



MICROBIOTA Y PESTE PORCINA AFRICANA: UNA PIEZA MÁS QUE AÑADIR AL PUZLE

El trasplante de microbiota fecal de animales salvajes a domésticos abre una nueva puerta a la investigación de nuevos mecanismos de protección frente a múltiples enfermedades.

Florencia Correa Fiz y Fernando Rodríguez

IRTA, Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA, IRTA), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, Barcelona, Spain. OIE Collaborating Centre for the Research and Control of Emerging and Re-emerging Swine Diseases in Europe (IRTA-CReSA), Bellaterra, Barcelona, Spain
Imágenes cedidas por los autores

Todos aquellos microorganismos que viven en una relación simbiótica con su huésped se definen como microbiota. Aunque se ha demostrado la existencia de comunidades microbianas especializadas como residentes en las fosas nasales, en las amígdalas, en la vagina o en la piel, entre otros órganos, la mayor parte de los microorganismos que se alojan habitualmente en el cuerpo de los mamíferos se localizan en el tracto digestivo. A pesar de que desde una perspectiva más tradicional los microorganismos han sido siempre descritos como patógenos, la realidad actual demuestra que la gran mayoría de las bacterias que habitan el intestino no son patogénicas, sino capaces de cohabitar con las propias células intesti-

nales favoreciéndose ambas de su coexistencia (simbiosis). En este sentido, la microbiota digestiva ha demostrado ser esencial no solo en la digestión, sino que además desempeña un papel esencial en otros muchos procesos fisiológicos que influyen tanto en el sistema nervioso central (el denominado eje cerebro intestinal), como en el mantenimiento de la integridad estructural de la mucosa de la barrera intestinal y en la maduración y función del sistema inmunitario (figura 1). El sistema inmunitario ha evolucionado conjuntamente con la microbiota del organismo para vivir en una relación simbiótica, optimizando así sus probabilidades de lucha contra microorganismos patógenos invasivos y la supervivencia del huésped¹.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

La composición de la microbiota intestinal puede considerarse como estable durante la vida adulta, a pesar de la existencia de cambios temporales y espaciales

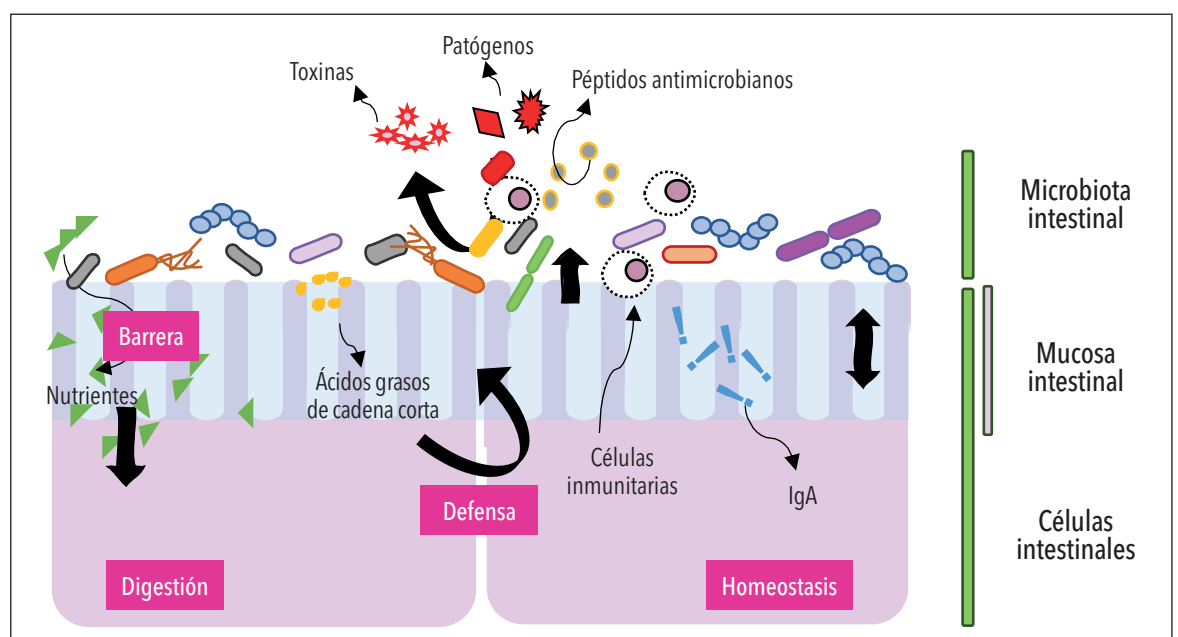


FIGURA 1. La microbiota intestinal interviene en procesos fisiológicos como la digestión, pero también es capaz de interactuar con el sistema inmunitario del huésped a través de una red de interacciones complejas con la mucosa intestinal, protegiendo contra patógenos y ayudando en el mantenimiento de la homeostasis.

