

# Diarrea al postdeslletament i problemes de salut pública

**MÀSTER UNIVERSITARI EN ZONOSIS I UNA SOLA SALUT**

**Universitat Autònoma de Barcelona**

**Curs acadèmic 2019-2020**

**Presentat per: Biel Garcias Puigserver**

**Dirigit i tutoritzat per: Laila Darwich Soliva**

**Autor:** Biel Garcias Puigserver

**Directora i tutora:** Laila Darwich Soliva

**Treball de Fi de Màster:** Diarrea al postdeslletament i problemes de salut pública

**Màster Universitari en Zoonosi i Una Sola Salut**

**Facultat de Veterinària**

**Universitat Autònoma de Barcelona**

**Bellaterra, 9 de novembre de 2020**

Autor: Biel Garcias Puigserver

Directora i tutora: Laila Darwich Soliva

1. Resum .....	1
2. Objectius .....	2
3. Introducció.....	2
3.1 Diarrea: definició i classificació .....	3
3.2 Diarrees en el moment del deslletament.....	3
3.3 Canvis que es produeixen al deslletament.....	4
3.4 Factors de risc de la diarrea.....	5
3.4.1. Factors relatius al sistema de producció i a l'animal: .....	5
3.4.2. Factors relatius a la dieta: .....	5
3.4.3. Factors relatius al maneig i a l'ambient:.....	6
3.4.4. Factors relatius a la immunitat:.....	7
4. Agents infecciosos: .....	8
4.1. <i>Escherichia coli</i> .....	8
4.1.1. <i>E.coli</i> enterotoxigènic (ETEC).....	8
4.1.2. <i>E. coli</i> enteropatogènic (EPEC) .....	10
4.1.3. <i>E. coli</i> verotoxigènic (VTEC): .....	11
4.2. Rotavirus .....	12
4.3. Coronavirus.....	13
4.5. Altres agents bacterians .....	15
4. 6. Altres agents vírics.....	16
4.7. Agents parasitaris .....	17
5. Importància zoonòtica .....	19
5.1 Resistències antimicrobianes .....	19
5.1.1 Mecanismes de resistència.....	19
5. 1. 2 Ús en ramaderia.....	20
5.1.3 Resistències antimicrobianes a les transicions.....	21
5.2 Altres problemes de salut pública .....	25
6. Possibles solucions .....	27
7. Conclusions .....	30
8. Bibliografia:.....	31
9. Annex .....	49

## 1. Resum

Una de les principals problemàtiques del sector porcí és la diarrea en garrins de post-deslletament, que suposa unes repercussions molt negatives tant en l'àmbit productiu com econòmic del sector i en la salut animal i de les persones. Es tracta d'un problema multifactorial, que es dona en un moment molt estressant pels garrins com és el deslletament, on es produeixen una sèrie de canvis que afavoreixen l'aparició de diarrea.

Diversos agents infecciosos vírics, bacterians i parasitaris hi poden estar implicats, alguns d'ells amb potencial zoonòtic, entre els quals destaquen els rotavirus i coronavirus porcins, *Escherichia coli* enterotoxigènics i enteropatogènics, *Salmonella* spp o *Clostridioides difficile*. Una de les dificultats que comporta aquesta etiologia multifactorial és poder establir un diagnòstic correcte, fet que causa un sobre ús o mal ús d'antibiòtics en aquesta fase productiva. En conseqüència, durant aquesta etapa productiva es poden seleccionar resistències antimicrobianes que poden arribar a esdevenir una amenaça per a la salut pública.

En aquest treball es recull una revisió bibliogràfica dels agents infecciosos més importants en la PWD i del paper de les resistències antimicrobianes en ramaderia. Una de les conclusions que s'arriba en la recerca bibliogràfica és que agents infecciosos amb potencial zoonòtic com ara els rotavirus i l'*E. coli* enterohemorràgic són els més rellevants en la PWD, però sobretot, el problema més greu són les resistències antimicrobianes. En concret, la presència de beta-lactamases d'espectre estès i la resistència a la colistina són les més preocupants ja que són antibiòtics d'últim recurs en medicina humana.

Així, de cara a reduir l'últim problema esmentat es fa necessari reduir l'ús d'antibiòtics i per això es poden plantejar mesures de diferents àmbits com evitar les infeccions pels patògens, millorar la immunitat i la salut intestinal dels animals, buscar alternatives terapèutiques als antibiòtics o mètodes per tal de reduir el seu alliberament al medi ambient. Tot això, fa que sigui necessària la coordinació de diferents àmbits de coneixement per tal de mitigar la problemàtica.

## 2. Objectius

El treball que es presenta en un principi havia de ser experimental. Consistia en analitzar granges de porcs amb problemes de diarrea al deslletament, per tal de valorar les freqüències dels agents implicats, centrant-nos en aquells agents amb potencial zoonòtic, com ara els rotavirus, i en les freqüències de resistències antimicrobianes de les enterobactèries aïllades. En aquest punt, cal remarcar que l'elevat consum d'antibiòtics que es produeix en aquesta fase productiva del porcí, pot afavorir la selecció de bacteries multi-resistents als diferents antimicrobians d'ús convencional, i per tant acabant sent un risc per a la salut pública. Un bon indicador de les resistències als antimicrobians que poden presentar els animals seria *E. coli*.

La crisi sanitària produïda per la pandèmia de la COVID-19, ha suposat que el volum de granges que es tenia previst analitzar (n=10) no ha estat possible ni suficient per tal de poder extreure conclusions dels resultats, arribant a analitzar-ne només 3, per la qual cosa s'ha optat per realitzar una revisió bibliogràfica sobre les causes de la diarrea a la transició i les conseqüències que pot tenir per la salut pública. De tota manera, es presenten els resultats preliminars de les 3 granges analitzades als annexes.

Pel que respecta els objectius del treball de revisió, primer de tot, se centraran en contextualitzar el moment productiu, explicant els canvis que es produeixen, com afecten als animals i com fa augmentar el risc de patir diarrea. Seguidament, es presentaran les característiques dels principals agents implicats, així com les diferents problemàtiques de salut pública associades, essent la resistència als antibiòtics un dels punts principals de l'estudi. Finalment, es proposaran solucions de cara a mitigar la problemàtica anterior des de diferents camps.

## 3. Introducció

La diarrea postdeslletament (PWD, sigles de "PostWeaning Diarrhea" en anglès) és una problemàtica multifactorial, que succeeix en un moment molt estressant pel garrí. A continuació, es definirà el concepte de diarrea i es profunditzarà en els canvis que succeeixen en el moment del deslletament i com poden augmentar el risc de patir diarrea.

### 3.1 Diarrea: definició i classificació

La diarrea és un procés patofisiològic que es defineix com un excés d'aigua a les femtes en relació a la matèria seca fecal. La pèrdua de soluts i líquids a les femtes pot provocar un desequilibri electrolític i de l'àcid-base greu i deshidratació, que poden portar l'individu a la mort si no són corregits (1).

Poden afectar tant a l'intestí prim com el gruixut. Segons la classificació de Thomson i Friendship (2019), es poden dividir en:

- Diarrea secretora: causada per un excés de secreció respecte a la reabsorció de fluid, per una alteració en els mecanismes de secreció i absorció de l'epiteli intestinal. Un exemple d'agent que causa aquest problema seria l'*Escherichia coli* enterotoxigènic (ETEC), que allibera toxines que alteren la secreció de clor a la llum intestinal.
- Diarrea per malabsorció: causada per una atròfia de les vellositats intestinals, que provoca que no es pugui absorbir el contingut intestinal, la cosa porta al pas de líquid cap al lumen per osmosi. Un exemple seria la diarrea produïda per Rotavirus que es multiplica als enteròcits i causa un escurçament dels villi.
- Diarrea inflamatòria: alguns agents poden provocar una inflamació de l'epiteli intestinal i reduir la seva capacitat d'absorbir nutrients, provocant un augment del contingut del lumen i, per pressió osmòtica, facilitant el pas d'aigua a les femtes. Un exemple seria la diarrea produïda a causa d'una salmonel·losi.
- Diarrea per un increment de la permeabilitat de la mucosa, a causa d'una elevada pressió hidrostàtica o una pèrdua de pressió oncòtica als villi, s'alteren les forces d'Starling i es permet el pas de fluid intersticial i macromolècules cap a la llum intestinal. Un exemple seria la presència de diarrea a causa d'hipoalbuminèmia.
- Aquests tipus de diarrees no són excloents i es poden presentar de forma conjunta.

### 3.2 Diarrees en el moment del deslletament

Actualment, en l'àmbit de la producció porcina, els problemes de diarrees al deslletament s'han convertit en un problema greu i provoquen greus pèrdues

econòmiques. Sjölund *et al* (2014) van calcular que generen unes pèrdues de 40 € per truja/any.

Aquesta problemàtica té un origen multifactorial, que pot ser generada per factors que seran explicats amb més detall posteriorment com el maneig, agents bacterians, vírics, nutricionals o parasitaris. Això dificulta arribar a un diagnòstic i moltes vegades els animals són tractats com si existís una infecció bacteriana sense conèixer el diagnòstic ni el perfil de resistència antimicrobiana, la qual cosa pot conduir a l'aparició de noves resistències als antibiòtics.

El moment del deslletament és un moment molt estressant pel garrí, cosa que s'ha pogut comprovar amb l'augment dels nivells de cortisol en aquesta etapa (4) que provoca que l'animal pateixi un període d'anorèxia, que produeix una inflamació local del budell (2) i, a part, els canvis en la dieta provoquen una atròfia de les microvellositats intestinals i una hiperplàsia de les criptes, que poden portar a una diarrea per malabsorció (5). A més, es produeix una disrupció de la microbiota que fa els animals més susceptibles a agents patògens entèrics (6). Finalment, l'estrès de la situació també genera una immunosupressió de l'animal, fent-lo més propens a patir una infecció per agents patògens (4)

### 3.3 Canvis que es produeixen al deslletament

Podem veure com després del deslletament trobem diversos canvis a nivell de l'intestí, especialment pel que fa a la mucosa i a la microbiota.

Respecte a la microbiota, veiem que després del deslletament existeix un major número de bactèries que pertanyen a la família *Enterobacteriaceae* i una reducció del gènere *Lactobacillus*, relacionat amb la salut intestinal. També podem veure que la diversitat entre els garrins lactants és superior als desmamats i com la variabilitat de microbiota entre garrins és superior després del deslletament possiblement per l'estrès generat i la resposta diferent de cada individu en front aquest estímul (7). Tot i així, s'ha de comentar que aquest canvis no apareixen de forma sobtada, sinó gradual (8).

Pel que fa a la mucosa (de manera fisiològica), a l'intestí, a nivell histològic es poden veure certs canvis. Després del deslletament, trobem un índex mitòtic incrementat, una disminució de les cèl·lules caliciformes i un augment del limfòcits intraepitel·lials i de la

làmina pròpia, que es relaciona amb una activació del sistema immunitari pels canvis en la composició de la microbiota (7). A més, es produeix un augment del pH gàstric a causa del canvi a dieta sòlida, ja que la llet té efecte basificador, i la disminució de la secreció d'HCl (9).

### 3.4 Factors de risc de la diarrea

Hi ha diversos factors de risc que afavoreixen l'aparició de problemes de diarrees al deslletament. Els podríem agrupar en diversos grups:

#### 3.4.1. Factors relatius al sistema de producció i a l'animal:

- Edat al deslletament: en condicions naturals, el deslletament es produeix de forma gradual entre les 10-12 setmanes, que és el moment quan l'epiteli gastrointestinal i el sistema immunitari estan molt pròxims al seu desenvolupament total. En canvi, amb el sistema intensiu de producció porcina, els garrins es deslleten normalment a les 3-4 setmanes de forma abrupta. Quan es comparen animals deslletats a cada edat, s'ha vist que en els més joves hi ha nivells superiors de CRF (factor alliberador de corticotropina), que així mateix causa un augment de l'activació dels mastòcits, que alliberen TNF- $\alpha$  i proteases que provoquen un procés inflamatori amb augment de la permeabilitat intestinal, la qual cosa augmenta el risc de patir PWD (10).
- Dentició prematura: si les dents creixen abans del dia 17 de vida, s'ha observat que els animals pateixen desconfort, que els provoca anorèxia (que com s'ha explicat abans genera una inflamació local a l'intestí i tenen un major de risc de patir PWD (11).

#### 3.4.2. Factors relatius a la dieta:

- Proteïna bruta (PB): nivells elevats de PB augmenten el risc de patir diarrea al postdeslletament (2), perquè s'incrementen els substrats necessaris per la fermentació per part dels bacteris de la microbiota, de manera que augmenta la població de microorganismes patògens, i també es generen compostos volàtils i



substàncies tòxiques com les amines que poden promoure la inflamació (12). No obstant això, és complicat abaixar els nivells donat que els requeriments pel creixement són molt elevats.

- Fibra: si els nivells de fibra augmenten, s'observa un augment de la mida dels villi o microvellositats intestinals i una menor presència d'*E. coli* a les femtes, pel que pareix indicar que podria tenir cert efecte (12).
- Midó: s'ha observat que si augmenten els nivells de midó resistant disminueix el risc de patir PWD, ja que augmenten la quantitat d'àcids grassos de cadena curta, que fan disminuir el pH de l'intestí i estimulen l'activitat l'enzimàtica, de manera que s'incrementa l'absorció de nutrients i es millora la salut intestinal, reduint el risc de PWD. A part, la major presència d'àcids grassos de cadena curta també estimula proliferació de bacteris dels gèneres *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, que es relacionen amb una bona salut intestinal i una menor presència de bacteris patògens (12).
- Soja: nivells elevats de soja en el pinso incrementen el risc de PWD, ja que es relacionen amb reaccions d'hipersensibilitat (13).
- Presència de micotoxines: si estan presents al pinso, en redueixen la palatabilitat, la qual cosa pot causar anorèxia i augmenta les possibilitats de patir PWD (14). A més a més, tenen un efecte immunosupressor en els animals que pot facilitar la infecció per part de patògens entèrics (15).
- Freqüència d'alimentació: Laine et al. (2008) van veure que el fet de donar menjar dues vegades augmentava el risc de diarrees respecte una alimentació ad-libitum. L'explicació d'aquest fet podria ser que els animals passaven menys temps sense alimentar-se i això contribuïa a afavorir la seva salut intestinal, ja que es redueix la inflamació intestinal.

#### 3.4.3. Factors relatius al maneig i a l'ambient:

Qualsevol alteració dels animals al deslletament que afecti el benestar animal pot provocar que els garrins deixin de menjar i augmentar el risc de patir diarrea.

