

Potencial de glucanos para estimular el sistema inmune de terneras recién nacidas

Carlos Angulo, Miriam Angulo

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR)- Grupo de Inmunología y Vacunología. caangulo@cibnor.mx

Biotecnología y Ciencias Agropecuarias

Abstract

This study evaluated the effect of oral administration of a carbohydrate (beta-glucan) from the yeast *Debaryomyces hansenii* CBS 8339 on the immune response in newborn calves. The calves received two doses of 5 mg per kg of weight, separated by three days (on days 0 and 3). On day 7 a blood sample was taken to analyze the immune response and protection against an infectious challenge in monocytes with the pathogen *Escherichia coli*. After the infection challenge, phagocytic activity, nitric oxide production, myeloperoxidase activity, and expression of genes associated with the immune response increased in calves receiving beta-glucan. These results indicate that beta-glucan from *D. hansenii* CBS 8339 stimulated the defenses of newborn calves and could help protect them from infections.

Keywords: functional carbohydrates, immune defenses, infections, animal health.

Resumen

En este estudio se evaluó el efecto de la administración oral de un carbohidrato (beta-glucano) de la levadura *Debaryomyces hansenii* CBS 8339 sobre la respuesta inmune en becerras recién nacidas. Las becerras recibieron dos dosis de 5 mg por kg de peso, separadas por tres días (al día 0 y 3). Al día 7 se tomó una muestra de sangre para analizar la respuesta inmune y la protección contra un reto infeccioso en monocitos con el patógeno *Escherichia coli*. Después del reto infeccioso, la actividad fagocítica, la producción de óxido nítrico, la actividad de la mieloperoxidasa y la expresión de genes asociados a la respuesta inmune se incrementaron en las becerras que recibieron el beta-glucano. Estos resultados indican que el beta-glucano de *D. hansenii* CBS 8339 estimuló las defensas de becerras recién nacidas y podría ser útil para protegerlas de infecciones.

Palabras clave: carbohidratos funcionales, inmunodefensas, infecciones, salud animal.

Problemática

Las pérdidas en rendimientos y mortalidad de becerros recién nacidos por las enfermedades infecciosas en la industria bovina lechera.

Usuarios

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), Secretaría de Salud, productores, investigadores y técnicos relacionados con la producción de becerras.

Introducción

La mayor mortalidad de los bovinos lecheros ocurre en el periodo neonatal, que es durante los primeros 30 días después del nacimiento y es principalmente asociada a infecciones (Mee, 2023). La mala higiene de los pesebres, la suciedad en los pezones de las madres y mal calostro, predisponen a los becerros a infectarse desde las primeras horas de vida. *Escherichia coli* causa colibacilosis en los establos lecheros, y es resistente a los antibióticos usados de manera común como tratamiento. En este sentido, el sistema inmune del cuerpo puede ser estimulado por sustancias producidas por levaduras (Schlabitz et al., 2022), principalmente por carbohidratos de tipo beta-glucano, para controlar infecciones por *E. coli* (Liu et al., 2021; Machuca et al., 2022).

Objetivos

Por lo anterior, en este trabajo se investigó el efecto de la administración oral de beta-glucano, obtenido de una levadura marina (*Debaryomyces hansenii* CBS

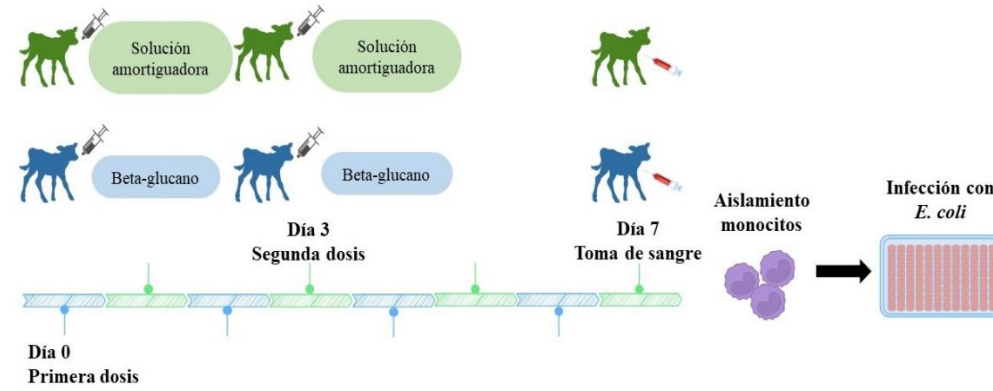


Figura 1. Esquema de administración de los beta-glucanos de *Debaryomyces hansenii* CBS 8339 en terneras Holstein recién nacidas.

