

Porcine intestinal spirochaetosis

Cybulski P.¹, Jabłoński A.², Veterinary Surgery Poldanor S.A. in Przechlewo¹, Department of Swine Diseases, National Veterinary Research Institute, Puławy²

Brachyspira pilosicoli is a causative agent of swine enteric disease known as porcine intestinal spirochetosis (PIS). *B. pilosicoli* is a weakly beta-hemolytic, anaerobic spirochete. The prevalence of pathogen has been estimated in many European countries. The disease is characterized by mild to moderate mucoid diarrhea. The most important economic cost associated with *B. pilosicoli* infection in swine, is the reduced growth performance. Uncomplicated infection is usually not associated with mortality. Strategies to control the disease include treatment of pigs with antimicrobial drugs. Microscopic evaluation has no diagnostic value, since the organism morphology is just like other species of *Brachyspira*, thus biochemical tests and polymerase chain reaction should be undertaken. In past years, the development of subunit vaccine has been studied but no effective vaccine against *B. pilosicoli* is available yet. The aim of this review was to picture the present status on etiopathogenesis, epidemiology, diagnostic tools, treatment and prevention of porcine spirochaetosis.

Keywords: porcine intestinal spirochetosis, growing pigs, control, treatment.

Dyzenteria świń powodowana przez *Brachyspira hyodysenteriae* jest bardzo dobrze poznanym i kosztocłonnym problemem produkcyjnym na całym świecie. Objawy kliniczne choroby wywołano w 1920 r. przez doświadczalne zakażenie zwierząt z użyciem treści patologicznie zmienionych jelit (1). Obecnie wiemy, że istnieje co najmniej jeszcze jeden patogenny gatunek *Brachyspira*, który ma zdolność kolonizacji jelita grubego świń i wywoływania lżejszej postaci *colitis*, bez zmian krwotocznych – *Brachyspira pilosicoli*. Drobnoustroj ten był wcześniej znany jako *Serpulina pilosicoli* lub *Anguillina coli* (2, 3).

Pierwszej izolacji *B. pilosicoli* dokonano w 1980 r. od świń z biegunką. Wyizolowane szczepy użyto w warunkach laboratoryjnych do zakażenia grupy warchlaków. U połowy z nich wystąpiła biegunka z pasmami śluzu w kale (4). Chorobę określono jako spirochetozę jelitową świń (porcine intestinal spirochetosis – PIS). Obecnie problem jest rozpoznany i badany na całym świecie (5, 6, 7, 8, 9). Duże znaczenie w produkcji trzody chlewnej może odgrywać zakażenie podkliniczne, lecz koszty związane ze zwalczaniem objawów choroby oraz spadkiem średniego dziennego przyrostu zakażonych świń są w skali globalnej trudne do oszacowania.

Spirochetoza świń

Piotr Cybulski¹, Artur Jabłoński²

z Gabinetu Weterynaryjnego Poldanor S.A. w Przechlewie¹ oraz Zakładu Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach²

Etiopatogeneza

Brachyspira pilosicoli wykazuje morfologię właściwą dla wszystkich gatunków z rodzaju *Brachyspira*. Jest to Gram-ujemny krętek o przeciętnej długości i szerokości 6,3 na 0,3 µm. Końce komórki są ostro zakończony (10). Człon nazwy określający gatunek – „*pilosicoli*”, pochodzi od charakterystycznego obrazu histologicznego obserwowanego we wczesnym stadium infekcji, kiedy to *B. pilosicoli* jest widoczna jako fałszywy brzeżek szczoteczki na powierzchni pokrywy nabłonkowej okrężnicy (łac. *pilosus* – owłosiony).

U myszy, jak i prawdopodobnie u innych gatunków ssaków, enterocyty okrężnicy powleczone są podwójną warstwą śluzu, przy czym warstwa głęboka ma wyraźnie wyższą gęstość i jest pozbawiona obecności bakterii komensalnych. Dla skutecznej penetracji tych przeszkód *B. pilosicoli* jest wyposażona we włókna osiowe nadające jej zdolność spiralnego ruchu (11).