Podríem enumerar una sèrie de factors:

- Temperatura: la temperatura ideal pels animals és entre els 26 i els 28 °C. Una alteració d'aquesta temperatura augmenta el risc de PWD a causa del desconfort ocasionat (17).
- Hores de llum: Niekamp et al (2007) van observar com augmentava la freqüència de diarrees quan hi havia menys hores de llum, perquè aquest fet causava una immunodepressió.
- Corrents d'aire: una corrent d'aire de més de 0,2 m/s genera desconfort als animals i es relaciona amb major incidència de diarrees (14)
- Pressió infectiva de patògens: a major concentració de patògens entèrics, més probabilitats existeixen que els animals sofreixin diarrea. Les mesures d'higiene són molt importants per reduir la càrrega de patògens a l'ambient.
- Qualitat de l'aigua: l'aigua és una via d'entrada de molts patògens i la seva qualitat és un dels paràmetres que s'ha de revisar en un brot de diarrea de PWD (14)
- Densitat d'animals per corral: un excés de garrins per metre/quadrat genera un estrès als animals que comporta a una immunodepressió i els genera anorèxia i, per tant, els fa més propensos a patir diarrea. A part, si no tenen espai de menjadora suficient, les agressions entre animals augmentaran i es generarà un desconfort, seguit d' anorèxia que farà els garrins més propensos a tenir femtes toves (14).

#### 3.4.4. Factors relatius a la immunitat:

Els garrins necessiten tenir protecció immunològica davant dels patògens entèrics que causen brots de diarrea. Per això és important que les mares siguin capaces de transmetre'ls-hi a través del calostre. Podem citar diferents factors que poden causar problemes:

- Programa vacunal deficient: les mares han de rebre una bona profilaxi vacunal dels agents que podem trobar al moment del deslletament, per tal que puguin transmetre la immunitat a través del calostre. Si no és òptima, els garrins no estaran protegits davant els patògens entèrics i poden tenir problemes.

- Producció o consum de calostre insuficient: existeixen diverses circumstàncies que poden fer que les mares no produeixin la quantitat suficient de calostre com pot ser una dieta insuficient, estrès o ser una truja de primer part de menor producció.

## 4. Agents infecciosos:

La PWD és una problemàtica multifactorial en la qual pot estar implicats diversos agents. Històricament, s'ha considerat que l'agent principal era *E. coli*, però altres agents que enumerarem a continuació també hi poden estar implicats.

### 4.1. *Escherichia coli*

*E. coli* és un coc-bacil gram-negatiu, anaeròbic facultatiu, de la família Enterobacteriaceae. La majoria de soques no són patògenes i formen part de la microbiota intestinal, però algunes poden provocar simptomatologia tant intestinal com extraintestinal. Aquest bacteri és un dels agents etiològics principals de PWD. Trobem diferents patotipus implicats en aquest procés diarreic: *E.coli* enterotoxigènic (ETEC), enteropatogènic (EPEC) i el verotoxigènic (VTEC).

#### 4.1.1. *E.coli* enterotoxigènic (ETEC)

L'ETEC és un dels majors causants de la diarrea en l'àmbit porcí, tant a les maternitats com a les transicions. Es tracta d'un patotipus format per soques que alliberen toxines que provoquen una diarrea secretora d'un color groguenc-blanquinós, que porta a la deshidratació del garrí. Pel que a fa a les lesions generades, a nivell macroscòpic, es pot observar l'intestí prim dilatat, hiperèmic i lleugerament edematós i l'estómac també dilatat i amb contingut no digerit. A nivell microscòpic, els canvis són bastant lleus. Es poden arribar a observar les bacteries, principalment al duodè i allà veurem una inflamació neutrofílica (19).

Existeixen una sèrie de fimbries que són necessàries per tal que la bactèria es pugui adherir a l'epiteli intestinal. Les més habituals són les F1, F4, F5, F6, F18 i F41. En el cas dels individus nous, les fimbries més habituals en brots de diarrea són la F5 i F6 (20), mentre que al deslletament els més típics són la F4 i F18 (21). També relacionada amb

la seva adhesió s'ha trobat l'adhesina AIDA, però de moment no s'ha establert amb fiabilitat quin és el seu paper (22). La F18 també està implicada en la malaltia dels edemes (ED, de les sigles en anglès "*Edema Disease*"), però es tracta de variants antigèniques diferents (F18ab per ED i F18ac per PWD) i no existeix protecció creuada entre elles (23).

És possible tenir animals genèticament resistents, és a dir, sense receptors per a la F4 (mutació a l'al·lel MUC4) (24) i a la F18 (mutació a l'al·lel FUT1) (25) però no tenen presència en les línies genètiques comercials perquè correlacionen negativament amb caràcters d'importància econòmica, com el pes al naixement, el guany mig diari o la conformació de carcassa.

Una vegada units a la cèl·lula, es podrà replicar i alliberar les exotoxines que causen la patogènia. A la figura 1 es mostra un esquema dels mecanismes de patogenicitat de les diferents toxines. Les més habituals són LT, STa, STb i EAST1. LT és una toxina termolàbil, és a dir, sensible a altes temperatures que s'uneix al gangliòsid GM1(23) i activa de forma permanent l'adenilat ciclasa del enteròcits de manera que genera una hipersecreció de clor, per l'activació de la PKA, porta a la secreció de fluids (26). També està relacionada amb una major facilitat de colonització de l'intestí (20). STa és una toxina resistent a altes temperatures, codificada pel gen *estA*. S'uneix al receptor guanilil-ciclasa C dels villi i les criptes i genera un increment dels nivells de GMP cíclic a l'interior dels enteròcits que provoca una activació de la PKA, que genera una hipersecreció de sodi i, de retruc, per l'augment de la pressió osmòtica de la llum intestinal, també de fluids (26). Es troba més associada amb la diarrea neonatal, tot i

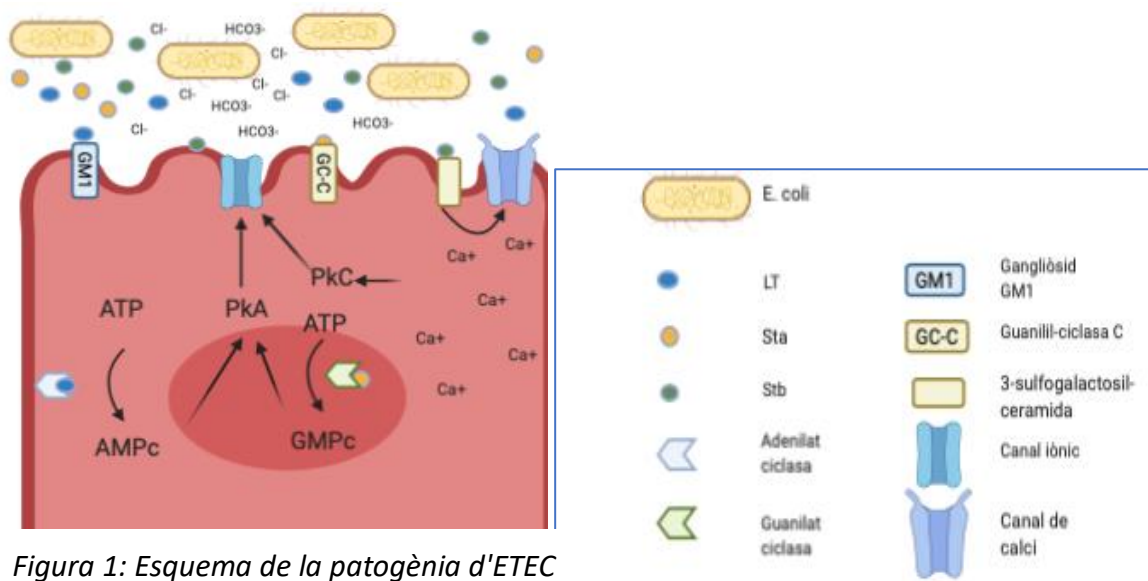


Figura 1: Esquema de la patogènia d'ETEC

que també pot estar present després del deslletament, però normalment acompanyada d'altres exotoxines (23). StB és una altra toxina termolàbil, codificada pel gen *estB*. S'uneix al receptor 3'-sulfogalactosil-ceramida (27), provocant l'entrada de Ca<sup>+</sup> als enteròcits del duodè i del jejú, que activa la PKC i la calmodulina dependent de Ca<sup>+</sup>, la qual cosa provoca la secreció de sodi, clor i bicarbonat (28). A part, també genera una lleugera exfoliació de la superfícies dels enteròcits, que va acompanyada d'una lleu atròfia dels villi (1). També s'ha vist que la seva presència està associada amb la de LT, ja que els gens que codifiquen per ambdues estan localitzats al mateix plàsmid (23). Finalment, trobem la EAST1, però el seu rol no està clar en el desenvolupament de diarrea, ja que tant hi ha estudis que detecten una major prevalença en individus sans (29,30), com en malalts (31). No obstant això, els estudis de toxicitat realitzats semblen indicar que no té capacitat de causar diarrea (32).

#### 4.1.2. *E. coli* enteropatogènic (EPEC)

Els EPEC causen diarrea tant a les maternitats com a les transicions. Es caracteritza per lesions a l'intestí prim que a nivell histològic podem observar un fenomen d' "Attaching and Effacing" (A/E: adhesió i esborrament), amb la lesió de "pedestal" típica d'aquestes soques, que produeix una atròfia de les vellositats i provoca la seva pèrdua de funció (33) i l'aparició de diarrea per

malabsorció (19). La regulació del mecanisme d' A/E dels EPEC resideix en el "Locus per l'Esborrament Entèric" (LEE), del gen "eae", que s'ha identificat com a necessari pel

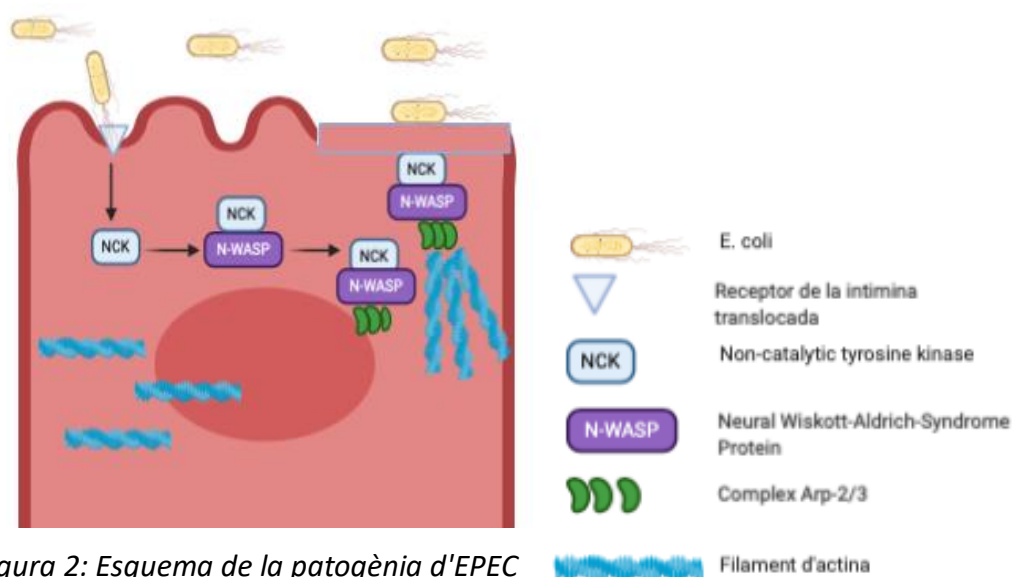
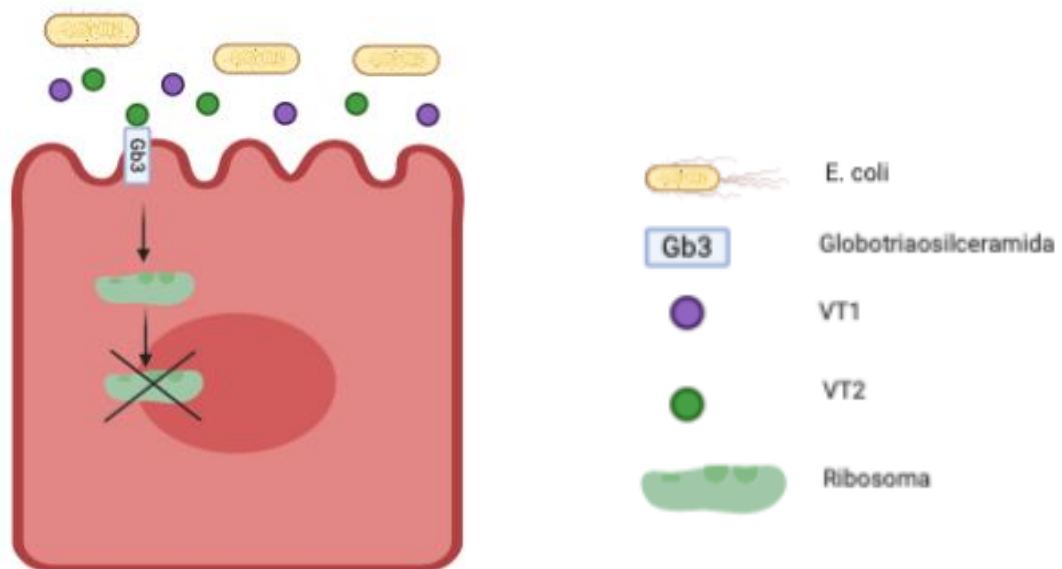


Figura 2: Esquema de la patogènia d'EPEC

desenvolupament de la patogènia (34). Per a què es doni el fenomen d'A/E s'han de produir diversos fenòmens, que es presenten a la figura 2. Primerament, és necessària l'adherència a l'enteròcit. Per això, la bactèria entra en contacte amb la cèl·lula mitjançant un flagel i el pili tipus IV. Després, s'ha de produir la translocació de senyals intracel·lulars, que es dona a través del sistema de secreció de tipus 3, mitjançant el qual entren múltiples proteïnes a l'enteròcit. Una d'elles, és la proteïna Tir (receptor de la intimina translocada), que una vegada dins el citoplasma es projecta cap a la membrana i permet l'adherència de la intimina (una adhesina produïda per l'EPEC). Quan s'uneixen, es produeix la fosforilació de la Tir i es converteix en Tirosina 474, que acaba activant a un mediador de la polimerització de l'actina. Aquesta darrera activació provoca una reorganització del citoesquelet de la cèl·lula, lesió de "pedestal", i l'atròfia i la pèrdua de funcionalitat de les vellositats intestinals (33).

#### 4.1.3. *E. coli* verotoxigènic (VTEC):

Aquestes soques, també conegudes com *E. coli* productor de toxines Shiga (STEC), estan implicades en la ED, però també poden causar problemes de diarrea. Les toxines implicades són stx1 i stx2, també conegudes com a VT1 i VT2 (35,36).



*Figura 3: Esquema de la patogènia de VTEC*

A la figura 3 es mostra l'esquema de la patogènia de les toxines VT1 i VT2. Les toxines s'uneixen al receptor de superfície globotriaosilceramida (Gb3) (37) i actuen inhibint la síntesi proteica de la cèl·lula, ja que inactiva els ribosomes de les cèl·lules eliminant una

adenina del 28S RNAr, provocant la mort de la cèl·lula (38).

