

Cybulski P.<sup>1</sup>, Michalik E.<sup>1</sup>, Jabłoński A.<sup>2</sup>,  
Veterinary Surgery Goodvalley (formerly Poldanor S.A.) in Przechlewo<sup>1</sup>, Department of Swine Diseases, National Veterinary Research Institute, Puławy<sup>2</sup>

This article aims at the presenting new data on the involvement of spiral organisms in porcine enteropathies. Porcine intestinal spirochaetes of the *Brachyspira* genus include strongly hemolytic *B. hyodysenteriae* and weakly haemolytic *B. pilosicoli* species. They are causative agents of diseases associated with significant production losses: swine dysentery and intestinal spirochetosis, respectively. The pathogenic potential of other *Brachyspira* species has not been investigated for many years. Currently, it was verified that at least three, strongly haemolytic species, namely *B. hamptonii*, *B. suanatina*, *B. murdochii*, may also cause colitis, macroscopically and clinically indistinguishable from swine dysentery. Routine diagnostic procedures include bacterial culture, based on hemolytic pattern, and genus-specific polymerase chain reaction, based on *nox* gene. Sequencing of the *nox* gene could potentially lead to discover new pathogenic species. The aim of this paper was to provide essential information about the etiopathogenesis, prevalence, diagnostic tools and treatment of other porcine enteropathies caused by newly recognised spirochaetes: *B. hamptonii*, *B. suanatina* and *B. murdochii*.

**Keywords:** porcine enteropathy, spirochetal organisms, *Brachyspira* spp.

Spośród wszystkich zidentyfikowanych Obecnie krętków z rodzaju *Brachyspira*, różniących się wachlarzem nosicieli oraz patogennością, najlepiej poznane są dwa: *Brachyspira hyodysenteriae* oraz *Brachyspira pilosicoli*. Oba gatunki są przyczynami enteropatii i występują wszędzie tam, gdzie prowadzona jest produkcja trzody chlewnej (1, 2, 3). Pozostałe gatunki *Brachyspira* przez wiele lat uznawano za drobnoustroje komensalne. Zgromadzone współcześnie dowody pozwoliły wyodrębnić inne patogenne krętki zdolne do kolonizacji okrężnicy. Doniesienia o silnie hemolitycznych szczepach nierozpoznanych jako *B. hyodysenteriae* burzą fundamenty klarownego i ukształtowanego przez lata

## Enteropatie krętkowe świń – nowe dane etiologiczne

Piotr Cybulski<sup>1</sup>, Edyta Michalik<sup>1</sup>, Artur Jabłoński<sup>2</sup>

z Gabinetu Weterynaryjnego Goodvalley (dawniej Poldanor S.A.) w Przechlewie<sup>1</sup> oraz Zakładu Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach<sup>2</sup>

podziału enteropatii krętkowych świń na dwie choroby.

Historycznie ujmując, hemoliza była czynnikiem wystarczającym do odróżnienia krętków *Brachyspira* patogennych od niepatogennych. Obecnie zdolność do niszczenia krwinek czerwonych wokół kolonii bakteryjnych na podłożach jest bardzo dobrym wskaźnikiem wirulencji bakterii z tego rodzaju, jednak nie wystarcza już do pełnej identyfikacji patogenu. Metodą diagnostyczną, aktualnie z powodzeniem stosowaną w rozpoznawaniu zakażeń *Brachyspira*, jest reakcja łańcuchowa polimerazy – PCR (4). Wysoka zmienność regionu kodującego NADH oksydazę (gen *nox*) umożliwia rozpoznanie gatunkowe krętków. Inną rozwijaną i równie efektywną metodą diagnostyczną jest spektrometria masowa (MALDI-TOF) (5).