Czynniki wirulencji *B. pilosicoli* są wciąż słabo zdefiniowane. Drobnoustroj wykazuje chemotaksję do śluzu jelitowego i jest zdolny do przyłączania się do enterocytów (12). Aktywność ta skutkuje destrukcją brzeżka szczoteczki. *B. pilosicoli* może też skutecznie niszczyć boczne połączenia międzykomórkowe enterocytów, zwłaszcza w strefach złuszczenia, i osiągać blaszkę właściwą błony śluzowej, gdzie jest fagocytowana przez makrofagi. Skutkuje to obrzękiem oraz naciekiem zapalnym bogatym w neutrofile i limfocyty. W późniejszej fazie infekcji, gdy brzeżek szczoteczki erytrocytów jest już znacznie przeredzony, *B. pilosicoli* utrzymuje się w świetle krypt Lieberkühna. W obrazie histologicznym jest wówczas widoczny rozrost krypt i komórek kubkowych oraz obecność komórek zapalnych w świetle krypt. W zapaleniu przewlekłym blaszka właściwa jest naciekana dużą liczbą monocytów, komórek plazmatycznych i limfocytów (13, 14, 15, 16).

Wtórnie do opisanych powyżej zmian patologicznych następuje upośledzenie absorpcji, zwiększenie produkcji śluzu i rozwija się zasadniczy objaw choroby – biegunka z domieszką śluzu. Według niektórych praktyków objaw ten przypomina wczesną fazę dyzenterii świń. W warunkach doświadczalnych zmiana konsystencji kału pojawia się już po jednym dniu od zakażenia

(17). Śmiertelność z powodu niepowikłanej spirochetozy świń jest sporadyczna.

Epidemiologia

Drogą szerzenia się zakażenia jest transmisja fekalno-oralna. Źródłem zakażenia stada świń jest wprowadzenie nosicieli lub zawleczenie kału zawierającego żywe *B. pilosicoli*. Istotny udział w transmisji choroby na poziomie fermi mogą mieć żyjące tam gryzonie (18).

Odmienne od pozostałych gatunków w rodzaju *Brachyspira*, *B. pilosicoli* ma dość szeroki wachlarz nosicieli. Patogen ten był już izolowany m.in. od psów, ptaków, myszy oraz ludzi (19). Prewalencja w populacji ludzi jest bardzo zmienna i z oczywistych względów znacznie niższa w krajach wysoko rozwiniętych (20, 21). Sama spirochetoza jelitowa ludzi jest przedmiotem wieloletnich dyskusji (22), a do grup najwyższego ryzyka nosicielstwa *B. pilosicoli*, z niedoprecyzowanych jeszcze powodów, zakwalifikowano homoseksualnych mężczyzn oraz nosicieli wirusa HIV (23). Aktywność drobnoustroju u ludzi ogranicza się do przewodu pokarmowego, lecz w pojedynczych przypadkach, u krytycznie chorych pacjentów notowano spirochetemię (24). Wciąż brak jakichkolwiek dowodów na występowanie podobnego procesu u świń. Za główne źródło zakażenia u ludzi są uznawane psy – wykazano pięciokrotnie wyższe prawdopodobieństwo siewstwa *B. pilosicoli* przez psy w wieku poniżej 12 miesięcy w porównaniu z osobnikami dorosłymi (25).

Stosując diagnostykę z użyciem reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR), podjęto próby określenia prewalencji w wielu krajach europejskich. W Danii tą metodą wykazano występowanie *B. pilosicoli* w 17% próbek pochodzących od warchlaków z biegunką. Przeciętny wiek zwierząt, od których izolowano materiał genetyczny drobnoustroju, to 35 dzień po odsadzeniu (26). Inne duńskie badanie wykonane w stadach tuczniaków wykazało jego obecność w 19% obiektów. Warto dodać, że najczęściej izolowanym w tym badaniu patogenem jelitowym była *Lawsonia intracellularis* (94% stad) (27). Z kolei badania przeprowadzone na Węgrzech w regionach o największym znaczeniu dla krajowej produkcji trzody chlewnej wykazały, że 19% stad jest dodatkowych. Patogenem najczęściej notowanym