## 4.2. Rotavirus

Els rotavirus són un gènere de virus RNA de doble cadena amb un genoma amb 11 segments que codifiquen per sis proteïnes estructurals (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 i VP7) i cinc no estructurals (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4 i NSP5/6) que pertanyen a la família *Reoviridae*. D'aquestes proteïnes, sobretot hem de destacar la VP4 i VP7, responsables de la generació d'anticossos per part de l'hoste, i la NSP4, implicada en l'aparició de la diarrea per l'activació dels canals de clor.

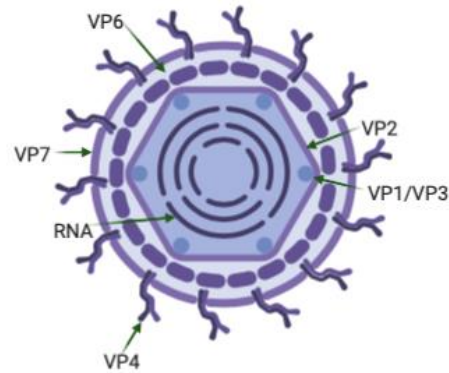


Figura 4: Rotavirus

Existeixen fins a deu grups (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J) que es classifiquen segons la relació antigènica que tenen amb la VP6 (proteïna de la capa mitja de la càpside). Els més habituals que es troben en el conjunt de les espècies són el rotavirus A (RVA), el B (RVB) i el C (RVC). Pel que fa a l'espècie porcina, RVA i RVC han estat detectats arreu del món tant en animals diarreics com en sans i sembla que són els més prevalents, tot i que també s'han trobat els grups B, E i H (30,39). Degut a la gran varietat de genotips que existeixen dintre cada grup, s'ha establert una classificació en funció de l'estructura de cada un dels segments del genoma seguint el següent ordre: VP7 (G) - VP4 (P) - VP6 (I) -VP1 (R) - VP2 (C) - VP3 (M) - NSP1 (A) - NSP2 (N) - NSP3 (T) - NSP4 (E) - NSP5/6 (H). Així, la nomenclatura segueix el següent esquema Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx (40).

Respecte als signes clínics generats pels rotavirus, veiem que els animals encara lactants presenten diarrea lleu i deshidratació, que cursa normalment amb una baixa mortalitat. En animals deslletats, si és l'únic agent, pot causar una diarrea lleu que dura 1 o 2 dies o bé presentar un curs asimptomàtic. Ara bé, si es presenta amb altres patògens com ara l'ETEC pot generar una diarrea prolongada greu (41). Les lesions macroscòpiques per rotavirus es localitzen a l'intestí prim, que el veurem distès i ple de gas (41). A nivell

microscòpic, es pot observar un escurçament dels vili, de la severitat del qual en dependrà la gravetat del quadre clínic. A part, també podem observar a aquella zona un infiltrat moderat de cèl·lules mononuclears i neutròfils i una hiperplàsia de les criptes(1)

La patogènia dels rotavirus es dona per diversos mecanismes. En primer lloc, el virus entra als enteròcits mitjançant la unió de les proteïnes de membrana VP4 amb els lligands glicans de la superfície cel·lular dels enteròcits més madurs (42) i es replica en el seu interior de manera que causa la seva lisi i porta a un escurçament dels vili que genera un diarrea per malabsorció. En segon lloc, la seva entrada a la cèl·lula provoca un increment del calci intracel·lular, que porta a una desorganització del citoesquelet i les unions estretes augmentant la permeabilitat paracel·lular i, a part, el desequilibri electrolític que es genera es compensa amb una secreció de clor i bicarbonat (43). Finalment, també intervé la proteïna no estructural NSP4, que, per una banda, a través de l'activació de la Fosfolipasa C (PLC), provoca la sortida de calci del reticle endoplasmàtic cap al citoplasma (per la qual cosa genera contribueix a generar un desequilibri electrolític) i, per altra banda, estimula el sistema nerviós entèric, de manera que incrementa la motilitat intestinal i es redueix la capacitat d'absorció de l'intestí, la qual cosa afavoreix la presentació d'una diarrea per malabsorció(44).

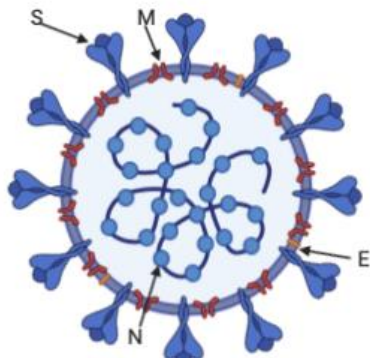
### 4.3. Coronavirus

La família *Coronaviridae* és una família de virus RNA embolcallats amb genoma no segmentat monocatenaris de polaritat positiva que pertanyen a l'ordre *Nidovirales*. Dintre trobem la família *Orthocoronaviridae* a la qual pertanyen els coronavirus entèrics que afecten els porcs. Es poden dividir en quatre gèneres: Alfacoronavirus, Betacoronavirus, Deltacoronavirus i Gammacoronavirus. Les espècies que afecten als porcs es presenten a la Taula 1.

*Taula 1: Coronavirus que afecten l'espècie porcina*



En el genoma dels coronavirus trobem diversos fragments oberts de lectura (ORF)



entre els quals destaquen ORF1a i ORF1b, que es troben superposats i contenen el gen replicasa, que codifica per proteïnes no estructurals necessàries per la replicació (45). També existeixen 4 ORFs més que codifiquen per proteïnes estructurals que són comunes a tots els virus de la família. Les veiem representades a la Figura 5. Aquestes són:

- Espícula (S): és una glicoproteïna de l'embolcall que permet l'entrada del virus a la cèl·lula i és la inductora de producció d'anticossos neutralitzants per part de

Figura 5: Coronavirus  
l'hoste (46)

- Embolcall (E): és una petita proteïna de membrana que permet l'assemblatge de virions, però que no és essencial per la transmissió del virus(45).
- Membrana (M): és la proteïna més abundant i defineix la mida i la forma de l'embolcall. A més, intervé en la formació de nous virions (47). També s'ha vist que pot modular la producció d'interferons (48).
- Nucleocàpsida (N): es tracta d'una fosfoproteïna que embolcalla els àcids nucleics i modula síntesi d'RNA (45). A part també antagonitza la producció d'interferons (49).

Taula 1: Coronavirus que afecten l'espècie porcina

Gènere	Espècie
Alfacoronavirus	Virus de la Gastroenteritis Transmissible (TGEV)
	Virus de la Diarrea Epidèmica Porcina (PEDV)
	Coronavirus Entèric Porcí (SeCoV)
	Virus de la Síndrome de Diarrea Aguda (SADS-CoV)
	Coronavirus Respiratori Porcí (PRCV)
Betacoronavirus	Virus de l'encefalomielitis hemaglutinant porcina (PHEV)
Deltacoronavirus	Deltacoronavirus porcí (PDCoV)

Pel que fa al quadre clínic dintre de la granja, tots cursen de manera similar (amb major o menor gravetat depenent del coronavirus en concret). Quan s'infecta una granja que n'era lliure, hi ha una primera fase epidèmica, on animals de totes les edats presenten diarrea i vòmits, amb un quadre més greu en els animals joves, on pot existir una mortalitat alta (explicat per la menor velocitat de reposició dels enteròcits, on es replica el virus). Una vegada els animals s'immunitzen, s'entra en la fase endèmica, on

observarem diarrees a les transicions perquè és el moment on desapareixen els anticossos maternals (50).

Dels coronavirus explicats anteriorment, els que han tingut major incidència històricament a les transicions han estat el TGEV i el PEDV. Tot i ser pràcticament indistingibles a nivell de signes clínics, patogènia i lesions, són antigènicaament diferents i no existeix immunitat creuada entre ambdós (51). A Amèrica i Àsia actualment (juntament amb l'emergència dels Deltacoronavirus) tenen bastanta importància, sobretot el PEDV (49), però a Europa es considera que el risc de brots és baix (52).

El TGEV tenia gran incidència, però es creu que l'aparició del seu mutant PRCV (Virus del Coronavirus Respiratori Porcí) va generar immunitat creuada i va disminuir la seva prevalença a Estats Units i Europa (53,54). El PEDV té un període d'incubació curt, que s'estima entre 22 i 38 hores (50). Es poden transmetre via directa, fecal-oral, per fòmits, per secrecions nasals i també pot passar als garrins lactants a través de la llet de la mare.

Pel que fa a les lesions, a la necròpsia, es pot observar l'estómac i els intestins plens de contingut i amb petèquies. La paret dels intestins és fina i transparent per l'atròfia dels vilis. A nivell microscòpic, es pot observar l'escurçament dels vilis del jejú i l'ili (el duodè acostuma a no presentar lesions i en animals amb certa immunitat les lesions acostumen a estar presents només a l'ili) (55). La patogènia dels coronavirus es centra en la replicació del virus principalment en els enteròcits del jejú. Aquesta replicació es dona dins el citoplasma i produeix la lisi de la cèl·lula entèrica, la qual cosa porta a un escurçament dels vil·li, que porta una deficient absorció de nutrients i una major pressió osmòtica a la llum intestinal de manera que es produeix una diarrea per malabsorció, que pot causar una deshidratació i provocar la mort de l'animal en els casos més greus (com més joves són els garrins més greu és el quadre clínic per la menor capacitat de substituir les microvellositats per no tenir les criptes intestinals encara madures) (55).

#### 4.5. Altres agents bacterians

A banda d'*E. coli*, existeixen bacteris que habitualment presenten el quadre clínic a l'engreix, però que en alguns casos també s'han detectat en casos a la transició com *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira pilosicoli* o diferents serovars de *Salmonella*

*enterica* com Typhimurium (el principal), Derby, Mbalda, Agona, Anatum, Cerro o Heidelberg (56–59).

Pel que fa als signes clínics de *Salmonella* spp, s'observa una diarrea groguenca que pot contenir sang i moc que és més típica dels engreixos, però que pot afectar a totes les edats des del deslletament, i que es va propagant de corral en corral (21). Pot durar de 3-5 dies i remetre (però l'animal pot quedar com a portador) o ser crònica i intermitent (1). Pel que fa a les lesions observades a la necròpsia, els animals presenten una inflamació de l'ili, el cec i el colon espiral, que es pot estendre al còlon descendent i al recte. Les parets estan engrossides i edematoses i poden existir úlceres cobertes de material fibrinonecròtic. A nivell histològic, s'observa la infiltració de la làmina pròpia per neutròfils principalment, però també macròfags i limfòcits. També és freqüent observar trombes de fibrina en els capil·lars sanguinis. Finalment, s'observa necrosi de la mucosa, que es pot estendre a la submucosa i als limfonodes regionals generant úlceres (21).

La clínica habitual de l'adenomatosi intestinal porcina (malaltia causada per *L. intracellularis*) és una diarrea aquosa de color gris verdós, que no sol contenir moc o sang. La lesió més destacable és un engruiximent de la mucosa de l'intestí prim a causa de la proliferació de les criptes (60).

*Brachyspira pilosicoli*, per la seva banda, genera una diarrea d'un color marró verdós, que pot contenir moc i sang. Les lesions es localitzen al cec i el colon i es caracteritzen per presentar un engruiximent de la mucosa i submucosa i poden existir erosions, úlceres i zones necròtiques i hemorràgiques (61). *Brachyspira murdochii* també pot generar un quadre lleu al deslletament (62).

Per altra banda, s'han detectat diverses espècies del gènere *Campylobacter* spp en femtes diarreiques, però la seva excreció també es dona en animals sans i no s'ha pogut correlacionar la seva presència amb la malaltia. Afecta principalment a animals de les maternitats, però també pot afectar a les transicions (63). No obstant això, s'ha observat que les espècies *C. hyointestinalis* i *C. sputorum* poden estar implicats en l'aparició de lesions lleus (64).

#### 4. 6. Altres agents vírics

El circovirus porcí tipus 2 (PCV-2) pot estar implicats en l'aparició de diarrea a la transició, ja que una de les lesions que causa és una enteritis granulomatosa (65). A part, es tracta d'un agent immunosupressor(66,67) i pot provocar l'afectació per patògens que no solen causar clínica com ara *Cryptosporidium parvum* (68). També s'ha vist que la seva presència es troba associada amb altres possibles agents al deslletament com PEDV (69).

Després trobem el virus de la síndrome respiratòria i reproductiva porcina (PRRS), que per si sol no és un patògen entèric, però pot provocar un desequilibri del sistema immunològic (70), facilitant i complicant la infecció per part de les soques ETEC (71).

Per altra banda, els virus de la pesta porcina africana i la pesta porcina clàssica també causen diarrees en totes les edats (72,73), però les mortalitats solen ser molt altes i no se sol confondre amb les altres causes habituals.

Finalment, trobem una sèrie de virus que es troben presents tant en animals sans com en diarreics com serien *Sapovirus*, *Kobuvirus*, *Teschovirus*, *Enterovirus G*, *Sapelovirus* o *Adenovirus* la patogenicitat dels quals encara està en estudi (74–78).

#### 4.7. Agents parasitaris

Amb el sistema de producció intensiva molts dels paràsits intestinals porcins coneguts no es poden reproduir, però que en altres condicions de cria sí que poden causar patologia, com per exemple en granges ecològiques a on s'ha descrit la presència de *Trichuris suis* i *Oesophagostomum dentatum* després del deslletament (79).

Tanmateix, la implicació de *Cystoisospora suis*, *Cryptosporidium parvum*, *Balantidium coli*, *Entamoeba spp* o *Eimeria spp* s'han descrit en la diarrea al deslletament però rarament com a patògens primaris (68,80–82).

#### 4.8 Freqüència dels diferents agents infecciosos

S'han realitzat nombrosos estudis arreu del món per conèixer les distintes prevalències de les distintes soques d'*E. coli* a la PWD, trobant que les més freqüents eren les soques ETEC (sobretot es trobaven les fimbries F4 i F18 i la toxina STb) (83–87) . Però de les freqüències d'altres agents com rotavirus no existeix tanta bibliografia, tot i que s'han trobat en freqüències altes en alguns estudis (88). Però en general se centren només en

el rotavirus A i hi ha pocs estudis sobre les espècies B i C, tot i haver-se trobat en freqüències altes quan s'han buscat (89) A part, que molts estudis es limitaven a analitzar mostres d'animals diarreics, sense tenir animals sans per comparar (81,84,90,91). I pot ésser que aquells agents no siguin estadísticament significatius per la presentació del quadre clínic. Però on hi ha el buit més gran de coneixement és en l'àmbit de les coinfeccions, ja que la majoria d'estudis només se centren en un patògen en concret i, quan es troba, es considera la causa de la diarrea, sense tenir en compte la possible presència d'altres agents. Els estudis no són recents però s'ha observat que a Cuba el patògen principal eren les soques ETEC, essent més alta la prevalença a Cuba per l'escassa cobertura vacunal i els rotavirus tenien poca importància (90). En canvi, en uns altres estudis realitzat al Japó, es va veure que el patògen més freqüent era el rotavirus A seguit de les soques ETEC (91,92). Els coronavirus postdeslletament en aquests estudis no es van trobar. A la Taula 2 es mostren les freqüències dels patògens més importants trobats en aquests estudis. Tot i això, s'ha de comentar que aquests estudis només analitzaven mostres d'animals diarreics i les mostres d'animals del postdeslletament era relativament petita (Alemanya: n=22, Japó n=96, Cuba n=45). A Espanya no s'han realitzat estudis de prevalences de patògens entèrics al postdeslletament, però sí que se s'han fet en relació a la diarrea neonatal. En aquesta línia, un estudi realitzat a Catalunya va observar que els patògens més freqüents eren els rotavirus A (únic patògen relacionat estadísticament amb la presentació de diarrea) i C i les soques ETEC estaven presents en menor nombre (30) El mateix va veure un altre estudi realitzat amb mostres de tota Espanya (93). Així, podríem pensar que les freqüències de patògens haurien de ser més semblants a les de Japó que no pas a les d'Alemanya i Cuba, però s'hauria de comprovar amb estudis de camp.