Tylko w niewielu krajach podjęto próbę określenia prevalencji wszystkich znanych krętków świń należących do rodzaju *Brachyspira*. O skali problemu mogą świadczyć wyniki badań szwedzkich, w których w 58% spośród prawie 20 tys. próbek kału od świń z biegunką wyizolowano krętki *Brachyspira*. Ponad 1/4 z nich (25,4%) sklasyfikowano jako *B. hyodysenteriae*, a 16,4% jako *B. pilosicoli*. Łącznie aż 58,2% zidentyfikowano jako inne krętki: *B. intermedia*, *B. innocens* i *B. murdochii* (6).

Wszystkie krętki *Brachyspira* (poza *B. pilosicoli*) są ze sobą bardzo blisko spokrewnione. W związku z występowaniem szczepów o zróżnicowanej zjadliwości brak pełnych objawów klinicznych *colitis* w określonej fermie czy grupie produkcyjnej świń nie może być interpretowany jako brak patogenu.

### *Brachyspira murdochii*

Podobnie jak w przypadku innych opisywanych w tym artykule gatunków jej

nazewnictwo i klasyfikacja ulegały przekształceniom (7). Pierwotnie opisana została jako *Serpulina murdochii* – od australijskiego Murdoch University (8). Poza trzodą chlewną izolowano ją także u drobiu (9).

Badanie histopatologiczne przewodu pokarmowego warchlaków zakażonych *B. murdochii* wykazało, że podobnie jak *B. hyodysenteriae* i *B. pilosicoli* ma ona zdolność do kolonizacji powierzchni i krypt okrężnicy. W porównaniu z przebiegiem dyzenterii i spirochetozы zmiany histopatologiczne śluzówki okrzężnicy były łagodniejsze. Rozrost krypt Lieberkühna był porównywalny z obserwowanym przy dwóch wymienionych wyżej chorobach, przy czym nie obserwowano w tym miejscu ubytku enterocytów. Badanie zostało przeprowadzone na zwierzętach zakażonych naturalnie w warunkach duńskiej fermy. Część z nich była dodatkowo zakażona *Lawsonia intracellularis* (10).

Drobnoustroj ten został też wyizolowany ze zmienionego stawu. Pojedyncza izolacja jest jednak dość wątłym dowodem na ogólnoustrojowe zakażenie u świń, szczególnie że nie opisano tego zjawiska przy żadnym innym krętku *Brachyspira* (11).

Niektórzy autorzy spekulują, że stopień zaawansowania zmian patologicznych okrężnicy po zakażeniu *B. murdochii* wzrasta przy obecności rzęśnistków *Trichomonas* spp. (12). Nie jest to jedyne doniesienie dotyczące analizy profilu mikrobiologicznego śluzówki jelita grubego w kontekście zakażenia krętkami z rodzaju *Brachyspira* (13). Dalsze badania flory bakteryjnej jelit z pewnością znacznie przysłużą się wyjaśnieniu mechanizmów łączących u podstaw kolonizacji patogenów i rozwoju objawów *colitis* (bądź też ich braku). Na tym etapie nie można również wykluczyć hipotezy, że w pewnych warunkach szczepy słabo hemolityczne mogą

mieć pozytywny wpływ na funkcjonowanie przewodu pokarmowego świń.

Istnieje niewiele doniesień dotyczących częstotliwości występowania omawianego patogenu w stadach świń. Spośród europejskich raportów o najwyższej prevalencji mówią raporty z Półwyspu Iberyjskiego – prawie połowę spośród słabo hemolitycznych izolatów *Brachyspira* pozyskanych od portugalskich i hiszpańskich świń z biegunką zidentyfikowano jako *B. murdochii* (14). Praktycznie te same wnioski, wyciągnięte na podstawie badania próbek pochodzących z regionów o największym znaczeniu dla krajowej produkcji trzody chlewnej, przedstawiają naukowcy norwescy (15). W badaniach prowadzonych w Argentynie dowiedziono obecność patogenu w 30,8% tamtejszych tuczarni (16). Z kolei w testach amerykańskich w 52,4% próbek wyizolowano *Brachyspira* spp. Prawie 71% z nich zidentyfikowano jako *B. murdochii* (17).

