



Marcelo Gottschalk

DVM, Dr. Microbiología. Profesor en la Universidad de Montreal

Cómo diagnosticar y controlar **APP**

Poner
patro





Es DVM y tiene un doctorado en Microbiología e Inmunología de la Universidad de Montreal, Canadá. Actualmente es profesor en el Departamento de Patología y Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Montreal.

Creó el Centro de Investigación Porcina en Québec y es el director del laboratorio internacional sobre Streptococcus suis.

Sus investigaciones se basan principalmente en el estudio de los factores de virulencia bacteriana, respuesta del huésped, así como el desarrollo de herramientas de diagnóstico y vacunas para los patógenos de importancia veterinaria y zoonosis.

Como diagnosticar y controlar App

Profesor M. Gottschalk, DVM, PhD

**Facultad de Medicina Veterinaria
Universidad de Montreal, Canada**



Centre de Recherche en
Infectiologie Porcine et Avicole

Swine and Poultry Infectious
Diseases Research Center



Université 
de Montréal

Actinobacillus pleuropneumoniae (App)

- Tres principales tipos de infección
 - Aguda: alta mortalidad; “outbreak” vs “non-outbreak”
 - Crónica: pérdidas económicas; lesiones en matadero
 - Subclínica: muchas veces no hay indicación clínica o patológica de la infección
- Todavía muy importante: Latinoamérica, Europa, Asia
- Pérdidas en EU: 200 millones de Euros/año
- Relativamente bien controlada en USA y Canadá
 - En esos dos países, \$\$ y esfuerzo:
 - Mantener las granjas libres de App o cepas virulentas de App
 - Controlar las granjas de reproductores para asegurarse la ausencia de cepas o, al menos, de cepas virulentas (serología)

Toxinas producidas por distintas cepas de App

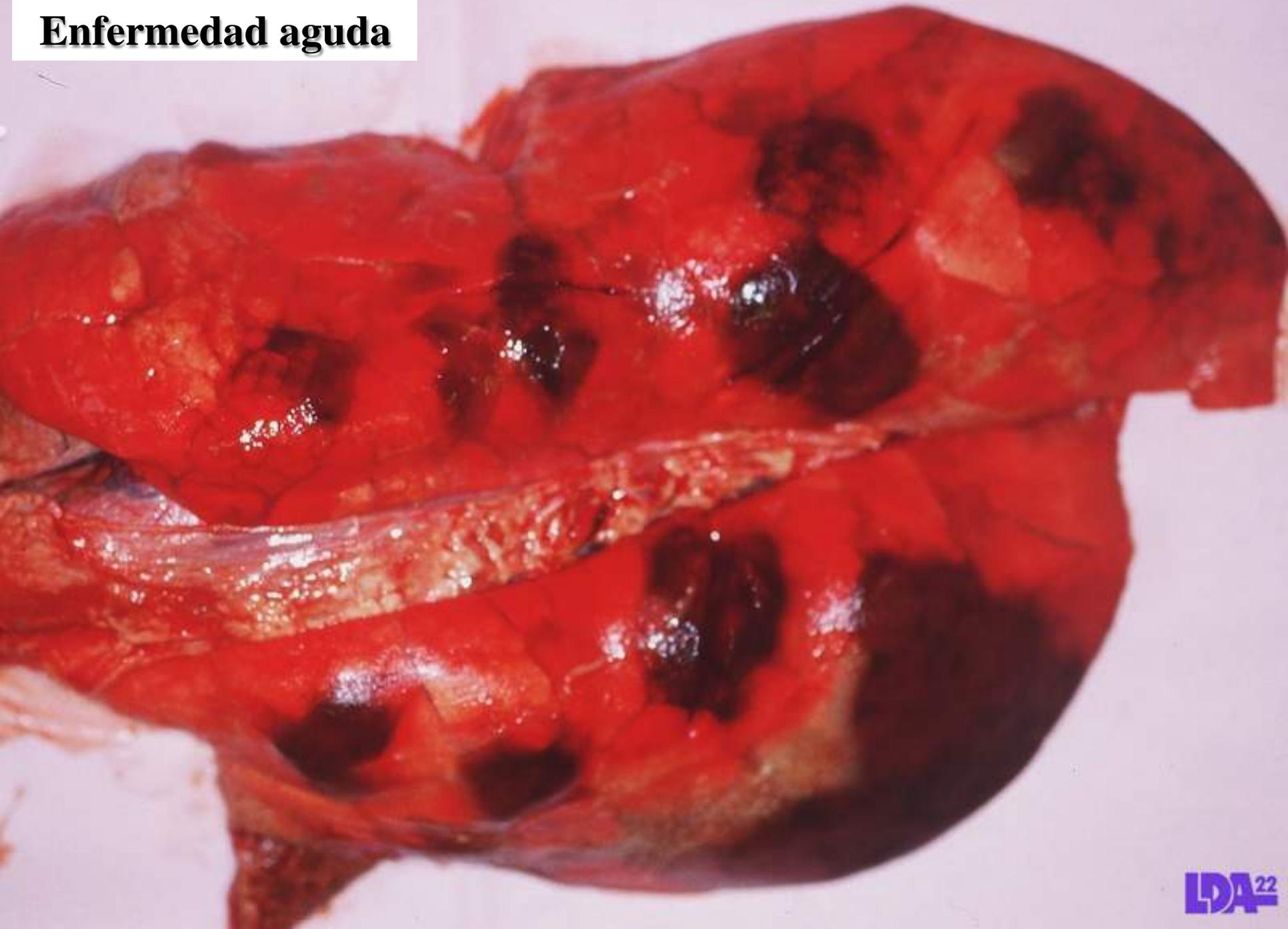
Serotipos de App	Producción de toxinas*		
	ApxI	ApxII	ApxIII
1, 5, 9/11	Si	Si	No
2,3,4,6,8,15	No	Si	Si
10, 14	Si	No	No
7, 12, 13	No	Si	No

*Todas las cepas producen ApxIV

Enfermedad aguda



Enfermedad aguda



Enfermedad aguda: diagnóstico

- Signos clínicos; lesiones patológicas
- Pulmones deben enviarse al laboratorio
- Si los órganos están en muy mal estado: PCR

Infección crónica: diagnóstico

- Lesiones muy sugestivas; pleuritis, adhesiones, abscesos
- Pulmones al laboratorio?
 - Aislamiento muy difícil; hay métodos mas sofisticados
 - PCR
 - Diagnostico comúnmente utilizado: SEROLOGIA



Copies to

Account :

Owner :

Farm:

Building:

Infeccción subclínica...

SEROLOGIA

2	1310V2	1384746	0.87									
3	09321V5	1384747	0.48									
4	5830V1	1384748	0.56									
5	A0627T1	1384749	0.05									
6	670T1	1384750	0.35									
7	907V3	1384751	0.89									
8	100V2	1384752	0.78									
9	292V3	1384753	0.64									
10	95V2	1384754	0.81									
11	1701V1	1384755	0.98									
12	963V3	1384756	1.00									
13	09332V4	1384757	0.88									
14	WZ31T6	1384758	0.76									
15	09454W3	1384759	0.34									
16	699V2	1384760	0.19									

KATERINE AUBE , technician

Marcelo Gottschalk DVM, PhD

Collected on: 2012-04-27 13:17	Received on: 2012-05-01 13:17	Executed on: 2012-05-02 16:26	Printed on: 2012-05-02 16:27	Status Final
--	---	---	--	------------------------

Case:

Cepas virulentas?

Si



Cepas poco virulentas?

Si...o No



Copies to: Account: Owner: Farm: Building:

Sub-clinical infections...

Case #: 40008 Reference #:

Sample Description: 30 Sérum

No	Identification	Accn #	APP 7(4)-ELISA I	
			D.O.	
1	883V2	1384745	0.26	
2	1310V2	1384746	0.87	
3	09321V5	1384747	0.48	
4	8630V1	1384748	0.56	
5	A0627T1	1384749	0.05	
6	670T1	1384750	0.35	
7	907V3	1384751	0.89	
8	100V2	1384752	0.78	
9	292V3	1384753	0.64	
10	95V2	1384754	0.81	
11	1701V1	1384755	0.98	
12	963V3	1384756	1.00	
13	09332V4	1384757	0.88	
14	WZ31T6	1384758	0.76	
15	09454W3	1384759	0.34	
16	699V2	1384760	0.19	

Cepas no o poco virulentas?

Si...o No

Virulencia de cepas vs enfermedad clínica



- Normalmente: cepas virulentas
- Puede ocasionarlo cepas medianamente virulentas y en co-infección con (por ejemplo) *Mycoplasma*: en general no en “outbreak”, relativamente baja morbilidad

Virulencia de cepas vs lesiones crónicas

- Cepas de virulencia intermedia
- Cepas de alta virulencia y...
 - Falla parcial en tratamiento
 - Falla parcial en vacuna
 - A veces no hay enfermedad clínica



Virulencia de cepas vs ausencia de enfermedad clínica

TRIAL REPORT



SERVICE DE DIAGNOSTIC
Faculté de
médecine vétérinaire
Université
de Montréal

Faculté de médecine vétérinaire
Université de Montréal
C.P. 5000, Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 7C8
Téléphone : (450) 773-8521
Télécopieur : (450) 778-8178



REMIP
Groupe de recherche
sur les maladies
infectieuses du porc

Copies to	Account :	Owner :	Farm:	Building:
-----------	-----------	---------	-------	-----------

Sub-clinical infections...