łącznie z *B. pilosicoli* była również *L. intracellularis*. Ich jednoczesną obecność stwierdzono w 32% próbek (28). Niemal identyczne dane przedstawiają raporty brytyjskie, w których *B. pilosicoli* uznano za pierwotny czynnik biegunki w 18% stad (29). Niemieckie doniesienia wskazują, że 32% stad na południu kraju jest dodatknych (30). Również wysoką prevalencję wykazano w fińskich fermach o wysokim statusie zdrowotnym, gdzie aż 28% stad było zakażonych (31). Spośród europejskich publikacji o najniższej prevalencji mówią badania hiszpańskie – jedynie 5% rodzimych stad (32).

Analizy przeprowadzone na próbkach kału pobranych z populacji szwedzkich dzików nie wykazały obecności materiału genetycznego *B. pilosicoli*. Nie należy się więc obecnie dopatrywać znaczącej roli tych zwierząt jako rezerwuaru bądź wektora choroby (33).

B. pilosicoli jest podatna na większość powszechnie stosowanych środków dezynfekujących (34). Jest też dość oporna na warunki środowiskowe. Wykazano, że po 210 dniach w kale przechowywanym w temperaturze 10°C była zdolna do zakażenia. Warto zaznaczyć, że w tych samych warunkach *B. hyodysenteriae* przetrwała znacznie krócej, jedynie 112 dni (35).

Diagnostyka

Brachyspira pilosicoli jest niemożliwa do odróżnienia od pozostałych gatunków z rodzaju *Brachyspira* w trakcie obserwacji w mikroskopie optycznym. Główną cechą różnicującą *B. pilosicoli* od *B. hyodysenteriae* jest charakter wzrostu na stałych podłożach wzbogaconych krwią. *B. pilosicoli* wykazuje jedynie słabą zdolność do beta-hemolizy. Ponadto ma ona odmiennie właściwości biochemiczne. W przeciwieństwie do *B. hyodysenteriae* jest zdolna do rozkładu D-rybozy (36). Odróżniają ją dodatkowo zdolność do hydrolizy hipuranu oraz brak wytwarzania tryptofanazy, przez co w próbie indolowej daje wynik ujemny (37). Należy mieć jednak na uwadze fakt, iż odnotowano występowanie szczepów, które miały właściwości przeciwnie od wyżej opisanych (dodatnia próba indolowa i ujemna próba rozkładu hipuranu sodu) (38). Wyniki testów biochemicznych na alfa-galaktozydazę i beta-glukozydazę również są zmienne.

Dodatkowym czynnikiem utrudniającym diagnostykę mikrobiologiczną jest fakt, że efektywne zastosowanie testów biochemicznych wymaga wzrostu czystych kolonii. Pierwotny materiał jest silnie zanieczyszczony florą jelitową, dlatego może się to wiązać z długotrwałym (z perspektywy lekarza terenowego) oczekiwaniem na wynik. Zastosowanie jakiegokolwiek terapii przeciwbakteryjnej przed pobraniem

próbek kału do badań mikrobiologicznych znacząco zwiększa niebezpieczeństwo otrzymania wyników fałszywie ujemnych, dlatego próbki do tego celu powinny być pobierane od zwierząt nieleczonych antybiotykami i wykazujących pełne objawy chorobowe. Przez te ograniczenia metoda została praktycznie wyparta z rutynowej diagnostyki na rzecz technik biologii molekularnej – PCR. Badania potwierdzają, że testy PCR w kierunku obecności materiału genetycznego *B. pilosicoli* demonstrują wyższą czułość od hodowli drobnoustrojów; odmiennie niż w przypadku porównania tych samych metod diagnostyki dla innych gatunków *Brachyspira* (39, 40).

Obecnie jest możliwe zastosowanie metod multiplex PCR pozwalających na równoczesną detekcję *B. hyodysenteriae*, *B. pilosicoli* oraz *L. intracellularis*. Udokumentowano zgodność między badaniem metodą multiplex a PCR dla trzech wymienionych patogenów (41, 42, 43). Istotnym udogodnieniem w pracy terenowych lekarzy weterynarii jest fakt, że diagnostyka patogenów jelitowych przy użyciu próbek płynu ustnego jest równie skuteczna jak analiza próbek kału (44).