W swojej praktyce lekarsko-weterynaryjnej autorzy artykułu spotkali się z przypadkiem zakażenia *B. murdochii* u warchlaków w jednej z ferm wielkotowarowych na terenie północnej Polski. Objawy kliniczne oraz zmiany sekcyjne wskazywały pierwotnie na spirochetozę. Ujemny wynik badania PCR w kierunku *B. pilosicoli* i *B. hyodysenteriae* skłonił do dalszego dochodzenia. Z pomocą szwedzkiego laboratorium w próbkach zbiorczych kału pobranego od zwierząt z pełnymi objawami zakażenia wyizolowano *B. murdochii* wraz z *B. innocens*. Inne przyczyny wystąpienia opisywanych wyżej objawów zostały wykluczone.

### Brachyspira hamptonii

W 2012 r. spośród północnoamerykańskich przypadków *colitis haemorrhagica* świń wyodrębniono silnie beta-hemolityczne izolaty *Brachyspira* (18). Po sekwencjonowaniu opisano je jako zupełnie nowy gatunek – *Brachyspira hamptonii*, nazwany na cześć Davida Hampsona, australijskiego profesora mikrobiologii weterynaryjnej (co ciekawe, *B. hamptonii* nigdy nie występowała w Australii). Objawy kliniczne wywołanego przez nią zakażenia są nie do odróżnienia od tych występujących przy zakażeniu *B. hyodysenteriae*. U większości zwierząt ostra biegunka rozpoczyna się między 7 a 10 dniem po zakażeniu *per os*. Siewstwo, z wysoką koncentracją patogenu, rozpoczyna się nawet o trzy dni wcześniej (19).

Według wyników kanadyjskiego monitoringu *B. hamptonii* była gatunkiem najczęściej izolowanym spośród rodzaju – 26,1% próbek dodatnich pobranych spośród stad z biegunkami (20). Już w dwa lata po opisanu w USA bakteria została zidentyfikowana w Europie Zachodniej. Pierwszy przypadek potwierdzono w Belgii, a kolejny, za sprawą importu nosicieli, opisano w Niemczech

(21, 22). Dotychczas nie opublikowano raportów o występowaniu patogenu poza wymienionymi wyżej regionami.

*Brachyspira hamptonii* została również wyizolowana od ptaków (23). Co prawda po doświadczalnej inokulacji świń izolaty od migrującego ptactwa wodnego wywołały objawy chorobowe (24), jednak sama możliwość masowej transmisji patogenu do hodowli świń spełniającej podstawowe wymogi dobrostanu pozostaje dyskusyjna. Można oczywiście mnożyć teoretyczne scenariusze kontaktu świń z kałem ptaków, jak np. poprzez ujęcia wody, odkryte wybiegi dla zwierząt, błoto, obuwie czy odzież. Z pewnością ryzyko transmisji spada wraz ze wzrostem bioasekuracji stada i wysokim poziomem świadomości właściciela zwierząt.

### Brachyspira suanatina

*Brachyspira suanatina* została pierwszy raz opisana w 2007 r. Patogen wyizolowano od świń z objawami zbliżonymi do dysenterii (25). Nazwa patogenu odnosi się do zwierząt od których został on pozyskany – świń i kaczek krzyżówek. Poza mniejszą długością i szerokością *B. suanatina* morfologicznie nie różni się znacznie od *B. hyodysenteriae*. Jest silnie hemolityczna i wykazuje z nią 64% zgodności materiału genetycznego. Posiada również zbliżony profil enzymatyczny, lecz w testach laboratoryjnych reakcje są słabiej wyrażone (26).

