

# MICROBIOTA DEL TRACTO RESPIRATORIO DEL GANADO DE CARNE Y SU ROL EN LA SALUD RESPIRATORIA

Edouard Timsit<sup>1,2</sup>, DVM, PhD, Dip. ECBHM

<sup>1</sup>Pharma Innovation Department, Ceva Santé Animale, Libourne, France.

<sup>2</sup>Department of Production Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Calgary, Calgary, AB, Canada.

## INTRODUCCIÓN

La bronconeumonía bacteriana (BP) es uno de los problemas más importantes en la industria de la carne. Los bovinos de carne de todas las edades pueden afectarse con BP; sin embargo, lo más probable es que se infecten durante los primeros 50 días, luego de su entrada al *feedlot* debido a que se exponen a un amplio rango de patógenos (debido a la convivencia) concurrentemente con varios factores estresantes (destete y transporte), que pueden deprimir su sistema inmune (Taylor et al., 2010), (Fig. 1).

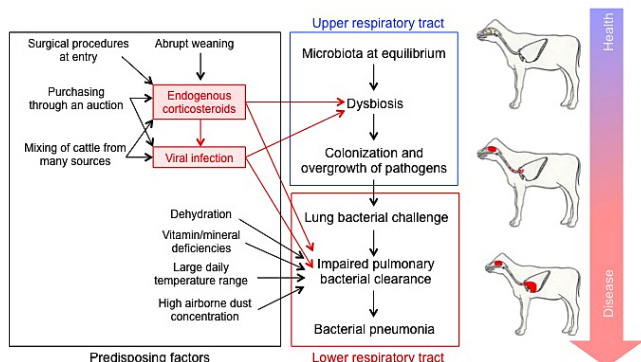


Figura 1: Esquema de la patogenia de la bronconeumonía bacteriana en Ganado de *feedlot* (Timsit et al., 2016a).

Los patógenos más importantes asociados con BP incluyen *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* and *Mycoplasma bovis* (Timsit et al., 2017). Para estos patógenos la colonización del tracto respiratorio superior (TRS) es el primer paso necesario antes de ocasionar la infección del tracto respiratorio inferior (TRI). La inhibición de este primer paso de la patogenia, por el microbiota residente, un proceso llamado también “Resistencia a la colonización”, puede, por lo tanto, ser de la mayor importancia para la salud respiratoria. Más aún, si un patógeno ha colonizado la superficie mucosa del TRS, puede ser beneficioso tanto para la comunidad

bacteriana como para el huésped fue mantenido a raya, evitando el desarrollo excesivo de la inflamación y la subsecuente diseminación pulmonar.

En los últimos años, se ha acumulado evidencia de los roles que las comunidades bacterianas tienen en el tracto respiratorio para impedirle a los patógenos respiratorios establecer una infección (Holman et al., 2015). Esta presentación revisará (i) la composición de la microbiota del TRS y del TRI y su rol en la salud respiratoria y (ii) discutirá la prevención de la BP mediante una intervención basada en la microbiota (probióticos intranasales).

## COMPOSICIÓN DE LAS MICROBIOTAS DEL TRS Y DEL TRI EN BOVINOS DE FEEDLOT

Estudios recientes de cultivos independientes de la microbiota del TRS del bovino han revelado que está dominada por los géneros *Tenericutes*, *Proteobacteria* y *Firmicutes*, con menor proporción de Actinobacter y Bacteroidetes (Timsit et al., 2016b, Nicola et al., 2017).

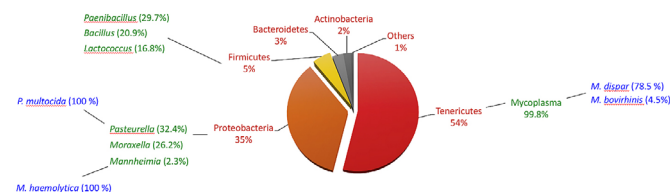


Figura 2: Microbiota en la nasofaringe de bovinos de *feedlot* (n = 30; Timsit et al., 2016).