en su distribución desde el esófago al recto a lo largo de la vida de un individuo. En el cerdo, el intestino de los neonatos pasa de un estado libre de microorganismos (en su estado fetal), a ser colonizado por una red densa de poblaciones microbianas en los primeros días de vida². Estos colonizadores tempranos son claves en el establecimiento de una microbiota permanente que determinará la salud y el crecimiento de los lechones durante las distintas etapas de su vida. Aun así, existen otra serie de momentos críticos que acaban perfilando la microbiota del adulto, siendo el destete probablemente uno de los más importantes.

La separación de los lechones de sus madres provoca cambios fisiológicos dramáticos en la estructura y función del intestino que dan lugar, en numerosas ocasiones, a desequilibrios intestinales (disbiosis). Los cambios a una dieta más compleja, junto con el estrés que suponen los traslados habituales, llevan a la exposición a nuevas especies bacterianas². Es en este momento donde el establecimiento de las comunidades microbianas beneficiosas resulta clave, ya que el sistema inmunitario inmaduro del lechón deja de estar protegido por la inmunidad conferida por la leche materna y es susceptible de ser colonizado por patógenos oportunistas³.

La separación de los lechones de sus madres provoca cambios fisiológicos dramáticos en la estructura y función del intestino que dan lugar, en numerosas ocasiones, a desequilibrios intestinales (disbiosis).

Finalmente, la estabilidad en la microbiota que se alcanza en la edad adulta puede verse alterada en determinadas condiciones patológicas o tratamientos antibióticos, dando lugar a un estado de disbiosis que se ha asociado con diferentes enfermedades de origen digestivo, pero también con patologías sistémicas en las granjas^{4,5}.

Entre aquellos factores que pueden impactar directamente la composición de la microbiota intestinal, se encuentra además el medioambiente en el que los animales son criados (figura 2). Un caso particular que demuestra la importancia del medioambiente y la exposición a microorganismos son los animales criados en un ambiente controlado libre de patógenos específicos o animales SPF (del inglés, *specific pathogen free*). Si bien estos animales resultan de

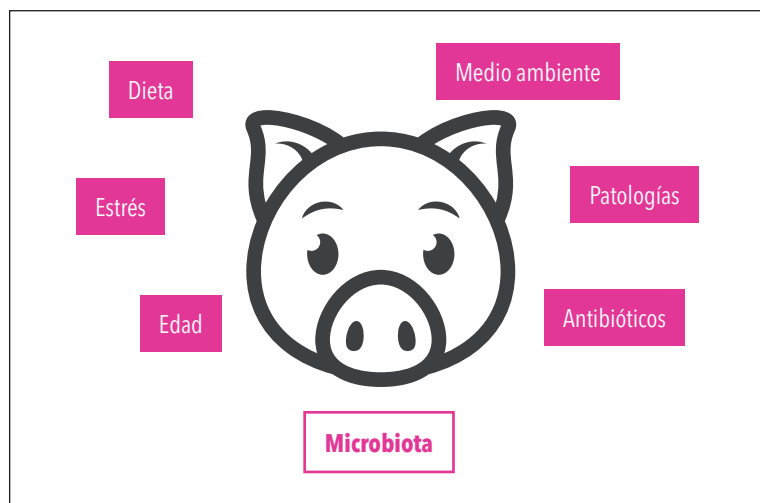


FIGURA 2. Factores más importantes que intervienen en el desarrollo de la microbiota intestinal a lo largo de la vida del cerdo.

enorme utilidad como modelos de xenotransplante a humanos o para investigar y/o ensayar vacunas frente a patógenos presentes de manera endémica en una determinada área, no dejan de ser modelos alejados de la realidad de una granja convencional, sometida a múltiples agresiones externas que modelan la microbiota y contribuyen a madurar el sistema inmunitario de los lechones.

