

La microbiota nasal y las enfermedades respiratorias en transición

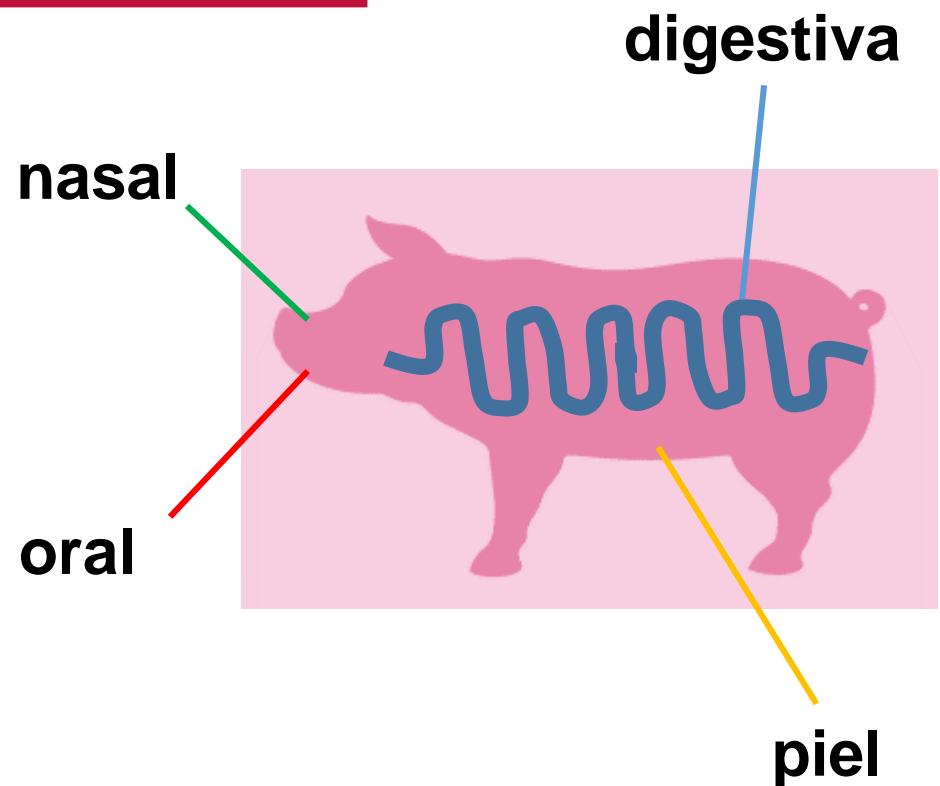
Virginia Aragón

virginia.aragon@irta.cat

XXII JORNADAS DE PORCINO DE LA UAB Y AVPC



Microbiota

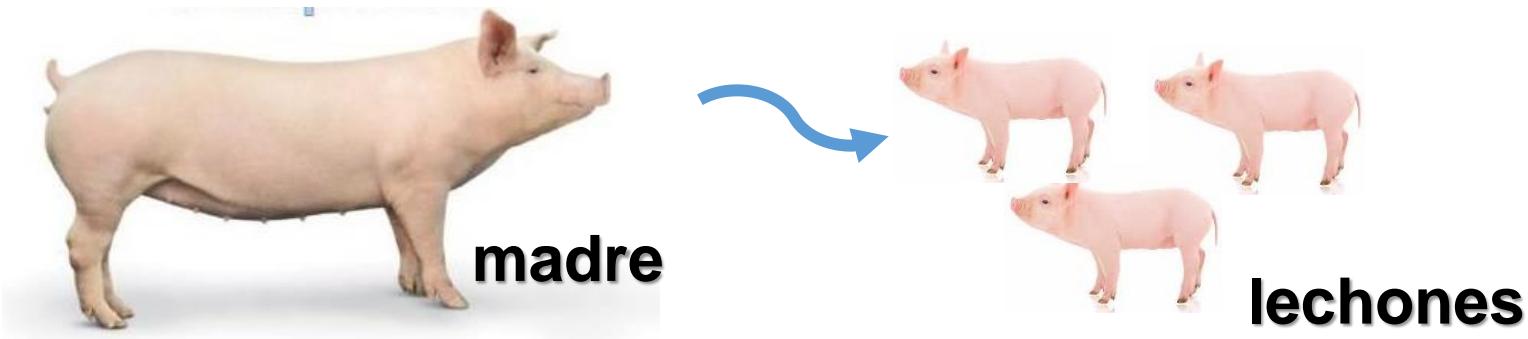


FUNCIONES de la MICROBIOTA

- Nutrición
- Maduración del sistema inmune
- Exclusión de patógenos
 - competición por substrato
 - competición directa (adhesión,...)

Microbiota nasal

- Presencia de patógenos
- Presencia de bacterias beneficiosas



Colonizadores tempranos

Glaesserella (Haemophilus) parasuis
Streptococcus suis

Enfermedad de Glässer

- *G. parasuis* es un colonizador temprano del tracto respiratorio superior de los lechones
- *G. parasuis* se aisla de la cavidad nasal de lechones sanos



Dualidad: microbiota / patógeno

Cepas no virulentas
protectivas



Cepas virulentas
Aumenta el riesgo
de enfermedad

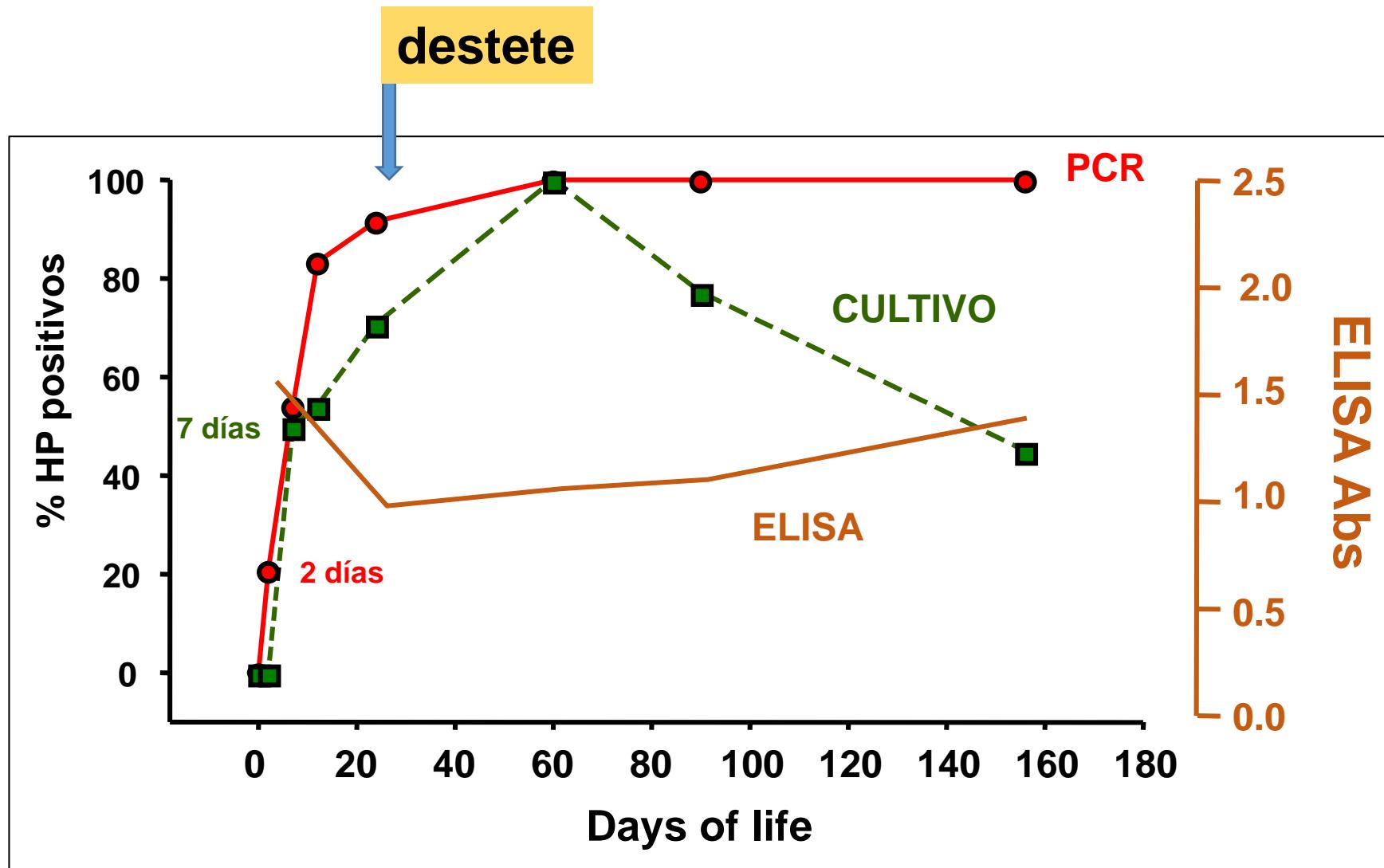
Enfermedad de Glässer

- *G. parasuis* es un colonizador temprano del tracto respiratorio superior de los lechones
- ↓
- *G. parasuis* se aisla de la cavidad nasal de lechones sanos
Dualidad: microbiota / patógeno
- **Y el resto de bacterias de la microbiota nasal? Tienen un papel en el desarrollo o control de la enfermedad?**

Colonización nasal de *G. parasuis*

Colonización temprana

Mayor riesgo de enfermedad tras el destete



Microbiota nasal como factor predisponente



Granjas sanas
control

VS



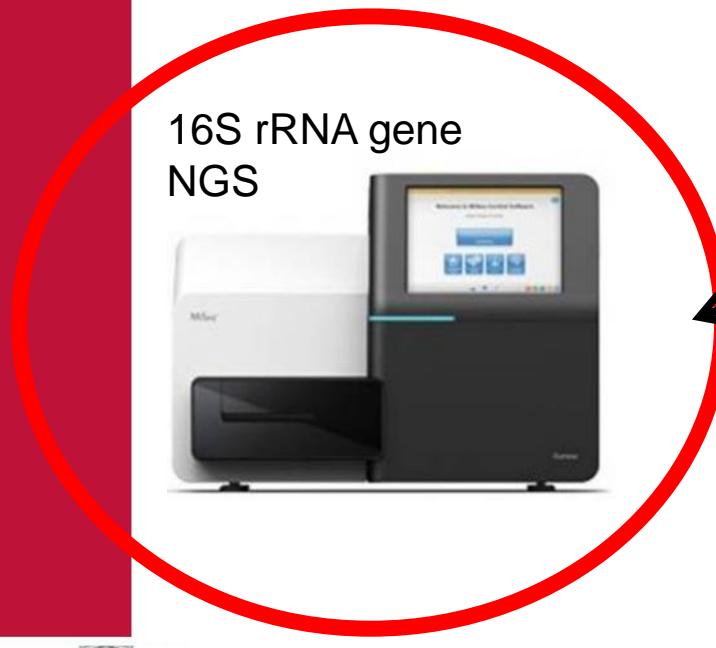
Granjas con
enfermedad de Glässer

10 lechones / granja



AI destete

Antes de
enfermar



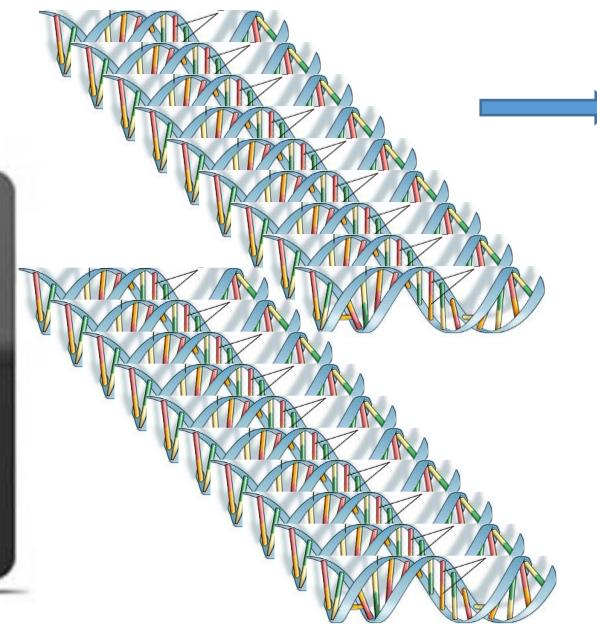
Análisis composición &
Modelo estadístico

Estatus sanitario
Composición de la microbiota
Sistema de Producción
Presencia de cepas virulentas y no-virulentas de Hp

