

La Pared Celular de la Levadura y la Inmunoestimulación

Por
Ghaffar Ebrahimi, PhD
Departamento de Pesquería
Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Irán

Márcia Villaça, Msc.
Gerente Técnica de Ventas Pet & Aqua
ICC Brasil Ltda.

Las actividades mundiales de acuicultura muestran un rápido crecimiento en la producción (17,8% por año), desde 1997 (FAO, 2007, Mohamed et al. 2010). Con la intensificación de la producción acuícola, la diseminación de enfermedades ha sido el principal problema en la industria de piscicultura. Hasta el momento, los antibióticos se utilizaban como tratamiento para hacerle frente a enfermedades de peces y también con el fin de ofrecer mejor desempeño de crecimiento y eficiencia en la alimentación. Así como con otras especies de animales, el uso generalizado de antibióticos como un aditivo alimentario en la acuicultura ha estado bajo examen intensivo, ya que hay una creciente preocupación sobre el riesgo asociado a la transmisión de bacterias resistentes de los ambientes acuícolas a los humanos, y también sobre el riesgo asociado a la introducción en el ambiente humano de bacterias no patogénicas, que contienen genes de resistencia antimicrobianos, y la transferencia subsiguiente de los referidos genes a los patógenos humanos.

En enero de 2006, la Unión Europea ratificó la prohibición del uso de todos los antibióticos sub-terapéuticos, como agentes promotores de crecimiento en la producción animal. Junto con la prohibición de los antibióticos promotores de crecimiento (APC), nuevas estrategias en la gestión de alimentación y salud en la práctica de la piscicultura recibieron bastante atención. La investigación de prebióticos en la nutrición de los peces está creciendo con la demanda de los consumidores por productos seguros producidos de acuerdo con las prácticas sustentables (Denev et al, 2009).

Acuicultura y Mecanismo de Protección

El sistema inmune de los peces es el principal mecanismo de defensa contra enfermedades infecciosas. Una respuesta inmune local en la mucosa intestinal se genera en diferentes pasos. Primero, macrófagos y otras células fagocíticas, como células dendríticas, cargan el patógeno (inmunidad no específica), lo destruyen con enzimas y radicales O y lo procesan para presentarlo a las células T locales. Las células fagocíticas también secretan citocinas pro-inflamatorias que estimulan la actividad y la proliferación de las células T y B que son más adecuadas para atacar el tipo de patógeno presentado por la célula fagocítica (inmunidad específica) (Ghent, 2011).

La inmunidad en los peces tiene un papel importante contra los agentes patogénicos. El sistema inmune de los peces comparte algunas similitudes con el de los mamíferos. Sin embargo, los peces dependen más de mecanismos no específicos de defensa que los mamíferos. El sistema inmune no específico de los peces consiste de varios componentes humorales y celulares fundamentales que ofrecen protección innata contra la infección, independientemente del tipo de patógeno. Varios estudios mostraron que los inmunoestimulantes son muy beneficiosos para el sistema inmune de los peces (Denev et al., 2009).

Varios mecanismos fueron propuestos para explicar la acción específica de los inmunoestimulantes en los peces, tales como estímulo benéfico selectivo de microflora, mejoría de las funciones inmunes, resistencia a enfermedades, supervivencia, desempeño de crecimiento y eficiencia de alimentación.

Beta-Glucanos como Componentes de la Pared Celular de la Levadura

ICC Brasil

Av. Brigadeiro Faria Lima, 1768 – CJ 4C
01451-909 - Sao Paulo/SP – Brasil
Tel: +55 11 3093-0791
faleconosco@iccbrazil.com.br
www.iccbrazil.com

Los beta-glucanos fueron estudiados como inmunoestimulantes en varias especies vertebradas e invertebradas. La evaluación de los parámetros inmunes celulares y humorales fue establecida en el nivel fenotípico por la actividad fagocítica de los macrófagos del riñón cefálico y cuantificación de citocinas inflamatorias en el bazo y tejidos de las agallas por ELISA indirecto. La respuesta inmune innata, mediada por la lisozima, fue reportada en varias especies de peces.

