

EVALUACIÓN DE LA INOCULACIÓN SUBCUTÁNEA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE UN COMPUESTO INMUNOMODULADOR (*Panax ginseng*) EN VACAS LECHERAS PREÑADAS

Mondino, Andrés

Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL)

Directora: Dallard, Bibiana
Co-directora: Beccaría, Camila

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: *Panax ginseng*, inmunomodulador, vacas lecheras

INTRODUCCIÓN

El periparto o período de transición de la vaca lechera es sin dudas la etapa más crítica del ciclo productivo. Éste se inicia a los 21 días pre parto y se extiende hasta los primeros 21 días post parto. Este periodo está marcado por cambios profundos en los sistemas endócrino e inmune en respuesta a la preparación para la calostrogénesis, parto y lactogénesis. En las últimas décadas, la selección genética de animales para los rasgos de producción, con poco o ningún énfasis en rasgos de salud y estado corporal, coincidió con una mayor incidencia de enfermedades en el ganado lechero incluida la mastitis (Aleri y col., 2016).

La glándula mamaria (GM) bovina es altamente susceptible a las nuevas infecciones intramamarias (IIM) durante la etapa temprana del período de vaca seca y en el periparto, cuando las defensas están deprimidas. La inmunidad innata es el sistema de defensa más importante de la GM y depende principalmente de leucocitos neutrófilos polimorfonucleares (PMN), que migran desde la sangre a la leche en respuesta a una infección bacteriana. Durante el periparto, la población de PMN exhibe una función disminuida en las actividades relacionadas con la defensa (fagocitosis, producción de aniones superóxido) así como en su migración celular y quimiotaxis (Kimura y col., 2006).

En los últimos años, la necesidad de prevenir IIM ha motivado la búsqueda de nuevas alternativas de control dirigidas a reforzar los factores protectores naturales de la GM bovina en los periodos de mayor susceptibilidad, tendiendo a un menor uso de antibióticos en concordancia con la tendencia mundial de reducción del uso de los mismos para preservarlos como un bien público dentro del marco del concepto de “una sola salud” (Trevisi y col., 2014). Una de ellas, es la utilización de modificadores de la respuesta inmune (MRI) o compuestos inmunomoduladores capaces de interactuar con el sistema inmune y modular la respuesta del hospedador (Tzianabos, 2000).

Título del proyecto: Evaluación del potencial efecto inmunoestimulante de un extracto de *Panax ginseng* durante el periodo de transición en vacas lecheras.

Instrumento: PICT 2019-03428

Año de convocatoria: 2019

Organismo financiador: ANPCyT

Director/a: Dallard, Bibiana

Los MRI actúan a diferentes niveles del sistema inmune, inhibiendo o intensificando selectivamente poblaciones o subpoblaciones de células como: linfocitos, macrófagos, neutrófilos, células NK, o la producción de mediadores solubles como citoquinas (Takahashi y col., 2005). Uno de los MRI evaluados es un extracto de raíz de *Panax ginseng* (PG) C.A. Meyer (*Araliaceae*). El mayor constituyente de la raíz de PG son las saponinas, también denominadas “ginsenósidos”, las cuales son consideradas su principal componente activo. En los últimos años, nuestro grupo de trabajo ha centrado sus investigaciones en el estudio de la inmunomodulación de la GM bovina a través de PG, generando conocimiento acerca del efecto del compuesto como inmunomodulador (Baravalle y col., 2015; Silvestrini y col., 2017; Beccaria y col., 2018).

El presente trabajo forma parte de un proyecto en el cual se pretende evaluar el posible efecto inmunoestimulante de un extracto de raíz de PG solo o formulado con un adyuvante a base de nanopartículas lipídicas y su impacto sobre las nuevas IIM adquiridas durante el periodo de transición en vacas lecheras. Los resultados presentados aquí surgen de un ensayo dosis-respuesta realizado a los fines de seleccionar la concentración adecuada del extracto de PG a administrar en los ensayos definitivos.

OBJETIVO

Evaluar posibles reacciones adversas (aumento de la temperatura corporal, abortos, lesiones en la zona de inoculación) y modificaciones en los hemogramas sanguíneos, luego de la inoculación subcutánea de dos concentraciones de un extracto de *Panax ginseng* (PG) en vacas lecheras preñadas en el último tercio de la lactancia.

METODOLOGÍA

Se utilizaron 6 vacas Holando Argentino preñadas, en el tercio final de la lactancia, pertenecientes al tambo de la Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja (UNL). La selección de los animales para la constitución de los grupos experimentales se basó en el número de partos (2/3 partos), avance de la preñez (séptimo mes) y recuento de células somáticas en leche (menos a 200.000 cél/ml). Además, a partir de muestras de sangre periférica se realizaron hemogramas completos, para corroborar que los animales se encontraban en buen estado de salud.