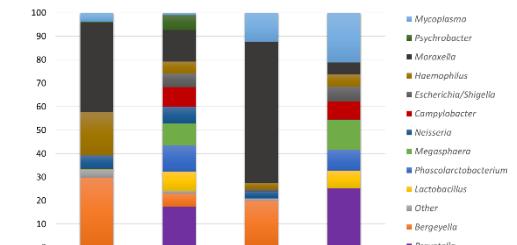
Análisis de la microbiota



16S rRNA
gene
NGS

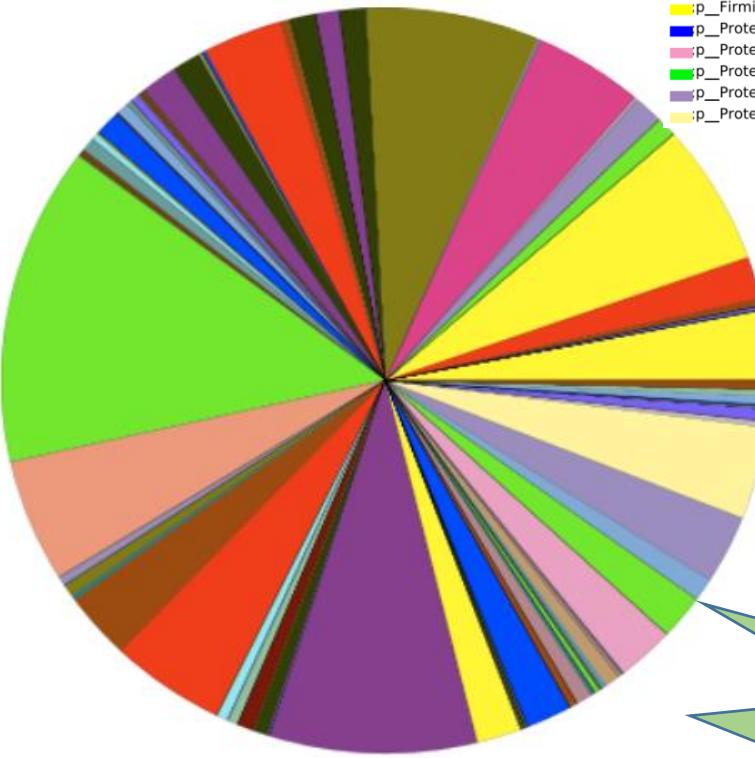
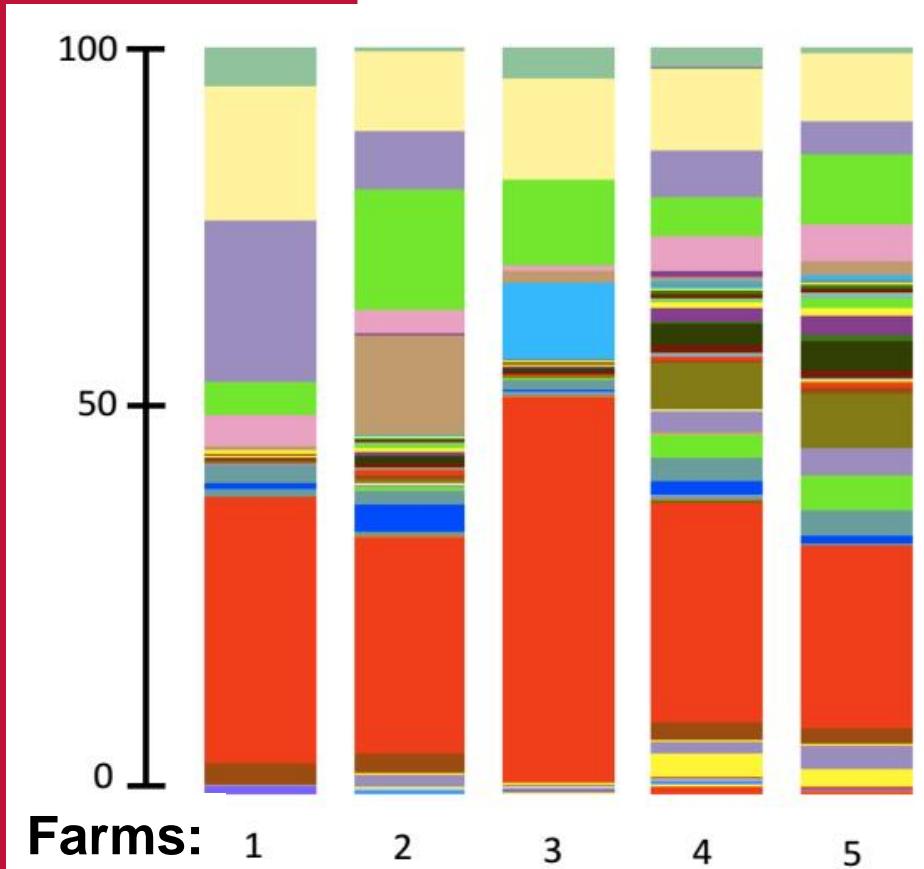


Clasificación
Cuantificación



Microbiota nasal en lechones sanos

Abundancia relativa- género

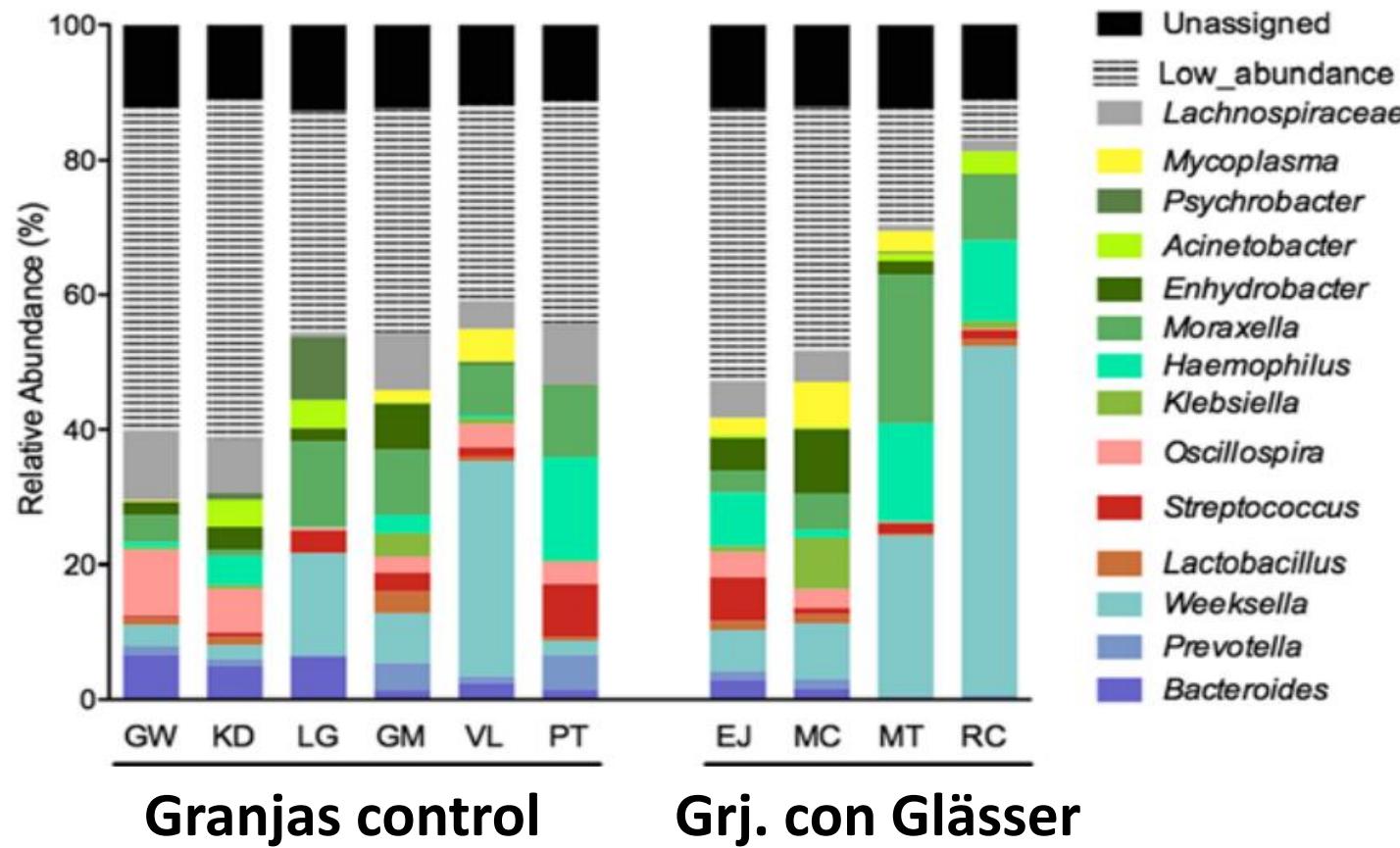


core

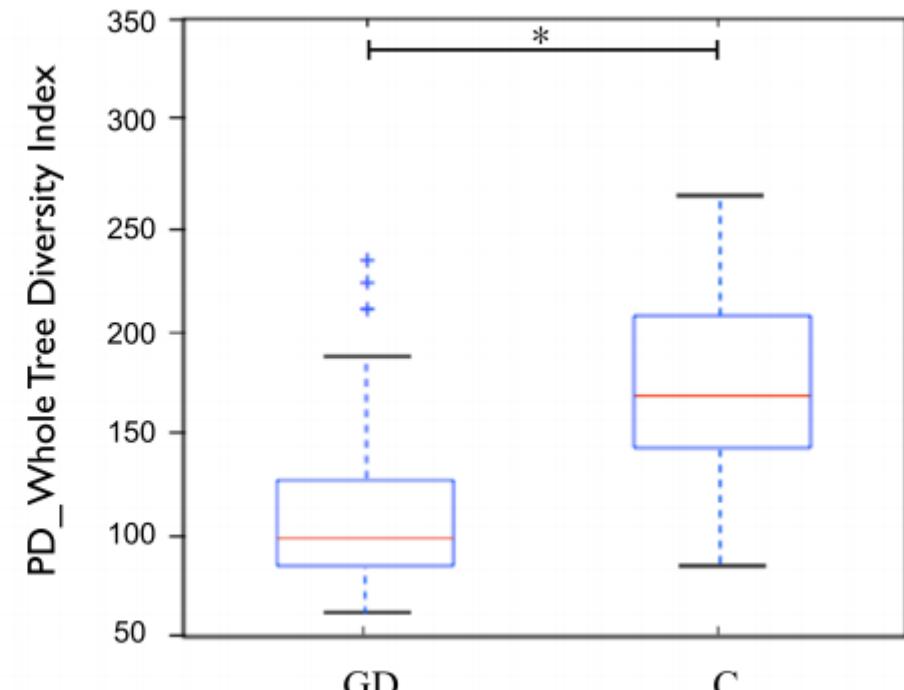
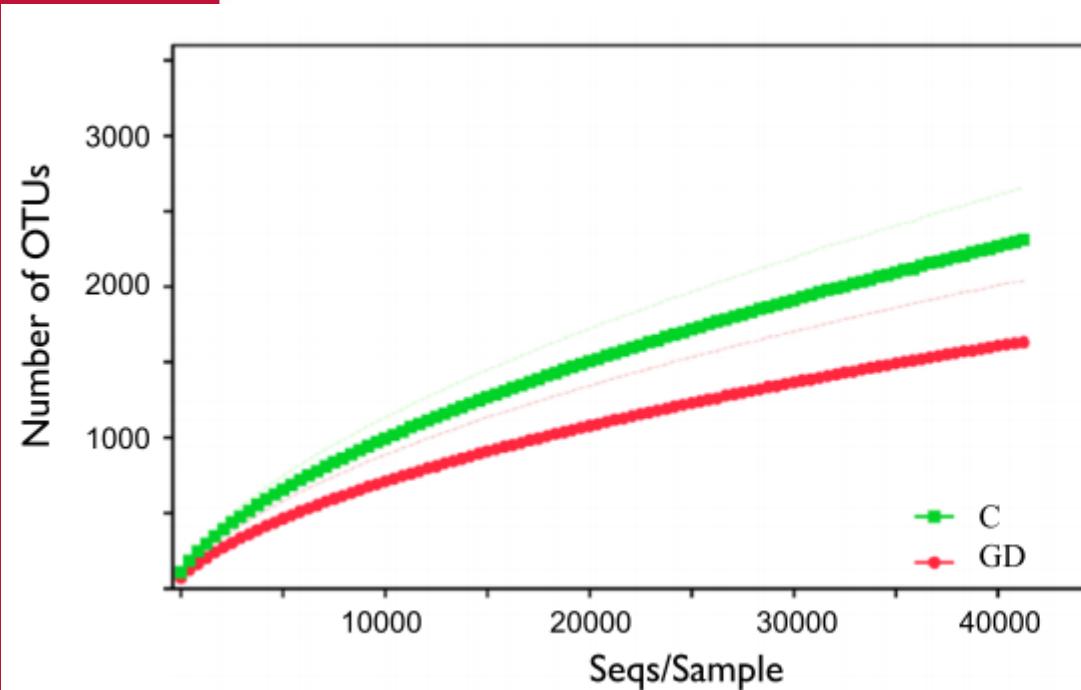
High diversity

Microbiota nasal en salud y enfermedad

La microbiota nasal al destete puede predisponer a sufrir enfermedad de Glässer en la transición?