Leczenie

Strategie leczenia choroby najczęściej obejmują stosowanie tylozyny, tiamuliny, tylwalozyny czy linkomycyny. Istnieje wiele niepokojących doniesień dotyczących słabnącej wrażliwości na antybiotyki stosowane w terapii spirochetozы świń (45). Udokumentowano m.in. szczepy odporne na tiamulinę oraz makrolidy (46, 47). Za źródło zjawiska oporności na ostatnie z wyżej wymienionych uznaje się mutację punktową 23S rRNA. Co ciekawe, izolaty północnoamerykańskie pozostają bardziej podatne na działanie antybiotyków niż pochodzące z innych lokalizacji (48).

Eliminacja ze stada

Generalnie istnieją dwie możliwości eradykacji *B. pilosicoli* ze stada. Pierwsza zakłada depopulację i powtórne zasiedlenie obiektu. Druga polega na podjęciu działań bez całkowitej eliminacji zwierząt z jednostki. Obie strategie przewidują przerwanie łańcucha zakażeń poprzez neutralizację wszystkich jego potencjalnych źródeł – chorych zwierząt, gryzoni, gnojowicy, sprzętu i otoczenia zanieczyszczonego kałem.

Jedno z doświadczeń dotyczących eliminacji *B. pilosicoli* ze stada przeprowadzono w obiekcie o pogłowiu 60 loch. Zalecono tam podanie paszy leczniczej zawierającej 200 ppm tiamuliny. W zależności od grupy produkcyjnej okres terapii wynosił od 18 do 30 dni. Następnie wszystkie lochy i knury zostały czasowo przeniesione

do innego obiektu oddalonego o 100 metrów od pierwotnej siedziby stada. Pozostałe grupy produkcyjne zostały sprzedane. Obiekt poddano gruntownemu myciu i dezynfekcji. Po powrocie przemieszczonych zwierząt do fermy nie notowano już objawów *B. pilosicoli*. Powodzenie programu udowodniono i monitorowano za pomocą badań metodą PCR (49).

Z oczywistych względów opisana procedura jest niemożliwa do powtórzenia w większych stadach świń. Nie istnieje też żaden uniwersalny sposób postępowania z zakażonym obiektem. Każdorazowo należy jasno przedstawić szanse powodzenia oraz mieć na uwadze cel stawiany przez właściciela zwierząt i jego możliwości finansowe. Warto również skoordynować działanie i włączyć w program eradykacji groźniejszych patogenów.

Profilaktyka

Ciągłe naciski na racjonalizację zużycia antybiotyków wymagają poszukiwania innych sposobów walki z zakażeniami, lecz jak do tej pory nie opracowano żadnej w pełni skutecznej szczepionki przeciwko *B. pilosicoli*. W najlepszym przypadku testowane preparaty zapewniały jedynie częściową ochronę. Jedną z pierwszych prób polegała na dwukrotnej, w odstępie 3 tygodni, iniekcji domięśniowej inaktywowanej bakteriny opartej na formalinizowanym szczepie zawieszonym w niekompletnym adiuwancie Freund'a. Jedenaście dni po drugim szczepieniu badaną grupę zakażono doustnie przez 3 kolejne dni tym samym szczepem. Nie potwierdzono wartości ochronnej tak przygotowanej szczepionki przed biegunką o przebiegu co najmniej krótkotrwałym. Dodatkowo wszystkie badane świny wykazywały zmiany sekcyjne określone jako łagodne *colitis* (50).

Obecne kierunki testów laboratoryjnych są skupione na próbie stworzenia efektywnej szczepionki podjednostkowej. Pierwsze próby koncentrowały się na możliwości wykorzystania czynników powierzchniowych – ClpX oraz białkach wiążących oligopeptydy (51, 52). Możliwość znacznie rozszerza opublikowanie pełnej sekwencji genomu (53). Bez wątpienia przyszłością badań naukowych nad profilaktyką PIS jest proteomika (54).

