

EVALUACION DEL EFECTO DE LOS FRUCTANOS DE AGAVE SOBRE PARAMETROS HEMATOLOGICOS, EN RATONES CON SALMONELOSIS

Ezer Alonso Yniesta Aguilar (1), Elena Franco Robles (2)

1 [Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico:
[ea.yniestaaguilar@ugto.mx]

2 [Laboratorio de Diagnóstico Clínico Veterinario, Medicina Veterinaria y Zootecnia, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [e.franco Robles@ugto.mx]

Resumen

La salmonelosis es una infección causada por una bacteria intracelular que ocurre principalmente por la ingestión de alimentos contaminados. Los fructanos son ingredientes que funcionan como prebióticos ya que modulan positivamente la microbiota intestinal en humanos y animales. El objetivo de este estudio, fue evaluar los niveles hematológicos de ratones infectados con salmonella y en tratamiento con fructanos de Agave. Se obtuvieron muestras sanguíneas de ratones adultos de la cepa C57BL/6, los cuales fueron inoculados previamente con una cepa atenuada de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium y administrados con una solución de fructanos de agave al 10% y sus controles. Los parámetros hematológicos fueron obtenidos mediante un analizador hematológico automatizado, y se realizó el frotis sanguíneo para efectuar el diferencial de leucocitos. Los resultados muestran que los fructanos de agave disminuyeron la cuenta leucocitaria en un 34.35% en los ratones infectados con Salmonella respecto al control. Los fructanos pueden tener efecto inmunomodulador y ayudar al control de la infección por Salmonella.

Abstract

Salmonellosis is an infection caused by an intracellular bacterium that occurs primarily through the ingestion of contaminated food. Fructans are ingredients that work as prebiotics since they positively modulate the intestinal microbiota in humans and animals. The objective of this study was to evaluate the hematological levels of mice infected with salmonella and in treatment with fructans of Agave. Blood samples were obtained from adult mice of strain C57BL / 6, which were previously inoculated with an attenuated strain of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and administered with a solution of 10% agave fructans and their controls. The hematological parameters were obtained by means of an automated hematological analyzer, and the blood smear was performed to effect the differential of leukocytes. The results show that agave fructans decreased the leukocyte count by 34.35% in the mice infected with Salmonella with respect to the control. Fructans can have an immunomodulatory effect and help control Salmonella infection.

Palabras Clave

Salmonella, Fructanos de Agave, Análisis hematológico

INTRODUCCION

La salmonelosis es causada por una bacteria intracelular, Gram-negativa, que causa predominantemente diarrea entérica en un amplio rango de animales y humanos. Es una enfermedad aguda, de distribución mundial, transmitida generalmente por alimentos contaminados, pero también se ha relacionado con contaminantes como ganado y sus subproductos. Se considera de suma importancia en producción pecuaria debido al impacto económico y en salud pública por los altos riesgos de intoxicación alimentaria por medio de productos contaminados [1].

Las infecciones por *Salmonella* ocurren principalmente por la ingestión de alimentos contaminados, la bacteria debe sobrevivir en un ambiente de pH muy bajo en la primera porción del sistema digestivo, para posteriormente adherirse a las células epiteliales e iniciar una respuesta inmune que atraiga leucocitos polimorfonucleares, ya que se disemina por el torrente sanguíneo a través de macrófagos y así poder llegar a nódulos linfáticos periféricos, bazo e hígado [2].

Los prebióticos son ingredientes alimenticios no digeribles por humanos que afectan positivamente la salud, ya que estimulan selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o varias especies de bacterias colónicas [3]. Los fructanos son un tipo de prebióticos que pueden encontrarse como fructanos lineales, conocidos también como fructanos de tipo inulina (ITF) o fructooligosacáridos y fructanos ramificados como es el caso de los fructanos de Agave. Los fructanos han demostrado su efecto prebiótico al incrementar la población de lactobacilos y bifidobacterias y se ha reportado que pueden reducir la cantidad de patógenos en modelos animales y humanos [4]. Así también, existen diversos estudios que indican que los fructanos pueden tener efecto inmunomodulador [5]. El objetivo de este estudio fue determinar los parámetros hematológicos en la sangre total de los ratones con salmonelosis administrados con fructanos de agave y controles.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Diagnóstico Clínico del Departamento de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca. Se obtuvieron muestras de sangre de ratones de un experimento previo en donde se utilizaron 12 ratones adultos de la cepa C57BL/6 de 6 semanas de edad, inoculados con una cepa atenuada de *Salmonella entérica* serovar Typhimurium (aro-/SL3261) y tratados con una solución en agua potable estéril de fructanos de agave al 10% (Imagen 1). Los grupos de ratones estuvieron conformados de la siguiente manera: un grupo control alimentado con una dieta normal de mantenimiento (19% proteína, 9% grasa) durante todo el experimento (grupo 1); un grupo control positivo, inoculado con una cepa de *Salmonella* sin tratamiento previo (grupo 2), un grupo con tratamiento de fructanos de agave al 10% durante 6 semanas, inoculado con la cepa de *Salmonella* y retirándole el tratamiento de fructanos (grupo 3) y un grupo con tratamiento de fructanos de agave al 10% durante 6 semanas, inoculado con la cepa de *Salmonella* y continuando con el tratamiento de fructanos hasta su sacrificio (grupo 4).



