

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2012-2013

**INTESTINALE SPIROCHETEN BIJ VARKENS, VOGELS, KNAAGDIEREN, HONDEN EN DE
MENS: 'VAN RESERVOIR TOT PATIËNT'**

door

Hanneke VAN OSCH

Promotoren: Dierenarts Maxime Mahu
Dr. Filip Boyen

Literatuurstudie in het kader
van de Masterproef

© *Hanneke van Osch*

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2012-2013

**INTESTINALE SPIROCHETEN BIJ VARKENS, VOGELS, KNAAGDIEREN, HONDEN EN DE
MENS: 'VAN RESERVOIR TOT PATIËNT'**

door

Hanneke VAN OSCH

Promotoren: Dierenarts Maxime Mahu
Dr. Filip Boyen

Literatuurstudie in het kader
van de Masterproef

© *Hanneke van Osch*

VOORWOORD

Graag wil ik dierenarts Maxime Mahu hartelijk bedanken voor haar steun en bijdrage tot het schrijven van deze literatuurstudie. Haar aanmoedigingen en suggesties hebben mij zeer geholpen in het voltooien ervan.

Bovendien bedank ik Dr. Filip Boyen voor zijn hulp en ideeën.

Ook wil ik nog Lotte Laarakker, Annewil van Rhijn en Bente Kapteijns bedanken voor hun steun, motivatie en aanmoedigingen op momenten waar dit nodig was.

Ik dank Freeke van Osch voor haar hulp met de technische aspecten van het opstellen van de masterproef.

Ten slotte wil ik nog mijn ouders, Jos van Osch en Henny van Osch bedanken voor hun mentale steun.

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING	1
INLEIDING.....	2
1 <i>BRACHYSPIRA</i> SPP. BIJ VERSCHILLENDE DIERSOORTEN.....	3
1.1 <i>BRACHYSPIRA</i> BIJ VARKENS	3
1.1.1 Voorkomen	3
1.1.2 Etiologie en pathogenese	4
1.1.3 Symptomen	5
1.1.4 Diagnose	7
1.1.5 Behandeling	8
1.2 <i>BRACHYSPIRA</i> BIJ VOGELS.....	9
1.2.1 Voorkomen	9
1.2.2 Pathogenese	10
1.2.3 Symptomen	10
1.2.4 Diagnose	11
1.2.5 Behandeling	11
1.3 <i>BRACHYSPIRA</i> BIJ KNAAGDIEREN	12
1.3.1 Voorkomen	12
1.3.2 Pathogenese	12
1.3.3 Symptomen	13
1.3.4 Diagnose	13
1.3.5 Behandeling	13
1.4 <i>BRACHYSPIRA</i> BIJ DE HOND.....	14
1.4.1 VOORKOMEN.....	14
1.4.2 Pathogenese	14
1.4.3 Symptomen	15
1.4.4 Diagnose	15
1.4.5 Behandeling	15
1.5 <i>BRACHYSPIRA</i> BIJ DE MENS	16
1.5.1 Voorkomen	16
1.5.2 Pathogenese en epidemiologie	16
1.5.3 Symptomen	17
1.5.4 Diagnose	17
1.5.5 Behandeling	18
2 INTESTINALE SPIROCHETEN EN DE TRANSMISSIE VAN RESERVOIR NAAR PATIËNT	18
2.1 GEMEENSCHAPPELIJKE <i>BRACHYSPIRA</i> SPP. BIJ VERSCHILLENDE GASTHEREN	18
2.1.1 De epidemiologie van <i>B. pilosicoli</i>	19
2.1.2 De epidemiologie van andere <i>Brachyspira</i> spp.	20
2.1.3 Knaagdieren als reservoir en bron van transmissie van <i>Brachyspira</i> spp.	20
2.1.4 Wilde vogels als reservoir en bron van transmissie van <i>Brachyspira</i> spp.	21
2.1.5 Water als reservoir en bron van transmissie van <i>Brachyspira</i> spp.	22
2.1.6 Wilde varkens als reservoir en bron van transmissie van <i>Brachyspira</i> spp.	22
2.1.7 Honden als reservoir en bron van transmissie van <i>Brachyspira</i> spp.	23
2.1.8 Seksueel contact als bron van transmissie van <i>Brachyspira</i> spp.	23
DISCUSSIE	23
REFERENTIELIJST	24