*Taula 2: Freqüències dels diferents agents infecciosos causants de la PWD*

<b>PAÍS</b>	<b>ETEC</b>	<b>ROTAVIRUS</b>	<b>CORONAVIRUS</b>	<b>REFERÈNCIA</b>
<b>CUBA</b>	22,2%	4,4%	0%	(90)
<b>JAPÓ</b>	48,96%	53,13%	0 %	Adaptat de (91)
<b>ALEMANYA</b>	5,6%	25 %	0%	Adaptat de (81)

## 5.Importància zoonòtica

A part dels problemes de caire econòmic i productiu que es poden generar per la PWD, són especialment importants diversos problemes d'importància per la salut pública. Actualment, el problema més important són les resistències antimicrobianes, però també n' existeixen d'altres.

### 5.1 Resistències antimicrobianes

Un antimicrobià és aquella substància que inhibeix el creixement o mata microorganismes amb el mínim efecte sobre les cèl·lules eucariotes. El primer descobert va ser la penicil·lina l'any 1928 i durant les dècades del 50 i 60 es van trobar moltes molècules amb capacitat antimicrobiana pertanyents a diferents famílies, que van permetre tractar moltes infeccions que abans eren letals (94). No obstant això, el seu ús (i abús) portava intrínsec l'aparició de resistències a la seva acció. Aquest fet ha portat a una situació en la qual cada vegada menys antibiòtics són útils pel tractament de les infeccions i es creu que la resistència als antibiòtics serà la primera causa de mort cap al 2050 (95).

#### 5.1.1 Mecanismes de resistència

Les resistències poden classificar-se en:

- Naturals: poden ser intrínseques (expressades sempre en el bacteri) o induïdes (el gen que confereix resistència està present en el microorganisme, però només s'expressa després d'estar exposat a l'antibiòtic) (96). Un exemple de resistència natural seria *E. coli* respecte als macròlids, que són una família d'antibiòtics que actua inhibint la síntesi proteica i per ser efectius necessiten entrar a l'interior de la cèl·lula i la paret cel·lular d'un bacteri gram-negatiu com *E. coli* redueix la permeabilitat cel·lular i impedeix la seva entrada a la cèl·lula.
- Adquirides o extrínseques: els bacteris poden adquirir material genètic, de manera temporal o permanent, o bé per mutacions genètiques o bé per transmissió horitzontal per l'acció de plasmidis, elements mòbils com integrons o transposons o bacteriòfags (97).

Pel que fa als mecanismes de resistència, existeixen cinc maneres d'evitar l'acció antibiòtica dels fàrmacs:

- Bombes d'eflux i reducció de la permeabilitat: s'evita l'entrada d'antibiòtic a la cèl·lula bacteriana i, per tant, no pot dur a terme la seva funció. Un exemple serien les bombes d'eflux que codifica el gen *TetA*, que impedeix l'entrada de les tetraciclins a la cèl·lula (98).
- Inactivació enzimàtica: a través d'un enzim es degrada la molècula activa enfront al bacteri. Un exemple en són les beta-lactamases, que inactiven l'anell beta-lactàmic i impossibiliten l'acció dels antibiòtics d'aquesta família (96).
- Modificació enzimàtica: mitjançant un enzim es modifica el lloc d'unió de l'antibiòtic o l'antibiòtic en si. Com exemples trobaríem el gen *erm*, que confereix resistència als macròlids (99) i la N-acetiltransferasa present en alguns bacteris, que els fa resistents a la kanamicina (100).
- Canvi del lloc d'unió de l'antibiòtic: es poden produir mutacions a les proteïnes on està situat el receptor del fàrmac i això impossibilitarà la seva unió i posterior acció. N'és un exemple la resistència conferida pel gen *mecA*, que codifica per una proteïna d'unió de la penicil·lina diferent, PBP-2A, que impedeix que els antibiòtics d'aquesta família s'hi puguin unir (101).
- Sobreexpressió dels receptors: si augmenten els "target" de l'antibiòtic, serà necessària una major concentració perquè aquests puguin dur a terme la seva funció. Un exemple d'aquest sistema seria el mecanisme de resistència d'*E. coli* en front a trimetoprim-sulfametoxazol (97).

### 5. 1. 2 Ús en ramaderia

L'ús dels antimicrobians en animals d'abastament es va començar a estendre als anys 50, tant per tractar infeccions com de manera profilàctica, ja que es va veure que milloraven els resultats productius i econòmics (102). No obstant això, l'ús d'antibiòtics com a promotors del creixement es va considerar un factor de risc de cara a l'aparició de resistències i la Unió Europea ho va prohibir a partir de l'any 2006 (103). Emperò, el seu ús continua essent necessari per tractar les infeccions bacterianes i s'ha vist com un major consum d'antibiòtics implica una major aparició de resistències (104,105).

Per evitar que els productes estiguin contaminats amb residus antibiòtics, existeix la llei 13/2007, de 22 de novembre, de medicaments veterinaris, que regula el temps necessari que ha de passar des del tractament fins que el producte d'origen animal en qüestió pugui ser consumit. A part, molt poques vegades s'ha pogut demostrar que els mateixos bacteris resistents que afecten als animals puguin causar malaltia en les persones (106). No obstant això, l'ús (i abús) d'antibiòtics en ramaderia sí que representa un perill per a la salut pública, ja que les femtes i els purins que s'alliberen al medi ambient (ja sigui en forma d'adob o a la depuradora) poden contenir bacteris resistents als antibiòtics i d'aquesta manera existeix la possibilitat de que puguin entrar en contacte amb els que si afecten a humans, de manera que és factible la transmissió horitzontal de gens de resistència cap als que afecten els humans (107,108).

### 5.1. 3 Resistències antimicrobianes a les transicions

En el cas de la PWD, el fet que sigui una problemàtica d'origen multifactorial i hi hagi agents bacterians implicats fa que s'utilitzin antibiòtics de manera habitual. Moltes vegades s'actua sense arribar a un diagnòstic definitiu i s'utilitzen en casos on la causa de la diarrea no sigui una bactèria. En consonància amb això, s'ha vist en diversos estudis (83,85,109) nivells alts de resistències a les transicions, essent especialment alta la presència de gens de resistència a les tetraciclins i als macròlids (tot i que aquests gens també estaven presents en animals que no havien estat tractats mai amb antibiòtics) (110) però sobretot de cara a la salut pública preocupa l'emergència de Beta-Lactamases d'Espectre Estès (BLEE) i gens de resistència a la colistina, que són especialment rellevants perquè confereixen resistència a carbapenems i a la colistina, antibiòtics d'últim recurs en medicina humana.

No obstant, també s'ha de comentar que la majoria d'estudis fets fins ara estan basats en l'estudi de les distintes soques d'*E. coli* (83,111–115), ja que és un bacteri que es troba molt habitualment i és un bon indicador. Ara bé, d'aquesta manera poden no detectar-se gens de resistència que estiguin presents en altres bacteris. Per solucionar aquest problema existeixen els estudis del resistoma (conjunt de gens de resistència presents en la microbiota intestinal), basats en la metagenòmica. S'estan començant a



fer alguns estudis en animals (116), però pel que respecta a les transicions encara no s'ha realitzat cap estudi.

#### 5.1.3.1 *Beta-lactamases*

Les beta-lactamases són uns enzims que presenten certs bacteris capaços d'hidrolitzar beta-lactàmics, cefalosporines, cefamicines i carbapenems. Ja existien abans de la invenció dels antibiòtics, però el seu ús ha fet augmentar la seva presència en els bacteris i ha possibilitat l'emergència de més tipus diferents (117). Segons la classificació de Bush i Jacoby (2010), es poden classificar en tres grups segons la seva funcionalitat (1-3) i també en 4 classes segons la seqüència aminoacídica dels enzims (A-D), essent la A i la C les que s'han trobat en més freqüència en el porcí. A la taula 3, es presenta una classificació esquematitzada.

Els enzims del grup 1 són cefalosporinases que pertanyen a la classe C i els gens que els codifiquen es troben principalment als cromosomes de bacteris de la família *Enterobacteriaceae*, tot i que també es poden trobar en certs plasmidis, com podrien ser els enzims codificats pels gens AmpC. Es relacionen amb la resistència a beta-lactàmics (inclosos també els inhibidors de les beta-lactamases com el clavulàmic), penicil·lines, cefamicines i cefalosporines de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> i 3<sup>a</sup> generació, però són sensibles a la cefepima (cefalosporina de 4<sup>a</sup> generació) i carbapenems (119). Un exemple en seria el grup d'enzims CMY. S'han detectat arreu del món. A Catalunya, se n'ha detectat la seva presència en porcs amb diarrea neonatal i postdeslletament (112).

Pel que fa als enzims del grup 2, a la seva estructura presenta una serina i acostumen a estar localitzats a plasmidis, la qual cosa facilita la seva transmissió horitzontal. Les classes A i D pertanyen a aquest grup.

Dintre de la classe A, trobem les beta-lactamases d'especte estès (BLEE), que la seva prevalença en els darrers anys ha augmentat molt i són capaces d'hidrolitzar cefalosporines de 3<sup>a</sup> i 4<sup>a</sup> generació i monobactàmics com l'aztreonam (120). A part, també es relacionen amb un increment de les resistències a aminoglicòsids i cotrimoxazole, perquè el mateix plasmidi que conté els gens que codifiquen per les distintes BLEE també conté gens que confereixen resistència cap aquests antibiòtics (119). També s'ha relacionat una major presència de gens de resistència a les quinolones

en bacteris productors de BLEE, però no es coneix amb certesa el mecanisme de coresistència (121).

*Taula 3: Classificació de les beta-lactamases*

	Grup	Classe	Exemples de famílies	de	Exemples de gens de resistència
<b>Cefaloporinases</b>	1	C	CMY		CMY-1, CMY-2
<b>Serine beta-lactamases</b>	2	A	TEM, SHV, CTX-M		TEM-50, SHV-1, CTX-M-15
	3	D	OXA		OXA-3, OXA-48
<b>Metallo beta-lactamases</b>	4	B	VIM, IMP, NDM		VIM-1, IMP-1, NDM-1, NDM-4

Els tipus de BLEE més comuns són SHV, TEM i CTX-M. Inicialment existien els gens TEM-1 i SHV-1, que conferien resistència a les penicil·lines i a les cefalosporines de 1<sup>a</sup> i 2<sup>a</sup> generació, però eren sensibles a les cefalosporines de 3<sup>a</sup> generació i als carbapenems. Però a partir de mutacions d'aquests gens, van aparèixer nous gens, com ara TEM-2 capaços de també hidrolitzar les cefalosporines de 3<sup>a</sup> i 4<sup>a</sup> generació i els monobactàmics (119). Pel que fa al grup CTX-M, no es coneixen mutacions que hagin donat el seu origen i va ser identificat per primer cop en plasmidis de cromosomes de *Kluyvera spp* (115). Els grups més comuns eren SHV i TEM, però en els últims anys CTX-M ha esdevingut el més habitual (117).

Així, quan s'han estudiat els porcs a les transicions, s'han trobat bacteris productors de BLEE a diversos països com la Xina (122), Índia (83), Suïssa (123), Itàlia (113) o la República Txeca (124). A Espanya, i en concret a Catalunya, també s'han trobat en porcs amb problemes de diarrea a transicions i maternitats (111,112). Sobretot s'han trobat enzims del grup CTX-M, amb unes prevalences que rondaven el 20 %.

Per acabar amb les beta-lactamases del grup 2, també existeix la classe D. Els enzims pertanyents a aquesta classe confereixen resistència a les penicil·lines, cefalosporines de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> i 4<sup>a</sup> generació i als carbapenems. Els enzims tipus OXA serien un exemple d'aquesta classe. La seva emergència genera greus problemes als hospitals (125), però afortunadament és molt estrany trobar-los en els porcs, tot i que en algun casos s'ha detectat (126).

Finalment, també existeixen les beta-lactamases del grup 3, conegudes com metal·lo-beta-lactamases, que conformen la classe B. Alguns exemples serien els grups NDM, IMP o VIM. Es caracteritzen molecularment per tenir una o dues molècules de zinc en el seu lloc actiu. Confereixen resistència a tots els beta-lactàmics, excepte els monobactàmics (127). En els porcs no són gens habituals, però sí que s'han trobat plàsmids que contenien enzims del grup NDM a la Xina (128) i a la Índia (129).

#### *5.1.3.2 Gens de resistència a la colistina*

La colistina és un antibiòtic de la família de les polimixines que presenta activitat principalment davant microorganismes gram-negatius. Està disponible pel tractaments d'infeccions des de l'any 1959, tot i que en medicina humana es va deixar d'utilitzar a causa de la seva toxicitat renal. Però l'emergència de bacteris multiresistents en els últims anys ha fet que augmenti el seu ús i sigui considerat com a antibiòtic d'última opció per bacteris gram-negatius multiresistents (130).

Per altra banda, en producció porcina, la colistina ha estat àmpliament utilitzada, especialment al deslletament per tractar infeccions bacterianes intestinals. No genera efectes secundaris, perquè la seva absorció és baixa quan s'administra via oral (normalment es dona via pinso) i el seu efecte es limita a l'intestí (131).

En principi només se sabia que la resistència a la colistina venia donada per mutacions cromosòmiques, que impossibilitaven la transmissió horitzontal d'aquests gens i el risc per la salut pública derivat de l'ús en animals de colistina en animals de cara a l'aparició de bacteris resistents que afectessin als humans era baix. Però, l'any 2016 es va descobrir en porcs un plasmidi que contenia el gen MCR-1, que conferia resistència a la colistina (132). Actualment, se'n coneixen cinc gens que codifiquen per la resistència a la colistina: MCR-1, MCR-2, MCR-3, MCR-4 i MCR-5 (133)

El fet de que el gen estiguin localitzats en un plasmidi permet la seva transmissió horitzontal a altres bacteris que poden afectar a humans i, d'aquesta manera, adquireixen resistència a un antibiòtic d'última opció. Això ha fet que l'ús d'aquest antibiòtic en producció animal esdevingui un problema de salut pública. Arran d'això l'Agència Europea del Medicament (EMA) indicà un límit d'ús en animals d'abastament i deixant-ho com a última opció de tractament (134). Així a Espanya es va posar en marxa

el “Programa Reduce Colistina”, que tenia per objectiu reduir el consum de colistina per davall de 5mg/PCU abans del 2018 (Unitat Correctora de Població, en anglès “Population Correction Unit”), que ha tingut èxit i ha fet que el seu ús es reduís un 97% (135) i s’ha vist com la mesura ha reduït la presència de gens de resistència en porcs de granges amb problemes de diarrea (136).