Case # :	40008	Reference #:	
----------	-------	--------------	--

Sample Description: 30 Sérum

No	Identification	Accon #	APP 7(4)-ELISA I						
			D.O.						
1	683V2	1384745	0.26						
2	1310V2	1384746	0.97						
3	09321V5	1384747	0.48						
4	5830V1	1384748	0.58						
5	A0627T1	1384749	0.05						
6	670T1	1384750	0.35						
7	907V3	1384751	0.89						
8	100V2	1384752	0.78						
9	292V3	1384753	0.64						
10	99V2	1384754	0.81						
11	1701V1	1384755	0.88						
12	963V3	1384756	1.00						
13	09332V4	1384757	0.88						
14	WZ31T6	1384758	0.76						
15	09454W3	1384759	0.34						
16	699V2	1384760	0.19						

KATERINE AUBE, technicianMarcelo Gottschalk DVM, PhD

Collected on:	Received on:	Executed on:	Printed on:	Status
2012-04-27 13:17	2012-05-01 13:17	2012-05-02 16:26	2012-05-02 16:27	Final

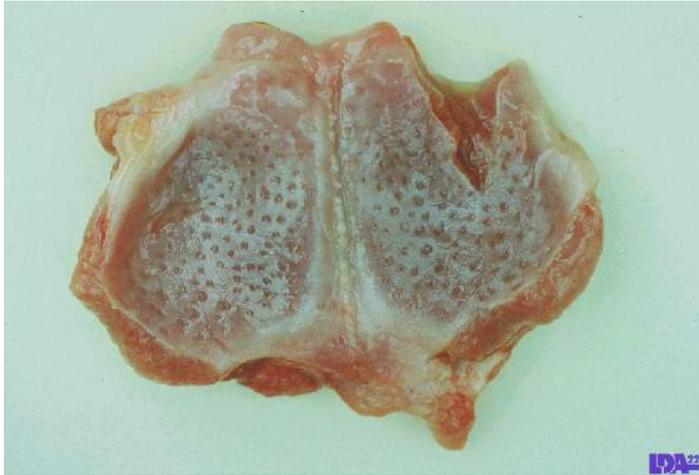
Case:Page 1 / 3Serologie final troupeau

- Mayoría de granjas comerciales: cepas relativamente poco virulentas
- Atención: algunas granjas...cepas virulentas
 - Enfermedad clínica puede aparecer tarde o temprano

Infección crónica y sub-clínica: preguntas críticas

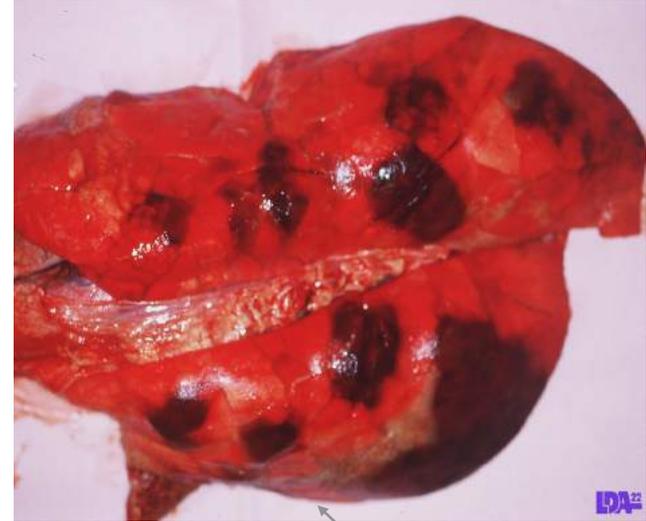
- Como diferenciar cepas virulentas de cepas no virulentas?
- Como usar la serología para el diagnóstico de las granjas crónica o sub-clínicamente infectadas?

Donde se encuentra el App?



Portador sano

Positivo en serología



Animal enfermo

Aislamiento/serotipificación

Como diferenciar las cepas muy o poco virulentas de App?



Virulencia = Serotipo

- De los 15 serotipos, solo algunos son altamente virulentos
- Otros tienen una virulencia baja o intermedia
- El problema: los serotipos virulentos e importantes difieren en los diferentes países/regiones
- Es extremadamente importante conocer los serotipos importantes en vuestro país



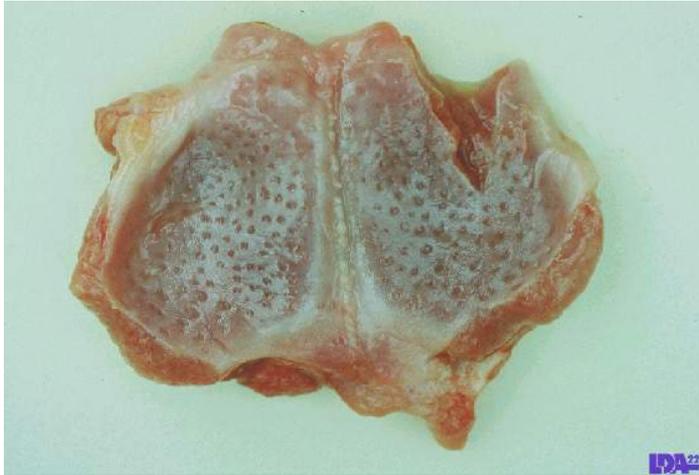
- Animales portadores...son mas o menos peligrosos dependiendo del serotipo
- Uso de bacterinas (especificas de serotipo)

Cual es el serotipo mas prevalente en mi país?

- Hay dos tipos de prevalencia de App
 - Serotipos de los aislamientos que provienen de pulmones de animales enfermos (serotipos mas virulentos)
 - Serotipos mas frecuentemente presentes en las granjas (independientemente de la presencia de enfermedad): en general, serotipos de baja/intermedia virulencia

DATOS DE CANADA	
Condición	Serotipos
Aislamientos de casos clínicos	5 (60%) 7 (30%) 12, 3/6/8, 15, 2 (10%)
Serología de granjas comerciales sin presencia de signos clínicos	12 (60%) 3/6/8/15 (60%) 7 (25%) 5 (20%)

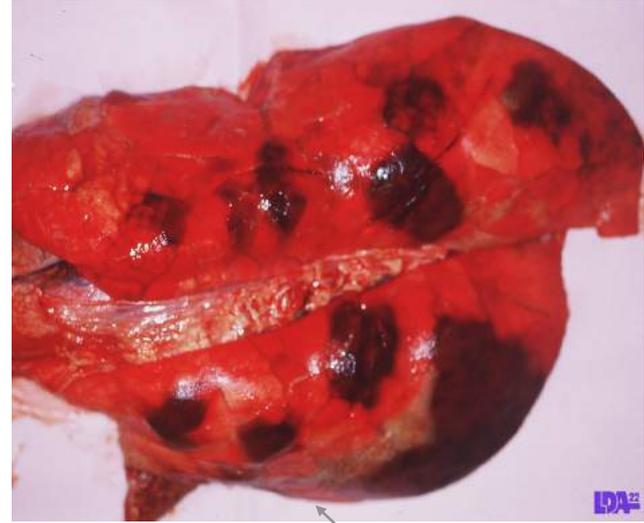
Donde se encuentra el App?



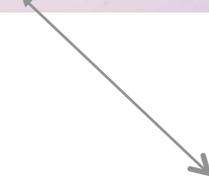
Portador sano



Positivo en serología



Animal enfermo



Aislamiento/serotipificación

Cual es el serotipo mas prevalente en mi país?

- Hay dos tipos de prevalencia de App
 - **Serotipos de los aislamientos que provienen de pulmones de animales enfermos (serotipos mas virulentos)**
 - Serotipos mas frecuentemente presentes en las granjas (independientemente de la presencia de enfermedad): en general, serotipos de baja/intermedia virulencia

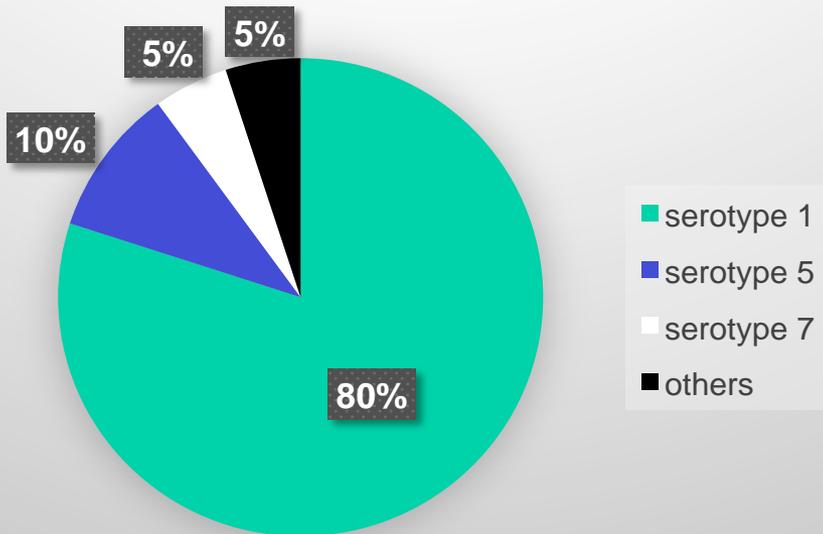
DATOS DE CANADA	
Condición	Serotipos
Aislamientos de casos clínicos	5 (60%) 7 (30%) 12, 3/6/8,15, 2 (10%)
Serología de granjas comerciales sin presencia de signos clínicos	12 (60%) 3/6/8/15 (60%) 7 (25%) 5 (20%)