SAMENVATTING

Intestinale spirochetten van het genus *Brachyspira* zijn zuurstof-tolerante, anaerobe microorganismen die het colon en caecum van verschillende diersoorten koliniseren. Zeven species zijn officieel aanvaard, waaronder de welbekende *Brachyspira hyodysenteriae* (*B. hyodysenteriae*) en *B. pilosicoli*, die respectievelijk varkensdysenterie en Intestinale Spirochetose bij varkens, mensen, honden, rhesus apen, bavianen en verschillende andere diersoorten veroorzaken. *B. innocens*, *B. murdochii*, *B. intermedia*, *B. aalborgi* en *B. alvinipulli* worden door sommigen als apathogenen of commensalen beschouwd, terwijl anderen ze als potentieel pathogenen beschouwen.

De nieuwe isolaten '*B. canis*', '*B. pulli*', '*B. hampsonii*', '*B. christini*', '*B. ibaraki*', '*B. corvi*', '*B. muris*', '*B. muridarum*', '*B. rattus*' en '*B. suanatina*' werden als nieuwe species voorgesteld; verder onderzoek naar de fylogeneze en pathogeniciteit is nog nodig.

In deze literatuurstudie wordt er getracht een inzicht te verkrijgen in de transmissie van *Brachyspira* spp. tussen verschillende diersoorten onderling, waarbij reservoirgastheren als knaagdieren, vogels en andere dieren of vectoren een rol spelen in het tot stand komen van deze transmissie van reservoir tot patiënt. Voornamelijk *B. pilosicoli* vertoont een grote genetische diversiteit en komt voor bij tal van diersoorten, waaronder ook de mens. Studies hebben bewezen dat dezelfde isolaten kunnen voorkomen bij verschillende diersoorten, en dat experimentele transmissie tussen diersoorten mogelijk is. Er bestaan waarschijnlijk ook diersoort-specifieke isolaten van *B. pilosicoli*. Knaagdieren, wilde vogels en andere vectoren zoals waterbronnen of de omgeving kunnen zodoende wellicht fungeren als reservoir voor transmissie naar andere diersoorten, al is er waarschijnlijk sprake van een natuurlijke barrière.

INLEIDING

Bacteriën van het genus *Brachyspira* (vroeger *Treponema*, (Harris *et al.*, 1972), *Serpula* (Stanton *et al.*, 1991) en *Serpulina* (Stanton, 1992) genaamd) behoren tot het Rijk der Bacteria en de Stam der Spirochaetes. Het genus *Brachyspira* bestaat uit enigszins zuurstof- tolerante, anaerobe, gram negatieve intestinale spirocheteten. Spirocheteten zijn langwerpige micro-organismen, die gekenmerkt worden door hun spiraalvorm welke minstens één complete winding beslaat (Harris en Lysons, 1992).

Het genus *Brachyspira* is onder te verdelen in meerdere species. Op het moment van schrijven zijn er 7 species officieel aanvaard, namelijk *Brachyspira hyodysenteriae* (*B. hyodysenteriae*), *B. pilosicoli*, *B. innocens*, *B. intermedia*, *B. murdochii*, *B. aalborgi* en *B. alvinipulli* (Stanton *et al.*, 1991; Stanton *et al.*, 1997; Stanton *et al.*, 1998; Trott *et al.*, 1996a; Trott en Hampson, 1998; Kinyon en Harris, 1979; Hoving-Hougen *et al.*, 1982). Bovendien zijn nieuwe varianten van het genus beschreven maar nog niet officieel aanvaard, namelijk ‘*B. suanatina*’, ‘*B. pulli*’, ‘*B. canis*’, ‘*B. ibaraki*’, ‘*B. christiani*’, ‘*B. rattus*’, ‘*B. muris*’, ‘*B. muridarum*’, ‘*B. corvi*’ en ‘*B. hamptonii*’ (Duhamel *et al.*, 1998; Stephens en Hampson, 1999; Råsbäck *et al.*, 2007; Jansson *et al.*, 2008; Backhans *et al.*, 2010; Chander *et al.*, 2012;). Er dient voor de niet-officieel aanvaarde species nog verder onderzocht te worden of het inderdaad gaat om nieuwe species.

