

## El potencial de la inmunidad entrenada en la lucha contra enfermedades infecciosas de relevancia en cerdos

MARTA PÉREZ-SANCHO<sup>1,2</sup>, LIDIA SÁNCHEZ-MORALES<sup>1,2</sup>, TERESA GARCÍA-SECO<sup>1</sup>, INMACULADA MORENO<sup>3</sup>, ALBERTO DÍEZ GUERRIER<sup>5</sup>, MARÍA ÁNGELES RISALDE<sup>4</sup>, MERCEDES DOMÍNGUEZ<sup>3</sup>, LUCAS DOMÍNGUEZ<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Centro Visavet, Universidad Complutense Madrid. Madrid. España.

<sup>2</sup> Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense Madrid. Madrid, España.

<sup>3</sup> Unidad de Inmunología Microbiana, Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Majadahonda. España.

<sup>4</sup> Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas y Toxicología, Grupo de Investigación GISAZ, UIC Zoonosis y Enfermedades Emergentes ENZOEM, Universidad de Córdoba. Córdoba. España.

<sup>5</sup> Maeva Servet S.L.



Lechones en boxes destinados a experimentación animal en las instalaciones BSL3 del centro Visavet. Visavet-UCM.

Los cambios relativos a los parámetros en los que se obtienen los alimentos de origen animal, derivados de las modificaciones legislativas en la materia, la

emergencia de bacterias resistentes a antibióticos, las nuevas demandas de los consumidores respecto a la producción animal, el cambio climático, etc., están

impactando actualmente en la sanidad y la producción animal, así como en las herramientas que se emplean en el control de enfermedades infecciosas

Es evidente que el futuro de la producción animal se fundamenta en una fuerte apuesta por la profilaxis como elemento esencial en la salvaguarda de la sanidad y el bienestar animal. La profilaxis a su vez se apoya en diferentes elementos interconectados y dependientes: desde la ruptura de la cadena de transmisión (por ejemplo, a través de programas eficaces de limpieza y desinfección o prácticas de manejo como la cuarentena) hasta la inducción de un estado de inmunoprotección (p.ej. a través de la vacunación). Muchos de estos eslabones de la cadena de prevención en los que se trabaja (y se ha de seguir trabajando) son bien conocidos en el sector porcino.

Las prácticas higiénicas y de manejo implementadas en muchas granjas de cerdos son un ejemplo de buenas praxis para otros sectores productivos, lo cual pone en valor los beneficios que este tipo de estrategias sanitarias suponen, por ejemplo, a nivel productivo. Respecto a la vacunación, cuya principal finalidad es inducir una protección basada en una respuesta inmune adaptativa más rápida y eficaz frente a un invasor, es una herramienta implementada con éxito en la lucha frente a importantes patógenos en el campo de la sanidad porcina. Sin embargo, existen aún algunas demandas por parte del sector a este respecto a las que se ha de dar respuesta. La enfermedad gastrointestinal contagiosa porcina, la brucelosis, la estreptococosis y la disentería, entre otras, son algunas de las patologías infecciosas a las que el sector porcino ha de hacer frente sin herramientas profilácticas universales y eficaces que se puedan aplicar como armas de prevención. Las variabilidades antigénicas (p.ej. propias de virus RNA como el deltacoronavirus), los problemas de interferencia diagnóstica, la ausencia de una vacuna autorizada (p.ej. *Brucella suis*) o de inmunidad

cruzada entre diferentes cepas/serotipos (p.ej. *Streptococcus suis*) son algunas de las limitaciones a las que hacer frente a la hora de diseñar vacunas basadas en inmunidad adaptativa para la prevención de algunas enfermedades de relevancia para el sector. Existe, por tanto, una necesidad creciente de

innata está ganando un interés en el campo de la lucha contra patógenos no sólo por lo que respecta a la utilidad de estas estrategias sino también por el impacto que tiene en la inmunomodulación de la respuesta adquirida, así como por la emergencia de un nuevo concepto en esta área de la res-

**“ En un momento de reducción del uso de antibióticos y la búsqueda de alternativas sostenibles, el estudio de la inmunidad natural en el contexto de la sanidad porcina se posiciona como un ámbito prometedor para abordar los retos emergentes en el control de enfermedades infecciosas. ”**

disponer de nuevas alternativas inmunoprofilácticas en sanidad porcina que, idealmente, permitan inducir un estado de protección inespecífica que constituya un mecanismo complementario a las vacunas tradicionales frente a patógenos ya conocidos por el sector (e incluso frente a amenazas emergentes).

La inmunidad natural o innata ha sido poco estudiada a este respecto, en favor de los avances en el conocimiento sobre la inmunidad adquirida y el desarrollo de vacunas que buscan inducir un estado de protección frente a patógenos basado en la memoria inmune inducida. La inmunidad innata consta de estrategias de defensa propias (desde barreras primarias que evitan la entrada de invasores –como la piel o los movimientos peristálticos- a procesos inmunológicos que se activan en presencia de invasores implicando células –como neutrófilos y macrófagos- y factores solubles –como el complemento o las proteínas de fase aguda-).

En los últimos años, la inmunidad

puesta inmune: la inmunidad entrenada (IE). La IE se puede entender como la existencia de ciertos rasgos de memoria en algunas células del sistema inmune innato (monocitos, macrófagos, células asesinas naturales, neutrófilos) (Angulo y Angulo, 2022).

Tal y como apuntaron Netea *et al.* (quienes propusieron el concepto de IE en 2011), esta ‘memoria’ dista mucho de lo que entendemos por memoria inmunológica adaptativa, y se reflejaría en una mayor respuesta de las células innatas en contactos posteriores a un primer estímulo (con el mismo u otro microorganismo heterólogo). Si bien el conocimiento generado en el campo de la inmunidad entrenada hasta la fecha se ha basado mayoritariamente en estudios enfocados en el campo de la medicina humana, las investigaciones sobre su utilidad en la veterinaria preventiva han ido en aumento. En este artículo nos centraremos en los avances actuales en el campo de la IE y la sanidad porcina haciendo un breve repaso sobre el concepto de IE y su potencial interés en el campo de la medicina veterinaria preventiva.

## Inmunidad entrenada: concepto e implicaciones en el control de enfermedades infecciosas en veterinaria

El impacto de algunas vacunas como la BCG (bacilo de Calmette-Guérin) o la vacuna contra la viruela en la protección frente a patógenos heterólogos se ha observado desde hace muchos años (Aaby *et al.*, 2011; Mayr, 2004). La existencia de patrones moleculares asociados a patógenos (los conocidos PAMP), comunes a diferentes microorganismos, y de los receptores de reconocimiento de patrones moleculares (PRRs) en células del sistema inmune innato que reconocen específicamente PAMP, podrían fundamentar esta protección heteróloga mejorada independiente de linfocitos T/B (Netea *et al.*, 2011). Esta capacidad de respuesta aumentada se observa en monocitos, macrófagos y células asesinas naturales (Kleinnijenhuis *et al.*, 2012; Netea *et al.*, 2020). Los estudios de Mitroulis *et al.* han mostrado que la inmunidad entrenada también se puede observar en células progenitoras de la médula ósea, lo que se relacionaría con la expresión de esa virtud de memoria a largo plazo (Mitroulis *et al.*, 2018). Esta memoria inmunológica responde a la existencia de cambios metabólicos como el incremento de la glicolisis (Liu *et al.*, 2020), y epigenéticos como la trimetilación H3K4 y la acetilación H3K27 (Arts *et al.*, 2016) (Figura 1). Estos cambios epigenéticos son fundamentales porque permiten que las células innatas respondan de manera más rápida y eficiente a estímulos futuros, ya sea del mismo patógeno u otros microorganismos heterólogos.

