

SECCIÓN ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Evaluación de un producto comercial en base a polisacáridos bacterianos propuesto como promotores de crecimiento en bovinos para carne

Mascaró, E.D.; Genero, G.A.; Gimenez, M.; Ferrán, A.M.; Castaldo, A.O.; Calvo, C.; Halac, J.M.

Pp. 2-10

Evaluación de un producto comercial en base a polisacáridos bacterianos propuesto como promotores de crecimiento en bovinos para carne

Mascaró, E.D.¹; Genero, G.A.¹; Gimenez, M.¹; Ferrán, A.M.¹; Castaldo, A.O.¹; Calvo, C.¹ y Halac, J.M.¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa.
danimascaro@yahoo.com.ar

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el uso de fragmentos de polisacáridos bacterianos en forma de un producto inyectable (MK471, Laboratorio Puebla SRL) en bovinos en crecimiento. Se utilizaron 40 vaquillonas, con un peso inicial de 260 kg, las que fueron divididas al azar en dos grupos: Control y Tratamiento. Las vaquillonas del grupo Tratamiento recibieron 10 ml del producto, al momento inicial, a los 21, 73 y 107 días. Los animales fueron individualizados con caravanas numeradas y pesados, en 5 oportunidades, a lo largo del ensayo para determinar la ganancia diaria de peso (GDP). Con la misma periodicidad, las vaquillonas fueron sangradas para evaluar variables hematológicas: número de glóbulos rojos (GR) y blancos (GB), y cantidad de proteínas plasmáticas totales. Los animales consumieron una pastura de alfalfa, con manejo rotativo, durante la totalidad del ensayo, que duró 170 días. El grupo Tratamiento fue estadísticamente superior en las variables GDP, concentración de proteínas plasmáticas totales y número de GR y GB en sangre. Se concluye que el producto MK471 tiene un efecto positivo como promotor de crecimiento en vaquillonas y demuestra una amplia relación beneficio/costo.

Palabras clave: Polisacáridos bacterianos, bovinos para carne, promotor de crecimiento.

Evaluation of a commercial product based on bacterial polysaccharide proposed as a growth promotor in beef cattle.

ABSTRACT

The objective of this work was to study the use of bacterial polysaccharide fragments in the form of an injectable product (MK471, Puebla SRL) in growing cattle. 40 heifers, with an initial weight of 260 kg, were randomly divided into two groups: Control and



Treatment. The heifers in the Treatment group received 10 ml of the product, at the initial moment, at 21, 73 and 107 days. The animals were individualized with numbered caravans and weighed on 5 moments throughout the trial to determinate the weight daily gain (WDG). With the same periodicity, the heifers were bled to evaluate hematological variables: number of red (RBC) and white blood cells (WBC), and amount of total plasma proteins. The animals consumed an alfalfa pasture, with rotational management, during the entire trial, which lasted 170 days. The Treatment group was statistically superior in the variables WDG, concentration of total plasma proteins and number of RBC and WBC. It is concluded that the product MK471 has a positive effect as a growth promoter in heifers and shows a wide benefit/cost ratio.

Key words: bacterial polysaccharide, beef cattle, growth.

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de estrategias para mejorar la eficiencia de la producción global de los bovinos para carne ha dado lugar a diferentes líneas de investigación a nivel mundial (Terry et al., 2021). Los implantes con productos esteroides naturales (17- β estradiol) o sintéticos (zearalenona, acetato de trembolona) han sido utilizados en Estados Unidos durante más de 60 años (Smith y Johnson, 2020), pero enfrentan restricciones crecientes en importantes mercados internacionales, como la Unión Europea. La Resolución No 447/2004, de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación ha prohibido la utilización de anabólicos esteroides en la producción de carne bovina. El uso de agonistas beta adrenérgicos (cimaterol, zilpaterol, ractopamina) en el alimento también ha sido objeto de fuertes restricciones en el comercio mundial de carnes (Centner et al., 2014) y, en consecuencia, no está autorizado en nuestro país. Resulta de interés, entonces, la experimentación con nuevas alternativas al uso de los promotores de crecimiento hormonales, con productos como el de referencia que no dejen residuos en carne, que no representen un riesgo para la salud y sean aceptadas por los consumidores.