Niet alle species worden verondersteld pathogeen te zijn voor verschillende diersoorten. *B. hyodysenteriae* en *B. pilosicoli* zijn welgekende pathogene species welke respectievelijk varkensdysenterie en Porcine Intestinale Spirochetosis (PIS)/ Aviaire Intestinale Spirochetosis (AIS) veroorzaken (Taylor en Alexander, 1971; Harris *et al.*, 1972; Harris *et al.*, 1972; Taylor *et al.*, 1980; Trott *et al.*, 1996a; Stephens en Hampson, 2002a; Stanton *et al.*, 1998; Hampson en McLaren, 1999). Naast klinische ziekte kan de ziekte zich ook subklinisch manifesteren, wat resulteert in groeivertraging en belangrijke economische verliezen. ‘*B. suanatina*’ kan symptomen induceren die sterk gelijken op de symptomen van varkensdysenterie (Råsbäck *et al.*, 2007). Ook *B. hamptonii* en sterk β -hemolytische isolaten van *B. intermedia* kunnen analoge letsels induceren als *B. hyodysenteriae* (Burrough *et al.*, 2012). *B. murdochii*, *B. innocens* en *B. aalborgi* worden als apathogene kiemen beschouwd (Stanton *et al.*, 1997; Taylor en Trott, 1997; Kinyon en Harris, 1979; Trott *et al.*, 1996a; Stanton *et al.*, 1997), al ontdekten anderen een potentiële pathogeniteit (Fellström en Gunnarsson, 1995; Dwars *et al.*, 1992; Weissenbock *et al.*, 2005; Trott en Hampson, 1998). Naast vele verschillen betreft risicofactoren, gastheerfactoren en individuele gevoeligheid kan dit ook verklaard worden aan de hand van de grote genetische variabiliteit van *Brachyspira* spp. (Koopman *et al.*, 1993). Dit laatste is interessant met het oog op potentiële transmissie van bepaalde *Brachyspira* isolaten tussen verschillende diersoorten. Verder onderzoek hieromtrent is nodig.

Exacte cijfers over de prevalentie van *Brachyspira* spp. en de klinische manifestatie van ziekten bij verschillende diersoorten en de mens zijn weinig bekend. DGZ Vlaanderen vermeldt een incidentie van *Brachyspira* bij pluimvee van ongeveer 70% in zowel Nederland, Australië en het VK. Door het feit dat de klinische ziekte tekens onderhevig zijn aan een grote variatie tussen zowel individuele dieren als tussen bedrijven onderling, en doordat er nog geen eenduidigheid bestaat over vele *Brachyspira* spp. en hun pathogeniciteit kan het klinisch belang van *Brachyspira* dikwijls onderschat worden.

In deze literatuurstudie zal in eerste instantie dieper worden ingegaan op de prevalentie, de pathogenese, de symptomen, de diagnose en behandeling van *Brachyspira* spp. bij varkens, pluimvee, de hond, knaagdieren en de mens. Vervolgens zal er aandacht worden besteed aan de transmissie van *Brachyspira* spp. tussen de verschillende diersoorten, om zodoende het belang van voornamelijk knaagdieren, wilde vogels maar ook de omgeving als reservoir voor de transmissie van infectie naar varkens, honden, pluimvee en de mens in te schatten.