Aunque la microbiota del TRI difiere de la del TRS (Nicola et al., 2017; Timsit et al., 2018), también está dominada por Tenericutes, Proteobacteria y Firmicutes (Fig. 3). En un estudio de caso (n = 60) - control (n = 60) en bovinos de *feedlot* (Timsit et al., 2018), demostramos que las comunidades bacterianas también difieren entre animales sanos y enfermos (tanto

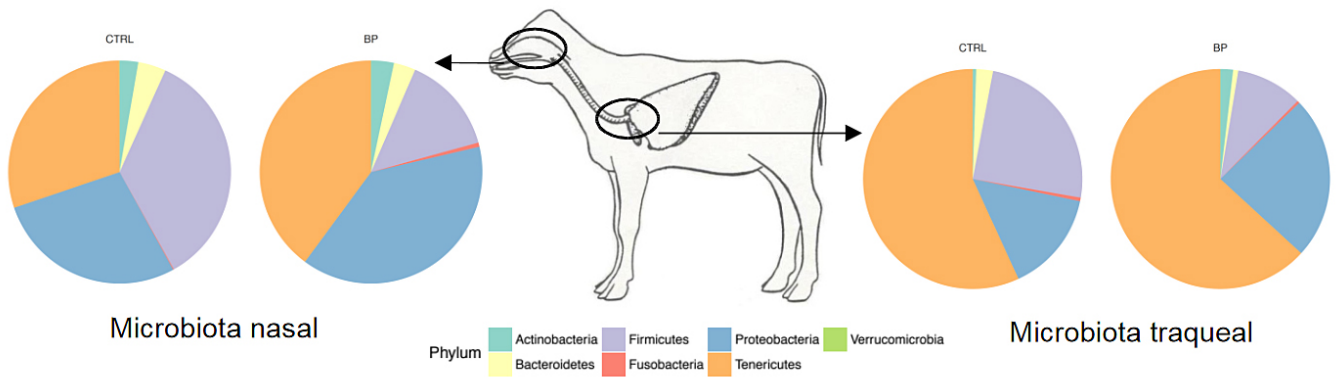


Figura 3: Diferencia en la composición de las comunidades bacterianas a nivel de género, entre las microbiotas superior (nasal) e inferior (traqueal) de bovinos de *feedlot* con o sin bronconeumonía bacteriana (BP), (n = 120; Timsit et al., 2018).

a nivel de TRS como de TRI) con más Tenericutes y Proteobacteria y menos Firmicutes en enfermos que en sanos.

### EL ROL DE LA MICROBIOTA DEL TRS Y DEL TRI EN LA SALUD RESPIRATORIA

Aunque de naturaleza oportunista, es lógico esperar que portadores de bacterias asociadas con BP están en un riesgo mayor de contraer la enfermedad. Esto se basa en la evidencia que estas bacterias no colonizan a todo el ganado y su prevalencia es menor en la población general comparada con aquellos animales que desarrollan BP. Por ejemplo, en *feedlots* los portadores de *M. haemolytica* en la población general van de 13 a 20% (Klima et al., 2011), mientras que, en casos de neumonía aguda y fatal, la prevalencia puede ser del 85 al 100% de los casos (Booker et al., 2008). Más aún, ha sido reportado recientemente que los bovinos positivos a *M. haemolytica* al llegar al *feedlot* están más propensos a ser afectados por BP dentro de los primeros 10 días luego de la llegada, comparados con el ganado que tuvo cultivo negativo (Noyes et al., 2015). Estos datos sugieren que limitando la colonización de patógenos bacterianos oportunistas se reducirá la enfermedad respiratoria en el ganado, y estaría de acuerdo con las estrategias corrientes de manejo para mitigar la enfermedad respiratoria que apuntan a la reducción de patógenos mediante el uso de antimicrobianos (metafilaxis) y programas de vacunación (Edwards, 2010). Sin embargo, hay preocupación científica y pública respecto del uso no terapéutico de los antimicrobianos en la producción pecuaria (Lipsitch et al., 2002). Es más, las vacunas en uso no confieren una protección completa con-

tra la infección (Larson and Step, 2012). Por consiguiente, es muy importante evaluar métodos alternativos para mitigar los patógenos bacterianos respiratorios.