Este mecanismo de “memoria” epigenética es lo que subyace a la mayor capacidad de respuesta de las células entrenadas.

La pregunta que surge a partir de esto sería: ¿en qué se traducen todas estas modificaciones a nivel celular? La respuesta más simple a esta pregunta se limita a los cambios inmunológicos inducidos. La respuesta más compleja pasa por estudios que nos permiten entender un poco mejor los fundamentos que sustentan que la IE se traduzca no solo en una capacidad de respuesta natural mejorada frente a estímulos homólogos, si no también a heterólogos en contactos posteriores. El trabajo de Ochando *et al.* (2023) muestra como el incremento en la secreción de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ), no solo mejora la capacidad de los macrófagos y neutrófilos para combatir infecciones, sino que también tiene un impacto directo en la activación de la inmunidad adaptativa. Las citoquinas activan células dendríticas y mejoran la presentación de antígenos a los linfocitos T, lo que refuerza la respuesta inmune adquirida (Netea *et al.*, 2020; Bekkering *et al.*, 2021). Además, los macrófagos y neutrófilos entre-

nados muestran un aumento en la capacidad para fagocitar patógenos y producir especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que les permite eliminar con mayor eficacia a los patógenos (Kleinnijenhuis *et al.*, 2012).

Son múltiples los elementos que se han estudiado como ‘inductores’ de IE. Los beta-glucanos ( $\beta$ G), como derivados de la pared celular de levaduras (*Candida albicans*) y hongos filamentosos (como *Saccharomyces cerevisiae*), han sido objeto de extensas investigaciones (sin olvidar los  $\beta$ G de otros orígenes). Estos compuestos actúan activando receptores como Dectin-1, lo que resulta en la reprogramación funcional de los monocitos y macrófagos, mejorando su capacidad para responder a infecciones futuras (Saeed *et al.*, 2014) (Figura 1). Así, los  $\beta$ G son unas de las moléculas más estudiadas en cerdos, donde su papel como ‘inductores’ de IE se ha evaluado en estudios de desafíos con *Salmonella enterica* y *Escherichia coli*, observando una mayor resistencia frente a estas infecciones (Stuyven *et al.*, 2009) y una mejora en los parámetros de crecimiento y salud general de los animales (Vetvicka *et al.*, 2014).

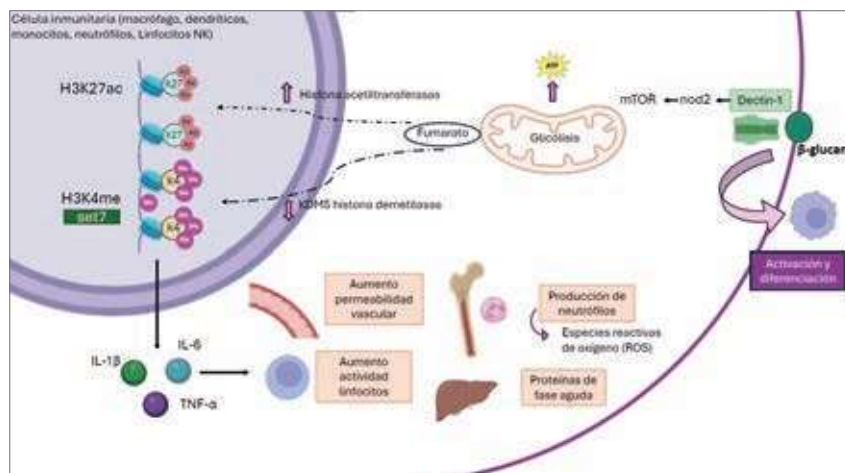


Figura 1. Esquema ilustrativo del mecanismo de la inmunidad entrenada (Biorender.com)





Lechones en boxes destinados a experimentación animal en las instalaciones BSL3 del centro Visavet. Visavet-UCM.

La mayoría de estos avances en el conocimiento sobre IE se han realizado mediante estudios *in vivo* o *ex vivo* en ratones y humanos, siendo comparativamente escasa la información disponible para otras especies animales. Un trabajo recientemente publicado nos permite acercarnos al potencial de esta nueva aproximación en diferentes especies animales, si bien pone de manifiesto que el camino de la investigación en este ámbito es aún largo y está repleto de incógnitas que han de ser resueltas (Angulo y Angulo, 2022). Una de las principales limitaciones que se ha de considerar es que las diferencias fisiológicas dependiendo del hospedador, no solo según la especie animal (Byrne *et al.*, 2020), sino incluso según la raza (Angulo y Angulo, 2022), pueden influir en la efectividad de los inductores de inmunidad entrenada. Además, el tipo de inductor de inmunidad entrenada y la vía de administración tienen un impacto decisivo en el resultado. En animales de abasto, como el ganado porcino, los  $\beta$ G se han administrado principalmente por vía oral, ya que esta es una ruta práctica en el contexto de la produc-

ción animal. Los estudios muestran que, a través de la vía oral, estos compuestos interactúan con el tejido linfoide asociado al intestino (GALT), activando células inmunitarias innatas, como macrófagos y células dendríticas. Este mecanismo es fundamental para la generación de inmunidad entrenada en el contexto de infecciones gastrointestinales y sistémicas (Stuyven *et al.*, 2009).

Es importante señalar que no todos los  $\beta$ G son iguales en términos de su capacidad para inducir inmunidad entrenada; existen variaciones en su estructura química y solubilidad que pueden influir en su eficacia. Byrne *et al.* (2020) revisaron la influencia de estas variaciones estructurales en la respuesta inmune, observando que las características físicas de los  $\beta$ G juegan un papel crucial en su capacidad para activar el sistema inmunológico. Por ejemplo, los  $\beta$ G solubles e insolubles pueden tener efectos diferentes en la modulación de la respuesta inmune (revisado por Byrne *et al.*, 2020). Así, un estudio realizado por Xiao *et al.* mostró que los  $\beta$ G solubles eran capaces de aumentar la res-

puesta dosis-dependiente de la producción de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) por las células mononucleares de sangre periférica en cerdos infectados con el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS), mientras que los  $\beta$ G insolubles no lograron este efecto (Xiao *et al.*, 2004). Esta observación subraya la importancia de considerar tanto la estructura química del inductor como la vía de administración para maximizar su potencial inmunestimulante.