LITERATUURSTUDIE

1 BRACHYSPIRA SPP. BIJ VERSCHILLENDE DIERSOORTEN

1.1 BRACHYSPIRA BIJ VARKENS

1.1.1 Voorkomen

Brachyspira spp. die bij varkens voorkomen zijn *B. hyodysenteriae*, *B. pilosicoli*, *B. intermedia*, *B. murdochii* en *B. innocens*. Ook zijn de nieuwe varianten ‘*B. suanatina*’ en ‘*B. hampsonii*’ uit varkens geïsoleerd.

B. hyodysenteriae en *B. pilosicoli* behoren tot de pathogene *Brachyspira* species bij varkens (Taylor en Alexander, 1971; Harris *et al.*, 1972; Taylor *et al.*, 1980; Hampson en Duhamel, 2006; Hampson *et al.*, 2006). *B. hyodysenteriae* veroorzaakt varkensdysenterie, een infectieuze colitis welke endemisch kan zijn bij vlees- en opfokvarkens (La *et al.*, 2011). *B. pilosicoli* veroorzaakt Porcine Intestinale Spirochaetosis (PIS) (Trott *et al.*, 1996a). *B. intermedia*, *B. murdochii* en *B. innocens* werden geacht tot de commensale flora te behoren en zodoende weinig tot niet pathogeen te zijn (Taylor *et al.*, 1980; Taylor en Trott, 1997), al zijn de gegevens in de literatuur hieromtrent niet geheel eenduidig, wat blijkt uit de vondst van sterk β -hemolytische *B. intermedia* isolaten, waarvoor een potentiële virulentie voor varkens wordt verondersteld. Dit moet echter nog experimenteel bevestigd worden (Burrough *et al.*, 2012).

Bij een routineonderzoek in Zweden bleek de prevalentie van *B. murdochii* 2.4% te zijn (Jensen *et al.*, 2010). Voornamelijk *B. murdochii*, maar ook *B. pilosicoli*, *B. intermedia* en *B. innocens* konden worden geïsoleerd bij 13,4% van de varkens met chronische gezondheidsproblemen (Komarek *et al.*, 2009). Gemengde infecties van *B. murdochii* met *B. pilosicoli* of *B. innocens* komen veelal voor, namelijk 37.1% (Komarek *et al.*, 2009; Jensen *et al.*, 2010), al vond Råsbäck *et al.* (2005) slechts een prevalentie van 1.7-3.8% gemengde infecties. Dit kan eventueel verklaard worden door de bacteriële overgroei van één van de species van de mengcultuur ofwel door het ontbreken van goede biochemische tests voor gemengde infecties.

Niet enkel gedomesticeerde varkens kunnen geïnfecteerd zijn met *Brachyspira* spp. Bij wilde varkens in Duitsland werden eveneens isolaten van *B. hyodysenteriae* en *B. pilosicoli* aangetoond, al vertoonden de varkens bij autopsie weinig uitgesproken letsels. Bij wilde varkens in Zweden konden echter geen intestinale spirochetes geïsoleerd worden (Fellström en Jacobsson, 2002).

Brachyspira spp. komen voor bij alle leeftijdscategorieën van varkens, al zijn sommigen in hogere mate geïnfecteerd. Tabel 1 geeft de prevalentie van *Brachyspira* spp. weer bij de verschillende leeftijdscategorieën van varkens.

Tabel 1: *Brachyspira* spp. prevalentie bij de verschillende leeftijdscategorieën van varkens (Roper, 2013. Treating infections in pigs: part two).