Los prebióticos son fibras funcionales no digeribles que afectan de modo benéfico al hospedero, estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o activando el metabolismo de una o de un número limitado de bacterias promotoras de salud en el tracto intestinal, mejorando así el intestino del hospedero. El beta-glucano es un carbohidrato en partículas que consiste de glucosa y manosa, y es el principal constituyente de la pared celular de la levadura (Schmitt et al., 2013). Fueron publicados varios estudios que confirman las potentes propiedades inmunoestimulantes de los beta-glucanos en muchas especies de peces de agua dulce y salada, y documentan los efectos de los mismos en la resistencia del patógeno, protección, supervivencia e inmunidad humoral específica de los peces. Se observó una fuerte degranulación de los neutrófilos en *Pimephales promelas* (*fathead minnow*) después de la administración dietética de beta-glucanos. La actividad de la lisozima aumentó después de 4 semanas alimentando *Sparus aurata* (*gilthead seabream*) con células íntegras de levadura a una dosis de 10 g/kg de alimento. Se observó actividad fagocítica, actividad respiratoria y acción bactericida mejoradas en los macrófagos del riñón cefálico en los grupos que recibieron inmunoestimulantes dietéticos.

Pared Celular de la Levadura – Inmunidad y Resistencia a la Infección por *Aeromonas Hydrophila*

Varios estudios con ImmunoWall® (ICC) fueron realizados en Sari Agriculture University (Ebrahimi, 2011). ImmunoWall® es un producto natural que contiene varios compuestos estimulantes, tales como beta-glucanos, carbohidratos complejos, y MOS, complejos de glucomano-proteínas, que ha sido utilizados como aditivos alimentarios en la producción animal. Ambos son componentes de la pared celular de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*). Fue declarado que niveles adecuados o bajos de beta-glucanos son estimulantes suficientes de las funciones inmunes no específicas en los peces.

Materiales y Métodos

Los alevines fueron adoptados por 2 semanas y luego criados en grupos triplicados en tanques de 250 l (n = 15 por tanque con peso promedio inicial de 11,12 ± 0,55g), y divididos en cinco grupos que recibieron dietas experimentales (isonitrogenadas e isoenergéticas) con diferentes niveles de ImmunoWall® (0; 0,5; 1; 1,5 y 2,5 g prebiótico/ kg dieta) tres veces por día (hasta saciedad aparente) durante 8 semanas.

Resultados Experimentales

Tanto la razón de eficiencia alimentaria como la razón de eficiencia proteica aumentaron significativamente ($p < 0,05$) con niveles crecientes de ImmunoWall® de 0,5 a 1,5 g/kg dieta. El tenor más alto de proteína ($p < 0,05$) fue encontrado en los peces alimentados con dieta de 2,5 g/kg prebiótico. Los parámetros hematológicos y la concentración proteica total del plasma también fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) en los alevines alimentados con dietas de 1,5 y 2,5 g/kg de prebiótico con relación al control.

Tabla 1. Conteo total de bacterias, ítems de inmunidad y composición aproximada de los alevines de carpa común alimentados con dietas de diferentes niveles de ImmunoWall® durante 8 semanas.

	Niveles de ImmunoWall®				
	0,0 g/kg	0,5 g/kg	1,0 g/kg	1,5 g/kg	2,5 g/kg
Parámetros					
Conteos totales de bacterias (Log ufc/g intestino)	9,18 ± 0,23 ^c	7,78 ± 0,26 ^b	7,50 ± 0,44 ^b	7,30 ± 0,18 ^{ab}	6,96 ± 0,17 ^a
Ítems de inmunidad					