IMAGEN 1: Ratón C57BL/6

Para la toma de sangre completa de la vena caudal, los ratones fueron inmovilizados mediante un cepo, se desinfectó la cola del ratón con etanol al 70%, dejándolo evaporar, se expuso el extremo de la cola en una superficie plana y mediante unas tijeras iris estériles, se efectuó una incisión perpendicular aproximadamente de 1 a 2 mm. de la punta de la cola (Imagen 2). Posteriormente se aplicó una presión suave hacia el extremo de la cola para llevar a cabo la recolección de la muestra, colectándola en un tubo de 600 µL que contenía EDTA como anticoagulante. Finalmente, se realizó hemostasia mediante una suave presión con una torunda con benzal por un tiempo de 30 a 45 segundos.

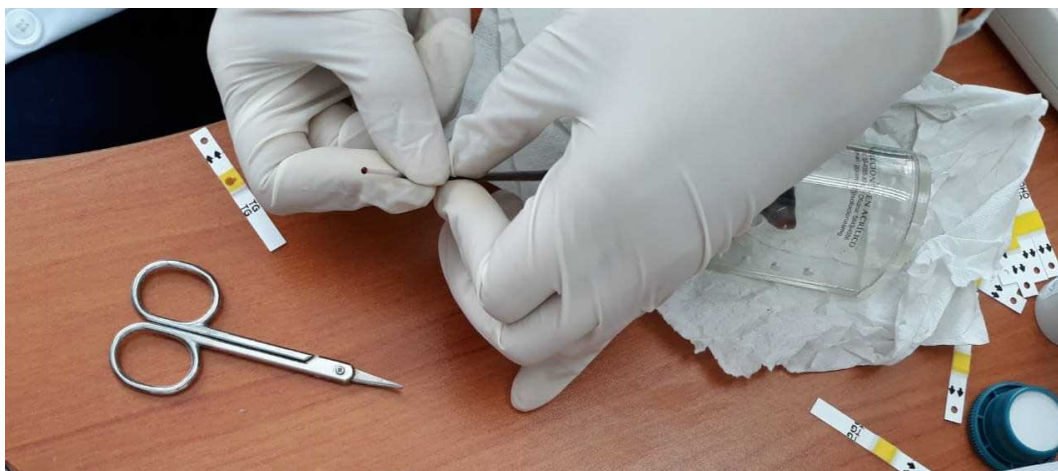


IMAGEN 2: Obtención de muestra de sangre de la vena caudal.

Una vez que fueron obtenidas las muestras sanguíneas, se procedió a analizar cada una de ellas, mediante el empleo de un analizador hematológico automatizado (BC Vet Desego, México), para obtener los siguientes parámetros: conteo y porcentaje de leucocitos, linfocitos, monocitos, granulocitos, eritrocitos y plaquetas, hemoglobina y hematocrito. Así también, se realizaron frotis sanguíneos teñidos mediante colorante de Wright para realizar el diferencial de leucocitos de manera manual.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los ratones infectados con salmonella (grupo 2) disminuyeron su cuenta leucocitaria en un 34.35% respecto al grupo sano (grupo 1). Los ratones del grupo 3 incrementaron los niveles de leucocitos en un 22.4% respecto al grupo 2. Así también, los granulocitos disminuyeron en el grupo 2 en un 31.8% respecto al grupo 1, mientras que los ratones administrados con fructanos durante 8 semanas (grupo 3) incrementaron en un 19% aproximadamente sus niveles de granulocitos respecto al grupo infectado. Se puede observar un incremento en el recuento de eritrocitos en el grupo 3 respecto al grupo 1 y 2 ($p < 0.01$; $p < 0.05$, respectivamente). Los niveles de hemoglobina aumentaron en los tres grupos infectados (2, 3 y 4) respecto al control (grupo 1) ($p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.01$) (Tabla 1).

