

Presencia de *Escherichia coli* en el contenido prepucial de verracos en una unidad de producción y su influencia a problemas de fertilidad y prolificidad

Mayra, Alfaro-Escalona¹; Magalys, Rivas-Nichorzon²;
Ramón, Silva-Acuña^{3*}; Ely, Gómez-Piñeres⁴

Resumen

Con la finalidad de identificar la bacteria *Escherichia coli* en verracos de un sistema de producción porcino ubicado en El Rincón de Monagas, estado Monagas, Venezuela, se recolectaron hisopados del contenido prepucial de los reproductores de la granja. Las muestras se trasladaron refrigeradas hasta el laboratorio para el aislamiento de *E. coli* en agar EMB y su caracterización a través de pruebas bioquímicas. En 100% de las muestras se obtuvo la presencia bacteria *E. coli*, en el interior del prepucio de los verracos. Esta condición es un factor de riesgo para la reproducción ocasionando muerte espermática, retornos al estro, reducción en el tamaño de camadas, con repercusión significativa en la productividad de la granja. Buenas prácticas de sanidad animal son requeridas en el plan de manejo de la granja, para minimizar la presencia de este patógeno bacteriano.

Palabras clave: Contaminación bacterial; divertículo prepucial; *Escherichia coli*.

The presence of *Escherichia Coli* in the preputial content of breeding boars in a production unit and its influence on fertility and prolificacy problems

Abstract

In order to identify the bacterium *Escherichia coli* in boars of a porcine production system located in El Rincon de Monagas, Monagas state, Venezuela, swabs were collected from the preputial content of the breeding stock of the farm. The samples were transferred refrigerated to the laboratory for the isolation of *E. coli* in EMB agar and its characterization through biochemical tests. In 100% of the samples the presence of *E. coli* bacteria was found, inside the foreskin of the boars. This condition is a risk factor for reproduction, causing sperm death, returns to estrus, reduction in the size of litters, with significant impact on the productivity of the farm. Adequate animal health practices are required in the farm management plan to minimize the presence of this bacterial pathogen.

Keywords: Bacterial contamination; preputial diverticulum; *Escherichia coli*.

Recibido: 25 de octubre de 2018

Aceptado: 23 de enero de 2019

¹ Ingeniera en producción animal; Docente de la Universidad de Oriente; Núcleo Monagas. Maturín, Venezuela; malfaro@udo.edu.ve; <https://orcid.org/0000-0003-1357-3812>

² Ingeniera en producción animal; Docente de la Universidad de Oriente; Núcleo Monagas. Maturín, Venezuela; mrvivas@udo.edu.ve; <https://orcid.org/0000-0003-0329-6030>

³ Ing. Agr. PhD. Docente de la Universidad de Oriente; Núcleo Monagas. Maturín, Venezuela; rsilva@udo.edu.ve; <https://orcid.org/0000-0003-1235-9283>

⁴ Med. Vet. Docente de la Universidad de Oriente; Núcleo Monagas. Maturín, Venezuela; egomez@udo.edu.ve; <https://orcid.org/0000-0002-8151-3865>

* Autor para correspondencia: rsilva@udo.edu.ve

I. INTRODUCCIÓN

La meta del productor porcino es lograr los máximos beneficios en su sistema productivo y evitar cualquier factor que pueda causar pérdidas y que pueda constituirse en una razón de la disminución de sus ingresos. La forma de que la granja sea rentable consiste en aumentar el número de lechones por cerda al año. Cuando se presenta disminución en el tamaño de la camada se deben revisar todos los componentes del sistema para diagnosticar la falla y corregirla (Alfaro *et al.* 2002). En la mayoría de las granjas, el manejo reproductivo del rebaño porcino se caracteriza por considerar a la cerda como responsable de la respuesta reproductiva en la unidad de producción, dejando a un lado el enorme aporte realizado por el verraco. Así mismo, los aspectos nutricionales, sanitarios y de alojamiento son poco considerados cuando del verraco se trata (Buxadé y Sánchez 2009). La contaminación microbiológica del semen por agentes patógenos puede ocasionar reducción de la fertilidad y prolificidad de las cerdas a través de procesos infecciosos como endometritis, mortalidad embrionaria, o enfermedades sistémicas (Decuadro-Hansen 2000).