Serotipos de App aislados de animales enfermos en distintas regiones

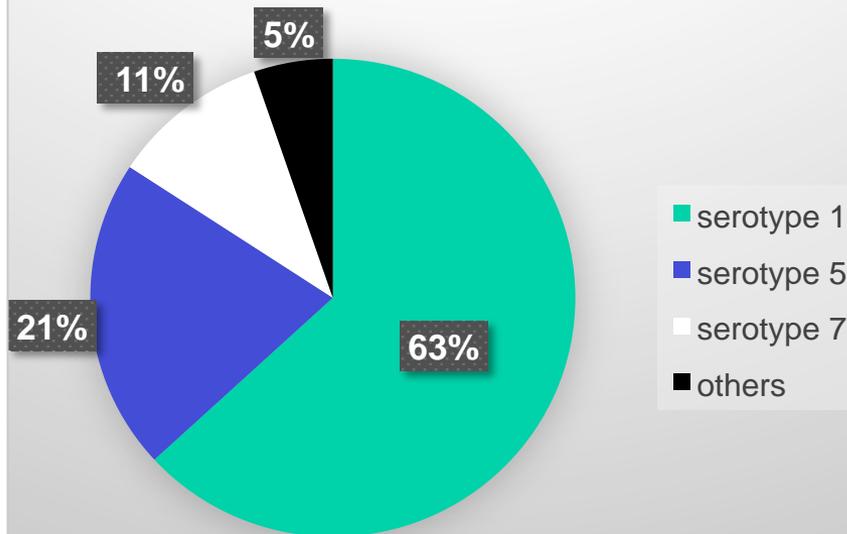
Los serotipos mas importantes		
Región	Mas prevalentes	Aislados ocasionalmente
Latinoamérica	1, 5, 7	12, 8, 4, 15
Norteamérica	5, 7	8, 12, 15
Europa	2, 9/11, 6, 8, 4	5, 7, 12
España	2, 4, 7	9/11, 5
UK	8, 6	7
Asia	2,1, 9/11, 5	8, 15
Australia	7, 15, 1	2, 8, 5, 9/11,12