Si reflexionamos sobre las ventajas que la inmunidad entrenada puede ofrecer en el campo del control de enfermedades en veterinaria, uno de los primeros elementos que pueden suscitar interés, como hemos comentado, es la inducción de una protección complementaria frente a patógenos conocidos e, incluso, frente a patógenos emergentes frente a los cuales no se disponga de herramientas de control desarrolladas. La historia de la veterinaria, y en concreto la del sector porcino, está plagada de episodios de emergencia de enfermedades que han marcado el rumbo de la sanidad y la producción animal, por ello está claro que

explorar las posibilidades que la inmunidad entrenada abre a este respecto es, cuando menos, de interés. Un ejemplo, de reciente actualidad en medicina humana, de enfermedad emergente es la pandemia COVID-19. Desde el inicio de la aparición de esta patología, se publicaron los primeros estudios sobre la posible protección frente a SARS-Cov-2 inducida por la BCG. Los estudios llevados a cabo fueron fundamentalmente de tipo epidemiológico en personas (de la Fuente et al., 2021; Kaur et al., 2022) y en experimentación animal (Kaufmann et al., 2022;

Otro de los campos a explorar es cómo la inmunidad entrenada puede contribuir a la lucha contra las resistencias a antibióticos. El primer mecanismo es fácil de entender, ya que se podría asociar con una disminución del uso de antibióticos para el tratamiento de estos procesos, una vía ya cercada en algunas especies animales en el marco legislativo actual. El segundo implicaría la inducción de una protección frente a bacterias multirresistentes. Gu et al. observaron que la inmunización con *Acinetobacter baumannii* inactivado en ratones inducía un

entrenada frente a posteriores infecciones (Chan et al., 2018), Lin et al. han descrito en un trabajo reciente cómo la inducción de inmunidad entrenada conllevó una producción de fumarato que se podría asociar con la persistencia de *S. aureus* resistentes a rifampicina y solo a través de un tratamiento con metformina (inhibidor de inmunidad entrenada) y rifampicina se consiguió controlar la infección en modelo ratón (Lin et al., 2024).

No debemos olvidar que este campo de investigación no está exento de posibles limitaciones que han de ser estudiadas. Los posibles efectos negativos de la inmunidad entrenada son desconocidos y deben ser explorados en animales. El equilibrio entre inmunidad entrenada (asociada a resistencia a patógenos heterólogos en contactos posteriores) y tolerancia (asociada a una respuesta disminuida, predominantemente antiinflamatoria) depende de factores como el propio patógeno, la concentración de este, el 'historial inmunológico' del hospedador, etc. (revisado por Dagenais et al., 2023). En este punto, se ha de considerar que existen algunos aspectos de estos inmunomoduladores de la respuesta inmune natural que han de ser explorados en detalle. Por ejemplo, la posibilidad de que inmunomoduladores basados en micobacterias puedan inducir una sensibilización a pruebas diagnósticas incluidas en las estrategias de control y erradicación de tuberculosis en vacas. Además, es importante valorar que la respuesta proinflamatoria derivada de la inducción de inmunidad entrenada puede no ser favorable en algunos escenarios (Sánchez-Morales et al., 2024).

Algunos estudios han demostrado que la inmunidad entrenada, inducida por componentes mi-

**“ La expansión del conocimiento sobre la inmunidad entrenada en la sanidad animal podría contribuir significativamente a reducir la dependencia de los antibióticos, con implicaciones positivas para la salud pública, el bienestar animal y la sostenibilidad del sector porcino. ”**

Singh et al., 2023), principalmente en modelo ratón, siendo aún una línea de investigación muy activa de gran interés en la comunidad científica.

Otro de los focos de interés que ha suscitado la inmunidad entrenada, en concreto el impacto inmunomodulador de la BCG, es cómo puede afectar a la inmunidad inducida por vacunas tradicionales (es decir, aquellas que inducen una respuesta inmune adaptativa). Así, por ejemplo, Leentjens et al. demostraron que la vacunación con BCG de manera previa a la inmunización con una vacuna trivalente de influenza se traducía en una respuesta de anticuerpos con actividad inhibitoria de hemaglutinación superior a la observada en personas del grupo placebo (Leentjens et al., 2015).

entrenamiento a nivel de macrófagos alveolares que mejoraba la protección frente a bacterias Gram negativas resistentes como *Klebsiella pneumoniae* (Gu et al., 2021). Xu et al. (2024) observaron como la endopeptidasa O recombinante de *Streptococcus pneumoniae* (PepO) es un inductor de inmunidad entrenada que mejora la supervivencia de ratones infectados con dosis letales de *S. aureus* meticilina-resistente y *E. coli* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. Sin embargo, como se menciona más adelante, la inmunidad entrenada también podría tener un impacto negativo en este aspecto favoreciendo la perpetuación de infecciones recurrentes por bacterias resistentes. Si bien se ha demostrado que *S. aureus* puede inducir inmunidad





crobianos como los  $\beta$ G o la BCG, puede exacerbar la inflamación crónica en los vasos sanguíneos, aumentando el riesgo de aterosclerosis y otros eventos cardiovasculares (Bekkering *et al.*, 2016). La activación prolongada de macrófagos y células dendríticas y la producción constante de citoquinas inflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, pueden agravar la inflamación sistémica, contribuyendo al desarrollo de placas ateroscleróticas y a la inestabilidad de estas placas (Arts *et al.*, 2018). Asimismo, en el contexto de enfermedades autoinmunes, una respuesta proinflamatoria exacerbada puede desencadenar una activación inapropiada del sistema inmune contra tejidos propios. Por otro lado, la inmunidad entrenada podría agravar condiciones autoinmunes preexistentes, como la artritis reumatoide o el lupus eritematoso

sistémico, debido a la activación continua de células inmunitarias innatas y la producción de mediadores inflamatorios (Mora *et al.*, 2023). Además, la inflamación crónica resultante de una respuesta entrenada no controlada podría favorecer la progresión de enfermedades inflamatorias crónicas como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, donde un exceso de respuestas inflamatorias resulta en daño tisular (Funes *et al.*, 2022).

## Inmunidad entrenada y sanidad porcina

Desafortunadamente, la investigación sobre inmunidad entrenada es limitada en el ganado porcino, si bien existe bibliografía previa a la descripción de este nuevo concepto donde se aborda

el estudio de la inducción de protección 'inespecífica' en cerdos (Byrne *et al.*, 2020). En este artículo, revisaremos algunos de los principales resultados, así como las implicaciones que pueden tener en el futuro del diseño de herramientas inmunoproliféricas en el sector porcino.

Si bien, como veremos más adelante, los  $\beta$ G y la BCG son dos de los compuestos más estudiados en el campo de la inmunidad innata heteróloga en general, hay que destacar que existe un creciente interés en el estudio de diferentes componentes con impacto en la protección frente a patógenos de relevancia en porcino. Por ejemplo, Hervert *et al.* han evaluado mediante estudios *in vitro* el potencial papel de extractos de algas en la respuesta inflamatoria y antiviral frente al virus de la enfermedad de Aujeszky y el síndrome respiratorio y reproductor en modelos celulares (Hervert *et al.*, 2022).