Algunos componentes de la pared celular bacteriana están relacionados a respuestas proinflamatorias, pero otros, tales como el polisacárido A (Surana y Kasper, 2012) y el ácido lipoteicoico (Smelt et al., 2013), se han vinculado con respuestas anti-inflamatorias e inmunoregulatoras que mejoran la salud animal, a partir de su interacción con el sistema inmunitario. También se han identificado otras moléculas efectoras, como los glucanos, que forman parte de la envoltura microbiana. Pueden distinguirse dos tipos de glucanos: los polisacáridos capsulares, que están firmemente unidos a la superficie celular, y los exopolisacáridos (EPS), que están laxamente unidos a la superficie extracelular o son secretados al ambiente que la rodea. Existe una variedad de receptores en las células del sistema inmunitario que intervienen en el reconocimiento de determinadas sustancias microbianas, como los EPS, y en la iniciación y regulación de la respuesta inmunitaria. Algunos de los receptores más estudiados son los receptores tipo Toll (TLRs o Toll-like receptors) y los receptores a

lectina tipo C (CLRs o C-type lectin receptors). La interacción de los EPS con los receptores de las células dendríticas, asociadas al intestino, inician, a su vez, una cadena de eventos asociados a la estimulación de los linfocitos B, con la subsecuente producción de inmunoglobulina A (IgA), y de los linfocitos T helpers y T regulatorios, que intervienen en la estimulación y la regulación inmunitaria, respectivamente (Oerlemans et al., 2021). Es reconocido, por otro lado, que los polisacáridos switeriónicos (como el polisacárido A) son tomados por células presentadoras de antígenos, procesados a través de reacciones oxidativas y presentados a linfocitos T en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad II (MHCII), elicitando así una respuesta inmunológica. Los polisacáridos no switeriónicos no son capaces de unirse al MHCII. Sin embargo, si están unidos a proteínas pueden interactuar con el MHCII y a receptores de linfocitos T, lo que dio lugar a las vacunas a base de glucoconjugados (Avcı et al., 2013). También los glicolípidos, por ejemplo, alfa galactosil ceramida, pueden inducir respuestas de células T “natural killer” invariantes (iNKT), cuando son presentados por moléculas llamadas CD1d (Sun et al., 2016).

De esta manera, y en base a las complejas interacciones de polisacáridos y lipopolisacáridos bacterianos con el sistema inmunitario, resulta de interés evaluar el uso de este tipo de productos, como promotores del crecimiento, a través de una mejora de la salud animal (Tzianabos et al., 1994; Notararigo et al., 2014) y, probablemente, a través de efectos directos propuestos sobre algunos sistemas metabólicos (Zhang et al., 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en la Unidad Didáctica Experimental y Productiva (UDEP) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, ubicada cercana a la localidad de General Pico, y comenzó el 5 de noviembre de 2019.

Se utilizaron 40 vaquillonas, con peso inicial promedio de 260 kg, la mayoría cruce Hereford por Aberdeen Angus, identificadas con caravanas numeradas. Los animales fueron asignados aleatoriamente a dos grupos iguales: Control y Tratamiento, los que fueron manejados en forma conjunta sobre una pastura de alfalfa durante todo el período del ensayo, en un pastoreo rotativo, con parcelas de 2 hectáreas.

El grupo Tratamiento fue inoculado en forma subcutánea, con 10 ml de un producto comercial a base de polisacáridos bacterianos (MK471, Laboratorio Puebla, Argentina), al inicio del ensayo y a los 21, 73 y 107 días. Si bien la recomendación publicada en el prospecto del laboratorio es de 2 dosis con 20 días de intervalo, en el presente ensayo se decidió extender el protocolo a 4 dosis, para evaluar un uso más extendido del producto, lo que fue consensuado con el equipo técnico del Laboratorio Puebla. Las vaquillonas de ambos grupos fueron pesadas por la mañana, previo desbaste desde las 18:00 h del día anterior para calcular la ganancia diaria de peso (GDP) general en todo el experimento (diferencia entre el peso final e inicial, dividido por la duración del experimento) y de cada período o intervalo entre pesadas. A las 72 h de cada pesada, los

animales se llevaron a la manga, sin encierro previo, para minimizar las situaciones de estrés, y fueron sangrados de vena yugular, para obtener muestras de sangre, utilizando EDTA como anticoagulante. Dichas muestras de sangre fueron enviadas dentro del término de una hora al laboratorio para su análisis hematológico.