App: Cambio de prevalencia de App en Canadá

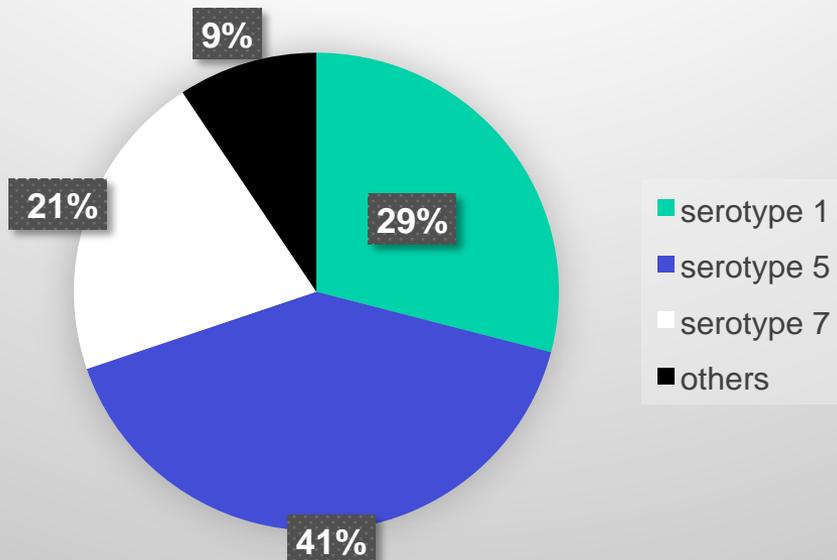
1980-1990



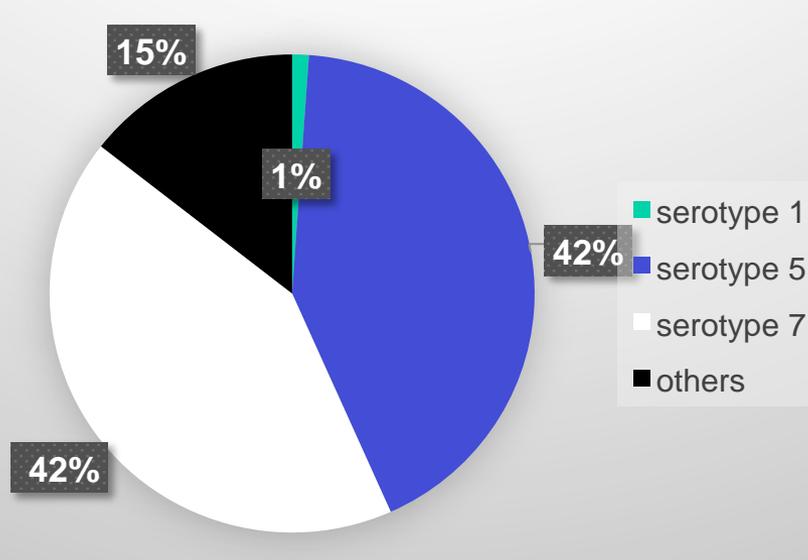
1990-2000



2000-2010

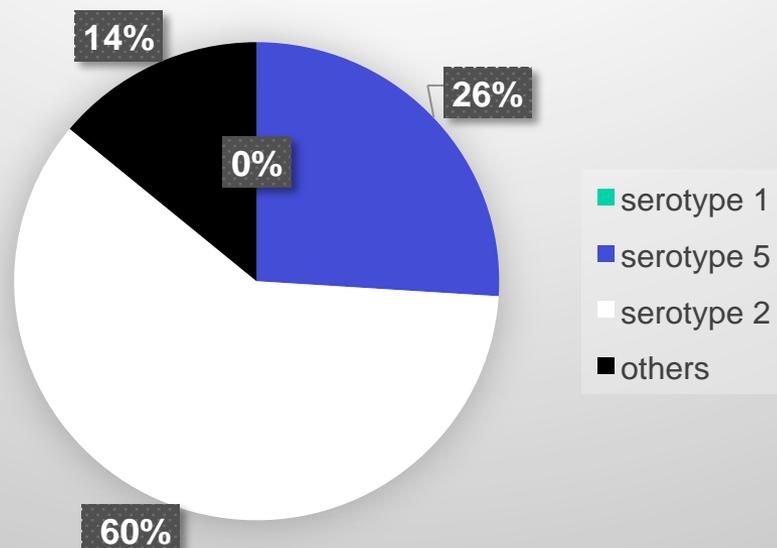


2010-2015

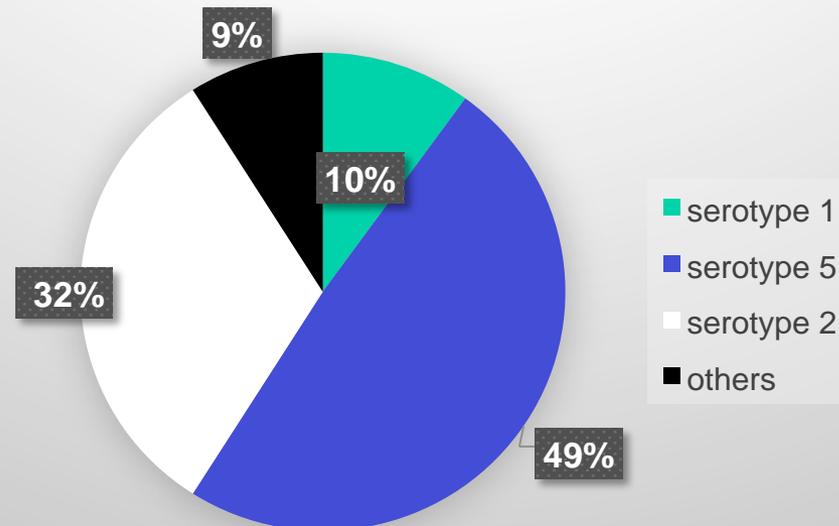


App: Cambio de prevalencia de App en Corea

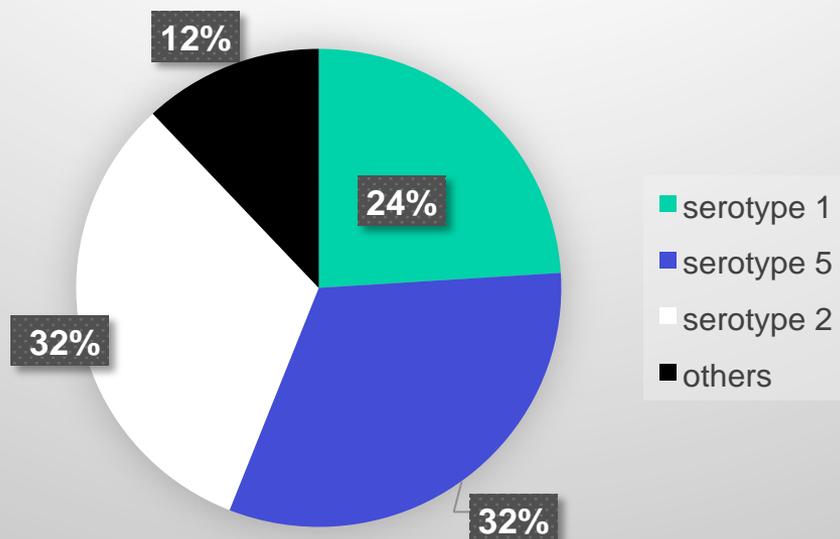
1995-1998



2006-2010



2014



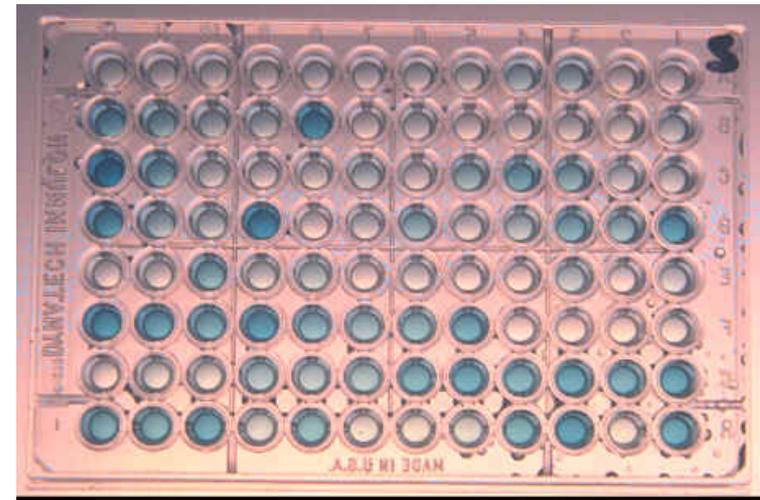
Infección crónica y sub-clínica: preguntas críticas

- Como diferenciar cepas virulentas de cepas no virulentas?
- **Como usar la serología para el diagnóstico de las granjas crónica o sub-clínicamente infectadas?**

SEROLOGIA: GRANJAS CRONICA O SUB-CLINICAMENTE INFECTADAS

➤ ELISA

- **Especifica de serotipos**: prueba LPS: Biovet, ID vet
- Todos los serotipos: prueba **ApxIV** (**no diferencia los serotipos**): Idexx
- Recuerden: la mayoría de las granjas están infectadas con App



Serología **en granjas comerciales**

- ELISA específico de serotipo (LPS) o para todos los serotipos (ApxIV)?
 - Granjas comerciales
 - ELISA-LPS: elegir los serotipos más importantes en vuestro país y utilizar el kit solamente para detectar esos serotipos
 - Si se usa la prueba ApxIV (Idexx): la mayoría de las granjas serán positivas. Esta información no será muy útil para el veterinario clínico

Uso limitado de la prueba ApxIV en granjas comerciales

IDEXX APP-ApxIV Ab Test

Test With Confidence™



Reliable
screening—
it's an economic
necessity



Serologia en granjas de alto nivel sanitario

- ELISA específico de serotipo (LPS) o para todos los serotipos (ApxIV)?
 - Granjas de alto nivel sanitario
 - Si la granja es negativa para todos los serotipos de App, la prueba ApxIV puede usarse para controlar el estatus negativo
 - Si la granja es positiva para la prueba ApxIV, hay que confirmar que serotipos están presentes

Cepas virulentas: presentan siempre signos clínicos?

- La expresión clínica causada por una cepa virulenta puede depender de las condiciones sanitarias de la granja y del manejo
- Muchas veces una cepa virulenta puede pasar desapercibida en una granja...pero hasta cuando?
- Ausencia de signos clínicos \neq ausencia de cepas virulentas

REPRODUCTORES: IMPORTANCIA DEL SEROTIPO?

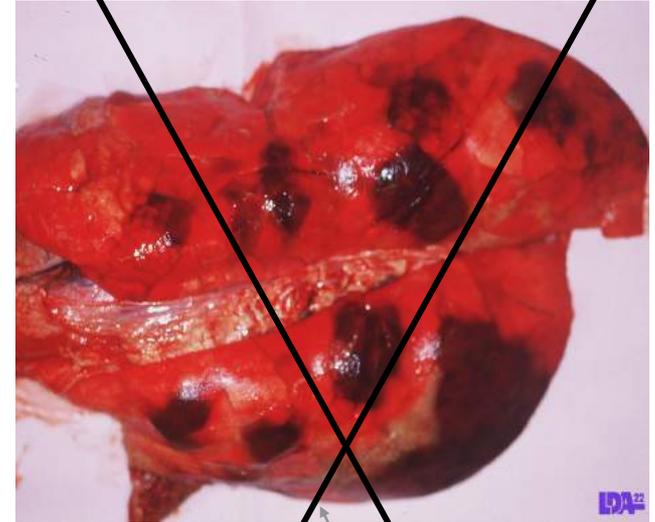


Donde se encuentra el App?



Portador sano

Positivo en serología



Animal enfermo

Aislamiento/serotipificación

REPRODUCTORES: IMPORTANCIA DEL SEROTIPO?

➤ Reproductores

- Serotipo indica el nivel de riesgo
- Cada compañía debe decidir ese nivel de riesgo
 - Vender animales libres de todos los serotipos
 - Vender animales libres de serotipos virulentos
- Las granjas reproductoras deben continuamente vigilar serológicamente su estatus
- En presencia de infección subclínica con algún serotipo de virulencia baja/intermedia: avisar al cliente

Granjas que compran de reproductores: importancia del serotipo?

- Si están comprando animales de reemplazo
 - Primero hay que conocer su propio status de infección
 - Pedir a la granja reproductora los resultados serológicos
 - Cuidado con comprar animales App-free si vuestra granja esta infectada con App... **aclimatar los animales de reemplazo**
 - Si el reproductor no es libre de App...cuidado con los serotipos presentes en el país de origen de esos animales

Control y prevención de la pleuroneumonía

- **Control/Tratamiento de casos clínicos**

- **Antibióticos**

- **Prevención de casos clínicos (protección activa)**

- **Vacunas**

- **Reducción de la colonización de lechones**

Tratamiento de casos clínicos

- Identificar los casos muy tempranos y comenzar el tratamiento individual
- Cerdos afectados toman y beben menos
- Examinar los animales 2 veces/día. Puede ser necesario inyectar o tratar todo el grupo
- Obtener antibiograma si es posible



Tratamiento de casos clínicos

- Tratamiento individual necesario
- Marcado de animales para asegurarse que el tratamiento funciona bien
- Tratar todo el grupo de animales que están a riesgo
- Si es posible: muestras al laboratorio, aislamiento, serotipificación y antibiograma
 - Cambio de antibiótico (menor costo)
 - Elegir el antibiótico para medicación oral

Tratamiento y/o prevención de casos clínicos

➤ Antibióticos

- Tilmicosina
- Ceftiofur (problemas por uso en medicina humana)
- Fluoroquinolonas
- Tulatromicina
- Florfenicol
- Otros

➤ Metafilaxis: medicación oral

- Tilmicosina
- Florfenicol
- Trimethoprima + Sulphamethoxazol
- Otros
- Algunas a...muchas semanas, dependiendo de la granja

Prevención de casos clínicos: vacunas

- Bacterinas (comerciales o autógenas)
 - Especificas de serotipo
 - Anticuerpos contra la bacteria: opsonización y destrucción de la bacteria
- Basadas en toxinas (comerciales)
 - Todos los serotipos en teoría
 - Anticuerpos contra las toxinas: neutralización de las toxinas
- Mixtas
 - Bacterina + Toxinas
 - Todos los serotipos (en teoría) + protección suplementaria para los serotipos incluidos en la vacuna
 - Anticuerpos contra la bacteria (serotipos incluidos) y neutralizantes (toxinas)

Aplicación de la vacuna en lechones

- Presencia de anticuerpos maternos
- Momento de la aparición de casos clínicos
- Actividad del virus PRRS

Aplicación de la vacuna en lechones

➤ Anticuerpos maternos

- “El” ejemplo de interferencia
- Cuanto duran estos anticuerpos?
 - Depende del nivel de anticuerpos en madres
 - Anticuerpos contra las toxinas duran mas tiempo (o las pruebas usadas son mas sensibles...)
- Tratar de dar la primera dosis de vacuna no antes de las 8 semanas de vida
- A veces se recomiendan 3 dosis (solución extrema)

Aplicación de la vacuna en lechones

- Cuanto dura la protección? App afecta a veces animales al final de la engorda...
 - Pedir información a las compañías: los datos existen para varias vacunas (infección tardía de los animales)
 - Otra opción: adaptar la edad de vacunación al momento en que aparecen los signos clínicos
 - De todos modos...en algunas granjas se debe combinar tratamientos con antibióticos y vacunas

