

Análisis estratificado en estudios de cohortes. Uso de enzimas en dietas pos destete de lechones para disminuir incidencia de diarreas

Pattacini, S.H.; Scoles, G. Braun, R.O.; y C. R. Castaño

**Facultades de Ciencias Exactas y Naturales y de Agronomía de la UNLPam. Argentina.
Ruta 35; km 334. (6300) Santa Rosa, La Pampa.**

Resumen

La utilización de enzimas en la nutrición de cerdos, puede ser una buena alternativa como aditivo en raciones formuladas con materias primas tradicionales con el fin de mejorar la digestibilidad de los alimentos pos destete y disminuir la presencia de diarreas en este período. El objetivo de la presente investigación se basó en medir la respuesta a la sobrevivencia a través de la presencia o no de diarreas nutricionales en lechones durante el período 21 – 42 días alojados en cajones sobre elevados a campo y en pistas confinadas con ambiente controlado, alimentados con dietas con adición de concentrados enzimáticos. La dieta estuvo formulada de acuerdo a los requerimientos de este estado fisiológico con ingredientes tales como: leche en polvo, suero de queso, harina de sangre, soja extruida, maíz extruido, Ca, P y premix de microminerales y vitaminas. Se utilizaron dos dietas idénticas sólo que a una se le adicionó un 1 kg/ tn de un concentrado enzimático (A) y a la otra 1 kg/ tn de uno (B). Los concentrados enzimáticos comerciales obtenidos de fermentación sólida estaban compuestos por 5.000 µg de α -amilasa, 4.000 µg de xilanasas y 50.000 µg proteasas por kg de concentrado. Para la obtención de dichos extractos enzimáticos, se emplearon cepas de hongos de las especies *Aspergillus oryzae* (A) y *Rhizopus oryzae* (B). Se determinó el riesgo relativo (RR) como medida de fuerza de asociación. El sistema de alojamiento actuó como factor de confusión en relación a la distribución de los resultados presencia de diarreas. Éstos demostraron que en los estudios de cohorte es imprescindible disminuir el sesgo de la distribución estratificando los datos de acuerdo a los factores de exposición que el observador considere a fin de evaluar el uso de enzimas en dietas para lechones pos destete para la presente experiencia.

Palabras clave: Estudio de cohortes – análisis estratificado – diarreas pos destete – enzimas exógenas

Abstract

The use of enzymes in swine feed, may be a good alternative as additive in rations formulated with traditional raw materials in order to improve the digestibility of foods and post-weaning diarrhea decrease in the presence of this period. The objective of this research was based on measuring the response to survival through the presence or absence of nutritional diarrhea in piglets during the period 21 - 42 days housed in outdoor crates on high and confined tracks with controlled environment, fed diets with added enzyme concentrates. The diet was formulated according to the requirements of this physiological state with ingredients such as dried milk, whey, blood meal, extruded soybeans, extruded corn, Ca, P and trace elements and vitamins premix. Two diets were used identical only one was added to 1 kg / tn of an enzyme concentrate (A) and another 1 kg / tn of one (B). Commercial enzyme concentrates obtained solid fermentation consisted of 5,000 µ of α -amylase, 4,000 µ of xylanase and 50,000 µ protease per kg

of concentrate. For obtaining such enzyme extracts were used strains of fungi of the species *Aspergillus oryzae* (A) and *Rhizopus oryzae* (B). We determined the relative risk (RR) as a measure of strength of association. The housing system acted as a confounding factor in relation to the distribution of results presence of diarrhea. The results showed that in cohort studies is essential to minimize bias in the distribution stratifying the data according to the exposure factors consider the observer to assess the use of enzymes in diets for piglets after weaning for this experience.

Key words: Cohort study - stratified analysis - post weaning diarrhea - exogenous enzymes