Żywnienie

Zakwaszaczce oraz preparaty oparte na ekstraktach roślinnych są dodatkami powszechnie wykorzystywanymi w żywieniu trzody chlewnej. Wielu hodowców upatruje w nich substytutu dla wcześniej stosowanych antybiotykowych stymulatorów wzrostu, jednak w przypadku spirochetozы suplementacja 2% kwasu mlekowego do paszy o recepturze opartej na pszenicy,

jęczmieniu i soi w żaden sposób nie ogranicza siewstwa ani objawów klinicznych.

Te same wnioski przedstawiono po podaniu mieszanki procesowi fermentacji i skarmieniu w postaci płynnej. Udowodniono również, że samo skarmianie paszy poddanej procesowi granulacji zwiększa ryzyko kolonizacji *B. pilosicoli*. Jedynym czynnikiem żywieniowym znacznie skracającym okres siewstwa z kałem było wykluczenie z diety pszenicy oraz jęczmienia i zastosowanie paszy o recepturze skomponowanej na bazie gotowanego białego ryżu. Można zatem przypuszczać, że wysokie poziomy rozpuszczalnych polisacharydów nieskrobiowych zwiększają ryzyko kolonizacji nabłonka jelitowego (55).

Przeprowadzono również test z zastosowaniem 30% suszonego kukurydzianego wywaru gorzelnianego (DDGS) w mieszance paszowej. Po inokulacji wykazano w warunkach laboratoryjnych, że skarmianie zwierząt paszami o podwyższonej w taki sposób zawartości nierozpuszczalnego włókna pokarmowego nie miało żadnego widocznego wpływu na przebieg choroby (56).

Wykazano też bakteriobójczy wpływ ekstraktu z pestek roślin cytrusowych w badaniach *in vitro* (57). Istnieją także doniesienia dotyczące jednoznacznie negatywnego wpływu probiotycznych szczepów *Lactobacillus* na ruchliwość krętków *Brachyspira* w tych samych warunkach. Badania te jednak nie znalazły kontynuacji na modelu zwierzęcym (58).

Piśmiennictwo

- Whiting R.A., Doyle L.P., Spray R.S.: Swine dysentery. *Purdue Univ. Agric. Exp. Stn. Bull.* 1921, 257, 3–15.
- Lee J.I., Hampson D.J., Lymbery A.J., Harders S.J.: The porcine intestinal spirochaetes: identification of new genetic groups. *Vet. Microbiol.* 1993, 34, 273–285.
- Atyeo R.F., Oxberry S.L., Hampson D.J.: Pulsed-field gel electrophoresis for sub-specific differentiation of *Serpulina pilosicoli* (formerly *Anguillina coli*). *FEMS Microbiol Lett.* 1996, 141, 77–81.
- Taylor D.J., Simmons J.R., Laird H.M.: Production of diarrhoea and dysentery in pigs by feeding pure cultures of a spirochaete differing from *Treponema hyodysenteriae*. *Vet. Rec.* 1980, 106, 326–332.
- Oxberry S.L., Hampson D.J.: Epidemiological studies of *Brachyspira pilosicoli* in two Australian piggeries. *Vet. Microbiol.* 2003, 93, 109–120.
- Viott A.M., Lage A.P., Cruz Junior E.C.C., Guedes R.M.C.: The prevalence of swine enteropathogens in Brazilian grower and finish herds. *Braz. J. Microbiol.* 2013, 44, 145–151.
- Tasu C., Tanaka T., Tanaka T., Adachi Y.: *Brachyspira pilosicoli* isolated from pigs in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2004, 66, 875–877.
- De Arriba M.L., Vidal A.B., Carvajal A., Pozo J., Martinez A., Duhamel G.E., Rubio P.: First confirmation of porcine colonic spirochaetosis caused by *Brachyspira pilosicoli* in Iberian pigs in Spain. *Vet. Rec.* 2002, 150, 250–251.
- Pedersen K.S., Johansen M., Angen Ø., Jorsal S.E., Nielsen J.P., Jensen T.K., Guedes R., Ståhl M., Baekbo P.: Herd diagnosis of low pathogen diarrhoea in growing pigs – a pilot study.
- Trott D.J., Stanton T.B., Jensen N.S., Dukamel G.E., Johnson J.L., Hampson D.J.: *Serpulina pilosicoli* sp. nov., the agent of porcine intestinal spirochaetosis. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 2006, 46, 206–215.
- Johansson M.E.V., Holmén Larsson J.M., Hansson G.C.: The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host–microbial interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011, 108, 4659–4665.
- Nareh R., Hampson D.J.: Attraction of *Brachyspira pilosicoli* to mucin. *Microbiol.* 2010, 156, 191–167.