Pel que fa a la presència dels gens de resistència a les transicions d’Espanya, s’han detectat en dos estudis (112,137) que van estudiar les mostres d’individus amb diarrea. García-Meniño et al. (2018) van observar que el gen més prevalent era mcr-1 amb un prevalença del 25,6%. Aguirre et al. (2020), per la seva banda, van trobar com a gen més freqüent MCR-4, amb un prevalença del 13%, seguit de MCR-1 amb una prevalença del 7%. De tota manera, la freqüència d’aquests gens al conjunt de les transicions podria ser menor perquè s’ha observat que els animals diarreics tenen prevalences superiors dels gens de resistència a la colistina que els sans (138) i aquests estudis només observaven porcs que presentessin diarrea.

## 5.2 Altres problemes de salut pública

Les resistències antimicrobianes a les transicions són actualment el problema més greu per la salut pública, però no són l’únic que podem trobar.

La salmonel·losi és una de les causes més importants de diarrea infecciosa arreu del món. En l’informe de l’EFSA i l’ECDC del 2018 sobre les zoonosis alimentàries més freqüents, la salmonel·losi apareixia com a segona malaltia més freqüent només per darrere la campilobacteriosi (139).

Com ja s’ha comentat, el serovar *Salmonella typhimurium* pot ser un dels causants de la PWD, tot i que sigui més freqüent als engreixos. A més, encara que moltes vegades els individus siguin asimptomàtics, quan els animals pateixen un estrès com el deslletament, s’incrementa l’excreció al medi de patogen (140). A part, tot i que en prevalences menors que als engreixos, també podem trobar el fagotip DT104 a les transicions (141), que es relaciona amb el fet de ser un bacteri multirresistent (normalment resistent a l’ampicil·lina, el cloranfenicol, l’estreptomicina, les sulfonamides i les tetraciclins) (142). Així, *Salmonella* spp esdevé un risc de salut

pública tant pels treballadors de la granja com pels consumidors a causa de de possibles contaminacions de les canals.

També trobem a les transicions diverses soques d'*E. coli* verotoxigènic (VTEC) que formen part del subgrup d' *E. coli* enterohemorràgic (EHEC). El seu mecanisme de patogènia es basa en la combinació de l'acció de les toxines VT1 i VT2 i el mecanisme d'A/E, explicats anteriorment, que provoca que les lesions siguin més greus i moltes vegades s'observin hemorràgies a l'intestí (143) . Podem trobar diversos serotips, entre els quals destaca l' *E. coli* O157:H7, que en les persones s'ha associat amb casos de diarrea hemorràgica i de la síndrome urèmica hemolítica i que ha causat diversos brots al llarg de la història tant en aliments vegetals contaminats com la lletuga (144) o la carn picada (145). No obstant això, s'ha de comentar que la prevalença en l'espècie porcina d'aquest serotip és baixa i es considera que els reservoris són els remugants (1).

Un altre agent que pot tenir importància zoonòtica són els rotavirus. Tot i que històricament s'havia pensat que eren específics d'espècie, s'ha vist que la recombinació entre rotavirus de distintes espècies és possible i que rotavirus que afecten a espècies animals poden afectar als humans (146,147) Pel que fa a l'espècie porcina, s'ha vist que Rotavirus A sí que pot afectar als humans, però per B i C no s'ha pogut demostrar el seu potencial zoonòtic. A part, els genotips G9 i G12, emergents en l'espècie humana, s'ha vist que tenen el seu origen en les recombinacions de rotavirus porcins (39). Així, els rotavirus poden esdevenir un risc pels treballadors de la granja.

Per acabar, s'ha d'esmentar un altre patogen que, tot i no ser habitual després del deslletament, també pot estar present a les transicions com és *Clostridiodes difficile*, que ocasiona greus problemes de resistència als antibiòtics en ambients hospitalaris. *C. difficile*, en l'espècie porcina, genera un quadre de diarrea sobretot les dues primeres setmanes de vida (30), però que, tot i estar en prevalences bastant baixes ja que disminueix amb l'edat dels animals, també s'ha trobat a les transicions (148). El ribotip present és el 078, que també afecta a les persones, i Knetsch et al. (2014), després de seqüenciar els bacteris de treballadors de granja i els porcs, van veure que ambdós compartien els mateixos bacteris, per la qual cosa es confirmava que el risc de transmissió cap als humans és possible. A més, també s'ha observat que viure més a prop de granges porcines augmentava el risc de ser portador de *C. difficile* (150).

## 6. Possibles solucions

Podem concloure que la resistència als antimicrobians és, actualment, el problema de salut pública més important, així que s'han de buscar solucions de cara a fer minvar la situació. S'ha comprovat que la reducció del consum d'antibiòtics és una mesura efectiva de cara a reduir el nivell de resistències (114,151), així que s'ha d'avançar en aquesta línia. Però els antibiòtics no poden deixar-se d'utilitzar en el cas que hi hagi infeccions on siguin necessaris, ja que això causaria pèrdues econòmiques i una disminució del benestar animal, per això s'han de cercar altres solucions.

En primer lloc, una mesura destinada a reduir l'ús d'antibiòtics és la millora de la bioseguretat per evitar l'entrada de patògens a l'explotació. S'ha observat que millores en la bioseguretat interna, sobretot millores en la neteja, redueixen la presència de BLEE en porcí, ja que disminueix el consum de fàrmacs (a causa d'una disminució de la pressió infectiva, que es tradueix en menys infeccions) (152), però en altres estudis també s'ha observat que quan es corregia per l'ús d'antibiòtics una millor bioseguretat interna anava associada amb un increment de la resistència a les tetraciclins i als macròlids (153), explicat per un major ús de productes biocides que s'ha vist que poden afavorir fenòmens de corresponsència cap a determinats antibiòtics (154), per la qual cosa és necessari investigar en altres biocides que no afavoreixin la presència de nous gens de resistència.

També relacionat amb la idea de reduir el consum de fàrmacs, està la necessitat de millorar i accelerar el diagnòstic dels agents infecciosos implicats, per això nous kits de detecció ràpida de virus i soques ETEC i EPEC han de ser desenvolupats. A part, també seria molt interessant disposar de kits ràpids de detecció de resistències per tal de poder enfocar millor els tractaments.

En segon lloc, si es millora la immunitat dels animals contra els patògens, hi haurà un menor nombre d'infeccions i el consum d'antibiòtics es reduirà. La principal mesura en aquesta línia és aplicar un protocol de vacunació adequat. La PWD moltes vegades es dona perquè en el moment de deslletament es produeix una caiguda de la immunitat maternal. Per evitar-ho es poden administrar vacunes abans del deslletament, però no estan disponibles per a tots els patògens.

En el cas de les soques ETEC estan disponibles una vacunes vives que es poden administrar en l'aigua els dies anteriors al deslletament que s'han demostrat efectives (155), però per les soques EPEC no està disponible.

A part, també que els animals gaudeixin d'una bona immunitat contra patògens no bacterians, ja que, com ja s'ha comentat, moltes vegades no s'arriba a un diagnòstic definitiu i es tracta amb antibiòtics quan el seu ús no està indicat. En el cas de Rotavirus A, sí que existeixen vacunes, però no estan disponibles a Espanya i s'han d'importar dels Estats Units. En aquest cas, per ser efectives, a part de la dosi oral, també es requereix una dosi intramuscular. Per les altres espècies de rotavirus no existeixen vacunes. Finalment, per l'altre patogen viral més freqüent, el DEPV, no existeixen vacunes pels garrins, però sí per les mares, tot i que no és habitual utilitzar-les.

A més a més, de cara a disminuir el consum d'antibiòtics, la millora de les instal·lacions és una intervenció efectiva, ja que augmenta el benestar dels animals i disminueix l'estrès i, en conseqüència, redueix la incidència de PWD (17).

Per altra banda, l'ús d'anticossos contra les fímbríes d' *E. coli* del rovell de l'ou i de plasma sec s'han proposat com a alternatives per estimular la immunitat (156,157), però es necessita més recerca sobre el tema.

Tot i no ser un element immunitzant, una altra alternativa per impedir infeccions pels patògens bacterians són els àcids orgànics, com el butíric o el fòrmic, que tenen utilitat perquè una de les causes predisposant de la PWD és la basificació del pH de l'estómac, que possibilita que més bacteris puguin arribar a l'intestí i els àcids orgànics disminueixen el pH fins a nivells habituals (9). No obstant això, encara es necessita més recerca en aquest camp ja que no se sap en certesa quina és la combinació d'àcids que dona resultats positius perquè en alguns estudis s'ha vist tant que té efecte (158,159) com no (158). En aquesta línia també podríem classificar la selecció de porcs resistents als ETEC, com ja s'ha explicat anteriorment.

En tercer lloc, també existeixen mesures encaminades a millorar la salut intestinal. Existeix una hipòtesi bastant acceptada sobre que la PWD és causada per la disbiosi produïda després del deslletament(160), on es produeix una disminució de *Lactobacillus* i *Escherichia*, que provoca una disrupció de la fisiologia intestinal i facilita la colonització per part de bacteris patògens. Així, es busquen alternatives per tal de restablir la

presència dels bacteris beneficiosos per la salut intestinal, disminuir la incidència de diarrea i de retruc reduir el consum d'antibiòtics.

Una de les mesures utilitzades són els probiòtics: microorganismes (tant bacteris com fongs) viables que, quan s'ingereixen en quantitat suficient, arribaran a l'intestí essent actius i podrà exercir efectes positius sobre l'estat de salut de l'hoste (161). S'ha comprovat que diferents probiòtics formats per *Clostridium butyricum* (162), *Bacillus spp* (163), *Lactobacillus spp* (164) o *Enterococcus faecium* (165). No obstant, tot i que els probiòtics són efectius per reduir l'ús d'antibiòtics, no són l'eina definitiva per acabar amb les resistències, ja que s'ha observat que els bacteris beneficiosos utilitzats també poden contenir gens de resistència als antibiòtics (166).

Una altra opció per millorar la salut intestinal són els prebiòtics: ingredients dietètics fermentats selectivament que permeten canvis específics tant en la composició com en l'activitat de la microbiota que confereixen un efecte fisiològic beneficiós a l'hoste. Els més habituals són oligosacàrids com els fructooligosacàrids (FOS) o els galactooligosacàrids (GOS), que s'ha vist que incrementen la proporció de bacteris del gènere *Lactobacillus* (160).

A part, existeixen tot un seguit d'intervencions nutricionals, com ara baixar els nivells de proteïna o augmentar l'ús de midó, explicats anteriorment, que contribueixen a millorar la salut intestinal. Però també poden utilitzar-se additius amb la dieta com ara proteases o nucleòtids (com inulina), que s'ha vist que poden ajudar a prevenir la PWD (167).

En quart lloc, també existeixen alternatives terapèutiques per substituir els antibiòtics. Destaca entre elles l'ús de bacteriòfags, que són virus que ataquen específicament a bacteris. Poden resultar especialment útils perquè són molt específics i només afecten al bacteri seleccionat, sense tenir impacte sobre la resta de la microbiota. A part, també es podrien crear per tal d'afectar només aquells bacteris que posseeixin gens de resistència, pel que serien útils per reduir la presència de bacteris multiresistents (168) La seva eficàcia ja estat provada en per tractar soques ETEC a la transició (169), però el seu ús de moment no és habitual.

Després, també trobem el zinc, que s'ha estat utilitzant durant molts d'anys, perquè, a banda de la seva acció antimicrobiana, també té efecte antiinflamatori (útil per quan la PWD no té cap causa infecciosa) i augmenta el guany de pes diari (170). No obstant això,



el seu ús és perjudicial no tan sols pels seus efectes ambientals (171), sinó també pel fet que s'ha observat que pot generar l'aparició de bacteris multirresistents (172).

Els olis essencials també s'han proposat com a mètode efectiu per reduir la incidència de PWD (173). Són una mescla de diferents compostos volàtils orgànics obtinguts de diverses plantes amb activitat antibacteriana, antiviral i antioxidant (160). No obstant això, no estan molt clars els mecanismes d'acció i els principis actius implicats, per la qual cosa es necessita més recerca (174).

També s'està fent recerca sobre altres alternatives com serien l'ús de la tecnologia CRISPR, pèptids antimicrobians o nanoantibiòtics, però encara s'estan investigant (168). Per altre banda, també s'està investigant quins antibiòtics tenen menor impacte sobre el resistoma (175), però de moment encara no s'estan centrant en la PWD .

Finalment, també existeixen es necessiten alternatives per limitar l'impacte de les residus amb els gens de resistència a l'ambient, ja que s'ha vist que els gens de resistència també poden estar presents en el medi ambient i en la fauna salvatge (176). S'ha vist com el compostatge pot reduir de manera significativa la freqüència alguns gens de resistència (177), però altres estudis han vist que feien l'efecte contrari i veien un augment dels gens (178). En aquesta línia, es necessita més informació sobre les condicions de temperatura i humitat en què s'ha de donar el compostatge.

Una mesura que s'ha demostrat més eficient és la conversió de les femtes en "biochars" (carbó vegetals o biocarbó), que també poden ser utilitzats en fertilitzants, però aquesta mesura necessita de més maquinària (179).

Així, com a resum de les possibles solucions, podríem dir que, com que la PWD és un problema multifactorial, la disminució de les resistències als antibiòtics generades en aquest moment productiu també té múltiples solucions, però cap d'elles és perfecta. No obstant això, la coordinació de diferents mesures de diferents àmbits pot ser el camí de cara a solucionar la problemàtica.

## 7. Conclusions

La PWD és un problema multifactorial, predisposat per una circumstància estressant pel garrí com és el deslletament, on els agents infecciosos principals són les soques ETEC i els rotavirus porcins, que no només origina problemes productius, sinó que també se'n deriven conseqüències per la salut pública, on destaca amb especial força l'emergència

de gens de resistència a antibiòtics d'última generació, com són les BLEEs o els gens de resistència a la colistina, que es poden transferir a bacteris que poden afectar l'espècie humana.

Per tal de fer front a aquesta problemàtica, és necessari reduir l'ús d'antibiòtics i s'ha de fer amb alternatives que impedeixin la infecció amb els patògens (com són millores en la neteja i la bioseguretat), millorin la immunitat i/o la salut intestinal dels garrins (destaquen l'ús de vacunes i probiòtics) o buscant altres opcions terapèutiques com els bacteriòfags, sense deixar de pensar en mesures que puguin reduir l'impacte en l'ambient, com són el compostatge o la conversió en "biochars". Així, podem concloure que el fet de tenir una problemàtica multifactorial ens permet l'oportunitat, però també el repte de donar una resposta des de múltiples camps.