El divertículo prepucial, fue descrito como un órgano compuesto por dos lóbulos cuyo contenido lo integran células epiteliales, restos de semen y orina, con un olor muy desagradable (Cuesta *et al.* 2011). Este compartimiento es considerado como una fuente de contaminación seminal y portador de microorganismos causantes de enfermedades en cerdas adultas a través de monta natural e inseminación artificial, fundamentalmente (Pineda *et al.* 1994).

La contaminación bacteriana es frecuente en el eyaculado, puede deberse a una infección en el tracto urogenital del macho o por el contacto del semen con el aire que lo rodea, manejo de la colección, evaluación y procesamiento del semen. De manera general, las bacterias más frecuentes en el eyaculado del verraco corresponden a *Micrococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter*, *Corynebacterium suis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus fecalis*, *Citrobacter*; de ellas, las más frecuentes son *Enterobacter*, *E. coli*, *S. fecalis*

las cuales provienen de la contaminación de la zona del prepucio por restos fecales (Pérez *et al.* 2001). En la práctica, la contaminación bacteriana del semen se asocia con reducción en el tiempo de conservación de dosis, muerte de un porcentaje o totalidad de los espermatozoides de un eyaculado, aglutinación de espermatozoides, daño acrosomal. También, se relaciona con aumento en los retornos al estro u otras fallas reproductivas; por otro lado, puede traer consigo la difusión del agente microbiano en la hembra ocasionando descargas vulvares y endometritis (Baltá y Moner 1995).

En el semen algunos microorganismos son capaces de encontrar las condiciones óptimas para sobrevivir, esto ocasionaría daños a los espermatozoides después de la eyaculación por algún efecto directo sobre la membrana plasmática espermática o por efectos indirectos inducidos por los factores solubles del metabolismo bacteriano, desencadenando procesos de infertilidad o infecciones en el tracto reproductivo de la hembra (Acosta *et al.* 2011; Puerta *et al.* 2015).

Indiscutiblemente, las bacterias, junto a otros microorganismos, son causantes de numerosas enfermedades en los cerdos, las cuales, producen importantes pérdidas económicas en las unidades de producción. En este sentido, se debe considerar la bioseguridad y su estricta aplicación, de esta forma disminuir los agentes etiológicos, dando como resultado, que los animales no sean fuente de transmisión de enfermedades, en especial los animales utilizados en la reproducción (Buxadé y Sánchez 2009). Bajo este contexto, Baltá y Moner (1995) señalaron que en el momento de la monta, un elevado número de organismos infecciosos son introducidos en el aparato genital de la cerda a través de la bolsa del prepucio. La infección también puede producirse durante la cópula cuando el abdomen del verraco está muy sucio y de esta manera se infecta la vagina y el cérvix que se encuentra abierto. Como consecuencia se produce degeneración de los óvulos fecundados, lo que ocasiona descarga vaginal con retorno al celo normal, o retorno y descarga vaginal anormal. Las patologías localizadas a nivel del tracto reproductivo en la mayoría de las ocasiones no permiten que las cerdas queden gestantes. En hembras de reemplazo la presencia

de descargas vaginales tras el primer servicio supone, generalmente, su eliminación; pero, su valor económico es alto y representa un elevado valor de seguridad y de oportunidad (Oliva *et al.* 2002; Mota *et al.* 2003).

La contaminación bacteriana del semen con frecuencia proviene del propio verraco. Goldbert *et al.* (2013), demostraron que la contaminación del semen aumentó cuando dos o más factores relacionados con la higiene (mala higiene del verraco, divertículo prepucial grande, pelo prepucial largo) estuvieron presentes, por lo que recomendaron minimizar la contaminación bacteriana, evitando la adquisición de verracos con prepucios voluminosos y realizar los cortes de pelo prepucial con regularidad.