- Duhamel G.E.: Comparative pathology and pathogenesis of naturally acquired and experimentally induced colonic spirochaetosis. *Anim. Health Res. Rev.* 2011, 2, 3–17.
- Trott D.J., Huxtable C.R., Hampson D.J.: Experimental infection of newly weaned pigs with human and porcine strains of *Serpulina pilosicoli*. *Infect. Immun.* 1996, 64, 4648–4654.
- Thomson J.R., Smith W.J., Murray B.P., McOrist S.: Pathogenicity of three strains of *Serpulina pilosicoli* in pigs with a naturally acquired intestinal flora. *Infect. Immun.* 1997, 65, 3693–3700.
- Jensen T.K., Møller K., Boye M., Leser T.D., Jorsal S.E.: Scanning electron microscopy and fluorescent *in situ* hybridization of experimental *Brachyspira* (*Serpulina*) *pilosicoli* infection in growing pigs. *Vet. Pathol.* 2000, 37, 22–32.
- Jensen T.K., Boye M., Møller K.: Extensive intestinal spirochaetosis in pigs challenged with *Brachyspira pilosicoli*. *J. Med. Microbiol.* 2004, 53, 309–312.
- Backhans A., Jansson D.S., Aspán A., Fellström C.: of *Brachyspira* spp. from rodents, pigs and chickens on Swedish farms. *Vet. Microbiol.* 2011, 152, 156–162.
- Potential for Zoonotic Transmission of *Brachyspira pilosicoli*. *Emerg. Infect. Dis.* 2006, 12, 869–870.
- Trott D.J., Combs B.G., Mikosza A.S., Oxberry S.L., Robertson I.D., Passey M., Taime J., Sehuko R., Alpers M.P., Hampson D.J.: The prevalence of *Serpulina pilosicoli* in humans and domestic animals in the Eastern Highlands of Papua New Guinea. *Epidemiol. Infect.* 1997, 119, 369–379.
- Margawani K.R., Robertson I.D., Brooke C.J., Hampson D.J.: Prevalence, risk factors and molecular epidemiology of *Brachyspira pilosicoli* in humans on the island of Bali, Indonesia. *J. Med. Microbiol.* 2004, 53, 325–332.
- Tringano E., Gebbers J.O.: Human intestinal spirochaetosis – a review. *Ger. Med. Sci.* 2010, 8, 1–7.
- Law C.L., Grierson J.M., Stevens S.M.: Rectal spirochaetosis in homosexual men: the association with sexual practices, HIV infection and enteric flora. *Genitourin. Med.* 1994, 70, 26–29.
- Bait-Merabet L., Thille A., Legrand P., Brun-Buisson C., Cattoir V.: *Brachyspira pilosicoli* bloodstream infections: Case report and review of the literature. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2008, 25, 7–19.
- Hidalgo A., Rubio P., Osorio J., Carvajal A.: Prevalence of *Brachyspira pilosicoli* and “*Brachyspira canis*” in dogs and their association with diarrhoea. *Vet. Microbiol.* 2010, 146, 356–360.
- Weber N., Nielsen J.P., Jakobsen A.S., Pedersen L.L., Hansen C.E., Pedersen K.S.: Occurrence of diarrhoea and intestinal pathogens in non-medicated nursery pigs. *Act. Vet. Scand.* 2015, 57, 64.
- Steele 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.
- Biksi I., Lorincz M., Molnár B., Kecskés T., Takács N., Mirt D., Cizek A., Pejsak Z., Martineau G.P., Sevin J.L., Szenci O.: Prevalence of selected enteropathogenic bacteria in Hungarian finishing pigs. *Acta. Vet. Hung.* 2007, 55, 219–227.
- Thomson J.R., Smith W.J., Murray B.P., Murray D., Dic J.E., Sumption K.J.: Porcine enteric spirochaete infections in the UK: surveillance data and preliminary investigation of atypical isolates. *Anim. Health Res. Rev.* 2001, 2, 31–36.