Aplicación de la vacuna en lechones

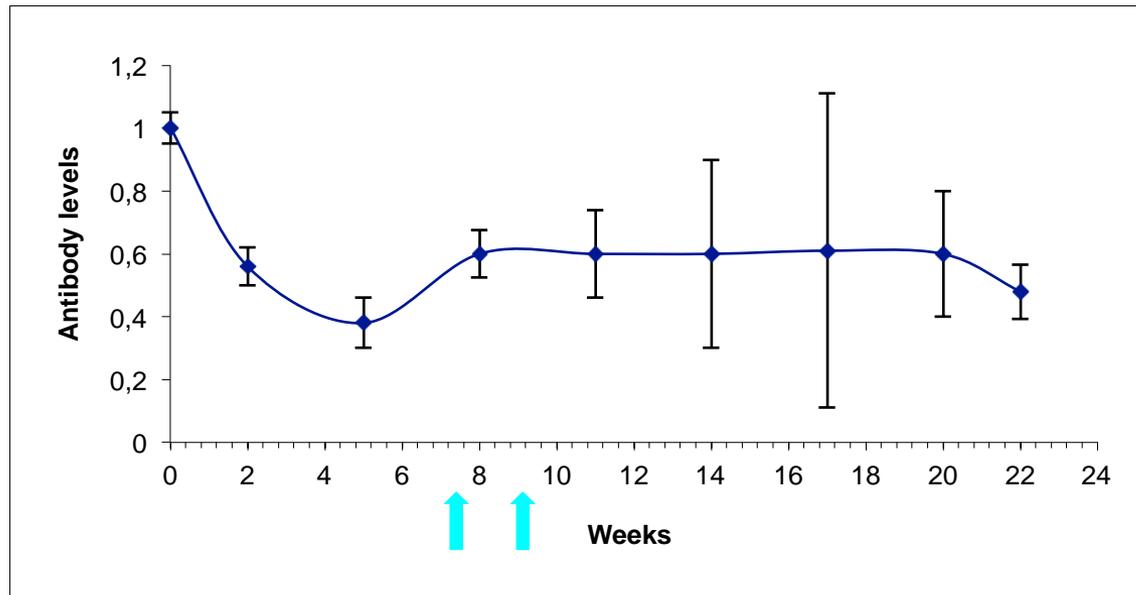
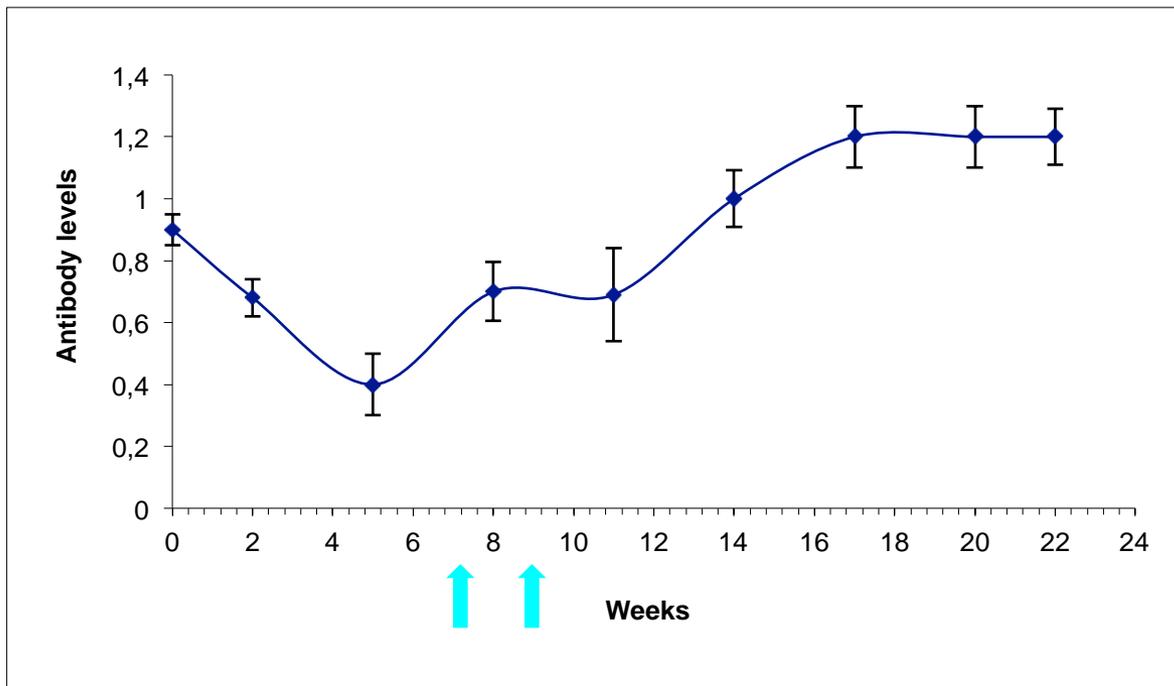
➤ App y PRRS: buenos amigos o no?

➤ No hay ninguna prueba indicando que los dos patógenos pueden potenciarse

➤ Sin embargo, en Europa muchos clínicos han informado problemas mas serios con App cuando hay circulación del virus de PRRS

➤ Es posible que dependa de la cepa viral (y de App...)

➤ Sin embargo...puede la circulación del virus afectar la respuesta vacunal contra App?



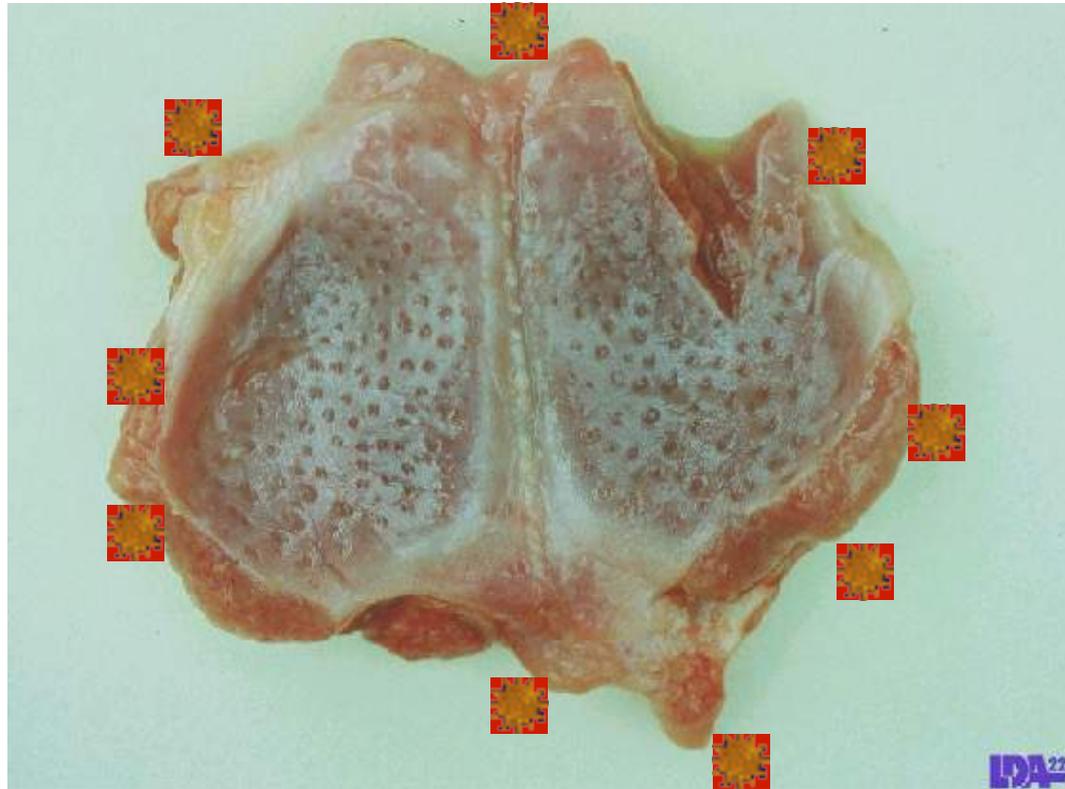
Control y prevención de la pleuroneumonía

- Control/Tratamiento de casos clínicos
 - Antibióticos
- Prevención de casos clínicos (protección activa)
 - Vacunas
- **Reducción de la colonización de lechones**
 - **Acciones en lechones: antibióticos**
 - **Acciones en madres**
 - **Antibióticos**
 - **Vacunas**