El recuento de glóbulos rojos (GR) y blancos (GB) se realizó en la cámara de Neubauer. Para los GR se realizó una dilución 1:200 de la muestra de sangre en solución salina al 0,85%, y se procedió al recuento con microscopio óptico (40 x) en las áreas correspondientes. El valor obtenido se expresó como número de GR por microlito (μl).

En el caso de los GB, la dilución fue de 1:20, con una solución de Turk (ácido acético glacial al 3 %). El recuento se realizó con un aumento de 10 x y el resultado se expresó como número de GB por microlito (μl).

Para medir la concentración de proteínas plasmáticas totales se utilizó un refractómetro y el valor se expresó como proteínas en g/dl de plasma.

Al inicio del ensayo, se realizaron mediciones para verificar que las medias y las varianzas de los animales muestreados para conformar los grupos Control y Tratamiento eran estadísticamente iguales en las cuatro variables de interés (peso inicial, GR, GB y proteínas plasmáticas totales). Los análisis estadísticos mostraron la existencia de homogeneidad de varianzas para las cuatro variables ($p_{\text{HomVar}} > 0,05$) y la no existencia de diferencias entre las medias ($p > 0,05$).

Con los datos productivos al momento de finalización del ensayo se realizó un análisis marginal de beneficio/costo para evaluar la factibilidad económica de la utilización del promotor de crecimiento.

Análisis Estadístico: El diseño experimental fue un diseño completamente aleatorizado. Las variables respuesta peso vivo, GDP de cada período o intervalo entre pesadas, número de GR y GB, y concentración de proteínas totales en plasma fueron analizadas mediante un modelo general mixto, modelando la falta de independencia entre las observaciones. El modelo incluyó los efectos fijos de tratamiento, tiempo y la interacción tratamiento x tiempo, y para el caso de GDP se incluyó, además, el peso inicial como covariable. La matriz de correlación seleccionada fue la que presentó el menor valor de AIC (Criterio de Información de Akaike). La GDP general de todo el período experimental se analizó mediante un modelo lineal general con el efecto fijo del tratamiento y modelando la estructura de la varianza mediante varExp. Para el análisis se utilizó el software estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2017). Las diferencias entre medias fueron declaradas significativas cuando el p valor fue menor a 0,05.

RESULTADOS

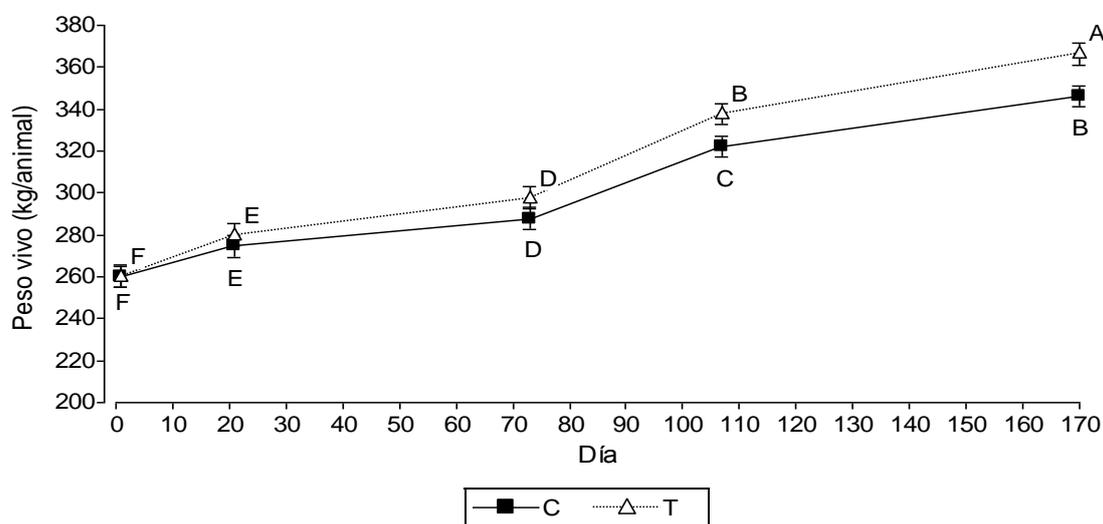
Como puede observarse en la Figura 1, la diferencia en el peso vivo entre los grupos comenzó a ser estadísticamente diferente a partir de la cuarta medición (día 107) y continuó así hasta los 170 días, donde el grupo Tratamiento presentó los mayores pesos. En el mismo sentido, la GDP fue superior (+ 0,11 kg/día, $p < 0,0001$) en el grupo Tratamiento comparado con la del grupo Control (Tabla 1). El análisis de la GDP por períodos, o intervalos entre pesadas, resultó con interacción tratamiento x tiempo, siendo en todos los casos mayor en el grupo Tratamiento (Figura 2).