El impacto de los  $\beta$ G en la inmunidad se ha estudiado en cerdos en diferentes modelos de infección. En este punto es importante destacar que mucha de la bibliografía científica sobre  $\beta$ G y ganado porcino versa sobre el impacto de este a nivel productivo (índices de crecimiento, función intestinal, composición del microbioma intestinal, etc.). En esta revisión nos centramos en aquellos en los que se ha estudiado el papel de los  $\beta$ G en la respuesta inmune (post-vacunal y/o post-infección), con especial mención a aquellos que estudian específicamente la inmunidad entrenada.

La administración oral de  $\beta$ G procedente de *Saccharomyces cerevisiae* a lechones de 5 días privados de calostro, se tradujo en una reducción del impacto de la infección por el virus de la influenza porcina H1N1 (lesiones pulmonares menos severas y



Trabajos en inmunidad entrenada en modelo porcino en granja experimental. Visavet-UCM.

menor índice de replicación viral a nivel pulmonar) así como un incremento en la concentración de IFN- $\gamma$  y óxido nítrico (Jung et al., 2004). Li et al. evaluaron el impacto que la suplementación de  $\beta$ G (procedente de *S. cerevisiae*) podría tener en la respuesta inmune de lechones destetados frente al lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli*. Se observó que los animales suplementados con  $\beta$ G mostraron una modificación de los niveles de citoquinas pro- y antiinflamatorias (Li et al., 2005). Por su parte, Stuyven et al. observaron que  $\beta$ G procedentes de *S. cerevisiae* administrados por vía oral inducían un efecto protector frente a *E. coli* ETEC relacionándose con una menor excreción fecal y respuesta serológica frente a F4 (Stuyven et al., 2009). Sin embargo, estos autores sólo observaron un efecto a nivel de la expresión de IL-1 $\alpha$  mRNA en cerdos gnotobiontes tratados con  $\beta$ G tras la inmunización oral con F4 de *E. coli* (Stuyven et al., 2010).

También se ha evaluado el papel del  $\beta$ G en el tratamiento de pro-

cesos diarreicos causados por Rotavirus tipo A, demostrando un impacto positivo en la mortalidad de los lechones (Chethan et al., 2017). Recientemente, Wang et al. evaluaron el potencial valor de la inmunidad entrenada (inducida por  $\beta$ G) en la protección contra la pseudorrabia o enfermedad de Aujeszky (Wang et al., 2024). Estos autores no solo demostraron el papel del  $\beta$ G en la estimulación de IFN tipo 1 vía dectina-1, sino que también observaron un incremento en la respuesta de IgGs inducida por las vacunas frente a enfermedad de Aujeszky, síndrome respiratorio y reproductor y peste porcina clásica; resaltando el potencial de la vía oral como ruta de administración para  $\beta$ G al mejorar, entre otros aspectos, la ganancia de peso (Wang et al., 2024). Por el contrario, Ardali et al. evaluaron el efecto inmunomodulador del  $\beta$ G tras la vacunación frente a *Mycoplasma hyopneumoniae* (Hyogen<sup>®</sup>). Los autores no solo encontraron una ausencia de impacto de  $\beta$ G (procedente de *Schizophyllum commune*, administrado como adyuvante o por vía oral) en la estimulación

de inmunidad entrenada, si no que sugirieron que podría inducir un estado de supresión de la inmunidad natural (tolerancia) (Ardali et al., 2024). La dosis, la formulación o el origen del  $\beta$ G, así como ruta de administración son algunas de las variables que estos investigadores plantean para contextualizar los resultados obtenidos. En la misma línea, Byrne et al. observaron como el  $\beta$ G derivado de *S. cerevisiae* inducía un estado de tolerancia ante una re-estimulación con LPS (restricción en la respuesta de IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ ) en un modelo *in vitro* de monocitos porcinos. Por el contrario, la BCG viva indujo un entrenamiento en estos monocitos que se puso de manifiesto con una respuesta de citoquinas (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) aumentada tras la re-estimulación con LPS (Byrne et al., 2021). La Tabla 1 recoge los trabajos revisados en este tema en los últimos 5 años (2019-2024).

La BCG es precisamente el otro inmunomodulador más estudiado por excelencia en el campo de la inmunidad entrenada. En el caso de los cerdos, el número de

Tabla 1. Selección de artículos sobre inmunidad entrenada en cerdos empleando beta glucano de distintos orígenes publicados entre 2019 y 2024.

Origen del $\beta$ -glucano	Tipo de estudio	Modelo de estudio	Referencia
Algas	<i>In vivo</i>	Vacuna frente a peste porcina clásica y síndrome respiratorio y reproductor porcino en cerdos de 4 semanas	Chuaychu et al., 2024
producto comercial	<i>In vivo</i>	<i>Lawsonia intracellularis</i> en cerdos de 10 semanas	Rhayat et al., 2023
producto comercial	<i>In vivo</i>	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium en cerdos de 5 semanas	Bearson et al., 2023
producto comercial	<i>In vivo</i>	Vacuna viva atenuada de <i>Salmonella</i> vía oral en cerdos de 3 semanas	Loving et al., 2023
producto comercial	<i>In vivo</i>	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénico en cerdos de 3 semanas	Zhou et al., 2022
producto comercial	<i>In vitro</i>	Virus de la peste porcina africana usando macrófagos porcinos alveolares	Tran et al., 2022
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>In vivo</i>	Vacuna frente a peste porcina africana en cerdos de 30kg	Pornanek y Phoemchallard., 2020







Imagen de termografía infrarroja empleada para detección de individuos enfermos. Visavet-UCM.

estudios sobre la BCG y su capacidad para inducir una protección heteróloga es limitado. Uno de los primeros estudios fue el de Coe et al., quienes reportaron que la BCG inactivada no induce una protección adicional frente a *Salmonella typhimurium* ni a nivel clínico, colonización bacteriana, ni de su persistencia en órganos internos en cerdos de 8 semanas de edad privados de calostro (Coe et al., 1992). La inoculación de BCG un día antes al desafío con *Salmonella* serovar Typhimurium cepa 4/74 (SL1134), no tuvo efecto protector en los cerdos, es más, la ganancia de peso fue significativamente inferior al grupo control ( $p < 0.05$ ), similar a la que sucedió únicamente en los animales infectados con *S. Typhimurium* (Foster et al., 2016). El valor de la BCG en el campo de la inmunología porcina también se ha explorado como un sistema genético para expresar antígenos heterólogos, es decir, BCG recombinante, por ejemplo, para la expresión de la proteína M y GP5 del virus PRRS en modelo ratón (Bastos et al., 2002), capaz de inducir una protección parcial en condiciones experimentales (p.ej. disminuyen-

do la viremia y la carga viral a nivel de nódulos linfáticos bronquiales) (Bastos et al., 2004). Esta opción también se ha evaluado en ratones frente a peste porcina clásica, enfermedad de Aujeszky y glosopeda (Zhang et al., 2005) y en cerdos frente a *Taenia solium* (Guo et al., 2007) con resultados variables.