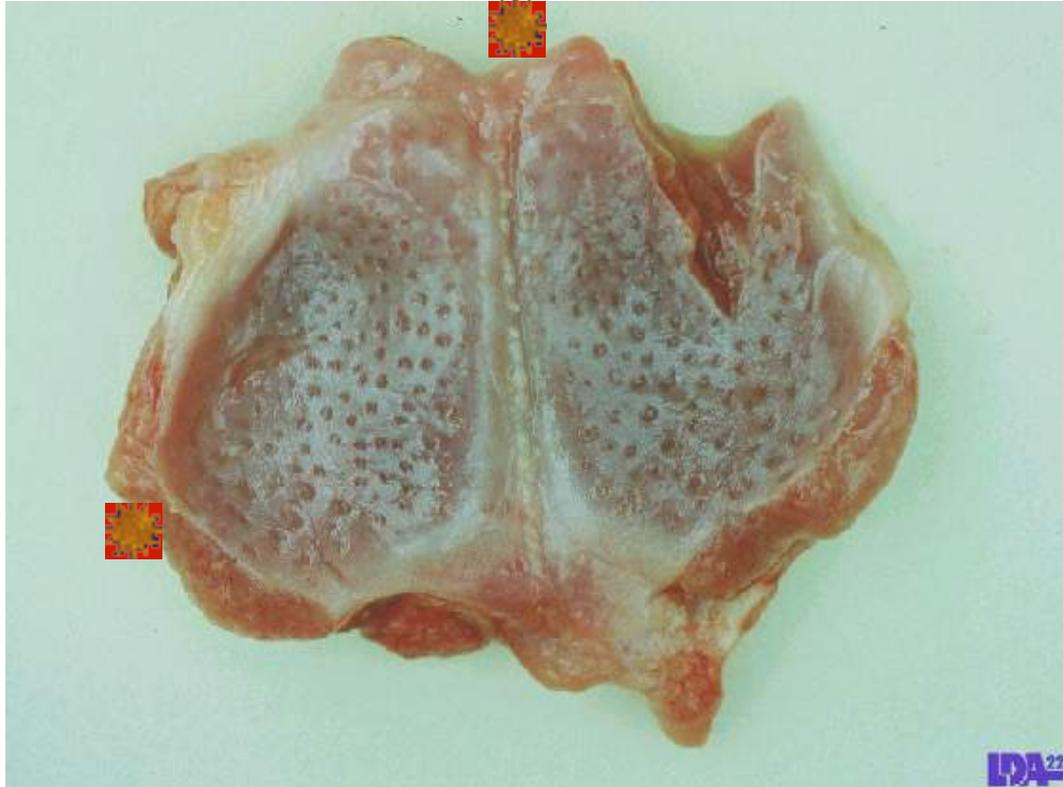
Reducción de la colonización al destete: **antibióticos**

- Tratar madres con antibióticos
 - Ceftiofur/tulatromicina desde 5 días antes del parto hasta el destete
- Tratar lechones con antibióticos
 - Hasta el destete
 - Ceftiofur/tulatromicina/enrofloxacina
- Tratar los dos (decisión extrema)
- Madres: reducir/congelar la transmisión
- Lechones: reducir la colonización
- Reducir la edad del destete

Reducción de la transmisión/colonización en madres y lechones, respectivamente



Reducción de la transmisión/colonización en madres y lechones, respectivamente



Antibióticos en madres

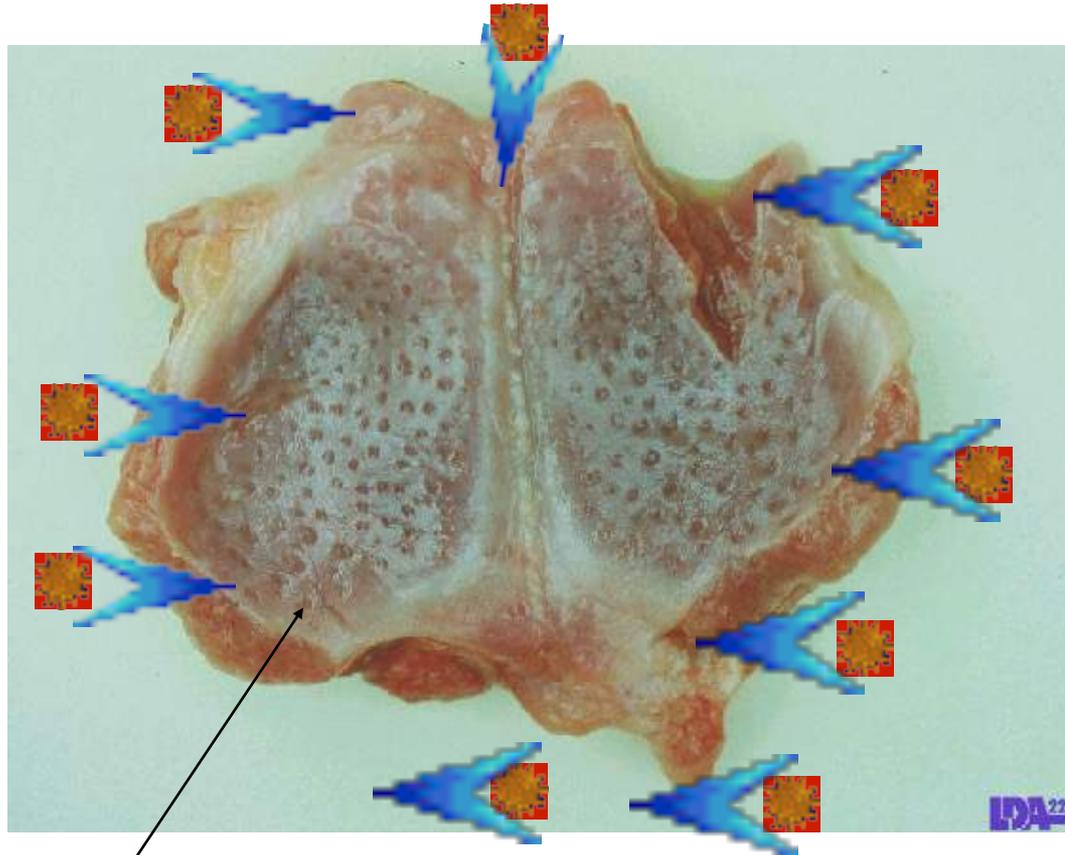
- Animales infectados experimentalmente: 100% animales portadores
- Tratamiento con tilmicosina (400 ppm) por 30 días
- PCR en tonsilas: superficie y en criptas

	PCR en superficie de tonsilas	PCR en las criptas de tonsilas
Tratados	1/6	5/6
Controles	6/6	6/6

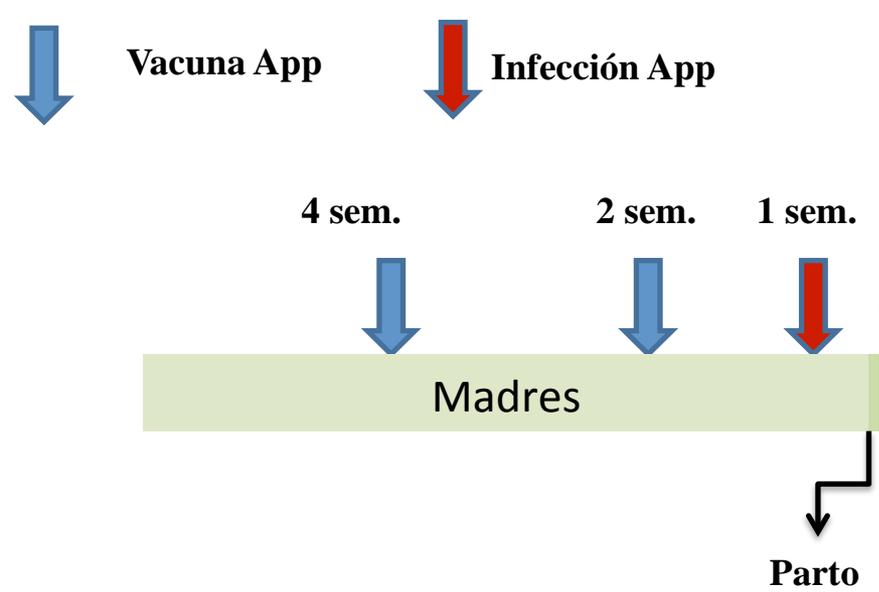
Reducción de la colonización al destete: **anticuerpos**

- Anticuerpos maternos naturales contra App retrasarían la colonización de lechones
 - Marranas: talón de Aquiles en la transmisión de App a los lechones
- Puede la vacunación de madres provocar un efecto parecido?
 - Atención: solamente bacterinas
 - Mesmo sin tener datos: se recomienda siempre vacunar a las marranas (reposición externa)
- Bajar la edad del destete

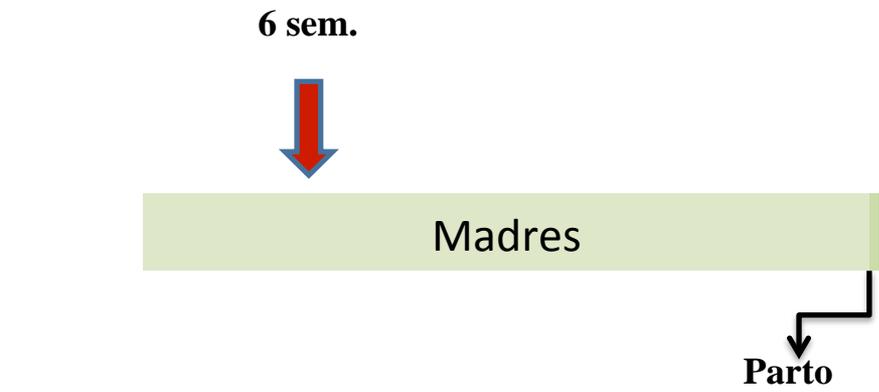
Anticuerpos maternos reducen la colonización? Y los vacunales?