Leeftijdscategorie varken	Prevalentie van <i>Brachyspira</i> spp.
Neonataal < 1 week oud.	+
Leeftijd net voor het spenen	+
Gespeende biggen	+++
Groeiende vleesvarkens	++
Volwassen varkens	+

(+: lage prevalentie; ++: matige prevalentie; +++: hoge prevalentie)

1.1.2 Etiologie en pathogenese

I. Varkensdysenterie

B. hyodysenteriae werd voor het eerst geïsoleerd in 1971 (Taylor en Alexander, 1971). *B. hyodysenteriae* is een obligaat symbiotische, sterk β -hemolytische kiem die relatief resistent is in de omgeving; de kiem overleeft 61 dagen in met water verdunde faeces en 18 dagen in de bodem bij 4°C (Chia en Taylor, 1978; Boye *et al.*, 2001). De kiem kan op een bedrijf worden binnengebracht via inerte vectoren zoals materiaal en kledij. Bovendien kunnen vliegen en vogels fungeren als mechanische vectoren. Ten slotte kan de kiem een bedrijf binnen komen via (subklinisch) besmette varkens die de kiem uitscheiden. Na orale opname zal de kiem het caecum en het colon koloniseren. Vanaf 6 dagen post inoculatie (p.i.) kunnen er kiemen worden aangetoond in de faeces (Jensen *et al.*, 2010). Klinische ziekte tekens kunnen gezien worden tussen dag 8-16 p.i. (Taylor en Alexander, 1971; Kennedy *et al.*, 1988; Jensen *et al.*, 1998). Varkens kunnen tot 90 dagen na klinisch herstel van de ziekte nog kiemen uitscheiden.

Besmetting van varkens geschiedt via orale weg. De kiem koloniseert de mucosa in sterke associatie met mucus ter hoogte van de dikke darmen en in de crypten (Jensen *et al.*, 1998). Er heerst controversie over de vasthechting en invasieve eigenschappen van de kiem. *B. hyodysenteriae* zou voornamelijk een nauw contact hebben met mucus ter hoogte van de dikke darmen zonder specifieke oriëntatie (Kennedy *et al.*, 1988), al is er een terminale aanhechting van de kiem aan epitheliale cellen gerapporteerd (Glock en Harris, 1972; ter Huurne en Gaastra, 1995; Jensen *et al.*, 1998). De vasthechting *in vitro* hangt echter af van de beweeglijkheid en de levensvatbaarheid van de kiemen, het contact met necrotische cellen en de invasie van de intercellulaire ruimte (Bowden *et al.*, 1989; ter Huurne en Gaastra, 1995). Behalve via necrotische enterocyten werd er ook invasie gerapporteerd ter hoogte van de crypten, voornamelijk ter hoogte van de slijmbekercellen. Hier konden ook kiemen van *B. hyodysenteriae* worden gevonden in de *lamina propria mucosae* (Jensen *et al.*, 1998). Dit kan wellicht tot stand komen door de productie van cytokines door beschadigde enterocyten of door een enzymatische activiteit van *B. hyodysenteriae* zoals de productie van chymotrypsine-achtige proteasen. Chymotrypsine-achtige proteasen kunnen de invasie van weefsels vergemakkelijken (Kang en Olander, 1988; Ter Huurne *et al.*, 1994). Echter enkel 1 van de 21 stammen van *B. hyodysenteriae* hadden (chymo)trypsin-achtige activiteit (Hunter en Wood, 1979).

De exacte mechanismes die aan de basis liggen van de letsels die gezien worden bij varkensdysenterie echter zijn niet volledig gekend (Hampson, 2011). Hemolysines worden aanzien als belangrijke virulentiefactor in de pathogenese van varkensdysenterie (Burrough *et al.*, 2012). Gepurificeerd hemolysine van *B. hyodysenteriae* veroorzaakt laesies in het darmstelsel gelijkend op natuurlijke gevallen van varkensdysenterie, bovendien zijn de hemolysines cytotoxisch voor een aantal cellen *in vitro*. De hemolysines worden gecodeerd door 7 genen, waaronder *tlyA*, *tlyB* en *tlyC* (ter Huurne en Gaastra, 1995), en het *hlyA* gen, welke ook voorkomt bij pathogene *B. intermedia* stammen (Hsu *et al.*, 2001; Bellgard *et al.*, 2009; Burrough *et al.*, 2012). Een *tlyA* negatieve mutant was sterk verminderd hemolytisch en enteropathogeen bij experimentele infectie in muizen en varkens (ter Huurne en Gaastra, 1995). Ook lipopolysacchariden (LPS) van de bacterie kunnen waarschijnlijk een immuunrespons bij de gastheer veroorzaken welke verantwoordelijk is voor de typische laesies (Nuessen *et al.*, 1983), al werden er geen verschillen gevonden in caecale laesies tussen lipopolysaccharide responsieve en –hyporesponsieve muizen (Sacco *et al.*, 1997). Enkele genen die coderen voor de virulentie van *B. hyodysenteriae* zijn gelegen ter hoogte van een sterk heterogeen plasmide, welke waarschijnlijk aan lokale mutaties onderhevig is. Afwezigheid van dit plasmide