## 8. Bibliografia:

1. Uzal FA, Plattner BL, Hostetter JM. Alimentary system. En: Maxie G, editor. Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals Volume Two. Sixth. St. Louis : Missouri: Elsevier; 2016. 1-258.
2. Thomson JR, Friendship RM. Digestive system. En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, editors. Diseases of swine. 11th ed. 2019. 234-63.
3. Sjölund M, Zoric M, Wallgren P. Financial impact on pig production: III. Gastrointestinal disorders. En: European Symposium of Porcine Health Management. 2014. 7-9.
4. Moeser AJ, Klok C Vander, Ryan KA, Wooten JG, Little D, Cook VL, et al. Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007;292:173-81.
5. van Beers-Schreurs HMG, Nabuurs MJA, Vellenga, L, Valk HJK der, Wensing T, Breukink HJ. Weaning and the Weanling Diet Influence the Villous Height and Crypt Depth in the Small Intestine of Pigs and Alter the Concentrations of Short-Chain Fatty Acids in the Large Intestine and Blood. *J Nutr.* 1998;128(6):947-53.
6. Lalles JP. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. *Proc Nutr Soc.* 2007 [citat 11 maig 2020];66(2):260.
7. Castillo M, Martín-Orúe SM, Nofrarías M, Manzanilla EG, Gasa J. Changes in caecal

- microbiota and mucosal morphology of weaned pigs. *Vet Microbiol.* 6 octubre 2007;124(3-4):239-47.
8. Wang X, Tsai T, Deng F, Wei X, Chai J, Knapp J, et al. Longitudinal investigation of the swine gut microbiome from birth to market reveals stage and growth performance associated bacteria. *Microbiome.* 2019;7(1).
  9. Heo JM, Opapeju FO, Pluske JR, Kim JC, Hampson DJ, Nyachoti CM. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: A review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 2013;97(2):207-37.
  10. Moeser AJ, Pohl CS, Rajput M. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: Implications for lifelong gut health in pigs. *Anim Nutr.* 2017;3(4):313-21.
  11. Tucker AL, Widowski TM, Friendship RM, Abvp D, Tucker A. Associations between dental and oral conditions at weaning and future growth. *J Swine Health Prod.* 2010. 18:35-39
  12. Gao J, Yin J, Xu K, Li T, Yin Y. What Is the Impact of Diet on Nutritional Diarrhea Associated with Gut Microbiota in Weaning Piglets: A System Review. Song D, editor. *Biomed Res Int.* 2019;2019:69161-89.
  13. Dréau D, Lallès JP, Philouze-Romé V, Toullec R, Salmon H. Local and systemic immune responses to soybean protein ingestion in early-weaned pigs. *J Anim Sci.* 1994;72(8):2090-8.
  14. John Carr, Shih-Ping Chen, Joseph F. Conner, Roy Kirkwood JS. *Pig health.* Boca Raton, FL : CRC Press, Taylor & Francis Group,; 2018. 12-59 .
  15. Müller LKF, Paiano D, Gugel J, Lorenzetti WR, Santurio JM, de Castro Tavernari F, et al. Post-weaning piglets fed with different levels of fungal mycotoxins and spray-dried porcine plasma have improved weight gain, feed intake and reduced diarrhea incidence. *Microb Pathog.* 2018;117:259-64.
  16. Laine TM, Lytikäinen T, Yliaho M, Anttila M. Risk factors for post-weaning diarrhoea on piglet producing farms in Finland. *Acta Vet Scand.* 2008;50(1):1-11.
  17. Rhouma M, Fairbrother JM, Beaudry F, Letellier A. Post weaning diarrhea in pigs: Risk factors and non-colistin-based control strategies. Vol. 59, *Acta Veterinaria Scandinavica.* BioMed Central Ltd.; 2017. 19;59(1):31

18. Niekamp, S.R., Sutherland, M. A., Dahl, G.E., Salak-Johnson JL. Immune responses of piglets to weaning stress: Impacts of photoperiod. *J Anim Sci.* 2007;85(1).
19. Fairbrother JM, Gyles CL. Colibacillosis. En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, editors. *Diseases of swine.* 11th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2019. 723-49.
20. Luppi A. Swine enteric colibacillosis: Diagnosis, therapy and antimicrobial resistance. *Porcine Health Management.* BioMed Central Ltd.; 2017. 3:16
21. Carlson SA, Barnhill AE, Griffith RW. Salmonellosis. En: Zimmerman JJ, Karricker, editors. *Diseases of swine.* 11th ed. Ames, Iowa; 2019. p. 821-33.
22. Dubreuil JD. EAST1 toxin: An enigmatic molecule associated with sporadic episodes of diarrhea in humans and animals. Vol. 57, *Journal of Microbiology.* Microbiological Society of Korea; 2019. 541-9.
23. Fairbrother JM, Nadeau É, Gyles CL. *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim Heal Res Rev.* 2005;6(1):17-39.
24. Sterndale SO, Miller DW, Mansfield JP, Kim JC, O’Dea M, Pluske JR. Technical note: Novel delivery methods for an enterotoxigenic *Escherichia coli* infection model in MUC4-locus sequenced weaner pigs. *J Anim Sci.* 4 novembre 2019;97(11):4503-8.
25. Bao [, Ye W-B, Pan L, Zhu Z-Y, Zhu J, Huang G-Q, et al. Beneficial genotype of swine FUT1 gene governing resistance to *E. coli* F18 is associated with important economic traits. 2011. 90(2):315-8
26. Kopic S, Geibel JP. Toxin mediated diarrhea in the 21spi<sub>1</sub> supstspii<sub>1</sub> sup century: The pathophysiology of intestinal ion transport in the course of ETEC, V. Cholerae and rotavirus infection. *Toxins (Basel).* 2010;2(8):2132-57.
27. Gonçalves C, Berthiaume F, Mourez M, Dubreuil JD. *Escherichia coli* STb toxin binding to sulfatide and its inhibition by carragenan. *FEMS Microbiol Lett.* 2008;281(1):30-5.
28. Dubreuil JD, Isaacson RE, Schifferli DM. Animal Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *EcoSal Plus.* 2016;7(1).
29. Zajacova ZS, Konstantinova L, Alexa P. Detection of virulence factors of *Escherichia coli* focused on prevalence of EAST1 toxin in stool of diarrheic and

- non-diarrheic piglets and presence of adhesion involving virulence factors in astA positive strains. *Vet Microbiol.* 2012; 154(3-4):369-75
30. Vidal A, Martín-Valls GE, Tello M, Mateu E, Martín M, Darwich L. Prevalence of enteric pathogens in diarrheic and non-diarrheic samples from pig farms with neonatal diarrhea in the North East of Spain. *Vet Microbiol.* 2019;237:108419.
  31. Zhang W. Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains recently isolated from young pigs with diarrhea in the US. *Vet Microbiol.* 2007;123:145.
  32. Dubreuil JD. EAST1 toxin: An enigmatic molecule associated with sporadic episodes of diarrhea in humans and animals. *J Microbiol.* 2019;57(7):541-9.
  33. Farfán-García AE, Ariza-Rojas SC, Vargas-Cárdenas FA, Vargas-Remolina LV. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Rev Chil infectología.* 2016;33(4):438-50.
  34. Fröhlicher E, Krause G, Zweifel C, Beutin L, Stephan R. Characterization of attaching and effacing *Escherichia coli* (AEEC) isolated from pigs and sheep. *BMC Microbiol.* 2008;8:1-6.
  35. Ercoli L, Farneti S, Zicavo A, Mencaroni G, Blasi G, Striano G, et al. Prevalence and characteristics of verotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from pigs and pork products in Umbria and Marche regions of Italy. *Int J Food Microbiol.* 2016;232:7-14.
  36. Ho WS, Tan LK, Ooi PT, Yeo CC, Thong KL. Prevalence and characterization of verotoxigenic-*Escherichia coli* isolates from pigs in Malaysia. *BMC Vet Res.* 2013;9(109).
  37. Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11(3):450-79.
  38. Endo Y, Tsurugi K, Yutsudo T, Takeda Y, Ogasawara T, Igarashi K. Site of action of a Vero toxin (VT2) from *Escherichia coli* O157:H7 and of Shiga toxin on eukaryotic ribosomes: RNA N-glycosidase activity of the toxins. *Eur J Biochem.* 1988;171(1-2):45-50.
  39. Vlasova AN, Amimo JO, Saif LJ. Porcine rotaviruses: Epidemiology, immune responses and control strategies. *Viruses.* 2017;9(3):1-27.
  40. Matthijnssens J, Ciarlet M, McDonald SM, Attoui H. NIH Public Access. 2012;156(8):1397-413.

41. Chang K-O, Saif LJ, Kim Y. Reoviruses (Rotaviruses and Reoviruses). En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, editors. Diseases of swine. 11th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2019. 621-33.
42. Rodríguez J, Luque D. Structural Insights into Rotavirus Entry. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1215:45-68.
43. Dickman KG. Rotavirus alters paracellular permeability and energy metabolism in Caco-2 cells. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 2000 [;279(4) 42-4.
44. Estes MK, Kang G, Zeng CQY, Crawford SE, Ciarlet M. Pathogenesis of rotavirus gastroenteritis. *Novartis Found Symp.* 2001;238:82-100.
45. Decaro N, Lorusso A. Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses. Vol. 244, *Veterinary Microbiology.* 2020. 1086-93.
46. Fang Li. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol.* 2017;3(1):237-61.
47. Malik YA. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *Malays J Pathol.* 2020;42(1):3-11.
48. Siu KL, Kok KH, Ng MHJ, Poon VKM, Yuen KY, Zheng BJ, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus M protein inhibits type I interferon production by impeding the formation of TRAF3·TANK·TBK1/IKKε complex. *J Biol Chem.* 2009;284(24):16202-9.
49. Lee C. Porcine epidemic diarrhea virus: An emerging and re-emerging epizootic swine virus. *Virol J.* 2015;12(1):1-16.
50. Vlasova AN, Wang Q, Jung K, Langel SN, Malik YS, Saif LJ. Porcine Coronaviruses. En: *Emerging and Transboundary Animal Viruses.* 2020. 79-110.
51. Lin C-M, Gao X, Oka T, Vlasova AN, Esseili MA, Wang Q, et al. Antigenic Relationships among Porcine Epidemic Diarrhea Virus and Transmissible Gastroenteritis Virus Strains. *J Virol.* 2015;89(6):3332-42.
52. EFSA. Scientific Opinion on porcine epidemic diarrhoea and emerging porcine deltacoronavirus. *EFSA Journal.* 2014 (12).
53. Valkó A, Bálint Á, Bozsa Á, Cságola A. Prevalence of antibodies against transmissible gastroenteritis virus (TGEV) in Hungary. *Vet Anim Sci [Internet].* 2019;7:1000-42.
54. Chen F, Knutson TP, Rossow S, Saif LJ, Marthaler DG. Decline of transmissible

- gastroenteritis virus and its complex evolutionary relationship with porcine respiratory coronavirus in the United States. *Sci Rep* . 2019;9(1):1-11.
55. Saif LJ, Pensaert MB, Sestak K, Yeo S-G, Jung K. Coronaviruses. En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, editors. *Diseases of swine*. 11th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2019. 501-24.
  56. Fossi M, Ahlsten K, Pohjanvirta T, Anttila M, Kokkonen T, Jensen TK, et al. Neither hippurate-negative *Brachyspira pilosicoli* nor *Brachyspira pilosicoli* type strain caused diarrhoea in early-weaned pigs by experimental infection. *Acta Vet Scand*. 2005;46(4):257-67.
  57. Arnold M, Crienen A, Swam H, Von Berg S, Jolie R, Nathues H. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in pig herds in different European countries. *Porc Heal Manag*. 2019;5(1):1-11.
  58. Mateu EM, Martin M, Darwich L, Mejía W, Fría N, García Peña FJ. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* strains isolated from swine in Catalonia, Spain. *Vet Rec*. 2002;150(5):147-50.
  59. Asai T, Otagiri Y, Osumi T, Namimatsu T, Hirai H, Sato S. Isolation of *Salmonella* from diarrheic feces of pigs. *J Vet Med Sci*. 2002;64(2):159-60.
  60. Vannucci FA, Gebhart CJ, McOrist S. Proliferative Enteropathy. En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, editors. *Diseases of swine*. 11th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2019. 898-911.
  61. Hampson DJ, Burrough ER. Swine Dysentery and *Brachyspiral* colitis. En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, editors. *Diseases of swine*. 11th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2019. 951-70.
  62. Jensen TK, Christensen AS, Boye M. *Brachyspira murdochii* colitis in pigs. *Vet Pathol*. 2010;47(2):334-8.
  63. Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W. Diseases of the Alimentary Tract: Nonruminant. En: *Veterinary Medicine*. 2017.175-435.
  64. Chang K, Kurtz HJ, Ward GE, Gebhart CJ. Immunofluorescent demonstration of *Campylobacter hyointestinalis* and *Campylobacter sputorum* subsp *mucosalis* in swine intestines with lesions of proliferative enteritis. *Am J Vet Res*. 1984;45(4):703-10.
  65. Segalés J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and

- laboratory diagnosis. *Virus Res.* 2012;164(1-2):10-9.
66. Darwich L, Mateu E. Immunology of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Res.* 2012;164(1-2):61-7.
  67. Darwich L, Segalés J, Mateu E. Pathogenesis of postweaning multisystemic wasting syndrome caused by Porcine circovirus 2: An immune riddle. *Arch Virol.* 2004;149(5):857-74.
  68. Núñez A, McNeilly F, Perea A, Sánchez-Cordón PJ, Huerta B, Allan G, et al. Coinfection by *Cryptosporidium parvum* and porcine circovirus type 2 in weaned pigs. *J Vet Med Ser B.* 2003;50(5):255-8.
  69. Guo Z, Ruan H, Qiao S, Deng R, Zhang G. Co-infection status of porcine circoviruses (PCV2 and PCV3) and porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in pigs with watery diarrhea in Henan province, central China: Co-infection of PCV2, PCV3 and PEDV. *Microb Pathog.* 2020;142:1040-47.
  70. Darwich L, Díaz I, Mateu E. Certainties, doubts and hypotheses in porcine reproductive and respiratory syndrome virus immunobiology. *Virus Res.* 2010;154(1-2):123-32.
  71. Nakamine M, Kono Y, Abe S, Hoshino C, Shirai J, Ezaki T. Dual Infection with Enterotoxigenic *Escherichia coli* and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Observed in Weaning Pigs that Died Suddenly. *J Vet Med Sci.* 1998;60(5):555-61.
  72. Kirkland PD, Potier M Le, Finlaison D. Pestiviruses. En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, editors. *Diseases of swine.* 11th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2019. 622-40.
  73. Sánchez-Vizcaíno JM, Laddomada A, Arias ML. African Swine Fever Virus. En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, editors. *Diseases of swine.* 11th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2019. 443-52.
  74. Leme RA, Silva DR, Lorenzetti E, Moraes DA, Alfieri AF, Alfieri AA. Longitudinal survey of Teschovirus A, Sapelovirus A, and Enterovirus G fecal excretion in suckling and weaned pigs. *Brazilian J Microbiol.* 2019;50(1):321-7.
  75. Nagai M, Wang Q, Oka T, Saif LJ. Porcine sapoviruses: Pathogenesis, epidemiology, genetic diversity, and diagnosis. *Virus Res.* 2020;286:198025
  76. Jackova A, Sliz I, Mandelik R, Salamunova S, Novotny J, Kolesarova M, et al.