Microbiota nasal en salud y enfermedad



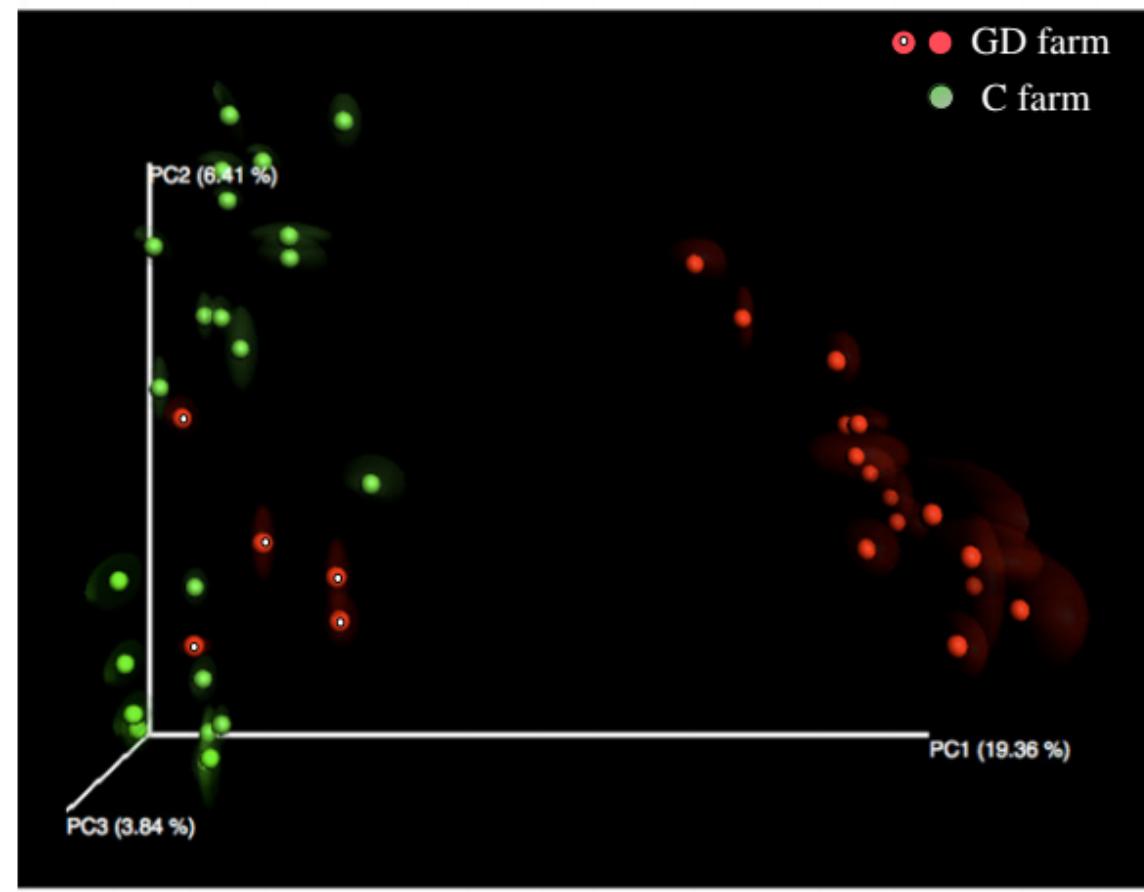
↑ Diversity →

Health

Firmicutes
↓ Proteobacteria

Microbiota with low diversity predispose to Glässer's disease

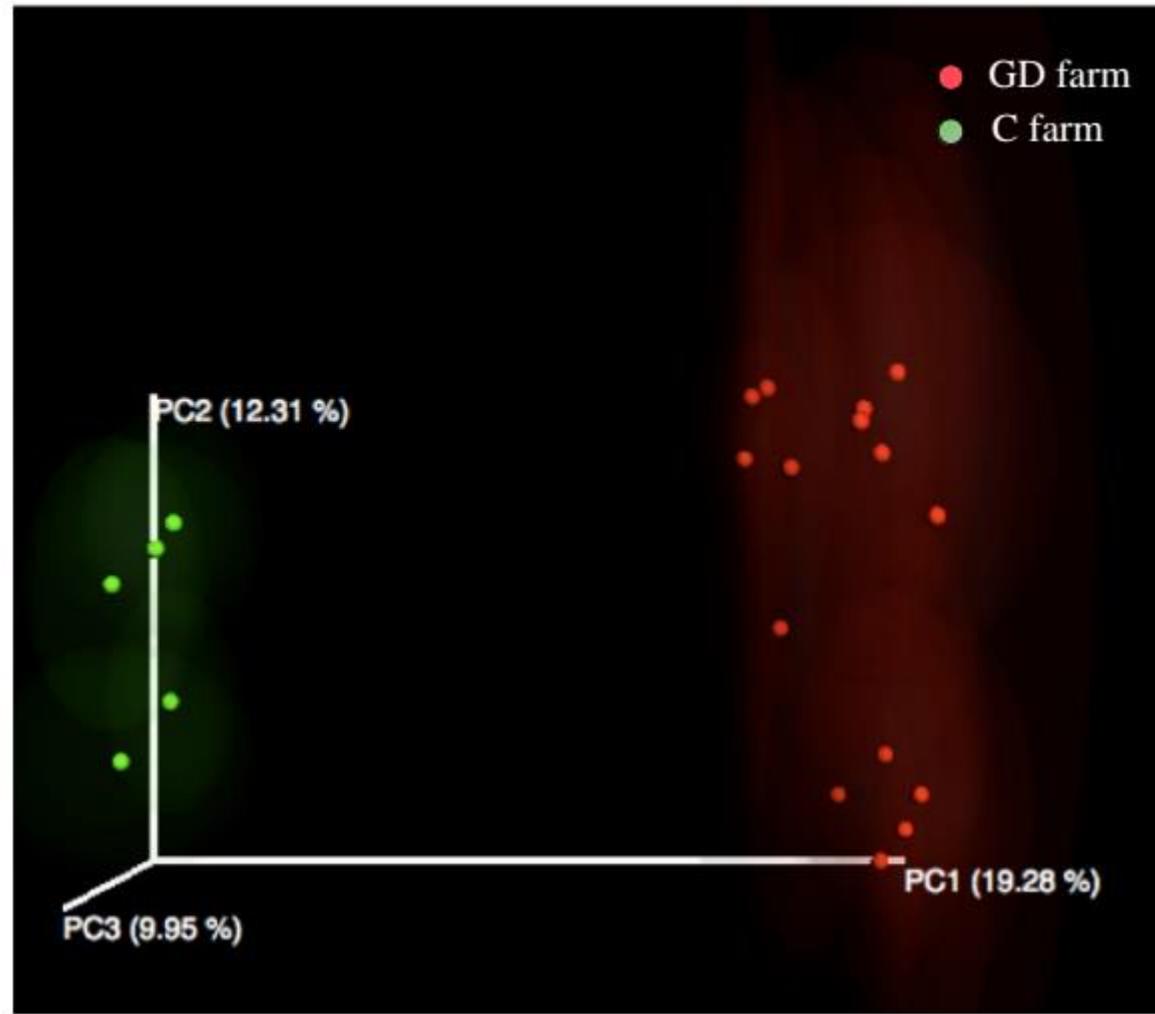
Microbiota nasal en salud y enfermedad



Control Glässer

Phylum	%	%
<i>Bacteroidetes</i>	26.1250	29.1804
<i>Firmicutes</i>	30.3821	19.0583
<i>Proteobacteria</i>	36.9336	44.1926
<i>Tenericutes</i>	2.3707	3.1578

Microbiota nasal en salud y enfermedad

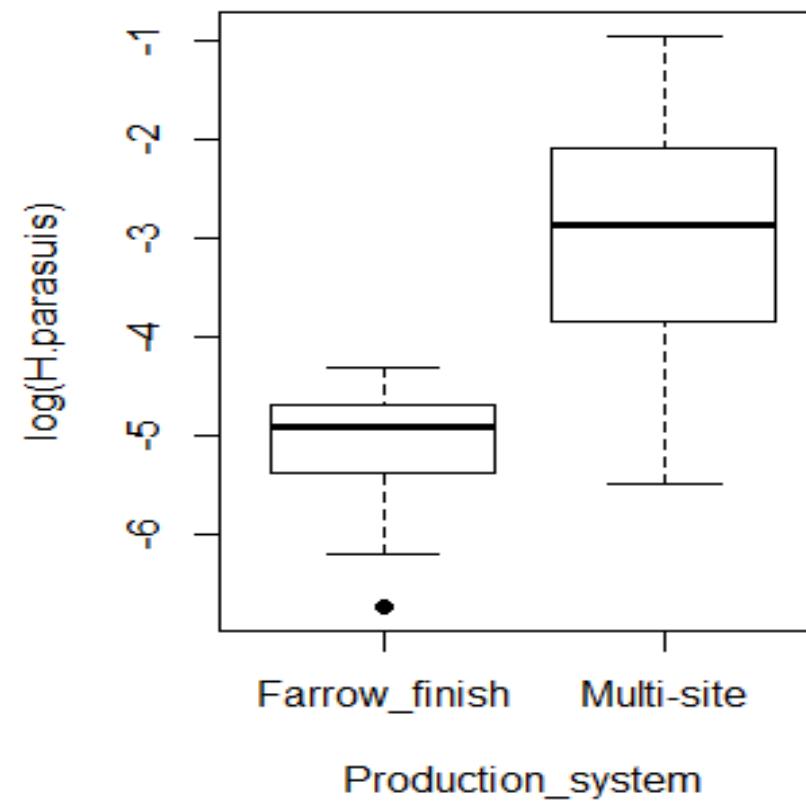
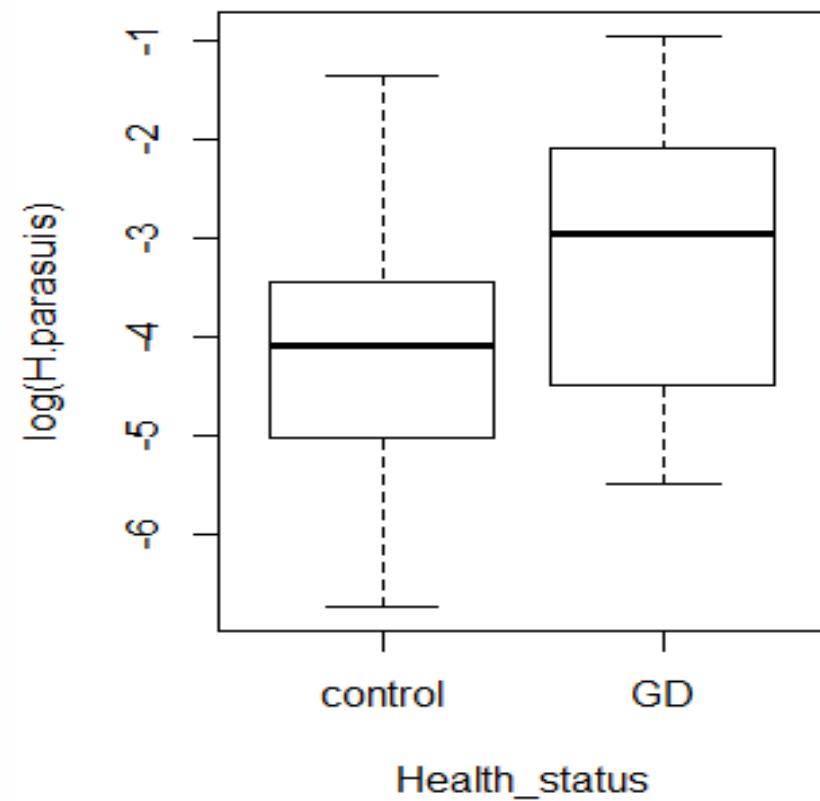


Lechones de
cerdas del
mismo origen

Microbiota nasal en salud y enfermedad

Phylum	Order	Family	Genus	Glässer	Sanos
<i>Bacteroidetes</i>			<i>Bacteroides</i>	13.5458	< 26.7920
			<i>Barnesiella</i>	1.2499	4.6337
			<i>Prevotella</i>	1.6559	6.0845
			<i>Alistipes</i>	1.0668	1.4726
				0.8218	3.5809
<i>Firmicutes</i>				27.6055	< 40.7701
	<i>Clostridiales</i>			11.4187	32.7266
		<i>Lachnospiraceae</i>		4.8052	18.2475
		<i>Ruminococcaceae</i>		3.0923	8.8928
<i>Proteobacteria</i>				47.1815	> 27.1889
	<i>Pasteurellaceae</i>			13.3683	3.2420
			<i>Haemophilus</i>	11.4522	2.5269
		<i>Moraxellaceae</i>	<i>Moraxella</i>	29.4876	17.0946
<i>Tenericutes</i>			<i>Mycoplasma</i>	4.9747	> 0.0823