Las determinaciones sanguíneas, número de GR y GB, y concentración de proteínas plasmáticas totales, resultaron con interacción tratamiento x tiempo significativa (Tabla 1). El número de GR fue superior en el grupo Tratamiento ($p < 0,01$) a lo largo de todo el ensayo (Figura 3), a excepción del día 0 donde no hubo diferencias, lo que explica la interacción. Por su parte, el conteo de GB fue mayor en el grupo Tratamiento a los 21, 73 y 107 días (Figura 4), pero, sin embargo, no difirió al final del ensayo. La concentración de proteínas totales en plasma fue más elevada en el grupo Tratamiento a los 73, 107 y 170 días (Figura 5).

Tabla 1. Medias y error estándar (EE) de la ganancia diaria de peso (GDP) general de todo el período experimental, el número de glóbulos rojos (GR) y blancos (GB), y la concentración de proteínas plasmáticas totales de los animales del grupo Control (C) y Tratamiento (T).

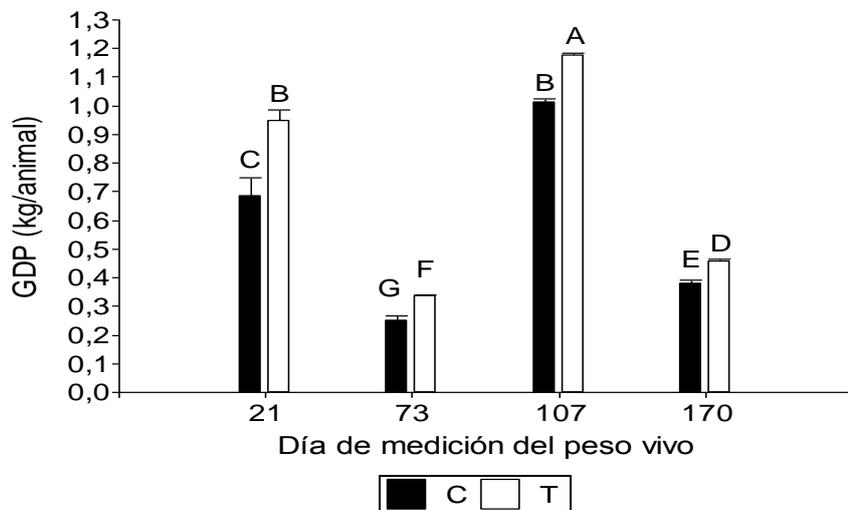
	T	C	EE	p valor		
				Tratamiento	Tiempo	Tratamiento x Tiempo
GDP (kg/día)	0,62	0,51	0,01	<0,0001	-	-
GR (millones/ μ l)	7,00	6,06	0,10	<0,0001	<0,0001	<0,0001
GB (miles/ μ l)	8,12	7,80	0,09	0,014	<0,0001	<0,0001
Proteínas (g/dl)	6,91	6,70	0,08	0,066	0,158	0,003

Figura 1. Evolución del peso vivo (medias ajustadas \pm error estándar) de los animales del grupo Control (C) y Tratamiento (T) a lo largo del ensayo.