INFLUENCIA DE LA MICROBIOTA EN LA RESISTENCIA A LA PESTE PORCINA AFRICANA

Resultados obtenidos, entre otros, en el laboratorio de los autores han demostrado de manera definitiva que los cerdos SPF son mucho más susceptibles a la infección con determinados patógenos, incluidos la peste porcina africana (PPA). Así, cepas atenuadas del virus de la PPA (VPPA) totalmente inocuas para cerdos crecidos en granjas comerciales normales, resultan letales para cerdos SPF que comparten la misma genética, demostrando definitivamente que la PPA, además de un componente genético, está influenciada por el medio ambiente⁶.

La PPA es una enfermedad hemorrágica de origen vírico que afecta a jabalíes y cerdos domésticos (*Sus scrofa*), que puede alcanzar tasas de mortalidad cercanas al 100 %, con consecuencias devastadoras para la industria porcina. Esta enfermedad ha permanecido endémica en el continente africano, donde cerdos salvajes africanos (facóqueros, por ejemplo) son resistentes, aunque capaces de transmitir el virus, generalmente utilizando garrapatas del género *Ornithodoros* como mediador. La ausencia de tratamientos o vacunas disponibles dificulta enormemente su control hasta el punto de que, tras su última reentrada en Europa a través de Georgia en el año 2007, el virus se ha ex-



pandido hacia el Oeste, llegando a la Unión Europea en el año 2012 y hacia el Este, hasta alcanzar China en 2018. A día de hoy, la PPA afecta a numerosos países de África, Europa, Asia y Oceanía, convirtiéndose en la amenaza número uno para la industria porcina global.

La diferente susceptibilidad a la PPA observada en cerdos domésticos o jabalíes (ambos *Sus scrofa*) y los cerdos salvajes africanos (especies de cerdos que no pertenecen al género *Sus*), se debe muy probablemente en gran medida a diferencias genéticas entre las diferentes especies de cerdos. Sin embargo, el papel del medioambiente en esta resistencia, como se acaba de describir para el caso de los cerdos SPF, no debería ser descartado, como demuestran las evidencias científicas obtenidas en el laboratorio y que a continuación se resumen.

Poniendo en conjunto todas estas evidencias, el grupo de investigación de los autores se propuso identificar si la microbiota intestinal, cuya composición depende esencialmente de estos mismos factores: genética y medio ambiente, podría estar involucrada en la resistencia diferencial a la PPA que se observa para cada uno de estos grupos de animales.

¿POR QUÉ LA MICROBIOTA INTESTINAL?

La relación existente entre una microbiota intestinal diversa y salud, así como la relación entre enfermedad y disbiosis en esta misma microbiota está más

que demostrada. Partiendo de esta premisa, el laboratorio, en colaboración con investigadores nacionales y extranjeros, realizó un estudio comparativo de la diversidad de la microbiota intestinal de cerdos de distintas especies criados en ambientes distintos. Ratificando la hipótesis de partida, los cerdos SPF mostraron una microbiota intestinal menos diversa que la de los criados convencionalmente en granja⁷. Asimismo, y como cabía esperar, la composición de la microbiota fecal de facóqueros salvajes africanos y de facóqueros criados en cautividad (ambos resistentes a PPA), compartía diversos grupos de bacterias reflejando un mismo origen genético, mientras que otros grupos de bacterias eran diferentes, lo que refleja las diferencias adquiridas por el medioambiente (figura 3).

Estos datos permitieron plantear un arriesgado experimento de trasplante fecal de facóqueros (resistentes a la PPA) a cerdos domésticos (sensibles a PPA), en un intento de ratificar de manera definitiva, el papel de la microbiota en la resistencia a PPA.

TRASPLANTE FEÇAL DE FACÓQUEROS A CERDOS DOMÉSTICOS

La transferencia de microorganismos vivos a través de la dieta es una práctica habitual desde hace siglos. La organización mundial de la salud (OMS) define a los probióticos como aquellos organismos vivos que, al ser administrados en cantidades