Asociación con estatus sanitario y producción



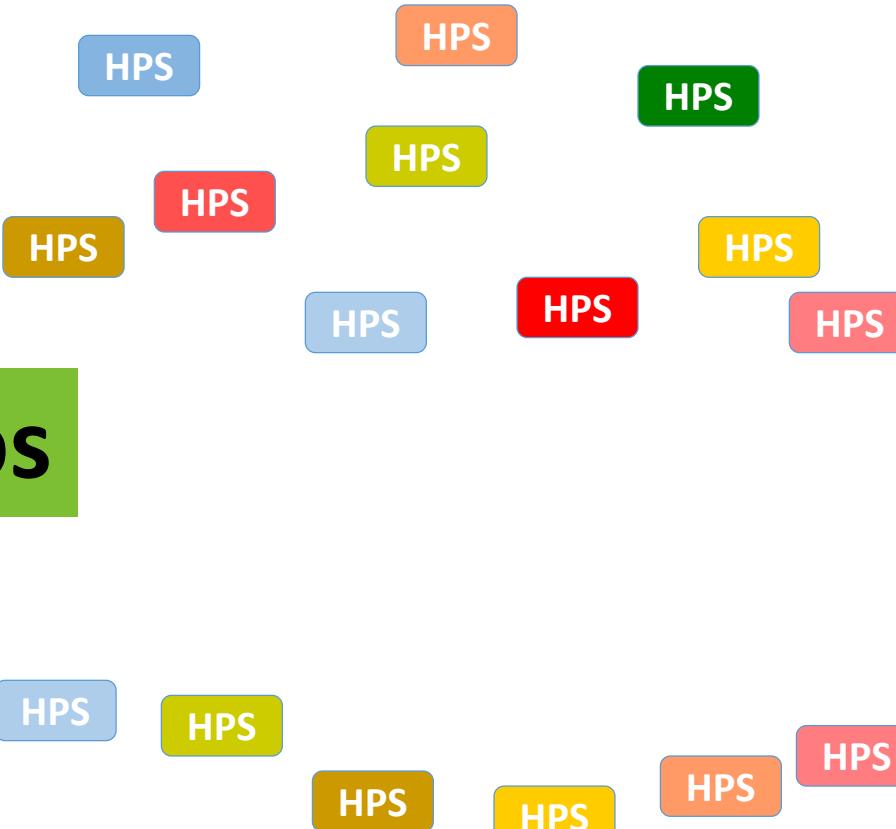
H. parasuis es heterogéneo

No-virulentos

Colonizador
No-invasivo

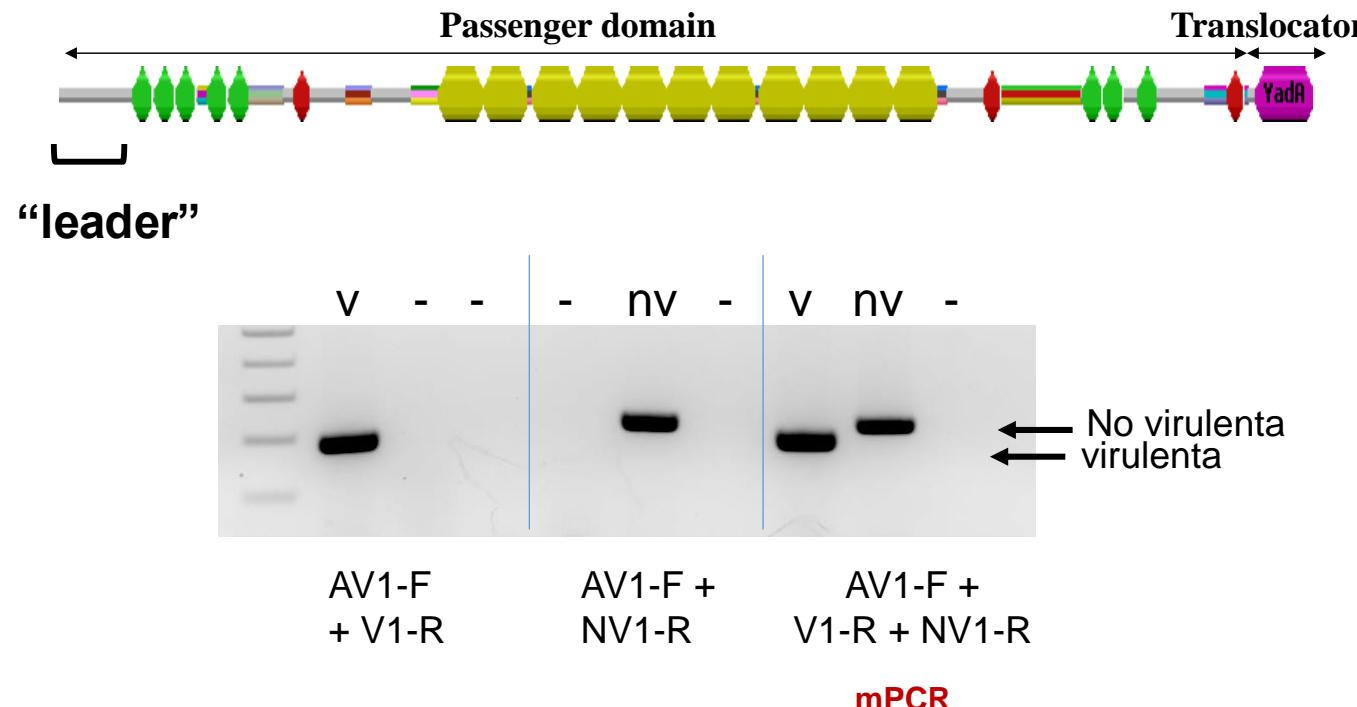
Virulentos

Enfermedad
Invasivo

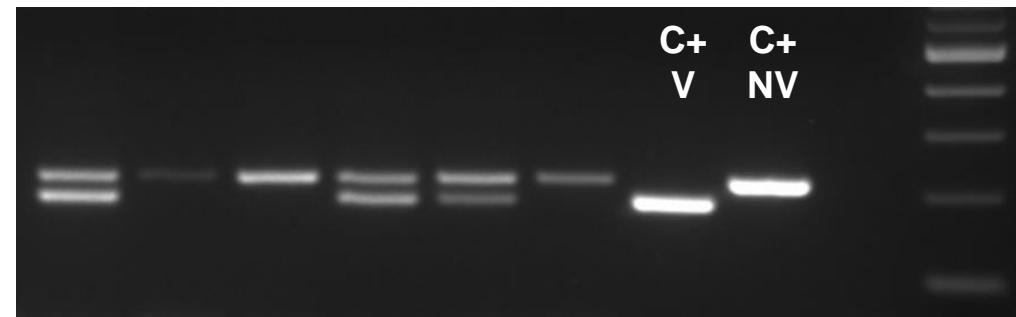


≠ serovares
≠ perfiles proteicos
≠ genotipos
....
≠ virulencia

PCR de diagnóstico y virulencia de *H. parasuis*

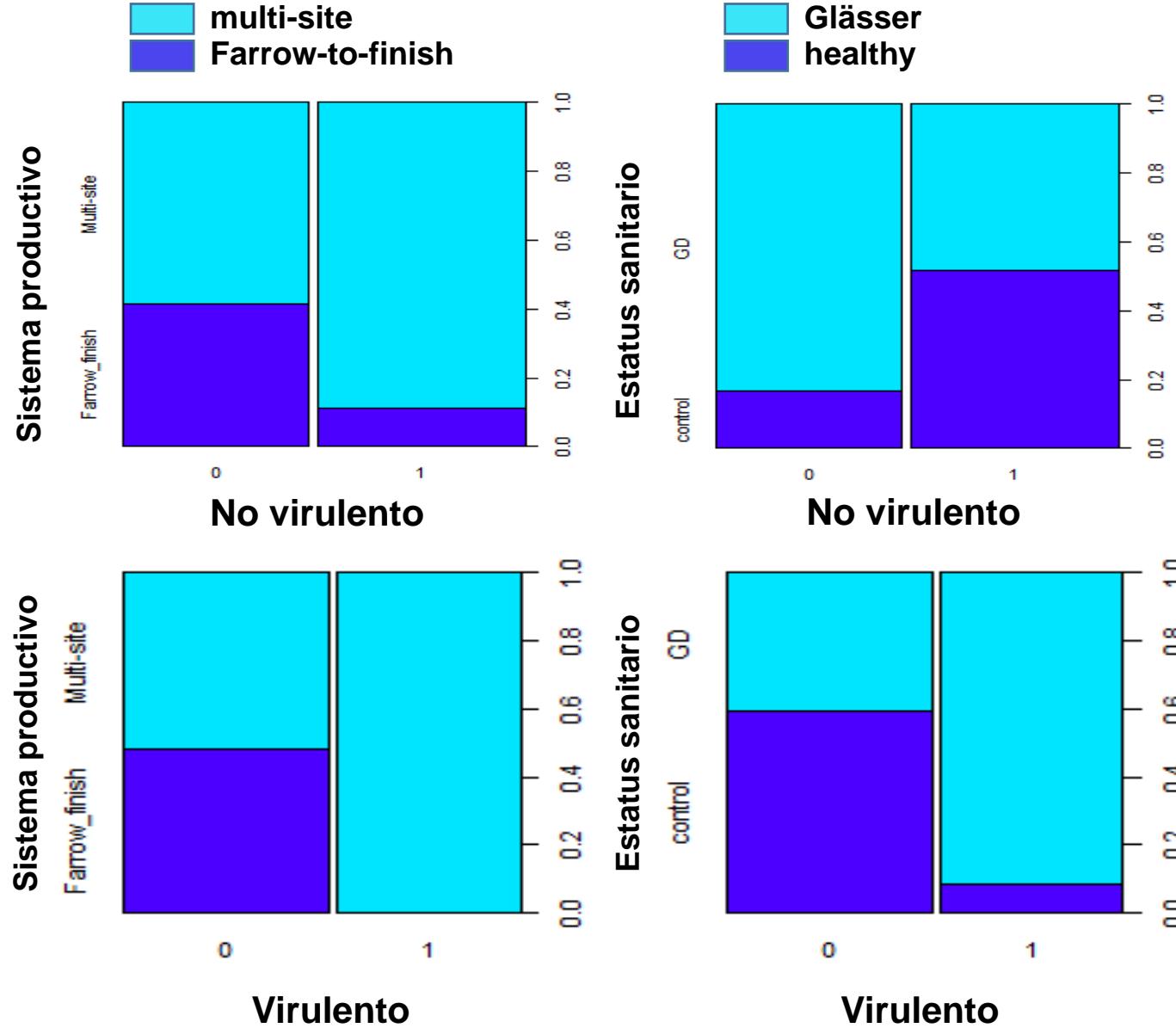


En hisopos nasales



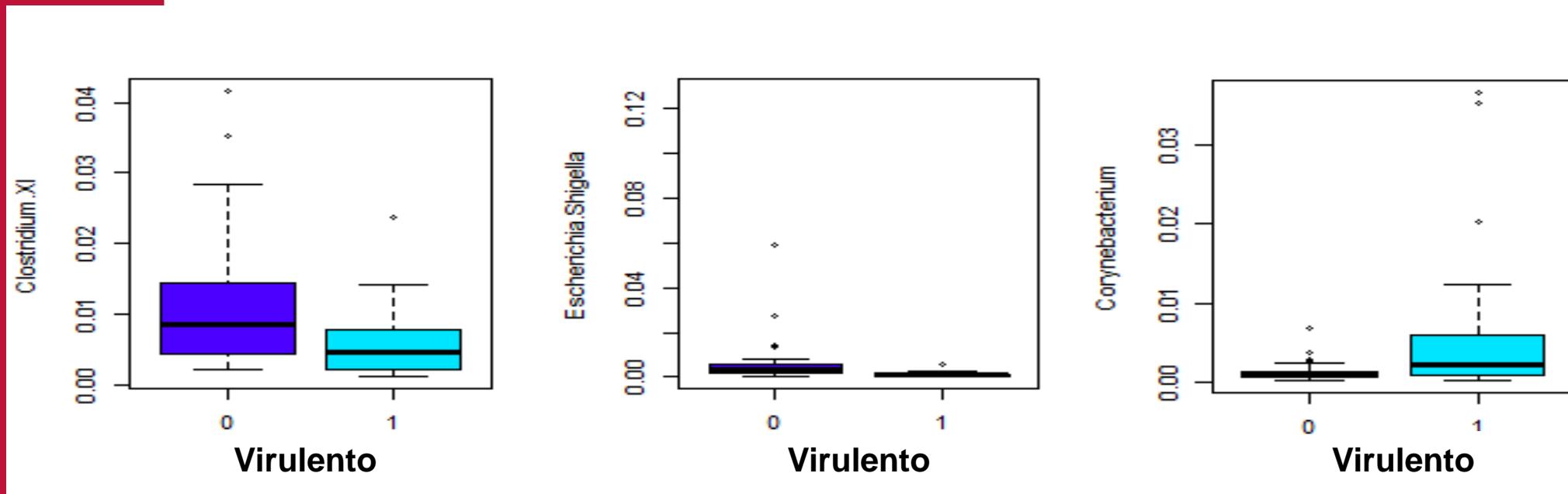
Asociación con estatus sanitario y producción