Además, se han evaluado otras micobacterias en el marco de estudios sobre inmunidad entrenada y enfermedades porcinas. Vaz-Rodríguez et al. mostraron que HIMB ("heat inactivated *Mycobacterium bovis*", inmunoestimulante basado en *Mycobacterium bovis* inactivado por calor) era capaz de inducir inmunidad entrenada en cerdos promoviendo una reducción de los signos clínicos y pérdida de peso tras la infección por *Salmonella* Cholerasuis, si bien no tuvo impacto a nivel de colonización tisular y excreción de patógeno (Vaz-Rodríguez et al., 2022). Por su parte, Jensen et al. evaluaron el efecto de una vacuna inactivada de *Mycobacterium paratuberculosis* sobre la protección frente a *Actinobacillus pleuropneumoniae* en cerdos de 2 días de vida (cuyas madres

también habían sido vacunadas tres semanas antes del parto). Los animales fueron desafiados aprox. 5-6 semanas tras la vacunación presentando una respuesta inflamatoria y un cuadro clínico ligeramente más exacerbado que animales control, tras ser infectados con una dosis de  $1 \times 10^9$  UFC/animal (el desafío con una dosis menor  $-1,5 \times 10^8$  UFC/animal no conllevó diferencias entre el grupo vacunados y control).

No obstante, a pesar de que la BCG protagoniza, junto con los  $\beta$ G, gran parte de los estudios sobre inmunidad entrenada en diferentes especies, su capacidad para inducir inmunidad entrenada en cerdos no ha sido debidamente demostrada (Byrne et al., 2020). En este escenario, el proyecto PID2020-112966RB-I00 (financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033), plantea el estudio de vacunas basadas en la inmunidad entrenada orientada a usar *Streptococcus suis* como modelo experimental para evaluar el potencial inmunomodulador de las micobacterias (incluyendo BCG) en el ganado porcino. Precisamente, la estrep-tococosis porcina, causada por *S. suis*, es una de las patologías de mayor relevancia en el sector porcino, ya que presenta una distribución mundial causando infecciones sistémicas (que cursan fundamentalmente con septicemia, meningitis, neumonía, artritis) desafiando el bienestar animal (esencialmente en lechones) y causando importantes pérdidas económicas (Segura et al., 2020), frente a la cual no existe una vacuna eficaz y universal hoy en día. La relevancia de este patógeno no solo se limita a la sanidad animal, ya que *S. suis* se considera un patógeno emergente en humanos cursando con procesos de diferente gravedad (septicemia, meningitis), incluso con desenlace fatal en ocasiones. Este pató-



geno es especialmente frecuente en Asia, donde se ha asociado con brotes de enfermedad en personas en China y Tailandia (Yu *et al.*, 2006; Brizuela *et al.*, 2023). La principal vía de transmisión a los humanos es el contacto directo con animales infectados y el consumo de productos crudos o poco cocinados de origen porcino (Lun *et al.*, 2007).

Una de las principales características de *S. suis*, que determina aspectos importantes de su diagnóstico, prevención y control (en particular, una protección cruzada limitada de las vacunas contra diferentes serotipos), es la heterogeneidad genética y fenotípica de los miembros de esta especie. A pesar de ser un patógeno bien conocido, existen aspectos importantes de la patogénesis causada por *S. suis* que aún no están claros, lo cual dificulta el desarrollo de estrategias profilácticas y de control efectivas. Además, en el caso de *S. suis* no sólo se ha detectado un aumento de la proporción de cepas resistentes a los antimicrobianos (RAM) (Hernández-García *et al.*, 2017), sino que también se ha demostrado su capacidad de transferencia horizontal de genes de RAM (Palmieri *et al.*, 2012). En este escenario, la vacunación de los animales se ha posicionado como una de herramienta esencial en el control de la patología en humanos, además de ser un arma necesaria en la lucha contra *S. suis* en el ganado porcino a nivel mundial. Por último, *S. suis* en cerdo representa el modelo ideal para la evaluación de la cooperación entre la inmunidad innata y adaptativa ya que ambos componentes del sistema inmunológico (monocitos, macrófagos, PMN, sistema del complemento, Th1 -citoquinas proinflamatorias - y Th2 -anticuerpos-) están involucrados en la patogénesis y en la protección del hospedador contra este patógeno, si bien existen im-

portantes dificultades en cuanto a la puesta a punto de este modelo experimental.

Los datos sobre la relevancia que el estímulo de inmunidad entrenada puede tener en el control de *S. suis* en cerdos se limitan a muy pocos estudios, por ejemplo, el de Dritz *et al.*, donde se evaluó la protección inducida en cerdos que recibieron una dieta con 0.025 o 0.05%  $\beta$ G y fueron desafiados con *S. suis* serotipo 2 por vía intravenosa ( $6,5 \times 10^8$  UFC). Estos investigadores observaron que los animales que mostraron un mejor índice de crecimiento - aquellos que recibieron la dieta con 0.025%  $\beta$ G, parecieran ser más susceptibles a la infección por *S. suis* que los animales que recibieron la dieta control (Dritz *et al.*, 1995). El proyecto PID2020-112966RB-I00 ha puesto de manifiesto hasta la fecha como las micobacterias pueden tener un impacto sobre la inmunidad natural frente a *S. suis* que se traduce, por ejemplo, en un estímulo de la producción de citoquinas proinflamatorias, pero no en un aumento de la capacidad fagocítica de las células del sistema innato. La formulación, la carga bacteriana, el número de dosis, la vía de administración o el modelo experimental son algunas de las variables decisivas en la capacidad de inducción de inmunidad entrenada en cerdos.

## Reflexiones finales

En un contexto de reducción del uso de antibióticos y la búsqueda de alternativas sostenibles, el estudio de la inmunidad natural en el contexto de la sanidad porcina se posiciona como un ámbito prometedora para abordar los retos emergentes en el control de enfermedades infecciosas. La posibilidad de mejorar la resistencia frente a un amplio abanico de amenazas infecciosas a través de la inducción de una respuesta inmune natural más

robusta mediante la estimulación de la inmunidad entrenada ofrece una herramienta complementaria a las vacunas tradicionales. Esto se traduce en una defensa mejorada no solo frente a patógenos conocidos, sino también contra microorganismos emergentes para los cuales no existen todavía vacunas eficaces (o viejos conocidos frente a los que aún no se han conseguido herramientas de uso universal).

La investigación actual ha revelado resultados prometedores sobre el uso de algunos compuestos como los  $\beta$ -glucanos y BCG en la modulación de la respuesta inmune. Sin embargo, la efectividad de estas estrategias depende de factores como la especie, el tipo de inductor y la vía de administración o la actividad de diferentes componentes del sistema inmune innato, subrayando la necesidad de avanzar en estudios que optimicen estas variables en el contexto porcino. Algunos moduladores inmunitarios pueden inducir tolerancia o incluso exacerbar la inflamación en casos específicos, como enfermedades autoinmunes o cardiovasculares, lo que resalta la importancia de una aplicación basada en conocimientos robustos en cada campo de estudio.