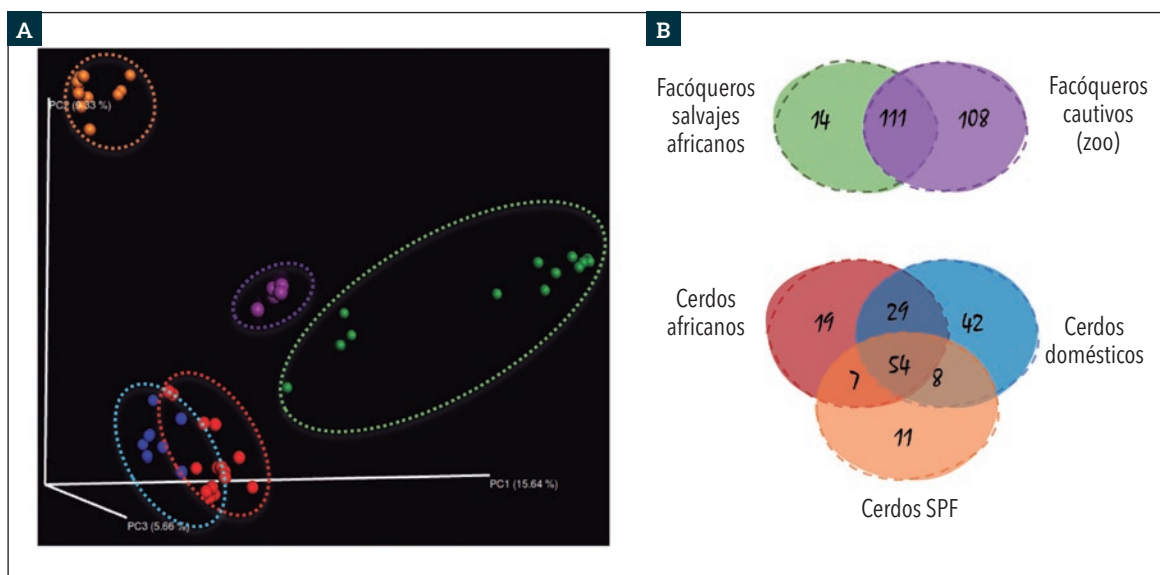


FIGURA 3. Comparación de la composición de la microbiota intestinal de facóqueros y cerdos con diferentes orígenes. En el análisis de coordenadas principales (A) cada esfera representa el total de la composición de la microbiota intestinal de distintos animales coloreadas según al grupo al que pertenecen. La distancia entre las esferas es proporcional a la similitud en la composición. El número de géneros bacterianos que componen cada grupo de animales estudiado se compara entre animales de la misma especie utilizando diagramas de Venn (B) que permiten ver las diferencias entre el número de taxones compartidos, así como los que son exclusivos de cada grupo analizado. Cerdos SPF: Cerdos libres de patógenos específicos.

adecuadas, son capaces de conferir beneficios a la salud del huésped. Una de las estrategias más antiguas utilizadas en medicina humana y veterinaria consiste en la administración de la totalidad del material fecal con el objeto de transferir los probióticos residentes, el llamado trasplante de microbiota fecal (FMT, del inglés *fecal microbiota transplantation*). El FMT ha surgido como una herramienta rápida y efectiva para modificar la microbiota intestinal para el tratamiento de diversas enfermedades, con resultados muy prometedores. Haciendo uso de esta herramienta, se evaluó el papel de la microbiota fecal del facóquero frente a la PPA al ser transferida a cerdos domésticos.

Se estableció un modelo para realizar el FMT de heces recolectadas de facóqueros criados en el zoo de Barcelona a cerdos domésticos en el momento del destete⁸. Tras el FMT de heces de facóqueros a cerdos domésticos, la microbiota intestinal de los cerdos receptores incrementó su diversidad, no se observó ningún efecto nocivo para el animal trasplantado e incluso se mostró una tendencia (no significativa estadísticamente) a ganar más peso que los animales control sin trasplantar y que los animales trasplantados con heces de cerdo doméstico, al menos durante las cuatro semanas de observación.

En un intento de reproducir los resultados descritos con cerdos SPF, los animales trasplantados, bien con heces de cerdos domésticos (como control) o bien con heces de facóqueros, se infectaron experimentalmente con una cepa atenuada del VPPA y tanto los signos clínicos como la carga viral se siguió a lo largo del tiempo. Los resultados de este estudio demostraron que únicamente el trasplante de heces de facóquero confería resistencia frente a la cepa atenuada del VPPA, y se observó un único animal dentro de este grupo que desarrollaba síntomas y cargas virales con las del grupo control (trasplantado con heces de cerdo doméstico). El hecho de que este animal fuera el único con una microbiota intestinal totalmente distinta a la del resto de los animales resistentes de su mismo grupo, confirma aún más el efecto de la microbiota intestinal en la susceptibilidad a la PPA.