8339), sobre la respuesta inmune en becerras Holstein recién nacidas..

Materiales y Métodos

Se cultivó *Debaryomyces hansenii* CBS 8339 en medio YPD (5 g extracto de levadura, 10 g de peptona y 10 g de dextrosa por litro, Sigma, St. Louis MO, USA) a 30 °C en agitación a 150 revoluciones por minuto (r.p.m.) por 24 horas. La biomasa del cultivo se obtuvo por centrifugación (2500 r.p.m. por 15 minutos) y se liofilizó (LABCONCO, MO, USA) durante 24 horas. Posteriormente, la biomasa se incubó con una solución de hidróxido de sodio (3 %) y se calentó a 100 °C por 3 horas. La suspensión se centrifugó (6297 g x 15 min) y se añadió ácido acético (0.5 N) para resuspender el precipitado (75 °C por 6 horas). En seguida, se agregaron 40 mL de etanol y el material se calentó a punto de ebullición por 15 minutos. Por último, se centrifugó para obtener el beta-glucano que fue liofilizado para su uso.

El beta-glucano se administró por vía oral en una solución amortiguadora (PBS) (a 40 mg mL⁻¹) a cinco terneras (becerras) Holstein de uno a cinco días de nacidas (Grupo beta-glucano de *D. hansenii* CBS 8339); en un esquema de dos dosis separadas por tres días (Fig. 1), cada dosis fue de 5 miligramos por kilogramo de peso vivo. Cinco becerras sólo recibieron 5 mililitros de la solución amortiguadora en dos dosis (grupo Control). Al día 7 se tomó una muestra de sangre para aislar monocitos (células del sistema inmune). Un millón de monocitos (1 x 10⁶ cel mL⁻¹) se cultivaron en placas por 12 horas a 37 °C con CO₂ (5 %), luego fueron infectados con la bacteria patógena *Escherichia coli* 25 (1 x 10⁸ UFC mL⁻¹) y se volvieron a incubar por 4 y 24 horas a 37 °C. A las 4 y 24 horas se tomaron muestras para analizar la expresión de genes y parámetros asociados al sistema inmune. Los parámetros inmunes estudiados con técnicas convencionales fueron la actividad fagocítica (Teng et al. 2015), la producción de óxido nítrico (Neumann et al., 1995), y la actividad de la mieloperoxidasa (Quade y Roth, 1997). Los genes analizados por el método de Livak y Schmittgen (2001) fueron el receptor TLR2 (*tlr2*), el factor de transcripción NF-κB (*nfkb*), y la citocina TNF-α (*tnf-α*).

Resultados y Discusión

El sistema inmune de rumiantes madura hasta el primer año de vida (Colditz et al., 1996), por lo que la estimulación en el primer mes de vida puede ayudar a combatir enfermedades infecciosas, como la colibacilosis. Después de la infección con el patógeno (*E. coli* 25), la actividad fagocítica, la producción de óxido nítrico y la actividad mieloperoxidasa aumentaron de forma estadísticamente significativa (p < 0.05) en los monocitos de las terneras que recibieron vía oral el beta-glucano de *D. hansenii* CBS 8339, en comparación con los parámetros evaluados en los monocitos de las becerras del grupo Control que sólo recibieron la solución amortiguadora (PBS) (Fig. 2). La actividad fagocítica consiste en la habilidad de los monocitos para comerse a los patógenos y destruirlos (digerirlos) en su interior (Hussen y Schuberth, 2017). Para destruirlos, los monocitos producen óxido nítrico, que es una molécula tóxica para los patógenos (MacMicking et al., 1997). Además, la enzima mieloperoxidasa dentro de los monocitos genera ácido hipocloroso con actividad microbicida (mata a los microbios) (Aratani, 2018). Es decir, los resultados indican que los monocitos de las becerras suplementadas con el beta-glucano de *D.*

otras (Idriss y Naismith, 2000; Kushibiki, 2011). De esta manera se puede explicar el mecanismo de inmuno-estimulación de los monocitos de becerras administradas oralmente con beta-glucano de *D. hansenii* CBS 8339.

Conclusiones

Los resultados indican que la administración del beta-glucano de *Debaryomyces hansenii* CBS 8339 estimuló las defensas de becerras recién nacidas, con efectos positivos tanto de parámetros inmunológicos (fagocitosis, producción de óxido nítrico y actividad mieloperoxidasa), como en la expresión de genes (*tlr2*, *nfkb*, y *tnf-α*) que, en todos los casos, están asociados directamente con el sistema inmune y su respuesta ante patógenos.

