

## EFFECTO DE LAS HORAS DE AYUNO PREVIAS AL SACRIFICIO SOBRE LA FERMENTACIÓN CECAL Y LA EXCRECIÓN DE SALMONELLA EN MATADERO.

Martín-Peláez, S.<sup>1</sup>, Peralta, B.<sup>2</sup>, Creus, E.<sup>1</sup>, Pérez, J. F.<sup>1</sup>, Mateu, E.<sup>2</sup>, Martín-Orúe, S.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Nutrició, Maneig i Benestar Animal

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. sandramaria.martin@uab.es

<sup>2</sup>Departament de Sanitat i Anatomia Animals

Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona

### INTRODUCCIÓN

*Salmonella* es el principal agente zoonótico en los países desarrollados. Los brotes de salmonelosis están asociados al consumo, entre otros, de productos procedentes del cerdo. El principal origen de contaminación de las canales está en el propio contenido del tracto gastrointestinal (TGI) de animales infectados durante el proceso de eviscerado. Por eso, una reducción en la cantidad de *Salmonella* presente en el TGI de los cerdos que llegan al matadero, podría reducir el riesgo de contaminación. En la actualidad es una práctica habitual en nuestro país retirar el alimento a los animales antes de su sacrificio durante periodos que rondan las 24 horas, con el fin de reducir el peso de las vísceras, facilitar el eviscerado y reducir el volumen de residuos en matadero. Sin embargo algunos autores indican, como un mayor periodo de ayuno podría conllevar una mayor proliferación de enterobacterias y en concreto de *Salmonella* en el contenido digestivo (Nattress y Murray, 2000). El objetivo de este estudio fue el de determinar si la práctica de diferentes periodos de ayuno previo al sacrificio tiene algún efecto sobre la fermentación cecal y sobre la excreción de *Salmonella*.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo nuestro estudio, se seleccionó una nave comercial infectada subclínicamente con *Salmonella* (prevalencia de excretores= 13%) con un total de 1000 plazas de engorde. Se seleccionaron 90 cerdos, divididos en 2 grupos (45 cada uno) que fueron sometidos a un ayuno de 15 o 30 horas previo a su partida hacia matadero. Dos días antes de ir a matadero se recogieron muestras de heces para el análisis de *Salmonella* mediante técnicas convencionales (resucitación en agua de peptona, enriquecimiento selectivo en RV y siembra selectiva en XLT4 y McConkey seguida de pruebas bioquímicas). Una vez sacrificados los cerdos, se tomaron datos de peso del TGI, muestras de heces a nivel rectal para detección de *Salmonella* y se midió pH en el ciego. Además, se tomaron muestras de contenido cecal para análisis de ADN y enumeración de lactobacilos y enterobacterias mediante qPCR usando SyBR Green (Castillo *et al.*, 2006), ácidos grasos volátiles (AGV) mediante GLC (Jensen *et al.*, 1995) y NH<sub>3</sub> usando un electrodo de amoniaco (Diebold *et al.*, 2004). Los datos se analizaron mediante ANOVA con el procedimiento GLM del SAS (v. 9.1., SAS Inst. Inc., Cary, NC), usando las horas de ayuno como variable clasificatoria.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados del peso del TGI y de diferentes parámetros de la fermentación cecal. Como era de esperar el aumento en las horas de ayuno redujo el peso del TGI ( $p < 0,05$ ), si bien es cierto que las diferencias no fueron importantes y no superaron los 400 g. El mayor peso de las vísceras se ha asociado con una mayor probabilidad de contaminación de la canal, por la mayor dificultad de su manejo durante eviscerado con un mayor porcentaje de laceraciones (Miller *et al.*, 1997). Sin embargo, la magnitud de las diferencias encontradas no parece que supongan una gran diferencia en cuanto al manejo o la generación de residuos.

El pH del ciego aumentó con las horas de ayuno ( $p < 0,0001$ ). Nattress y Murray (2000) encontraron también un aumento en el pH del ciego con un mayor ayuno. El aumento del pH se piensa favorable para el desarrollo de bacterias patógenas en detrimento de las beneficiosas (Ewin y Cole, 1994). La disminución del pH con un menor ayuno fue paralela a

una mayor concentración de AGV probablemente debido a una mayor cantidad de sustrato fermentable. Se sabe que para que los AGV ejerzan efecto antibacteriano primero han de atravesar la membrana celular, para lo que requieren encontrarse en forma no disociada. El porcentaje de disociación depende del pH del medio, de manera que a menores valores de pH, menor porcentaje de disociación. Una vez en el interior de la bacteria, donde el pH es más alto, los ácidos se disocian, reduciendo el pH interno y parando así los procesos enzimáticos que terminan con la muerte de la bacteria (Russell y Diez-González, 1998). De esta forma el efecto coincidente de un menor pH y una mayor concentración de AGV tras 15 h de ayuno potenciarían el efecto inhibitorio sobre los patógenos. En cuanto al perfil de fermentación, hubo un aumento significativo en el porcentaje de ácidos grasos ramificados con un mayor tiempo de ayuno ( $p < 0,0001$ ) que reflejaría de nuevo la falta de sustrato fermentable. De la misma manera, la concentración de  $\text{NH}_3$  como indicador de fermentación proteica aumentó cuanto mayor fue el ayuno ( $p < 0,0001$ ).