La expansión del conocimiento sobre la inmunidad entrenada en la sanidad animal podría contribuir significativamente a reducir la dependencia de los antibióticos, con implicaciones positivas para la salud pública, el bienestar animal y la sostenibilidad del sector porcino.

## Agradecimientos

El presente trabajo se ha realizado gracias a los fondos y conocimientos generados en el marco del proyecto PID2020-112966RB-I00 financiado por MCIN/AEI /10.13039/501100011033.



## Bibliografía

- Aaby P, Roth A, Ravn H, Napirna BM, Rodrigues A, Lisse IM, *et al.* Randomized trial of BCG vaccination at birth to low-birth-weight children beneficial nonspecific effects in the neonatal period? *J Infect Dis.* (2011) 204:245–52. doi: 10.1093/infdis/jir240
- Angulo M, Angulo C. Trained immunity against diseases in domestic animals. *Acta Trop.* 2022 May;229:106361. doi: 10.1016/j.actatropica.2022.106361.
- Ardali R, García-Nicolas O, Ollagnier C, Sánchez Carvajal JM, Levy M, Yvernault P, de Aboim Borges Fialho de Brito F, Summerfield A. Impact of oil-in-water adjuvanted  $\beta$ -Glucan on innate immune memory in Piglets. *Vaccines (Basel).* 2024 Aug 29;12(9):982. doi: 10.3390/vaccines12090982.
- Arts RJW, Carvalho A, La Rocca C, Palma C, Rodrigues F, Silvestre R, *et al.* Immunometabolic pathways in BCG-induced trained immunity. *Cell Rep.* (2016) 17:2562–71. doi: 10.1016/j.celrep.2016.11.011
- Arts, R. J. W., Joosten, L. A. B., & Netea, M. G. (2018). The potential role of trained immunity in autoimmune and autoinflammatory disorders. *Frontiers in immunology*, 9, 298. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00298>
- Bastos RG, Dellagostin OA, Barletta RG, Doster AR, Nelson E, Osorio FA. Construction and immunogenicity of recombinant *Mycobacterium bovis* BCG expressing GP5 and M protein of porcine reproductive respiratory syndrome virus. *Vaccine.* 2002 Nov 22;21(1-2):21-9. doi: 10.1016/s0264-410x(02)00443-7.
- Bastos RG, Dellagostin OA, Barletta RG, Doster AR, Nelson E, Zuckermann F, Osorio FA. Immune response of pigs inoculated with *Mycobacterium bovis* BCG expressing a truncated form of GP5 and M protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vaccine.* 2004 Jan 2;22(3-4):467-74. doi: 10.1016/s0264-410x(03)00572-3
- Bearson SMD, Trachsel JM, Bearson BL, Loving CL, Kerr BJ, Shippy DC, Kiros TG. Effects of  $\beta$ -glucan on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium swine colonization and microbiota alterations. *Porcine Health Manag.* 2023 Feb 14;9(1):7. doi: 10.1186/s40813-023-00302-4.
- Bekkering, S., van den Munckhof, I., Nielen, T., Lamfers, E., Dinarello, C., Rutten, J., de Graaf, J., Joosten, L. A., Netea, M. G., Gomes, M. E., & Riksen, N. P. (2016). Innate immune cell activation and epigenetic remodeling in symptomatic and asymptomatic atherosclerosis in humans *in vivo*. *Atherosclerosis*, 254, 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.019>
- Bekkering, S., Domínguez-Andrés, J., Joosten, L. A. B., Riksen, N. P., & Netea, M. G. (2021). Trained Immunity: Reprogramming Innate Immunity in Health and Disease. *Annual review of immunology*, 39, 667–693. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-102119-073855>
- Brizuela J, Kajeekul R, Roodsant TJ, Riwoad A, Boueroy P, Pattanapongpaibool A, Thaipadungpanit J, Jenjaroenpun P, Wongsurawat T, Batty EM, van der Putten BCL, Schultsz C, Kerdsin A. *Streptococcus suis* outbreak caused by an emerging zoonotic strain with acquired multi-drug resistance in Thailand. *Microb Genom.* 2023 Feb;9(2):mgen000952. doi: 10.1099/mgen.0.000952.
- Byrne KA, Loving CL and McGill JL (2020) Innate immunomodulation in food animals: evidence for trained immunity? *Front. Immunol.* 11:1099. doi: 10.3389/fimmu.2020.01099
- Chan LC, Rossetti M, Miller LS, Filler SG, Johnson CW, Lee HK, Wang H, Gjertson D, Fowler VG Jr, Reed EF, Yeaman MR; MRSA Systems Immunobiology Group. Protective immunity in recurrent *Staphylococcus aureus* infection reflects localized immune signatures and macrophage-conferred memory. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018 Nov 20;115(47):E11111-E11119. doi: 10.1073/pnas.1808353115.
- Chethan GE, Garkhal J, Sircar S, Malik YPS, Mukherjee R, Sahoo NR, Agarwal RK, De UK. Immunomodulatory potential of  $\beta$ -glucan as supportive treatment in porcine rotavirus enteritis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2017 Sep;191:36-43. doi: 10.1016/j.vetimm.2017.07.012.
- Chuaychu SB, Sirisereewan C, Techakriengkrai N, Tummaruk P, Thanawongnuwech R, Nedumpun T. Enhancement of systemic virus-specific T lymphocyte responses in pigs supplemented with algae-derived  $\beta$ -glucan. *Vet J.* 2024 Aug;306:106182. doi: 10.1016/j.tvjl.2024.106182.
- Coe NE, Frank DE, Wood RL, Roth JA. Alteration of neutrophil function in BCG-treated and non-treated swine after exposure to *Salmonella typhimurium*. *Vet Immunol Immunopathol.* 1992 Jun;33(1-2):37-50. doi: 10.1016/0165-2427(92)90033-m.
- Dagenais A, Villalba-Guerrero C and Olivier M (2023) Trained immunity: A “new” weapon in the fight against infectious diseases. *Front. Immunol.* 14:1147476. doi: 10.3389/fimmu.2023.1147476
- de la Fuente J, Armas O, Sánchez-Rodríguez L, Gortázar C, Lukashev AN; COVID-BCG Collaborative Working Group. Citizen science initiative points at childhood BCG vaccination as a risk factor for COVID-19. *Transbound Emerg Dis.* 2021 Nov;68(6):3114-3119. doi: 10.1111/tbed.14097.
- Dritz, S. S., Shi, J., Kielian, T. L., Goodband, R. D., Nelssen, J. L., Tokach, M. D., Chengappa, M. M., Smith, J. E., & Blecha, F. (1995). Influence of dietary beta-glucan on growth performance, nonspecific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs. *Journal of animal science*, 73(11), 3341–3350. <https://doi.org/10.2527/1995.73113341x>
- Foster N, Richards L, Higgins J, Kanellos T, Barrow P. Oral vaccination with a rough attenuated mutant of *S. Infantis* increases post-wean weight gain and prevents clinical signs of salmonellosis in *S. Typhimurium* challenged pigs. *Res Vet Sci.* 2016 Feb;104:152-9. doi: 10.1016/j.rvsc.2015.12.013.