Granjas 2-3 fases
(multi-sitio) más
probabilidad de
tener cepas no-
virulentas y cepas
virulentas



Granjas con Glässer
asociadas a carecer
de colonización al
destete por cepas
no-virulentas y
tener virulentas

Asociación con otras bacterias de la microbiota

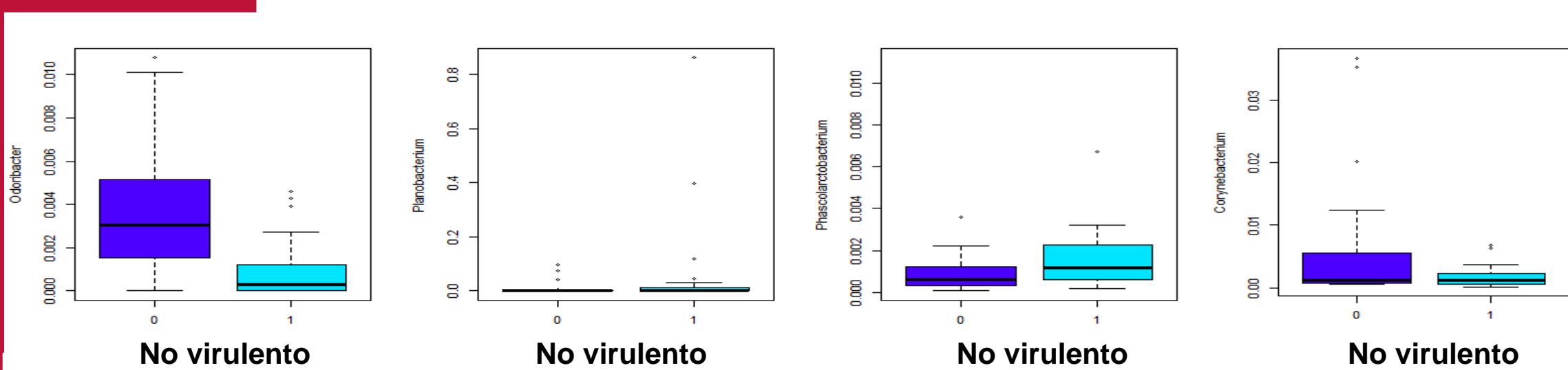


*Escherichia/Shigella
y Clostridium XI*



VIR

Asociación con otras bacterias de la microbiota

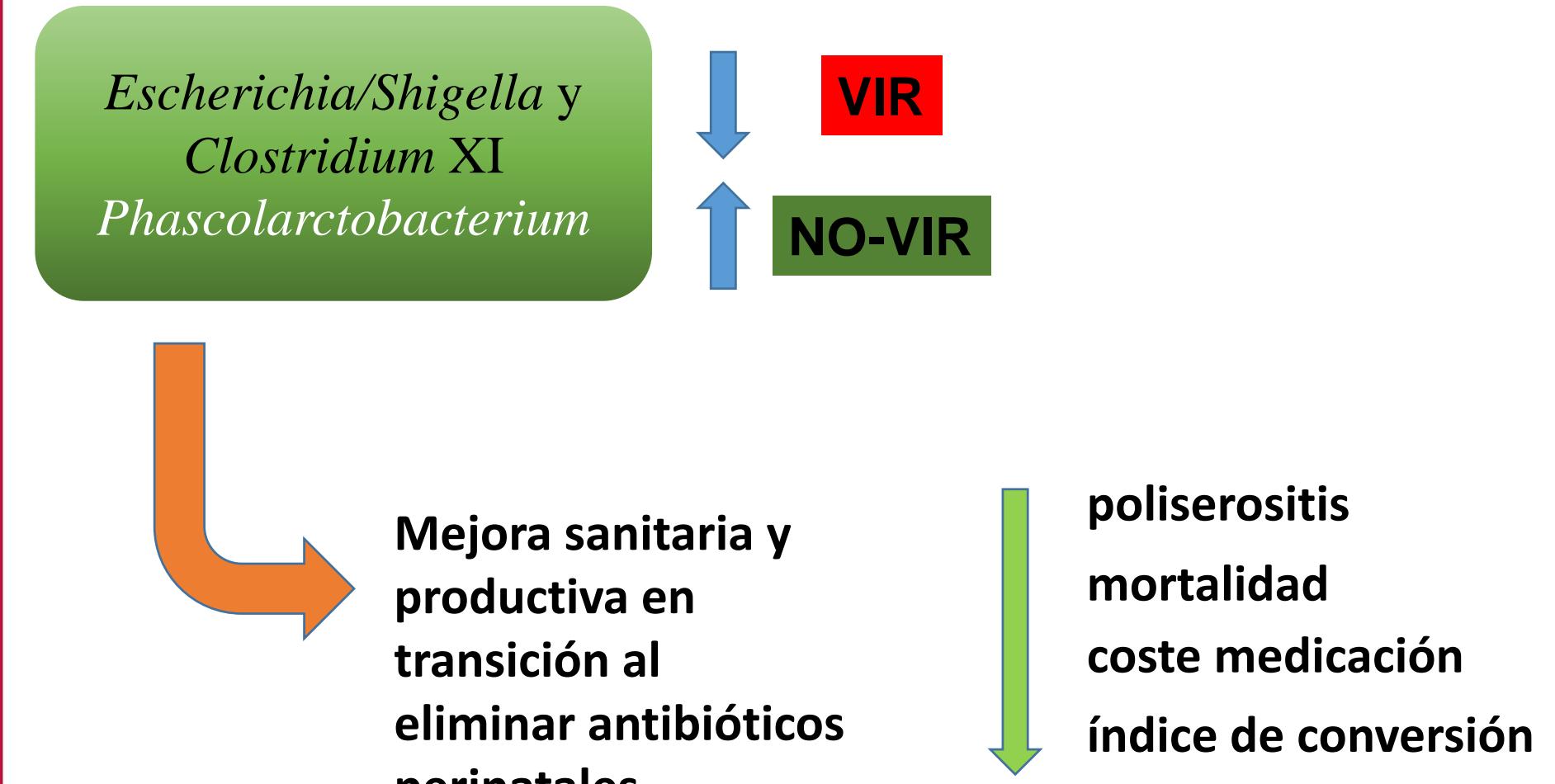


Phascolarctobacterium



↑ NO-VIR

Asociación con otras bacterias y uso de antibióticos



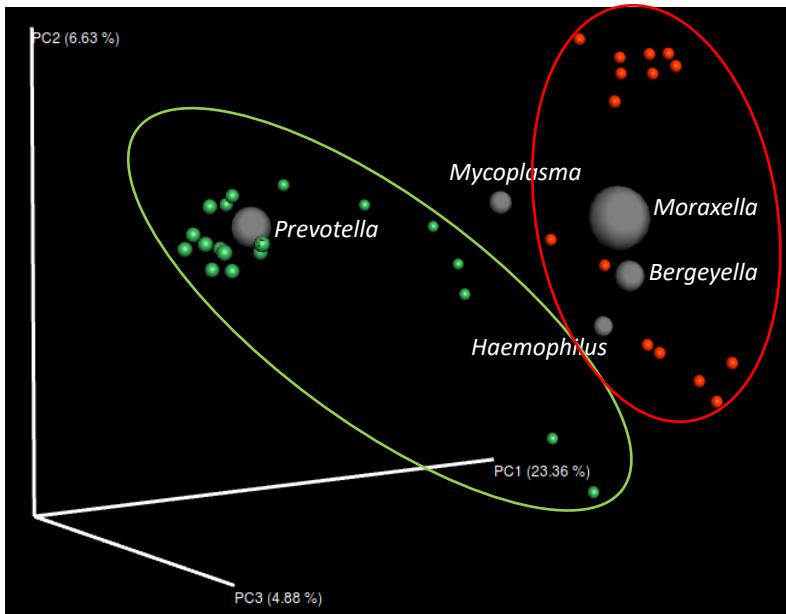
Correa-Fiz et al. *Scientific Reports* (2019) 9:6545

Asociación con otras bacterias y uso de antibióticos

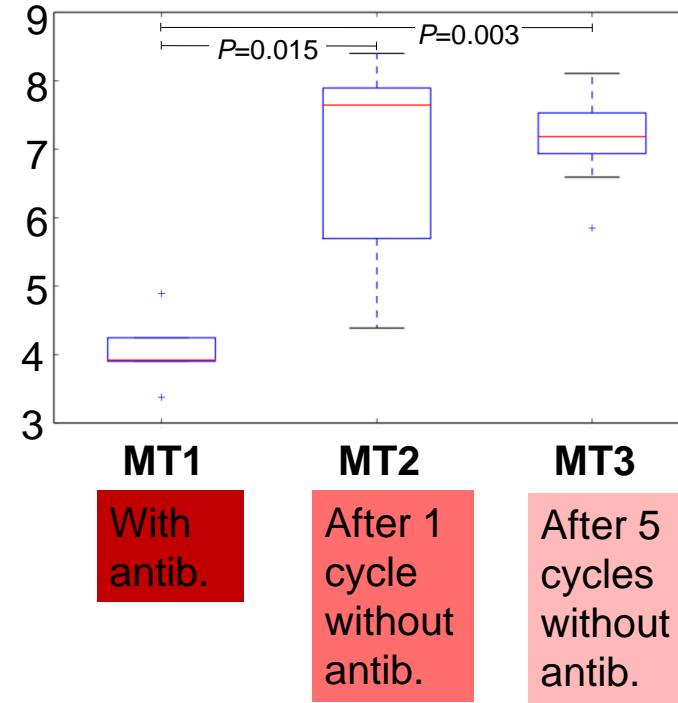
*Escherichia/Shigella
y Clostridium XI
Phascolarctobacterium*



Mejora en transición al
eliminar los antibióticos
perinatales



Shannon index



OTU	Relative abundance (%)					
	MT1	MT2	P	MC1	MC2	P
<i>Lactobacillus</i>	0.32	3.45	0.006	1.4	4.4	0.05
<i>Prevotella</i>	0.36	14.06	0.018	1.32	16.81	< 0.001
<i>Haemophilus</i>	13.89	2.93	0.05	0.9	2.2	0.55
<i>Mycoplasma</i>	3.05	0.58	0.003	6.71	10.32	0.81
<i>Moraxella</i>	34.22	9.18	0.008	34.03	3.19	< 0.001
<i>Bergeyella</i>	23.27	4.37	0.001	8.22	0.00	< 0.001
<i>Campylobacter</i>	0.00	1.88	0.03	0.03	2.88	0.02
<i>Neisseria</i>	4.93	4.26	0.78	1.00	0.02	0.003

Uso de antibióticos



- Pueden inducir resistencias
- Pueden afectar la respuesta immune frente a *G. parasuis*

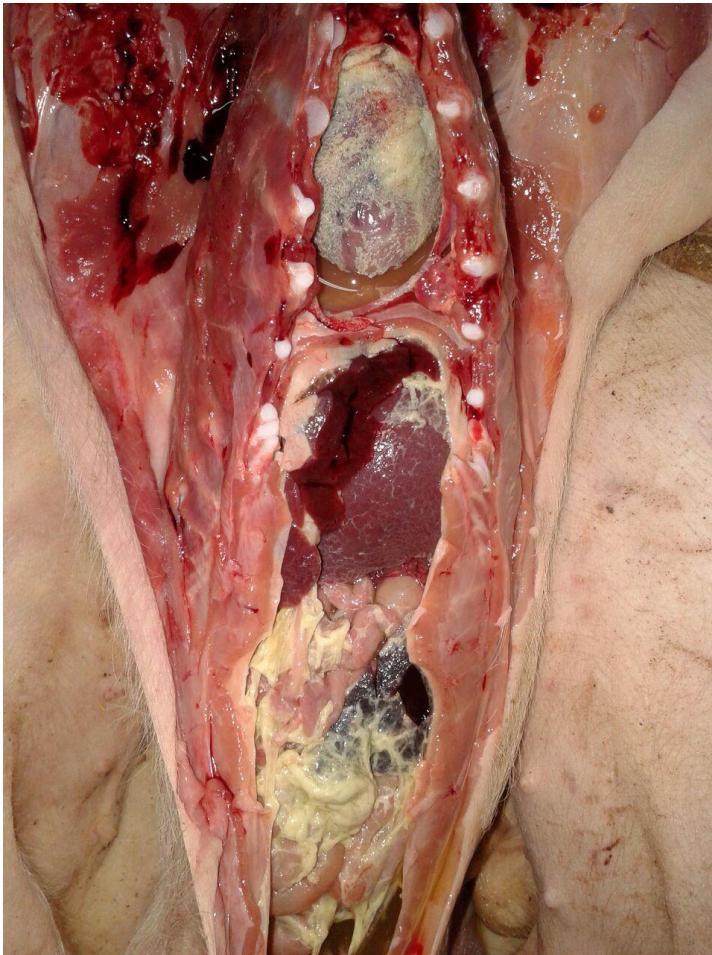
Macedo et al. Effect of enrofloxacin on *Haemophilus parasuis* infection, disease and immune response. Vet Microbiol. 2017 199:91-99.