- Porcine kobuvirus 1 in healthy and diarrheic pigs: Genetic detection and characterization of virus and co-infection with rotavirus A. *Infect Genet Evol.* 2017;49:73-7.
77. Benfield DA, Hesse RA. Adenoviruses. En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, editors. *Diseases of swine*. 11th ed. Wiley-Blackwell; 2019. p. 438-42.
  78. Cortey M, Díaz I, Vidal A, Martín-Valls G, Franzo G, Gómez De Nova PJ, et al. High levels of unreported intraspecific diversity among RNA viruses in faeces of neonatal piglets with diarrhoea. *BMC Vet Res.* 2019;15(1):1-13.
  79. Mejer H, Roepstorff A. Oesophagostomum dentatum and Trichuris suis infections in pigs born and raised on contaminated paddocks. *Parasitology.* 2006;133(3):295-304.
  80. Komatsu T, Matsubayashi M, Murakoshi N, Sasai K, Shibahara T. Retrospective and histopathological studies of Entamoeba spp. and other pathogens associated with diarrhea and wasting in pigs in Aichi Prefecture, Japan. *Japan Agric Res Q.* 2019;53(1):59-67.
  81. Wieler LH, Illieff A, Herbst W, Bauer C, Vieler E, Bauerfeind R, et al. Prevalence of Enteropathogens in Suckling and Weaned Piglets with Diarrhoea in Southern Germany. *J Vet Med Ser B.* 2008;48(2):151-9.
  82. Martineau GP, Del Castillo J. Epidemiological, clinical and control investigations on field porcine coccidiosis: Clinical, epidemiological and parasitological paradigms? *Parasitol Res.* 2000;86(10):834-7.
  83. VinodhKumar OR, Singh BR, Sinha DK, Pruthvishree BS, Tamta S, Dubal ZB, et al. Risk factor analysis, antimicrobial resistance and pathotyping of Escherichia coli associated with pre- and post-weaning piglet diarrhoea in organised farms, India. *Epidemiol Infect.* 2019;147.
  84. Renzhammer R, Loncaric I, Roch FF, Pinior B, Käsbohrer A, Spargser J, et al. Prevalence of virulence genes and antimicrobial resistances in e. Coli associated with neonatal diarrhea, postweaning diarrhea, and edema disease in pigs from Austria. *Antibiotics.* 2020;9(4):20-8
  85. Yang GY, Guo L, Su JH, Zhu YH, Jiao LG, Wang JF. Frequency of diarrheagenic virulence genes and characteristics in escherichia coli isolates from pigs with

- diarrhea in china. *Microorganisms*. 2019;7(9):1-13.
86. Van Breda LK, Dhungyel OP, Ginn AN, Iredell JR, Ward MP. Pre- and post-weaning scours in southeastern Australia: A survey of 22 commercial pig herds and characterisation of *Escherichia coli* isolates. *PLoS One*. 2017;12(3):1-14.
  87. Ikwap K, Larsson J, Jacobson M, Owiny DO, Nasinyama GW, Nabukenya I, et al. Prevalence of adhesin and toxin genes in *E. coli* strains isolated from diarrheic and non-diarrheic pigs from smallholder herds in northern and eastern Uganda. *BMC Microbiol*. 2016;16(1):178.
  88. VinodhKumar OR. Cross-sectional study on rotavirus A (RVA) infection and assessment of risk factors in pre- and post-weaning piglets in India. *Trop Anim Health Prod*. 2020;52(1):445.
  89. Marthaler D, Homwong N, Rossow K, Culhane M, Goyal S, Collins J, et al. Rapid detection and high occurrence of porcine rotavirus A, B, and C by RT-qPCR in diagnostic samples. *J Virol Methods*. desembre 2014;209:30-4.
  90. de la Fé Rodríguez PY, Martin LOM, Muñoz EC, Imberechts H, Butaye P, Goddeeris BM, et al. Several enteropathogens are circulating in suckling and newly weaned piglets suffering from diarrhea in the province of Villa Clara, Cuba. *Trop Anim Health Prod*. 2012;45(1):435-40.
  91. Katsuda K, Kohmoto M, Kawashima K, Tsunemitsu H. Frequency of enteropathogen detection in suckling and weaned pigs with diarrhea in Japan. *J Vet Diagnostic Investig*. 2006;18(4):350-4.
  92. Wieler LH, Illieff A, Herbst W, Bauer C, Vieler E, Bauerfeind R, et al. Prevalence of enteropathogens in suckling and weaned piglets with diarrhoea in Southern Germany. *J Vet Med Ser B*. 2001;48(2):151-9.
  93. Mesonero-Escuredo S, Strutzberg-Minder K, Casanovas C, Segalés J. Viral and bacterial investigations on the aetiology of recurrent pig neonatal diarrhoea cases in Spain. *Porc Heal Manag*. 2018;4:5.
  94. Davies J. Where have all the antibiotics gone? *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2006;17(5):287-90.
  95. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010;74(3):417-33.
  96. Reygaert WC. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of

- bacteria. *AIMS Microbiol.* 2018;4(3):482-501.
97. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr.* 2016;4(2).
  98. Rothstein DM, McGlynn M, Bernan V, McGahren J, Zaccardi J, Cekleniak N, et al. Detection of tetracyclines and efflux pump inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(8):1624-9.
  99. Leclercq R. Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. *Clin Infect Dis.* 2002;34(4):482-92.
  100. Perez JJ, Chen CY. Detection of acetyltransferase modification of kanamycin, an aminoglycoside antibiotic, in bacteria using ultrahigh-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2018;32(17): 1549-1556
  101. Sáinz-Rodríguez R, Valverde-Troya M. Evaluación de una prueba rápida para la detección de PBP2a en *Staphylococcus aureus*. *Of J Spanish Soc Chemother.* 2019;32(4):370-4.
  102. Dodds DR. Antibiotic resistance: A current epilogue. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2017;134:139-46.
  103. Castanon JIR. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poult Sci* [Internet]. 2007;86(11):2466-71.
  104. Van Boeckel TP, Pires J, Silvester R, Zhao C, Song J, Criscuolo NG, et al. Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- And middle-income countries. *Science* (80- ). 2019;365(6459)
  105. Cameron-Veas K, Solà-Ginés M, Moreno MA, Fraile L, Migura-Garcia L. Impact of the use of  $\beta$ -lactam antimicrobials on the emergence of *Escherichia coli* isolates resistant to cephalosporins under standard pig-rearing conditions. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81(5):1782-7.
  106. Muloi D, Ward MJ, Pedersen AB, Fèvre EM, Woolhouse MEJ, Van Bunnik BAD. Are Food Animals Responsible for Transfer of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* or Their Resistance Determinants to Human Populations? A Systematic Review. *Foodborne Pathog Dis.* 2018;15(8):467-74.
  107. Huijbers PMC, Blaak H, De Jong MCM, Graat EAM, Vandenbroucke-Grauls CMJE,

- De Roda Husman AM. Role of the Environment in the Transmission of Antimicrobial Resistance to Humans: A Review. *Environ Sci Technol*. 2015;49(20):11993-2004.
108. Hernando-Amado S, Coque TM, Baquero F, Martínez JL. Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nat Microbiol*. 2019;4(9):1432-42.
  109. Shafiq M, Huang J, Rahman SU, Shah JM, Chen L, Gao Y, et al. High incidence of multidrug-resistant *Escherichia coli* coharboring *mcr-1* and *bla* CTX-M-15 recovered from pigs. *Infect Drug Resist*. 2019;12:2135-49.
  110. He L-Y, He L-K, Liu Y-S, Zhang M, Zhao J-L, Zhang Q-Q, et al. Microbial diversity and antibiotic resistome in swine farm environments. *Sci Total Environ*. 2019;685:197-207.
  111. Vidal A, Aguirre L, Seminati C, Tello M, Redondo N, Martín M, et al. Antimicrobial Resistance Profiles and Characterization of *Escherichia coli* Strains from Cases of Neonatal Diarrhea in Spanish Pig Farms. *Vet Sci*. 2020;7(2):48.
  112. Aguirre L, Vidal A, Seminati C, Tello M, Redondo N, Darwich L, et al. Antimicrobial resistance profile and prevalence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), AmpC beta-lactamases and colistin resistance (*mcr*) genes in *Escherichia coli* from swine between 1999 and 2018. *Porc Heal Manag*. 2020;6(8):4-9.
  113. Stefani S, Giovanelli I, Anacarso I, Condò C, Messi P, De Niederhäusern S, et al. Prevalence and characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in food-producing animals in Northern Italy. *New Microbiol*. 2014;37(4):551-5.
  114. Dorado-García A, Mevius DJ, Jacobs JJH, Van Geijlswijk IM, Mouton JW, Wagenaar JA, et al. Quantitative assessment of antimicrobial resistance in livestock during the course of a nationwide antimicrobial use reduction in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(12):3607-19.
  115. Zhao WH, Hu ZQ. Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol*. 2013;39(1):79-101.
  116. Munk P, Knudsen BE, Lukjancenko O, Duarte ASR, Van Gompel L, Luiken REC, et al. Abundance and diversity of the faecal resistome in slaughter pigs and broilers in nine European countries. *Nat Microbiol*. agosto 2018;3(8):898-908.

117. Bush K. Past and present perspectives on  $\beta$ -lactamases. Vol. 62, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2018. (62):1-20.
118. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(3):969-76.
119. Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended spectrum beta-lactamases: Definition, classification and epidemiology. *Curr Issues Mol Biol*. 2014;17(1):11-22.
120. Kumar D, Singh AK, Ali MR, Chander Y. Antimicrobial Susceptibility Profile of Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) Producing *Escherichia coli* from Various Clinical Samples . *Infect Dis Res Treat*. 2014;7:IDRT.S13820.
121. Salah FD, Soubeiga ST, Ouattara AK, Sadjji AY, Metuor-Dabire A, Obiri-Yeboah D, et al. Distribution of quinolone resistance gene (qnr) in ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Lomé, Togo. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8(1):1-8.
122. Liu X, Liu H, Wang L, Peng Q, Li Y, Zhou H, et al. Molecular characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing multidrug resistant *Escherichia coli* from swine in Northwest China. *Front Microbiol*. 2018;9(AUG).
123. Kraemer JG, Pires J, Kueffer M, Semaani E, Endimiani A, Hilty M, et al. Prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in pig farms in Switzerland. *Sci Total Environ* [Internet]. 2017;603-604:401-5. Disponible a: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.110>
124. Zelendova M, Dolejska M, Masarikova M, Jamborova I, Vasek J, Smola J, et al. CTX-M-producing *Escherichia coli* in pigs from a Czech farm during production cycle. *Lett Appl Microbiol*. maig 2020;
125. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: Here is the storm! *Trends Mol Med* [Internet]. 2012;18(5):263-72. Disponible a: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2012.03.003>
126. Pulss S, Semmler T, Prenger-Berninghoff E, Bauerfeind R, Ewers C. First report of an *Escherichia coli* strain from swine carrying an OXA-181 carbapenemase and the colistin resistance determinant MCR-1. *Int J Antimicrob Agents*. 2017;50(2):232-6.

127. Palzkill T. Metallo- $\beta$ -lactamase structure and function. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1277(1):91-104.
128. Zhao Z, Liao C, Chang S, Ding K, Liu Z, Xue Y. NDM-1-producing *Escherichia coli* isolated from pigs induces persistent infection with limited pathogenicity. *Microb Pathog.* 2019;135:103620.
129. Pruthvishree BS, Vinodh Kumar OR, Sinha DK, Malik YPS, Dubal ZB, Desingu PA, et al. Spatial molecular epidemiology of carbapenem-resistant and New Delhi metallo beta-lactamase (blaNDM)-producing *Escherichia coli* in the piglets of organized farms in India. *J Appl Microbiol.* 2017;122(6):1537-46.
130. Dhariwal AK, Tullu MS. Colistin: Re-emergence of the «forgotten» antimicrobial agent. *J Postgrad Med.* 2013;59(3):208-15.
131. Rhouma M, Beaudry F, Letellier A. Resistance to colistin: what is the fate for this antibiotic in pig production? *Int J Antimicrob Agents.* 2016;48(2):119-26.
132. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(2):161-8.
133. Rebelo AR, Bortolaia V, Kjeldgaard JS, Pedersen SK, Leekitcharoenphon P, Hansen IM, et al. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4 and mcr-5 for surveillance purposes. *Eurosurveillance.* 2018;23(6):1-11.
134. EMA, Agency EM. Updated advice on the use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. 2016.
135. España: reducción del consumo de colistina del 97,18 % en porcino [Internet]. 2019 [citat 26 juliol 2020]. Disponible a: [https://www.3tres3.com/ultima-hora/espana-reduccion-del-consumo-de-colistina-del-97-18-en-porcino\\_41364/](https://www.3tres3.com/ultima-hora/espana-reduccion-del-consumo-de-colistina-del-97-18-en-porcino_41364/)
136. Miguela-Villoldo P, Hernández M, Moreno MA, Rodríguez-Lázaro D, Quesada A, Domínguez L, et al. National colistin sales versus colistin resistance in Spanish pig production. *Res Vet Sci.* 2019;123:141-3.
137. García-Meniño I, García V, Mora A, Díaz-Jiménez D, Flament-Simon SC, Alonso MP, et al. Swine enteric colibacillosis in Spain: Pathogenic potential of mcr-1 ST10

- and ST131 E. Coli Isolates. *Front Microbiol.* 2018;9:1-15.
138. Li X, Liu B, Dong P, Li F, Yuan L, Hu G. The prevalence of *mcr-1* and resistance characteristics of *Escherichia coli* isolates from diseased and healthy pigs. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018;91(1):63-5.
  139. EFSA EFSA, ECDC EC for DP and C. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. Vol. 17, *EFSA Journal.* 2019.
  140. Callaway TR, Morrow JL, Edrington TS, Genovese KJ, Dowd S, Carroll J, et al. Social stress increases fecal shedding of *Salmonella Typhimurium* by early weaned piglets. *Current Issues in Intestinal Microbiology.* 2006. 7:65-72.
  141. Roesler U, Von Altröck A, Heller P, Bremerich S, Arnold T, Lehmann J, et al. Effects of fluoroquinolone treatment acidified feed, and improved hygiene measures on the occurrence of *Salmonella Typhimurium* DT104 in an integrated pig breeding herd. *J Vet Med Ser B Infect Dis Vet Public Heal.* 2005;52(2):69-74.
  142. Poppe C, Smart N, Khakhria R, Johnson W, Spika J, Prescott J. *Salmonella typhimurium* DT104: A virulent and drug-resistant pathogen. *Can Vet J.* 1998;39(9):559-65.
  143. Tseng M, Fratamico PM, Manning SD, Funk JA. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in swine: the public health perspective. *Anim Heal Res Rev.* 2015;15(1):63-75.
  144. Gobin M, Hawker J, Cleary P, Inns T, Gardiner D, Mikhail A, et al. National outbreak of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 linked to mixed salad leaves, United Kingdom, 2016. *Eurosurveillance.* 2018;23(18):1-10.
  145. Vogt RL, Dippold L. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak associated with consumption of ground beef, June-July 2002. *Public Health Rep.* 2005;120(2):174-8.
  146. Martella V, Bányai K, Matthijnsens J, Buonavoglia C, Ciarlet M. Zoonotic aspects of rotaviruses. *Vet Microbiol.* 2010;140(3-4):246-55.
  147. Vidal A, Clilverd H, Cortey M, Martín-Valls GE, Franzo G, Darwich L, et al. Full-genome characterization by deep sequencing of rotavirus A isolates from outbreaks of neonatal diarrhoea in pigs in Spain. *Vet Microbiol.* 2018;227:12-9.
  148. Hawken P, Weese JS, Friendship R, Warriner K. Longitudinal study of *Clostridium difficile* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with pigs from weaning through to the end of processing. *J Food Prot.* 2013;76(4):624-30.