hematológicos de Tabla 1: Valores ratones y con tratamiento de Fructanos de Agave

Variable	Grupo 1 (n=3)	Grupo 2 (n=3)	Grupo 3 (n=3)	Grupo 4 (n=3)
	Control	Salmonella	Sal +Fruc 8 sem	Sal +Fruc 6 sem
Leucocitos ($10^9/L$)	9.75±3.19	6.40±0.99	8.25±3.18	6.60±2.69

Linfocitos (10⁹/L)	0.82±0.41	0.95±0.07	1.20±0.99	1.15±0.64
Monocitos (10⁹/L)	3.40±1.64	2.60±0.85	3.55±1.34	2.75±1.06
Granulocitos X 10⁹	4.18±2.27	2.85±0.21	3.50±0.85	2.70±0.99
%Linfocitos	10.58±2.67	16.20±4.10	13.60±7.35	17.20±2.97
%Monocitos	41.28±6.62	41.00±6.22	43.85±1.34	42.50±0.85
%Granulocitos	48.14±6.77	42.80±2.12	42.55±6.01	40.30±2.12
Eritrocitos (10⁹/L)	4.63±0.80 ^a	5.77±1.51 ^a	7.30±0.21 ^b	6.89±0.63
Hemoglobina (g/L)	8.62±1.04 ^a	11.50±2.55 ^b	13.95±0.07 ^b	12.75±1.34 ^b
Hematocrito (%)	23.00±2.84	28.80±6.36	36.65±1.34	38.85±5.59
Plaquetas (10⁹/L)	308.20±73.20	294.50±14.85	274.50±2.12	439.50±229.81

Los datos son representados como la media ± DS. Se realizó ANOVA de una vía con poshoc de Tukey. Las letras diferentes indican diferencia significativa entre los grupos.

Se realizó la identificación de la morfología leucocitaria de los frotis con un microscopio óptico (Imagen 3). Respecto a la cuenta de los diferentes tipos de leucocitos en el frotis, no hubo diferencia en el porcentaje de linfocitos en ninguno de los cuatro grupos. Dentro del grupo de los granulocitos, pudimos observar que los neutrófilos disminuyeron en un 50% en el grupo 2, respecto al grupo 1 y más aún en el grupo 3. Los eosinófilos no se identificaron en ningún grupo.

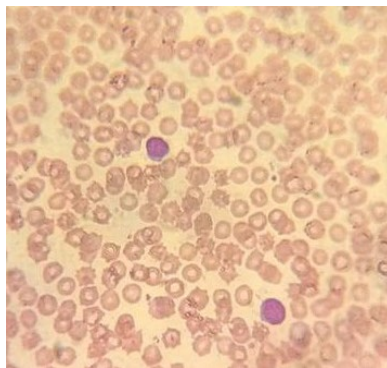


IMAGEN 3: Identificación morfológica de leucocitos.

CONCLUSIONES

El uso de fructanos de agave en infecciones microbianas puede ser una alternativa para fortalecer el sistema inmunológico en contra de patógenos como Salmonella.

Se requieren más estudios para conocer si los fructanos de agave pueden ejercer un efecto directo sobre las células del sistema inmune a nivel local, es decir en el epitelio intestinal donde la Salmonella ejerce su principal efecto.

AGRADECIMIENTOS

M.C. Érika Alejandra Martínez Ortega. Maestría en Biociencias. Universidad de Guanajuato.

REFERENCIAS

- [1] Gordon D., Victoria J.S., & Palmer M., (2011). Immunity to salmonellosis. *Immunological Reviews*, 240(1), 196-210.
- [2] Crump-Cianflone N. F., (2008). Salmonellosis and the gastrointestinal tract: More than just peanut butter. *Current Gastroenterology Reports*, 10(4), 424-431.
- [3] Gibson G. R., & Roberfroid M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6):1401-12.
- [4] Shokryazdan, P., M. Faseleh Jahromi, B. Navidshad, & J. Liang. (2016). Effects of prebiotics on immune system and cytokine expression. *Medical Microbiology and Immunology*, 206:1-9.
- [5] Franco-Robles E., & López M. G. (2015). Implication of fructans in health: immunomodulatory and antioxidant mechanisms. *Scientific World Journal*. 2015:289-267.