- Pueden reducir la diversidad de la microbiota y modificar su composición
 - Afectando la colonización de cepas de *G. parasuis* de distinta virulencia

Mycoplasma hyorhinis

Poliserositis por *M. hyorhinis*



Microbiota nasal como factor predisponente



Granjas sanas
control

VS



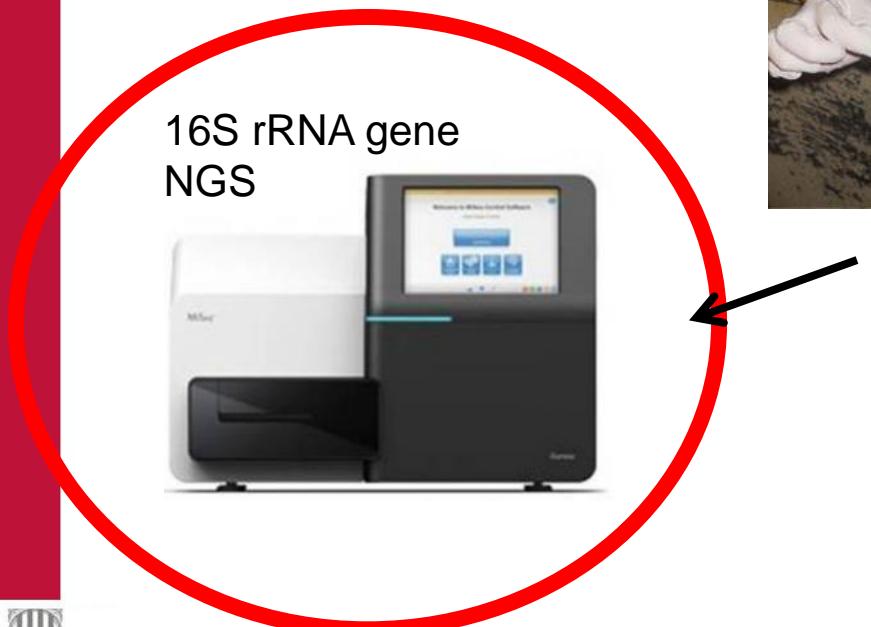
Granjas con poliserositis
por *M. hyorhinis*

10 lechones / granja

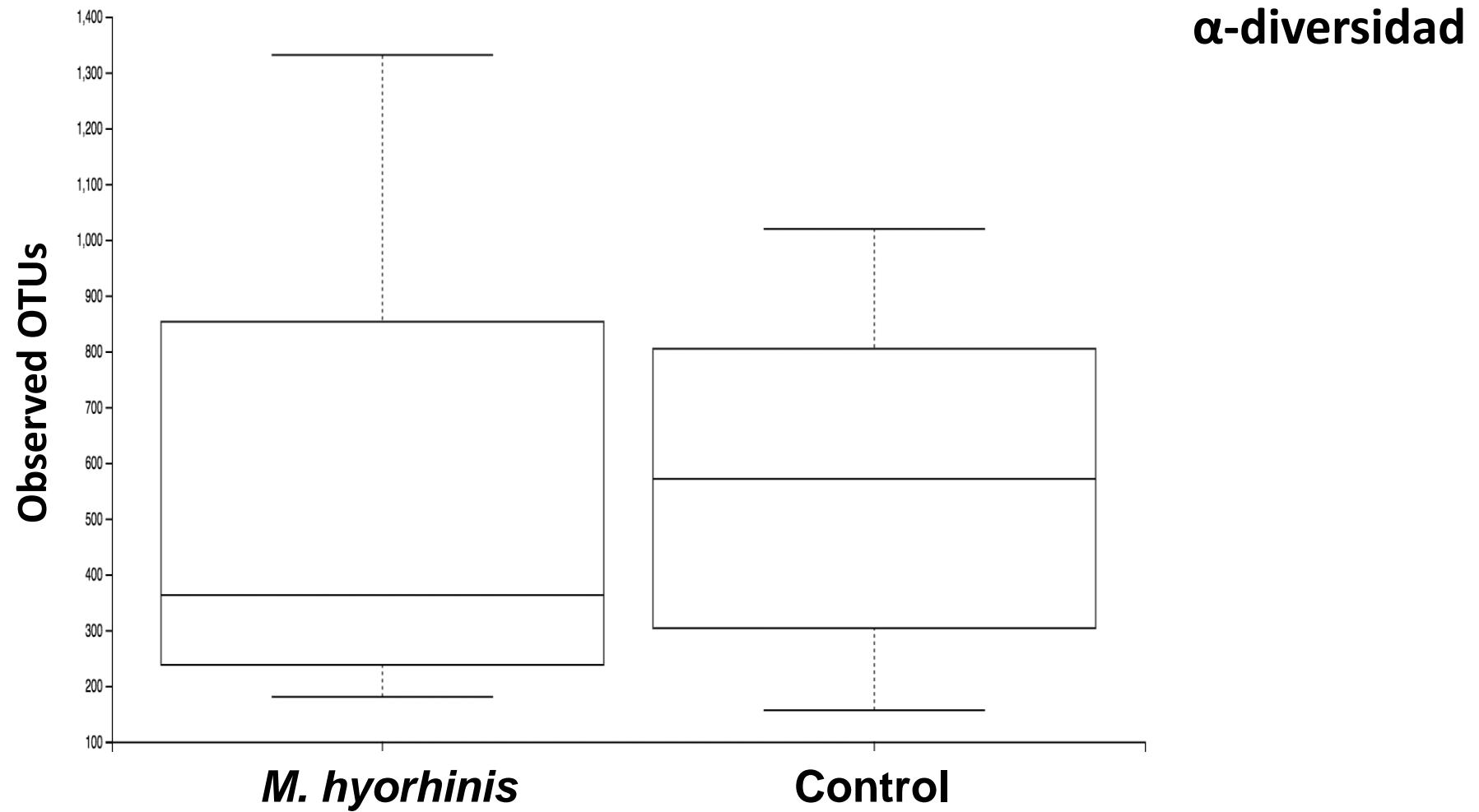


AI destete

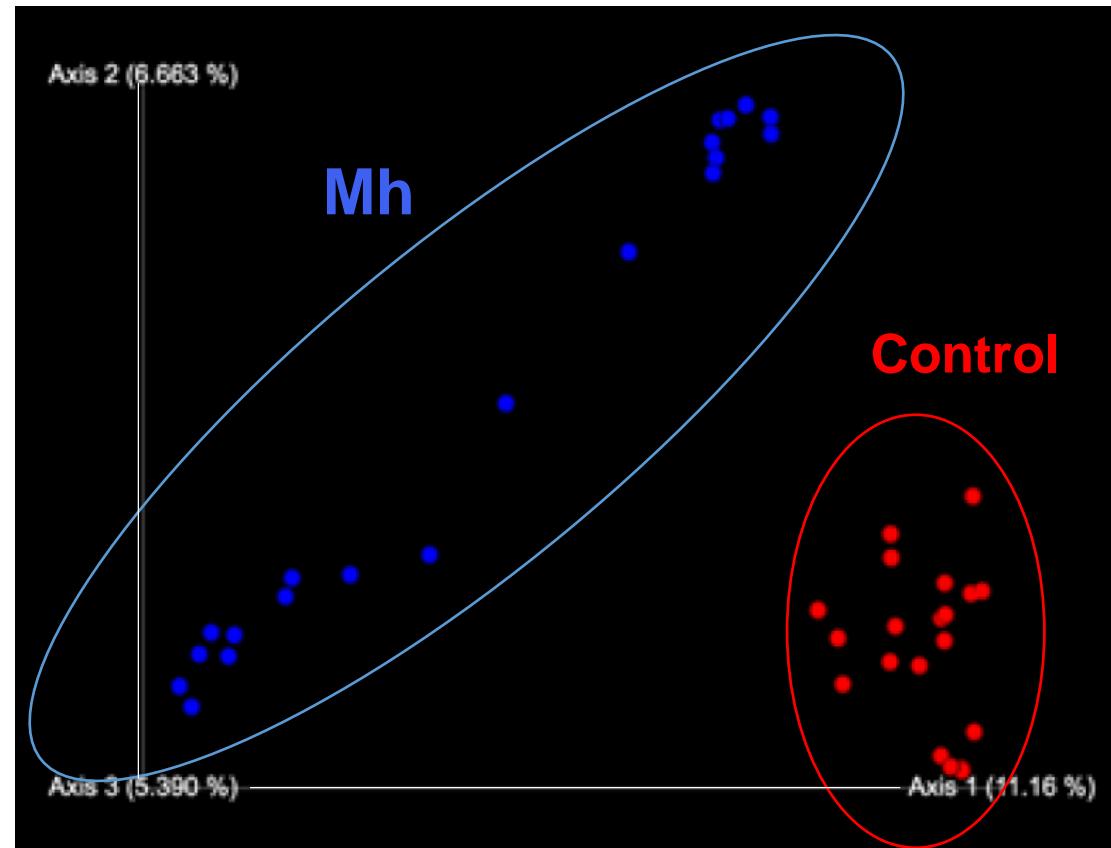
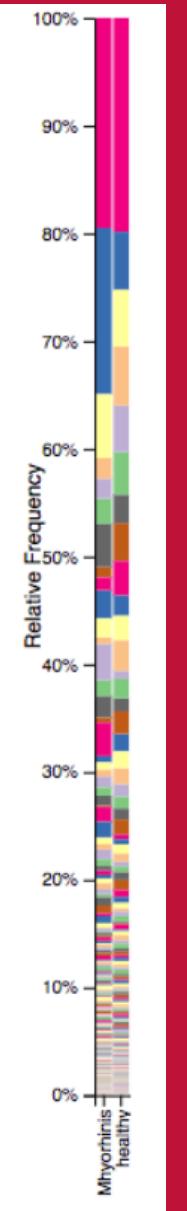
Antes de
enfermar



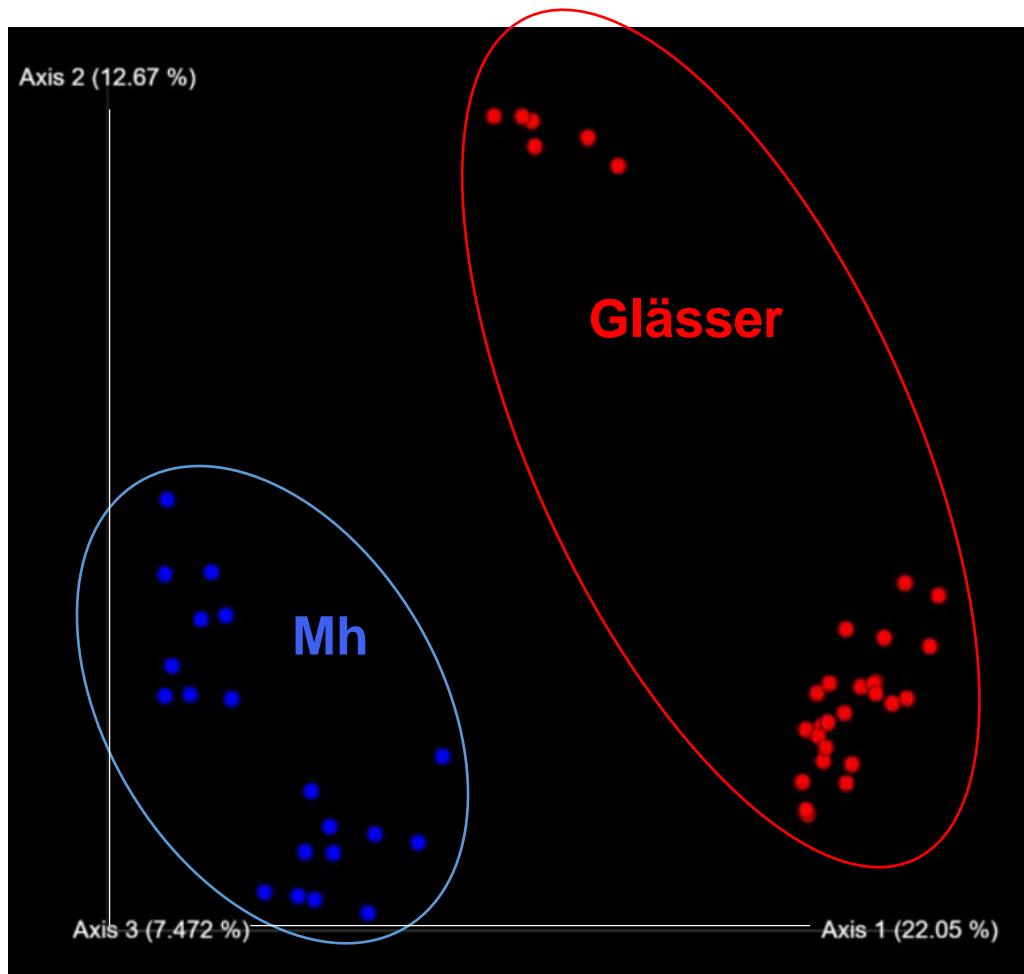
Microbiota nasal como factor predisponente-*Mhyorhinis*