Introducción

En epidemiología se formulan diseños de investigación de distinto grado de complejidad. Entre estos diseños el estudio experimental es reconocido como el único capaz de probar causalidad. En cambio una buena aproximación al riesgo puede obtenerse con los estudios observacionales de casos y controles y, más rigurosamente desde el punto de vista conceptual, con los estudios de cohorte. Los estudios de cohorte consisten en el seguimiento de una o más cohortes de individuos sanos que presentan diferentes grados de exposición a un factor de riesgo en quienes se mide la aparición de la enfermedad o condición en estudio (Ahrens & Pigeot, 2005). Estos diseños de investigación se clasifican, según los criterios taxonómicos clásicos, como estudios observacionales, analíticos y longitudinales prospectivos. La categoría observacional se refiere a la imposibilidad que el investigador tiene de manipular la(s) variable(s) independiente(s), lo cual los distingue de los estudios experimentales. Por tratarse de estudios cuyos resultados permiten un análisis más sofisticado que el de los estudios descriptivos, son considerados estudios analíticos. Por definición, deben permitir la verificación de hipótesis de trabajo (Houe *et al*, 2003). Finalmente, los estudios de cohorte se basan en un seguimiento en el tiempo de uno o más grupos de individuos que difieren entre sí por la presencia de una o más variable(s) independiente(s). Por esta razón se les denominan estudios prospectivos, concepto que incorpora implícitamente el carácter longitudinal de los mismos. Los estudios de cohorte tienen un diseño o formato fundamental. Se trata del seguimiento de individuos caracterizados por estar libres del daño en estudio al inicio de la observación (Smith, 2006). En estos individuos se observa, a medida que pasa el tiempo, la aparición de casos de enfermedad o caída productiva a lo largo del tiempo según posean o no estos un atributo (variable independiente o exposición) que se cree asociado al desenlace en estudio. En los estudios analíticos de cohorte no está presente el evento cuando se inicia el mismo, pero si se puede estudiar a través de este la distribución de un evento probable teniendo en consideración uno o más factores fijos de exposición. La utilización de enzimas en la nutrición de cerdos, puede ser una buena alternativa como aditivo en raciones formuladas con materias primas tradicionales con el fin de mejorar la digestibilidad de los alimentos pos destete para incrementar la productividad disminuyendo la presencia de diarreas en este período (Braun & Cervellini, 2010; Brunori, 2009). El objetivo de la presente investigación se basó en medir la respuesta a la sobrevivencia a través de la presencia o no de diarreas nutricionales, de lechones durante el período 21 – 42 días pos destete que cumplieron alojados en cajones sobre elevados a campo y en pistas confinadas con ambiente controlado, alimentados con dietas adicionadas con concentrados enzimáticos.

Materiales y métodos

En la presente experiencia se probaron dos concentrados enzimáticos exógenos en una dieta de iniciación para lechones destetados a los 21 días y alojados en cajones sobre elevados a campo de 4 m² cada uno de los cuales 2m² cerrados totalmente en madera con piso ciego y comedero tolva, los otros 2 m² con piso ranurado y área descubierta; y en pistas confinadas con ambiente controlado. Los cajones albergaban 22 cerdos por cajón y las pistas con piso ranurado y divisiones cada 20 cerdos en cada una con una superficie por división de 4 m². La dieta estuvo formulada de acuerdo a los requerimientos de este estado fisiológico (NRC, 2001) con ingredientes tales como: leche en polvo, suero de queso, harina de sangre, soja extruída, maíz extruído, Ca, P y premix de microminerales y vitaminas. Se utilizaron dos dietas idénticas sólo que a una se le adicionó un 1 kg/Tn de un concentrado enzimático (A) y a la otra 1 kg/ tn de uno (B). Los concentrados enzimáticos comerciales obtenidos de fermentación sólida (Raghavarao & Ranganathan, 2003) estaban compuestos por 5.000 µg de α-amilasa, 4.000 µg de xilanasas y 50.000 µg proteasas por kg de concentrado. Para la obtención de dichos extractos enzimáticos, se emplearon cepas de hongos filamentosos de las especies *Aspergillus oryzae* (A) y *Rhizopus oryzae* (B), de la colección de cepas del departamento de biotecnología de una firma internacional de elaboración de alimentos y medicamentos destinados a la producción animal. Para la experiencia se estudió una población de 296 lechones de los cuales 148 se les suministró la dieta con el concentrado A y a 148 la dieta con el concentrado B. A los efectos de conocer el comportamiento de los concentrados adicionados asociados a presencia de diarrea se realizó el estudio epidemiológico analítico de cohorte correspondiente y se observó la presencia de diarrea pos destete en el período 21 – 42 días en ambos grupos. Se determinó el riesgo relativo (RR) como medida de fuerza de asociación entre el factor de exposición (concentrados de enzimas) y el evento diarrea nutricional pos destete. En razón que el sistema de alojamiento puede actuar como factor de confusión en relación a la distribución del resultado presencia de diarreas se estratificaron los datos observados de acuerdo al sistema de alojamiento de lechones para conocer cuánto inducen a la presencia del evento (Pandey et al, 2003).