Albumina (g/l)		11,5 ± 0,4 ^{ab}	10,70 ± 0,7 ^a	11,3 ± 0,5 ^{ab}	11,5 ± 0,5 ^{ab}	12,1 ± 0,8 ^b
Globulina (g/l)		13,09 ± 0,9 ^{abc}	12,7 ± 0,1 ^a	13,6 ± 0,9 ^{ab}	14,6 ± 0,7 ^{bc}	15,6 ± 0,6 ^c
Razón Albumina : Globulina		0,82 ± 0,08 ^a	0,84 ± 0,12 ^a	0,83 ± 0,09 ^a	0,78 ± 0,07 ^a	0,77 ± 0,08 ^a
Leucocitos (x10 ⁴ mm ³)		2,01 ± 0,04 ^a	2,28 ± 0,01 ^c	2,25 ± 0,02 ^c	2,24 ± 0,03 ^c	2,15 ± 0,02 ^b
Total proteína (g/l)		25,4 ± 0,55 ^b	23,4 ± 0,35 ^a	24,9 ± 0,40 ^b	26,1 ± 0,25 ^c	27,7 ± 0,15 ^d
Glucosa (mg/l)		1196 ± 2,51 ^a	1201 ± 3,69 ^a	1200 ± 3,60 ^a	1199 ± 3,83 ^a	1195 ± 3,51 ^a
Hematocrito (%)		27,7 ± 0,72 ^a	27,9 ± 0,35 ^b	26,9 ± 0,46 ^a	26,6 ± 0,37 ^a	26,4 ± 0,65 ^a
Composición aproximada (g/kg)	Valores iniciales					
Humedad	746.66 ± 6.43	715,33 ± 4,37 ^a	709,07 ± 2,99 ^{ab}	708,72 ± 3,11 ^{ab}	707,51 ± 5,12 ^b	703,93 ± 3,64 ^b
Proteína	132.3 ± 3.6	145,18 ± 1,21 ^a	146,57 ± 1,72 ^a	150,79 ± 1,68 ^b	153,21 ± 2,24 ^{bc}	156,40 ± 1,96 ^c
Lípido	82.1 ± 1.91	95,54 ± 1,81 ^a	95,81 ± 1,18 ^a	96,72 ± 1,19 ^{ab}	98,72 ± 1,47 ^b	98,43 ± 1,65 ^{ab}
Ceniza	26.5 ± 0.53	27,45 ± 0,66 ^a	28,60 ± 0,50 ^a	28,04 ± 3,66 ^a	28,73 ± 0,80 ^a	28,70 ± 0,60 ^a
Energía	6.53 ± 0.7	7,42 ± 0,10 ^a	7,52 ± 0,04 ^{ab}	7,58 ± 0,06 ^{abc}	7,65 ± 0,11 ^{bc}	7,73 ± 0,11 ^c
Razón P : E	20.27 ± 0.56	19,55 ± 0,24 ^a	19,46 ± 0,11 ^a	19,88 ± 0,35 ^{ab}	20,0 ± 0,46 ^{ab}	20,22 ± 0,09 ^b

Los peces de control tuvieron la mayor media de los conteos totales bacterianos. La media más baja ($p < 0,05$) de los conteos bacterianos totales se observó en los peces alimentados con dieta de 2,5 g/kg de ImmunoWall®. El presente estudio revela que un suplemento dietético ImmunoWall® de 1 a 1,5 g/kg es capaz de mejorar la eficiencia alimentaria y el desempeño de crecimiento de los alevines de *C. carpio*, así como la resistencia de los mismos a la infección por *A. hydrophila*, y los niveles de ImmunoWall® de 0 a 2,5 g/kg de la dieta no revelaron ninguna mortalidad a lo largo del experimento.

Discusión

Jafar Nodeh (2010) mostró recientemente que el suplemento de la dieta de los alevines de Esturión Persa (*Acipenser persicus*) con el prebiótico comercial ImmunoWall® modificó considerablemente la microflora intestinal. El autor también informó que la población de *Lactobacillus* (bacterias del ácido láctico) en el intestino de los peces alimentados con una dieta que contenía 2g del prebiótico/kg fue mayor que la de los otros grupos suplementados, mientras que los conteos totales de bacterias disminuyeron de manera constante con un aumento en los niveles del prebiótico hasta 2 g/kg de la dieta ($p < 0,05$). Además, se confirmó, en un número de estudios, que la bacteria del ácido láctico, como una de los prebióticos comunes, tiene efectos benéficos en la mejoría de la nutrición del hospedero por medio de la producción de enzimas digestivas suplementarias. Estas también producen bacteriocinas que inhiben patógenos específicos de los peces.