Se utilizó un extracto seco de PG, conteniendo saponinas equivalentes a 27% expresados como ginsenósido Rg1 (lote N° 27988/2, Indena S.P.A., Milán, Italia). La solución stock fue preparada disolviendo el extracto en solución salina (0,89%) para llegar a concentraciones finales de 100 mg/ml y 200 mg/ml. La preparación se realizó bajo flujo laminar y en perfectas condiciones de esterilidad.

Se formaron tres grupos de animales. El grupo 1 (n=2) fue inoculado con 10 ml de PG (200 mg/ml), el grupo 2 (n=2) fue inoculado con 10 ml de PG (100mg/ml) y el grupo 3 control (n=2) se inoculó con 10 ml de solución salina (0,89%). Dichas inoculaciones fueron realizadas en la tabla del cuello en forma subcutánea (SC) luego del ordeño de la tarde. Inmediatamente antes y luego del tratamiento, a las 24, 48 y 72 hs y a los 7 y 14 días, se obtuvieron muestras de sangre de todos los animales las cuales fueron procesadas para la realización de hemogramas completos para determinar las fórmulas leucocitarias utilizando un autoanalizador hematológico (Mindray BC-2800Vet). Luego del tratamiento y en forma diaria se hizo una revisión general de los animales, medición de la temperatura rectal e inspección del área de inyección para descartar reacciones adversas.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

No se observaron reacciones adversas luego de la inoculación SC de las diferentes concentraciones de extracto de PG en ninguno de los tiempos evaluados. Las temperaturas corporales (obtenidas por medición rectal) se mantuvieron dentro de los parámetros fisiológicos y no se observaron reacciones de tipo inflamatorias en el sitio de inoculación. Tampoco se registraron abortos con las concentraciones evaluadas.

En relación a los datos obtenidos de los hemogramas, los porcentajes y números totales de neutrófilos PMN y de monocitos se mantuvieron dentro de los rangos fisiológicos para la especie en los tres grupos de animales inoculados.

Podemos concluir que las inoculaciones SC de 100 mg/ml y 200mg/ml de PG fueron inocuas para los animales y que las concentraciones evaluadas no indujeron cambios en las poblaciones celulares inmunes innatas. Estos resultados nos permiten continuar trabajando de forma segura con el extracto de PG en futuros ensayos, en los cuales se propone caracterizar la proporción de leucocitos de sangre periférica y expresión de marcadores de activación luego del tratamiento, así como la evaluación de la capacidad fagocítica de los neutrófilos y monocitos y el efecto inmunoprotector del extracto sobre las nuevas infecciones IIM durante el periparto.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Aleri JW, Hine BC, Pyman MF, Mansell PD, Wales WJ, Mallard B, Fisher AD. 2016. Periparturient immunosuppression and strategies to improve dairycow health during the periparturient period. *Research in veterinary science.* 108:8-17.

Baravalle C, Silvestrini P, Cadoche MC, Beccaria C, Andreotti CS, Renna MS, Pereyra EA, Ortega HH, Calvinho LF, Dallard BE. 2015. Intramammary infusion of *Panax ginseng* extract in bovine mammary gland at cessation of milking induces changes in the expression of toll-like receptors, MyD88 and NF- κ B during early involution. *Research in veterinary science.* 100:52-60.

Beccaria C, Silvestrini P, Renna MS, Ortega HH, Calvinho LF, Dallard BE, Baravalle C. 2018. *Panax ginseng* extract reduces *S. aureus* internalization into bovine mammary epithelial cells but does not affect macrophages phagocytic activity. *Microbial Pathogenesis.* 122:63-72.

Kimura K, Reinhardt TA, Goff JP. 2006. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *Journal of dairy science.* 89:2588–2595.

Silvestrini P, Beccaria C, Pereyra EAL, Renna MS, Andreotti CS, Ortega HH, Calvinho LF, Dallard BE, Baravalle C. 2017. Intramammary inoculation of *Panax ginseng* plays a protective role in *Staphylococcus aureus* infection in a murine model. *Research in veterinary science.* 115:211-220.

Takahashi H, Komatsu T, Hodate K, Horino R, Yokomizo Y. 2005. Effect of intramammary injection of RbIL-8 on milk levels of somatic cell count, chemiluminescence activity and shedding patterns of total bacteria and *S. aureus* in Holstein cows with naturally infected-subclinical mastitis. *Journal of veterinary medicine. Series B,* 52(1), 32-37.

Trevi E, Zecconi A, Cogrossi S, Razuoli E, Grossi P, Amadori M. 2014. Strategies for reduced antibiotic usage in dairy cattle farms. *Research in veterinary science.* 96(2), 229-233.

Tzianabos A. O. 2000. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. *Clinical microbiology reviews.* 13(4), 523-533.