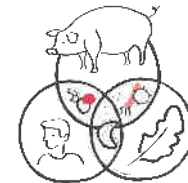


L'ÚS PRUDENT D'ANTIBIÒTICS A LA UE: SITUACIÓ ACTUAL I LA IMPORTÀNCIA D'UNA APROXIMACIÓ "ONE HEALTH" PER LLUITAR CONTRA LES RESISTÈNCIES ALS ANTIBIÒTICS

Marta Cerdà-Cuéllar, IRTA-CReSA

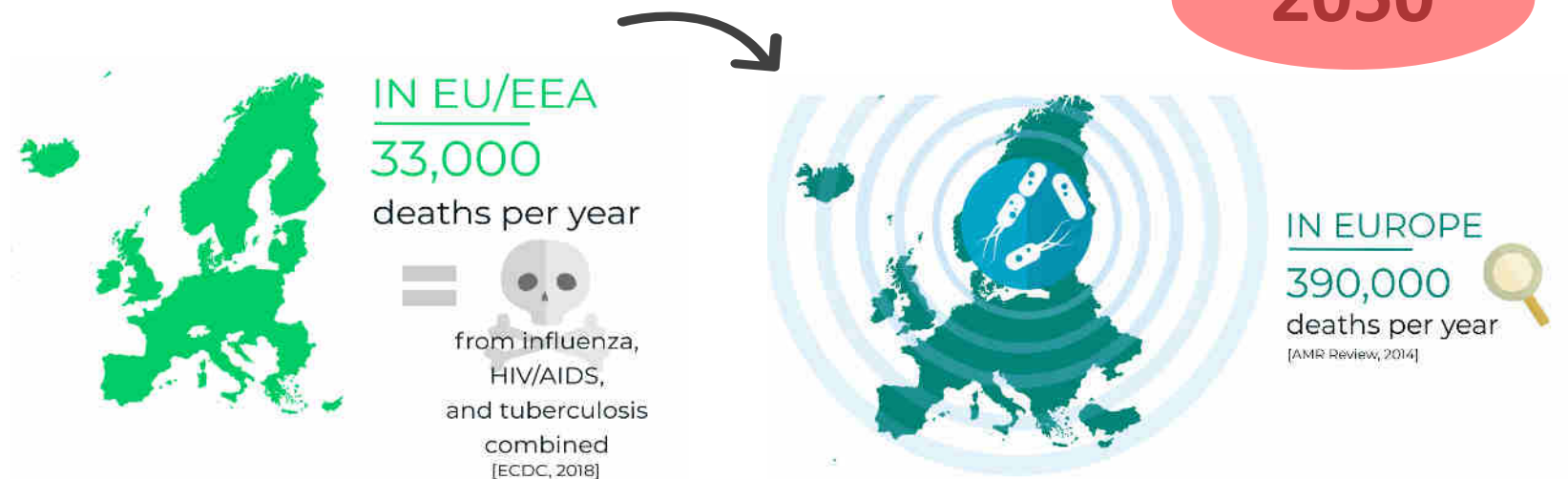
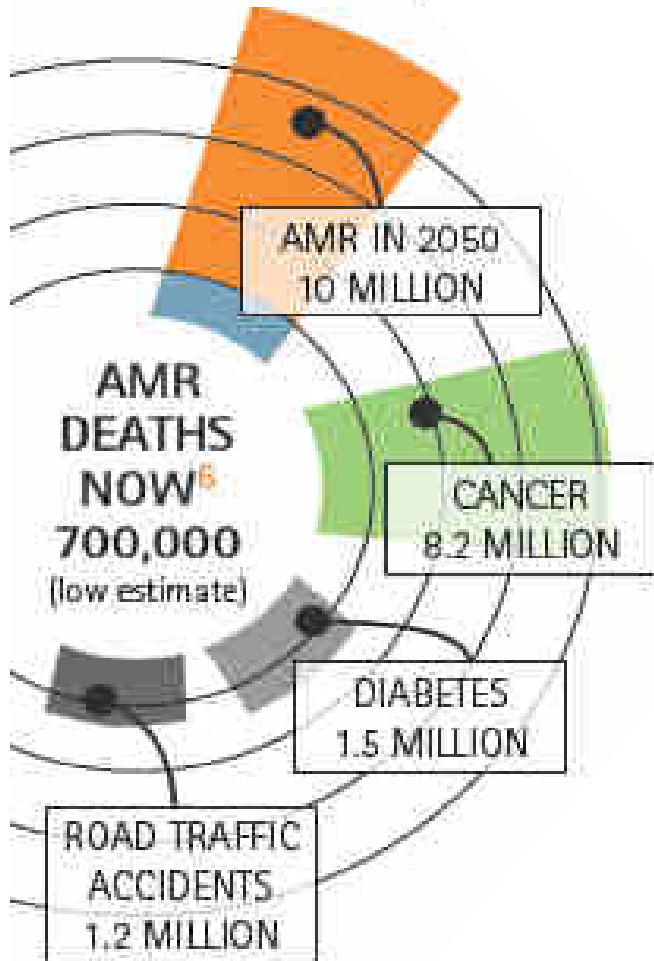
marta.cerda@irta.cat

Jornada Tècnica. Bellaterra, 29 de setembre de 2022



Reducció de l'ús
d'antimicrobians en
producció animal

L'AMENANÇA DE LA RESISTÈNCIA ANTIMICROBIANA



AMR: antimicrobial resistance (resistències antimicrobianes)

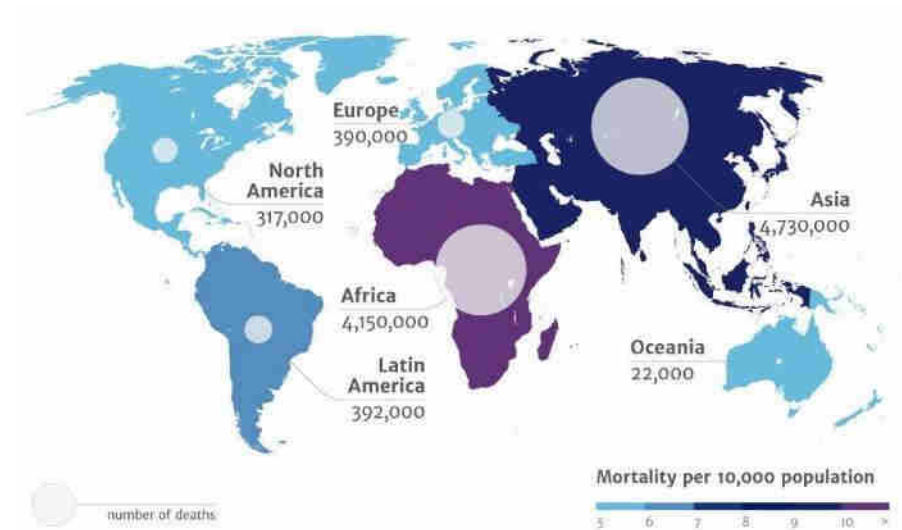
Font: Healthcare without Harm

2050

Les dues regions més afectades



Morts anuals atribuïbles a la RAM



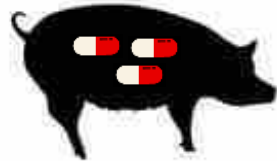
L'OMS ha declarat que les resistències antimicrobianes (RAM) són una de les 10 principals amenaces mundials per a la salut pública a què s'enfronta la humanitat

PRINCIPALS IMPULSORS DE LES RESISTÈNCIES ANTIBIÒTIQUES



70% dels antibiòtics són usats per animals

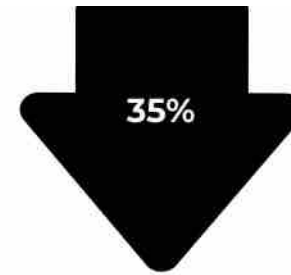
ÚS EN
ANIMALS



75-90% dels antibiòtics excretats
dels animals: no metabolitzats



Vendes d'antimicrobians
per ús animal a 25 països
Europeus

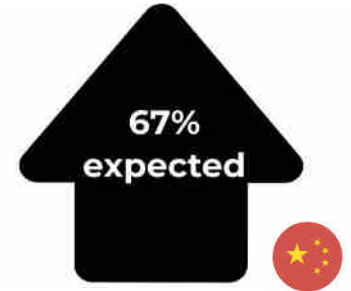


Entre 2011 i 2017
(EMA,2019)

PERÒ



Consum mundial
d'antimicrobians en el
sector ramader



Del 2010 al 2030
(UN Environment,2017)

[<1% del total d'antibiòtics s'usen en agricultura]

Font: Healthcare without Harm

PRINCIPALS IMPULSORS DE LES RESISTÈNCIES ANTIBIÒTIQUES

ÚS EN HUMANS

Els EEUU (55%) i la EU (24%) són els majors consumidors de medicaments humans del món

(Deloitte, 2016)



Als EEUU, el 30% de les prescripcions d'antibiòtics són innecessàries (CDC, 2016)



El 30% dels medicaments administrats per via oral són excretats en forma de substàncies actives en les femtes i orina dels pacients
(Deloitte, 2016)

A Europa, 1 de cada 3 pacients ingressats en hospitals reben almenys un agent antimicrobià (OECD, 2016)



Fins al 50% de tot el consum d'AM en l'atenció sanitària humana a nivell mundial pot ser inadequat
(OECD, 2016)



Font: Healthcare without Harm

PRINCIPALS IMPULSORS DE LES RESISTÈNCIES ANTIBIÒTIQUES

CONTAMINACIÓ AMBIENTAL



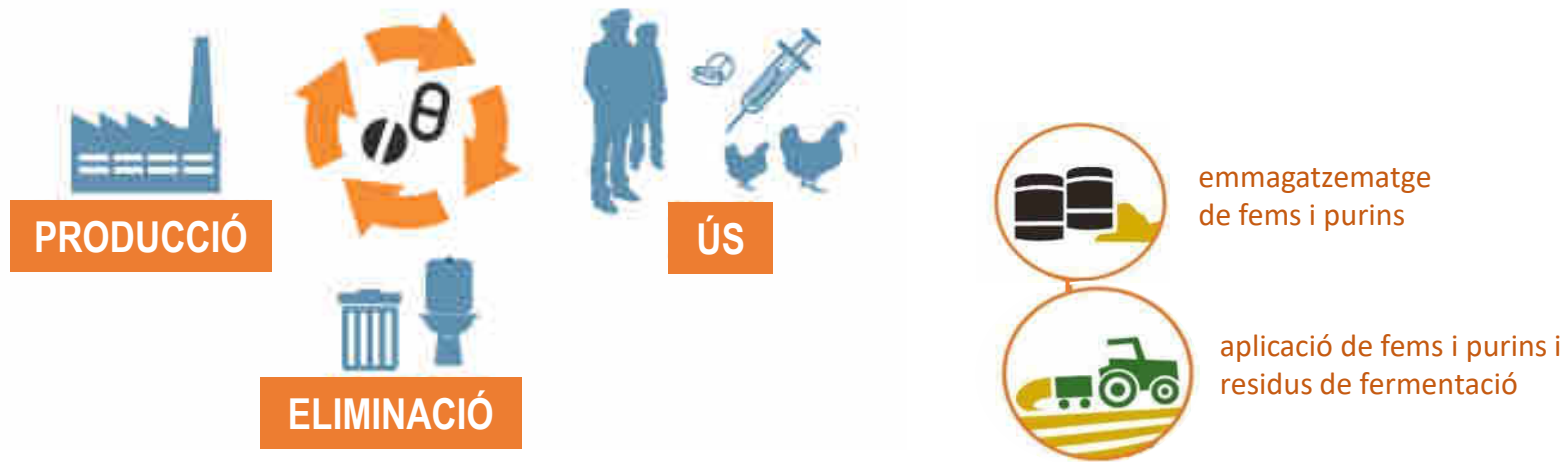
A la majoria dels països EU, el **50%-90% del medicaments** no utilitzats no es recullen o retornen a les farmàcies (BIS, 2013)



S'ha estimat que **75%-90% dels antibiòtics** són excretats no metabolitzats pels animals i arriben als sistemes de tractament d'aigües i a les fonts d'aigua (FAO, 2019)

EL MEDI AMBIENT

Els medicaments poden entrar al medi ambient en totes les etapes del seu cicle de vida



Eliminació inadequada dels antimicrobians



Llençar-los al vater o al lavabo



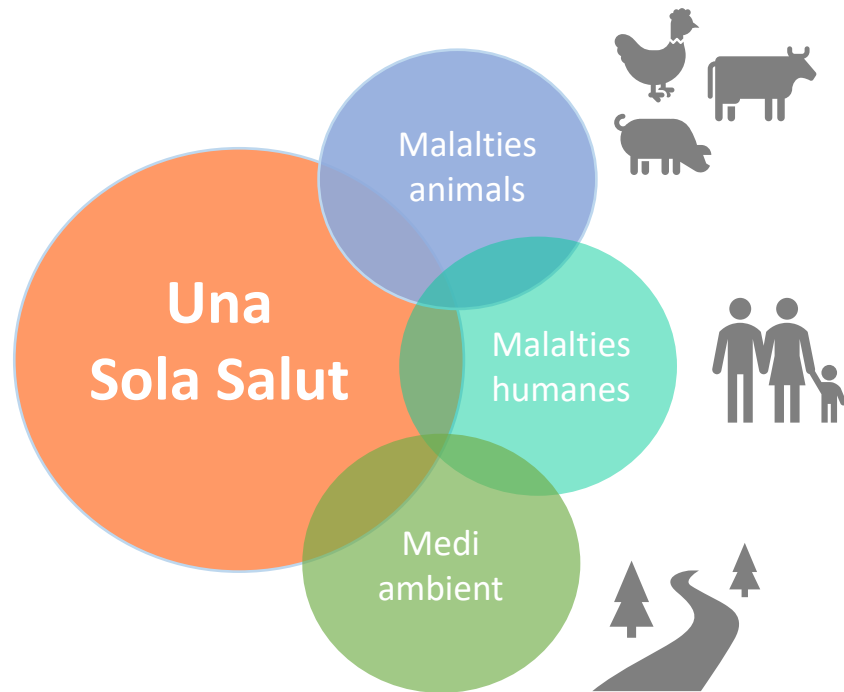
Llençar-los a les escombraries

Els sistemes de tractament d'aigües residuals són inadequats per a l'eliminació completa dels medicaments (principis actius) de les aigües residuals

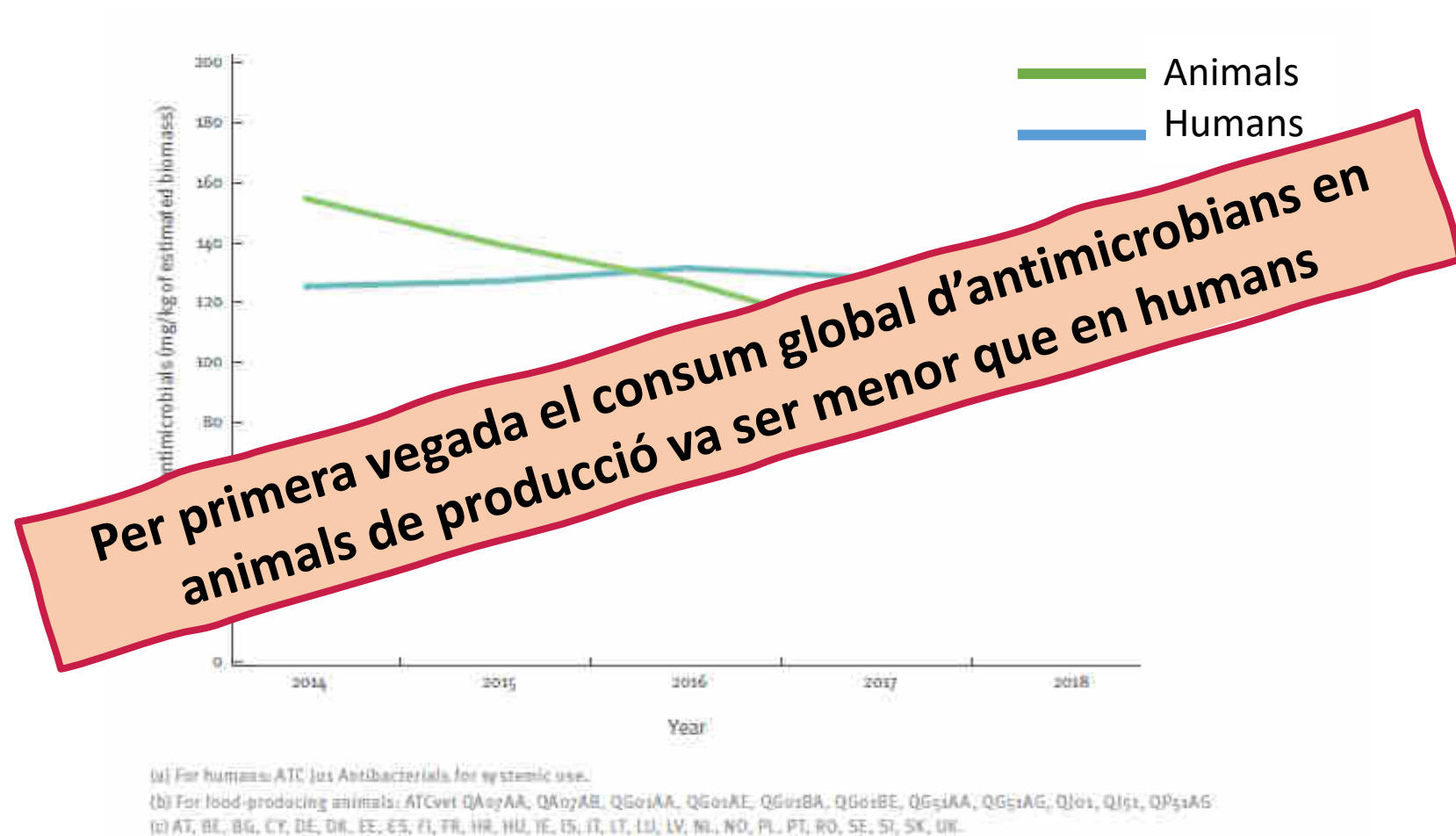


- El tractament de les aigües residuals té un paper crucial en el control de les RAM.
- Les EDAR solen **eliminar només el 80%** dels fàrmacs i els seus metabòlits.
- Fins i tot amb els mètodes més avançats, un **10%** dels fàrmacs **romanen** a l'aigua tractada.

EDAR: estació depuradora d'aigües residuals; RAM: resistència antimicrobiana.



REDUCCIÓ DE L'ÚS D'ANTIBIÒTICS: ANEM PEL BON CAMÍ?

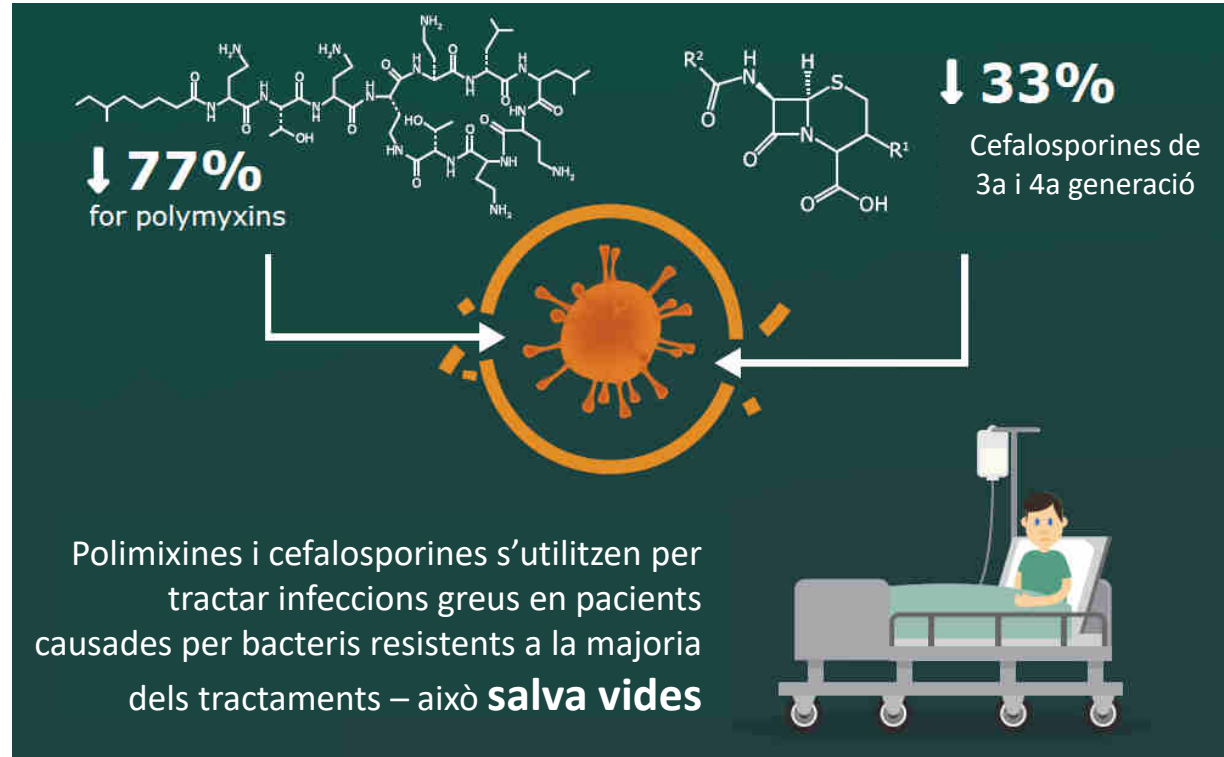


Mitjana ponderada per la població del consum total d'antimicrobians en humans (a) i en animals de producció (b) a 27 països EU/EEA (c) per als quals es disposava de dades tant per a humans com per a animals de producció (2014–2018).

Europa va pel bon camí per lluitar contra les resistències als antibiòtics

2011-2020

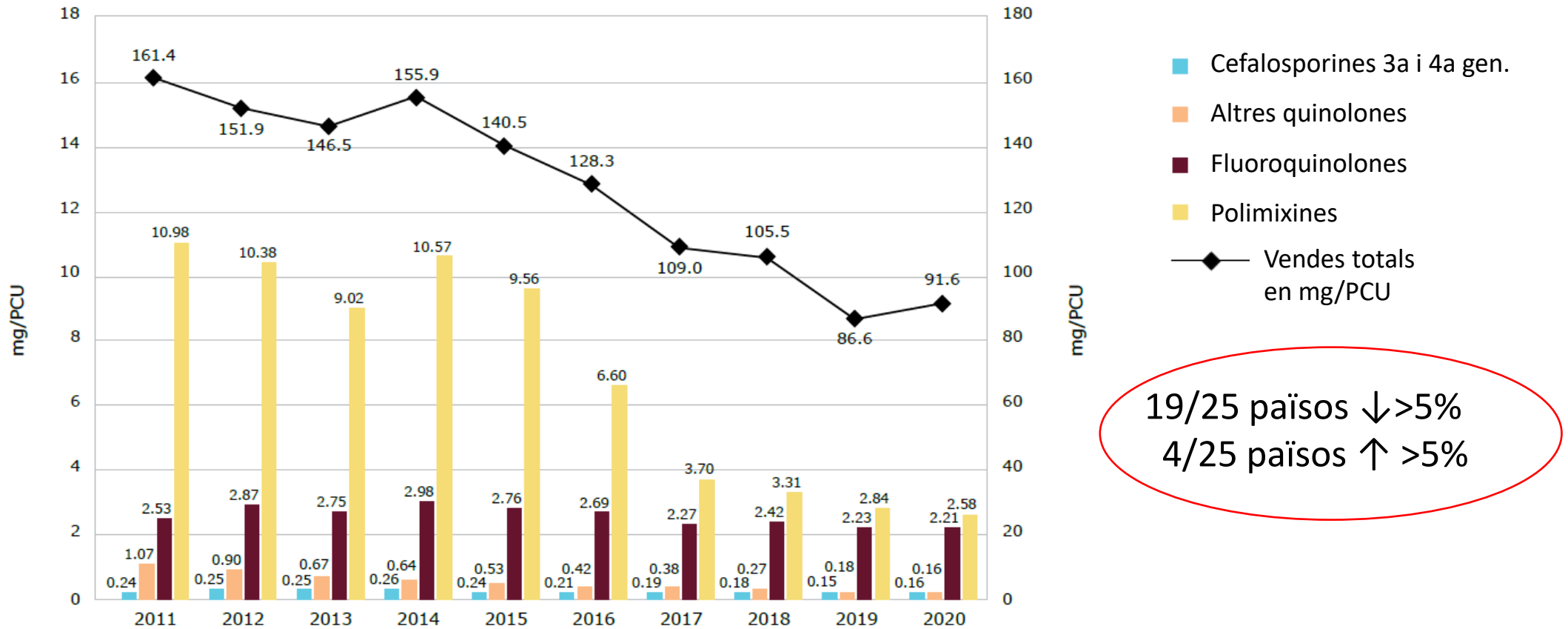
Disminució de les vendes d'antibiòtics per ús veterinari



... però cal fer-hi més

La **disminució en un 60%** en alguns països indica el **potencial** per reduir l'ús d'antibiòtics en animals en els altres països

Canvis en les vendes (mg/PCU) agregats per 25 països de la EU (2011-2020)



¹ Austria, Belgium, Bulgaria, Cyprus, Czechia, Denmark, Estonia, Finland, France, Germany, Hungary, Iceland, Ireland, Italy, Latvia,

¹ Lithuania, Netherlands, Norway, Poland, Portugal, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden and the United Kingdom.

PCU: population correction unit

Distribució espacial de les vendes globals d'antimicrobians per als animals de producció en mg/PCU (30-31 països)

2016



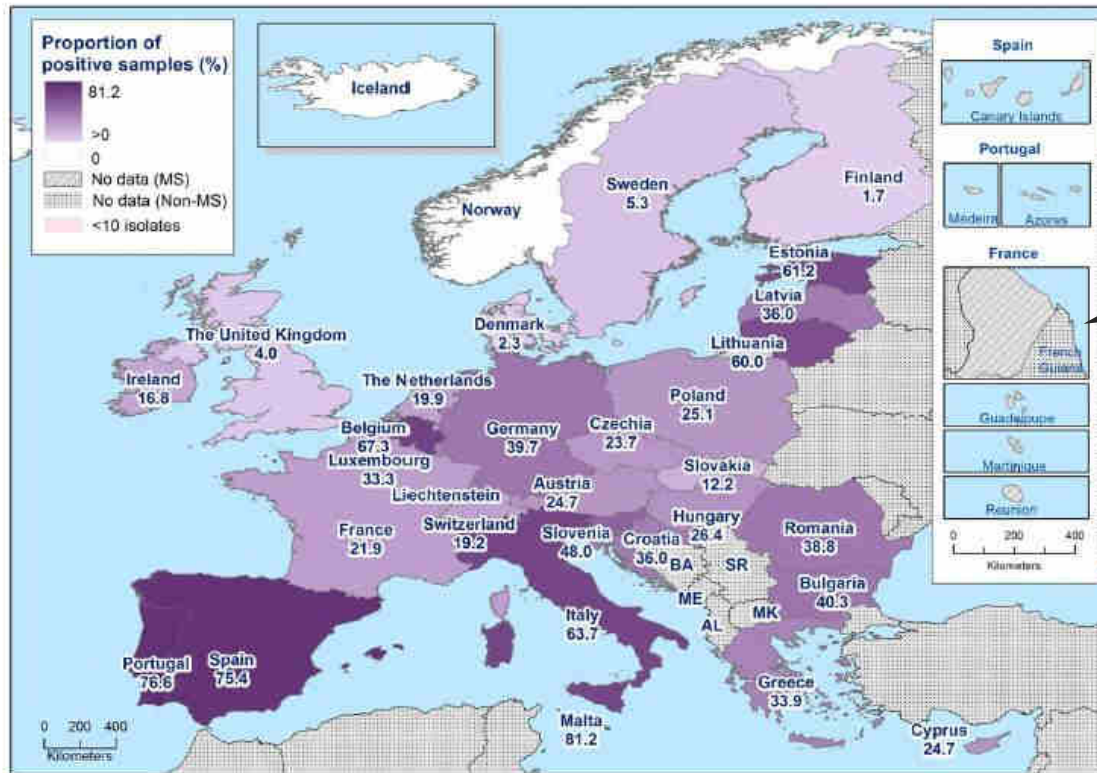
2020



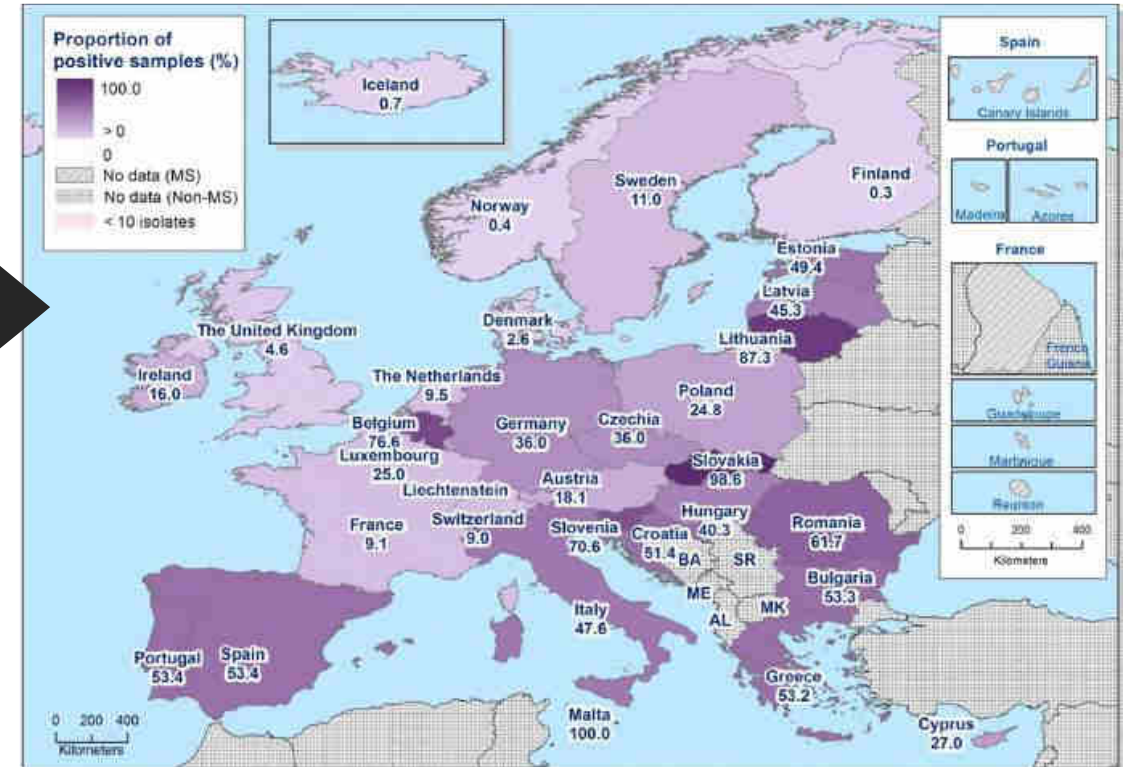
PCU: population correction unit

Distribució espacial de la prevalença de presumptes *E. coli* productores de BLEE, de pollastres

2018



2020

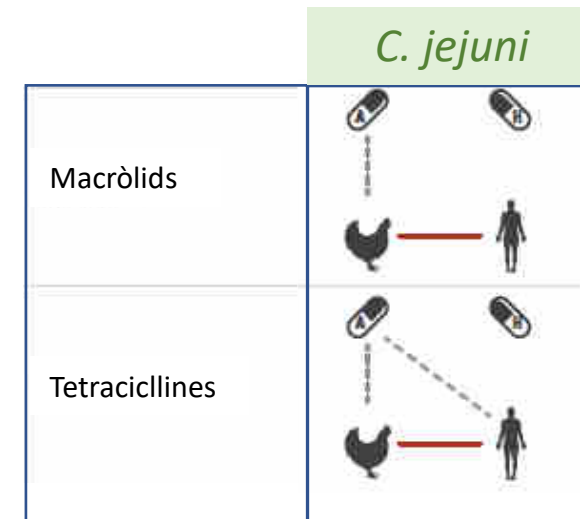
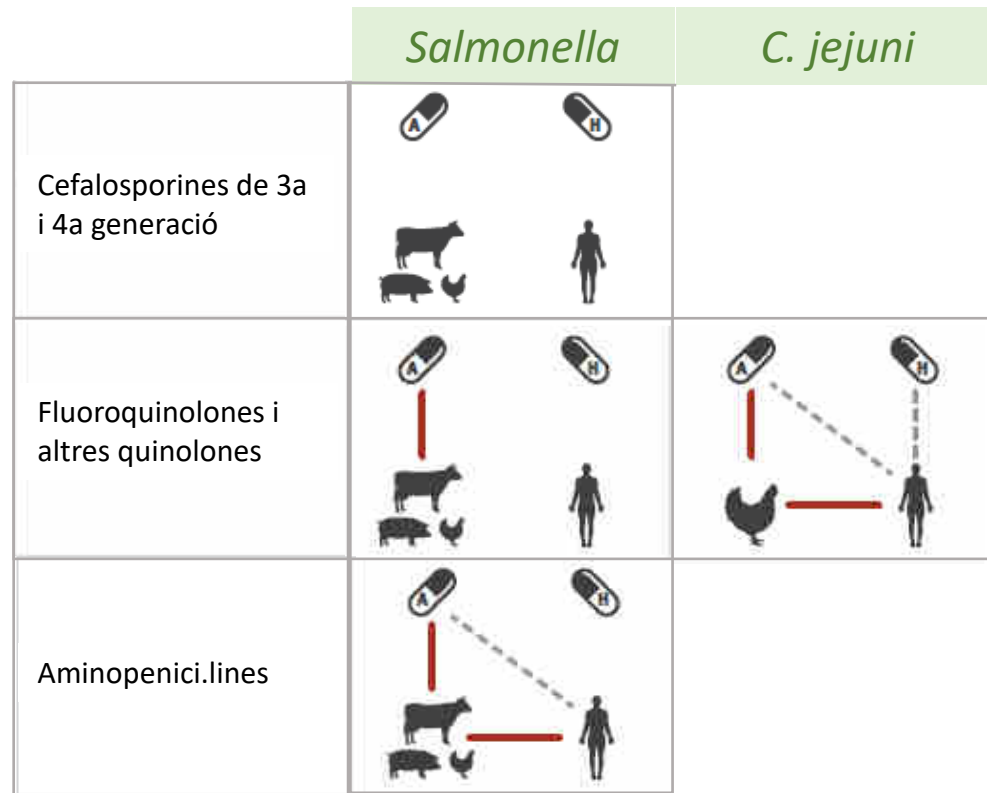


Resistència antimicrobiana en bacteris zoonòtics i bacteris indicadors d'humans, animals i aliments el 2019/2020 (EFSA)

- **RAM** en *Campylobacter* i en algunes soques de *Salmonella* es mantenen **altes**.
- *Campylobacter* aïllats d'humans i aviram continuen mostrant una **resistència molt alta** a la **ciprofloxacina**, un antimicrobià d'ús habitual en clínica humana.
- La **resistència combinada** als antimicrobians d'importància crítica - definida com la resistència a dos antimicrobians diferents- és **baixa** en *Campylobacter*, *Salmonella* i *E. coli*.