Lechones



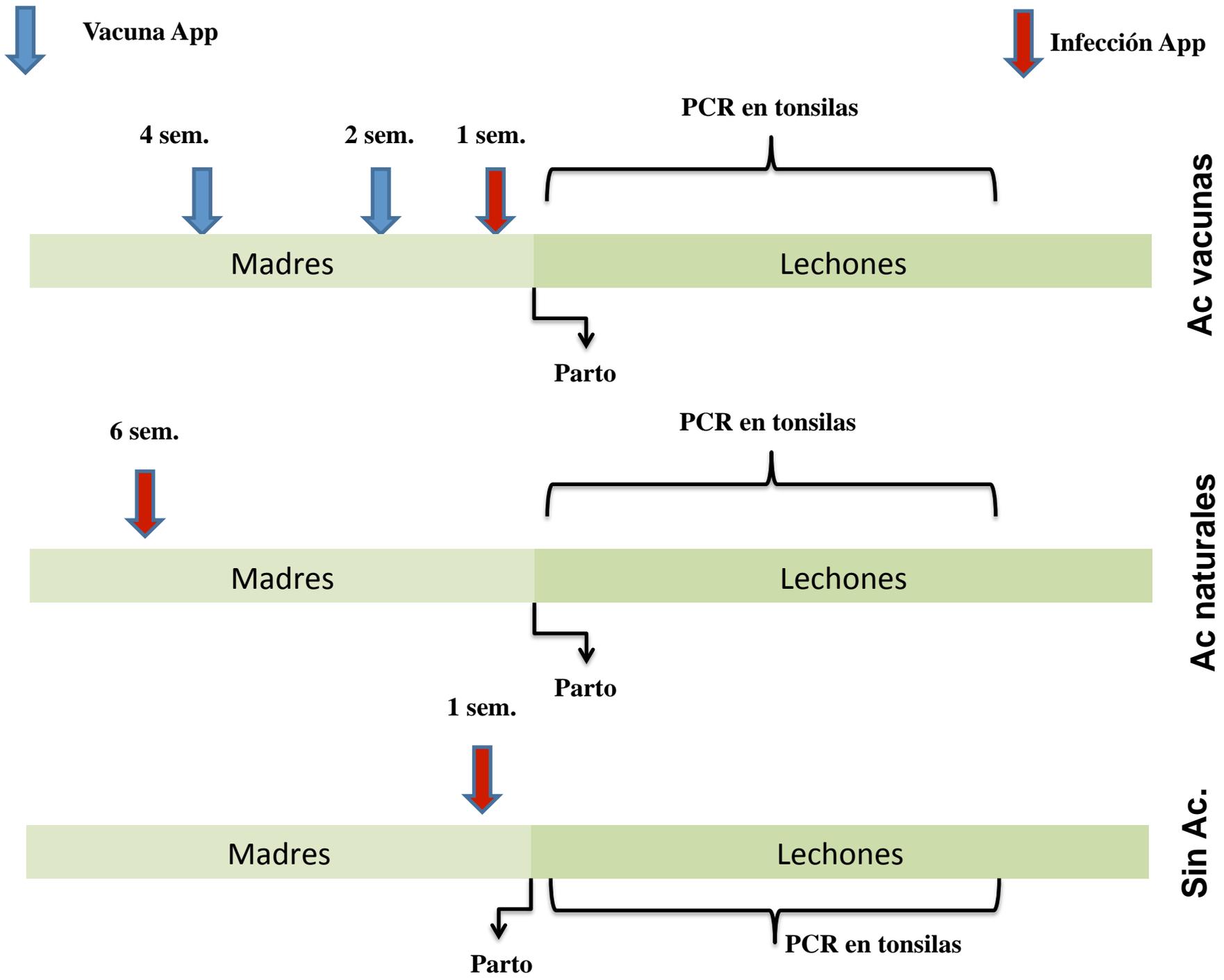
Ac vacunas



Ac naturales



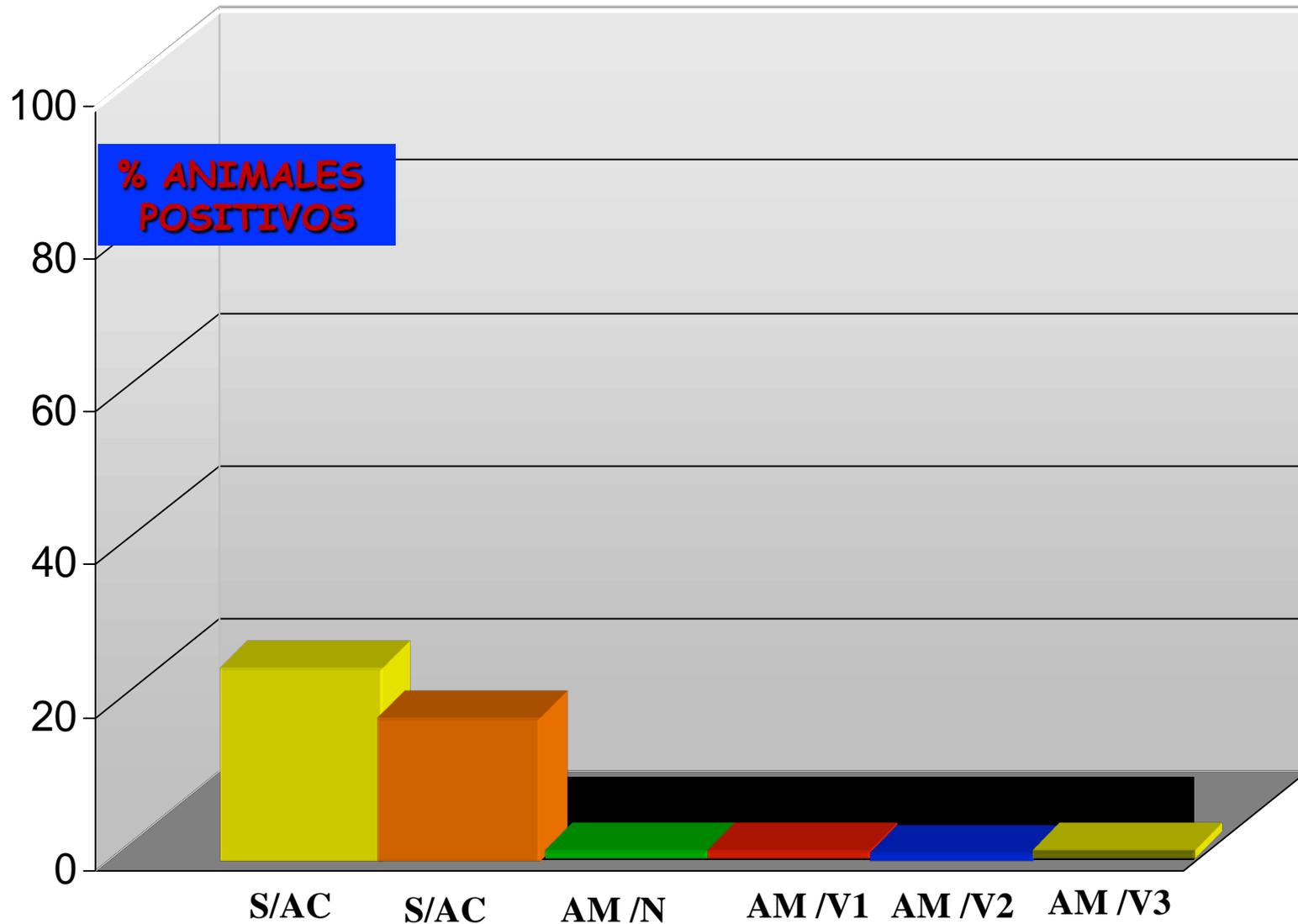
Sin Ac.



