

## CARACTERIZACIÓN DEL MICROBIOMA Y EL RESISTOMA EN DEYECCIONES Y PURINES DE VACUNO DE LECHE EN DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

Nejjam\*, I. y Varsaki, A.

Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA),  
C/ Héroes 2 de Mayo, 27, 39600 Maliaño – Cantabria

\*nejjam\_i@cantabria.es

### INTRODUCCIÓN

Cantabria alcanza 1050 explotaciones de vacuno de leche, representando así el 9 % de la totalidad nacional (SITRAN, 2022). Dicha concentración genera una gran cantidad de estiércol y purín que, aunque tienen un alto nivel agronómico; en la medida en que replazan parcial o totalmente la adquisición de abonos químicos, sin embargo, constituyen una fuente potencial de contaminación, tanto ambiental como biológica siendo mayor cuando no se aplican de acuerdo a los códigos de buenas prácticas agrarias. Además, el uso masivo de antibióticos en el ganado ha originado la presencia de residuos de antibióticos en el medio ambiente (Luo *et al.*, 2011). Como consecuencia, el estiércol y el purín podrían llevar una carga importante en bacterias y genes resistentes a antibióticos (ARB y ARG) y persistir el tiempo suficiente para crear un problema de salud pública y/o veterinaria; como es el caso de las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. (Hagey *et al.*, 2019), así como el *Campylobacter jejuni* que es capaz de sobrevivir en los desechos del ganado durante al menos 20-25 días (Varsaki *et al.*, 2022).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 18 ganaderías de vacuno de leche, ubicadas en Cantabria, de tres sistemas de producción diferentes (pastoreo convencional, ecológico e intensivo). Se realizaron unas encuestas y en cada explotación, se recogieron muestras de heces de vacas frisonas por vía rectal y de purín que se conservaron en nitrógeno líquido hasta su recepción en el laboratorio del CIFA. Se realizaron los análisis físico-químico y molecular consistiendo en 1) la extracción-purificación y cuantificación de DNA; 2) el control de pureza y de calidad de DNA; y 3) la constitución de las librerías siguiendo los protocolos de Oxford Nanopore Technologies. La secuenciación se hizo mediante el Minlon con un filtro de puntuación de calidad de QS>7 y una longitud de lectura >150 pb y el análisis bioinformático se hizo mediante el programa Epi2me.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros físico-químicos de las muestras indican una gran variabilidad tanto entre las explotaciones como entre los sistemas de producción. La cuantificación del DNA extraído y el control de su calidad muestran una cantidad y calidad adecuada para la secuenciación (ratios medios de  $1,85 \pm 0,02$  y  $2,2 \pm 0,25$ , sucesivamente para 260/280 y 260/230). En cuanto a su integridad, el DNA tiene un número de integridad (DIN) media de  $6,70 \pm 0,30$ . Los resultados preliminares de la secuenciación indican que las muestras de heces y purín se componen del 86 % de bacterias, 11 % de eucariotas y 3 % de arqueas y <1 % de virus. Los filos bacterianos dominantes son los *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Actinobacteria*, los mismos encontrados en estudios anteriores (Zhang *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2014; Hagey *et al.*, 2019). En cuanto a la resistencia a antibióticos, el *Streptococcus agalactiae* principal causante de las mamitis en vacuno de leche, es el agente con mayor promedio de precisión (86,7 %) y resistencia a la clase de Lincosamidas de antibióticos.

### CONCLUSIÓN

Los resultados preliminares permiten una exploración general de los datos que se encuentran en la fase de análisis bioinformático con más detalle para buscar una posible asociación entre los sistemas de producción de vacas lecheras y los microbiomas y resistomas estudiados.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Hagey *et al.*, 2019. *Front. Microbiol.* • Kim *et al.*, 2014. *J. Anim. Sci.* • Luo *et al.*, 2011. *Environ Sci Technol* • SITRAN, 2022 • Varsaki *et al.*, 2022. *Zoonotic Diseases* • Zhang *et al.* 2019. *Int J Genomics*.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) y el autor ha disfrutado de la ayuda para contratos predoctorales para la formación de doctores (FPI-PRE2019-088698) en el CIFA.