- Funes SC, Ríos M, Fernández-Fierro A, Di Genaro MS, Kalergis AM. Trained immunity contribution to autoimmune and inflammatory disorders. *Front Immunol.* 2022 Apr 8;13:868343. doi: 10.3389/fimmu.2022.868343. PMID: 35464438; PMCID: PMC9028757.
- Gu H, Zeng X, Peng L, Xiang C, Zhou Y, Zhang X, Zhang J, Wang N, Guo G, Li Y, Liu K, Gu J, Zeng H, Zhuang Y, Li H, Zhang J, Zhang W, Zou Q, Shi Y (2021). Vaccination induces rapid protection against bacterial pneumonia via training alveolar macrophage in mice. *eLife*, 10, e69951. <https://doi.org/10.7554/eLife.69951>
- Guo YJ, Wu D, Wang KY, Sun SH. Adjuvant effects of bacillus Calmette-Guerin DNA or CpG-oligonucleotide in the immune response to *Taenia solium* cysticercosis vaccine in porcine. *Scand J Immunol.* 2007 Dec;66(6):619-27. doi: 10.1111/j.1365-3083.2007.02013.x.
- Hernandez-García J, Wang J, Restif O, Holmes MA, Mather AE, Weinert LA, Wileman TM, Thomson JR, Langford PR, Wren BW, Rycroft A, Maskell DJ, Tucker AW; BRADP1T Consortium. Patterns of antimicrobial resistance in *Streptococcus suis* isolates from pigs with or without streptococcal disease in England between 2009 and 2014. *Vet Microbiol.* 2017 Aug;207:117-124. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.06.002.
- Hervet C, Bussy F, Le Goff C, Ménard D, Collén PN, Goff ML, Meurens F, Bertho N. Marine-sulfated polysaccharides extracts exhibit contrasted time-dependent immunomodulatory and antiviral properties on porcine monocytes and alveolar macrophages. *Animals (Basel).* 2022 Sep 27;12(19):2576. doi: 10.3390/ani12192576.
- Jensen KJ, Hansen MS, Heegaard PMH, Benn CS, Jungersen G. The Effect of Inactivated *Mycobacterium paratuberculosis* Vaccine on the Response to a Heterologous Bacterial Challenge in Pigs. *Front Immunol.* 2019 Jul 5;10:1557. doi: 10.3389/fimmu.2019.01557.
- Jung K, Ha Y, Ha SK, Han DU, Kim DW, Moon WK, Chae C. Antiviral effect of *Saccharomyces cerevisiae* beta-glucan to swine influenza virus by increased production of interferon-gamma and nitric oxide. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2004 Mar;51(2):72-6. doi: 10.1111/j.1439-0450.2004.00732.x.
- Kaur G., Singh S., Nanda S., Zafar M.A., Malik J.A., Arshi M.U., Lamba T., Agrewala J.N., Fiction and facts about BCG imparting trained immunity against COVID-19, *Vaccines (Basel).* (2022) 10.
- Kaufmann E., Khan N., Tran K.A., UIndreaj A., Pernet E., Fontes G., Lupien A., Desmeules P., McIntosh F., Abow A., Moorlag S., Debisarun P., Mossman K., Banerjee A., Karo-Atar D., Sadeghi M., Mubareka S., Vinh D.C., King I.L., Robbins C.S., Behr M.A., Netea M.G., Joubert P., Divangahi M., BCG vaccination provides protection against IAV but not SARS-CoV-2, *Cell Rep.* (2022) 38:110502.
- Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, Joosten LA, Ifrim DC, Saeed S, et al. Bacille Calmette-Guérin induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* (2012) 109:17537–42. doi: 10.1073/pnas.1202870109
- Leentjens J, Kox M, Stokman R, Gerretsen J, Diavatopoulos DA, van Crevel R, Rimmelzwaan GF, Pickkers P, Netea MG. BCG vaccination enhances the immunogenicity of subsequent influenza vaccination in healthy volunteers: A randomized, placebo-controlled pilot Study. *J Infect Dis.* 2015 Dec 15;212(12):1930-8. doi: 10.1093/infdis/jiv332.
- Li J, Li DF, Xing JJ, Cheng ZB, Lai CH. Effects of beta-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J Anim Sci.* 2006 Sep;84(9):2374-81. doi: 10.2527/jas.2004-541
- Lin X-Q, Liu Z-Z, Zhou C-K, Zhang L, Gao Y, Luo X-Y, et al. (2024) Trained immunity in recurrent *Staphylococcus aureus* infection promotes bacterial persistence. *PLoS Pathog* 20(1): e1011918
- Liu, Y., Liang, S., Ding, R., Hou, Y., Deng, F., Ma, X., Yan, D., 2020. BCG-induced trained immunity in macrophage: reprogramming of glucose metabolism: BCG-induced trained immunity by enhanced glycolysis and glutamine-driven tricarboxylic acid cycle in macrophage. *Int. Rev. Immunol.* 398 (3), 83–96. <https://doi.org/10.1080/08830185.2020.1712379>.
- Loving CL, Bearson SMD, Bearson BL, Kerr BJ, Kiros TG, Shippy DC, Trachsel JM. Effect of dietary  $\beta$ -glucan on intestinal microbial diversity and *Salmonella* vaccine immunogenicity and efficacy in pigs. *Vet Microbiol.* 2023 Mar;278:109648. doi: 10.1016/j.vetmic.2022.109648.
- Lun, Z. R., Q. P. Wang, X. G. Chen, A. X. Li, and X. Q. Zhu. 2007. *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen, *Lancet Infect Dis*, 7: 201-9.
- Mayr A. Taking advantage of the positive side-effects of smallpox vaccination. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* (2004) 51:199–201. doi: 10.1111/j.1439-0450.2004.00763.x
- Mitroulis, I., Ruppova, K., Wang, B., Chen, L.S., Grzybek, M., Grinenko, T., Chavakis, T., 2018. Modulation of myelopoiesis progenitors is an integral component of trained immunity. *Cell* 172 (1–2), 147–161. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.11.034>.
- Mora, V. P., Loaiza, R. A., Soto, J. A., Bohmwald, K., & Kalergis, A. M. (2023). Involvement of trained immunity during autoimmune responses. *Journal of autoimmunity*, 137, 102956. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2022.102956>
- Netea, M.G., Quintin, J., Van Der Meer, J.W., 2011. Trained immunity: a memory for innate host defense. *Cell Host Microbe* 9 (5), 355–361. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.04.006>.
- Netea MG, Domínguez-Andrés J, Barreiro LB, Chavakis T, Divangahi M, Fuchs E, Joosten LAB, van der Meer JWM, Mhlanga MM, Mulder WJM, Riksen NP, Schlitzer A, Schultze JL, Stabel Benn C, Sun JC, Xavier RJ, Latz E (2020) Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nat Rev Immunol* 20:375–388. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0285-6>