Parece que los cambios en la morfología y densidad de las vellosidades de alevines de carpa común alimentados con el prebiótico ImmunoWall® son probablemente algunos de los notables factores involucrados en la captura de nutrientes de potencial aumentado, y por ello, hay una mayor eficiencia de la alimentación.

El aumento en el conteo de glóbulos blancos puede deberse al estrés sufrido por los peces como un resultado de la alimentación diaria con beta-glucanos. Harikrishnan et al. (2003) también reportó conteos aumentados de glóbulos blancos en *C. carpio* después de tratamiento herbáceo con *Azardicha indica*. Los aumentos observados en los niveles de leucocito y proteínas totales, así como mortalidades menores resultantes de la infección patogénica por *A. hydrophila*, parecen como señales de la condición mejorada de salud de los peces alimentados con el prebiótico. También, es probable que las altas concentraciones de proteínas séricas,

incluyendo elementos humorales del sistema inmune no específico, sean resultado de una mejora en la respuesta inmune no específica de los peces. La condición mejorada de salud en los alevines de *C. carpio* se debe probablemente a los componentes beta-glucanos y MOS de ImmunoWall®. Los glucanos pueden modular la actividad de los fagocitos y otros componentes del sistema inmune innato en los peces (Robertsen et al., 1994). La administración de glucanos en la dieta de los peces fue representada como mejora de la actividad respiratoria, la fagocitosis, el valor de lisozima y resistencia vs patógenos en algunos peces cultivados (Ogier de Maulny et al., 1996; Li and Gatlin, 2004). Rodríguez et al. (2007) descubrió que 1, 3/1, 6-los glucanos modificarían la respuesta inmune de alevines de *P. vannamei*, influenciando la prevalencia del virus del síndrome de la mancha blanca (SMB) y la supervivencia de camarones en tanques. Li y Gatlin (2004) observaron que lubinas híbridas rayadas alimentadas con glucano y/o quitina de levadura de la cerveza mostraron producción de anión superóxido extracelular de los macrófagos del riñón cefálico. Este suplemento prebiótico también mejora la resistencia de los peces a la infección por *A. hydrophila*, por ello, actúa como potente inmunoestimulante. No obstante, la dosis extra de ImmunoWall® parece perjudicar las mejorías de la utilización alimentaria y crecimiento de los alevines.

Conclusión

Con base en los resultados de este estudio, la administración del suplemento ImmunoWall® en los niveles de 1-1,5 g/kg fue benéfica para el sistema inmune, aumentando el desempeño y la supervivencia de los alevines de *C. carpio*.

Referencia

- Ebrahimi, Gh, Ouraji, H., Khalesi, M.K., Sudagar M., A., Barari, Zarei Dangesaraki, M. and Jani Khalili, K. H. Effects of a prebiotic, ImmunoWall®, on feed utilization, body composition, immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2011,1-9.
- Mohamed E. El-Boshy, Ahmed M. El-Ashram, Fatma M. AbdelHamid, Hossam A. Gadalla. Immunomodulatory effect of dietary *Saccharomyces cerevisiae*, b-glucan and laminaran in mercuric chloride treated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 28, 802-808.
- P. Schmitt, B. Morales-Lange, J. Bethke, L. Mercado. Immunostimulatory effect of b-glucans in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Abstract. Fish & Shellfish Immunology*, 34, 1692-1752, 2013.
- Roy A. Dalmo, Jarl Børgwald. b-glucans as conductors of immune symphonies. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, 25, 384-396.
- Stefan Denev, Yordan Staykov, Romyana Moutafchieva, Georgi Beev. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. *International Aquatic Research*, 1, 1-29, 2009
- The in vitro effect of products of ICC order 1 – Report - University Ghent. August 2011.
- Vaclav Vetvicka, Luca Vanucci, Petr Sima, The effects of b-glucan on fish immunity. *North America Journal of Medical Science*, Issue 10, Volume 5, 580-588, 2013.

ICC Brasil

Av. Brigadeiro Faria Lima, 1768 – CJ 4C
01451-909 - Sao Paulo/SP – Brasil
Tel: +55 11 3093-0791
faleconosco@iccbrazil.com.br
www.iccbrazil.com