El semen contiene bacterias que proceden de las vías genitales y/o urinarias y se acumulan en el divertículo prepucial, entre ellas se encuentra *E. coli* que tiene efecto espermicida directo sobre los espermatozoides (Buxadé y Sánchez 2009; Acosta 2013). Este microorganismo tiene como hábitat el intestino de los animales y la materia fecal. Es descrito como un bacilo Gram negativo, aeróbico facultativo el cual fermenta lactosa con formación de ácido y gas. Adicionalmente, reduce nitrato a nitrito, oxidasa negativa y catalasa positiva (López-Álvarez 1995).

La presencia excesiva de microorganismos patógenos en el eyaculado tiene efectos nocivos sobre los espermatozoides y en consecuencia, sobre la fertilidad del verraco, que se puede observar a través de la disminución de la motilidad de los espermatozoides, el aumento de los cambios morfológicos y de aglutinación, la disminución de los espermatozoides y reducción de la longevidad del semen (Althouse y Lu 2005). Además, en las cerdas, puede provocar infecciones uterinas, reducir la tasa de concepción y, en consecuencia, aumentar la infertilidad. En general, la presencia de bacterias ocasiona efectos negativos sobre los espermatozoides al alterar el plasma seminal, constituyéndolo en una fuente de contaminación para el tracto genital de la hembra (Rodríguez 2017).

La aplicación de medidas higiénicas puede reducir considerablemente la presión de infección

de la flora bacteriana normalmente presente en los animales, personas y el ambiente, aunque no son capaces de eliminarla por completo (Correa *et al.* 2001). Para lograr un adecuado control sanitario en el área reproductiva, independientemente del sistema de producción que se practique, es necesario conocer en profundidad: cuáles, cómo y cuándo los patógenos pueden infectar al verraco y la cerda (Barceló 2001). En relación a lo antes planteado, la presente investigación tuvo como objetivo aislar e identificar la bacteria *E. coli* en el contenido prepucial de verracos pertenecientes a una granja porcina.

II MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del ensayo y origen racial de los animales muestreados

La presente investigación se realizó en una unidad de producción porcina, situada en la localidad de El Rincón de Monagas, municipio Maturín, estado Monagas. Ubicada geográficamente en las coordenadas 9° 41' LN y 63° 04' LO, a la altitud de 16 m. La zona registra una temperatura media anual de 26° C y 82 % de humedad relativa. Dentro de la zona de vida descrita como mesa llana. La unidad de producción posee 20 cerdas, en su mayoría, mestizas de razas Landrace y Yorkshire, y cuatro verracos de las razas Landrace, Yorkshire y Pietrain.

Recolección de muestras

Las muestras analizadas provenían de los cuatro verracos, para ello se empleó Culturettes®, el cual se introdujo en el interior del prepucio, rotándolo suavemente para coleccionar la muestra. Los Culturettes® fueron identificados, se resguardaron de contaminación en sus respectivos protectores y seguidamente se colocaron en una cava con hielo hasta su traslado al laboratorio de Microbiología de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Oriente, Núcleo Monagas, Campus Los Guaritos, en Maturín (COVENIN, 1989).

Siembra de las muestras

En cámara de flujo laminar marca Indelab, modelo IDL.48H en condiciones de asepsia, se realizó la siembra colocando el material directamente sobre las capsulas de Petri, previamente aprovisionadas con medio Agar-Eosina Azul de Metileno (EMB-Levine) e identificadas. Acto seguido las cápsulas se

introdujeron en una incubadora Lab-Line® modelo 3527, a una temperatura de 37°C. Las capsulas de Petri fueron, observadas a las 24 y 48 horas post-siembra para verificar el crecimiento de las colonias. De las muestras obtenidas de los cuatro verracos de la unidad de producción objeto del estudio se realizaron tres repeticiones.