Está muy claro que la patogenia de la BP bacteriana está compuesta por varios factores, incluyendo la interacción de los patógenos con otras bacterias (ej. comensales). Por cierto, las bacterias comensales pueden conferir resistencia a la incorporación e instalación de nuevos patógenos en el TRS mediante varios mecanismos (Figura 4; Timsit et al., 2016a). Primero, la resistencia a la colonización puede producirse mediante la ocupación de vacantes en los nichos del TRS. Resultando que los patógenos invasores tienen que competir por

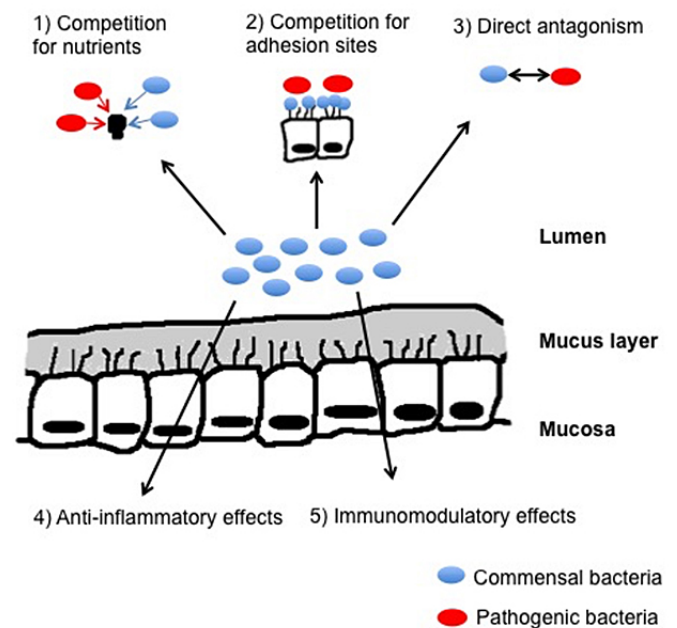


Figura 4: Mecanismos potenciales mediante los cuales las bacterias comensales nasofaríngeas contribuyen a la salud respiratoria y previenen la colonización de bacterias patógenas.

la adhesión a los receptores y por los nutrientes. Por ejemplo, la reducción de la densidad y diversidad de la comunidad bacteriana luego de un tratamiento antibiótico en humanos ha sido asociada con un riesgo creciente de crecimiento excesivo de patógenos bacterianos y la subsecuente instalación de enfermedades del TRS (Pettigrew et al., 2012). Falta evidencia directa de que esto también acontezca en el TRS de los bovinos de *feedlot*. A pesar de ello, Holman et al. (2015) han comunicado recientemente que la diversidad y riqueza bacteriana estaba disminuida en la nasofaringe de los bovinos que habían padecido BP tempranamente en su período de engorde que aquellos que no la habían tenido.

Los comensales en el TRS pueden también inhibir o mejorar, directamente, el crecimiento de patógenos modificando el ambiente o produciendo moléculas antibacterianas. Por ejemplo, en humanos, la especie de estreptococos comensal *S. salivarius* inhibe el crecimiento en el TRS del patógeno *S. pyogenes* mediante la producción de bacteriocinas. En bovinos, varias bacterias aisladas de la nasofaringe han mejorado o limitado el crecimiento *in vitro* de *M. haemolytica*, *P. multocida*, y *H. somni* (Corbeil et al., 1985). Entre estos, los mejoradores comprendieron cultivos de *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Moraxella* y *Actinobacter*, mientras los cultivos de *Bacillus* fueron los inhibidores más importantes. Es interesante señalar, que también observamos que los bovinos que permanecieron sanos durante todo el período de engorde y no tuvieron signos de BP, tuvieron una mayor proporción de bacterias de las familias *Bacillaceae* y *Lactobacillaceae* en su llegada al *feedlot* (Holman et al., 2015). Consecuentemente inferimos que varias bacterias de la nasofaringe bovina pueden mejorar la salud de estos y pueden emplearse para mitigar la BP en el *feedlot* mediante la administración de probióticos nasales.

Otros mecanismos por los cuales los comensales pueden mejorar la resistencia a la colonización de patógenos incluyen la estimulación inmunitaria del hospedero y modulación de la inflamación de las mucosas. Por ejemplo, el comensal *S. salivarius* inhibe la respuesta inflamatoria de las células epiteliales bronquia-

les (ej. bajo regulación de la ruta NF- $\kappa$ B) y promueve la homeostasis microbiana del huésped (Cosseau et al., 2008). Más aún, las bacterias comensales tienen también un rol clave contribuyendo a la inmunidad adaptativa contra las infecciones virales del tracto (Ichinohe et al., 2011). A pesar de que estos hallazgos apoyan el concepto de que las bacterias comensales tienen roles importantes en la inmunidad e infección del tracto respiratorio, no se han llevado a cabo aún estudios definitivos en bovinos para verificar esta hipótesis.