- Reiner G., Hillen S., von Berg S., Kixmüller M., Willems H.: Analysis of bacterial load and prevalence of mixed infections with *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* and/or *Brachyspira pilosicoli* in German pigs with diarrhoea. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2011, 124, 236–241.
- Heinonen M., Fossi M., Jalli J.P., Salonieni H., Tuovinen V.: Detectability and prevalence of *Brachyspira* species in herds rearing health class feeder pigs in Finland. *Vet. Rec.* 2000, 146, 343–347.
- Carvajal A., de Arriba M.L., Rodriguez H., Vidal A.B., Duhamel G.E., Rubio P.: Prevalence of *Brachyspira* species in pigs with diarrhoea in Spain. *Vet. Rec.* 2006, 158, 700–701.
- Jacobson M., Gerth Löfstedt M., Holmgren N., Lundheim N., Fellström C.: The prevalences of *Brachyspira* spp. and *Lawsonia intracellularis* in Swedish piglet producing herds and wild boar population. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health.* 2005, 52, 386–391.
- Corona-Barrera E., Smith D.G., Murray B., Thomson J.R.: Efficacy of seven disinfectant sanitizers on field isolates of *Brachyspira pilosicoli*. *Vet. Rec.* 2004, 154, 473–474.
- Boye M., Baloda S.B., Leser T.D., Møller K.: Survival of *Brachyspira hyodysenteriae* and *B. pilosicoli* in terrestrial microcosms. *Vet. Microbiol.* 2001, 81, 33–40.
- Fossi M., Skrzypczak T.: D-ribose utilisation differentiates porcine *Brachyspira pilosicoli* from other porcine *Brachyspira* species. *Anaerobe.* 2006, 12, 110–113.
- Fossi M., Pohjanvirta T., Sukura A., Heinikainen S., Lindcrona R., Pelkonen S.: Molecular and Ultrastructural Characterization of Porcine Hippurate-Negative *Brachyspira pilosicoli*. *J. Clin. Microbiol.* 2004, 42, 3153–3158.
- Fossi M., Ahlsten K., Pohjanvirta T., Antilla M., Kokkonen T., Jensen T.K., Boye M., Sukura A., Pelkola K., Pelkonen S.: Neither Hippurate-negative *Brachyspira pilosicoli* nor *Brachyspira pilosicoli* Type Strain Caused Diarrhoea in Early-weaned Pigs by Experimental Infection. *Acta Vet Scand.* 2005, 4, 257–267.
- Råsbäck T., Fellström C., Gunnarsson A., Aspán A.: Comparison of culture and biochemical tests with PCR for detection of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli*. *J. Microbiol. Methods.* 2006, 66, 347–353.
- Patterson A.H., Rubin J.E., Fernando C., Costa M.O., Harding J.C.S., Hill J.E.: Fecal shedding of *Brachyspira* spp. on a farrow-to-finish swine farm with a clinical history of “*Brachyspira hamptonii*” – associated colitis. *BMC Vet. Res.* 2013, 9, 137.
- Nathues H., Oliveira C.J., Givisez P.E.: Simultaneous detection of *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* and *Lawsonia intracellularis* by multiplex PCR. *Proc. IPVS.* 2006, 1, 87.
- Nathues H., Oliveira C.J., Wurm M., Grosse Beilage E., Givisez P.E.: Simultaneous detection of *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* and *Lawsonia intracellularis* in porcine faeces and tissue samples by multiplex-PCR. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.* 2007, 54, 532–538.
- Willems H., Reiner G.: A multiplex real-time PCR for the simultaneous detection and quantitation of *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* and *Lawsonia intracellularis* in pig faeces. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2010, 123, 205–209.
- Frana T., Warneke H., Stensland W., Kinyon J., Bower L., Borroughs E.: Comparative detection of *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella* and *Brachyspira* from oral fluids and feces. *Proc. Am. Swine Vet.* 2014, 45, 67–69.