Obtención del cultivo puro

Del cultivo inicial se seleccionaron en las capsulas de Petri las colonias de color verde oscuro metálico brillante en el agar EMB- Levine -la apariencia de tal coloración se considera como presuntiva la presencia de *E. coli*- con el objetivo de obtener el cultivo puro de esta bacteria cuando formada en el medio EMB-Levine. Para el aislamiento se empleó el procedimiento de estría cerrada, nuevamente en agar EMB-Levine, se sembraron en tubos con el agar inclinado y se incubaron a 37°C por 24h. A partir de los aislamientos puros obtenidos en tubos con el medio agar EMB-Levine, se realizaron las pruebas de tinción de Gram y las pruebas bioquímicas correspondientes a producción de indol, utilización de citrato, Voges Proskauer y rojo metilo (IMVIC) según las normas COVENIN (1996).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos mediante las pruebas bioquímicas positivas para indol y rojo de metilo, así como negativo para Voges Proskauer y citrato permitieron identificar a *E. coli* en el contenido prepucial de los verracos de esta unidad de producción porcina. El 100% de las muestras presentaron infección por *E. coli*, tal condición puede llegar afectar la viabilidad de los espermatozoides, debido a la competencia por el mismo medio y por el efecto nocivo que los metabolitos bacterianos provocan sobre la membrana celular (Pérez *et al.* 2001) de igual manera, la potencialidad de efectos perjudiciales en relación a la gestación y eficiencia de la monta en las cerdas de la granja tal como lo señala Cuesta *et al.* (2011). A esto se agrega, que la presencia del contaminante bacteriano, trae como consecuencia la urgente aplicación de medidas sanitarias relativas a la adopción de buenas prácticas en salud animal como indicado por Barceló (2001).

En este sentido, Conza *et al.* (2004) señalan que

E. coli, está asociada con alteraciones en la calidad del semen. En concordancia a lo anteriormente planteado, las investigaciones realizadas por Althouse (1999), demostraron el efecto espermicida de esta bacteria y que además causa aglutinación espermática en el eyaculado. La muerte de los espermatozoides se produce de forma directa debido a que la bacteria se adhiere a la superficie del espermatozoide. Por otro lado, Diemer *et al.* (1996) demostraron que *E. coli* afecta de forma significativa la calidad espermática, principalmente en lo que se refiere a la motilidad. Esta perturbación puede ocurrir por la acción de toxinas bacterianas, alteraciones en el pH y por competencia por el mismo sustrato. Según Woelders (1991) cualquier alteración presente en el acrosoma puede inhibir la capacidad fecundante del espermatozoide. La presencia de esta bacteria en los sementales de la unidad es un indicador de la posibilidad de obtener bajos índices reproductivos (Serrano 1995). Althouse *et al.* (2000), indican que a pesar del efecto producido en el semen por la contaminación bacteriana, este aspecto no se ha evaluado completamente; sin embargo, investigaciones realizadas por Maroto (2006), sugieren que la fertilización se reduce en presencia de bacterias potencialmente patógenas, y que la infección de los oviductos es común en hembras con endometritis después de la monta natural.

Independiente a lo anteriormente señalado, la contaminación bacteriana al disminuir la calidad del semen sea que interfiera con la fertilización o que cause infecciones uterinas, se debe tener presente que el semen contaminado reduce las posibilidades de éxito en la respuesta reproductiva de la granja. Es de hacer notar los resultados de Maroto (2006), al señalar que la presencia de *E. coli* provocó disminución significativa del tamaño de la camada, cuando las cerdas fueron inseminadas con semen contaminado con esta bacteria; de la misma manera, si la contaminación no es controlada resulta en disminución de la respuesta reproductiva de la cerda (Althouse *et al.* 2000). Martin *et al.* (2010), señalan la existencia de una correlación positiva entre la presencia de *E. coli* y la aglutinación espermática, y una correlación negativa entre la aglutinación y el tamaño de la camada.