RAM: resistència antimicrobiana

Associacions entre el consum d'antimicrobians i la RAM en humans i animals



RAM en bacteris d'animals de producció (porcs, aviram, vedells)



RAM en bacteris d'animals de producció (aviram)



RAM en bacteris d'humans

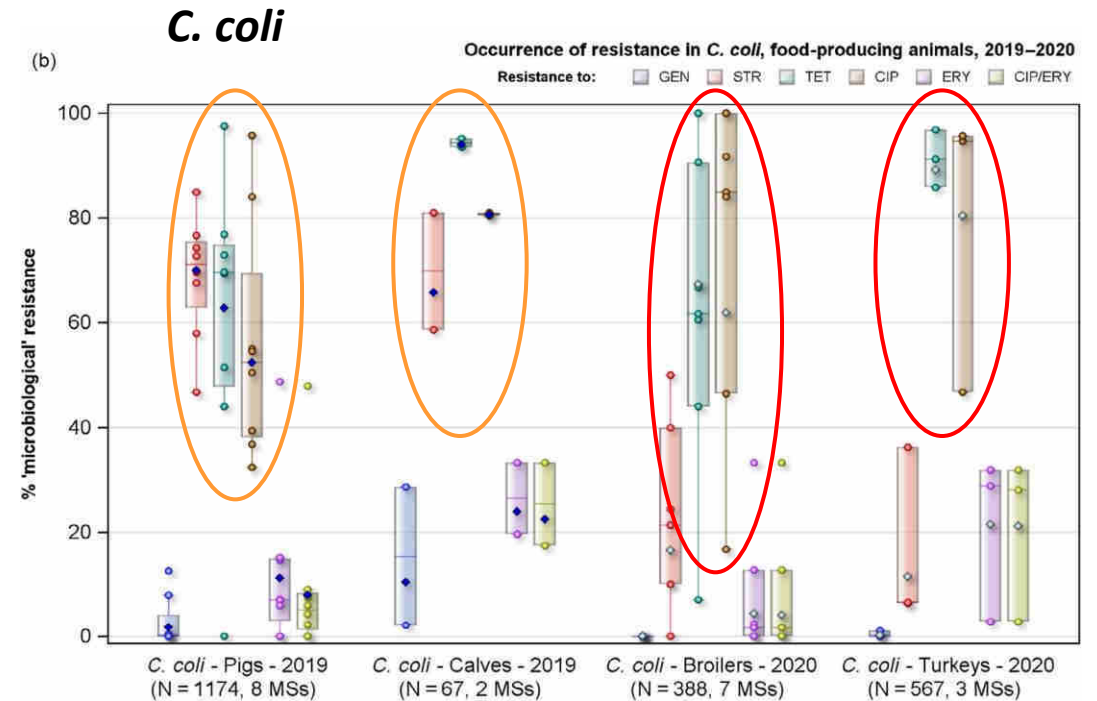
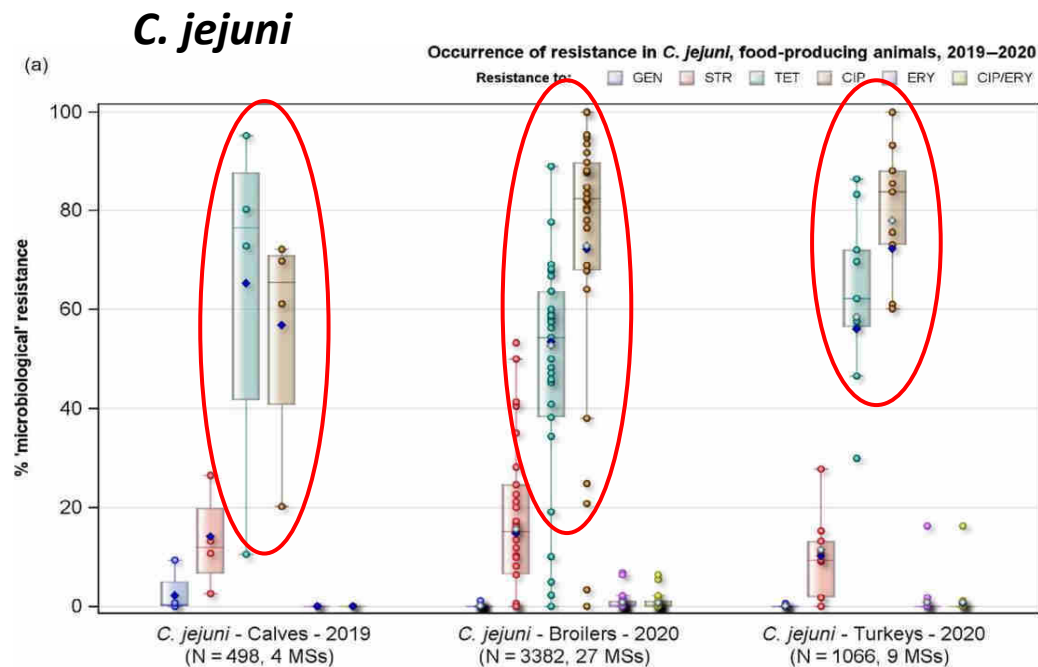


Consum d'AM en animals de producció



Consum d'AM en humans

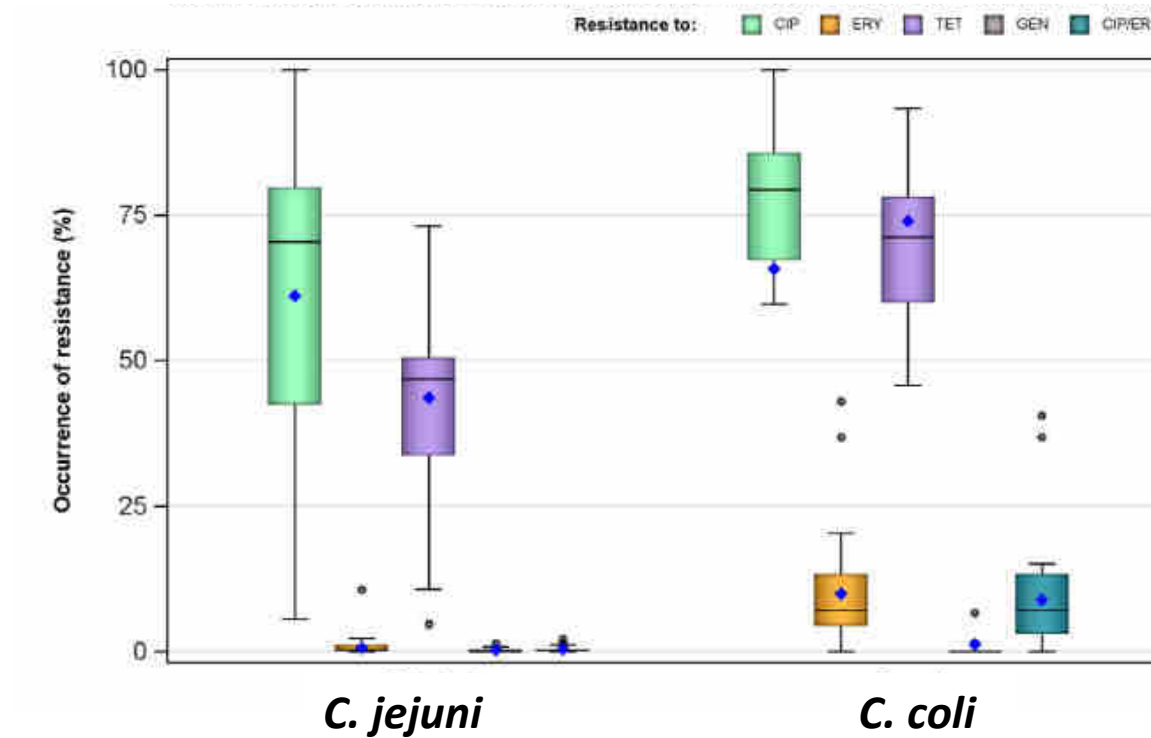
Resistència a antimicrobians en *C. jejuni* i *C. coli* d'animals en Estats Membres de la UE (2019–2020)



GEN: gentamicina; STR: estreptomicina; TET: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; ERY: eritromicina; CIP/ERY: resistència combinada 'microbiològica' a ciprofloxacina i eritromicina.

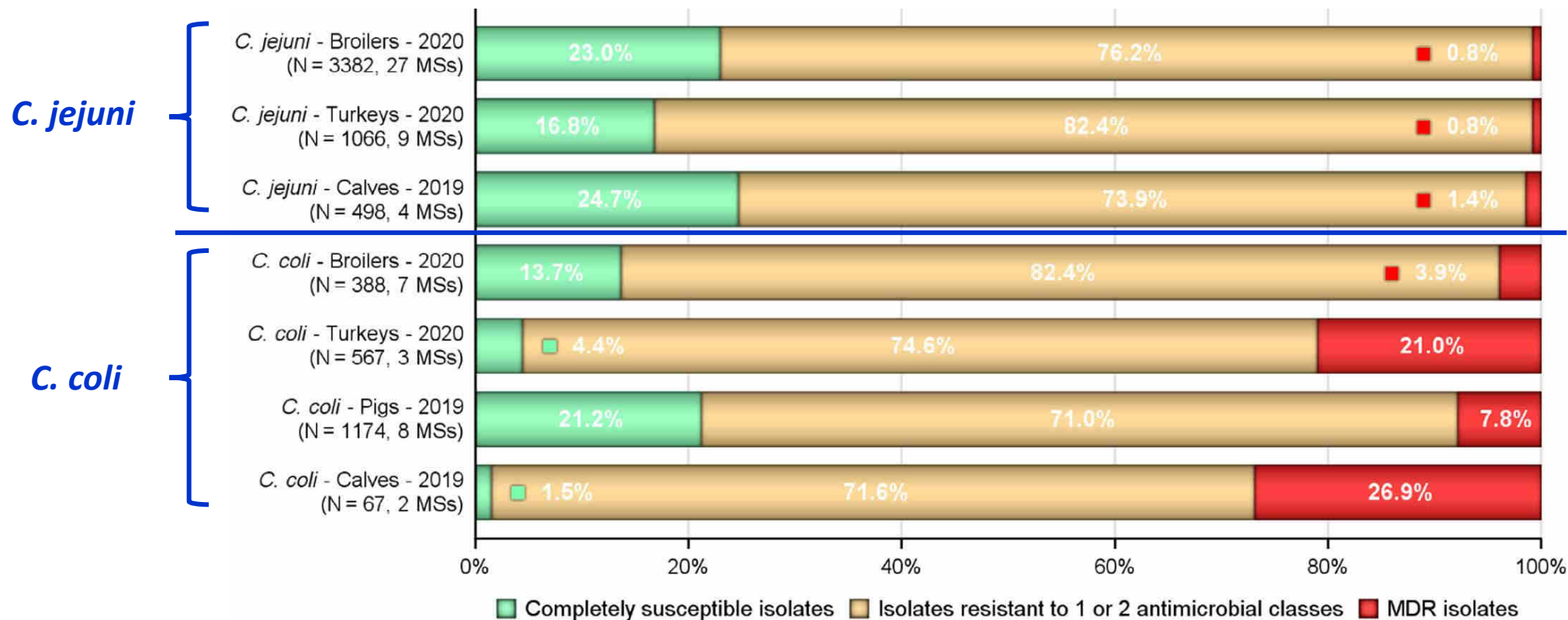
N: Nombre total d'aïllaments declarats per tots els Estats Membres (MSs); Línia horitzontal representa mediana; **Diamant blau**: resistència nivell dels MS que reporten (incloent UK); **Diamant verd**: resistència nivell dels MS que reporten (excloent UK, 2020).

Resistència a antimicrobians en aïllaments de *C. jejuni* i *C. coli* d'humans (2020)



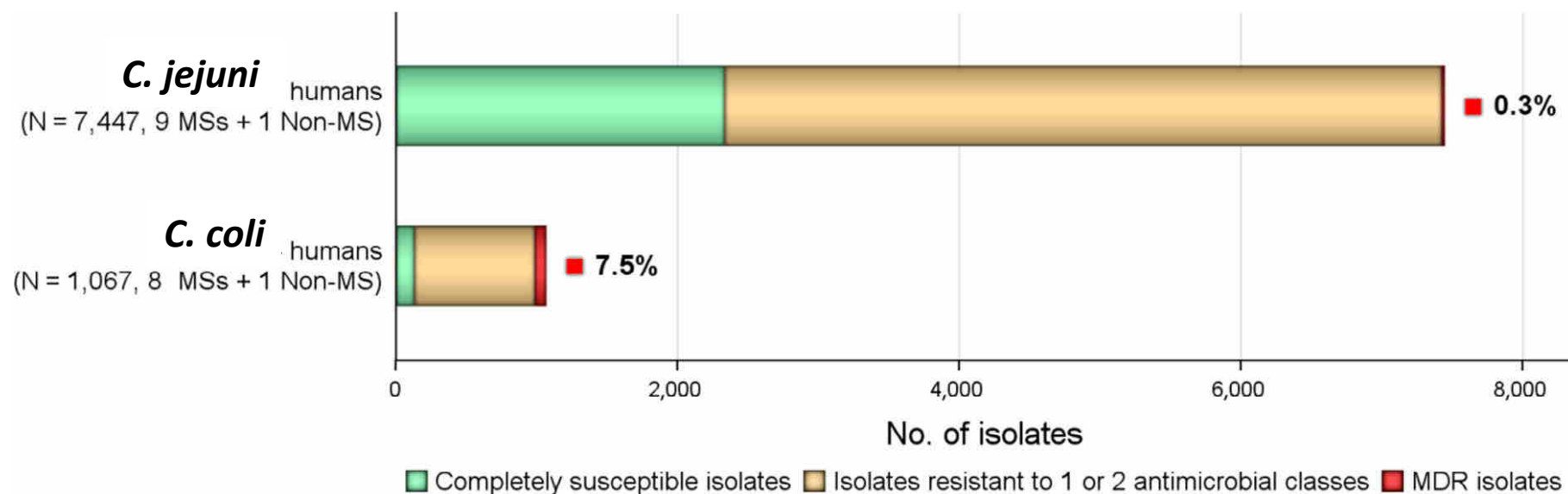
CIP, ciprofloxacina; **TET**, tetraciclina; ERY, eritromicina; GEN, gentamicina; CIP/ERY, resistència combinada 'microbiològica' a ciprofloxacina i eritromicina.

Proporcions d'aïllaments de *Campylobacter* totalment susceptibles, resistents a 1 o 2 classes d'antibiotics i MDR d'animals de producció (2019–2020)

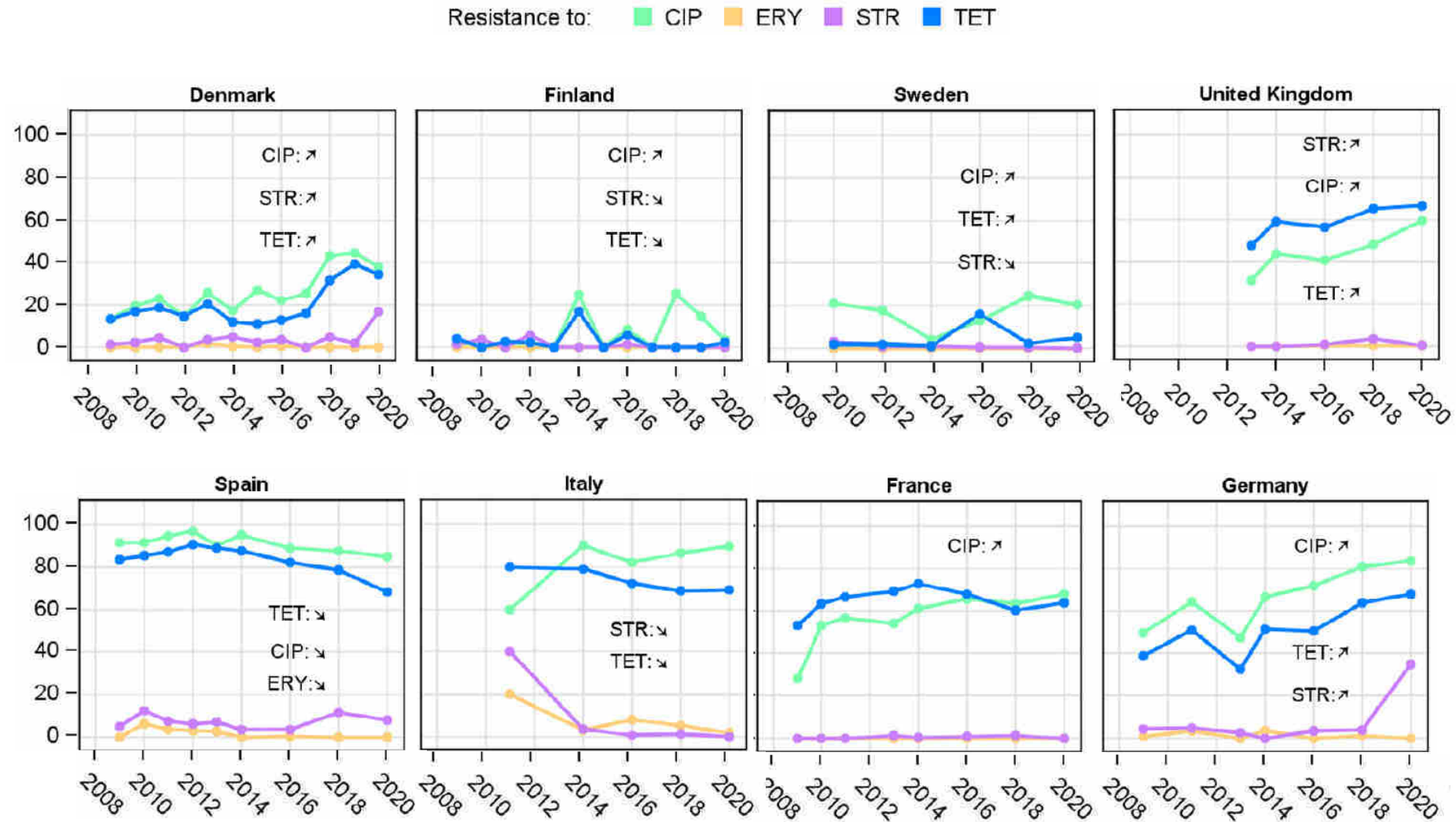


N: Nombre total d'aïllaments reportats pels MSs de la EU . MDR: Resistència a 3 o més classes d'antibiòtics.
 Susceptibilitat total es defineix com a susceptibilitat a ciprofloxacina / àc. nalidíxica, eritromicina, gentamicina i tetraciclina.

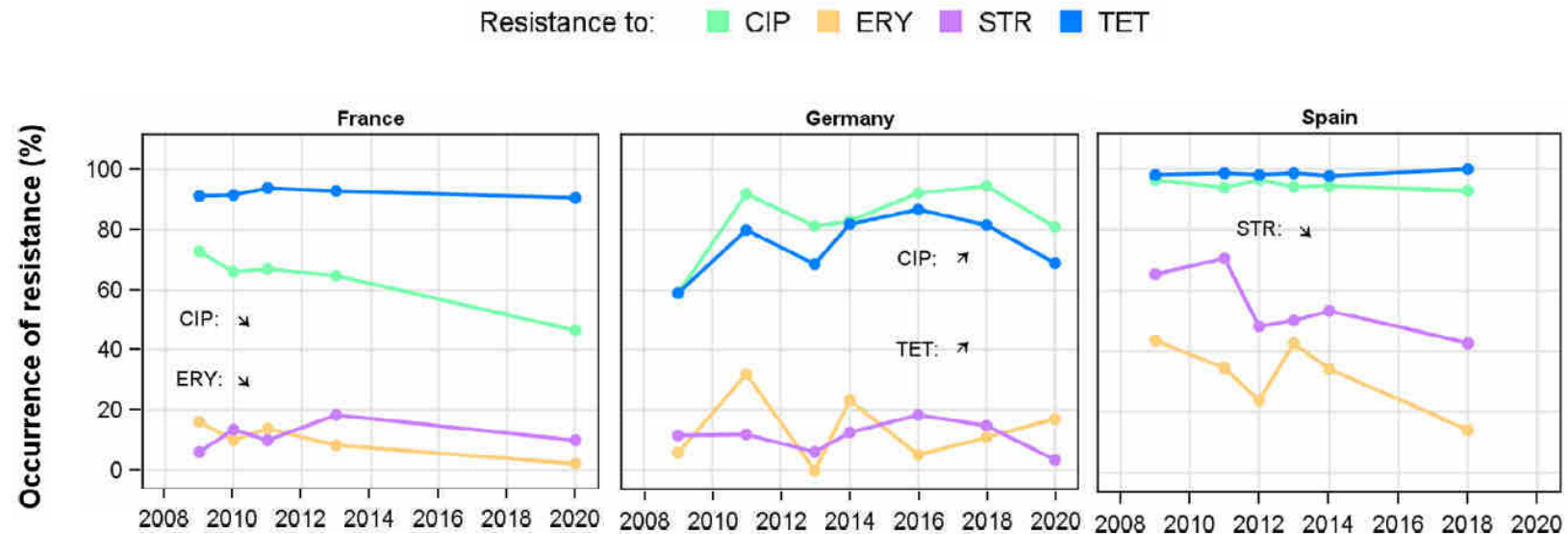
Proporció d'aïllaments MDR, resistents a 1 o 2 classes d'antibiòtics i totalment susceptibles d'**humans** (2020)



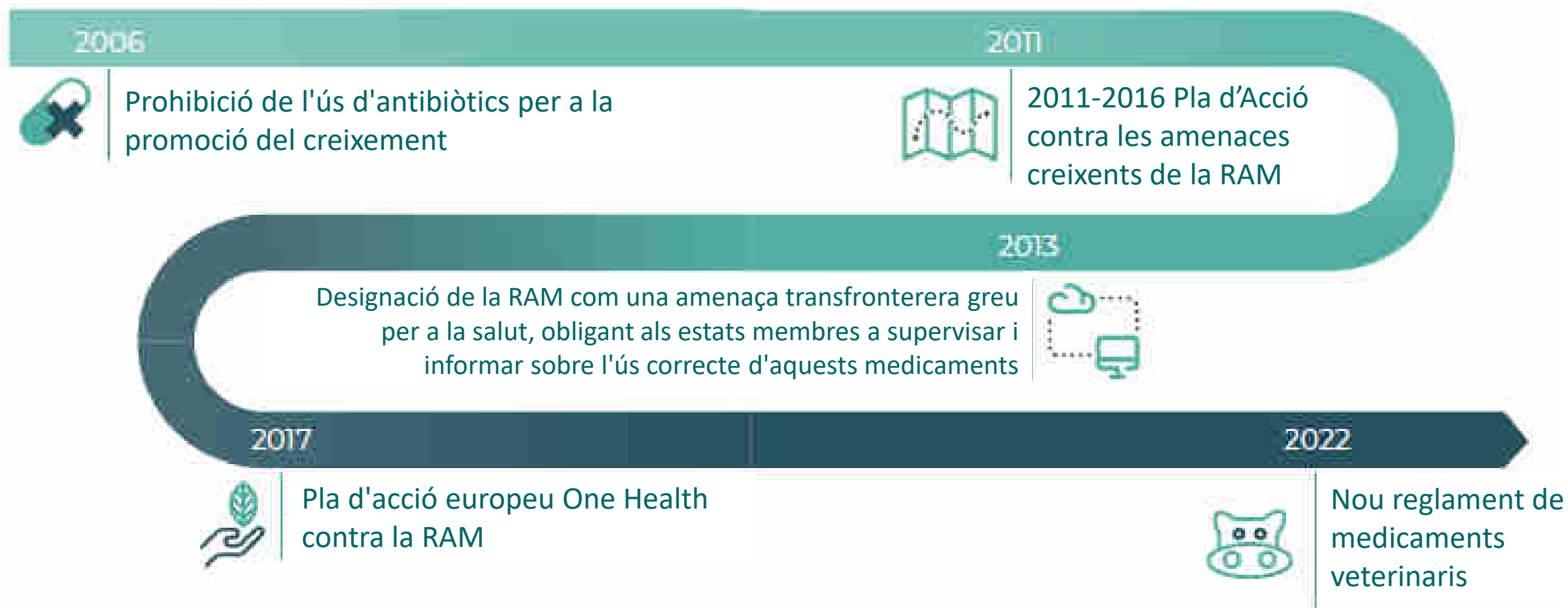
Tendències temporals de la resistència en *C. jejuni* de pollastres d'engreix



Tendències temporals de la resistència en *C. coli* de pollastres d'engreix



Iniciatives recents adoptades per la UE per reduir la RAM en la producció d'aliments

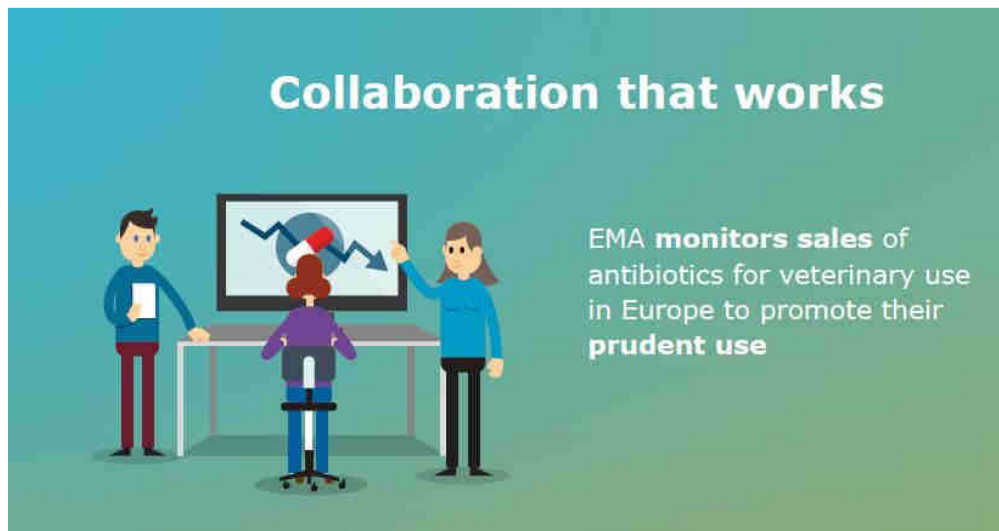


La nova normativa sobre medicaments veterinaris (Reglament (UE) 2019/6) i pinsos medicats (Reglament (UE) 2019/4) va entrar en vigor a la Unió Europea a partir el 28 de gener de 2022

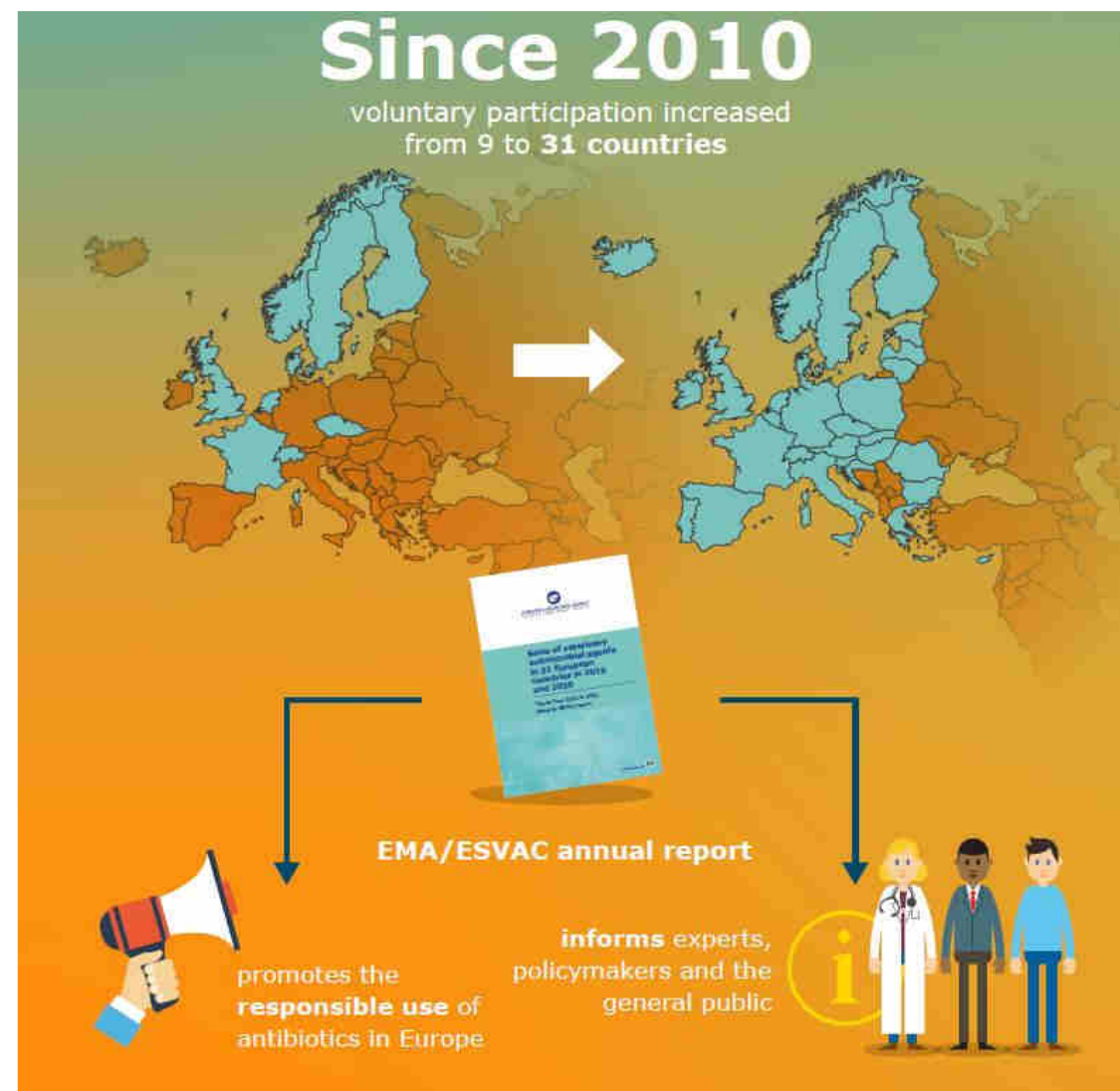
Noves mesures per lluitar contra les RAM:

- Prohibició de l'ús **profilàctic** i restriccions a l'ús **metafilàctic** d'antimicrobians (AM).
- Ratificació de la prohibició de l'ús d'AM com a promotors del creixement i del rendiment.
- Possibilitat de reservar certs AM només per a humans.
- Obligació dels EM de recopilar **dades sobre la venda i l'ús** d'AM.
- Animals i productes **importats** de fora de la UE: **prohibició** d'AM per a la promoció del creixement i **restriccions** d'AM reservats per a ús humà.

Objectiu: reduir en un **50%** les vendes globals d'antibiòtics utilitzats a la UE en animals de granja i aqüicultura per al **2030**



ESVAC- European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption



A **Espanya**, les mesures per garantir l'ús responsable dels antibiòtics es van plasmar en el **Pla Nacional de Resistència als Antibiòtics (PRAN)** → llançat el 2014 seguint una directiva de la Comissió Europea.

Objectiu: reduir l'ús generalitzat d'antibiòtics.