Migracja ptactwa wodnego przyczynia się do rozprzestrzenienia patogenów będących przyczyną wielu chorób, w tym *B. suanatina*. Podobnie jak w przypadku *B. hamptonii* wykazano doświadczalnie możliwość wywołania objawów *colitis* u świń zainfekowanych izolatami pozyskanymi od kaczek. Teoretyczna możliwość zakażenia świń ogranicza się jednak do tych zwierząt, które mają dostęp do zbiorników wodnych czy podmokłych terenów, na których żerowały kaczki. Dowody na jej występowanie u obu tych gatunków zwierząt są ograniczone do obszaru Skandynawii.

### Brachyspira innocens i Brachyspira intermedia

Obecnie oba drobnoustroje są uznawane za niepatogenne dla trzody chlewnej. *Brachyspira innocens* została wyizolowana w 34,2%, a *B. intermedia* w 12,7% badanych duńskich tuczarni (27). Poza trzodą chlewną zostały zidentyfikowane również u drobiu (28).

Wciąż brak dowodów pozwalających na jednoznaczne uznanie ich patogenności. Istnieją jedynie badania wykazujące wywołanie biegunki po doświadczalnym zakażeniu *B. innocens* świń gnotobiotycznych (29). Nie udaje się tego powtórzyć na zwierzętach w warunkach terenowych. Poza brakiem objawów klinicznych eksperymentalne

zakażenia świń nie skutkują istotnymi różnicami w średnim dziennym przyroście masy ciała i współczynniku wykorzystania paszy. Jedynie w środkowo-zachodnich Stanach Zjednoczonych opisano istnienie atypowych szczepów *B. intermedia* zdolnych do silnej hemolizy beta (30).

### Leczenie i profilaktyka

Naciski na odchodzenie od antybiotyków w produkcji zwierzęcej z pewnością przyczynią się do częstszego występowania objawów enteropatii świń na każdym etapie produkcji. Mimo zaawansowanych prac do tej pory nie opracowano żadnej skutecznej szczepionki przeciwko *Brachyspira* spp.

Określenie wartości minimalnych stężeń hamujących antybiotyków (MIC) dla *Brachyspira* spp. jest pracochłonne, w związku z czym w laboratoriach komercyjnych nie prowadzi się rutynowych testów. Amerykańskie badania MIC antybiotyków powszechnie stosowanych w terapii zakażeń *Brachyspira* (w tym *B. hyodysenteriae* i *B. pilosicoli*) wykazały, że istnieje dość duże zróżnicowanie wrażliwości poszczególnych izolatów. Spośród legalnych w Unii Europejskiej środków bakteriobójczych najwięcej szczepów *Brachyspira* było wrażliwych na tiamulinę oraz walmemulinę (31). Wrażliwość *B. hamptonii* na tiamulinę potwierdzono przy doświadczalnym zakażeniu, po którym zatrzymano objawy po 24, a siewstwo po 72 godzinach od podania leku w wodzie (32).

W opisanym wyżej przypadku biegunki spowodowanej zakażeniem *B. murdochii* i *B. innocens* autorzy zaobserwowali bardzo dobrą reakcję zwierząt na zastosowanie tyłwalozyny w wodzie pitnej.