Entre las medidas señaladas para minimizar el impacto de la bacteria en el contenido prepucial, Weitze (2007) revela la importancia de la limpieza del corral, incluyendo el comedero. Junto con la limpieza de la verraquera y del animal; además, se debe tener presente que humedades relativas y temperaturas elevadas favorecen el crecimiento de bacterias. Esta condición climática está presente en la unidad de producción por su ubicación geográfica en un área con humedades superiores a 82% lo que hace necesario en determinadas épocas el año la colocación de ventiladores en los galpones para remover aire contaminado. Los sementales deben permanecer en un ambiente con humedad relativa alrededor de 70%; por otro lado, Martín-Rillo et al. (1999), señalan que el vaciado de la bolsa prepucial reduce la contaminación del semen por la presencia de líquido prepucial al momento de la recolección del semen, disminuyendo la carga bacteriana. La condición sanitaria en la cual se encuentran los verracos de esta unidad de producción sugiere la inmediata adopción de prácticas como vaciado del prepucio antes de realizar la monta, a fin de disminuir la carga bacteriana en el semen y de esta manera, no comprometer la salud de las cerdas; así como también realizar el monitoreo de las cargas bacterianas en los verracos, en consecuencia se logrará mayor prolificidad que redundará en la mejora de indicadores productivos de la unidad porcina.

Los resultados obtenidos en esta investigación con la detección e identificación de *E. coli* en hisopados del prepucio de los cuatro verracos y no en el propio semen, deja evidente el impacto que causa esta bacteria sobre la prolificidad de las veinte cerdas existentes en la granja, aun estando presente en el prepucio de los verracos. La detección de esta bacteria conlleva a la existencia de problemas de fertilidad, así como también la presencia de camadas muy pequeñas en las cerdas.

IV. CONCLUSIONES

La bacteria *Escherichia coli* está presente en el contenido prepucial de todos los verracos de la unidad de producción. Los resultados muestran que medidas de higiene son necesarias en los animales e instalaciones para mejorar la respuesta reproductiva

de las cerdas.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA M, RUEDAS M, ARIAS T, PÁEZ R, ESPINOSA I, MARTÍNEZ V, PERDIGÓN R. 2011. Evaluación de la contaminación bacteriana de semen porcino puro y diluido. *Livest. Res. Rural Dev.* 23 (4):80
- ACOSTA M. 2013. Una reseña corta sobre la contaminación microbiológica del semen porcino y sus consecuencias. *Rev. Comp. Prod. Porcina.* 20 (3): 127-129.
- ALFARO M, RAMÍREZ J, MILLÁN J, RODRÍGUEZ T. 2002. Efecto de los días de retorno al estro sobre el tamaño de la camada en una granja comercial. *Revista Científica, FCV-LUZ.* XII (2): 437-438.
- ALTHOUSE G. 1999. Orígenes y efectos de la contaminación microbiológica en el semen porcino conservado. *ANAPORC.* 192:83-94.
- ALTHOUSE G, KUSTER C, CLARK S, WEISIGER R. 2000. Field investigation of bacterial contaminants and their effects extended porcine semen. *Theriogenology.* 53(5):1167-1176.
- ALTHOUSE G. LU, K. 2005. Bacteriospermia in extended porcine semen. *Theriogenology* 63: 573-584.
- BALTA Í MONER J. 1995. La problemática reproductiva en el cerdo. *Revista Producción Animal.* 102:34-38.
- BARCELÓ J. 2001. Control sanitario en diferentes sistemas de producción. *ANAPORC.* 42: 31-37.
- BUXADÉ C, SÁNCHEZ R. 2009. El verraco. Claves de su optimización productiva. Editorial Euroganadería. Madrid, España. 383pp.
- CONZAL, CALLES, ECHEVARRÍAL, FALCÓN N. 2004. Evaluación bacteriológica de semen de verracos usados como reproductores en granjas porcinas de la zona de Lurín, Lima. *Revista Investigación Veterinaria.* 15 (2): 163-165.