Impacto Socioeconómico

La mortalidad de becerras por diarreas infecciosas causadas por *E. coli* reduce el número de hembras de reemplazo, pero aquellos animales que enfermaron y sobrevivieron gracias al uso de antibióticos, serán animales problema por el resto de su vida productiva, por lo que, la administración de beta-glucanos de *D. hansenii* CBS 8339 que ayudan al sistema inmune, puede ser una alternativa viable.



Contacto PCTI:
hnlascosoria@gmail.com

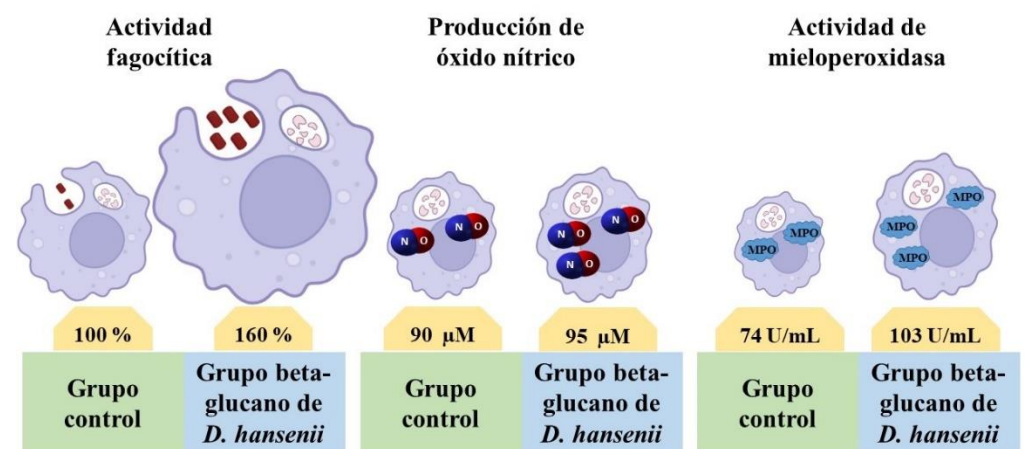


Figura 2. Respuesta de parámetros inmunológicos (fagocitosis, producción de óxido nítrico y actividad mieloperoxidasa) en monocitos de terneras que recibieron vía oral el beta-glucano de *D. hansenii* CBS 8339 y en monocitos del grupo Control. Los monocitos fueron infectados con *E. coli* 25

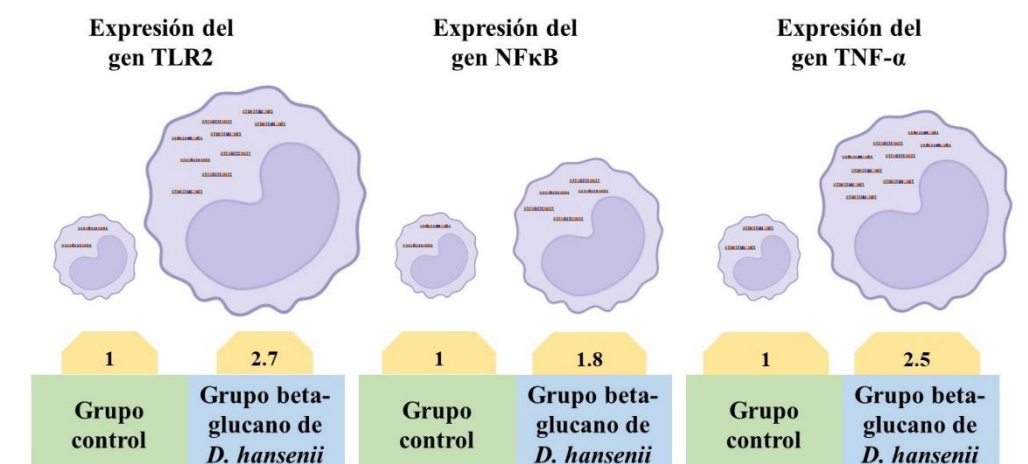


Figura 3. Comparación de los niveles de expresión de genes asociados al sistema inmune (TLR2, NFκB y TNF-α). Incrementados (p < 0.05) en monocitos de terneras que recibieron vía oral el beta-glucano de *D. hansenii* CBS 8339 contra los del grupo control. Los monocitos fueron infectados con *E. coli* 25.