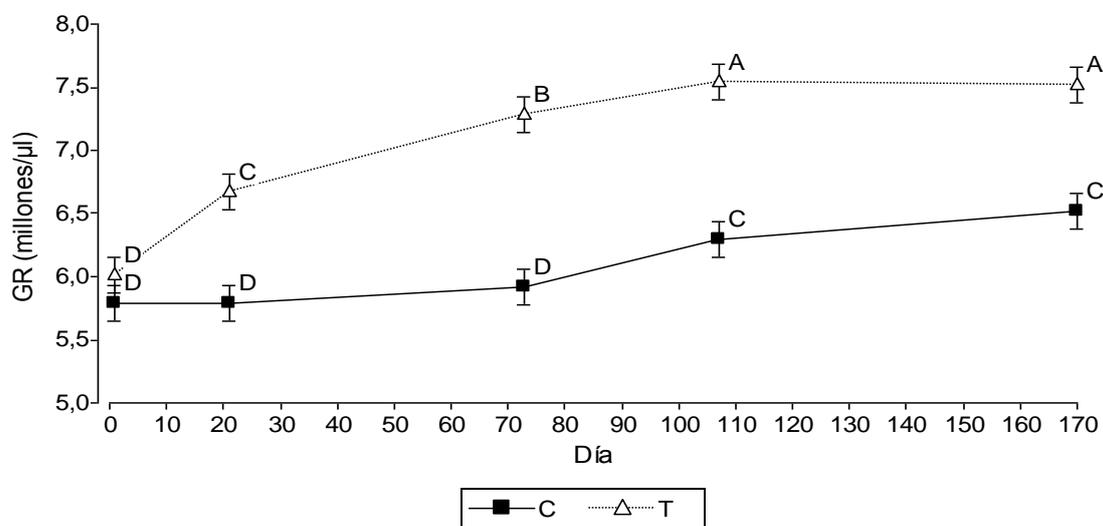
Efectos: Tratamiento: NS; Tiempo: $p < 0,01$; Tratamiento x Tiempo: $p < 0,01$. Letras distintas indican diferencias entre medias ($p < 0,05$) para la interacción Tratamiento x Tiempo.

Figura 2. Evolución de la ganancia diaria de peso (medias ajustadas \pm error estándar) de los animales del grupo Control (C) y Tratamiento (T) a lo largo del ensayo.



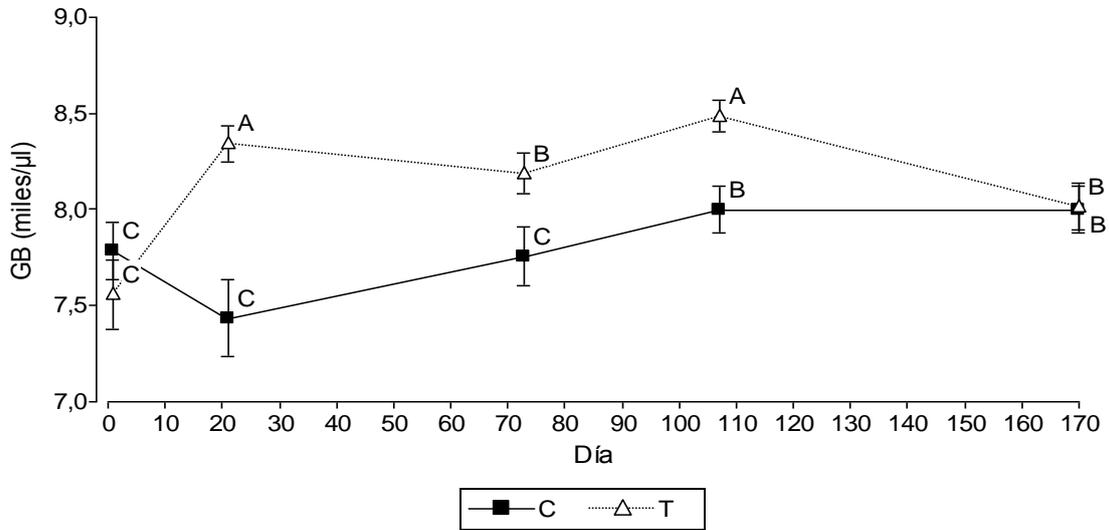
Efectos: Tratamiento: $p < 0,01$; Tiempo: $p < 0,01$; Tratamiento x Tiempo: $p < 0,01$. Letras distintas indican diferencias entre medias ($p < 0,05$) para la interacción Tratamiento x Tiempo.

Figura 3. Evolución del número de glóbulos rojos (GR, medias ajustadas \pm error estándar) en los animales del grupo Control (C) y Tratamiento (T) a lo largo del ensayo.



