



Universitat de Lleida

C tedra AgroBank "Calidad e Innovación en el sector Agroalimentario"
Avda Rovira Roure, 191. 25198 Lleida.
www.catagrobank.udl.cat
catagrobank@udl.cat



IV PREMIO DE LA C TEDRA AGROBANK

"LA CIENCIA EN FEMENINO: PREMIO AL MEJOR TRABAJO FINAL DE MÁSTER"

Resumen Trabajo Final de Máster

1.- Apellidos y nombre: Vaz Rodrigues, Rita

2.- Título TFM: Evaluación de la protección inespecífica de un inmunoestimulante basado en *Mycobacterium bovis* inactivado por calor frente a la infección por *Salmonella Choleraesuis* en cerdos.

3.- Resumen TFM (máximo 1000 palabras):

El sistema inmunitario engloba la inmunidad innata, primera barrera inmunitaria caracterizada por la inespecificidad de actuación de las células fagocíticas, y la inmunidad adaptativa, responsable por la eliminación específica de patógenos mediante células linfocíticas dotadas de memoria inmunológica (Roitt et al., 2017). Recientemente surgió el concepto de inmunidad entrenada, que es la capacidad que tienen las células inmunitarias innatas de producir una respuesta inmunitaria mejorada frente a una infección secundaria tras la infección o inmunización previa con un patógeno no relacionado (Netea et al., 2011).

Las micobacterias son agentes estimuladores de la inmunidad entrenada, originando una protección cruzada inespecífica frente a un gran número de patógenos (Covián et al., 2019). En 2011, se desarrolló un inmunoestimulante basado en *Mycobacterium bovis* inactivado por calor (HIMB) contra la tuberculosis, con resultados similares a los de la vacuna viva atenuada BCG (Garrido et al., 2011). HIMB destaca sobre la BCG al ser inactivada, reduciendo problemas de bioseguridad asociados al desarrollo de granulomas en individuos inmunodeprimidos y a la persistencia de la estirpe vacunal en el ambiente (Palmer et al., 2016). A la extensión de nuestros conocimientos, se desconoce la capacidad de protección inespecífica de HIMB frente a otros patógenos.

La salmonelosis representa un problema de Salud Pública que ocasiona importantes pérdidas económicas en la industria porcina. Esto es de suma importancia ya que España es el cuarto país productor de carne de porcino del mundo (MAPA, 2020). La vacunación puede ser una estrategia clave para reducir el impacto de *Salmonella* en las explotaciones porcinas y su transmisión a humanos (De Lucia & Ostanello, 2020). No obstante, la vacunación específica frente a este patógeno presenta deficiencias para el control de los distintos serovares (Wales & Davies, 2017).

El objetivo principal de este estudio fue evaluar si el inmunoestimulante HIMB tenía un efecto inmunoprotector en cerdos infectados por *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis (*S. Choleraesuis*), explorando así la amplitud y eficacia de esta protección inmunológica inespecífica. Los objetivos específicos fueron los siguientes:

1. Evaluar las diferencias de signos clínicos, peso y temperatura corporal entre cerdos inmunoestimulados y no inmunoestimulados con HIMB, ambos infectados con *S. Choleraesuis*.
2. Analizar las diferencias en la excreción fecal y la distribución tisular bacteriana entre cerdos inmunoestimulados y no inmunoestimulados con HIMB, ambos desafiados con *S. Choleraesuis*.
3. Evaluar y comparar las lesiones patológicas macroscópicas e histopatológicas en los pulmones de cerdos inmunoestimulados y no inmunoestimulados con HIMB, ambos infectados con *S. Choleraesuis*.
4. Analizar la expresión de citoquinas en el pulmón y su correlación con las lesiones pulmonares microscópicas entre cerdos inmunoestimulados y no inmunoestimulados con HIMB, ambos desafiados con *S. Choleraesuis*.

Para ello, veinticuatro lechones hembras de 10 días de edad fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos: grupo inmunizado (n=10), recibí por vía oral dos dosis de HIMB antes de ser infectado por vía intratraqueal con *S. Choleraesuis*; grupo control positivo (N=9), infectado con *S. Choleraesuis* y no inmunizado; y grupo control negativo

(n=5), no inmunizado ni infectado. Los parámetros *ante mortem* (signos clínicos, temperatura corporal, peso y excreción fecal bacteriana) fueron analizados utilizando un modelo lineal de efectos mixtos en R 4.0.4 (R Core Team, 2021). Los parámetros *post mortem* (colonización tisular bacteriana, lesiones pulmonares y expresión de citoquinas) fueron analizados mediante la prueba Mann-Whitney-Wilcoxon.

Los resultados mostraron que la inmunestimulación con HIMB mejoró la ganancia de peso, ya que el aumento de peso fue significativamente inferior en el grupo control positivo en relación con el control negativo ($p=0,0046$) y el inmunizado ($p=0,0475$). HIMB limitó el aumento de temperatura corporal, con valores significativos más elevados en individuos del grupo control positivo en comparación con el inmunizado ($p=0,0081$) y control negativo ($p=0,0131$). Además, este inmunestimulante redujo los síntomas respiratorios como disnea, tos y afonía, aunque de forma no significativa ($p > 0,05$).