- Ochando, J., Mulder, W. J. M., Madsen, J. C., Netea, M. G., & Duivenvoorden, R. (2023). Trained immunity - basic concepts and contributions to immunopathology. *Nature reviews. Nephrology*, 19(1), 23–37. <https://doi.org/10.1038/s41581-022-00633-5>
- Palmieri C, Magi G, Mingoia M, Bagnarelli P, Ripa S, Valardo PE, Facinelli B. Characterization of a *Streptococcus suis* tet(O/W/32/O)-carrying element transferable to major streptococcal pathogens. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012 Sep;56(9):4697-702. doi: 10.1128/AAC.00629-12.
- Pornanek P, Phoemchalard C. Dietary supplementation of beta-glucan-rich molasses yeast powder on antibody response to swine fever virus and hematology of starter-grower pigs. *Trop Anim Health Prod*. 2020 Nov 24;53(1):43. doi: 10.1007/s11250-020-02431-2.
- Rhayat L, Even G, Kiroos TG, Kuhn G, Lebrun-Ruer S, Audebert C, Schulthess J (2023) The effect of yeast-derived  $\beta$ -glucans in reducing the adverse outcome of *Lawsonia intracellularis* in finishing pigs. *Front. Anim. Sci.* 4:1245061. doi: 10.3389/fanim.2023.1245061
- Saeed, S., Quintin, J., Kerstens, H. H., Rao, N. A., Aghajani-refah, A., Matarese, F., Cheng, S. C., Ratter, J., Berentsen, K., van der Ent, M. A., Sharifi, N., Janssen-Megens, E. M., Ter Huurne, M., Mandoli, A., van Schaik, T., Ng, A., Burden, F., Downes, K., Frontini, M., Kumar, V., ... Stunnenberg, H. G. (2014). Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6204), 1251086. <https://doi.org/10.1126/science.1251086>
- Sánchez-Morales L, Porras N, García-Seco T, Pérez-Sancho M, Cruz F, Chinchilla B, Barroso-Arévalo S, Díaz-Frutos M, Buendía A, Moreno I, Briones V, Rivalde MLÁ, de la Fuente J, Juste R, Garrido J, Balseiro A, Gortázar C, Rodríguez-Bertos A, Domínguez M, Domínguez L. Neuropathological lesions in intravenous BCG-stimulated K18-hACE2 mice challenged with SARS-CoV-2. *Vet Res*. 2024 May 31;55(1):71. doi: 10.1186/s13567-024-01325-7.
- Segura, M.; Aragon, V.; Brockmeier, S.L.; Gebhart, C.; de Greeff, A.; Kerdsin, A.; O'Dea, M.A.; Okura, M.; Saléry, M.; Schultsz, C.; et al. Update on *Streptococcus suis* research and prevention in the era of antimicrobial restriction: 4th International Workshop on *S. suis*. *Pathogens* 2020, 9, 374.
- Singh A.K., Wang R., Lombardo K.A., Praharaaj M., Bullen C.K., Um P., Gupta M., Srikrishna G., Davis S., Komm O., Illei P.B., Ordonez A.A., Bahr M., Huang J., Gupta A., Psoter K.J., Creisher P.S., Li M., Pekosz A., Klein S.L., Jain S.K., Bivalacqua T.J., Yegnasubramanian S., Bishai W.R., Intravenous BCG vaccination reduces SARS-CoV-2 severity and promotes extensive reprogramming of lung immune cells, *iScience*. (2023) 26:107733.
- Stuyven E, Cox E, Vancaeneghem S, Arnouts S, Deprez P, Goddeeris BM. Effect of beta-glucans on an ETEC infection in piglets. *Vet Immunol Immunopathol*. 2009 Mar 15;128(1-3):60-6. doi: 10.1016/j.vetimm.2008.10.311
- Stuyven E, Van den Broeck W, Nauwynck H, Goddeeris BM, Cox E. Oral administration of beta-1,3/1,6-glucan Macrogard fails to enhance the mucosal immune response following oral F4 fimbrial immunisation in gnotobiotic pigs. *Vet Immunol Immunopathol*. 2010 Oct 15;137(3-4):291-7. doi: 10.1016/j.vetimm.2010.05.007.
- Tran HTT, Truong AD, Chu NT, Vu HN, Nguyen HT, Nguyen T, Siti F, Lee H, Leon A, Yersin AG, Dang HV. Inhibition of African swine fever virus replication by  $\beta$ -glucan. *Open Vet J*. 2022 Nov-Dec;12(6):1027-1034. doi: 10.5455/OVJ.2022.v12.i6.31.
- Vaz-Rodrigues, R., E. Ferreras-Colino, M. Ugarte-Ruiz, M. Pesciaroli, J. Thomas, T. García-Seco, I. A. Sevilla, M. Pérez-Sancho, R. Mateo, L. Domínguez, C. Gortazar, and M. A. Rivalde. 2022. Nonspecific protection of heat-inactivated *Mycobacterium bovis* against *Salmonella Choleraesuis* infection in pigs, *Vet Res*, 53: 31.
- Vetvicka V, Vannucci L, Sima P. The Effects of  $\beta$ -Glucan on Pig Growth and Immunity. *Open Biochem J*. 2014 Nov 1;8:89-93. doi: 10.2174/1874091X01408010089
- Wang J, Jin X, Yan S, Zhao H, Pang D, Ouyang H, Tang X. Yeast  $\beta$ -glucan promotes antiviral type I interferon response via dectin-1. *Vet Microbiol*. 2024 Aug;295:110107. doi: 10.1016/j.vetmic.2024.110107.
- Xiao, Z., Trincado, C. A., & Murtaugh, M. P. (2004). Beta-glucan enhancement of T cell IFN gamma response in swine. *Veterinary immunology and immunopathology*, 102(3), 315–320. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.09.013>
- Xu W, Yuan Y, Shu Z, Guo T, Liu B, Xiao J, Li L, Yin Y, Zhang X. *Streptococcus pneumoniae* endopeptidase O induces trained immunity and confers protection against various pathogenic infections. *Clin Immunol*. 2024 Jun;263:110226. doi: 10.1016/j.clim.2024.110226.
- Yu H, Jing H, Chen Z, Zheng H, Zhu X, et al. Human *Streptococcus suis* outbreak, Sichuan, China. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:914–920. doi: 10.3201/eid1206.051194
- Zhang S, Guo YJ, Sun SH, Wang KY, Wang KH, Zhang Y, Zhu WJ, Chen ZH, Jiang L. DNA vaccination using bacillus Calmette-Guerin-DNA as an adjuvant to enhance immune response to three kinds of swine diseases. *Scand J Immunol*. 2005 Oct;62(4):371-7. doi: 10.1111/j.1365-3083.2005.01674.x.
- Zhou Y, Luo Y, Yu B, Zheng P, Yu J, Huang Z, Mao X, Luo J, Yan H, He J. *Agrobacterium* sp. ZX09  $\beta$ -Glucan attenuates enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced disruption of intestinal epithelium in weaned Pigs. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 7;23(18):10290. doi: 10.3390/ijms231810290.