El hecho de que los efectos del trasplante fecal (intra-gástrico) no solo mejorara la respuesta inmunológica general de mucosas, sino que además esta se reflejara a nivel sistémico con el aumento de los niveles de IgA total detectables en el suero de los animales trasplantados, permite explicar la protección observada tras la inoculación intramuscular del VPPA y permite ser optimista en lo que se refiere a futuros experimentos de protección infectando a los animales de forma más fisiológica: intranasal, oral, por contacto. ●

NUEVAS PERSPECTIVAS DE FUTURO

Este estudio ha abierto a su vez nuevas puertas para la investigación de estos microorganismos que se alojan en las heces de animales salvajes y los potenciales mecanismos involucrados en la protección conseguida no solo contra PPA, sino, por qué no, frente a enfermedades causadas por otros organismos. Sabemos que dentro de esta plétora de microorganismos que habitan las heces de facóqueros no solo hay bacterias, sino también hongos y parásitos, entre otros, que deberán ser foco de nuevos estudios. Los datos preliminares permiten adelantar que ciertas bacterias o géneros bacterianos aislados de heces de facóqueros presentan propiedades únicas que podrían ayudar en la lucha contra microorganismos de forma muy diversa y utilizando mecanismos todavía por esclarecer: mejorando la viabilidad y la fisiología intestinal, actuando directamente como microbicidas contra bacterias patológicas o, cómo no, actuando como inmunoestimuladores que refuerzan el sistema inmunitario de mucosas y sistémicas en cerdos e incluso en otras especies. La inminente y progresiva reducción de antibióticos que hay que acometer en nuestra ganadería da la bienvenida a esta o a cualquier otra estrategia efectiva que permita aventurar futuras alternativas a los antibióticos de forma segura.

REFERENCIAS

- Zheng, D., Liwinski, T. & Elinav, E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research* 30, 492-506 (2020).
- Guevarra, R. B., Lee, J. H., Lee, S. H., Seok, M. J., Kim, D. W., Kang, B. N., Johnson, T. J., Isaacson, R. E. & Kim, H. B. Piglet gut microbial shifts early in life: causes and effects. *J Anim Sci Biotechnol* 10 (2019).
- Castillo, M., Martín-Orúe, S. M., Nofrarías, M., Manzanilla, E. G. & Gasa, J. Changes in caecal microbiota and mucosal morphology of weaned pigs. *Vet Microbiol* 124, 239-247 (2007).
- Niederwerder, M. C., Constance, L.A., Rowland, R. R., Abbas, W., Fernando, S. C., Potter, M. L., Sheahan, M. A., Burkley, T. E., Hesse, R. A. & Cino-Ozuna, A. G. Fecal Microbiota Transplantation Is Associated With Reduced Morbidity and Mortality in Porcine Circovirus Associated Disease. *Front Microbiol* 9, 1631 (2018).
- Niederwerder, M. C. Role of the microbiome in swine respiratory disease. *Veterinary Microbiology* 209, 97-106 (2017).
- Lacasta, A., Ballester, M., Monteagudo, P. L., Rodríguez, J. M., Salas, M. L., Accensi, F., Pina-Pedrero, S., Bensaid, A., Argilagué, J., López-Soria, S., Hutet, E., Le Potier, M. F. & Rodríguez, F. Expression Library Immunization Can Confer Protection against Lethal Challenge with African Swine Fever Virus. *Journal of Virology* 88, 13322-13332 (2014).
- Correa-Fiz, F., Blanco-Fuertes, M., Navas, M. J., Lacasta, A., Bishop, R.P., Githaka, N., Onzere, C., Le Potier, M.F., Almagro-Delgado, V., Martínez, J., Aragón, V. & Rodríguez, F. Comparative analysis of the fecal microbiota from different species of domesticated and wild suids. *Scientific Reports* 9, 13616 (2019).
- Zhang, J., Rodríguez, F., Navas, M. J., Costa-Hurtado, M., Almagro, V., Bosch-Camós, L., López, E., Cuadrado, R., Accensi, F., Pina-Pedrero, S., Martínez, J. & Correa-Fiz, F. Fecal microbiota transplantation from warthog to pig confirms the influence of the gut microbiota on African swine fever susceptibility. *Scientific Reports* 10, 17605 (2020).