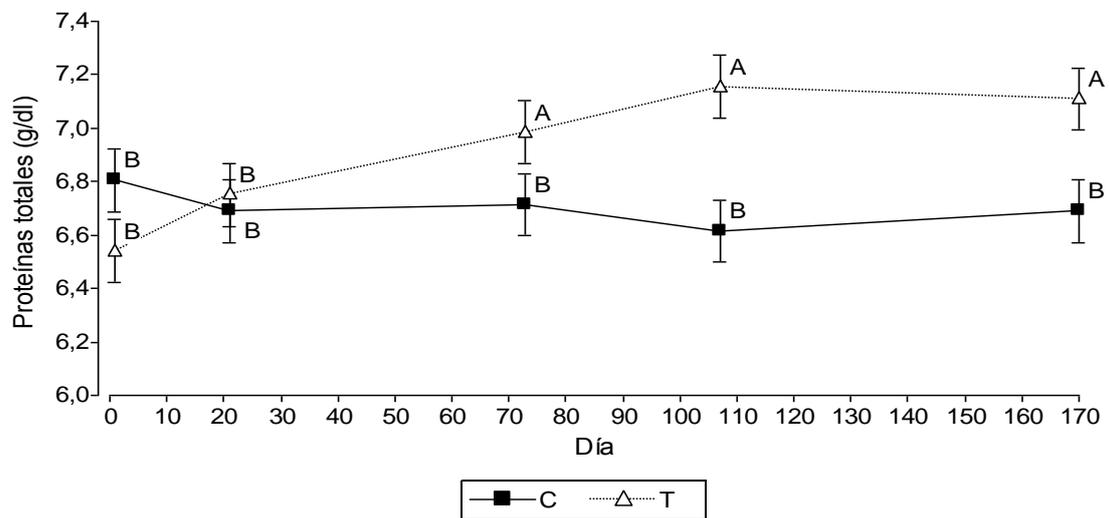
Efectos: Tratamiento: $p < 0,01$; Tiempo: $p < 0,01$; Tratamiento x Tiempo: $p < 0,01$. Letras distintas indican diferencias entre medias ($p < 0,05$) para la interacción Tratamiento x Tiempo.

Figura 4. Evolución del número de glóbulos blancos (GB, medias ajustadas \pm error estándar) en los animales del grupo Control (C) y Tratamiento (T) a lo largo del ensayo.



Efectos: Tratamiento: $p < 0,05$; Tiempo: $p < 0,01$; Tratamiento x Tiempo: $p < 0,01$. Letras distintas indican diferencias entre medias ($p < 0,05$) para la interacción Tratamiento x Tiempo.

Figura 5. Evolución de la concentración de proteínas plasmáticas totales (medias ajustadas \pm error estándar) en los animales del grupo Control (C) y Tratamiento (T) a lo largo del ensayo.



Efectos: Tratamiento: $p < 0,10$; Tiempo: NS; Tratamiento x Tiempo: $p < 0,01$. Letras distintas indican diferencias entre medias ($p < 0,05$) para la interacción Tratamiento x Tiempo.

Análisis económico (abril 2020, valor dólar \$ 65,37 / USD)

El costo del producto es de 2,44 USD por animal (0,61 USD/dosis por 4 dosis), a lo cual se le suman 2,14 USD por honorarios profesionales (10,71 USD el día de trabajo, por 4 días, dividido 20 animales) y se obtiene un costo marginal de 4,58 USD por animal. Por otro lado, considerando que la ganancia de peso de todo el período de 171 días fue de 86 kg en el grupo Control y de 106 kg en el grupo Tratamiento, el ingreso marginal es de 32,80 USD por animal (20 kg por 1,64 USD de ingreso neto/kg de peso) y, como resultado, la relación beneficio/costo sería de 7,2/1 (32,80 USD dividido 4,58 USD).

DISCUSIÓN

Un aspecto a destacar del producto comercial en base a polisacáridos bacterianos, como estimulante del crecimiento en vaquillonas, es que su efecto se mantuvo tanto en momentos de alta (pesadas 2 y 4) como de baja (pesadas 3 y 5) disponibilidad de forraje (Figura 2). Dados los resultados obtenidos en cuánto a GDP, dicho producto podría proponerse como una nueva herramienta en la búsqueda de la mejora de la eficiencia de conversión en ganadería bovina. Así mismo se proponen mayores estudios de investigación que respalden su utilización como promotor del crecimiento.

Aun cuando no se midieron otras variables metabólicas, las diferencias en el número de GR y en la cantidad de proteínas plasmáticas totales a favor del grupo Tratamiento parecen sustentar la respuesta en la variable productiva ganancia de peso, similar a los descrito por Ayala et al. (2001) en vacas lecheras.