Microbiota nasal como factor predisponente-*Mhyorhinis*

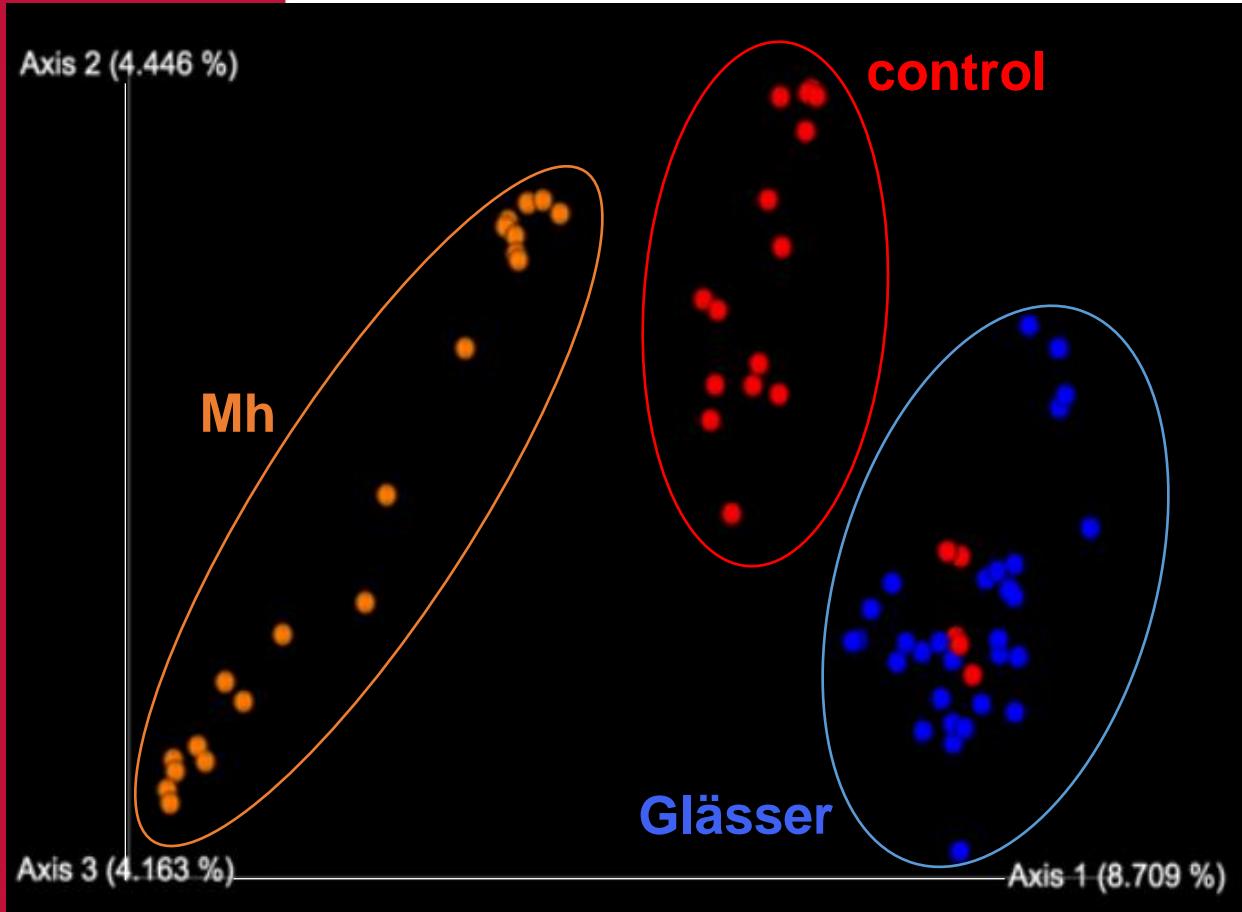


Microbiota nasal como factor predisponente-*Mhyorhinis*

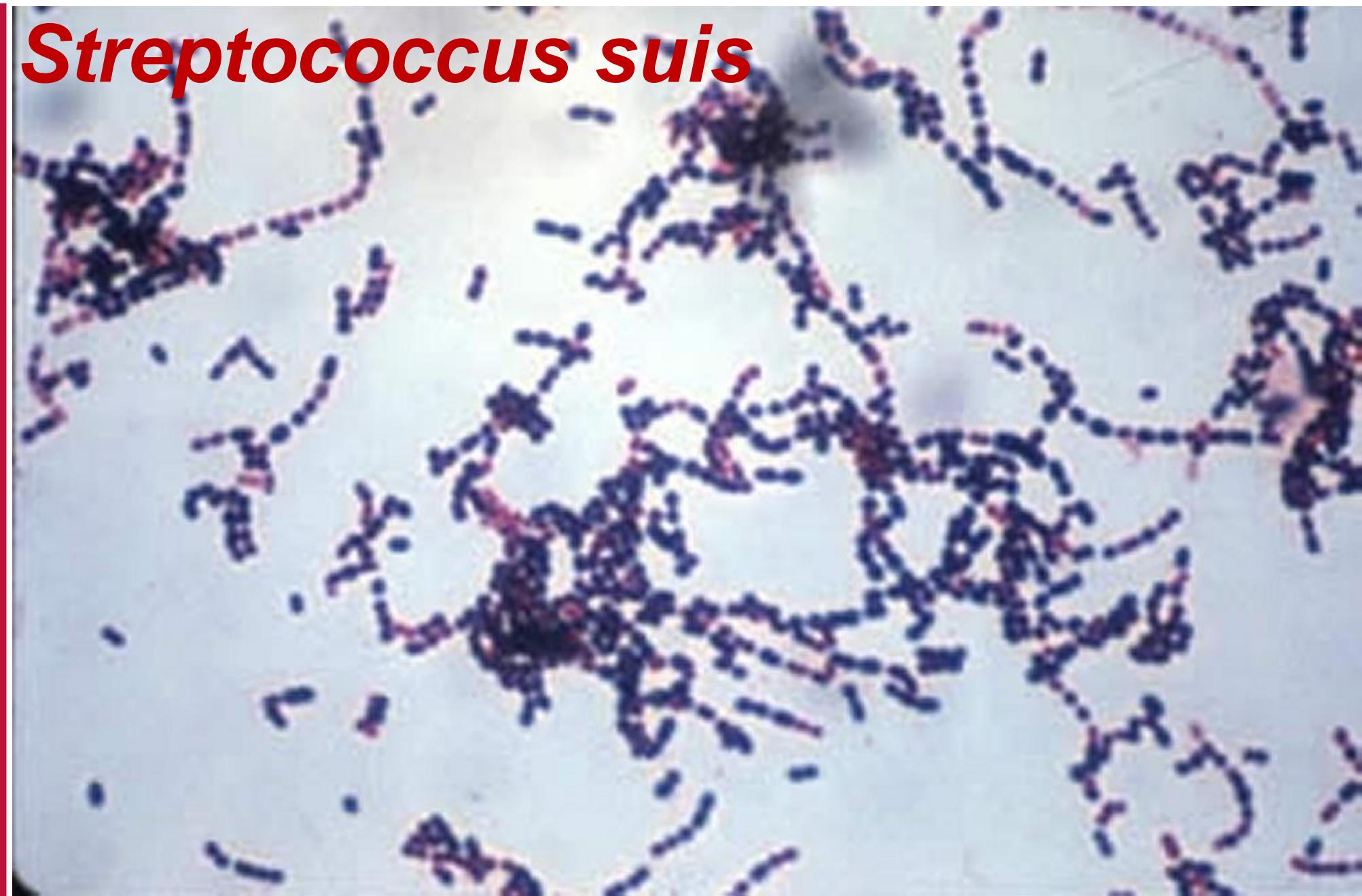
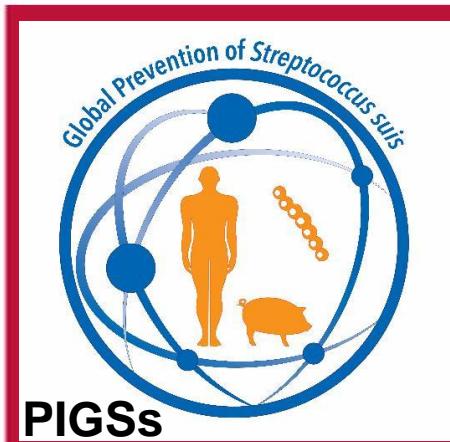


Predisposición a Glässer
or *Mhyorhinis*

Microbiota nasal como factor predisponente-*Mhyorhinis*



	C	GD	MH
<i>M. Hyorhinis</i>	0,283	0,760	1,121
<i>H. parasuis</i>	1,121	3,845	0,324

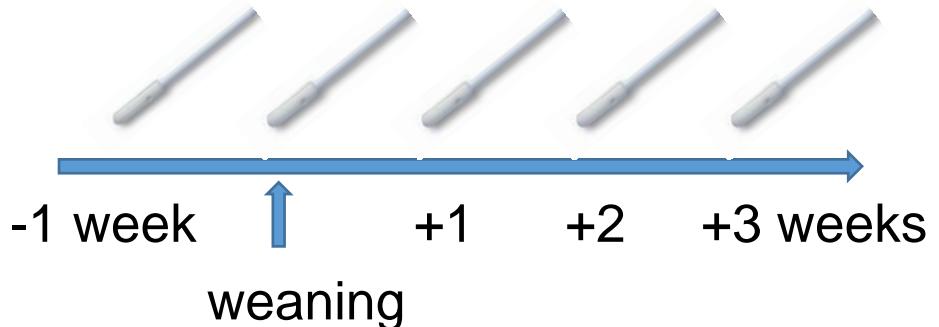


Microbiota de tonsila y *S. suis*



Granja con enfermedad (RC)

Muestras: 40 lechones, 5 por madre



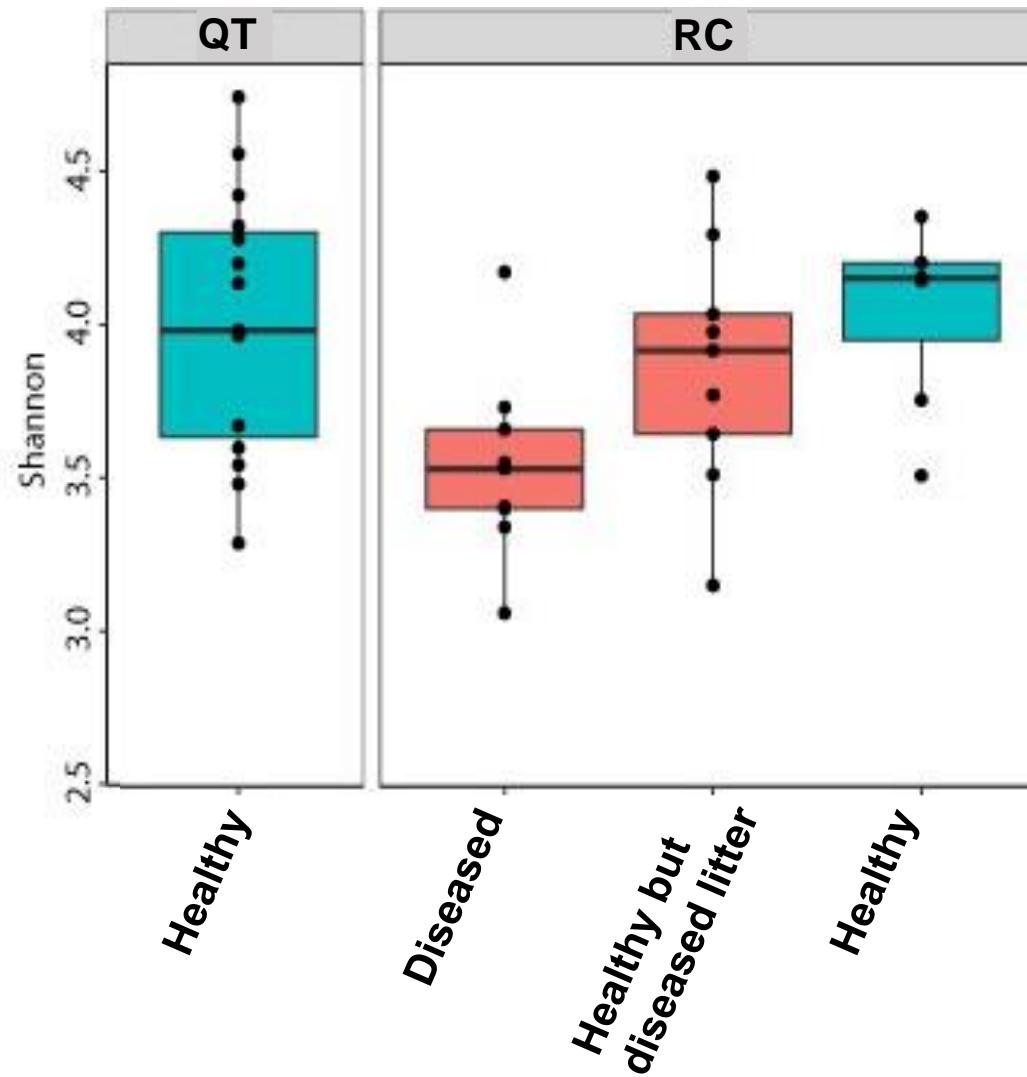
	Healthy	Sick	Extra sick piglets
-1 week	39	1 (arthritis)	
at weaning	40	-	
+1 week	39	1 (nervous signs)	
+2 weeks	32	5 (arthritis/nervous signs) 2 (diarrhea) 1 (dead)	1 sick (arthritis); died at +3 weeks
+3 weeks	33	6 (arthritis/nervous signs)	2 sick (nervous signs)