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la microbiología intestinal. Los contajes de enterobacterias incrementaron con el ayuno ( $p = 0,08$ ) mientras que el número de lactobacilos mostró un descenso significativo ( $p < 0,0005$ ). De forma similar, Morishita y Ogata (1970) encontraron disminuciones en el número de bacterias ácido lácticas y aumento de *E. coli* con ayunos de 24 horas. Además del pH y de los AGV como causantes de este descenso, el estrés motivado por las horas de ayuno podría también contribuir a romper el equilibrio intestinal. En nuestro estudio, el porcentaje de cerdos con *Salmonella* en recto fue mayor para el grupo sometido a mayor tiempo de ayuno ( $p = 0,09$ ). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por Berends *et al.* (1996) e Isaacson *et al.* (1999).

A la luz de los resultados obtenidos podemos concluir que una reducción de 30 a 15 horas del periodo de retirada de alimento previo a matadero, provoca cambios significativos en la fermentación cecal, con una reducción en los números de enterobacterias y en el porcentaje de animales que excretan *Salmonella*. Esta reducción del ayuno no supone un incremento importante en el peso de las vísceras y por tanto en los inconvenientes de manejo durante el eviscerado, atribuidos a estas prácticas. Aunque sería necesario realizar más estudios para confirmar estos resultados, reducciones del ayuno, como las practicadas en este estudio, deberían considerarse como una herramienta sencilla para reducir el riesgo de contaminación de las canales por *Salmonella* en matadero.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación pública del Proyecto AGL2003-08370-C02-01. Los autores desean igualmente agradecer a Pinos Baucells S.A. su inestimable colaboración poniendo a disposición sus instalaciones.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Berends B.R., Urlings H.A.P., Snijders J.M.A., van Knapen F., 1996. Identification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. *International journal of food microbiology*, 30:37-53. • Castillo, M., Martín-Orúe, S.M., Manzanilla, E.G., Badiola, I., Martín, M., Gasa, J., 2006. Quantification of total bacteria, enterobacteria and lactobacilli populations in pig digesta by real-time PCR. *Veterinary microbiology*. In Press. • Diebold, G., Mosenthin, R., Piepho, H.P., Sauer W.C., 2004. Effect of supplementation of xylanase and phospholipase to a wheat-based diet for weanling pigs on nutrient digestibility and concentrations of microbial metabolites in ileal digesta and faeces. *Journal of Animal Science*, 82: 2647–2656. • Ewing, W.N. y Cole, D.J.A., 1994. The microbiology of the gastrointestinal tract. Pág. 45-65 en *The living gut. An introduction to microorganisms in nutrition*. Ewing, W.N., Cole, D.J.A., editors. Context, Ireland, UK. • Isaacson R.E., Firkins L., Weigel R.M., Zuckermann F.A., DiPietro J.A., 1999. Effect of transportation and feed withdrawal on shedding of *Salmonella* Typhimurium among experimentally infected pigs. *American journal of veterinary research*, 60:1155-1158. • Jensen, M.T., Cox, R.P., Jensen B.B., 1995. Microbial production of skatole in the hindgut of pigs given different diets and its

relation to skatole deposition in the back fat. *Animal Science*, 61: 293-304. • Miller M.F., Carr M.A., Bawcom D.B., Ramsey C.B., Thomson L.D., 1997. Microbiology of pork carcasses from pigs with differing origins and feed withdrawal times *Journal of food protection*, 60: 242-245. • Morishita, Y. y Ogata, M., 1970. Studies on the alimentary flora of pig. V. Influence of starvation on the microbial flora. *Japanese journal of veterinary science*, 32:19-24. • Nattress, F.M. y Murray, A.C., 2000. Effect of antemortem feeding regimes on bacterial numbers in the stomachs and ceca of pigs. *Journal of food protection*, Vol 63, 9, 1253-1257. • Russell, J.B. y Diez-Gonzalez, F., 1998. The effects of fermentation acids on bacterial growth. *Advances in Microbial Physiology*, 39: 205-34. • SAS Inst. Inc., 1988. SAS User's Guide: Statistics. Cary, NC.

**Tabla 1.** Peso del TGI, concentración y perfil de AGVs y concentración de NH<sub>3</sub> en el ciego de cerdos ayunados 15 o 30 horas antes del envío a matadero.

Parámetro	Horas de ayuno		EEM	p-valor
	15	30		
Peso TGI (kg)	6,76	6,39	0,127	<0,05
pH	5,88	6,40	0,083	<0,0001
Total AGV (mM)	89,5	77,8	2,72	<0,005
Acético (%)	58,99	58,62	0,574	0,641
Propiónico (%)	26,30	24,93	0,562	0,086
Butírico (%)	11,08	9,93	0,363	<0,05
Valérico (%)	1,67	2,62	0,112	<0,0001
Ramificados (%)	1,95	3,91	0,194	<0,0001
NH <sub>3</sub> (g L <sup>-1</sup> )	367	769	49,2	<0,0001

**Tabla 2.** Contajes de lactobacilos y enterobacterias (log copias gen 16S rRNA/g MF) en ciego y prevalencia de Salmonella (% positivos) en heces de cerdos ayunados 15 o 30 horas antes del envío a matadero.

Parámetro	Horas de ayuno		EEM	p-valor
	15	30		
Enterobacterias	8,68	9,09	0,174	0,082
Lactobacilos	9,57	9,00	0,112	<0,0005
Lactobacilos/Enterobacterias	0,87	-0,08	0,174	<0,005
Prevalencia Salmonella (%)	18	33	6,48	0,091