportunidades. Desafíos. Recuperado el 2 de marzo de 2023 de: <https://inta.gob.ar/documentos/produccion-de-cerdos-en-argentina-situacion-oportunidades-desafios>.

Camacho, A.; Giles, M.; Ortegón, A.; Palao, M.; Serrano, B.; Velázquez, O. (2009). Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP). *Tec. Anal Microbio Alim* 2(1), 1-17.

Carro, M. D. y Ranilla, M. J. (2002). Los aditivos antibióticos promotores del crecimiento de los animales: situación actual y posibles alternativas. Recuperado el 27 de Febrero de 2023 de: [https://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/invernada\\_promotores\\_crecimiento/01-aditivos\\_antibioticos\\_promotores.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/01-aditivos_antibioticos_promotores.pdf)

Castro, M. y Rodriguez, F. (2005). Levaduras: probióticos y prebióticos que mejoran la producción animal. *Corpoica* 6(1), 1-13.

Chávez Balarezo, L. A. (2005). Los probióticos en la nutrición porcina. Recuperado el 30 de octubre de 2022 de: <http://isvbolivia.com/investigacion/uso-de-probiotico-en-nutricion-procina-2111d07e2.pdf>

Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. (2016). InfoStat. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Franco, R.; Brunori, J.; Basso, L.; Moisés, S.; Graziotti, G.; Ríos, C.; Bacci, R.; Campagna, D.; Silva, P. (2013). Efectos de diferentes sistemas productivos sobre características nutracéuticas de la carne de cerdo. *Porcinos y aves*, 101.

Garrity, G. (2007). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria (Vol. 2)*. Springer Science & Business Media.

Martinez, L.E.; Rizzo, P.F.; Bres,m P.A.; Riera, N.I.; Beily, M.E.; Young, B.J. (2021) Compendio de métodos analíticos para la caracterización de residuos, compost y efluentes de origen agropecuario y agroindustrial. *Ed. INTA*: 1-166.

Madigan, M.; Martinko, J.; Bender,K.; Buckley, D. y Stahl, D. (2015). *Brock. Biología de los microorganismos*. Editor: Miguel Martín-Romo.

SENASA. (2022). Caracterización de existencias porcinas Marzo 2022. Coordinación General de Sistemas de Gestión Sanitaria Dirección de Ejecución Sanitaria y Control de Gestión Dirección Nacional de Sanidad Animal. [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/110\\_1caracterizacion\\_porcinos\\_marzo\\_2022.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/110_1caracterizacion_porcinos_marzo_2022.pdf)

Skejich, P.; Spinollo, L.; Somenzini, D.; Caratan, P.; Derma, S.; Abdul Ahad, J.; Mijovich, F.; Dichio, L.; Campagna, D.; Silva, P. (2015). Análisis preliminar de los parámetros productivos en cerdos alojados en sistemas al aire libre y en "cama profunda". IX Jornada de Ciencia y Tecnología. Rosario.

USDA, USCC. (2001). Test methods for the examination of composting and compost (TMECC). Method 07.01 Coliform Bacteria. Edaphos International, Department of Agriculture and Composting Council, USA, Houston.

Yagüe, A. P. (2005). Nuevos retos en la nutrición porcina. *Profesión veterinaria*, 15(62), 38-41.