## EL ROL DE LA MICROBIOTA DEL TRS Y DEL TRI EN LA SALUD RESPIRATORIA

El conocimiento de que algunas bacterias comensales tienen un rol en el mantenimiento de la salud del huésped ha conducido al advenimiento de los probióticos, que se definen como microorganismos viables que confieren beneficios para la salud del huésped. Por ejemplo, la suplementación con *Lactobacillus casei* mejoró la respuesta inmune contra la infección por *Streptococcus pneumoniae* del tracto respiratorio de ratones (Villena et al., 2005). De la misma forma *Bacillus subtilis*, como alimento microbiano directo mejoró la función inmune en terneros (Sun et al., 2010). Es más, hay evidencia cierta que cepas de *Lactobacillus* inhiben el crecimiento de *M. haemolytica* y estimulan una respuesta inmune positiva, *in vitro* en las células epiteliales del bovino (Amat et al., 2017). Finalmente, en un reciente desafío experimental llevado a cabo en terneros de 24

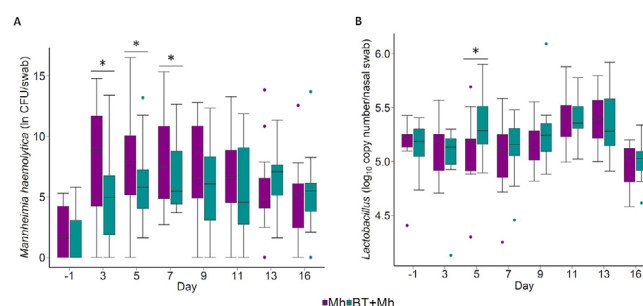


Figura 5: Contajes bacterianos de *M. haemolytica* determinados mediante cultivo (A) y estimación total de *Lactobacillus* spp. determinada por qPCR de *Lactobacillus* 16S rRNA copia génica (B) de hisopados nasales de terneros que recibieron inoculación intranasal de ambas bacterias terapéuticas y *M. haemolytica* (BT +Mh; n = 12) o solo *M. haemolytica* (Mh; n = 12). Cada caja indica el rango intercuartil (IQR) (media 50% de los datos), la línea media representa el valor medio, y los bigotes representan 1,5 veces el IQR. Los puntos coloreados indican valores atípicos \*, diferencia significativa entre tratamientos (P < 0.05) (Amat et al., 2020).

días de edad (Amat et al., 2020), la administración nasal de un “cocktail” de 6 cepas probióticas de *Lactobacillaceae* redujo la colonización nasal de *M. haemolytica* postdesafío (Fig. 5). Se necesita más investigación para determinar si bacterias probióticas inoculadas intranasalmente pueden prevenir la BP en bovinos de *feedlot*, lo que sería un resultado interesante.