Resultados y discusión

De las observaciones realizadas durante los 21 días, en los alojamientos de destete resultaron que de los 148 lechones que consumieron la dieta A, 62 presentaron síntomas asociados a diarreas y 86 sin diarreas. De los 148 que consumieron la dieta B, 35 resultaron con diarrea y 113 sin la presencia del evento. De acuerdo a esta distribución la tasa de incidencia de cerdos con diarrea que consumieron la dieta A es de 0,42 y la de B 0,24. El RR fue de 2,32 (IC_{95%} = 1,41 < 2,32 < 3,84). Esta medida de fuerza de asociación explica que con ambas dietas ocurren diarreas pero A predispone a mayor presencia del evento, 2,32 veces más que en B. Este resultado no puede afirmar que el concentrado A es mejor que B porque el alojamiento de los lechones no fue para todos el mismo. Para determinar hasta dónde el alojamiento es un factor de confusión se estratificaron las observaciones de acuerdo a esta variable resultando la siguiente distribución (Cuadro 1).

Cuadro 1: distribución del evento de acuerdo a los factores de exposición tipo de concentrado y de alojamiento

	Alojamiento en confinamiento			Alojamiento en cajones sobre elevados a campo		
	Diarrea +	Diarrea -	Totales	Diarrea +	Diarrea -	Totales
A	4	16	20	58	70	128
B	26	102	128	9	11	20
Totales	30	118	148	67	81	148

A los efectos de considerar la fuerza de asociación, el RR en cerdos alojados en confinamiento es 0,98 ($IC_{95\%} = 0,302 < 0,980 < 3,182$) y también en cerdos alojados en cajones sobre elevados a campo es 1,012 ($IC_{95\%} = 0,392 < 1,012 < 2,611$), de modo que no hay asociación entre ambos concentrados cuando se agrega el factor de confusión tipo de alojamiento. Por tal tanto A como B son adecuados concentrados enzimáticos para disminuir la presencia de diarrea pos destete, sólo que el tipo de alojamiento es un factor de confusión para el análisis de la distribución de resultados de diarrea, aunque se puede afirmar que hay más diarreas en ambos casos cuando los cerdos se alojan en instalaciones de campo. Los resultados demuestran que en los estudios analíticos de cohorte es imprescindible disminuir el sesgo de la distribución estratificando los datos de acuerdo a los factores de exposición que el observador considere como importantes para que ocurra el evento. En esta experiencia si se registraba solamente la distribución de diarrea pos destete de acuerdo al factor de exposición concentrado enzimático; el de origen A debería descartarse, sin embargo el tipo de alojamiento de los cerdos como co - variable del concentrado, determinó que A y B son concentrados que pueden usarse para disminuir la incidencia de diarreas pos destete durante el período 21 – 42 días.

Bibliografía

- Ahrens, W.; Pigeot, I. 2005. Handbook of Epidemiology. Edit. Springer. 245 pp.
- Braun R.O., y Cervellini, J:E. 2010. Producción Porcina: bienestar animal – salud y medio ambiente – etología - genética y calidad de carne – formación de recursos humanos – enseñanza de la disciplina en la universidad. Ed. Nexo diNapóli. 276 pp.
- Brunori, J. 2009 Proyecto Regional: Producción sustentable de carne porcina en Córdoba. INTA Marcos Juárez, Córdoba. 78 pp.
- Houe, H.; Ersboll, A.K.; Tofl, N.; Agger, J.F. 2003. Veterinary Epidemiology from hypothesis to conclusion. Edit. Houe Ersboll, Tofl, Agger. 145 pp.
- National Research Council (NRC) 2001. Nutrient Requirement of swine. Ed., National Academy of Sciences. Washington, D.C., USA. In: Acrobat Reader. 68 pp.
- Pandey, A., Germano, S., Osaku, C.A., Rocha, N.S. y Soccol, C.R. 2003. Characterization and stability of proteases from *Penicillium sp.* Produced by Solid – State Fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*. 32: 246 – 251
- Raghavarao, K.; Ranganathan, T.V. 2003. Some engineering aspects of solidstate fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 13: 121 – 135.
- Smith, R.D. 2006. Veterinary Clinical Epidemiology. Third Edition. Edit. Taylor & Francis. 304 pp.