149. Knetsch CW, Connor TR, Mutreja A, van Dorp SM, Sanders IM, Browne HP, et al. Whole genome sequencing reveals potential spread of *Clostridium difficile* between humans and farm animals in the Netherlands, 2002 to 2011. *Eurosurveillance*. 2014;19(45):1-12.
150. Muñoz-Price LS, Hanson R, Singh S, Nattinger AB, Penlesky A, Buchan BW, et al. Association Between Environmental Factors and Toxigenic *Clostridioides difficile* Carriage at Hospital Admission. *JAMA Netw open*. 2020;3(1):e1919132.
151. Tang KL, Caffrey NP, Nóbrega DB, Cork SC, Ronksley PE, Barkema HW, et al. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Planet Heal*. 2017;1(8):316-27.
152. Dohmen W, Dorado-García A, Bonten MJM, Wagenaar JA, Mevius D, Heederik DJJ. Risk factors for ESBL-producing *Escherichia coli* on pig farms: A longitudinal study in the context of reduced use of antimicrobials. *PLoS One*. 2017;12(3):1-14.
153. Van Gompel L, Luiken REC, Sarrazin S, Munk P, Knudsen BE, Hansen RB, et al. The antimicrobial resistome in relation to antimicrobial use and biosecurity in pig farming, a metagenome-wide association study in nine European countries. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(4):865-76.
154. Pal C, Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, Larsson DGJ. Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into t
155. Nadeau, Fairbrother JM, Zentek J, Bélanger L, Tremblay D, Tremblay CL, et al. Efficacy of a single oral dose of a live bivalent *E. coli* vaccine against post-weaning diarrhea due to F4 and F18-positive enterotoxigenic *E. coli*. *Vet J*. 2017;226:32-9.
156. Pérez-Bosque A, Polo J, Torrallardona D. Spray dried plasma as an alternative to antibiotics in piglet feeds, mode of action and biosafety. *Porc Heal Manag*. 2016;2:1-10.
157. Wang Z, Li J, Li J, Li Y, Wang L, Wang Q, et al. Protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins (IgY) against enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 adhesion in weaned piglets. *BMC Vet Res*. 2019;15(1):1-12.
158. Li S, Zheng J, Deng K, Chen L, Zhao XL, Jiang X, et al. Supplementation with organic acids showing different effects on growth performance, gut morphology, and microbiota of weaned pigs fed with highly or less digestible diets. *J Anim Sci*.



- 2018;96(8):3302-18.
159. Tsiloyiannis VK, Kyriakis SC, Vlemmas J, Sarris K. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhoea. *Res Vet Sci.* 2001;70(3):287-93.
  160. Gresse R, Chaucheyras-Durand F, Fleury MA, Van de Wiele T, Forano E, Blanquet-Diot S. Gut Microbiota Dysbiosis in Postweaning Piglets: Understanding the Keys to Health. *Trends Microbiol.* 2017;25(10):851-73.
  161. Dubreuil JD. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and probiotics in swine: What the bleep do we know? *Biosci Microbiota, Food Heal.* 2017;36(3):75-90.
  162. Cao G, Tao F, Hu Y, Li Z, Zhang Y, Deng B, et al. Positive effects of a *Clostridium butyricum*-based compound probiotic on growth performance, immune responses, intestinal morphology, hypothalamic neurotransmitters, and colonic microbiota in weaned piglets. *Food Funct.* 2019;10(5):2926-34.
  163. Luise D, Bertocchi M, Motta V, Salvarani C, Bosi P, Luppi A, et al. *Bacillus* sp. probiotic supplementation diminish the *Escherichia coli* F4ac infection in susceptible weaned pigs by influencing the intestinal immune response, intestinal microbiota and blood metabolomics. *J Anim Sci Biotechnol.* 2019;10(1):1-16.
  164. Wang J, Zeng Y, Wang S, Liu H, Zhang D, Zhang W, et al. Swine-Derived Probiotic *Lactobacillus plantarum* Inhibits Growth and Adhesion of Enterotoxigenic *Escherichia coli* and Mediates Host Defense. *Front Microbiol.* 2018;9:1364.
  165. Yan T, Zhang F, He Y, Wang X, Jin X, Zhang P, et al. *Enterococcus faecium* HDRsEf1 elevates the intestinal barrier defense against enterotoxigenic *Escherichia coli* and regulates occludin expression via activation of TLR-2 and PI3K signalling pathways. *Lett Appl Microbiol.* 2018;67(5):520-7.
  166. Cui Y, Wang S, Ding S, Shen J, Zhu K. Toxins and mobile antimicrobial resistance genes in *Bacillus* probiotics constitute a potential risk for One Health. *J Hazard Mater. gener* 2020;382:1212-66.
  167. Sun Y, Kim SW. Intestinal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* in pigs, and nutritional intervention to prevent postweaning diarrhea. *Anim Nutr.* 2017;3(4):322-30.
  168. Marquardt RR, Li S. Antimicrobial resistance in livestock: Advances and alternatives to antibiotics. *Anim Front.* 2018;8(2):30-7.
  169. Lee CY, Kim SJ, Park BC, Han JH. Effects of dietary supplementation of

- bacteriophages against enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) K88 on clinical symptoms of post-weaning pigs challenged with the ETEC pathogen. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2017;101(1):88-95.
170. Starke IC, Zentek J, Vahjen W. Ex Vivo - Growth Response of Porcine Small Intestinal Bacterial Communities to Pharmacological Doses of Dietary Zinc Oxide. *PLoS One*. 2013;8(2).
  171. Jaiswal A, Verma A, Jaiswal P. Detrimental effects of heavy metals in soil, plants, and aquatic ecosystems and in humans. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2018;37(3):183-97.
  172. Ciesinski L, Guenther S, Pieper R, Kalisch M, Bednorz C, Wieler LH. High dietary zinc feeding promotes persistence of multi-resistant *E. coli* in the swine gut. *PLoS One*. 2018;13(1):1-18.
  173. Tian QY, Piao XS. Essential oil blend could decrease diarrhea prevalence by improving antioxidative capability for weaned pigs. *Animals*. 2019;9(10):847.
  174. Ambrosio CMS, de Alencar SM, de Sousa RLM, Moreno AM, Da Gloria EM. Antimicrobial activity of several essential oils on pathogenic and beneficial bacteria. *Ind Crops Prod*. 2017;97:128-36.
  175. Zeineldin M, Aldridge B, Lowe J. Antimicrobial effects on swine gastrointestinal microbiota and their accompanying antibiotic resistome. *Front Microbiol*. 2019;10:1035 .
  176. Darwich L, Vidal A, Seminati C, Albamonte A, Casado A, López F, et al. High prevalence and diversity of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and emergence of OXA-48 producing *Enterobacterales* in wildlife in Catalonia. *PLoS One*. 2019;14(8):e0210686.
  177. Cheng D, Feng Y, Liu Y, Xue J, Li Z, Gao L, et al. Dynamics of oxytetracycline, sulfamerazine, and ciprofloxacin and related antibiotic resistance genes during swine manure composting. *Front Microbiol*. 2015;230:313.
  178. Peng S, Wang Y, Zhou B, Lin X. Long-term application of fresh and composted manure increase tetracycline resistance in the arable soil of eastern China. *Sci Total Environ*. 2015;279-86.
  179. Zhou X, Qiao M, Su J-Q, Wang Y, Cao Z-H, Cheng W-D, et al. Turning pig manure into biochar can effectively mitigate antibiotic resistance genes as organic

- fertilizer. *Sci Total Environ.* 2019;649:902-8.
180. Miyazaki A, Kuga K, Suzuki T, Tsunemitsu H. Analysis of the excretion dynamics and genotypic characteristics of rotavirus A during the lives of pigs raised on farms for meat production. *J Clin Microbiol.* juny 2012;50(6):2009-17.

## 9. Annex: resultats preliminars

Com ja s'ha comentat aquest treball havia de ser experimental i basar-se en conèixer la freqüència dels diferents patògens de la PWD i valorar les resistències als antibiòtics que presentaven les soques d'*E. coli* presents. No obstant això, només s'han pogut aconseguir mostres de 3 granges diferents i no s'han pogut extreure conclusions dels resultats per la qual cosa s'ha optat per realitzar una revisió bibliogràfica. De tota manera a continuació es presenten, de forma breu, els resultats que s'han obtingut fins el moment.

### Materials i mètodes

El mostreig ha consistit en agafar mostres de femtes de 20 animals per granja. Es demana que es prenguin mostres de 4 corralines diferents, seleccionant en cada una 3 garrins amb diarrea i 2 garrins sans que s'utilitzaran com a controls.

### Diagnòstic microbiològic:

Les mostres eren cultivades en Agar Sang i McConkey a 37°C durant 24h per tal d'aïllar enterobactèries.

A part, de les soques d'*E. coli* aïllades es realitzen antibiogrames mitjançant el mètode Kirby-Bauer.

### Diagnòstic molecular:

Les soques de *E. coli* aïllades eren tipificades segons els següent gens de virulència: les fimbries F4, F18, el gen *eae* i les toxines EAST1, STa, STb, LT, VT1 i VT2, mitjançant la tècnica de PCR qualitativa utilitzada per Vidal et al(2020) Utilitzant la mateixa tècnica, també es van analitzar gens de resistència antimicrobiana, com les BLEEs (CTX-M, TEM i SHV) i les beta-lactamases tipus AmC (CMY-1 i CMY-2).

De la mateixa manera, els agents vírics més importants com Rotavirus A, B i C i el virus de la diarrea epidèmica porcina també varen ser analitzats utilitzant el mètode de PCR quantitativa descrit per Vidal et al(2020).

## Resultats:

La granja 1 va proporcionar 30 mostres, de les quals 18 eren d'animals malalts i 12 de sans; la granja 2, 20 amb 8 de malalts i 12 de sans, i la 3, 20 amb 12 malalts i 8 sans. Així, de moment, es tenen 70 mostres provinents de 3 granges diferents, amb 38 animals diarreics i 32 sans.

A la taula 4, es mostren les freqüències dels diferents patògens. El patogen més freqüent va ser Rotavirus B (present en el 41,3 % de les mostres), que juntament amb la fímbria F4, van ser els únics elements que es correlacionaven amb la presentació de quadre clínic (Rotavirus B, OR=3,56, p-valor=0,02; F4, OR= 8,76, p-valor=0,04). La toxina EAST1 era la més freqüent, però no s'observaven diferències entre sans i malalts, per la qual cosa no es poden treure conclusions de la seva implicació en el quadre clínic o no.

*Taula 4: Freqüències de les fímbries, toxines i virus*

FREQ (%)	F4	F1 8	ST A	ST B	LT	VT 1	VT2	EAE	EAST 1	RV A	RVB	RVC	DEP V
<b>TOTAL (N=70)</b>	11, 8	2,4	0,0	1,2	0, 0	0,0	11, 8	14, 1	82,4	26, 1	41,3	30, 3	0,0
<b>CONTRO L (N=32)</b>	2,6	2,6	0,0	2,6	0, 0	0,0	10, 5	15, 8	81,6	28, 1	25,0	29, 0	0,0
<b>DIARREA (N=38)</b>	19, 1	2,1	0,0	0,0	0, 0	0,0	12, 8	12, 8	83,0	24, 3	54,3	31, 4	0,0

En general, s'observen freqüències relativament altes pel que fa a la presència de les diferents espècies de rotavirus, per la qual cosa la situació a Catalunya pot ser que sigui més semblant a Japó i Alemanya (97,98), que s'han comentat al treball. Tot i això, falten més granges per analitzar i és probable que les freqüències puguin canviar.

Pel que fa a la presència de gens de resistència, de moment, només s'ha analitzat la presència de CTX-M en les soques aïllades d'E.coli (n=63) , que es trobava amb una freqüència del 17,14 %. No es trobava associat amb la presentació de diarrea.

## Discussió:

Aquest estudi presenta diverses limitacions a banda de l'escassa mostra. Primer de tot, tot i seguir la mateixa metodologia que la gran majoria d'estudis de camp realitzats, la presa de mostra en un moment determinat simplement ens dóna una fotografia d'aquell

moment i no podem saber si aquell animal control que presenta un patògen és presimptomàtic, postsimptomàtic o simplement asimptomàtic. El mateix podem dir amb els animals amb diarrea que no excreten cap patògen: és possible que el període d'excreció de l'agent infecciós encara no hagi començat. El millor mètode de cara a conèixer seria la necròpsia dels animals la recollida de mostres d'intestí per microbiologia i histopatologia, o bé agafar mostres cada dia durant tot el període de deslletament..

En segon lloc, existeix el problema que les granges que envien mostres són granges que tenen un problema recurrent de PWD i en alguns casos els animals ja havien estat tractats. Això, pot esbiaixar els resultats obtinguts i ocultar la presència de patògens bacterians. A part, el fet de que moltes vegades es tracti amb antibiòtics sense saber quin és el causant del problema farà que les granges tinguin una prevalença de patògens vírics superior, ja que un percentatge important dels bacterians seran resolts amb els antibiòtics. A part, aquest consum d'antimicrobians pot fer que la presència de gens de resistència als antibiòtics sigui superior a la real.

En tercer lloc, la prevalença dels diferents rotavirus s'ha d'interpretar amb cautela, ja que s'ha observat que diferents quasiespècies de rotavirus poden trobar-se en la mateixa granja i que un mateix animal pot estar infectar per diverses soques al llarg de la seva vida (180). Així, que no podem saber amb les dades actuals si tots els animals infectats de la granja estan infectats pel mateix virus o si trobem diferents quasiespècies. Finalment, un altre dubte seria quines diferències poden existir entre les diferents quasiespècies, tant a nivell de patogènia com de transmissió. Per resoldre aquests dubtes seria convenient poder seqüenciar aquests aïllats vírics.