- Pringle M., Landén A., Unnerstad H.E., Molander B., Bengtsson B.: Antimicrobial susceptibility of porcine *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli* isolated in Sweden between 1990 and 2010. *Acta. Vet. Scand.* 2012, 54, 54.
- Pringle M., Landén A., Franklin A.: Tiamulin resistance in porcine *Brachyspira pilosicoli* isolates. *Res. Vet. Sci.* 2006, 80, 1–4.
- Karlsson M., Fellström C., Johansson K.E., Franklin A.: Antimicrobial resistance in *Brachyspira pilosicoli* with special reference to point mutations in the 23S rRNA gene associated with macrolide and lincosamide resistance. *Microb. Drug Resist.* 2004, 10, 204–208.
- Mirajkar N.S., Davies P.R., Gebhart C.J.: Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Brachyspira* Species Isolated from Swine Herds in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 2016, 54, 2109–2019.
- Fossi M., Heinonen M., Pohjanvirta T., Pelkonen S., Peltoniemi A.T.: Eradication of endemic *Brachyspira pilosicoli* infection from a farrowing herd: a case report. *Anim. Health Res. Rev.* 2001, 2, 53–57.
- Hampson D.J., Robertson I.D., La T., Oxberry S.L., Pethick D.W.: Influences of diet and vaccination on colonisation of pigs by the intestinal spirochaete *Brachyspira* (*Serpulina*) *pilosicoli*. *Vet. Microbiol.* 2000, 73, 75–78.
- Mohavedi A., Hampson D.J.: Distribution of the *clpX* gene in *Brachyspira* species and reactivity of recombinant *Brachyspira pilosicoli* ClpX with sera from mice and humans. *J. Med. Microbiol.* 2007, 56, 930–936.
- Mohavedi A., Hampson D.J.: Evaluation of recombinant *Brachyspira pilosicoli* oligopeptide-binding proteins as vaccine candidates in a mouse model of intestinal spirochaetosis. *J. Med. Microbiol.* 2010, 59, 353–359.
- MApple L.J., Black M.L., AbuOun M., Darby A.C., Woodward M.J., Parkhill J., Turner A.K., Bellgard M.L., La T., Phillips N.D., La Ragione R.M., Hampson D.J.: Comparative genomics of *Brachyspira pilosicoli* strains: genome rearrangements, reductions and correlation of genetic complement with phenotypic diversity. *BMC Genomics.* 2012, 13, 454.
- Casas V., Vadillo S., San Juan C., Carrascal M., Alban J.: The Exposed Proteomes of *Brachyspira hyodysenteriae* and *B. pilosicoli*. *Front. Microbiol.* 2016, 7, 1103.
- Lindcrona R.H., Jensen T.K., Møller K.: Influence of diet on the experimental infection of pigs with *Brachyspira pilosicoli*. *Vet. Rec.* 2004, 154, 264–267.
- Wilberts B.L., Arruda P.H., Kinyon J.M., Frana T.S., Wang C., Magstadt D.R., Madson D.M., Patience J.E., Porrough E.R.: Investigation of the Impact of Increased Dietary Insoluble Fiber through the Feeding of Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS) on the Incidence and Severity of *Brachyspira* – Associated Colitis in Pigs. *PLoS One.* 2014, 9, e114741.
- Lobova D., Cizek A.: Bactericidal efficacy of two disinfectants against *Brachyspira hyodysenteriae* and one feed supplement against *B. hyodysenteriae* and *B. pilosicoli*. *Vet. Med. – Czech.* 2004, 49, 156–160.
- Bernardeau M., Gueguen M., Smith D.G., Corona-Barrera E., Vernoux J.P.: *In vitro* antagonistic activities of *Lactobacillus* spp. against *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli*. *Vet. Microbiol.* 2009, 138, 184–190.