- CORRÊA M, MEINCKE W, LUCIA JR, DESCHAMPS J. 2001. Inseminação artificial en Suínos. In: CORRÊA, M.; MEINCKE, W.; LUCIA, T.; DESCHAMPS, J. (Eds.). Pelotas: Printpar, 181pp.
- COVENIN (COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES). 1989. Alimentos. Preparación e identificación de muestras para el análisis microbiológico. Primera revisión. 1126-89. FONDONORMA, Caracas, Venezuela. 11p.
- COVENIN (COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES). 1996. Determinación del número más probable de coliformes, coliformes fecales y de *Escherichia coli*. 1104-96. 2da revisión. Ministerio de Fomento. Caracas, Venezuela. 5p.
- CUESTA G, REYES A, DOMÍNGUEZ F, DA SILVA G. 2011. Ablación del divertículo prepucial en el cerdo como profilaxis de la contaminación seminal. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. 12 (2):1-7.
- DECUADRO-HANSEN G. 2000. Control sanitario de los verracos en un Centro de Producción de Semen. En: 5° Seminario Internacional de Suinocultura. São Paulo, Brasil. pp. 152-162.
- DIEMER T, WEIDNER W, MICHELMANN H. 1996. Influence of *Escherichia coli* on motility parameters of human spermatozoa in vitro. Int. J. Androl. 19 (5):271-277.
- GOLDBERG A, ARGENTI L, FACCIN J, LINCK L, SANTI M, BERNARDI M, CARDOSO M, WENTZ I, BORTOLOZZO F. 2013. Risk factors for bacterial contamination during boar semen collection. Res. Veterinary Sci. 95: 362-367
- LÓPEZ-ÁLVAREZ J. 1995. *Escherichia coli*: mecanismos de patogenicidad. Ciencia Veterinaria. 1:1-39.
- MAROTO L. 2006. *Escherichia coli* as contaminant of boar semen: Role of F1 fimbrial lectins in the sperm agglutination phenomena. Thesis in Applied Biological Science (Ph.D.). Faculty of Sciences. Institute of Molecular Biology and Biotechnology. Brussels. 150pp.
- MARTÍN L, MUÑOZ E, CUPERE F, DRIESSCHE E, ECHEMENDIA D, RODRÍGUEZ J, BEECKMANS S. 2010. Bacterial contamination of boar semen affects the litter size. Anim. Reprod. Sci. 120: 95-104.
- MARTÍN RILLO S, DE ALBA C, CORCHERA B, STRZEZEK J. 1999. Efecto de la calidad seminal sobre la supervivencia embrionaria. ANAPORC. 185:42-52.
- MOTA R, ALONSO-SPILSBURY M, TRUJILLO O, RAMÍREZ-NECOECHEA R, CISNEROS P. 2003. Incidencia, caracterización y control de descargas vaginales pos-parto en cerdas lactantes enjauladas y su efecto en el desempeño reproductivo. Rev. Salud Anim. 25(1): 50-55
- OLIVA J, PUIG J, GUZMÁN I. 2002. Tratamiento medicamentoso de las supuraciones vaginales de las cerdas nulíparas. ANAPORC. 43:64-68.
- PÉREZ B, SÁNCHEZ R, YENES P, GARCÍA P. 2001. Control de la contaminación en semen de verraco. Ediporc. 38:74-79.
- PINEDA Y, GALLARDO A, CLAVIJO A, MÉNDEZ F, VELÁSQUEZ C. 1994. Aislamiento de *Eubacterium suis* de cerda con cistitis y pielonefritis. Vet. Trop. 19: 53-62.
- PUERTA J, VILLEGAS A, SERNA G, MARTÍNEZ A, ROMERO J, GIRALDO M, CADAVID A, CARDONA W. 2015. Espermocultivo: crecimiento bacteriano del eyaculado y su relación con los parámetros seminales. Chil. Obstet. Ginecol. 80(1): 33-40.
- SERRANO M. 1995. Control bacteriológico del semen de verraco y su relación con la reproducción en la hembra. Ciencias Veterinarias. 24:767-775.
- RODRÍGUEZ A. 2017. Evaluación de la calidad espermática de sementales porcinos utilizados en la monta natural REDVET. Rev. Electrón. Vet. 18 (10): 1-17.
- RODRÍGUEZ J, BEECKMANS S. 2010. Bacterial contamination of boar semen affects the litter size. Animal Reprod. Sci. 120: 95-104.

—— **Alfaro et al.** Presencia de *Escherichia coli* en el contenido preputial de verracos en una unidad de producción

WEITZE K. 2007. Higiene: la clave para obtener una buena calidad de semen. *Av. Tecnol. Porc.* 4(5): 40-44.

WOELDERS H. 1991. Overview of in methods for evaluation of semen quality. *Reprod. Domest. Anim. Suppl.* 1:145-164.