1. 
**Salud
humana**

2. 
**Sanidad
animal**

3. 
Medioambiente

4. 
**Investigación
y formación**

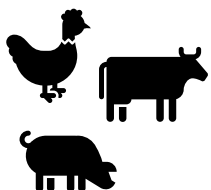
5. 
Comunicación



Plan Nacional
Resistencia
Antibióticos



Consum d'antibiòtics
2014-2020: ↓ **32,4%**



Vendes d'antibiòtics
2014-2020: ↓ **56,7%**



**Programa REDUCE ANTIBIÓTICOS
Voluntari**

PRAN 2014 → 2020

Espanya ocupava les primeres posicions del rànquing en consum d'antibiòtics.

2020: **6è** dels 25 països de la UE amb la **major reducció** del consum d'antibiòtics.

Espanya: 418,8 mg/PCU (2014) → 172,4 mg/PCU (2019).
Mitjana EU: 107 mg/ PCU, Vet. antibiotics.

PCU: population correction unit



Plan Nacional
Resistencia
Antibióticos



Programa REDUCE ANTIBIÓTICOS- Porcí



2016: Acord per a la **reducció voluntària** de l'ús de colistina (5 mg/PCU) en el sector porcí espanyol, en 3 anys.

Resultats després de 6 anys:

- > 230 productors de porcí donen suport al Programa.
- Reducció de pràcticament el 100% de l'ús de colistina → 52 mg/PCU a 0.4 mg/PCU.
- És un exemple de bones pràctiques per als productors de porcí de la UE.
- Espanya ha passat de les primeres posicions en consum d'antibiòtics d'importància crítica (CIA, categoria B) als països amb menor consum.

PCU: population correction unit

INFORME ESVAC

Distribución espacial de las ventas de polimixinas para uso veterinario (mg/UCP)*



ESPAÑA



Plan Nacional
Resistencia
Antibióticos



Programa REDUCE ANTIBIÓTICOS- Avicultura



2018: Acord per l'ús prudent d'antibiòtics en pollastres d'engreix en el sector avícola.

- Reduir un 45% l'ús global d'antibiòtics, en 2 anys.
- Reduir un 80% l'ús de colistina (1 mg/PCU).
- Determinar l'antibiòtic més adequat en cada cas.

Resultats 2-3 anys més tard:

- > 97% productors de pollastre d'engreix que donen suport al Programa.
- > 71% reducció de l'ús global d'antibiòtics.
- 97% reducció de l'ús de colistina (0,33 mg/PCU).

PCU: population correction unit

PROGRAMA	ESPECIE	AÑO INICIO
REDUCE COLISTINA EN PORCINO Programa Reduce Colistina 	PORCINO	2016
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN POLLOS Programa Reduce Antibióticos 	POLLOS BROILER	2018
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN CUNICULTURA Programa Reduce Antibióticos 	CONEJOS	2018
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN BOVINO DE CARNE Programa Reduce Antibióticos 	BOVINO DE APTITUD CÁRNICA	2019
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN OVINO Y CAPRINO DE CARNE Programa Reduce Antibióticos 	OVINO DE APTITUD CÁRNICA	2019

PROGRAMA	ESPECIE	AÑO INICIO
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN BOVINO LECHERO Programa Reduce Antibióticos 	BOVINO DE APTITUD LECHERA	2019
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN PEQUEÑOS ANIMALES Programa Reduce Antibióticos 	PERROS Y GATOS	2019
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN PAVOS Programa Reduce Antibióticos 	PAVOS	2020
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN AVICULTURA DE PUESTA Programa Reduce Antibióticos 	GALLINAS PONEDORAS	2020

PROGRAMA	ESPECIE	AÑO INICIO
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN CABALLOS Programa Reduce Antibióticos 	CABALLOS	2020
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN OVINO Y CAPRINO DE LECHE Programa Reduce Antibióticos 	OVINO DE APTITUD LECHERA	Pendiente
REDUCE ANTIBIÓTICOS EN PISCICULTURA Programa Reduce Antibióticos 	PISCIFACTORIAS	2021

CLASSIFICACIÓ DELS ANTIBIÒTICS PER A ÚS EN ANIMALS PER A UN ÚS PRUDENT I RESPONSABLE

Categoría A

Evitar

- Los antibióticos en esta categoría no están autorizados como medicamentos veterinarios en la UE.
- No deben usarse en animales productores de alimentos.
- Pueden administrarse a animales de compañía en circunstancias excepcionales.

Categoría C

Precaución

- Para los antibióticos en esta categoría existen alternativas en la medicina humana.
- Para algunas indicaciones veterinarias, no hay alternativas pertenecientes a la Categoría D.
- Se considerarán solo cuando no haya antibióticos de la Categoría D que puedan ser clínicamente eficaces.

Categoría B

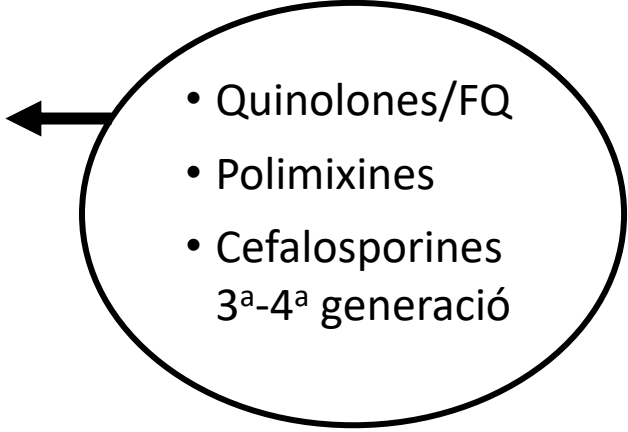
Limitar

- Los antibióticos en esta categoría tienen una importancia trascendental en la medicina humana y su uso en animales deberá limitarse a fin de mitigar el riesgo para la salud pública.
- Se considerarán únicamente cuando no haya antibióticos de las Categorías C o D que puedan ser clínicamente eficaces.
- Su uso se basará en pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, siempre que sea posible.

Categoría D

Prudencia

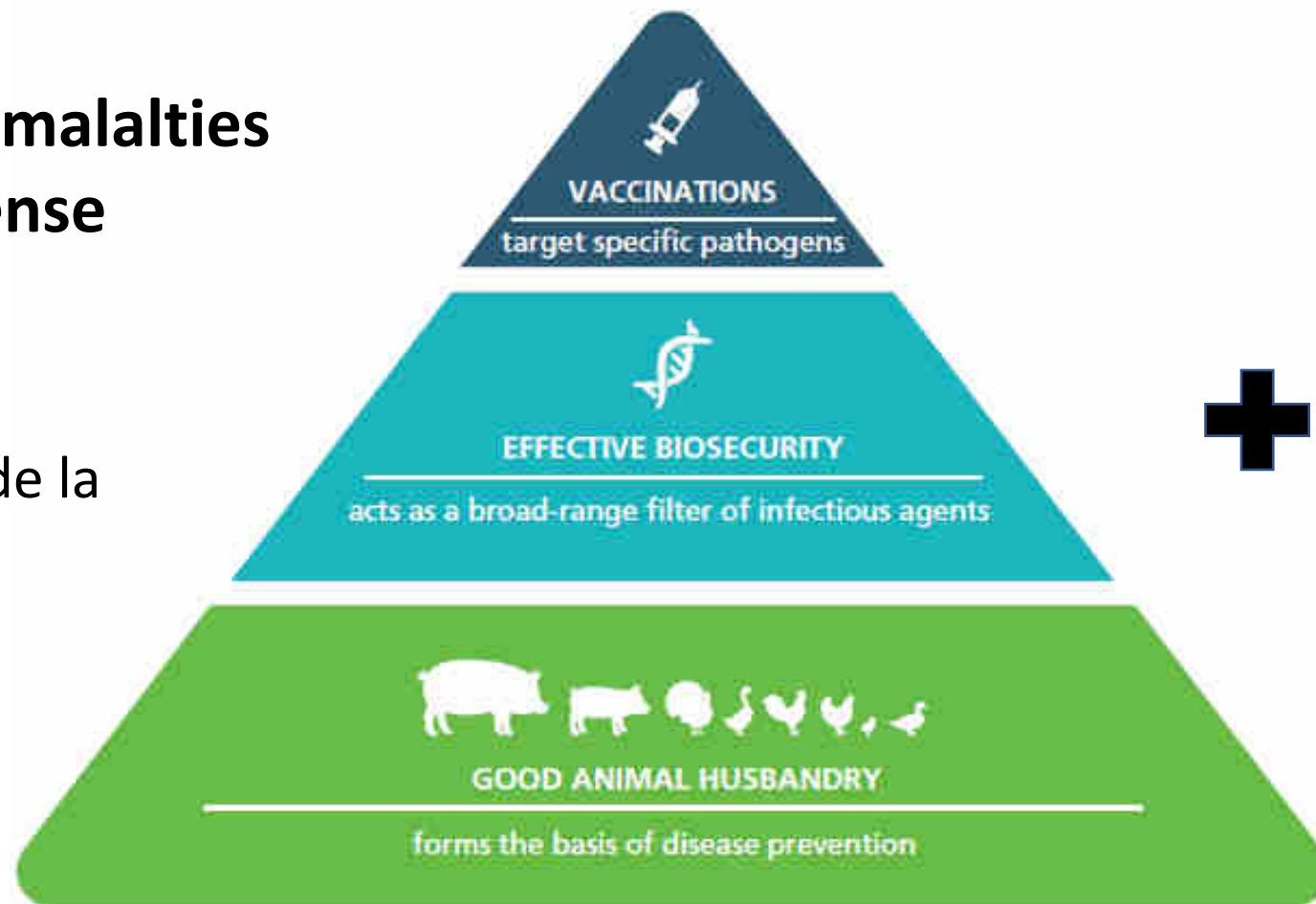
- Se usarán como tratamientos de primera línea, siempre que sea posible.
- Como siempre, se usarán con precaución, y solo cuando sea necesario desde el punto de vista médico.

- 
- Quinolones/FQ
 - Polimixines
 - Cefalosporines
3^a-4^a generació

<https://www.resistenciaantibioticos.es/es/lineas-de-accion/vigilancia/antibioticos-criticos>

Prevenió de malalties infeccioses sense antibiòtics

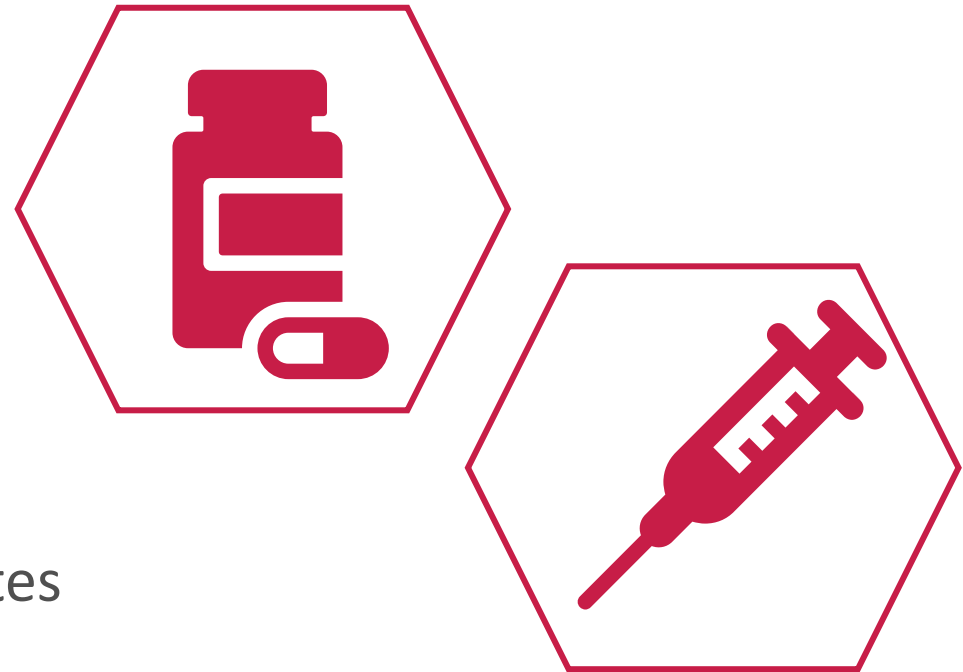
Gestió integral de la salut animal



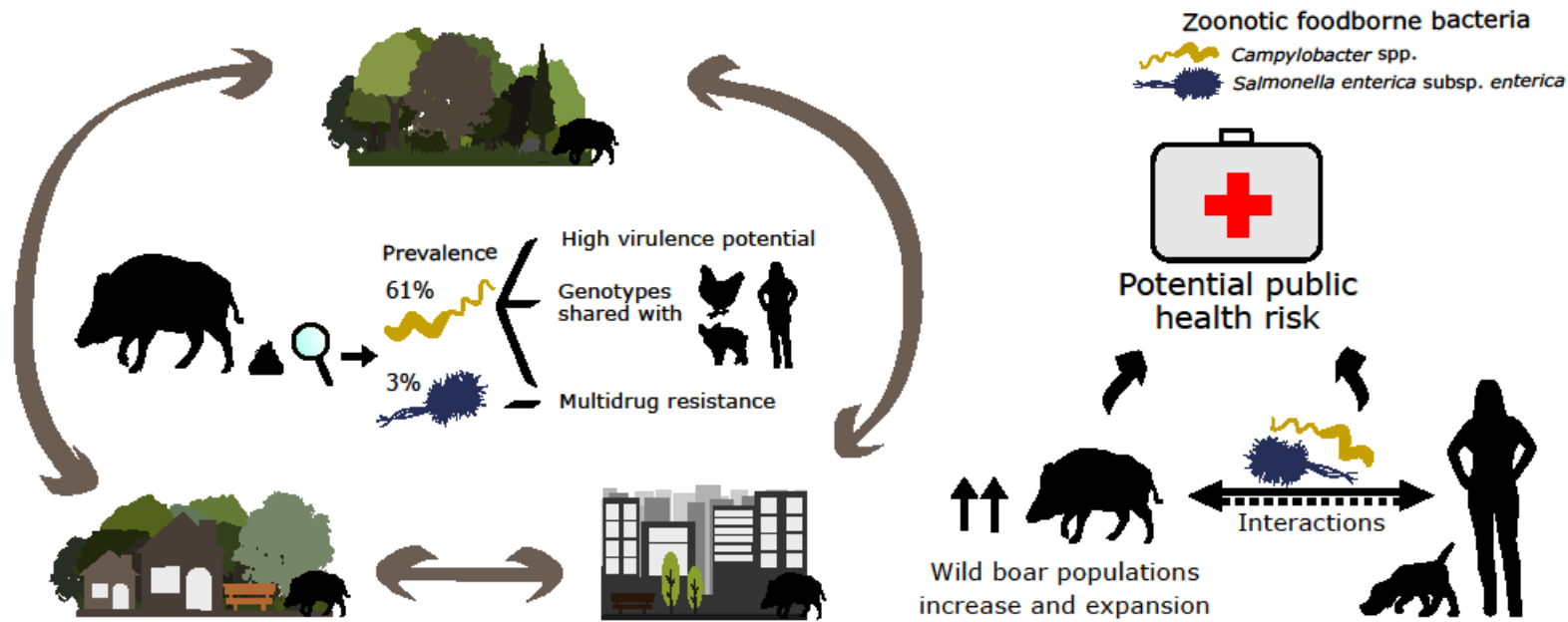
Ús prudent i
mèdicament eficient
dels antibiòtics

Utilitzar els antibiòtics amb prudència és utilitzar-los correctament. S'han de seguir **les sis R** quan s'utilitzen antibiòtics:

1. Diagnòstic veterinari correcte
2. Animal correcte
3. Antibiòtic correcte
4. Dosi correcta
5. Durada correcta
6. Emmagatzematge i durada correctes

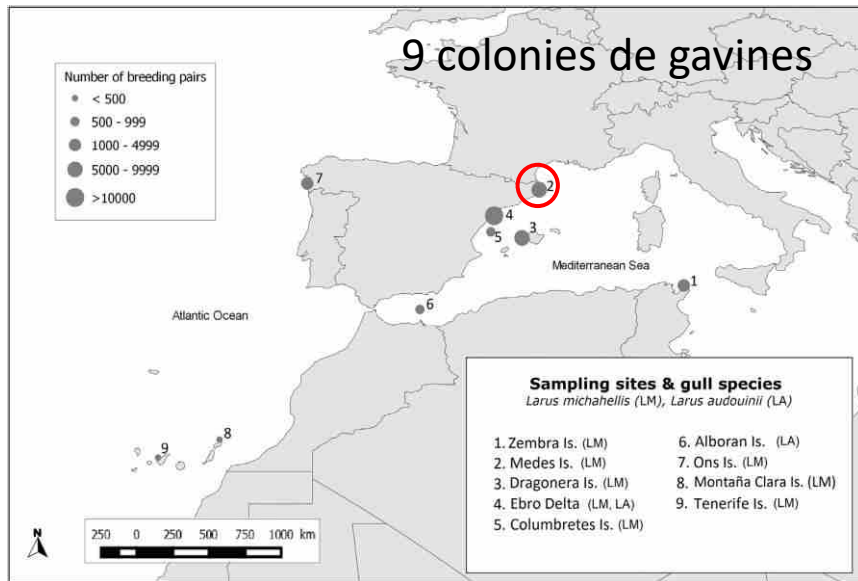


EL MEDI AMBIENT: FAUNA SALVATGE I RESISTÈNCIES A ANTIBIÒTICS



Castillo-Contreras et al. 2022. Sci.Total Environ. 822: 153444

EL MEDI AMBIENT: FAUNA SALVATGE I RESISTÈNCIES A ANTIBIÒTICS



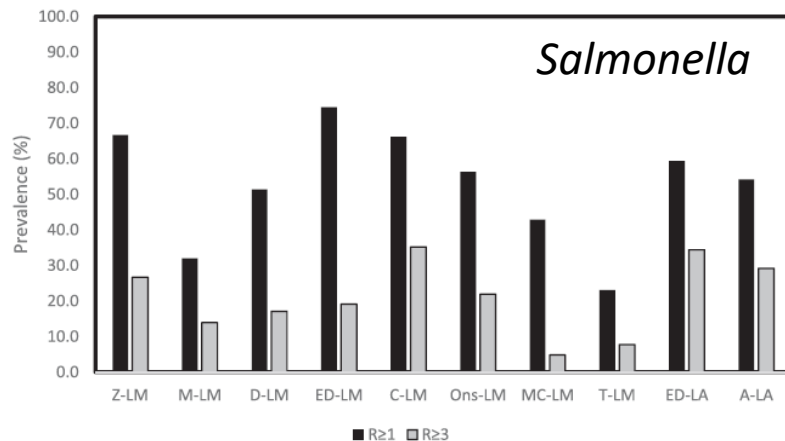
C. jejuni i *Salmonella* pràcticament a totes les colonies de gavines

Gavià de pota groga: 69 serovars *Salmonella*

Gavina d'Audouin: 21 serovars *Salmonella*

5.2% *Campylobacter* spp → 20.2 % AMR

20.8% *Salmonella* spp → 51.5% AMR / 19.2% MDR

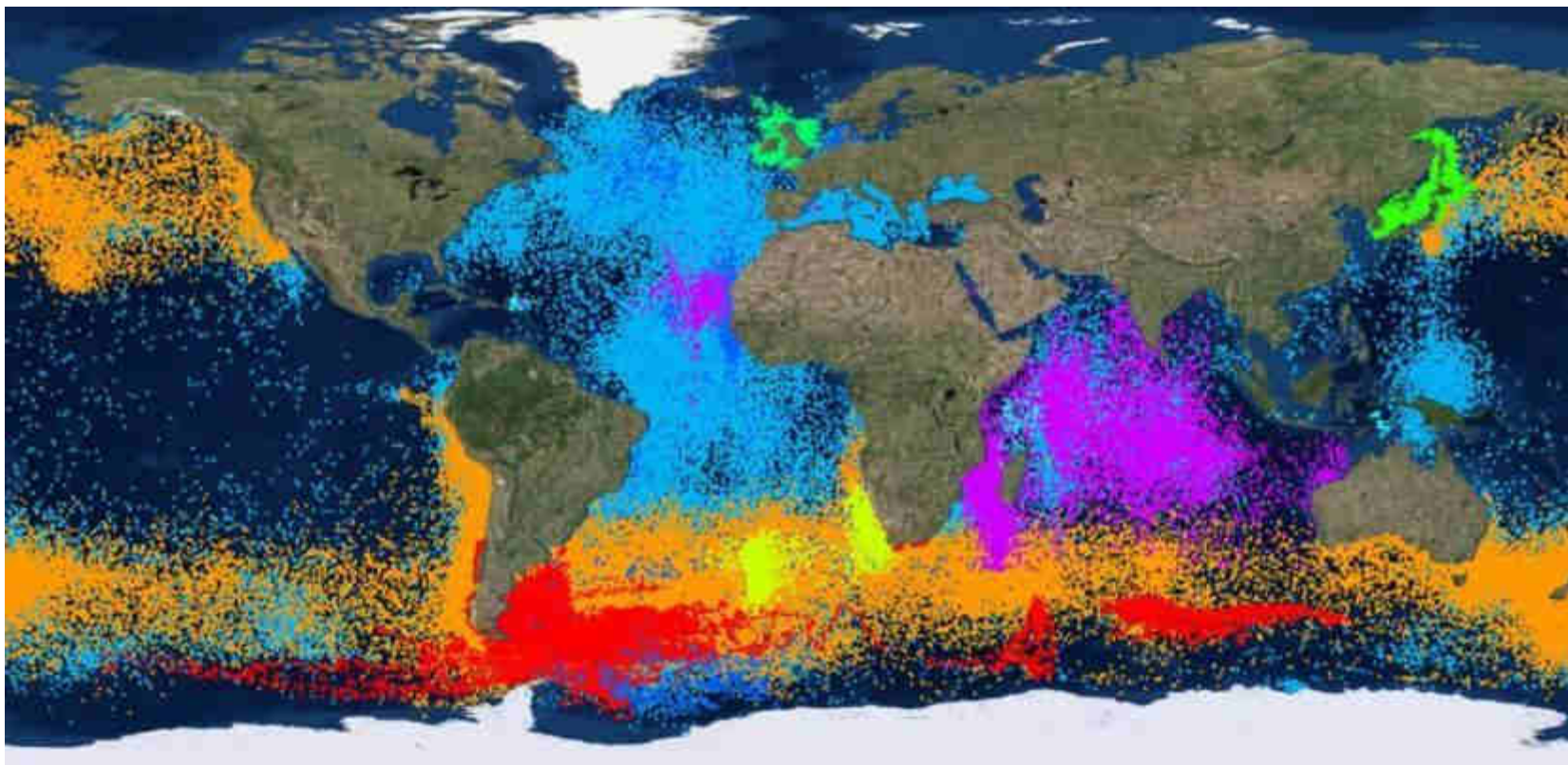


Antilles et al. 2021. Sci.Total Environ. 763: 143018

Trànsit aeri mundial

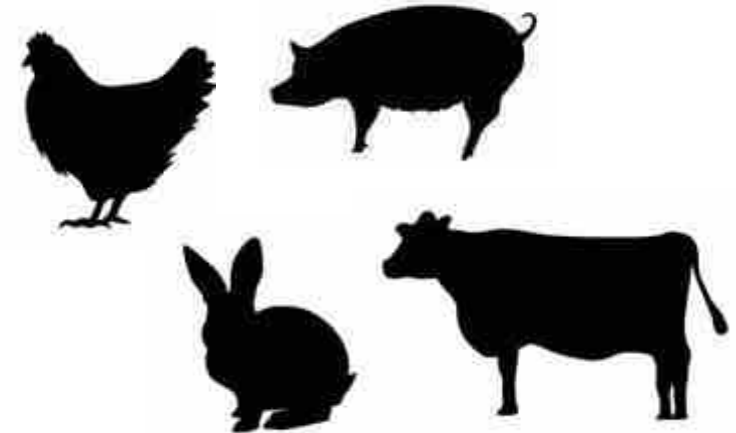
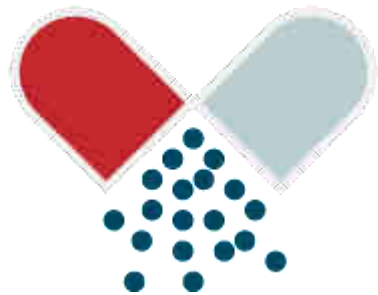


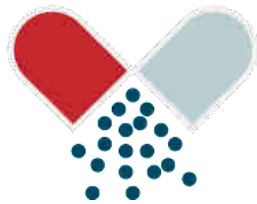
Moviments migratoris dels ocells



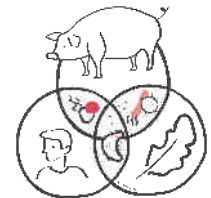
<http://www.seabirdtracking.org/index.php>

**Tan poc com sigui possible,
tant com sigui necessari**





Gràcies per la vostra atenció !



Salut intestinal i producció avícola sense antibiòtics

Joan Tarradas, Joaquim Brufau, Borja Vilà

IRTA Nutrició Animal

Jornada Tècnica PATT 2022

UAB 29 setembre 2022



Presentació

L'abús de l'ús d'antibiòtics en clínica humana i veterinària i en agricultura en les darreres dècades ha donat lloc a un augment preocupant dels bacteris resistents als mateixos, convertint-se en una de les majors amenaces per a la salut humana i animal. Per aquesta raó, diferents organismes internacionals fa anys que van fer una crida a l'ús prudent d'antibiòtics i a la necessitat de reduir-ne dràsticament el seu ús en tots els àmbits. A Espanya, les mesures per garantir aquest ús responsable van prendre forma al Plan Nacional de Resistencia a los Antibióticos (PRAN), iniciat el 2014 seguint una directiva de la Comissió Europea.

L'objectiu d'aquesta jornada és donar una visió global, amb un enfoc d'Una Sola Salut, d'aquesta problemàtica i fer ressò dels avenços en la reducció de l'ús d'antibiòtics en avicultura, així com de les estratègies emprades, a diferents nivells, que han permès assolir en poc temps molts bons resultats. És una jornada adreçada a ramaders, veterinaris assessors, indústria agroalimentària, i investigadors del sector animal.

Aquesta jornada forma part de l'activitat de demostració "Impacte en la reducció de l'ús d'antibiòtics en vicultura de carn en la presència de *Campylobacter* spp resistents", operació 01.02.01 (transferència tecnològica) del PDR de Catalunya 2014-2020.

Lloc de realització

Sala de graus de la Facultat de Veterinària
Edifici V, Campus de la UAB
08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallès)

Inscripcions

A través de l'IRTA: [Inscripcions](#)
Per a més informació:
Sr. Javier Tobal
A/e: javier.tobal@irta.cat

L'ús d'antibiòtics en avicultura i estratègies d'èxit per a la seva reducció

Jornada tècnica

Bellaterra, dijous 29 de setembre de 2022

Programa

- | | |
|---------|---|
| 10.10 h | Benvinguda i presentació de la jornada |
| 10.15 h | L'ús prudent d'antibiòtics a la UE: situació actual i la importància d'una aproximació "One Health" per lluitar contra les resistències a antibiòtics
Sra. Marta Cerdà, investigadora del programa Sanitat Animal de l'IRTA-CReSA. |
| 11.00 h | Salut intestinal i producció avícola sense antibiòtics
Sr. Borja Vilà, investigador del programa de Nutrició Animal de l'IRTA Mas Bové. |
| 11.30 h | Com reduir l'ús d'antibiòtics en avicultura: experiència d'èxit d'una integradora avícola
Sr. Javier Cebollero, veterinari avícola de la Corporació Alimentària Guissona S.A. |
| 12.15 h | Torn obert de preguntes |
| 12.45 h | Cloenda de la jornada |

Organització

Departament d'Acció Climàtica,
Alimentació i Agenda Rural

 IRTA^R

 CReSA^R
Centre de Recerca en Sanitat Animal



Col·laboració



Índex

1. Introducció

- El col·lapse dels antimicrobians convencionals
- Relació entre resistència a antibiòtics i increment de la virulència

2. Salut intestinal

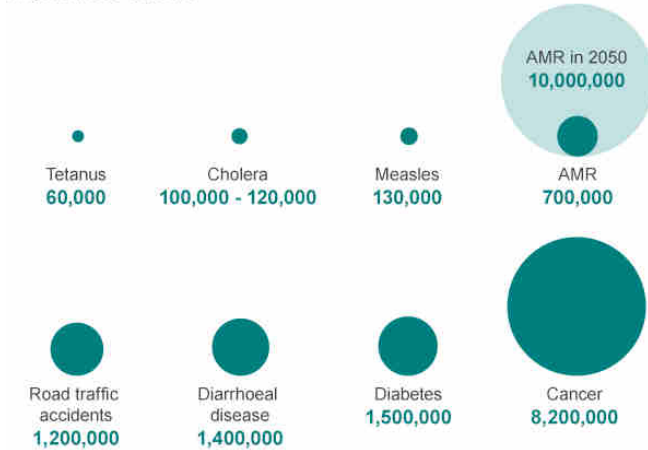
- Epiteli intestinal – inflamació / tolerància
- Com actuen els antibiòtics i les seves alternatives
- Exemples

3. Futur? Teràpies anti-virulència

- Mecanismes Quorum-Sensing & Two-Component
- Teràpies d'interferència del QS i la seva afectació

4. Conclusions

Deaths attributable to antimicrobial resistance every year compared to other major causes of death



Source: Review on Antimicrobial Resistance 2014

Deaths attributable to antimicrobial resistance every year by 2050



(O'Neill J, 2014)

El col·lapse dels antimicrobians convencionals

- Antibiòtics en dieta (us NO terapèutic) → 72% efecte positiu (Rosen, 1995)
 - Millora del creixement & FCR → 3 a 5% (Choct, 2001; Dahiya *et al.*, 2006)
 - Reducció de la mortalitat
 - Pressió selectiva molt elevada erradicació bacteriana
- Efecte negatiu
 - Aparició bacteris multi-resistents a antibiòtics (potencial amenaça per als humans) → prohibició us AGPs a la Unió Europea (2006)
 - *Escherichia coli* multi-resistents (dins la llista prioritària de l'OMS-2017) en avicultura: estudi prospectiu (2019-21) a Espanya (274 soques, totes multi-resistents) → baixa freqüència de resistències a cefalosporines, polymixina i fluoroquinolones; però elevats nivells de resistència a l'eritromicina (100%), tilosina (98%) o penicil·lina (97%); disminució al llarg dels anys (maneig/bio-seguretat), sols lincomicina incrementà. (Sevilla-Navarro *et al.*, 2022)

Reducció us d'antibiòtics (EMA – EFSA; 2016)

- Revisió de les mesures aplicades i el seu impacte sobre les AMR
- Revisió desenvolupament científic de possibles alternatives als antibiòtics
- Avaluació de l'impacte d'aquestes alternatives sobre les AMR
- Avantatges i desavantatges d'aquestes alternatives



Reducció us d'antibiòtics (EMA – EFSA; 2016)

- Revisió de les mesures aplicades i el seu impacte sobre les AMR
- Revisió desenvolupament científic de possibles alternatives als antibiòtics
- Avaluació de l'impacte d'aquestes alternatives sobre les AMR
- Avantatges i desavantatges d'aquestes alternatives

Compounds and live microorganisms used as alternatives to antimicrobials

- There are numerous published papers that discuss the potential of compounds and live microorganisms that may be used as alternatives to antimicrobials in livestock production. A very limited number of the recent studies have been conducted in the EU.
- Only a limited number of studies provide robust scientific evidence that conclusively prove that the above agents are successful alternatives, positively affecting health parameters in animals. Some of the published papers describe the use of alternatives for the reduction of disease risk.
- Study design to assess the efficacy of alternatives to antimicrobials is a key issue. The endpoints differ according to the type of claims. In many cases, alternatives have been compared with antimicrobial growth promoters (AGPs) for which the endpoints are the growth and feed parameters, which are not particularly relevant in this context.
- A positive impact on animal health parameters has been demonstrated for some of the alternatives considered. These include: organic acids, probiotics, competitive exclusion, synbiotics, passive immunisation, bacteriophages, immunomodulators, Zinc oxide, clay minerals and teat sealants. Evidence on the efficacy of these alternatives, associated risks and specific knowledge gaps are listed in Section 4.4.
- Gaps in knowledge limit the use of alternatives to antimicrobials in animal husbandry in the EU:
 - there are very few cases in which data on the same agent used as alternative to antimicrobials are reported in more than one study;
 - most of these studies demonstrate the efficacy of these agents, but very few are clinical trials or provide robust data to demonstrate the efficacy according to the methodology recommended in market authorisation criteria as feed additives or veterinary medicines.