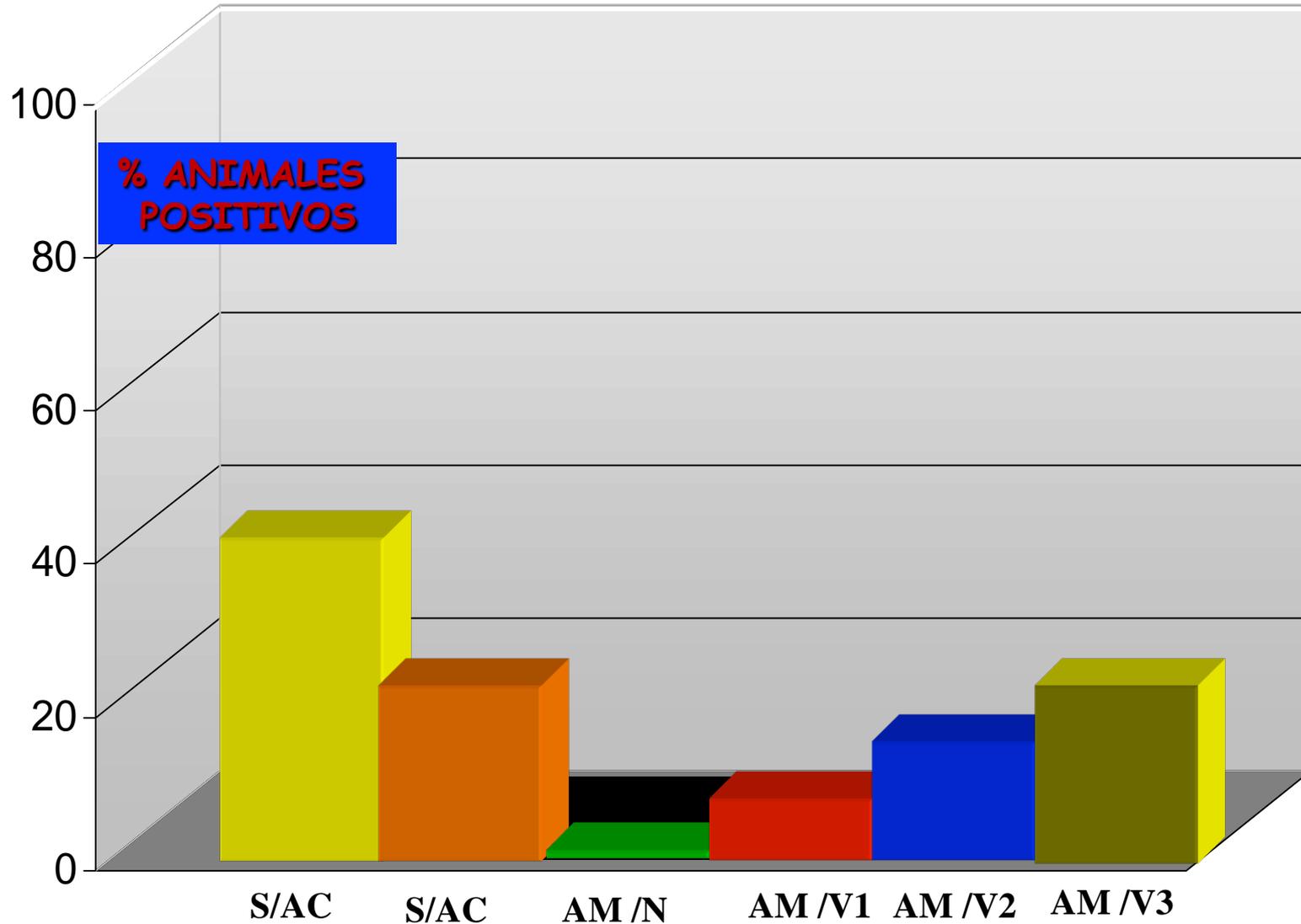
Cepillos para las tonsilas



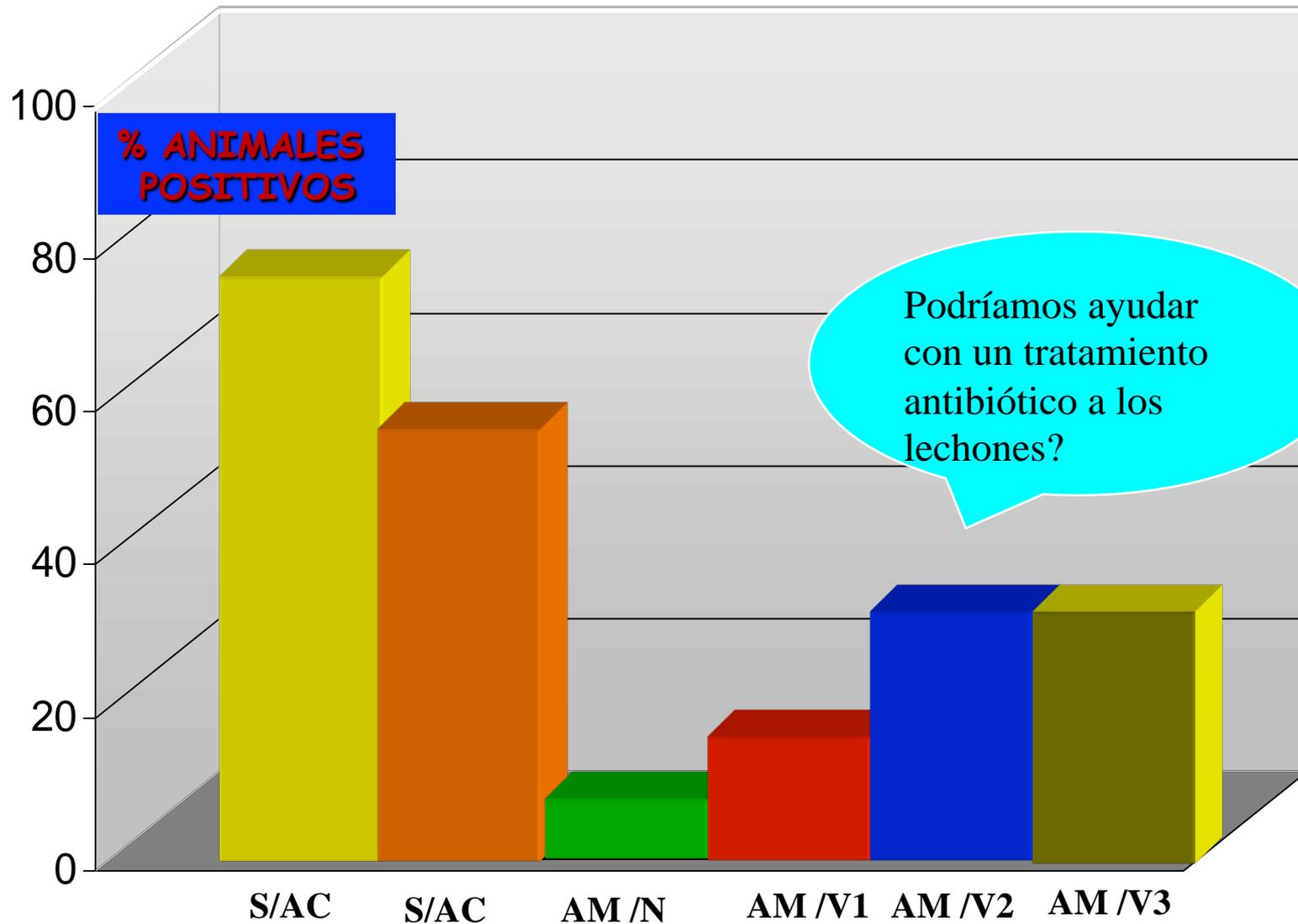
A los 7 días de estar con la madre



A los **12** días de estar con la madre



A los **22** días de estar con la madre



Datos de un método que ha funcionado...

- Granjas con problemas clínicos App serotipo 5
- Producción de una autovacuna (bacterina)
- Evaluación de una fuerte respuesta de anticuerpos contra App 5 luego de vacunar (dos dosis): prueba ELISA con la cepa vacunal
- Aclimatación:
 - Dentro de los 7 días de la llegada: primera dosis de la vacuna
 - 3 semanas luego de la primera dosis: segunda dosis de la vacuna
- Gestación
 - Todas las cerdas y nulíparas (« gilts »): 4-5 semana antes del parto
 - Mismo si se vacunaron las nulíparas en la aclimatación, se vuelven a vacunar
- Lechones
 - Los jueves antes del destete (que se hace promedio a los 21 días), a todos los animales de 16 días o mas se les inyecta Tulatromicina.

Resultados obtenidos

- Mortalidad se redujo del 4.5% al 2.7%
- Las adherencias de menos de 6 pulgadas: del 5% al 1.5%
- Las adherencias de mas de 6 pulgadas del 7.5% al 1.5%
- Se suspendió el tratamiento profiláctico (3 semanas antes de la expresión de signos clínicos)
- Este es un protocolo que funciono...va funcionar en todas las granjas: por ahí si...por ahí no. Hay que probarlo.

Vacunas y antibióticos

- Reducen los signos clínicos
- Reducen lesiones en el matadero
- En general, se considera que ninguno de los dos pueden eliminar totalmente la infección sub-clínica (eliminación de App en las tonsilas)

« Take-home messages »

- Es necesario tomar en cuenta que serotipos son los mas prevalentes en vuestro país: 2 y 4/7. Ocasionalmente pueden estar el 5 y 9/11
- Casi todas las granjas comerciales están infectadas con uno o mas serotipos de App
- Cepas virulentas pueden estar presentes en granjas sin signos clínicos
- La serología en granjas comerciales deben efectuarse con pruebas ELISA especificas de serotipo (pruebas comerciales estandarizadas y reconocidas)

« Take-home messages »

- Existen varios antibióticos muy efectivos para el tratamiento y control de la enfermedad
- A veces es necesario mantener el tratamiento por un periodo de tiempo prolongado
- La vacunación es una alternativa valida: cuidado con el uso de bacterinas (bacteria sin toxinas) si no se conoce el serotipo presente en la granja
- Es muy posible que la baja significativa de la prevalencia (numero de animales y/o carga bacteriana en los animales positivos) al destete disminuya los signos clínicos y lesiones en el matadero

« Take-home messages »

- Ni el tratamiento con antibióticos ni la vacunación parecen poder eliminar completamente el estado de portador
- Cerrar la granja por varios meses, combinado con la eliminación de animales jóvenes y tratamiento con antibióticos no eliminaría totalmente el estado de portador
 - Puede reducir/eliminar signos clínicos (reducción de la prevalencia)
 - App puede quedar escondido en las tonsilas por mucho tiempo



Université 
de Montréal

Centre de Recherche en
Infectiologie Porcine et Avicole

Swine and Poultry Infectious
Diseases Research Center



Gracias/Gràcies...