Granja control (QT)

Muestras: 20 lechones, 2 por madre



Microbiota de tonsila y *S. suis*



α -diversity

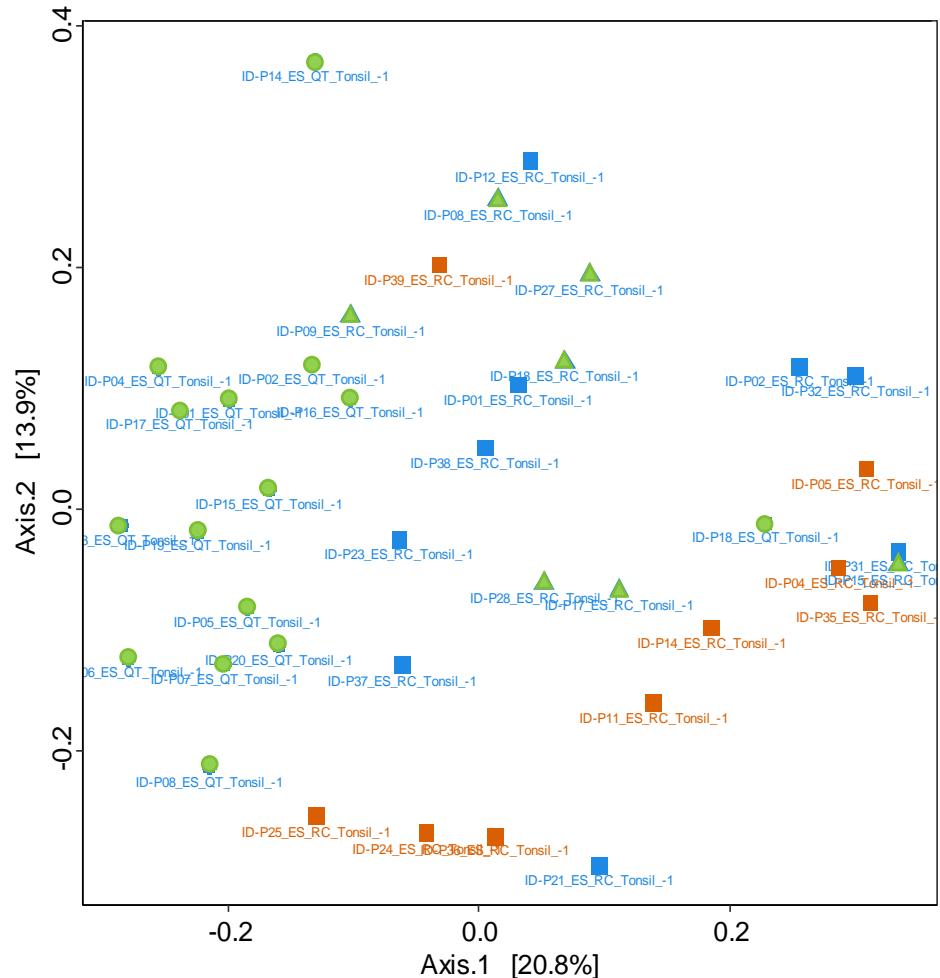
1 week pre-weaning

Microbiota de tonsila y *S. suis*



PIGSs

1 week pre-weaning



QT ● Healthy

RC ▲ Healthy
■ Healthy but diseased litter
▨ Diseased

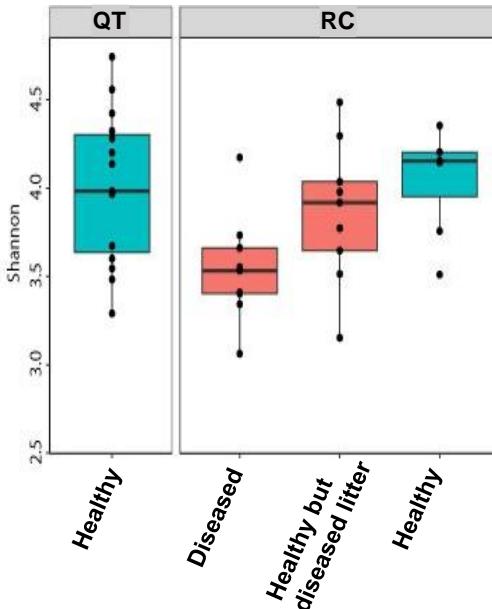
Los lechones que después desarrollan enfermedad por *S. suis* tienen una microbiota diferente antes del destete que los que se mantienen sanos



Diferencias en la microbiota tonsilar



Comparando los 5 sanos más diversos con los 5 enfermos menos diversos



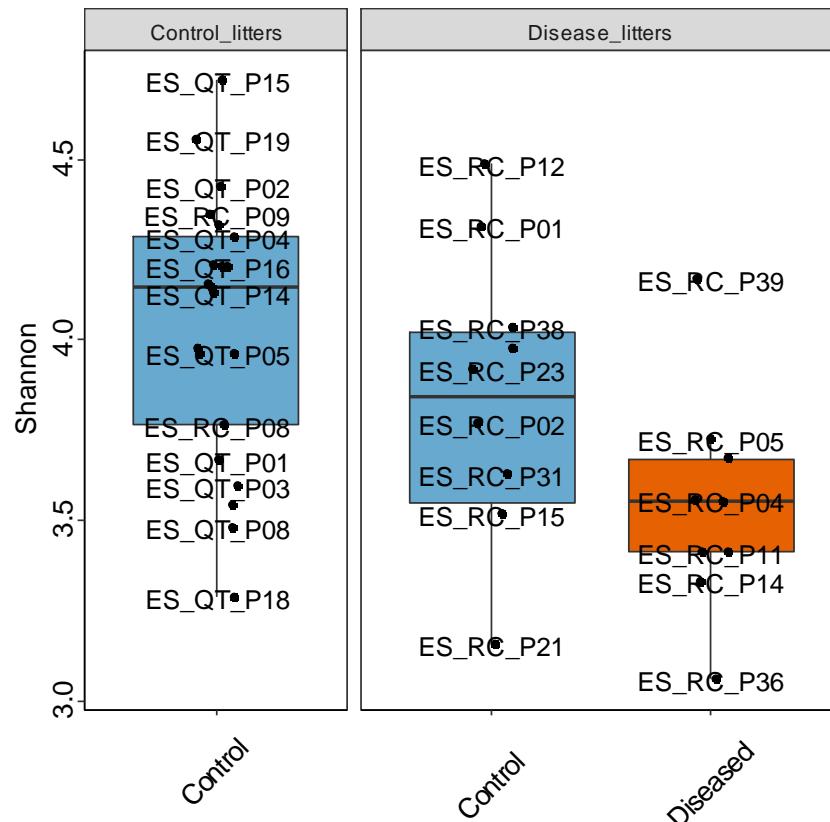
Genus	Abundancia relativa	
	Sanos	<i>S. suis</i>
<i>Moraxella</i>	6.79	1.14
<i>Alloprevotella</i>	4.06	10.53
<i>Moraxella</i>	3.08	4.44
<i>Actinobacillus</i>	2.98	10.03
<i>Actinobacillus</i>	2.45	0.27
<i>Streptococcus</i>	1.85	5.25
<i>Actinobacillus</i>	1.76	5.73
<i>Actinobacillus</i>	0.72	0.20
<i>Porphyromonas</i>	1.81	0.45
<i>Moraxella</i>	3.54	0.21
<i>Actinobacillus</i>	0.64	0.06
<i>Actinobacillus</i>	0.21	0.28
<i>Moraxellaceae unclass.</i>	2.09	0.42
<i>Dysgonomonas</i>	1.45	0.49
<i>Actinobacillus</i>	0.89	3.65
<i>Actinobacillus</i>	0.29	0.03
<i>Actinobacillus</i>	0.06	0.01
<i>Rothia</i>	0.33	0.09
<i>Actinobacillus</i>	0.90	0.05
<i>Leptotrichiaceae unclass.</i>	1.04	0.31

Determinación
específica de
cada taxón

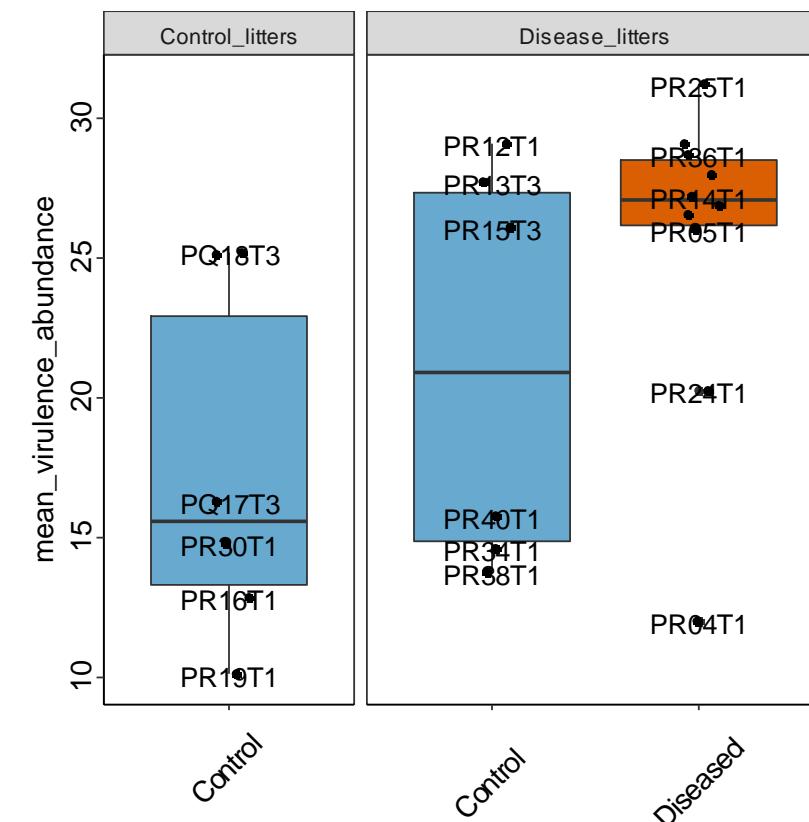
Diferencias en la microbiota tonsilar



Microbiota diversity (pre-weaning)



S. suis mean virulence gene abundance (post weaning)



- La diversidad de la microbiota es beneficiosa
- La composición de la microbiota nasal/tonsilar tiene influencia en el desarrollo posterior de enfermedades respiratorias
- Es necesaria una definición de la microbiota a nivel de cepas, ya que puede ser una fuente de bacterias beneficiosas que pueden ayudar en el control de las enfermedades respiratorias
- El uso de antibióticos (especialmente los perinatales) pueden inducir dysbiosis y causar mayor susceptibilidad a enfermedades

Agradecimientos

CReSA

Centre de Recerca en Sanitat Animal

Yasser Mahmod

Marina Sibila

Miguel Blanco

Flor Correa-Fiz

Carlos Neila

Nuria Galofré-Milà

Eva Huerta



Universitat
de Lleida

Lorenzo Fraile



Jerry Wells

Simen Fredriksen



Veterinarios, productores

Gracias por su atención