Reducció us d'antibiòtics (EMA – EFSA; 2016)

- Revisió de les mesures aplicades i el seu impacte sobre les AMR
- Revisió desenvolupament científic de possibles alternatives als antibiòtics
- Avaluació de l'impacte d'aquestes alternatives sobre les AMR
- Avantatges i desavantatges d'aquestes alternatives

Programes nacionals PRAN – REDUCE

Llista d'antimicrobians d'ús exclusiu en humans (18 antibiòtics, 18 antivirals, 1 antiprotozoari) - Reglamento de Ejecución (UE) 2022/1255 de la Comisión de 19 de julio de 2022

Resistència i virulència

- Forma d'acció dels antibiòtics convencionals
 - Inhibició/regulació d'enzims involucrats en
 - la biosíntesi de la paret cel·lular
 - el metabolisme dels àcids nucleics
 - la síntesi proteica
 - Disrupció de la membrana cel·lular



Alta pressió selectiva sobre les comunitats bacterianes en contacte amb l'antibiòtic



**RESISTÈNCIES
ANTIMICROBIANES**



(Schroeder et al., 2017)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Resistència i virulència

Mecanismes i transmissió de resistències antimicrobianes i factors de resistència

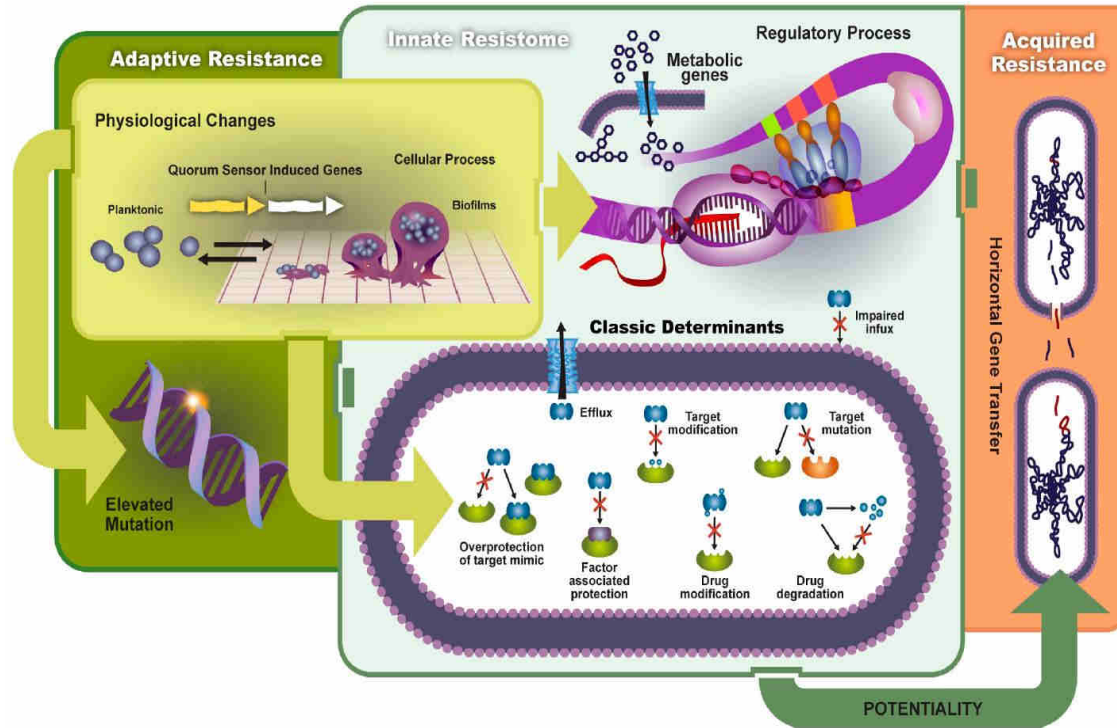


Figure 1. The transmission and mechanisms of antibiotic resistance and virulence can be divided into adaptive resistance, innate resistance, and acquired resistance. Environmental factors can prompt physiological changes and lead to: (1) elevated mutation rates; (2) changes in metabolic genes and regulatory processes; and (3) a host of classic antibiotic inactivation and resistance mechanisms (classic determinants). Such resistance and increased virulence can potentially be shared among bacteria leading to acquired resistance.

Resistència a antibiòtics:

↑ Taxa de mutació

Canvis en el biofilm

Alteració de la diana de l'AB

Permeabilitat cel·lular

Bombes de flux

Transferència gens

L'adquisició de resistència a antibiòtics està totalment relacionada amb l'increment de la virulència i viceversa

(Schroeder et al., 2017)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions



Generalitat de Catalunya
Government of Catalonia

IRTA^R

Salut intestinal i producció avícola sense antibiòtics

8/41

Increment de la virulència

Virulència: capacitat dels bacteris d'infiltrar-se, colonitzar i causar malaltia a l'hoste.

La transmissió de les resistències als antibiòtics i als factors de virulència tenen mecanismes paral·lels.

Mecanismes de virulència

- Molècules d'adhesió → habilitat d'adherir-se i crear biofilms
- Invasió del teixit → sobre-expressió d'enzims que trenquen la membrana cel·lular
- Competició per recursos → Fe
- Evasió i inhibició del SI
- Secreció de toxines
- Motilitat bacteriana
- Plàsmids de virulència

La regulació dels gens de virulència pot influir l'expressió de gens de resistència a antibiòtics i viceversa

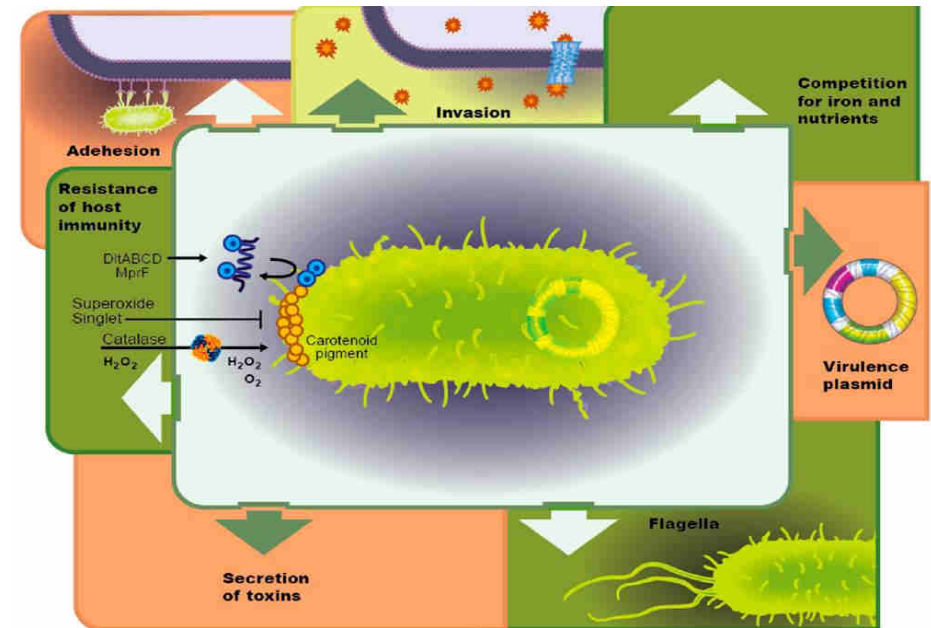


Figure 3. Summary of virulence factors commonly recognized.

(Schroeder et al., 2017)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Regulació de la virulència i de les resistències a antibiòtics

Regulació genètica:

- Modificacions post-transcripcionals
- Ribo-regulació
- Factors ambientals (presència antibiòtics)
- Transferència gens virulència
- Resposta a estrès
- Formació biofilm

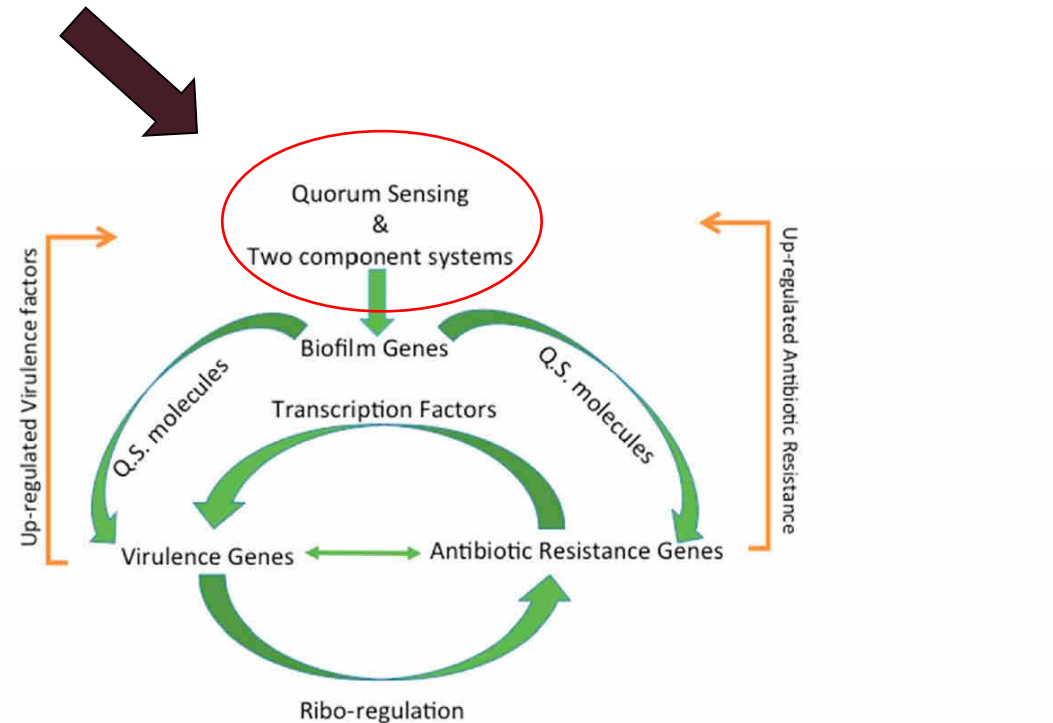


Figure 4. Common regulatory mechanisms act as a connection between virulence and antibiotic resistance. Quorum sensing and two component systems upregulate biofilm genes, which in turn upregulate quorum sensing molecules that in turn influence virulence and antibiotic resistance genes. Up-regulated virulence and antibiotic resistance genes serve to upregulate quorum sensing and two component systems and complete the cycle.

(Schroeder et al., 2017)

Introducció

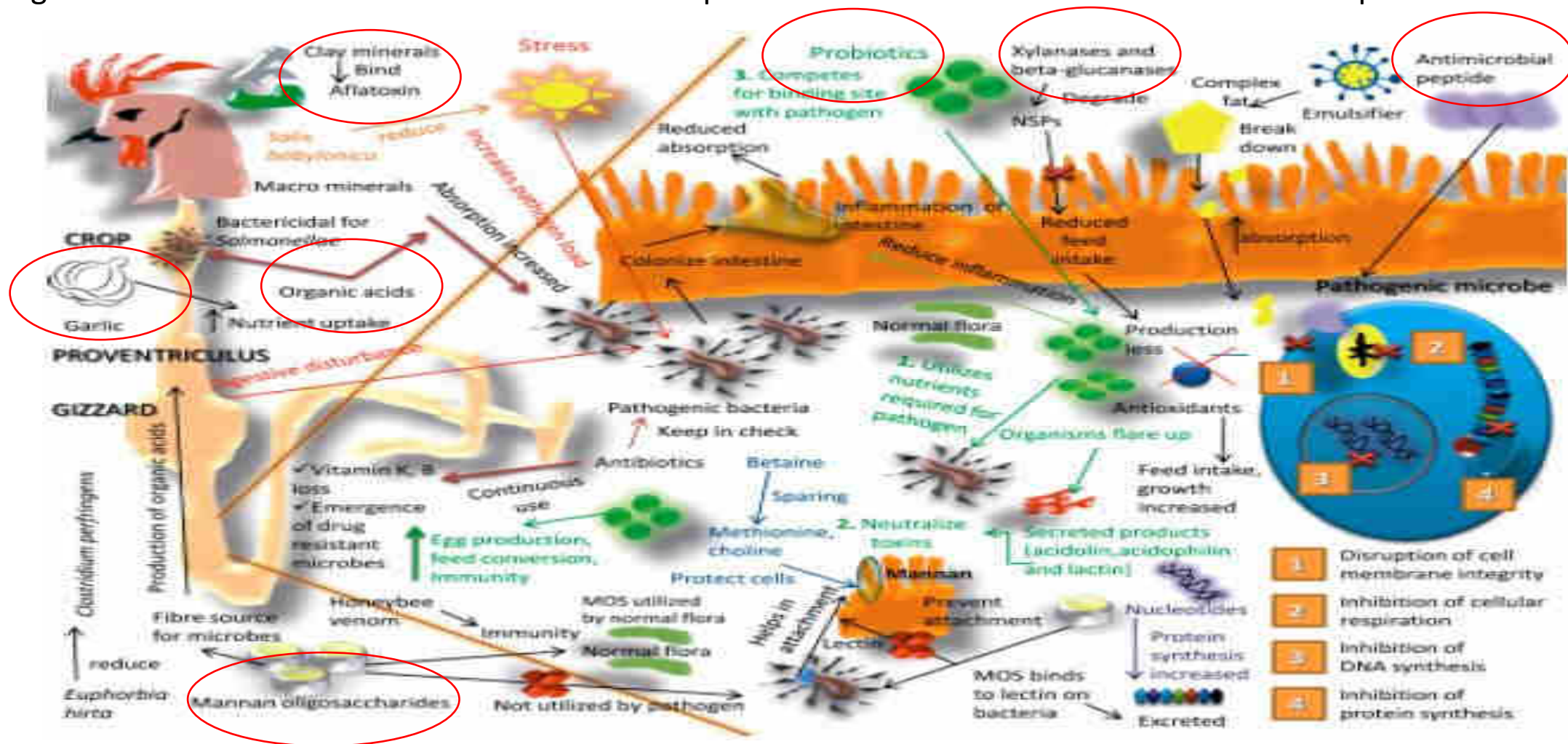
Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

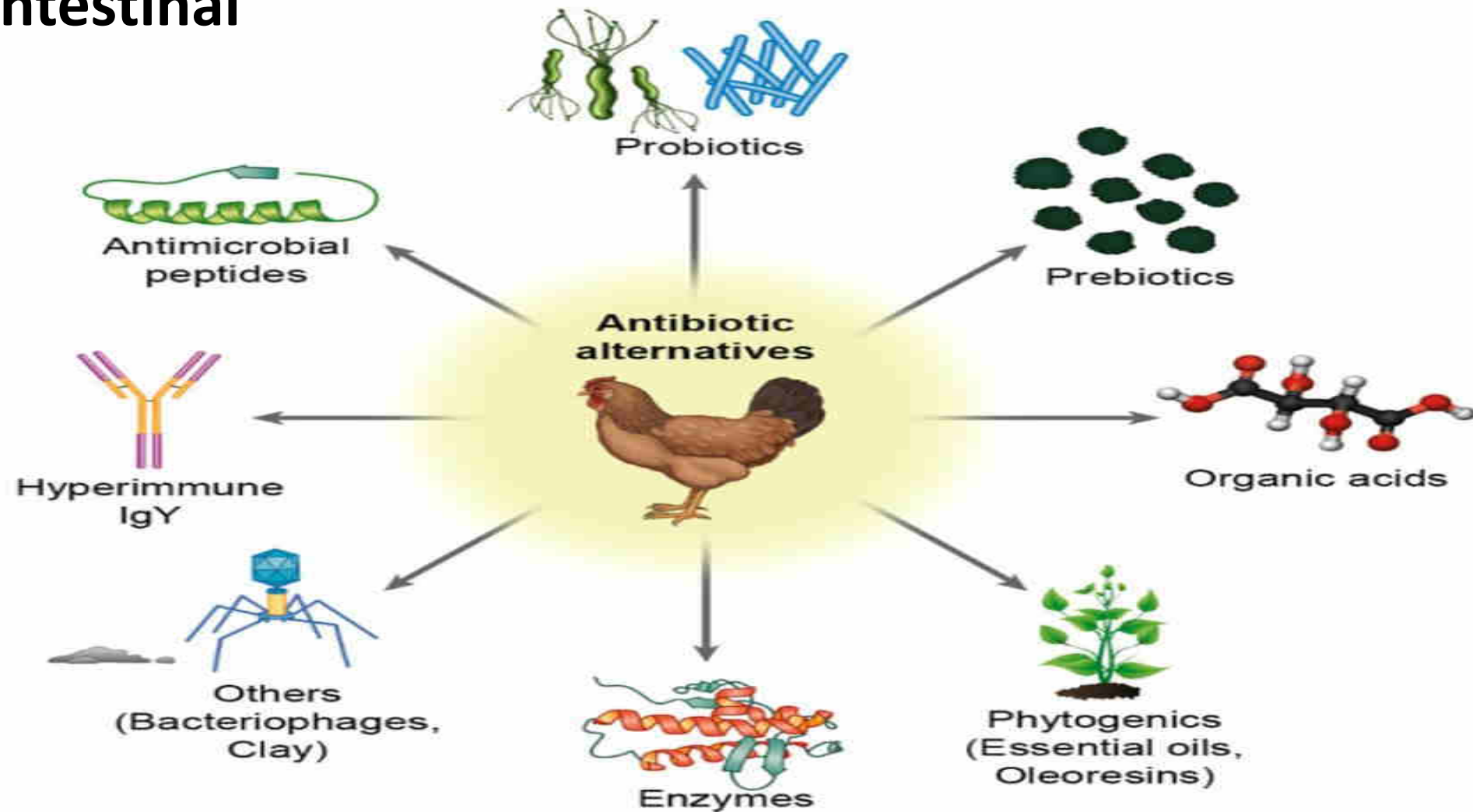
Salut intestinal

Visió general dels mecanismes d'acció i beneficis dels promotors del creixement i dels additius en la producció i salut avícoles



(Dhama et al., 2014)

Salut intestinal



combinació
de diferents
alternatives
lligat a un
bon maneig i
bio-seguretat

Various classes of antibiotic alternatives that are available for use in poultry production.

(Gadde et al., 2017)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

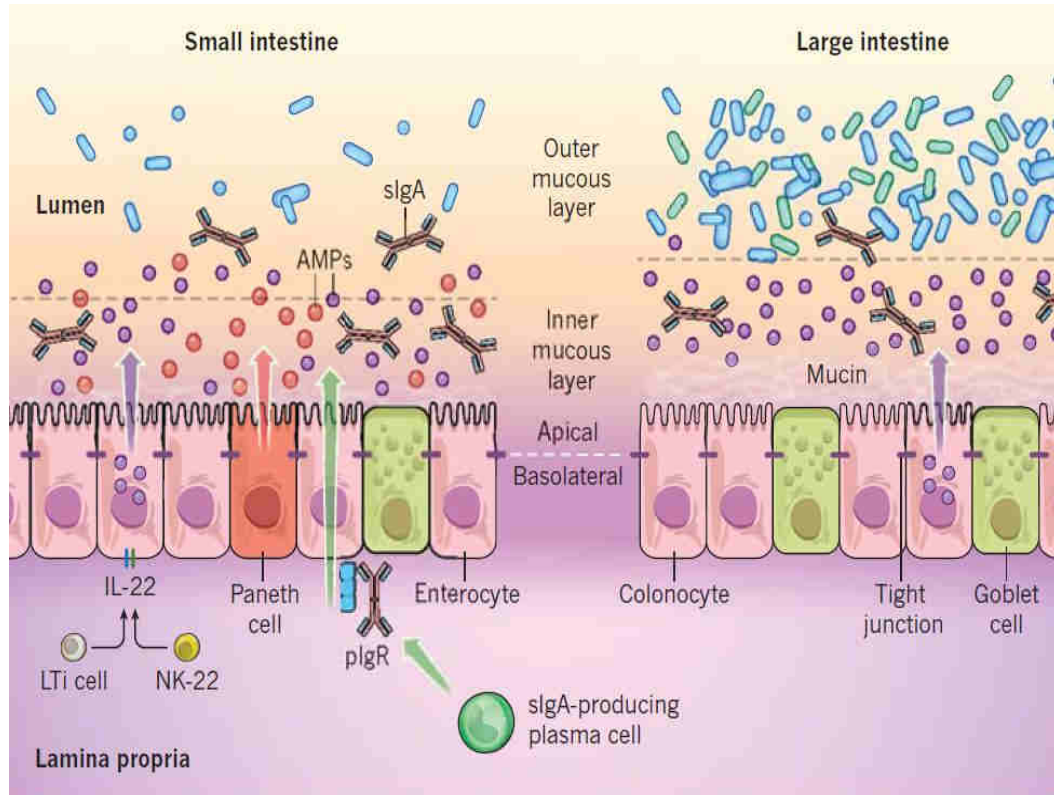
Conclusions

Epiteli intestinal

- Barrera de defensa altament especialitzada que confina la microbiota i evita l'entrada de patògens, però mantenint la seva funció principal → absorció de nutrients

- El tracte intestinal → barrera de >300 m² als humans, amb una defensa per capes

- Mucus
- Epiteli
- Làmina pròpia (cèl·lules de resposta immune innata i adaptativa)
- Unions estretes
- Separació física de la zona apical i baso-lateral



(Maynard et al., 2012; Peterson & Artis; 2014)

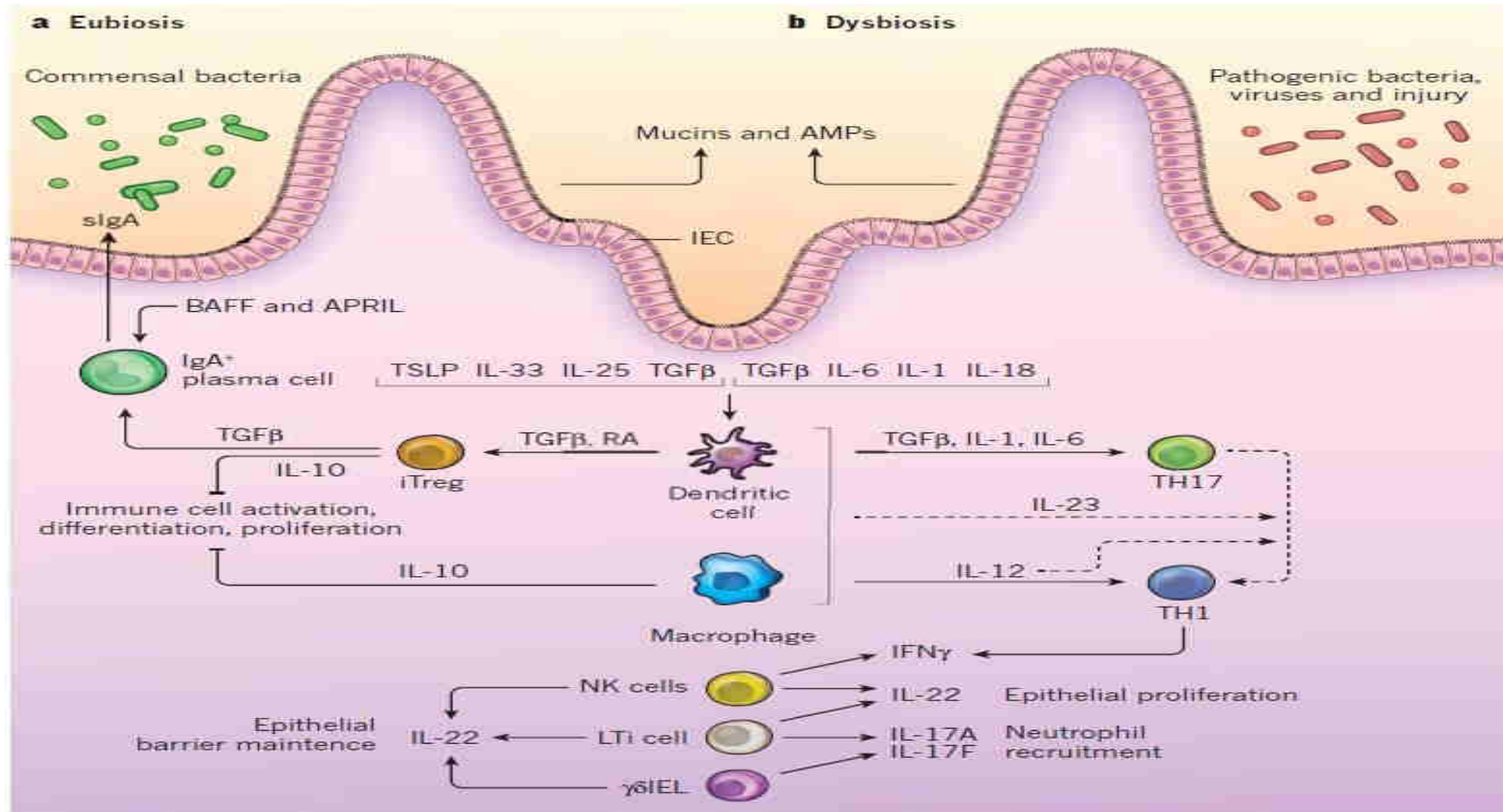
Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Propi / Aliè → Tolerància / Inflamació



(Maynard et al., 2012)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

WAR AND PEACE AT MUCOSAL SURFACES

Philippe J. Sansonetti

Abstract | That we live with numerous bacteria in our gut without any adverse effects is a remarkable feat by the body's immune system, particularly considering the wealth of sensing and effector systems that are available to trigger inflammatory or innate immune responses to microbial intrusion. So, a fine line seems to exist between the homeostatic balance maintained in the presence of commensal gut flora and the necessarily destructive response to bacterial pathogens that invade the gut mucosa. This review discusses the mechanisms for establishing and controlling the 'dialogue' between unresponsiveness and initiation of active immune defences in the gut. *Si vis pacem, para bellum*. (If you wish for peace, prepare for war.)

Figure 1 | Expression of TLRs and NOD2 by luminal surface versus crypt epithelial cells in the small intestine.

This scheme shows the probable differences between the epithelial cells at the luminal surface and those in the crypts of the gut in terms of their expression of pattern-recognition receptors — such as Toll-like receptors (TLRs) and nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) proteins — for sensing the presence of microorganisms through their pathogen-associated molecular patterns. To protect stem cells and their environment, crypts are organized as integrated units of bacterial sensing and destruction, in which Paneth cells (through their production of defensins) have an important role. A similar pattern is likely to occur in the colon, in which Paneth cells are absent, but (γ)-defensins are produced by epithelial cells. CXCL8, CXCL-chemokine ligand 8.

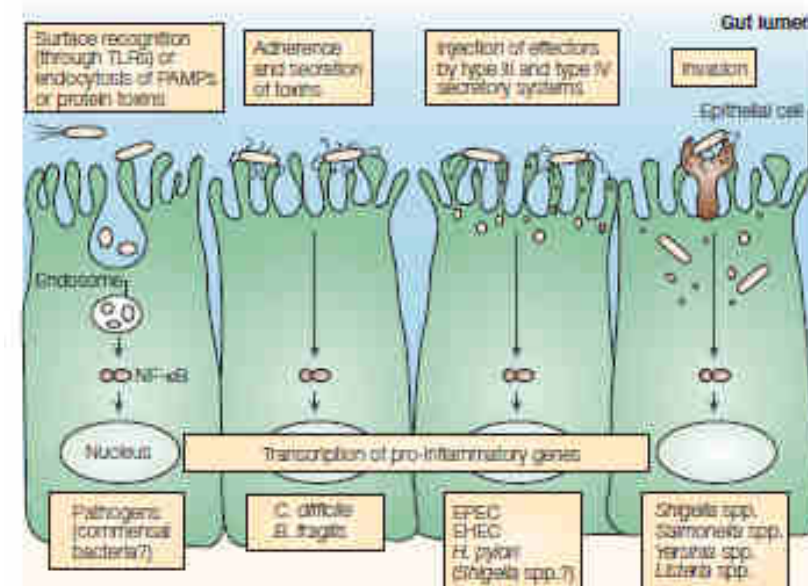
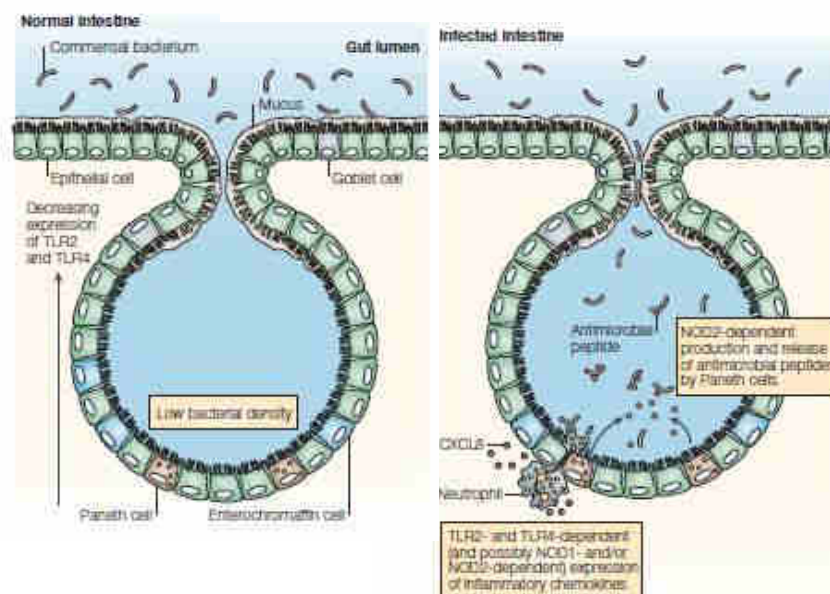
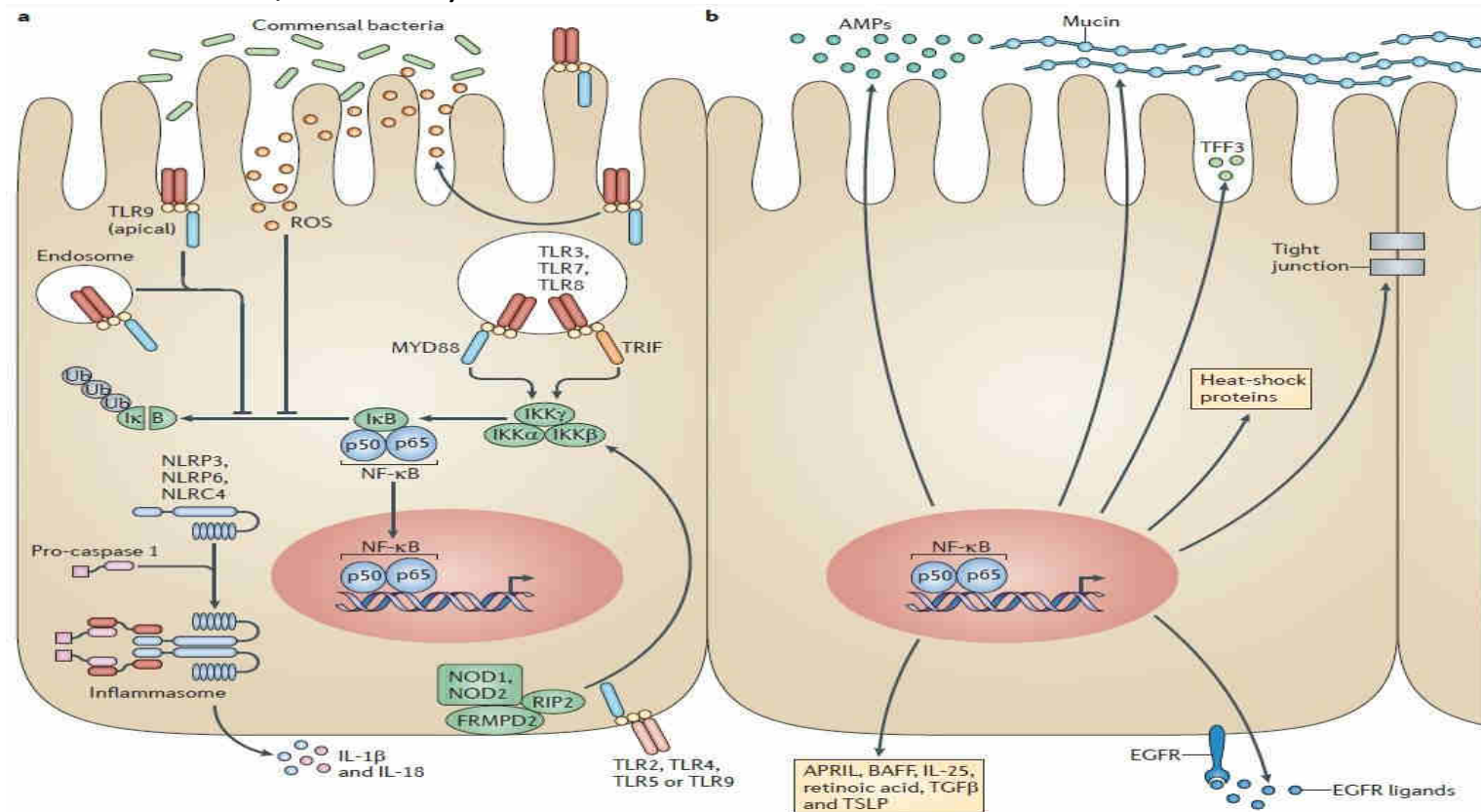


Figure 2 | Bacteria trigger a pro-inflammatory programme in intestinal epithelial cells, using various strategies. Pathogenic bacteria and possibly commensal bacteria can be detected by epithelial cells through cell-surface receptors (such as Toll-like receptors, TLRs) or by endocytosis of microbial products. Detection by TLRs or other intracellular pattern-recognition receptors triggers a signalling cascade that results in the activation of nuclear factor-κB (NF-κB), which translocates to the nucleus, where it promotes the transcription of pro-inflammatory genes. Some pathogenic bacteria (such as *Clostridium difficile* and *Bacteroides fragilis*) adhere to epithelial cells and secrete toxins, which induce NF-κB activation. By contrast, enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) and *Helicobacter pylori* inject effector molecules into the cell through type III or type IV secretory systems. A different mechanism is also used by *Shigella* spp. and *Salmonella* spp., which directly invade the cell, resulting in NF-κB activation (which is thought to be largely nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-protein dependent) and stimulation of an inflammatory response. PAMP, pathogen-associated molecular pattern.