Adicionalmente, puede hipotetizarse que la elevación en el número de GB en el grupo Tratamiento se relacionaría con una mejora en aspectos sanitarios, que, a su vez, impactarían sobre el crecimiento, como lo describieron Roa et al. (2017). No obstante, el valor de GB en el muestreo del día 170 no difirió del grupo Control ($p > 0,05$; Figura 4), lo cual explica la interacción tratamiento x tiempo ($p < 0,0001$; Tabla 1), y podría asociarse a una caída del efecto del medicamento.

La mejora en variables relacionadas con el sistema inmunitario amerita futuros ensayos más específicos.

CONCLUSIONES

Como conclusión, se puede observar al finalizar el ensayo que el tratamiento con fragmentos de polisacáridos bacterianos tuvo un impacto positivo en la ganancia de peso de las vaquillonas tratadas, con una diferencia del 21,6 % sobre el grupo Control. Asimismo, el análisis económico marginal revela una amplia relación beneficio/costo, que, al momento de la realización del ensayo, fue de 7,2/1.

BIBLIOGRAFÍA

Avcı, F.Y.; Li, X.; Tsuji, M.; Kasper, D.L. (2013). *Carbohydrates and T cells: A sweet twosome*. Semin Immunol 25: 146-151.

Ayala, J.; Pinos, J. M.; Sabas, J. G. y Salinas, P. S. 2001. *Perfil metabólico sanguíneo de vacas lecheras alimentadas con dietas conteniendo lasalocida y cultivos de levadura*. Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim. 16:143-155.

Centner, T.J.; Alvey, J.C.; Stelzleni, A.M. (2014). *Beta agonists in livestock feed: Status, health concerns, and international trade*. J Anim Sci 92: 4234-4240.

Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; González, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. (2017). InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>.

Notararigo, S.; Casas-Engel, M.; Palencia, P.F. (2014). *Immunomodulation of human macrophages and myeloid cells by 2-substituted (1-3)-rmbeta-D-glucan from P. parvulus 2.6*. Carbohydrate Polymers, [dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.073](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.073).

Oerlemans, M.M.P.; Akkerman, R.; Ferrari, M.; Walvoort, M.T.C.; de Vos, P. (2021). *Benefits of bacteria-derived exopolysaccharides on gastrointestinal microbiota, immunity and health*. J Funct Foods. [doi:/10.1016/j.jff.2020.104289](https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104289).

Roa, M.; Ladino, E. y Hernández, M. 2017. *Indicadores de bioquímica sanguínea en bovinos suplementados con Cratylia argentea y Saccharimyses cerevisiae*. Pastos y Forrajes. 40:144-151.

Smelt, M.J.; de Haan, B.J.; Bron, P.A.; van Swam, I.; Meijerink, M.; Wells, J.M.; Kleerebezem, M.; Faas, M.M.; de Vos, P. (2013). *The impact of Lactobacillus plantarum WCFS1 teichoic acid D-alanylation on the generation of effector and regulatory T-cells in healthy mice*. PLoS ONE 8(4): e63099. [doi:10.1371/journal.pone.0063099](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063099).

Smith, Z.K.; Johnson, B.J. (2020). *Mechanisms of steroidal implants to improve beef cattle growth: a review*. J Appl Anim Res 48: 133-141.

Sun, L.; Middleton, D.R.; Wantuch, P.L.; Ozdilek, A.; Avci, F.Y. (2016). *Carbohydrates as T-cell antigens with implications in health and disease*. Glycobiology 10: 1029-1040.

Surana, N.K.; Kasper, D.L. (2012). *The ying yang of bacterial polysaccharides: Lessons learned from B. fragilis PSA*. Immunol Rev 245: 13-26.

Terry, S.A.; Barasab, J.A.; Guan, L.L.; McAllister, T.A. (2021). *Strategies to improve the efficiency of beef cattle production*. Can J Anim Sci 101: 1-19.

Tzianabos, A.T.; Onderkonk, A.B.; Zaleznik, D.F.; Smith, R.S.; Kasper, D.L. (1994). *Structural characteristics that induce protection against intra-abdominal abscess formation*. Infect Immun 62: 4881-4886.

Zhang, Z.; Zhou, Z.; Zhoun, L.; Ding, Q.; Xu, L. (2016) *Isolated exopolysaccharides from Lactobacillus rhamnosus GG alleviated adipogenesis mediated by TLR2 in mice*. Sci Rep 6, 36083; [doi: 10.1038/srep36083](https://doi.org/10.1038/srep36083).