### Piśmiennictwo

- Alvarez-Gonzales L., Garcia-Diez M., Marca-Puig J., Carvajal-Urueña A., Rubio-Nistal P.: Antimicrobial susceptibility of 150 isolates of *Brachyspira hyodysenteriae* recovered from Spanish swine dysentery outbreaks during 2011–2015. *Proc. IPVS*. 2016, 1, 201.
- Laine T., Raunio-Saarnisto M.: Antimicrobial susceptibility of Finnish *Brachyspira pilosicoli* isolates. *Proc. IPVS*. 2016, 1, 199.
- Perez E., Cappuccino J., Quiroga A., Moredo F., Rearte R., Perfumo C.J.: Correlation between detection of enteropathogenic bacteria and health and productive parameters in finishing pigs in Argentina. *Proc. IPVS*. 2016, 1, 200.
- Atyeo R.F., Stanton T.B., Jensen N.S., Suriyaarachichi D.S., Hampson D.J.: Differentiation of *Serpulina* species by NADH oxidase gene (nox) sequence comparisons and nox-based polymerase chain reaction tests. *Vet. Microbiol.* 1999, 67, 47–60.
- Prohaska S., Pflüger V., Ziegler D., Scherrer S., Frei D., Lehmann A., Wittenbrink M.M., Huber H.: MALDI-TOF MS for identification of porcine *Brachyspira* species. *Lett. Appl. Microbiol.* 2014, 58, 292–298.
- Räsback T., Melin L., Lundeheim N., Gunnarsson A., Fellström C.: Isolation of *Brachyspira* species in swedish pig herds with diarrhoea 1996–2003. *Proc. IPVS*. 2004, 1, 286.
- Hampson D.J., La T.: Reclassification of *Serpulina intermedia* and *Serpulina murdochii* in the genus *Brachyspira* as *Brachyspira intermedia* comb. nov. and *Brachyspira murdochii* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006, 56, 1009–1012.
- Stanton T.B., Fournié-Amazouz E., Postic D., Trott D.J., Grumont P.A., Baranton G., Hampson D.J., Saint Girons I.: Recognition of two new species of intestinal spirochetes: *Serpulina intermedia* sp. nov. and *Serpulina murdochii* sp. nov. *Int. J. Bacteriol.* 1997, 47, 1007–1012.
- Feberwee A., Hampson D.J., Phillips N.D., La T., van der Heijden H.M.J.F., Wellenberg G.J., Dwers R.M., Landman W.J.M.:

- Identification of *Brachyspira hyodysenteriae* and Other Pathogenic *Brachyspira* Species in Chickens from Laying Flocks with Diarrhoea or Reduced Production or Both. *J. Clin. Microbiol.* 2008, **46**, 593–600.
10. Jensen T.K., Boye M.: Pathology of naturally acquired colonic *Brachyspira murdochii* infection in pigs studied by fluorescent *in situ* hybridisation. *Proc. IPVS.* 2006, **1**, 86.
  11. Hampson D.J., Robertson I.D., Oxberry S.L.: Isolation of *Serpulina murdochii* from the joint fluid of a lame pig. *Aust. Vet. J.* 1999, **77**, 48.
  12. Culhane M., Giannitti F., Gebhart C., Sarradell J., Sverlow K.: Trichomonads and *Brachyspira murdochii* infection in pigs with colitis. *Proc. IPVS.* 2016, **1**, 367.
  13. Borrough E.R., Arruda B.L., Plummer P.J.: Comparison of the Luminal and Mucosa-Associated Microbiota in the Colon of Pigs with and without Swine Dysentery. *Front. Vet. Sci.* 2017, **4**, 139.
  14. Osorio J., Carvajal A., Naharro G., Rubio P., La T., Phillips N.D., Hampson D.J.: Identification of weakly haemolytic *Brachyspira* isolates recovered from pigs with diarrhoea in Spain and Portugal and comparison with results from other countries. *Res. Vet. Sci.* 2013, **95**, 861–869.
  15. Flø H., Bergsjø B.: The prevalence of *Brachyspira* in norwegian pig herds. *Proc. IPVS.* 2000, **1**, 46.
  16. Carranza A.L., Flores León M., Parada J., Tamiozzo P.J., Camacho P., Di Cola G., Buso J.J., Ambrogi A.: *Brachyspira* spp. Identified in fattening pigs in Argentina. *Proc. IPVS.* 2014, **1**, 233.
  17. Hammer J.M., Gebhart C.: The evolving world of *Brachyspira*-associated colitis. *Proc. AASV.* 2013, **1**, 229–230.
  18. Chander Y., Primus A., Oliveira S., Gebhart C.J.: Phenotypic and molecular characterization of a novel strongly hemolytic *Brachyspira* species, provisionally designated „*Brachyspira hamptonii*“. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2012, **24**, 903–910.
  19. Detmer S.E., Costa M.O., Hill J.E., Fernando C., Lemieux H., Harding J.C.S.: Experimental reproduction of mucohemorrhagic diarrhoea following inoculation with *B. hamptonii* clade 1 (Canadian isolate 30599). *Proc. IPVS.* 2014, **1**, 150.
  20. Harding J.C.S.: Emergence of *Brachyspira hamptonii* in western Canada: A collaborative success. *Proc. AASV.* 2016, **1**, 12–21.
  21. Mahu M., de Jong E., de Pauw N., Vande Maele L., Vandembroucke V., Vandersmissen T., Miry C., Pasmans F., Haesebrouck F., Martel A., Boyen F.: First isolation of „*Brachyspira hamptonii*“ from pigs in Europe. *Vet. Rec.* 2014, **174**, 47.
  22. Rohde J., Habighorst-Blome K., Seehusen F.: „*Brachyspira hamptonii*“ clade I isolated from Belgian pigs imported to Germany. *Vet. Microbiol.* 2014, **168**, 432–435.
  23. Rubin J.E., Harms N.J., Fernando C., Soos C., Detmer S.E., Harding J.C.S., Hill J.E.: Isolation and characterization of *Brachyspira* spp. including „*Brachyspira hamptonii*“ from lesser snow geese (*Chen caerulescens caerulescens*) in the Canadian Arctic. *Microb. Ecol.* 2013, **66**, 813–822.
  24. Aller-Morán L.M., Martínez-Lobo F.J., Rubio P., Carvajal A.: Experimental infection of conventional pigs with a „*Brachyspira hamptonii*“ isolate recovered from a migrating waterfowl in Spain. *Vet. J.* 2016, **214**, 10–13.
  25. Räsback T., Jansson D.S., Johansson K.E., Fellström C.: A novel enteropathogenic, strongly haemolytic spirochaete isolated from pig and mallard, provisionally designated „*Brachyspira suanatina*“ sp. nov. *Environ. Microbiol.* 2007, **9**, 983–991.
  26. Mushtag M., Zubair S., Räsback T., Bongcam-Rudloff E., Jansson D.S.: *Brachyspira suanatina* sp. nov., an enteropathogenic intestinal spirochaete isolated from pigs and mallards: genomic and phenotypic characteristics. *BMC Microbiol.* 2015, **15**, 208.
  27. Stege H., Jensen T.K., Møller K., Baekbo P., Jorsal S.E.: Prevalence of intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. *Prev. Vet. Med.* 2000, **46**, 279–292.
  28. Hess C., Zloch A., Bilic I., Hacksteiner K., Kuchling S., Hess M.: High prevalence of *Brachyspira* spp. in layers kept in alternative husbandry systems associated with frequent species variations from end of rearing to slaughter. *Avian Pathol.* 2017, **46**, 481–487.
  29. Neef N.A., Lysons R.J., Trott D.J., Hampson D.J., Jones P.W., Morgan J.H.: Pathogenicity of porcine intestinal spirochetes in gnotobiotic pigs. *Infect. Immun.* 1994, **62**, 2395–2403.
  30. Borrough E.R., Strait E.L., Kinyon J.M., Bower L.P., Madson D.M., Wilberts B.L., Schwartz K.J., Frana T.S., Songer J.G.: Comparative virulence of clinical *Brachyspira* spp. isolates in inoculated pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2012, **24**, 1025–1034.
  31. Mirajkar N., Gebhart C.: Association of *Brachyspira* antibiograms with species and source. *Allen D. Leman Swine Conf.* 2013, **1**, 31–33.
  32. Wilberts B.L., Arruda P.H., Warneke H.L., Eerlandson K.R., Hammer J.M., Burrough E.R.: Cessation of clinical disease and spirochete shedding after tiamulin treatment in pigs experimentally infected with „*Brachyspira hamptonii*“. *Res. Vet. Sci.* 2014, **97**, 341–347.