Regulació de la inflamació

- Les cèl·lules de l'epiteli intestinal (IECs) expressen receptors de reconeixement de patrons (PRR) → sensors de l'ambient microbià que participen activament en la inducció de la resposta immune
- PRRs → reconeixement d'estructures microbianes foranies o molècules endògenes associades a patogènesi (Microbe-Associated Molecular Patterns, MAMPs)

resposta
PRO-INFLAMATÒRIA
O
ANTI-INFLAMATÒRIA



(Peterson & Artis; 2014)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Modus d'acció dels antibiòtics i de les alternatives

- Efecte directe sobre el patogen
- Interacció amb les cèl·lules immunològiques →
 - ↓ citosines pro-inflamatòries →
 - ↑ inflamació ↓ gana ↑ catabolisme muscular
- Efectes sobre la microbiota
 - canvis en la estructura i la diversitat
 - ↓ capacitat d'induir inflamació
 - ↑ recuperació energia dels nutrients
 - ↑ [SCFA] (expressió de gens immunitat / microbiota)
 - millora del rendiment



Alternativa ideal als antibiòtics

- Modus d'acció ~ als antibiòtics
 - Microbiota
 - Immunomodulació
 - FCR / ADG
 - Efectes sobre els patògens

(Niewold, 2007; Huyghebaert et al., 2011; Cho et al., 2012; Cox et al., 2014; Gadde et al., 2017)

Introducció

Salut intestinal

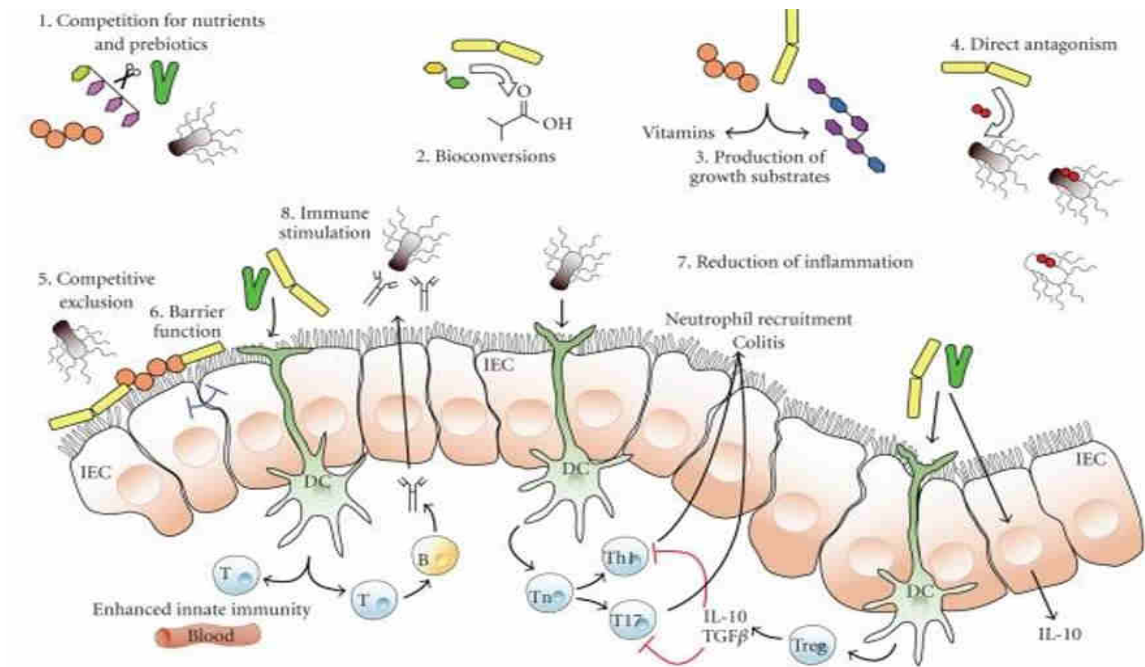
Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Probiòtics

Objectiu → establir un micro-ambient a l'intestí que afavoreixi a microorganismes beneficiosos i redueixi la colonització de patògens (exclusió competitiva)

- Ambient hostil (producció àcid làctic, SCFA i ↓ pH)
- Competició pels nutrients ←
- Producció i secreció de substàncies antibacterianes (bacterícines)
- Interferència del Quorum-Sensing
- Impedir l'adhesió i translocació de bacteris patògens
- Manteniment de l'homeòstasi cel·lular
- Regeneració de cèl·lules epitelials
- Inhibició apoptosi
- Modulació citoesquelet
- Increment síntesi mucines ←
- Reducció tòxics (amoni) ←
- Reducció citocines pro-inflamatòries ←
- Increment sIgA ←
- Activació limfòcits intra-epitelials ←



(Vilà et al., 2010; Gadde et al., 2017; Khalighi et al., 2016)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Reduction of *Salmonella enterica* var. Enteritidis colonization and invasion by *Bacillus cereus* var. *toyoi* inclusion in poultry feeds

B. Vilà,*¹ A. Fontgibell,* I. Badiola,† E. Esteve-Garcia,* G. Jiménez,‡ M. Castillo,‡ and J. Brufau*

2009 Poultry Science 88:975–979
doi:10.3382/ps.2008-00483

Table 1. Summary results of performance variables (replicate = pen) for the whole trial period (1 to 42 d) from combining inoculated¹-treated² (IT) or inoculated¹-untreated (IU) groups of birds (Ross 308 broiler chickens) from experiment 1

Item	n	BW (g)	ADG (g)	FCR ³ (kg/kg)	EPEF ³	Dead (%)
IT	6	2,164 ± 38.0	50.6 ± 0.91	1.831 ± 0.01352	256 ± 11.8	8.9 ± 3.51
IU	6	2,023 ± 39.1	47.3 ± 0.93	1.891 ± 0.01389	225 ± 12.2	11.7 ± 3.61
UU ⁴	2	2,113 ± 65.9	49.4 ± 1.57	1.864 ± 0.02342	221 ± 20.5	18.5 ± 6.09
Estimated differences						
IT – IU		140.8 ± 54.51	3.35 ± 1.298	–0.06023 ± 0.01939	31.2 ± 16.97	–2.80 ± 5.039
P-value		*	*	*	0.116	0.599
IT – UU		51.5 ± 76.04	1.23 ± 1.811	–0.03327 ± 0.02704	34.6 ± 23.68	–9.59 ± 7.029
P-value		0.523	0.523	0.265	0.195	0.222
IU – UU		–89.3 ± 76.57	–2.13 ± 1.823	0.02696 ± 0.02723	3.4 ± 23.84	–6.79 ± 7.078
P-value		0.288	0.288	0.360	0.892	0.375

Table 2. Results of microbiological analysis from ceca for determination of the presence/absence of *Salmonella enterica* var. Enteritidis in experiment 1 (number of birds with presence of *Salmonella*/total number of birds sampled; replicate = bird; Kruskal-Wallis test)

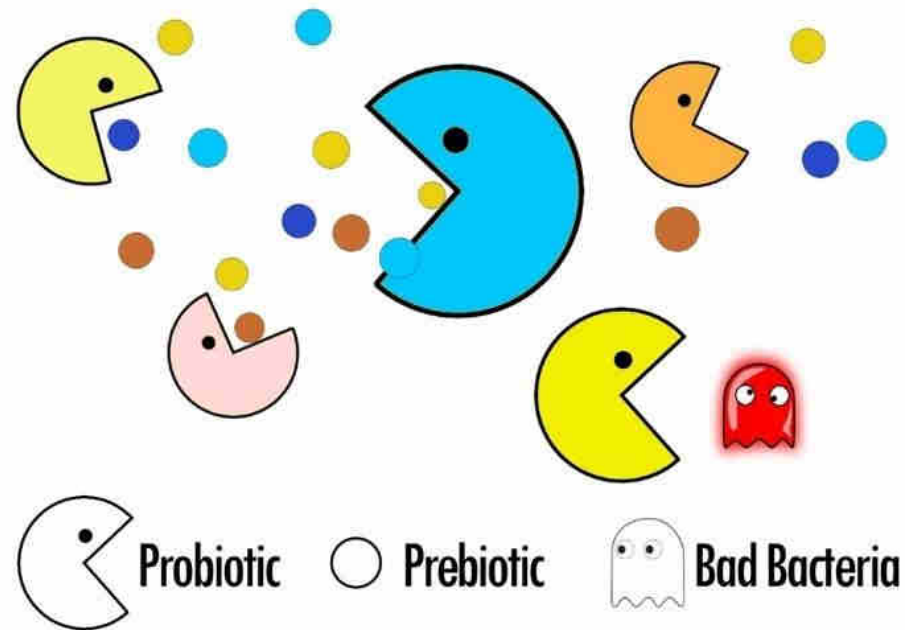
Treatment	Day 3	Day 7	Day 10	Day 14	Day 17	Day 28	Day 42
Inoculated _{day 3} ¹ untreated (IU)	—	1/4	0/4	—	—	2/4	0/4
Inoculated _{day 3} ¹ treated ² (IT)	—	1/4	2/4	—	—	1/4	0/4
Inoculated _{day 7} ¹ untreated (IU)	—	—	0/4	2/4	—	4/4	4/4
Inoculated _{day 7} ¹ treated (IT)	—	—	1/4	1/4	—	2/4	0/4
Inoculated _{day 14} ¹ untreated (IU)	—	—	—	—	0/4	1/4	1/4
Inoculated _{day 14} ¹ treated (IT)	—	—	—	—	0/4	0/4	0/4
Uninoculated untreated	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
IU						7/12	5/12
IT						3/12	0/12
P-value						0.105	*

Prebiòtics

Ingredient del pinso no digerible amb efecte beneficiós per a l'hoste

Tipus → Polisacàrids No Amilacis (NSP), Oligosacàrids (MOS, FOS, inulina ...)

- Enriquiment selectiu de microorganismes beneficiosos
- Impedir la colonització de patògens
 - Unió física
 - Alteració de la microbiota
 - Exclusió competitiva
 - Inducció de bactericines
 - Àcid làctic
 - SCFA
 - Immunomodulació



(Gadde et al., 2017; Khalighi et al., 2016)

Introducció

Salut intestinal

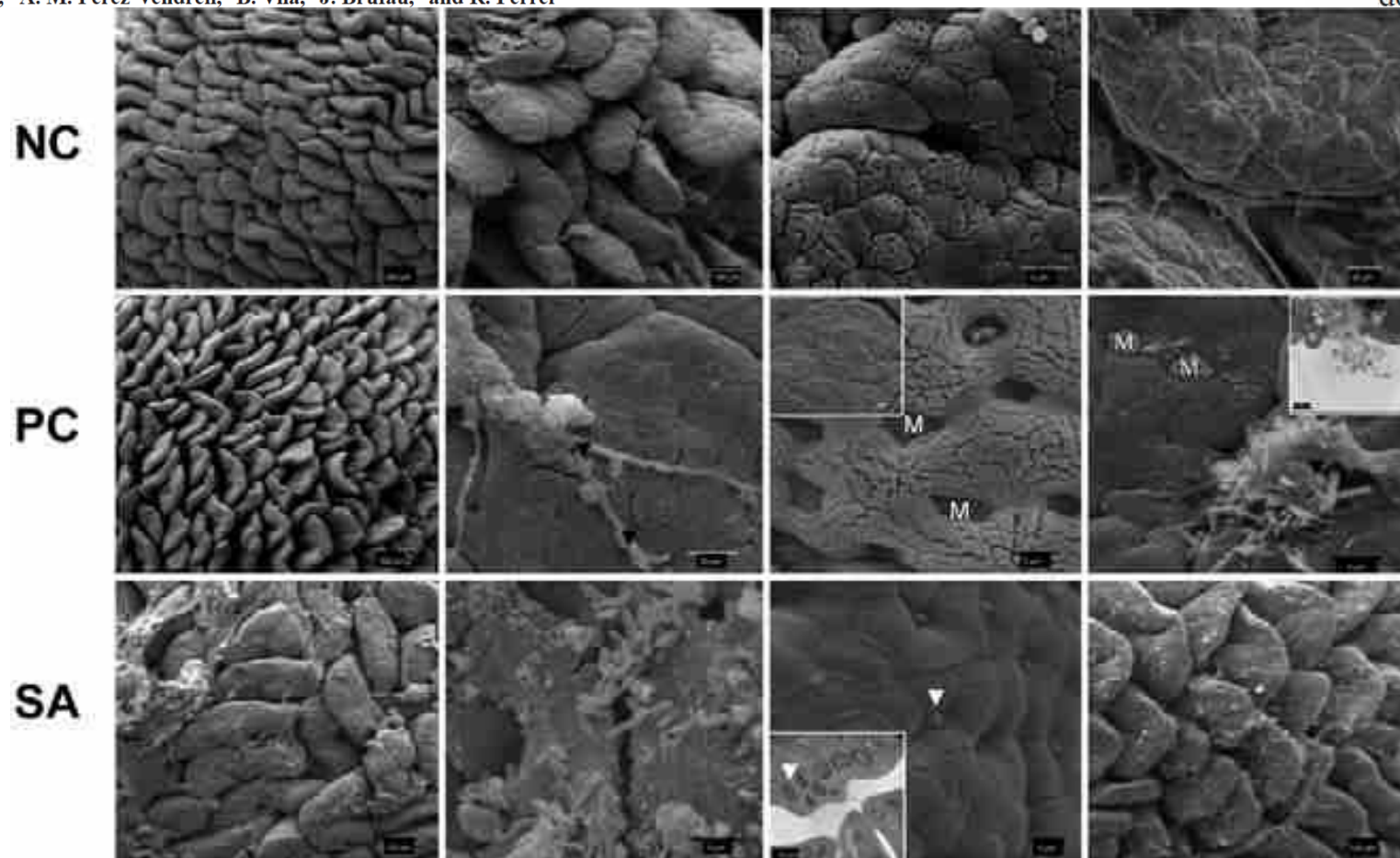
Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Dietary β -galactomannans have beneficial effects on the intestinal morphology of chickens challenged with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis

M. T. Brufau,* R. Martín-Venegas,*²
A. M. Guerrero-Zamora,* A. M. Pérez-Vendrell,[†] B. Vilà,[†] J. Brufau,[†] and R. Ferrer*

J. Anim. Sci. 2015.93:238–246
doi:10.2527/jas2014-7219



β GM $\uparrow$ # cè·l·lules caliciformes & producció de moc $\uparrow$ longitud villi & superfície epitelial
 $\downarrow$ adhesió Salmonel·la als receptors de l'epiteli $\downarrow$ # cè·l·lules M (característiques d'animals infectats)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

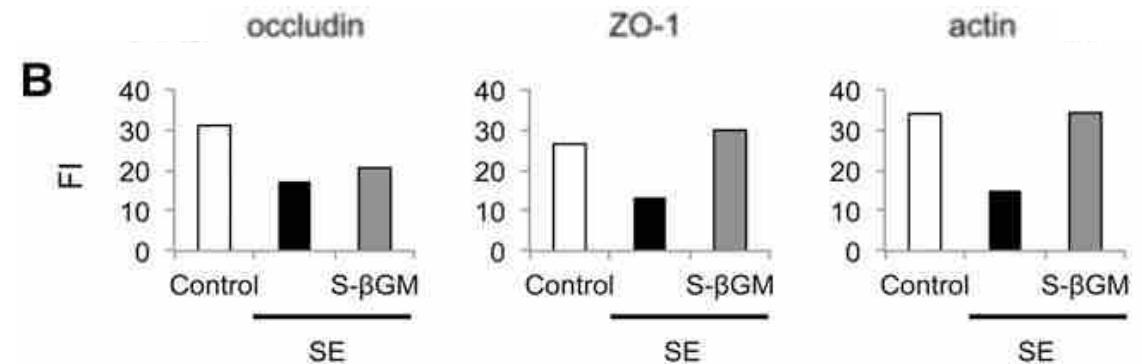
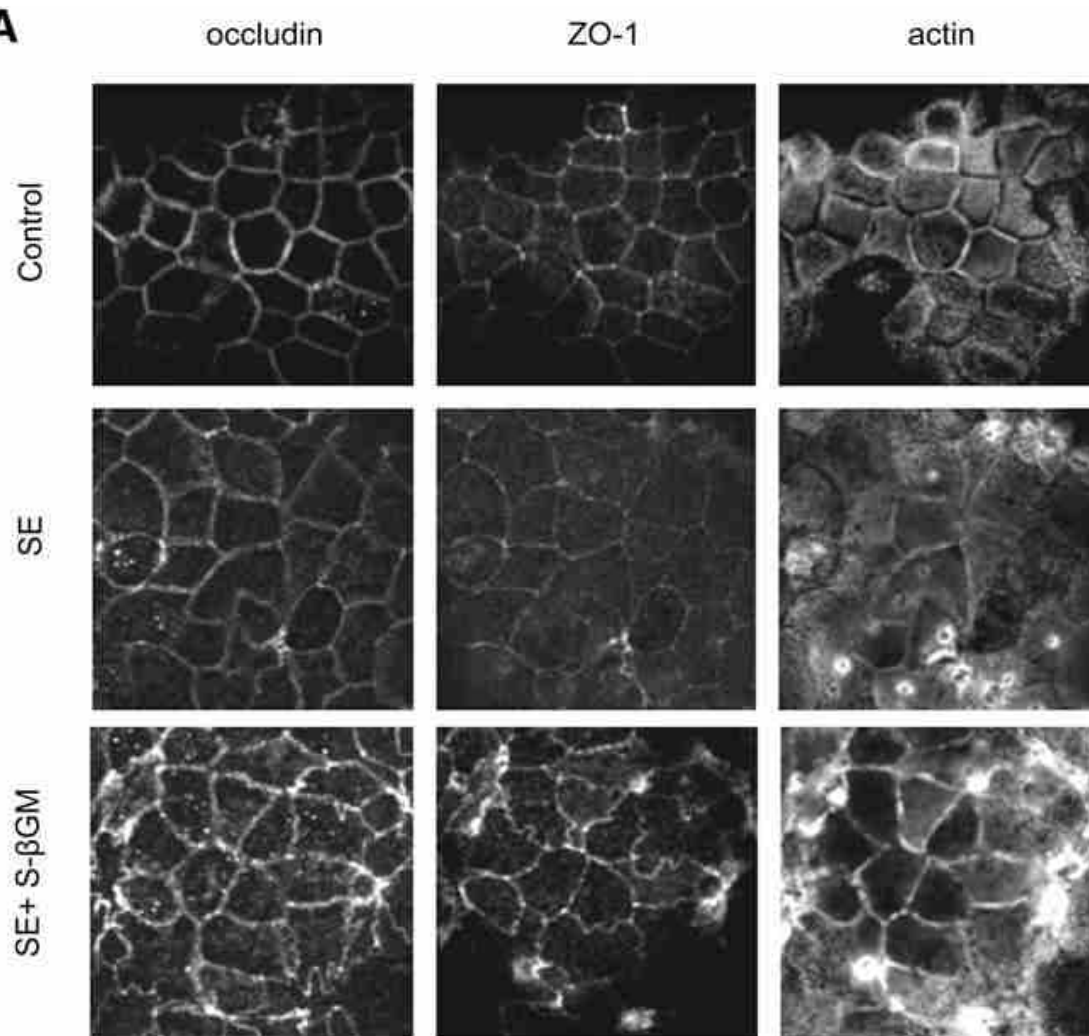
Salmosan, a β -Galactomannan-Rich Product, Protects Epithelial Barrier Function in Caco-2 Cells Infected by *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis¹⁻³M Teresa Brufau,⁴ Joan Campo-Sabariz,⁴ Ricard Bou,⁵ Sergi Carné,⁷ Joaquim Brufau,⁸ Borja Vilà,⁸ Ana M Marqués,⁶ Francesc Guardiola,⁵ Ruth Ferrer,⁴ and Raquel Martín-Venegas^{4*}

FIGURE 3 Recovery of tight junction protein localization by S-βGM in Caco-2 cells infected with *Salmonella* Enteritidis. Occludin, ZO-1, and actin confocal images (A) and FI calculated from these images (B) in cultures incubated for 3 h in the absence (control) or presence of *S. Enteritidis* (MOI: 10) and *S. Enteritidis* plus 500 μ g S-βGM/mL. The results shown are representative of 3 experiments. FI, fluorescence intensity; MOI, multiplicity of infection; SE, *S. Enteritidis*; S-βGM, Salmosan; ZO-1, zonula occludens protein 1.

Àcids Orgànics

Àcids mono-carboxílics (fòrmic, acètic, propiònic i butíric) o

Àcids carboxílics amb un grup hidroxil (làctic, màlic, tartàric i cítric)

Modus d'acció (atribuït a l'activitat anti-bacteriana)

- Reducció de pH al tracte gastrointestinal superior (pap, proventricle, pedrer)
- Canvis fisiològics en la mucosa intestinal
 - Alteració microbiota → eliminació bacteris patogènics (↓ pH)
 - Increment bacteris beneficiosos tolerants a ambients àcids (*Lactobacillus spp.*)
 - Reducció competició nutrients
- Increment digestibilitat nutrients (↑ retenció proteïna & matèria seca; ↑ absorció minerals)
- Millora de la salut intestinal → efectes directes sobre les cèl·lules de l'epiteli intestinal (fonts d'energia)
- Immuno-modulació → ↑ [SCFA]

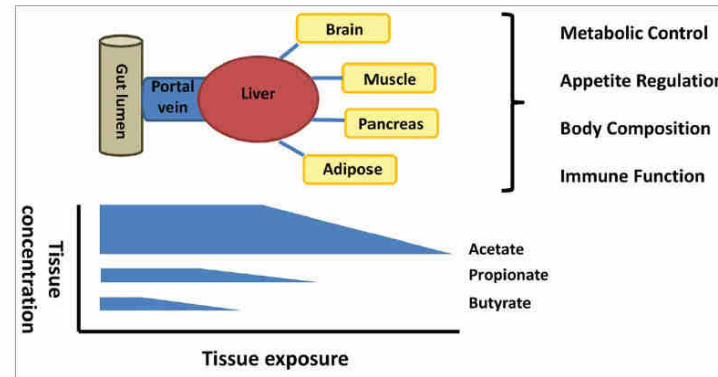


Figure 1. The gut lumen is the major site of production but the concentration gradient falls from the lumen to the periphery with selective uptake of butyrate at the epithelium, propionate at the liver and acetate in the periphery. The significance for host physiology of this biological gradient is poorly understood.

(Gadde et al., 2017; Morrison et al., 2016)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Efecte immunomodulador dels SCFA

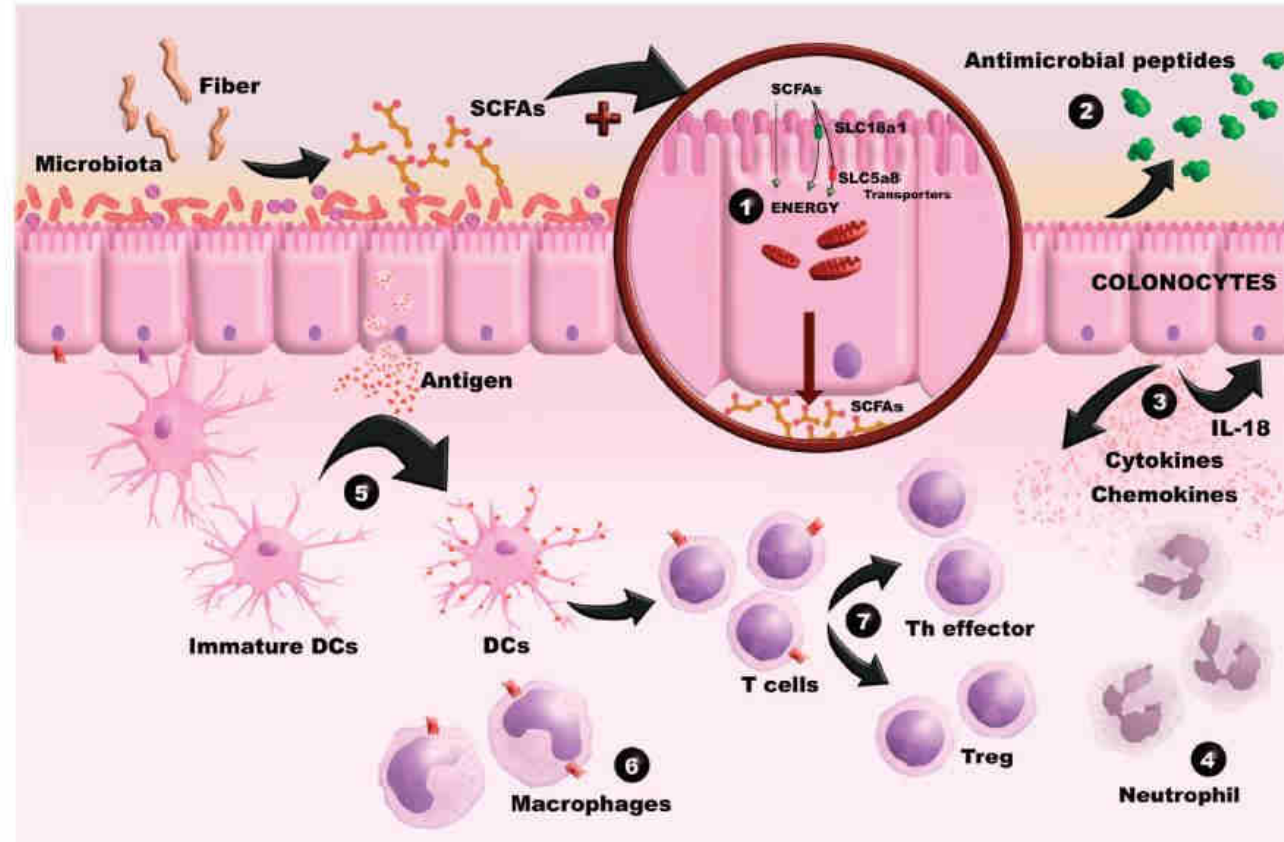


Figure 2 The SCFAs are bacterial fermentation products found in high concentrations in the intestine. These metabolites act as a link between the microbiota and the immune system. IECs uptake SCFAs through passive (mainly, the non-ionized form) and active mechanisms. Once inside the cells, they are partially used as a source of energy (1). In addition, these SCFAs increase the expression of antimicrobial peptides secreted to the external surface by epithelial cells (2) and modulate their production of immune mediators including IL-18, a key cytokine for the repair and maintenance of epithelial integrity, and others cytokines and chemokines (3). SCFAs can also regulate the differentiation, recruitment and activation of immune cells: including neutrophil (4), DCs (5), macrophages (6) and T lymphocytes (7). In this context, SCFAs interact with neutrophils and modulate their recruitment, effector function and survival at the tissues (4). In general, these bacterial metabolites present anti-inflammatory effects including reduction of some pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-12 production by macrophages and DCs, and change their capacity to capture antigens and stimulate T cells. In addition, the SCFAs also modulate the proliferation and differentiation of T lymphocytes through direct effects on these cells (for example, inducing the generation of Tregs) (7).

(Corrêa et al., 2016)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions



Effect of butyrate on immune response of a chicken macrophage cell line[☆]

Z.Y. Zhou^{a,b}, B. Packialakshmi^{b,c,d}, S.K. Makkar^{b,c}, S. Dridi^e, N.C. Rath^{b,*}

Table 2

The effect of Na-butyrate on the expression of target genes with and without LPS stimulation of HTC cells analyzed by quantitative RT-PCR.

Genes	Control	Butyrate (1 mM)	LPS (400 ng/ml)	LPS (400 ng/ml) + butyrate (1 mM)
IL-1 β	1.00 $\pm$ 0.28	0.89 $\pm$ 0.16	74.14 $\pm$ 21.74 ^{**}	18.61 $\pm$ 5.02 ^{##}
IL-4	1.00 $\pm$ 0.26	0.80 $\pm$ 0.13	1.06 $\pm$ 0.37	0.54 $\pm$ 0.12
IL-6	1.00 $\pm$ 0.17	1.11 $\pm$ 0.18	1193.41 $\pm$ 308.97 ^{**}	61.56 $\pm$ 16.13 ^{##}
IL-10	1.00 $\pm$ 0.18	0.87 $\pm$ 0.08	7.98 $\pm$ 1.70 ^{**}	1.48 $\pm$ 0.21 ^{##}
IFN- γ	1.00 $\pm$ 0.28	1.02 $\pm$ 0.18	7.73 $\pm$ 2.58 ^{**}	0.44 $\pm$ 0.10 ^{##}
T β 4	1.00 $\pm$ 0.30	0.70 $\pm$ 0.21	0.82 $\pm$ 0.40	0.28 $\pm$ 0.12
MMP-2	1.00 $\pm$ 0.26	1.24 $\pm$ 0.15	0.64 $\pm$ 0.24	0.44 $\pm$ 0.21
TGF- β 3	1.00 $\pm$ 0.34	0.24 $\pm$ 0.05 ^{**}	0.37 $\pm$ 0.09 [*]	0.06 $\pm$ 0.01 ^{**}

^{*} $P \leq 0.05$ as compared to control (without LPS and butyrate).

^{**} $P \leq 0.01$ as compared to control (without LPS and butyrate).

^{##} $P \leq 0.01$ as compared to cells stimulated with LPS.

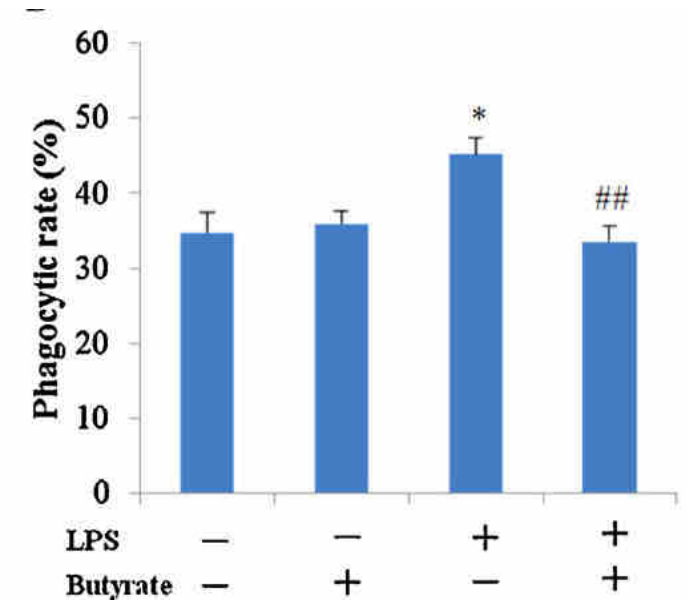


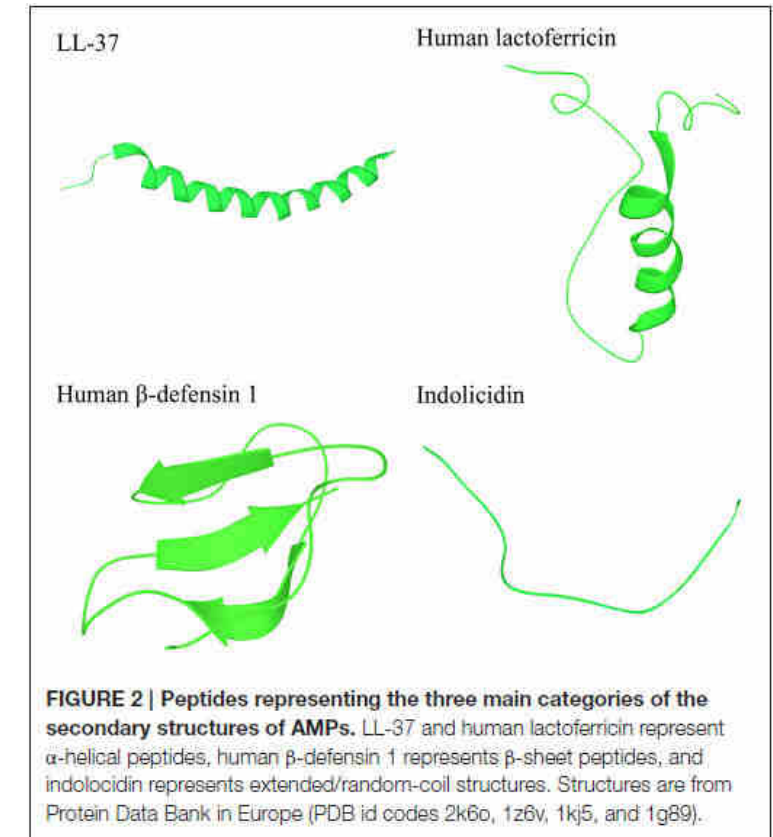
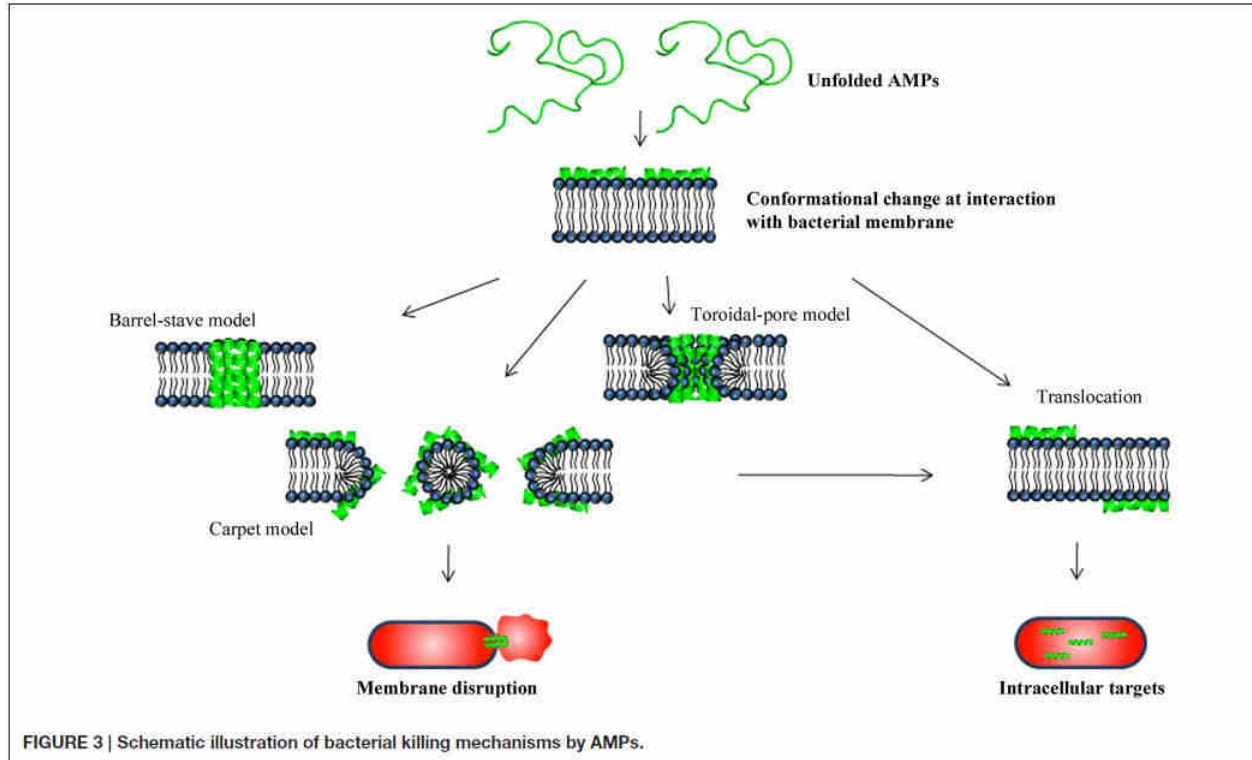
Fig. 6. Effect of butyrate on phagocytic activity of HTC cells. (A) A typical field of cells exhibiting phagocytosis of carboxylate-modified fluosphere latex beads ($\times 200$ magnification). (B) Quantitative results of phagocytosis. The data represent mean $\pm$ SE ($n = 6$). ^{*} $P \leq 0.05$ compared with control. ^{##} $P \leq 0.01$ compared with LPS stimulated cells.