## REFERENCIAS CITADAS

- Amat, S., Alexander, T.W., Holman, D.B., Schwinghamer, T., Timsit, E. 2020. Intranasal bacterial therapeutics reduce colonization by the respiratory pathogen *Mannheimia haemolytica* in dairy calves. *mSystems*5, e00629-19.
- Amat, S., S. Subramanian, E. Timsit, and T. W. Alexander. 2017. Probiotic bacteria inhibit the bovine respiratory pathogen *Mannheimia haemolytica* serotype 1 *in vitro*. *Letter of Applied Microbiology* 64, 343-349.
- Booker, C. W., S. M. Abutarbush, P. S. Morley, G. K. Jim, T. J. Pittman, O. C. Schunicht, T. Perrett, B. K. Wildman, R. K. Fenton, P. T. Guichon, and E. D. Janzen. 2008. Microbiological and histopathological findings in cases of fatal bovine respiratory disease of feedlot cattle in Western Canada. *The Canadian Veterinary Journal* 49, 473-481.
- Corbeil, L. B., W. Woodward, A. C. Ward, W. D. Mickelsen, and L. Paisley. 1985. Bacterial interactions in bovine respiratory and reproductive infections. *Journal of Clinical Microbiology* 21, 803-807.
- Cosseau, C., D. A. Devine, E. Dullaghan, J. L. Gardy, A. Chikatamarla, S. Gellatly, L. L. Yu, J. Pistic, R. Falsafi, J. Tagg, and R. E. Hancock. 2008. The commensal *Streptococcus salivarius* K12 downregulates the innate immune responses of human epithelial cells and promotes host-microbe homeostasis. *Infection and Immunology* 76, 4163-4175.
- Edwards, T. A. 2010. Control methods for bovine respiratory disease for feedlot cattle. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* 26, 273-284.
- Holman, D. B., T. A. McAllister, E. Topp, A. D. Wright, and T. W. Alexander. 2015. The nasopharyngeal microbiota of feedlot cattle that develop bovine respiratory disease. *Veterinary microbiology* 180, 90-95.
- Ichinohe, T., I. K. Pang, Y. Kumamoto, D. R. Peaper, J. H. Ho, T. S. Murray, and A. Iwasaki. 2011. Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 5354-5359.
- Klima, C. L., T. W. Alexander, R. R. Read, S. P. Gow, C. W. Booker, S. Hannon, C. Sheedy, T. A. McAllister, and L. B. Selinger. 2011. Genetic characterization and antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica* isolated from the nasopharynx of feedlot cattle. *Veterinary Microbiology* 149, 390-398.
- Larson, R. L. and D. L. Step. 2012. Evidence-based effectiveness of vaccination against *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, and *Histophilus somni* in feedlot cattle for mitigating the incidence and effect of bovine respiratory disease complex. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* 28, 97-106.
- Lipsitch, M., R. S. Singer, and B. R. Levin. 2002. Antibiotics in agriculture: when is it time to close the barn door? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, 5752-5754.
- Nicola, I., F. Cerutti, E. Grego, I. Bertone, P. Gianella, A. D'Angelo, S. Peletto, and C. Bellino. 2017. Characterization of the upper and lower respiratory tract microbiota in Piedmontese calves. *Microbiome* 5, 152.
- Noyes, N. R., K. M. Benedict, S. P. Gow, C. W. Booker, S. J. Hannon, T. A. McAllister, and P. S. Morley. 2015. *Mannheimia haemolytica* in feedlot cattle: prevalence of recovery and associations with antimicrobial use, resistance, and health outcomes. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29, 705-713.
- Pettigrew, M. M., A. S. Laufer, J. F. Gent, Y. Kong, K. P. Fennie, and J. P. Metlay. 2012.



Upper respiratory tract microbial communities, acute otitis media pathogens, and antibiotic use in healthy and sick children. *Applied and Environmental Microbiology* 78, 6262-6270.

Santagati, M., M. Scillato, F. Patane, C. Aiello, and S. Stefani. 2012. Bacteriocin-producing oral streptococci and inhibition of respiratory pathogens. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 65, 23-31.

Sun, P., J. Q. Wang, and H. T. Zhang. 2010. Effects of *Bacillus subtilis* natto on performance and immune function of preweaning calves. *Journal of Dairy Science* 93, 5851-5855.

Taylor, J. D., R. W. Fulton, T. W. Lehenbauer, D. L. Step, and A. W. Confer. 2010. The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? *The Canadian veterinary journal* 51, 1095-1102.

Timsit, E., Workentine, M., van der Meer, F., Alexander, T. 2018. Distinct bacterial metacomunities inhabit the upper and lower respiratory tracts of healthy feedlot cattle and those diagnosed with bronchopneumonia. *Veterinary microbiology* 221, 105-113.

Timsit, E., J. Hallewell, C. Booker, N. Tison, S. Amat, and T. W. Alexander. 2017. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, and *Histophilus somni* isolated from the lower respiratory tract of healthy feedlot cattle and those diagnosed with bovine respiratory disease. *Veterinary microbiology* 208, 118-125.

Timsit, E., D. B. Holman, J. Hallewell, and T. W. Alexander. 2016a. The nasopharyngeal microbiota in feedlot cattle and its role in respiratory health. *Animal frontiers* 6, 44-50.

Timsit, E., M. Workentine, A. B. Schryvers, D. B. Holman, F. van der Meer, and T. W. Alexander. 2016b. Evolution of the nasopharyngeal microbiota of beef cattle from weaning to 40 days after arrival at a feedlot. *Veterinary microbiology* 187, 75-81.

Villena, J., S. Racedo, G. Agüero, E. Bru, M. Medina, and S. Alvarez. 2005. *Lactobacillus casei* improves resistance to pneumococcal respiratory infection in malnourished mice. *Journal of Nutrition* 135, 1462-1469.