Las lesiones macroscópicas pulmonares provocadas por *S. Choleraesuis* en cerdos se caracterizaron principalmente por la presencia de neumonía intersticial acompañada de áreas de atelectasia, siendo notablemente más pronunciadas en el grupo control positivo ($p=0,047$). A nivel microscópico, las principales lesiones observadas fueron la presencia de edema y neumonía intersticial con infiltrado mononuclear o mixto, congestión y hemorragias. El análisis de la puntuación total de las lesiones pulmonares fue significativamente mayor ($p=0,020$) en el grupo control positivo en comparación con el inmunizado. A nivel inmunológico, los lechones inmunizados con HIMB presentaron una mayor expresión de la quimiocina CCL28 en pulmón ($p=0,021$), señalando la importancia de la inmunidad innata en la protección inespecífica frente a *S. Choleraesuis*. No se observaron cambios significativos ($p > 0,05$) en el grupo inmunizado frente al no inmunizado para $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, $IL-1\alpha$ e $IL-8$.

La diferencia de colonización bacteriana tisular total o en órganos individuales (amígdala, bazo y linfonodos traqueobronquiales) entre grupos no ha sido significativa ($p > 0,05$). Tampoco se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los grupos infectados en la excreción fecal de *S. Choleraesuis*.

Según los resultados descritos, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

1. La inmunización con HIMB fue eficaz para reducir los síntomas clínicos y limitar el aumento de temperatura y la pérdida de peso en animales infectados con *S. Choleraesuis*, mejorando así el bienestar de los animales y potencialmente minimizando las pérdidas económicas en la ganadería porcina.
2. La colonización tisular y la excreción de *S. Choleraesuis* no se redujeron con la administración del inmunestimulante HIMB. Así pues, HIMB no funcionó como estrategia de mitigación de riesgos.
3. Los cerdos estimulados con HIMB mostraron menor gravedad en las lesiones pulmonares, lo que mejoró el estado de salud de los animales.
4. El principal mecanismo inmunológico implicado en la disminución de las lesiones pulmonares asociadas a la inmunestimulación con HIMB fue la sobreexpresión de CCL28 en este órgano, destacando la importancia de la inmunidad innata de las mucosas en la protección inespecífica ante *S. Choleraesuis*.
5. Este estudio sugiere que la inmunización con HIMB puede tener efectos benéficos a nivel clínico, patológico e inmunológico frente a patógenos bacterianos en porcino dentro del concepto de inmunidad entrenada, abriendo la puerta a futuros estudios de investigación para profundizar en esta teoría.

Referencias

- Covián, C., Fernández-Fierro, A., Retamal-Díaz, A., Díaz, F. E., Vasquez, A. E., Lay, M. K., et al. (2019). BCG-Induced Cross-Protection and Development of Trained Immunity: Implication for Vaccine Design. *Frontiers in Immunology*, 10(11), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02806>
- De Lucia, A., & Ostanello, F. (2020). On farm salmonella risk factors. *Large Animal Review*, 26, 133–140.
- Garrido, J. M., Sevilla, I. A., Beltrán-Beck, B., Minguijón, E., Ballesteros, C., Galindo, R. C., et al. (2011). Protection against tuberculosis in eurasian wild boar vaccinated with heat-inactivated *Mycobacterium bovis*. *PLoS ONE*, 6(9), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024905>
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) (2020). *El Sector de la Carne de Cerdo en Cifras: Principales Indicadores Económicos* (pp. 3–46).

- Netea, M. G., Quintin, J., & Van Der Meer, J. W. M. (2011). Trained immunity: A memory for innate host defense. *Cell Host and Microbe*, 9(5), 355–361. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.04.006>
- Palmer, M. V., Thacker, T. C., Waters, W. R., Robbe-Austerman, S., Lebepe-Mazur, S. M., & Harris, N. B. (2010). Persistence of *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) after oral or parenteral vaccination. *Zoonoses and Public Health*, 57(7–8). <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2010.01329.x>
- R Core Team (2021). *R: A Language and Environment for Statistical Computing* (4.0.4). R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
- Roitt, I. M., Delves, P. J., Martin, S. J., & Burton, D. R. (2017). Fundamentals of immunology. In *Roitt's Essential Immunology* (Thirteenth, pp. 3–52). Wiley Blackwell.
- Wales, A. D., & Davies, R. H. (2017). Salmonella Vaccination in Pigs: A Review. *Zoonoses and Public Health*, 64(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/zph.12256>

AVISO LEGAL SOBRE DATOS DE CARÁCTER PERSONAL

La Càtedra AgroBank, en cumplimiento de lo establecido en la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal, LO 15/1999 de 13 de diciembre, y legislación de desarrollo, informa al usuario que los datos personales que pueda aportar en este formulario, en la web de la Càtedra (www.catedragrobank.udl.cat) o a la dirección de correo electrónico de la Càtedra (catedragrobank@udl.cat), serán incluidos ficheros de tratamiento automatizado de datos.

Los datos contenidos en tales ficheros, serán gestionados por parte de la Càtedra AgroBank con el fin de asegurar el óptimo acceso del usuario al entorno, servicios y gestiones que se puedan hacer, entre ellas la inscripción a premios, jornadas y cursos ofertados por la Càtedra AgroBank.

Así mismo, se informa al usuario que estos ficheros cuentan con las debidas medidas de seguridad, de acuerdo con la normativa aplicable. Los datos contenidos en tales ficheros tendrán carácter confidencial y no se tratarán para usos distintos a los aquí anunciados.

El usuario, en virtud del establecido en lo LO 15/1999 de 13 de diciembre, podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación y cancelación dirigiéndose a:

Càtedra AgroBank.

ETSEAFIV-UdL. Avda. Rovira Roure, 191.
25198 Lleida.

Correo electrónico: catedragrobank@udl.cat