Pèptids AntiMicrobians (AMPs)

Pèptids curts sintetitzats per diverses formes de vida

Acció antimicrobiana

- Directe → creant porus a les membranes cel·lulars
- Indirecte → modulant el sistema immune
- Ampli espectre i no generen resistències



(Mahlapuu et al., 2016)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

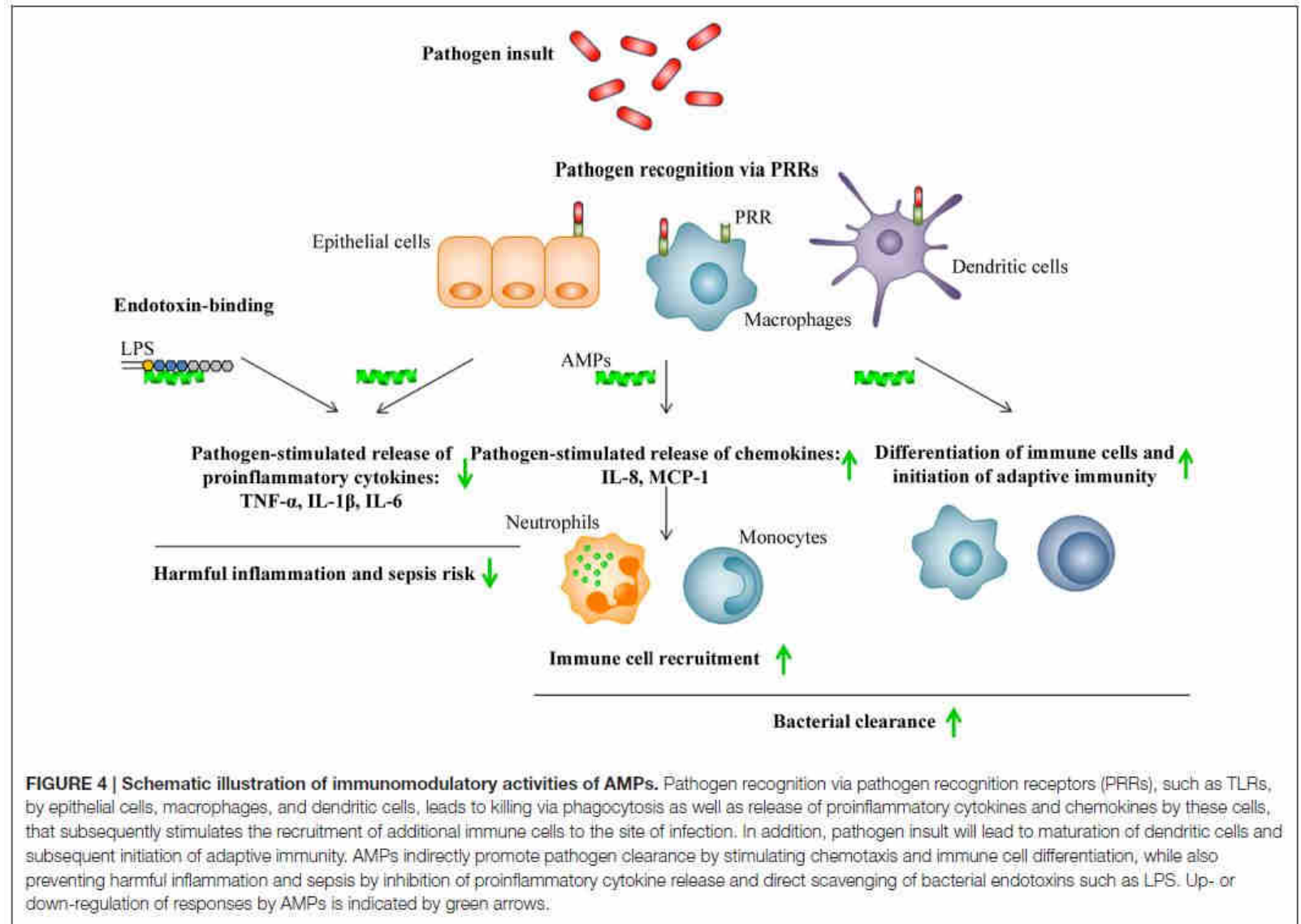
Modus d'acció dels Pèptids AntiMicrobians (AMPs)

Modulació del sistema immunitari

- Estimulació quimiotaxi
- Diferenciació cel·lular
- Inici immunitat adquirida



- Eliminació de patògens
- Reducció inflamació



(Mahlpuu et al., 2016)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Tissue expression and antibacterial activity of host defense peptides in chicken



Mi Ok Lee^{1,2†}, Hyun-Jun Jang^{1,3†}, Deivendran Rengaraj¹, Seo-Yeong Yang¹, Jae Yong Han¹, Susan J. Lamont⁴ and James E. Womack^{1,2*}

Lee et al. BMC Veterinary Research (2016) 12:231
DOI 10.1186/s12917-016-0866-6

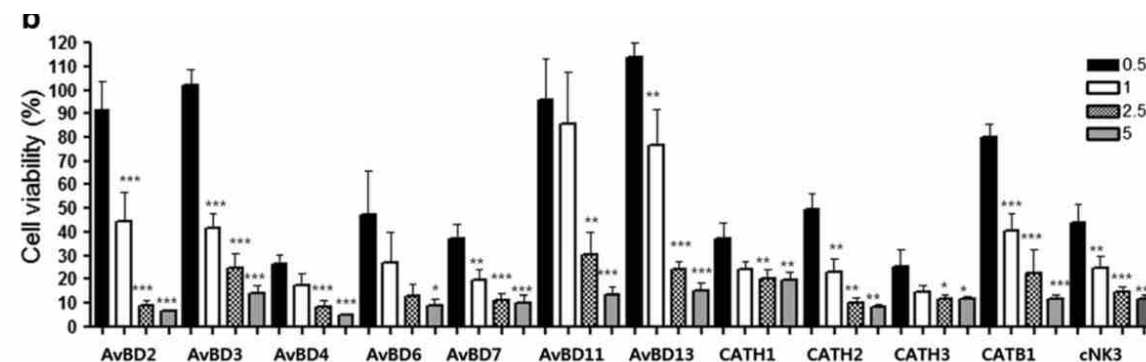
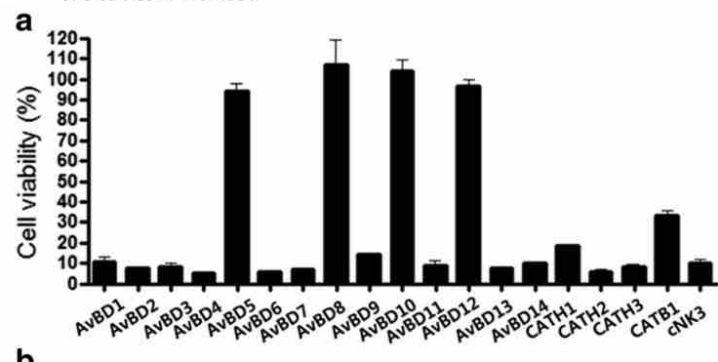


Fig. 2 Antimicrobial activity of chicken HDPs against *E. coli*. *E. coli* (6×10^5) were incubated with indicated amounts of peptide for 2 h and cell viability was compared to untreated cells. Nineteen chicken HDPs were tested under 5 μ M concentrations (a) and 12 HDPs that showed more than 90 % killing activity in 5 μ M treatment were selected for assay at lower concentrations (0.5, 1, 2.5, 5 μ M) (b). Each bar represents the mean $\pm$ S.D. value of at least three independent experiments. Non-treated cell considered as 100 % cell viability and peptides treated cell viability was compared and calculated in percentile. *** indicate $p \leq 0.001$, ** indicate $p \leq 0.01$ and * indicate $p \leq 0.05$

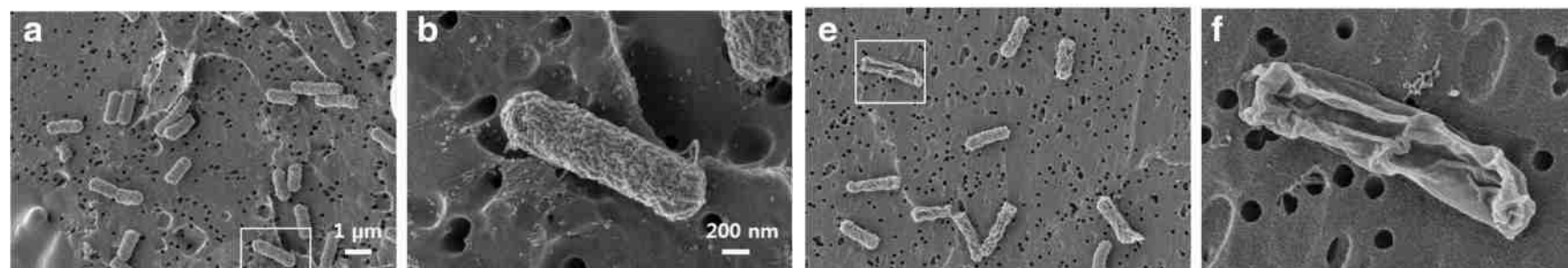


Fig. 4 Scanning electron micrographs of cathelicidin-induced cell membrane damage. Scanning electron micrographs of *E. coli* with no treatment (control, a and b) or treated with cathelicidin1 (CATH1, c and d), cathelicidin2 (CATH2, e and f), cathelicidin3 (CATH3, g and h), or cathelicidinB1 (CATHB1, i and j). The rectangle as shown in the large-scale image

Yeast β -D-glucans induced antimicrobial peptide expressions against *Salmonella* infection in broiler chickens

International Journal of Biological Macromolecules 85 (2016) 573–584

Yujing Shao^a, Zhong Wang^{b,*}, Xiangyu Tian^b, Yuming Guo^b, Haibo Zhang^c

Inducció de la seva expressió a l'intestí

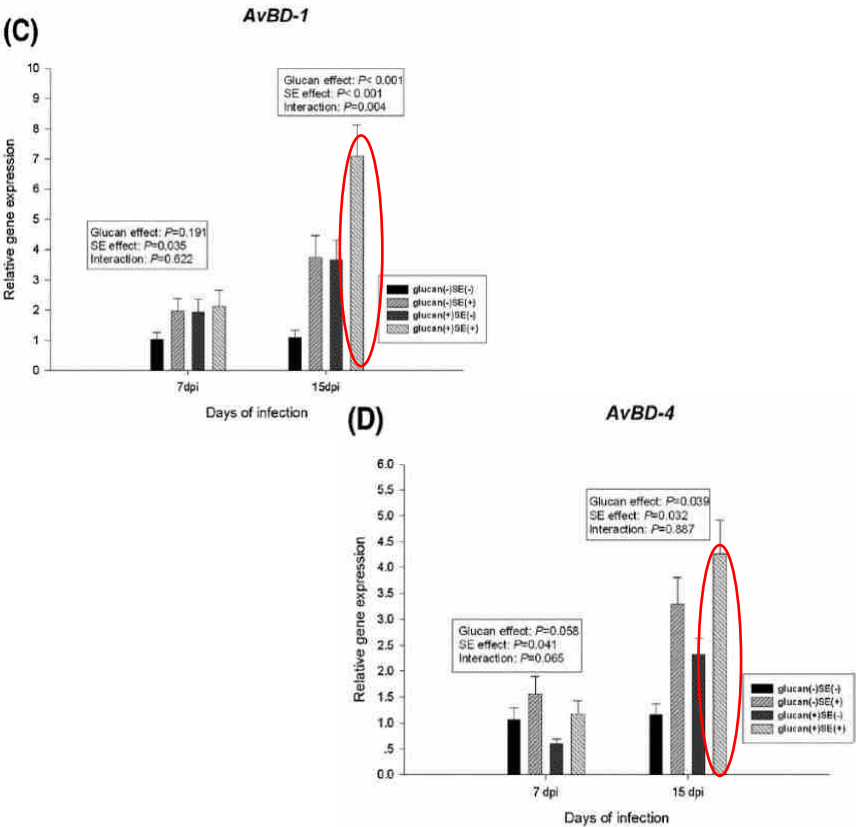


Fig. 3. Relative mRNA expression of endogenous antimicrobial peptides in the jejunum (A–F) of broiler chickens fed diets with or without yeast β -D-glucans at 7 and 15 days after orally challenged with *Salmonella enteritidis* or PBS buffer (pH 7.2). Each bar represents the mean and standard error ($n = 6$). *P*-values represents the main effect of the diet (glucan effect), the main effect of *Salmonella* challenge (SE effect), and the interaction between the dietary treatments and *Salmonella* challenge. ^{a,b,c} Bars with different letters were significantly different ($P < 0.05$).

Table 4
Salmonella and lactic acid bacteria counts (Log₁₀ CFU/g) in the cecum and internal organs of chicks treated with dietary yeast β -D-glucans and challenged with *Salmonella*.

Items	SE ^d	7 d.p.i. ^g				15 d.p.i.			
		<i>Salmonella</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Salmonella</i>		<i>Lactobacillus</i>	
		Cecum	Liver	Spleen	Cecum	Cecum	Liver	Spleen	Cecum
Glucan (mg/kg)									
0	—	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	8.22	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	8.15
0	+	7.04 ^a	3.92 ^a	4.10 ^a	7.21	4.29 ^a	1.26 ^a	1.16 ^a	8.05
200	—	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	8.52	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	8.38
200	+	5.29 ^b	2.92 ^b	2.81 ^b	7.46	2.16 ^b	0.62 ^b	0.51 ^b	8.12
SEM ^e		0.148	0.136	0.145	0.169	0.089	0.137	0.124	0.107
Main effect									
0		3.52	1.96	2.05	7.71 ^b	2.15	0.63	0.58	8.09
200		2.63	1.46	1.41	7.99 ^a	1.08	0.31	0.26	8.25
Challenged		6.17	3.42	3.45	7.34 ^b	3.23	0.94	0.84	8.08 ^b
Non-challenged		0.00	0.00	0.00	8.37 ^a	0.00	0.00	0.00	8.26 ^a
<i>P</i> -values ^f									
Glucan		0.016	0.031	0.027	0.001	0.003	0.006	0.004	0.070
Challenged		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.043
Glucan $\times$ challenged		0.004	0.003	0.002	0.690	0.001	0.003	0.001	0.291

^{a,b,c} Values are the mean and pooled standard error of the mean (SEM), $n = 6$ chickens/group.
^d SE = *Salmonella enteritidis*; —, without *Salmonella enteritidis* challenge; +, with *Salmonella enteritidis* challenge.
^e SEM, standard error of the mean.
^f *P*-values represent the main effect of the diet, the main effect of *Salmonella* challenge, and the interaction between the dietary treatments and *Salmonella* challenge.
^g d.p.i = days post-infection.

Enzims

Proteïnes actives que faciliten la hidròlisi dels nutrients en molècules més petites permetent una millor digestió i absorció

Efectes directes sobre la digestibilitat

- Increment en la digestibilitat de nutrients no degradats per absència d'enzims endògens (àcid fític)
- Eliminació de l'efecte d'encapsulació de nutrients per polisacàrids de paret cel·lular i increment en la disponibilitat de midó, aminoàcids i minerals
- Inactivació de factors anti-nutritius (àcid fític o NSP solubles) i reducció de la viscositat intestinal
- Increment en la solubilitat dels NSP insolubles i promoció de la fermentació en cec
- Suplementació d'enzims endògens que poden ser insuficients, especialment en animals joves amb un sistema digestiu encara no desenvolupat en la seva totalitat

Efectes indirectes sobre la digestibilitat

- Reducció de substrats no digerits
- Generació d'oligosacàrids de cadena curta a partir de NSP de paret cel·lular amb potencials efectes prebiòtics



Aquests mecanismes influeixen en la suplementació de nutrients i en l'ambient intestinal alterant la pressió selectiva de les poblacions bacterianes

(Choct, 2009; Bedford and Cowieson, 2012, Kiarie et al., 2013; Gadde et al., 2017)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions



Generalitat de Catalunya
Government of Catalonia

IRTA[®]

Salut intestinal i producció avícola sense antibiòtics

30/41

Performance of broilers vaccinated for coccidiosis and fed low or high non-starch-polysaccharides diets with or without enzyme addition

12th European Poultry Conference, Verona (Italia) 2006

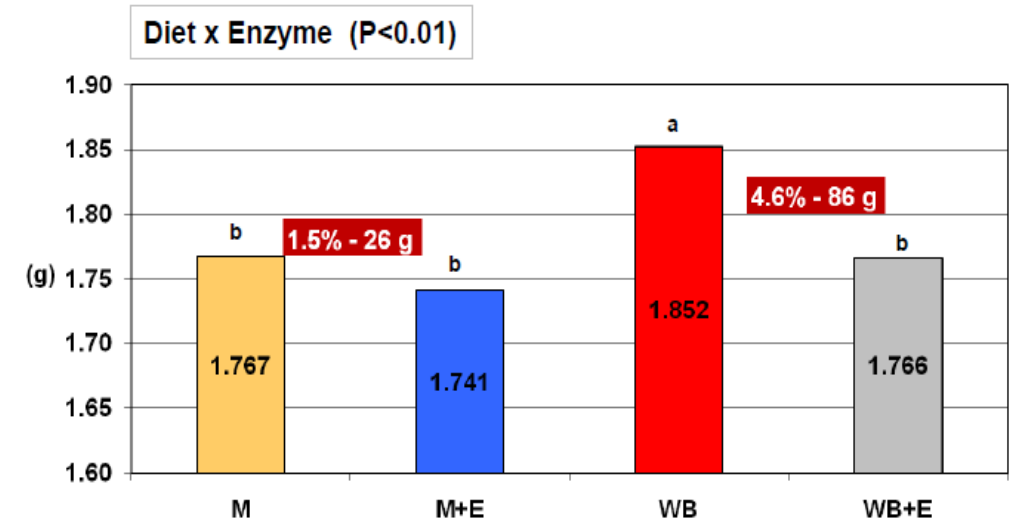
M. FRANCESCH^{1*}, J. BRUFAU¹, C. CARNICER² and C. ESCODA²

- La coccidiosi és la més comuna (>25%) de les malalties subclíniques en la producció de pollastres
- La coccidiosi i NE estan íntimament relacionades, essent freqüentment la NE conseqüència de la coccidiosi “intercurrent disease syndrome” (Williams, 2005).

Incidència i recomptes de *Clostridium perfringens* en contingut ileal, i incidència d'animals amb lesions d'enteritis necròtica

dieta	moreosc		blat / ordi	
	no	si	no	si
animals positius	8%	8%	100%	50%
log ₁₀ CFU/g	0.09	0.13	2.44	0.68
animals amb lesions	75%	67%	92%	50%

FCR from 0 to 44 days

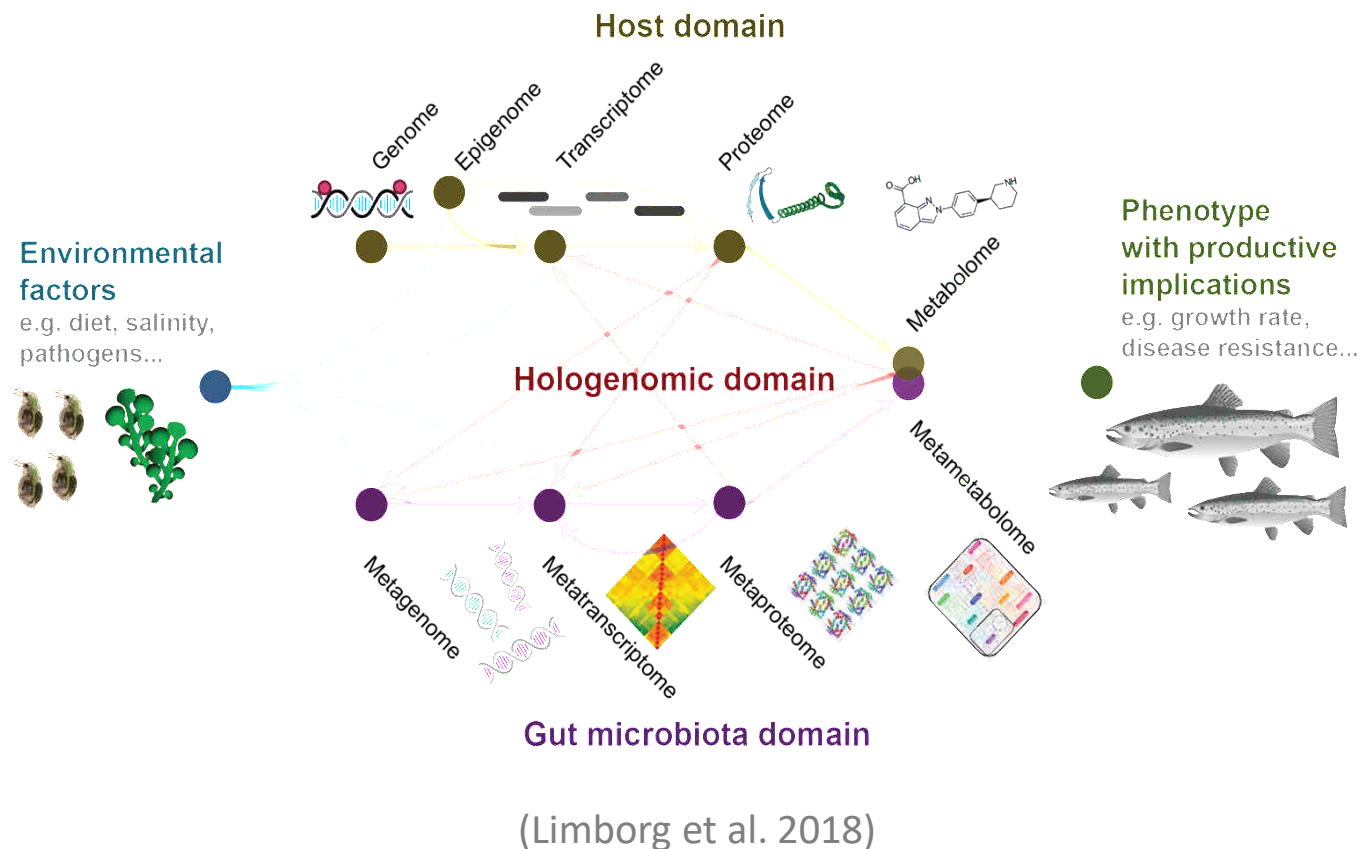


HoloFood: Hologenomics per a una producció d'aliments sostenible

Els animals i microorganismes associats es comporten de forma diferent depenent de l'ambient i de l'estat de desenvolupament de l'animal.

Molts processos biològics dels animals i dels microorganismes associats estan afectats, o fins i tot condicionats, pels altres "socis" de la simbiosi.

L'efecte de qualsevol additiu podria variar segons el rerefons genòmic i l'etapa de desenvolupament de l'animal, la composició del microbioma i l'entorn de producció.



Novel strategies to improve chicken performance and welfare by unveiling host-microbiota interactions through hologenomics

Núria Tous^{1†}, Sofia Marcos^{2†}, Farshad Goodarzi Boroojeni³, Ana Pérez de Rozas⁴, Jürgen Zentek⁵, Andone Estonba², Dorthe Sandvang⁵, M. Thomas P. Gilbert^{6,7}, Enric Esteve-García¹, Robert Finn⁸, Antton Alberdi^{6*} and Joan Tarradas¹

¹Animal Nutrition, Institute of Agrifood Research and Technology (IRTA), Constantí, Spain, ²Applied Genomics and Bioinformatics, University of the Basque Country (UPV/EHU), Bilbao, Spain, ³Institute of Animal Nutrition, Department of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin (FUB), Berlin, Germany, ⁴Animal Health-CReSA, Institute of Agrifood Research and Technology (IRTA), Bellaterra, Spain, ⁵Chr. Hansen A/S, Animal Health Innovation, Hørsholm, Denmark, ⁶Center for Evolutionary Hologenomics, The GLOBE Institute, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark, ⁷University Museum, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Trondheim, Norway, ⁸European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), Wellcome Genome Campus, Hinxton, United Kingdom

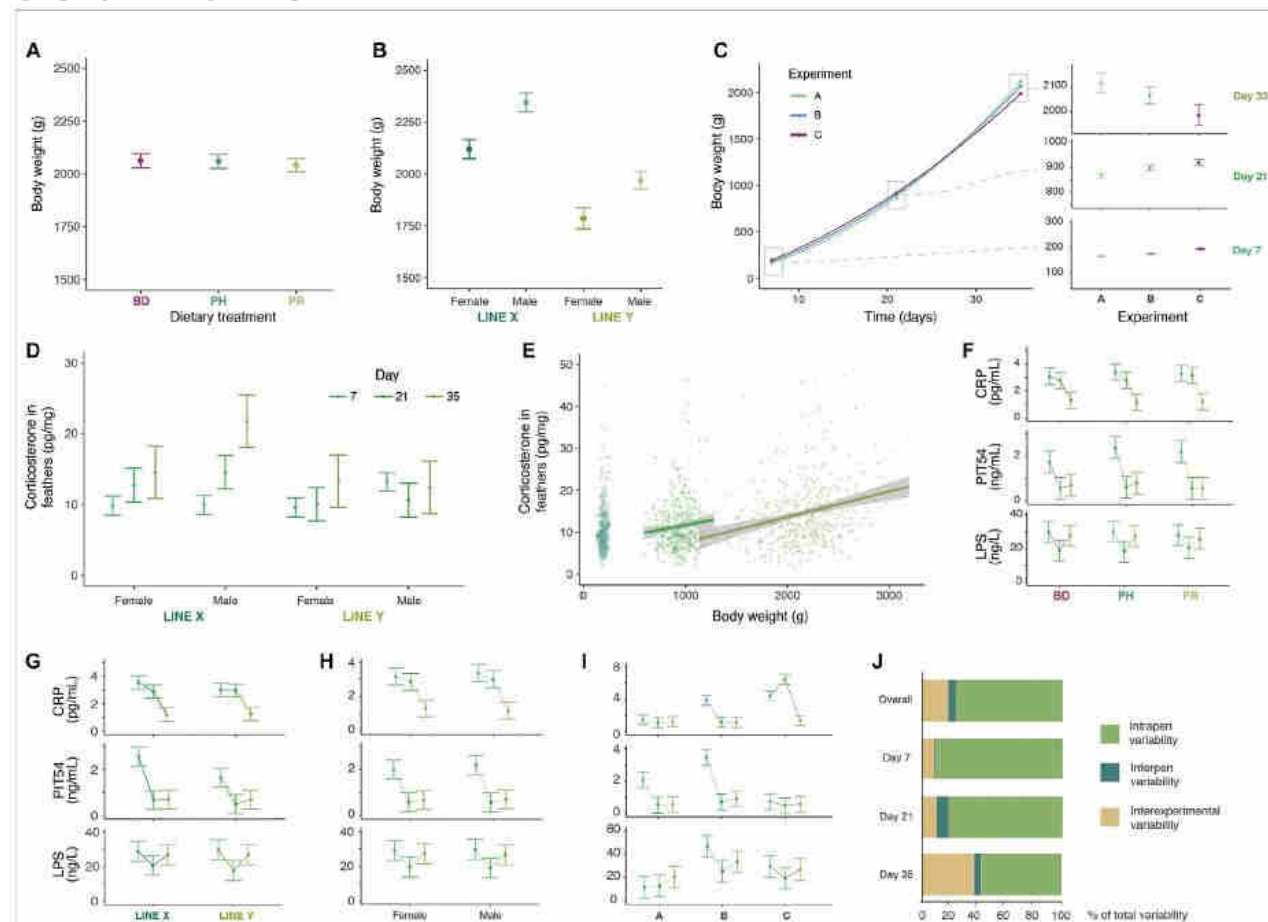
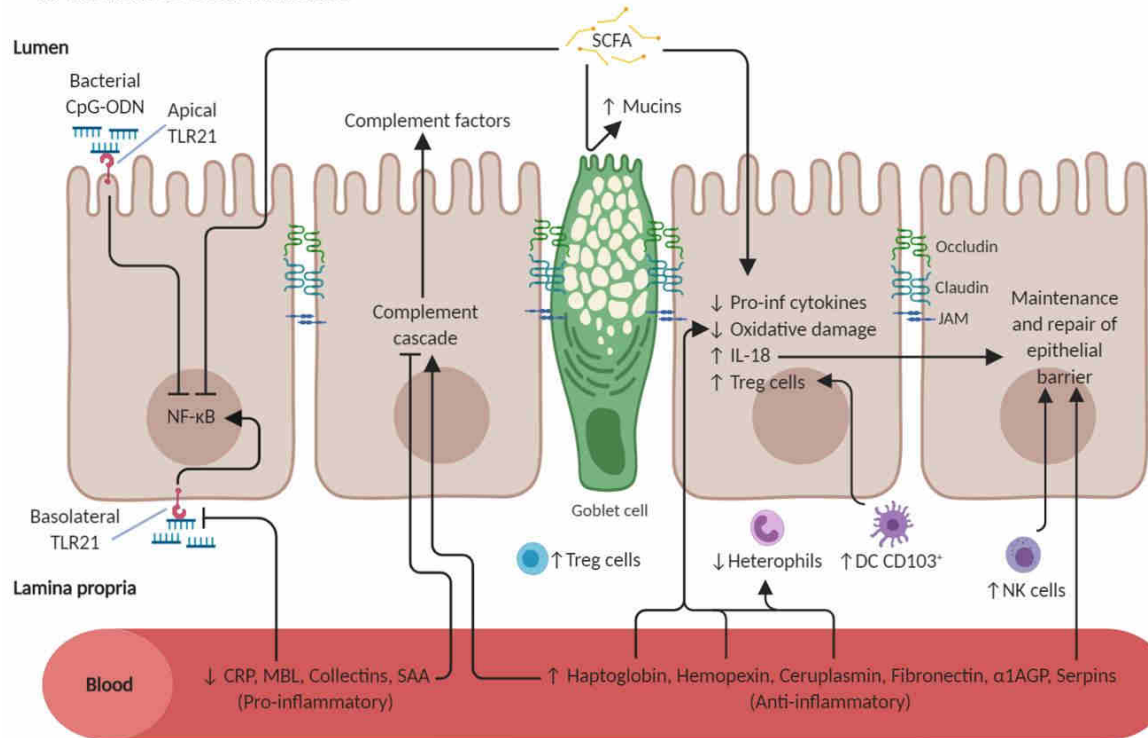


FIGURE 2

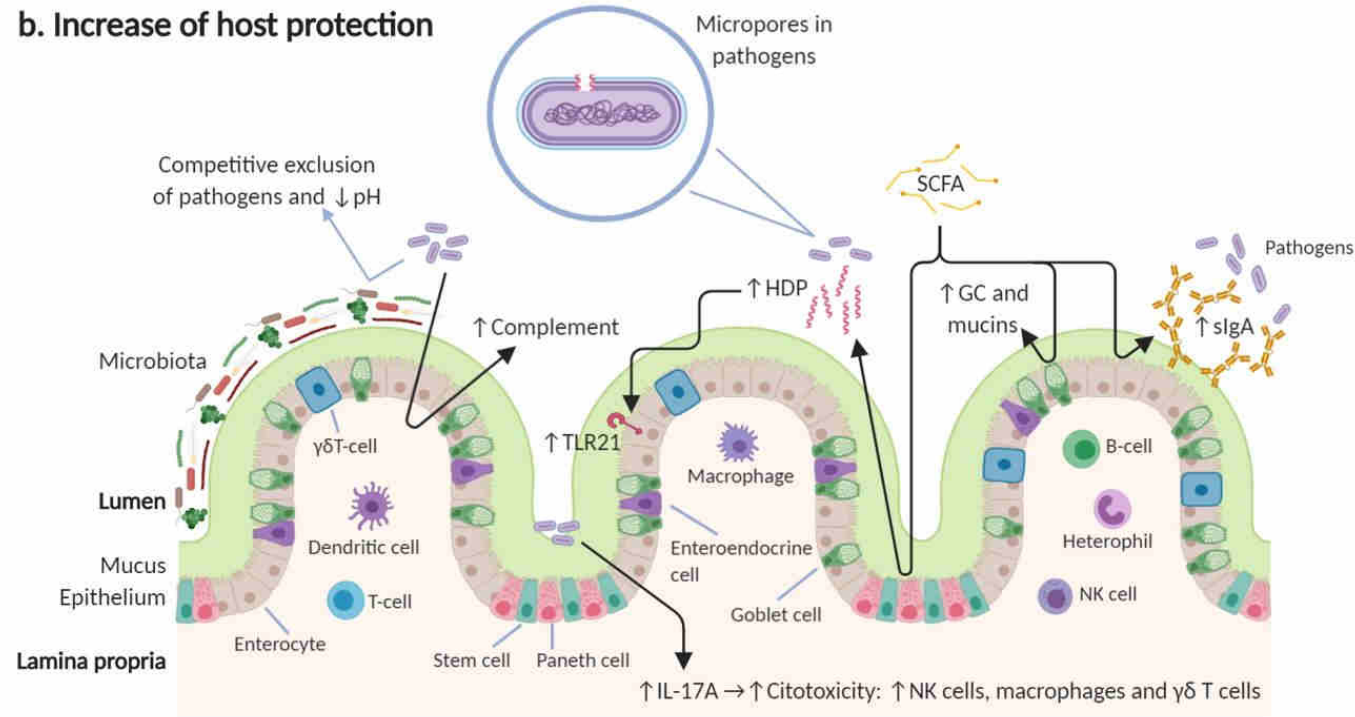
Overview of main results. (A) Body weight differences across dietary treatments, namely basal diet (BD), BD plus probiotic (PR) and BD plus phytobiotic (PH), at day 35. (B) Body weight differences across lines and sexes at day 35. (C) Body weight progression of the three experiments, with detailed overview of days 7, 21 and 35. (D) Corticosterone (COR) levels measured in feathers at different days, sexes, and genetic lines. (E) Linear correlation between COR levels and body weight at the three time points. (F) C-reactive protein (CRP), avian haptoglobin-like protein (PIT54) and lipopolysaccharide (LPS) levels in plasma across time points in different dietary treatments. (G) CRP, PIT54 and LPS levels in plasma across time points in different genetic lines. (H) CRP, PIT54 and LPS levels in plasma across time points in different sexes. (I) CRP, PIT54 and LPS levels in plasma across time points in different experiments. (J) Hierarchical decomposition of observed body weight variation within pens, among pens and among experiments.

Projecte ImmunoFeed

a. Control of inflammation



b. Increase of host protection



Objectiu: induir una homeòstasi robusta en el tracte gastro-intestinal del pollastre per promoure la tolerància (prevenint la inflamació) i incrementar la capacitat de defensa luminal contra patògens mitjançant l'administració de soques probiòtiques, seleccionades específicament per la seva capacitat immuno-moduladora i antimicrobiana, per tal d'investigar si son possibles els modus d'acció semblants als AGPs.

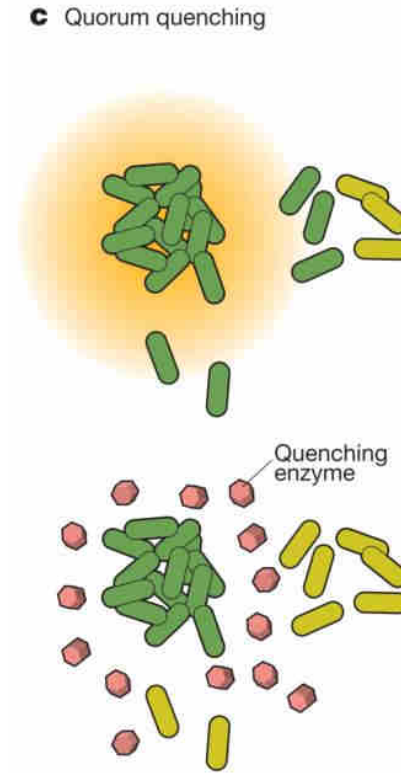
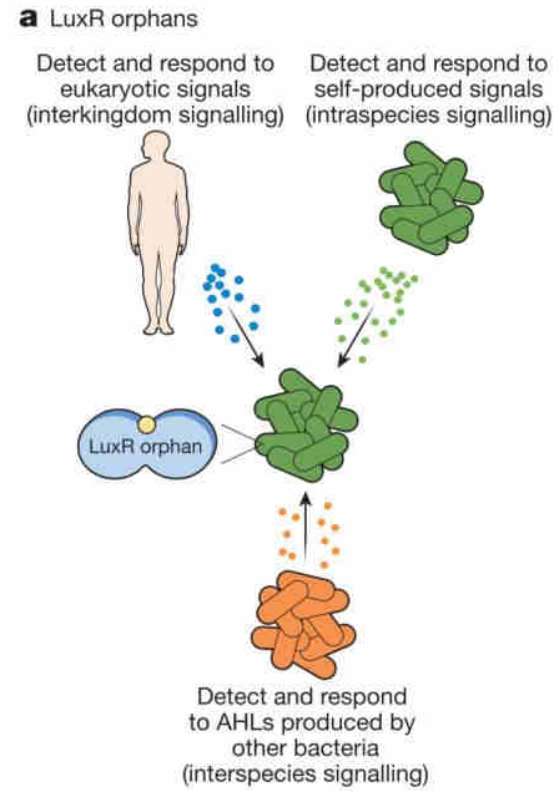
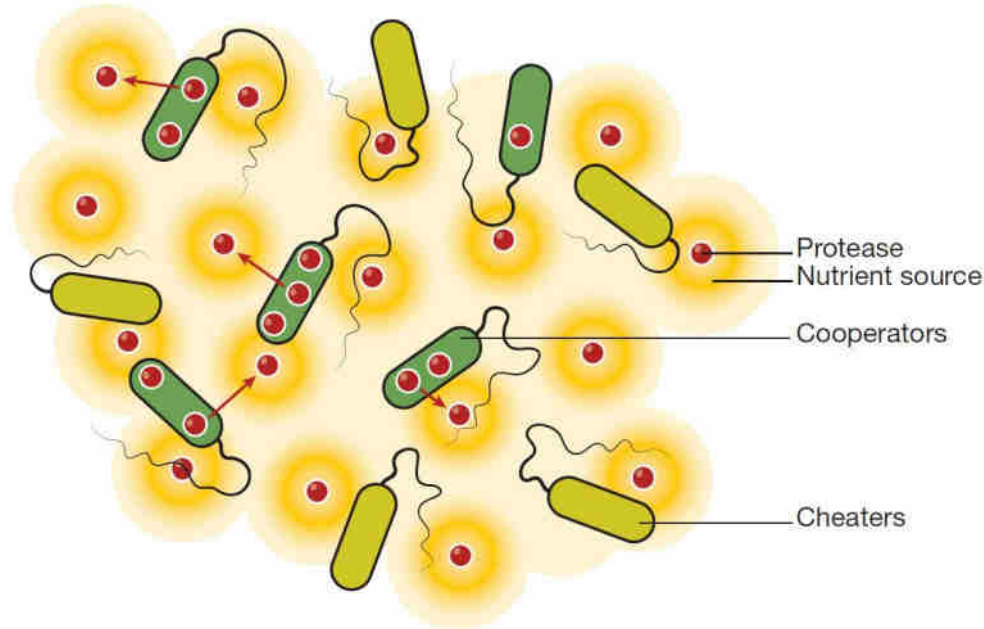
(Tarradas et al., 2020)

Projecte ImmunoFeed



- H1: Els probiòtics amb una alta concentració de motius CpG en el seu genoma tenen una major capacitat immuno-moduladora a causa de la seva capacitat d'activar TLR21 apical. L'activació de TLR21 (apical) provocaria la inhibició de la via NF- κ B, reduint la inflamació intestinal.
- H2: El modus d'acció d'aquests probiòtics inclou una major capacitat de sintetitzar SCFA, la qual cosa resulta en una millor protecció epitelial ($\uparrow$ síntesi de mucines a partir de cèl·lules de caliciformes i excreció de sIgA) i reclutament de cèl·lules T-Reg (augment de la tolerància). SCFA inhibeixen la via NF- κ B prevenint la inflamació aguda induïda pels patògens (p.e., *Salmonella* Typhimurium).
- H3: Els probiòtics seleccionats són capaços d'augmentar l'expressió dels pèptids de defensa de l'hoste (HDP) i conferir una major capacitat de defensa contra la infecció i persistència de *Salmonella* Typhimurium. Aquest augment de l'expressió de HDP contribuirà a l'estimulació apical de TLR21.
- H4: L'ús dels probiòtics seleccionats (sols o combinats) prevé la inflamació aguda induïda per un desafiament de *Salmonella* al mateix temps que ajuda a eliminar la infecció (i evita la seva persistència) a través d'una major capacitat antimicrobiana luminal.
- H5: L'administració dels probiòtics seleccionats (sols o combinats) a animals desafiats amb *Salmonella* Typhimurium millora o manté el seu rendiment i eficiència a nivells similars als observats en animals sans.
- H6: La tècnica específica de matriu de kinomes aclarirà els modes d'acció probiòtics i identificarà marcadors immune-hoste i vies patogèniques que són modificades per *Salmonella* Typhimurium per infectar i persistir en l'organisme.

Teràpies anti-virulència



Trampa social en poblacions QS. Les cèl·lules bacterianes actuen com a cooperants (verdes) quan secreten béns públics que depenen de QS (per exemple, proteases, esferes vermelles) a l'entorn circumdant i això imposa un cost fisiològic de les cèl·lules individuals. Les cèl·lules tramposes (grogues) no segreguen aquests enzims i no paguen cap cost fisiològic. Els tramposos poden beneficiar-se de l'acció dels béns públics i, per tant, obtenir un avantatge fisiològic en poblacions mixtes amb cooperants. Els halos de color taronja representen una font de nutrients alliberada per un bé públic de la qual es poden beneficiar totes les cèl·lules (cooperadors i tramposos).

(Whiteley et al., 2017)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Sistemes Quorum-Sensing & Two-Components

Sistemes de transducció de senyal activats mitjançant estímuls externs (Two-Component) o mitjançant contacte cèl·lula-cèl·lula (Quorum-Sensing)

El Quorum-Sensing es caracteritza per la secreció de petites molècules senyalitzadores difusibles anomenades inductores

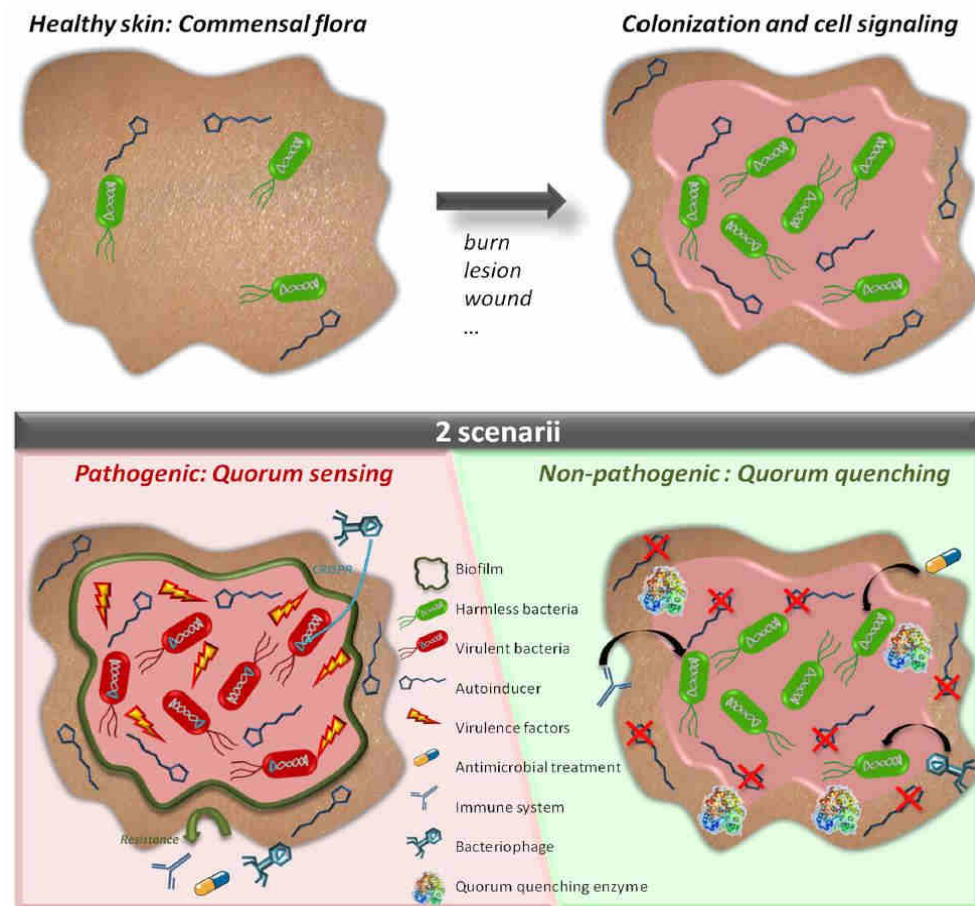


FIGURE 1 | Quorum sensing and quorum quenching in a wounded tissue. The skin usually harbors a natural and commensal flora which is not pathogenic (**Upper Left**). When a wound or a lesion occurs, bacteria colonize the wounded tissue and further develop being in a favorable environment (**Upper Right**). While growing, bacteria produce communication molecules (autoinducers). If the molecules are not degraded (**Bottom Left**), bacteria can synchronize their behavior to secrete virulence factors and produce biofilms which may prevent efficiency of antibiotic or phage therapy. The wound is infected. If the autoinducers are degraded (**Bottom Right**) bacteria do not synchronize their behavior and remain harmless and defenseless. The wound remains colonized but no infection occurs.

(Tiwari et al., 2017; Defoirdt, 2018; Bareia et al., 2018; Rémy et al., 2018)

Teràpies d'interferència del Quorum-Sensing

Table 2. Examples of Quorum-Sensing-Interfering Agents

Agent	Target bacterium	Molecular target	Activity	Refs
Natural compounds				
Ajoene	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Small regulatory RNAs	Inhibitory	[90,91]
Citrus limonoids	<i>Vibrio harveyi</i>	Signal transduction	Inhibitory	[92]
Flavonoids	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AHL receptor	Inhibitory	[93]
Indole-3-acetic acid	<i>Vibrio harveyi</i>	Indole signaling	Agonistic	[32]
Naringenin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AHL production and detection	Inhibitory	[94]
Five compounds identified via high-throughput screening	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AHL receptor	Inhibitory	[95]
Synthetic compounds				
Brominated thiophenones	<i>Vibrio harveyi</i>	Signal transduction	Inhibitory	[96]
Five compounds identified via high-throughput screening	<i>Burkholderia mallei</i> , <i>Yersinia pestis</i>	AHL biosynthesis	Inhibitory	[97]
Thiazolidinediones and dioxazaborocanes	<i>Vibrio harveyi</i>	AI-2 receptor	Inhibitory	[98]
3-acylpyrroles	<i>Vibrio cholerae</i>	CAI-1 receptor	Agonistic	[99]
Enzymes				
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> strain Q19	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PQS signal molecules	Degradation	[100]
<i>Bacillus</i> sp. strain NFM1-C	<i>Vibrio harveyi</i>	AHL signal molecules	Degradation	[101]
Five bacterial strains from plants	<i>Xanthomonas campestris</i>	DSF signal molecules	Degradation	[102]
Four bacterial strains from plants	<i>Xanthomonas citri</i>	DSF signal molecules	Degradation	[103]
Lactonase from <i>Bacillus</i> sp. strain QSI-1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	AHL signal molecules	Degradation	[104]
Modified acylase PvdQ	<i>Burkholderia cenocepacia</i>	AHL signal molecules	Degradation	[105]
Antibodies				
MAb HSL-2 and HSL-4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AHL signal molecules	Immune activation	[106]

Ús d'agents (inhibidors o agonistes) que inactiven les molècules senyal, o anticossos que segresten aquestes molècules i indueixen una resposta immune

(Defoirdt, 2018)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions

Efectes de la interferència del Quorum-Sensing

Avantatges

- Reducció de la patogenicitat bacteriana / atenuació de la malaltia
- Reducció de la formació de biofilms
- Increment de la susceptibilitat a agents antimicrobians
- No indueixen resistències ja que no exerceixen una pressió selectiva al bacteri (?)
- Menys efectes secundaris que els antibiòtics (?)

Inconvenients

- Registre EMA / FDA / EFSA → es coneixen molts inhibidors però encara no s'ha aclarit la majoria de dianes on actuen
- Trobar formulacions adequades i rutes d'administració (nano-carriers ...)
- Poden afectar al metabolisme, nutrició i immunomodulació (?) → formació biofilms ...
- Ampli rang de bacteris que poden veure's afectats
- Enfocat a medicina humana → aplicabilitat en producció animal? Cost?

(Defoirdt, 2018)

Introducció

Salut intestinal

Futur? Teràpies anti-virulència

Conclusions



Generalitat de Catalunya
Government of Catalonia

IRTA[®]

Salut intestinal i producció avícola sense antibiòtics

39/41

Conclusions

- És necessari reduir de forma urgent l'ús d'antibiòtics a nivell mundial
- Les alternatives han de tenir un efecte similar als AGPs (microbiota, immunomodulació i patogen)
- Els resultats obtinguts per l'ús d'alternatives als antibiòtics son prometedors però no son suficientment robustos ni consistents

Estratègies proposades → mescles/simbiòtics que activin diferents vies al mateix temps, MANEIG & BIO-SEGURETAT

- Reducció inflamació

↓ NF-kb → Microbiota / Probiòtics / Prebiòtics

Àcids orgànics (SCFA)

- Increment capacitat antimicrobiana ↑ de l'expressió d'AMPs / Prebiòtics

Adició d'AMPs en la dieta

- Reducció patogènesi

Interferència del Quorum Sensing



Generalitat de Catalunya
Government of Catalonia

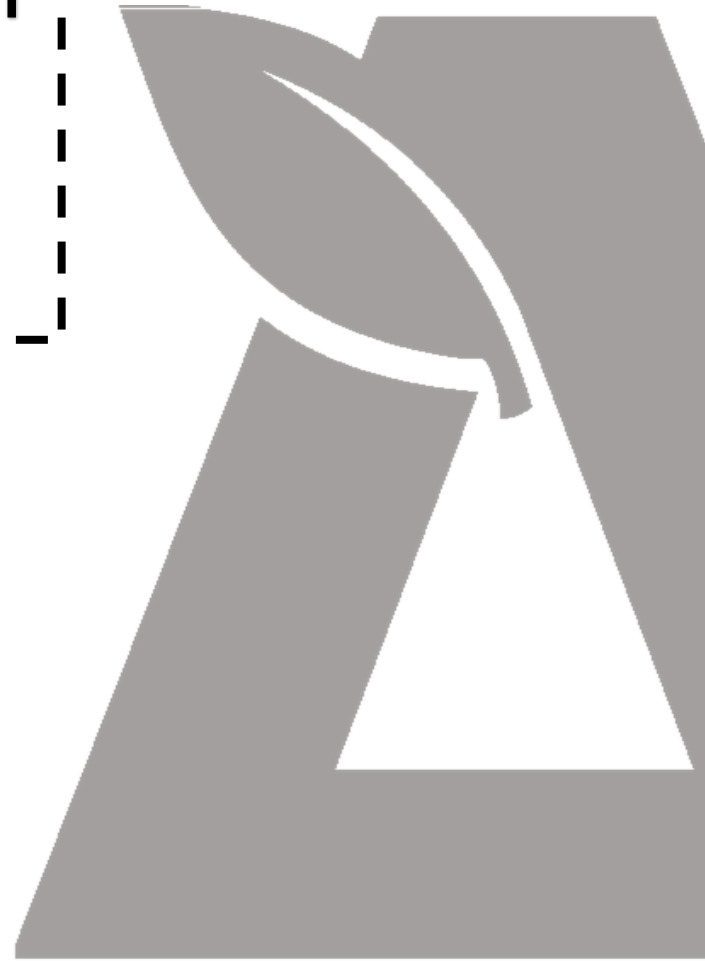
IRTA^R

**Institute
of Agrifood Research
and Technology**

Com reduir l'ús d'antibiòtics en avicultura: experiència d'èxit d'una integradora avícola

Javier Cebollero
Veterinario bonÀrea

Bellaterra, 29 septiembre de 2022







Análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC)

- **Bioseguridad**
- Instalación
- Bienestar Animal
- Manejo
- Sanidad: **Programa Vacunal**





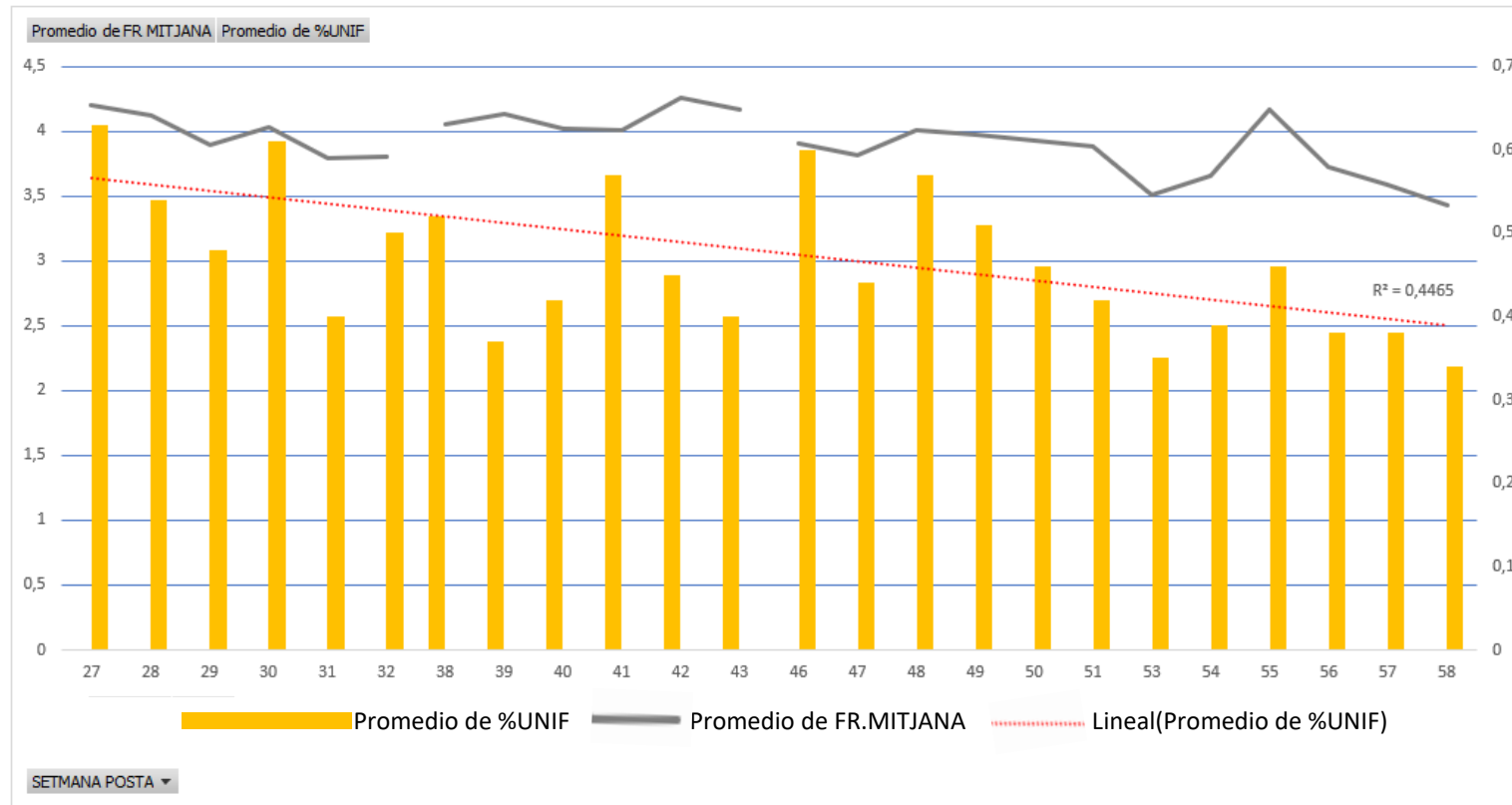
✓ **↓ Contaminación**

✓ **↑ Calidad de huevo/pollito**

- Puesta en suelo

- Almacenaje de huevos:

- ✓ Recogida cada 2-3 días
- ✓ Temperatura 18°C
- ✓ Humedad 60%



- Incubables:

- ✓ Peso > 52 gr (Rdto. 62%)
- ✓ 50% de puesta

- Descarte de huevos: rotos, fisurados, sucios

- Control densidad de cáscara

Incubadora

- Agrupar por estirpe y edad

- Almacenaje de huevos:

Temperatura: 18-19°C

Humedad >60%

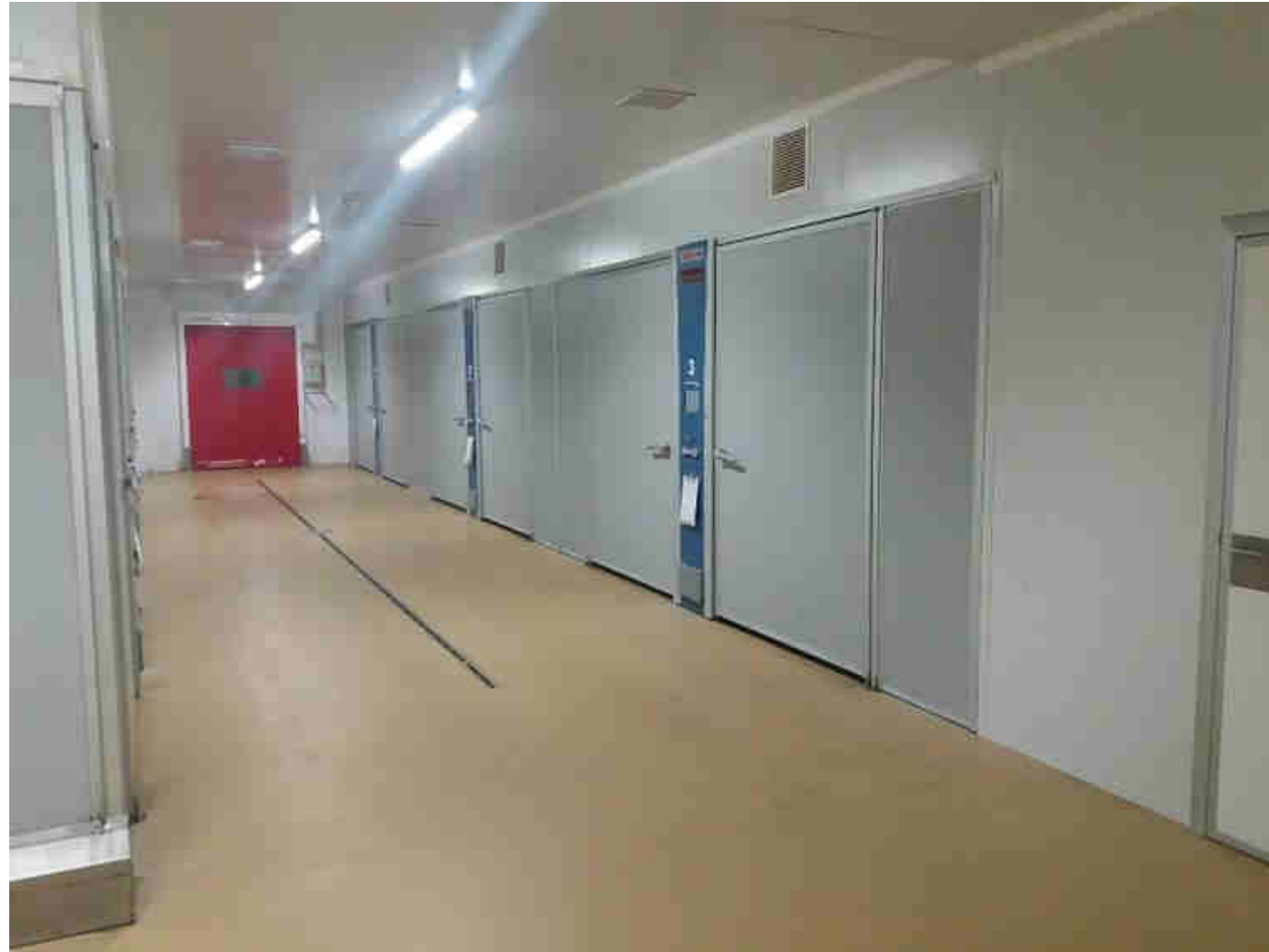
Tiempo:

- ✓ Mín. 48 h (entre 3-5 días)
- ✓ A 7 días disminución incubabilidad de 0,5% día
- ✓ Max. el menor posible (opción spides a 5-6 días - 32°C durante 9 h)

- Triage y desinfección de huevo

- Multicarga vs Carga Única

- Control de temperatura en cáscara





- Transferencia, edad (18 - 18,5 – 19 días?)
- Ventana de nacimientos (El menos posible <24 h.)
- Lavado con control automático de detergentes-desinfectantes (carros, cestas, cajas...)
- Control al nacimiento, embriodiagnóstico
- Vacunaciones: inovo, spray, gel

Alimentación

Reproductoras

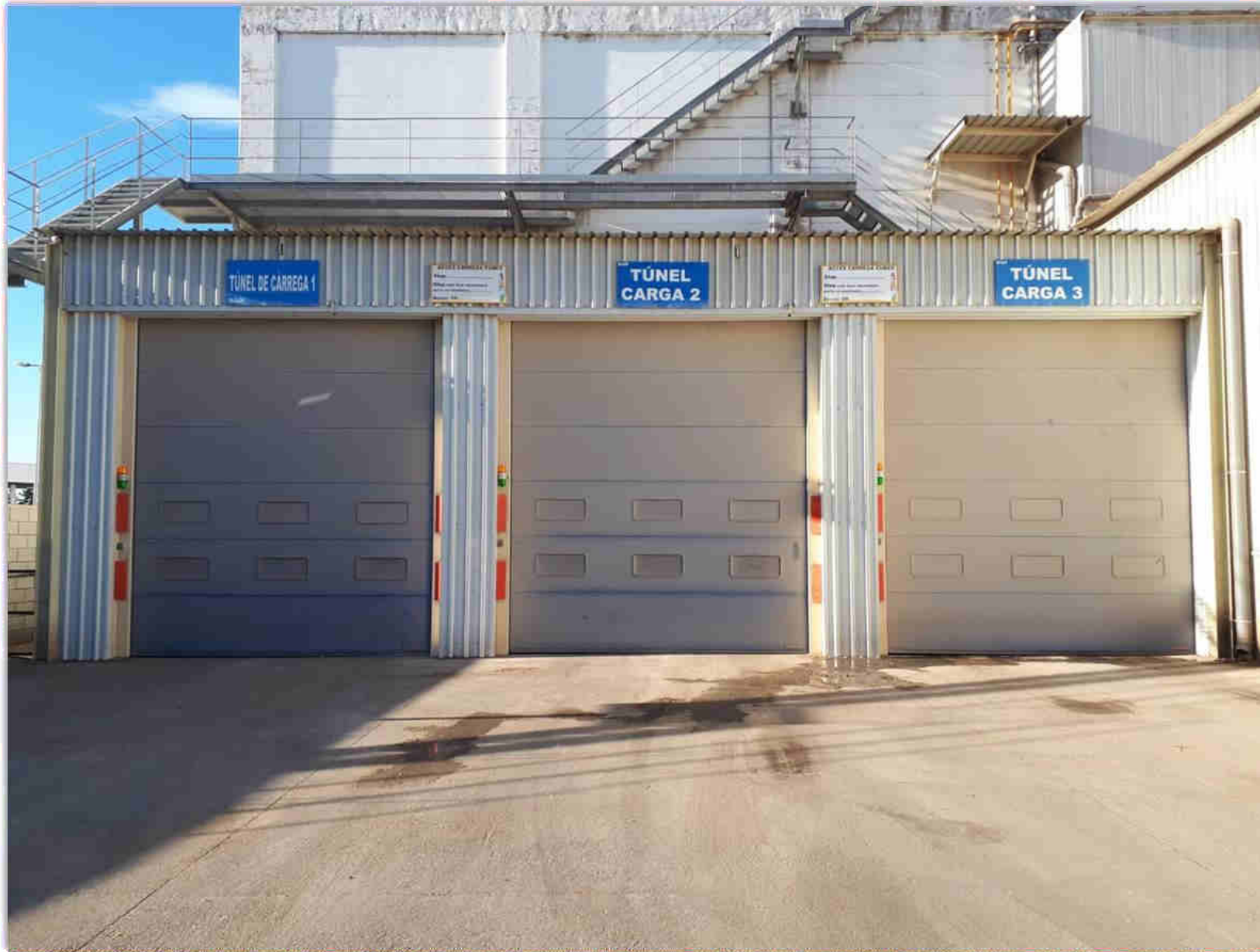
- Según estirpe: Ross – Cobb
- Alimento diferente ♂ - ♀
- Cambio según edad
 - ✓ Recría, de migaja a granulado de 6mm; 5 ref.
 - ✓ Puesta; harina con tratamiento térmico; 5 ref.
- Fábrica especializada
- Transporte especializado
- Aditivos:
 - ✓ Probióticos
 - ✓ Aceites esenciales
 - ✓ Ácidos orgánicos
 - ✓ Ácido Butírico



Fábrica especializada

- **Bioseguridad**
- Arcos de desinfección
 - ✓ Entrada de fábrica
 - ✓ Salida de fábrica
- Control de materias primas
 - ✓ Toma de muestras
 - ✓ Cámara de alta resolución (control físico, impurezas, insectos, etc)





- Cargas a puerta cerrada

- Harina con tratamiento térmico (3 minutos a 80 – 86°C)

<u>RECuento ENTEROBACTERIAS EN PIENSOS</u>	
NO TERMICO-NO ACIDIFICANTE	3.885
NO TERMICO-ACIDIFICANTE	145
TERMICO-NO ACIDIFICANTE	80
TERMICO-ACIDIFICANTE	0

Engorde



- Presentación según edad
- Aditivos
 - ✓ Probióticos
 - ✓ Aceites esenciales
 - ✓ Ácidos orgánicos
 - ✓ Ácido Butírico
- Control digestibilidad



- Control coccidiosis
- 3 silos por nave
 - ✓ Coccidiostatos/Vacuna
 - ✓ Presentaciones
- Control informático de pedidos, evitar errores

Transporte

- Huevos
- Pollitos
- Alimento
 - ✓ Incompatibilidades entre especies
 - ✓ Vacunación coccidia
- Aves a sacrificio (Carga)

☐ Bioseguridad

☐ Bienestar Animal



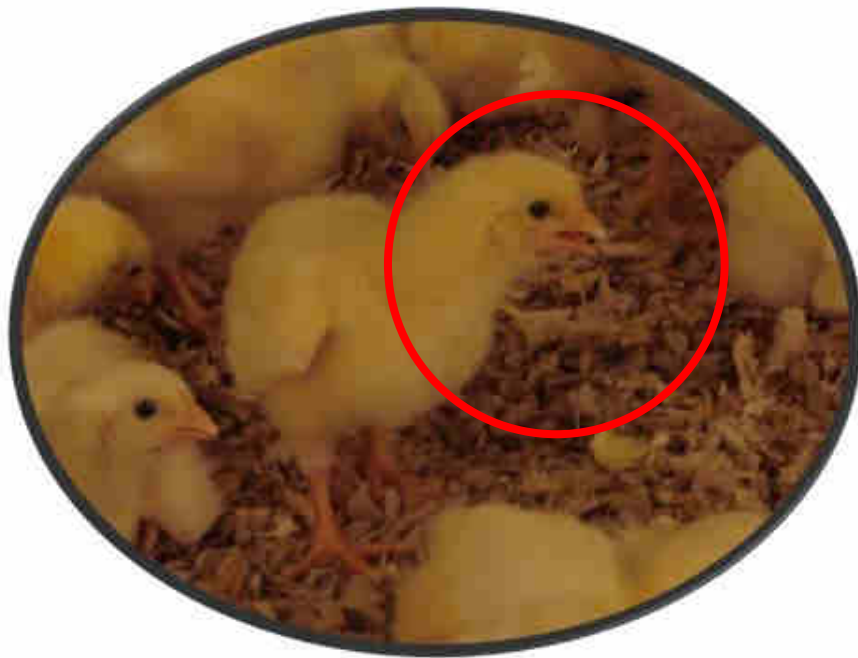
Aves engorde

- Bioseguridad
- Higiene: (limpieza, desinfección, desratización y desinsectación)
- Instalación
- Bienestar Animal
- Manejo



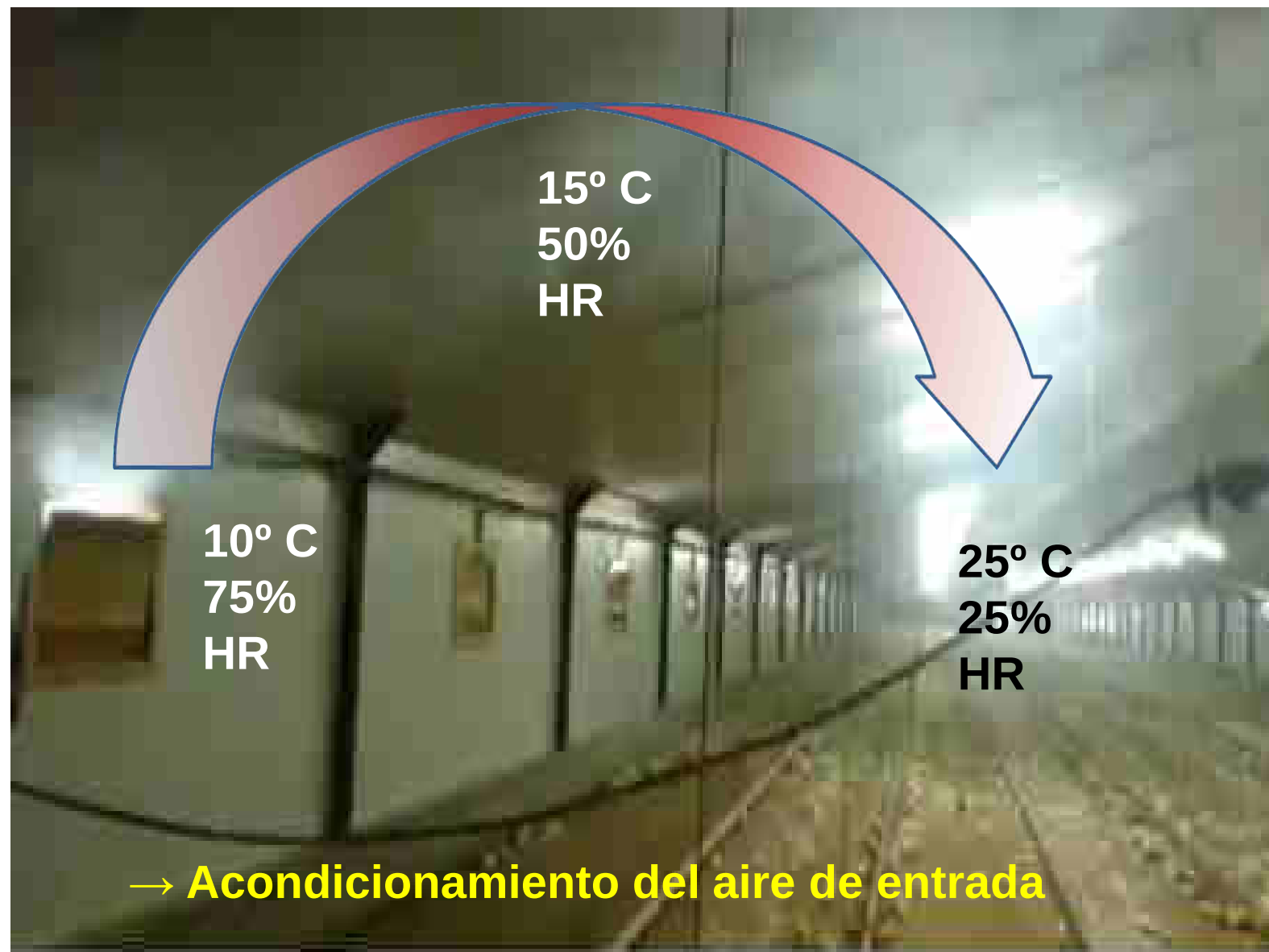
- Control Clima

Antes de...



→ Poco control sobre el clima y el flujo de aire.
Saturación de humedad: condensación!!

Actualmente...





bonArea
AGRUPA

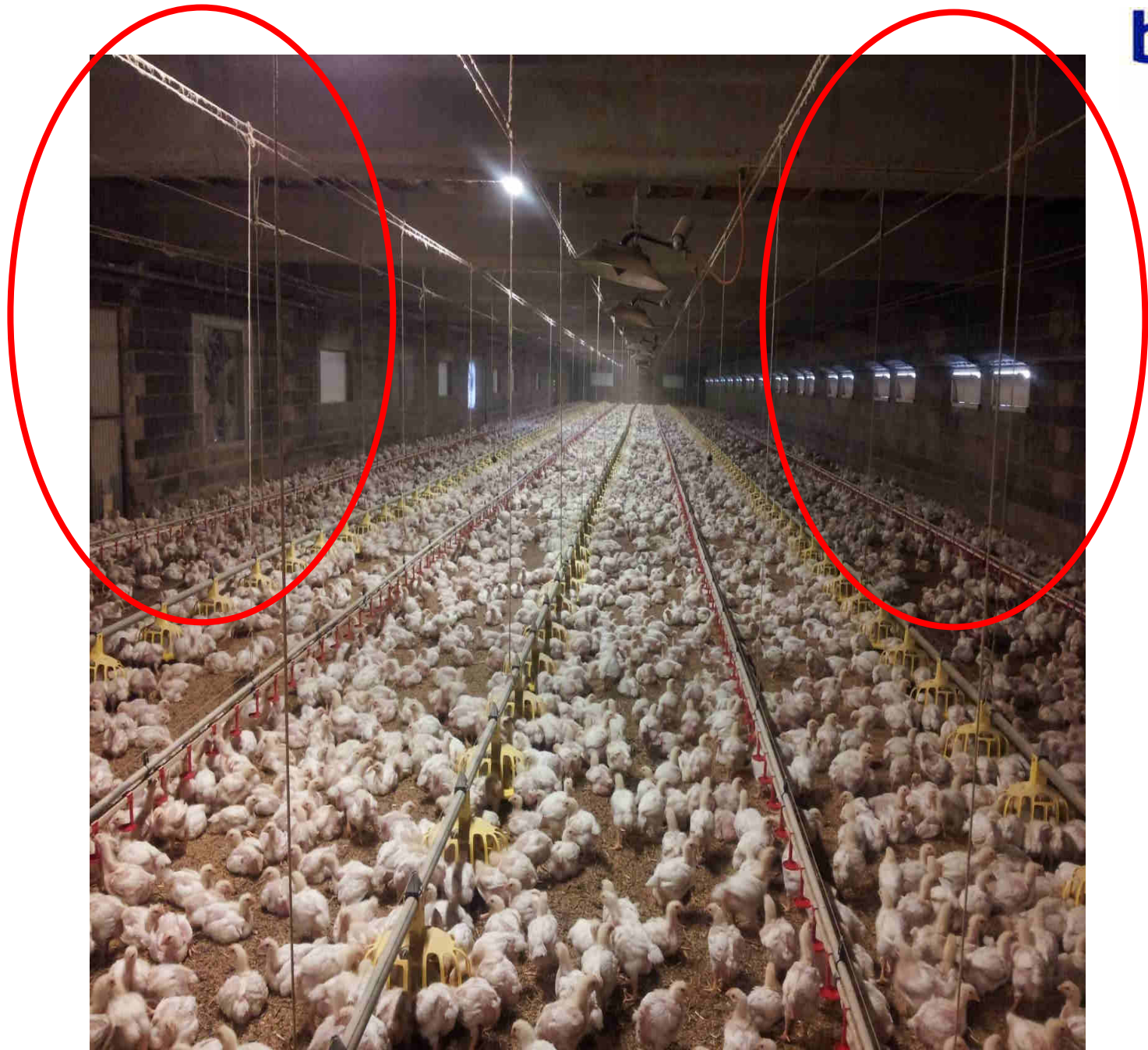


- Evitar migraciones



- Iluminación

Antes de...



- Iluminación

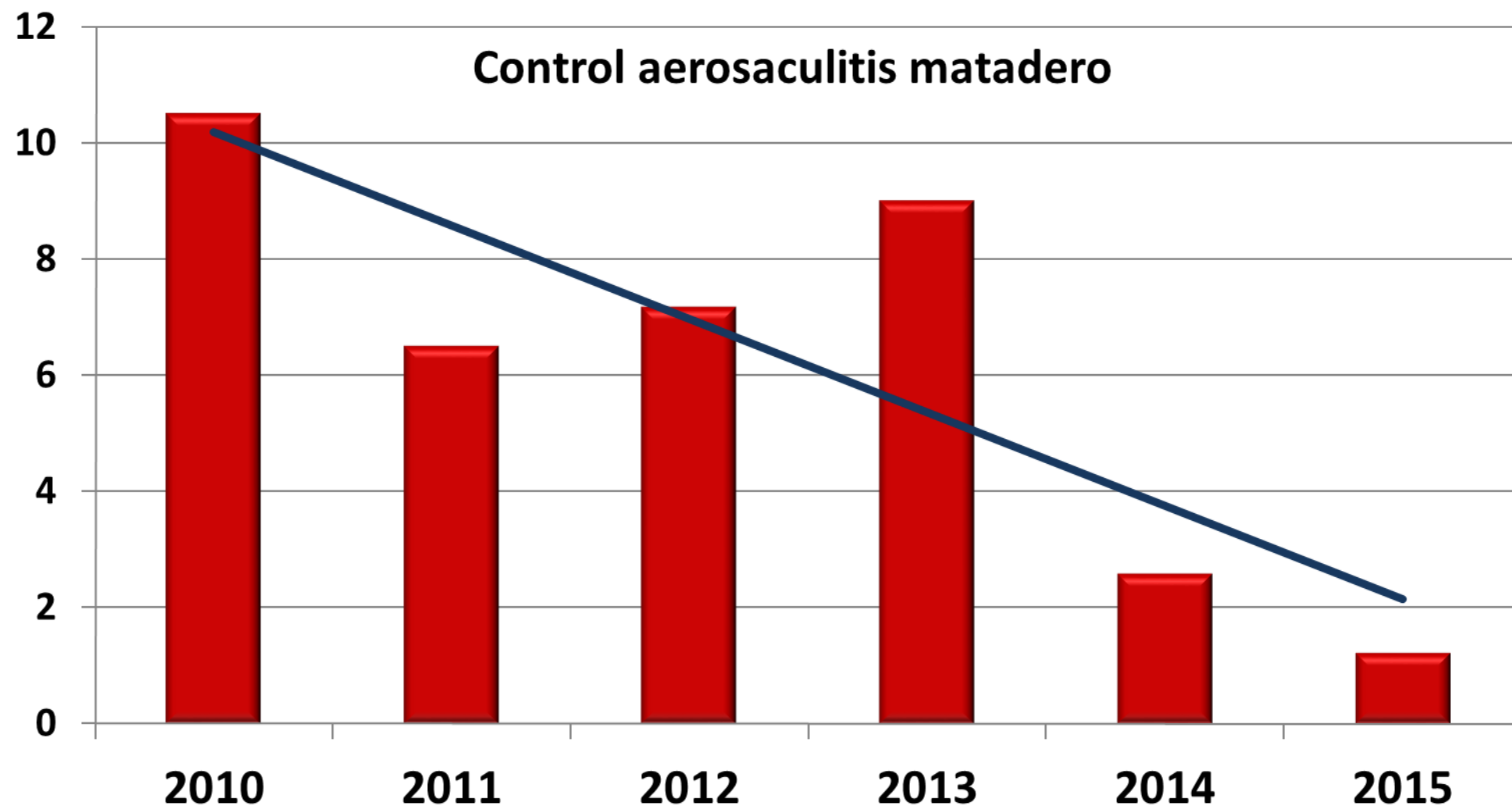
Actualmente...

**Luz
uniforme**

**Regulable
en
intensidad**

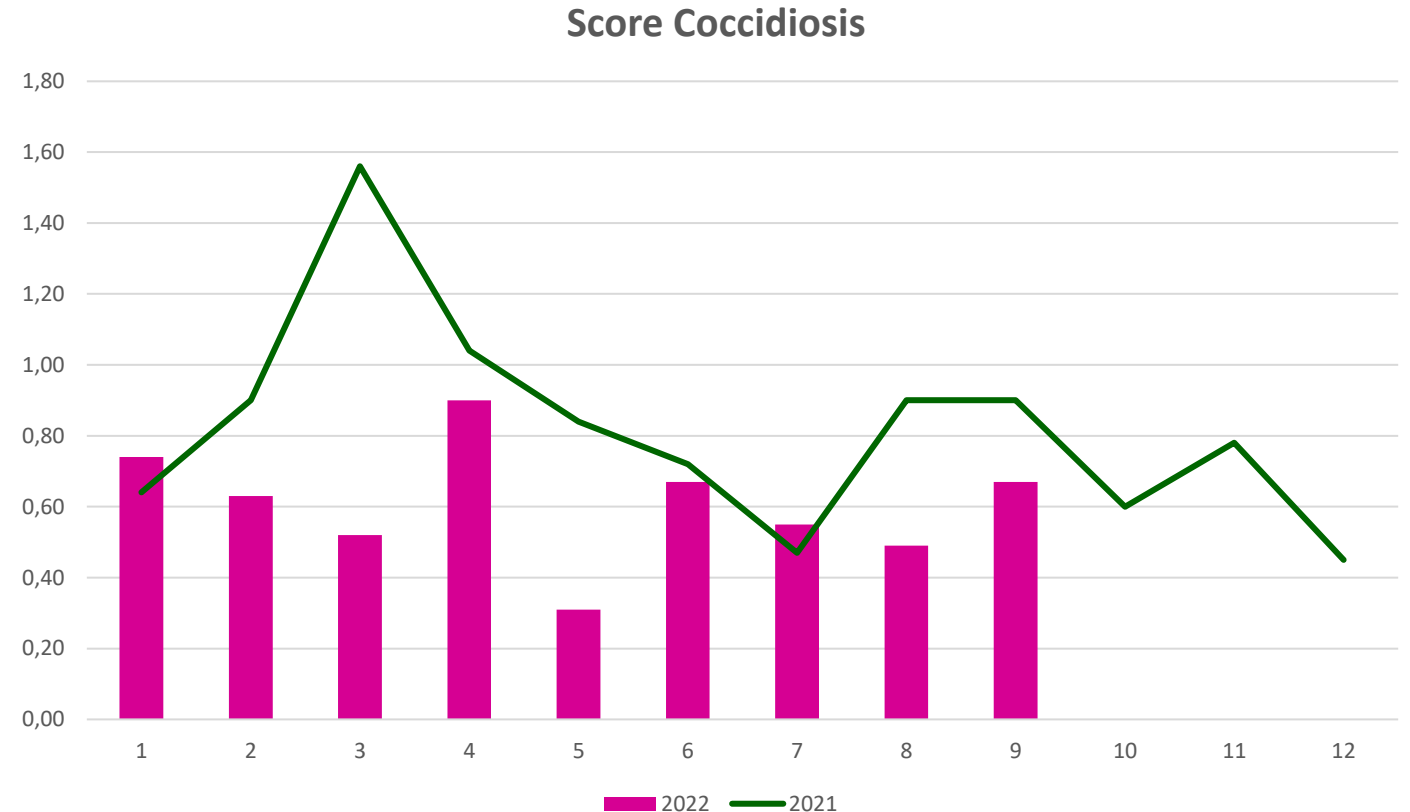


MEJORA DE CALIDAD:



- Control integridad intestinal

Ejemplo de cálculo de puntuación media total de lesiones				
Aves	Puntuación de lesiones			Total
	<i>Eimeria acervulina</i>	<i>Eimeria maxima</i>	<i>Eimeria tenella</i>	
1	0	1	1	2
2	2	0	0	2
3	0	0	2	2
4	1	2	1	4
5	1	0	1	2
Total	4/5	3/5	5/5	12
	0,8	0,4	1	12/5
Puntuación media total de lesiones				2,4



La puntuación de coccidiosis se establece de acuerdo con el sistema descrito por **Johnson y Reid (1970)**.

≤ 1	Resultado satisfactorio
1-1,5	Considerar especie involucrada, revisar condiciones para posibles acciones correctivas
≥1,5	Problema potencial que debería investigarse

- Control integridad intestinal



- Seguimiento de consumos:

- ✓ Agua
- ✓ Alimento
- ✓ Pesos

- Control de agua

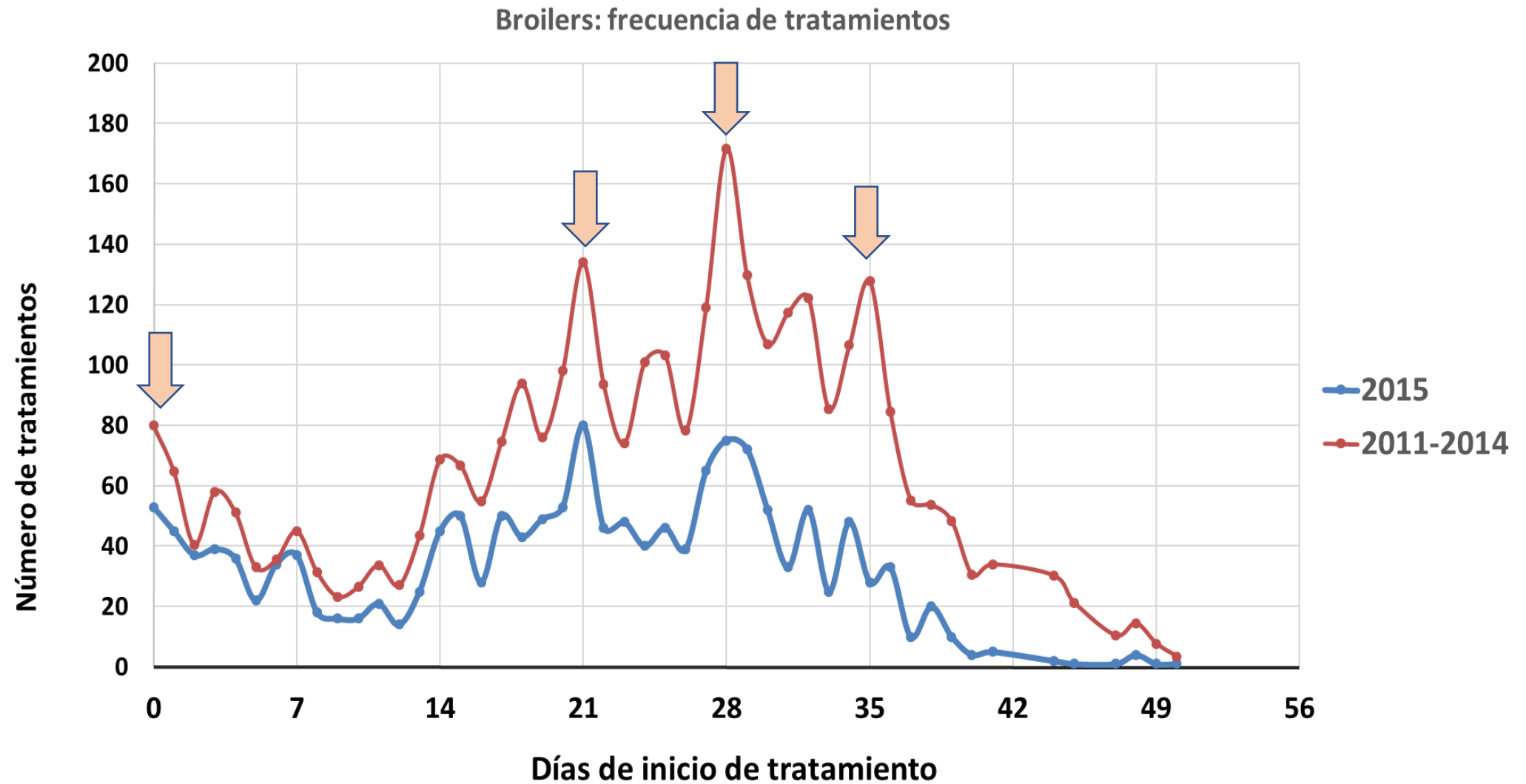
- ✓ Adecuadas condiciones físico-químicas
- ✓ Adecuadas condiciones microbiológicas
 - Coliformes 0 col./100ml.
 - Escherichia coli 0 col./100ml.
 - Enterococos fecales 0 col./100ml.
 - Clostridium perfringens 0 col./100ml.



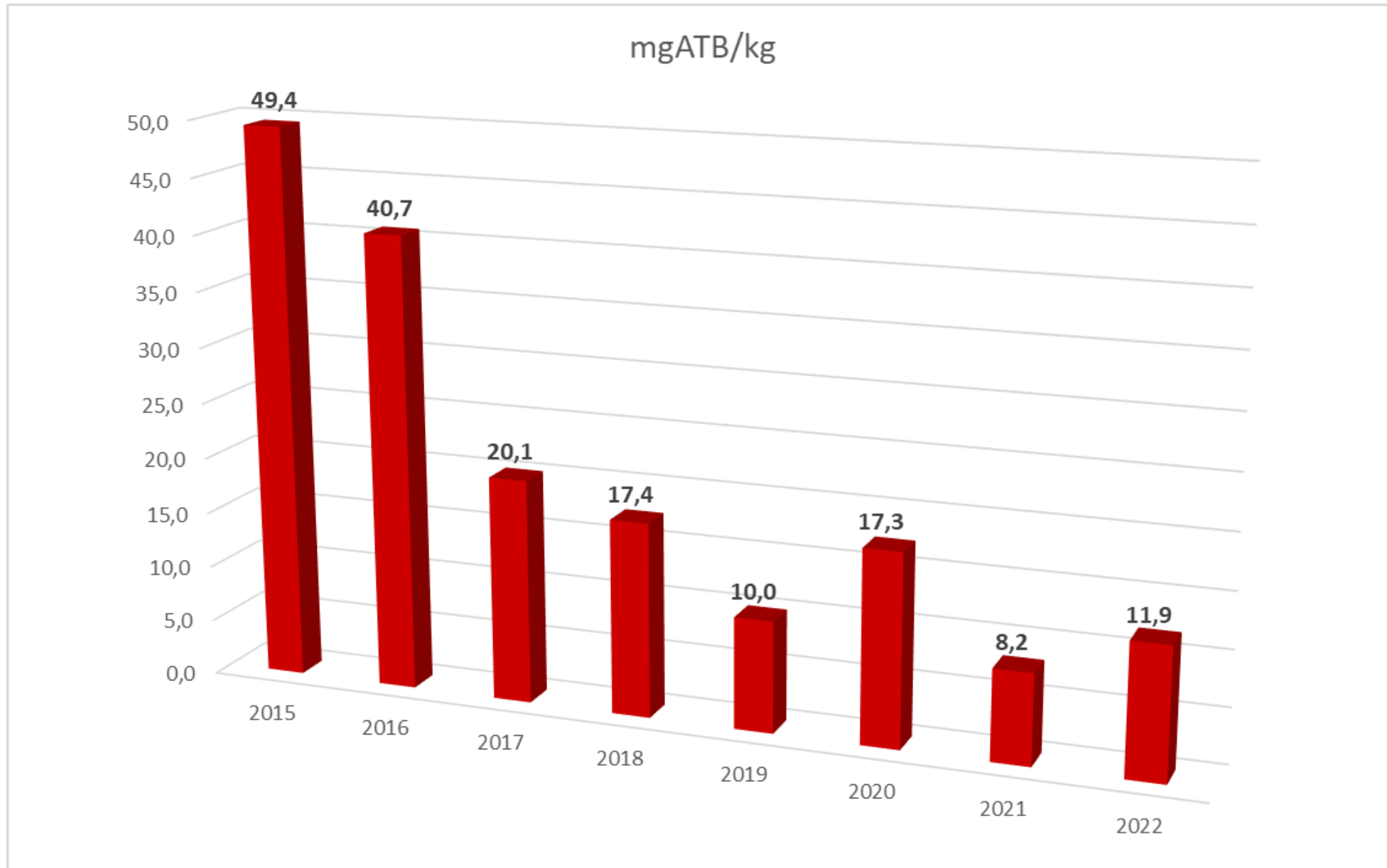
- Control del Agua



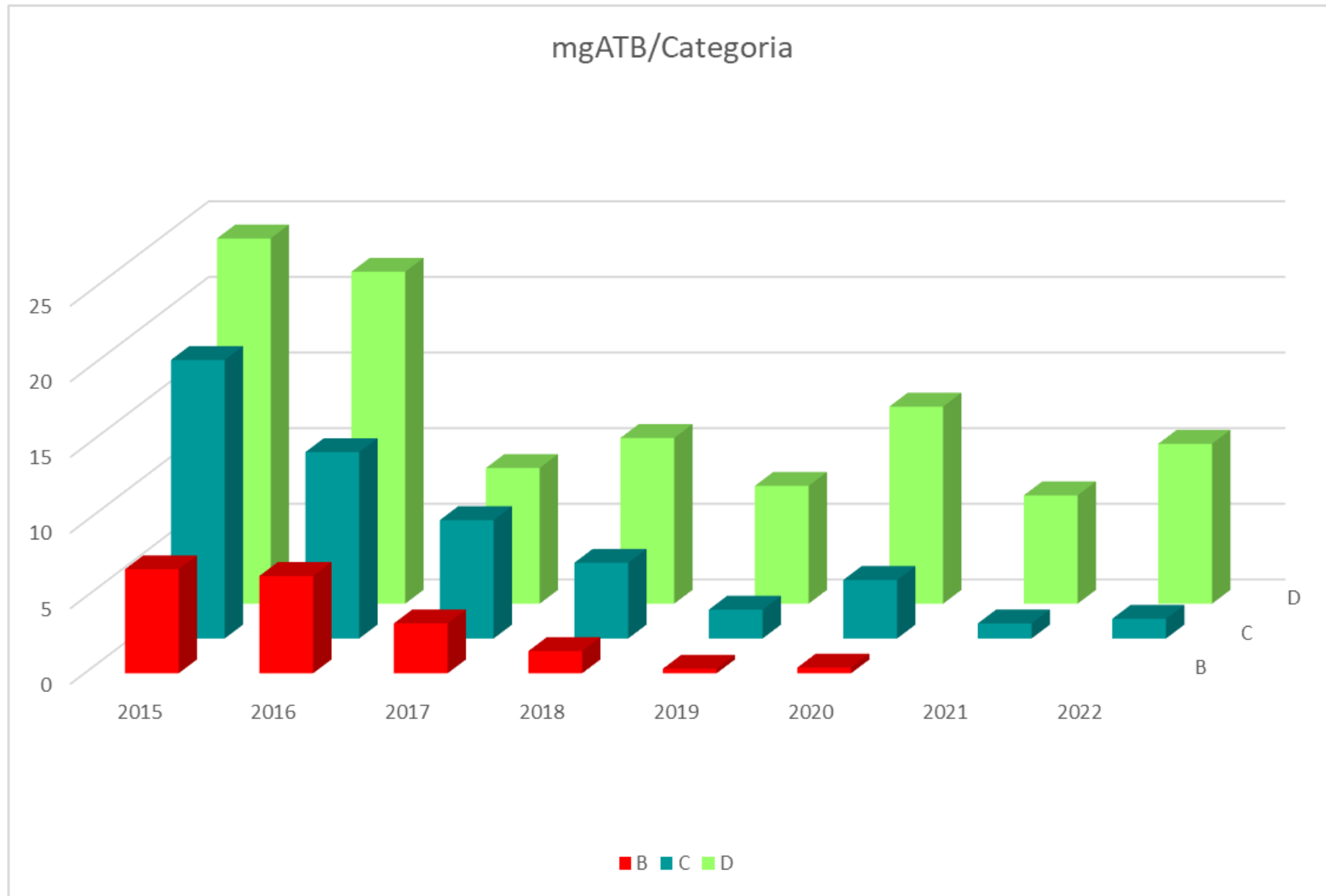
- Seguimiento uso Antibióticos



- Seguimiento uso Antibióticos



- Seguimiento uso Antibióticos



- Apoyo del laboratorio:

Antibiogramas

Antibiogramas E. coli
Año 2021
Especie Pollos

Sustancia Activa	ANTIBIOGRAMAS	S	I	R
AMOXI	60	3	3	54
APR	1	1	0	0
COLIM	1	1	0	0
DOXY	41	4	7	30
ENRO	64	42	9	13
ESTREP	1	0	0	1
FLOR	62	43	12	7
L/S	63	10	22	31
NEO	1	0	1	0
OXITETRA	23	9	7	7
PENI	64	0	0	64
SxT	64	51	6	7
TETRA	1	0	1	0
TYLO	63	0	0	63

- Análisis de Sensibilidad a Antibióticos

Aislamientos E. coli
Especie Aves

	2016	2018	2020	2021	2022
AMOXI	25%	32%	11%	10%	8%
COLIM	100%	97%	100%	100%	100%
ENRO	38%	61%	76%	80%	92%
FLOR	89%	85%	87%	88%	90%
GENTA	84%	89%			100%
L/S	45%	68%	66%	49%	69%
NEO	53%	32%	100%	100%	
SxT	29%	57%	80%	86%	77%