resulteerde in een sterke vermindering van virulentie. De genen ter hoogte van dit plasmide staan in voor de productie van Spirochaete Lipo-oligosaccharide (LOS). LOS heeft toxische effecten en kan bijdragen aan de inflammatie en de vorming van letsels. Andere virulentiegenen zijn evenwel ook gelegen ter hoogte van het chromosoom (La *et al.*, 2011). Ten slotte wordt het enzyme NADH-oxidase (gecodeerd door het *nox*-gen) verondersteld een belangrijke rol te spelen in de pathogenese van varkensdysenterie, door de verkregen weerstand tegen oxidatieve stress (Stanton en Jensen, 1993).

Niet enkel de virulentiefactoren van *B. hyodysenteriae* lijken een rol te spelen in de pathogenese. Komarek *et al.* (2009) toonden aan dat *Brachyspira* infecties zich vaak tezamen voordoen met infecties van *Lawsonia intracellularis* (*L. intracellularis*), namelijk 14.8% tegenover 6.8% van de infecties met enkel *L. intracellularis*. Ook Reiner *et al.* (2011) vond een positieve correlatie tussen een gelijktijdige infectie met *L. intracellularis* en *B. hyodysenteriae*/ *B. pilosicoli* bij wilde varkens, namelijk 1.2% en 2.4% respectievelijk. Ook *Campylobacter coli*, *Bacteroides* spp. en *Fusobacterium* spp. worden genoemd als synergisten voor het ontstaan van letsels en de kolonisatie van *B. hyodysenteriae*. Ten slotte blijkt er een verband te bestaan tussen het aantal kiemen waarmee een varken is geïnfecteerd en het ontstaan van ziekte (Guedes *et al.*, 2003).

II. Porciene Intestinale Spirochaetosis (PIS)

B. pilosicoli wordt eveneens orofaecaal overgedragen via faeces van aangetaste dieren of via inerte vectoren. Na orale opname koloniseren de kiemen de crypten van het caecum en colon en hechten zich terminaal vast aan de enterocyten waarbij er een 'valse borstelzoom' wordt gevormd (Harland en Lee, 1967; Trott *et al.*, 1996b; Taylor *et al.*, 1980; Taylor en Trott, 1997; Jensen *et al.*, 2004;). Het exacte mechanisme van de appendiculaire aanhechting aan de enterocyten is niet gekend (Taylor en Trott, 1997). Alhoewel de letsels ter hoogte van de dikke darmen subtiel zijn kan er een milde hyperemie van de mucosa worden opgemerkt, in combinatie met hyperplastische en verlengde crypten, abcesvorming van de crypten een verhoogde mucosinhoud in de darmen, een infiltratie van mononucleaire cellen in de *lamina propria mucosae*, en enkele zones van destructie van enterocyten. Op de plaatsen van focale erosie kan er invasie van de kiem gezien worden in de *lamina propria mucosae* (Jensen *et al.*, 2004). Vanaf 6 dagen p.i. zijn de kiemen terug te vinden in de faeces (Jensen *et al.*, 2010).

1.1.3 Symptomen

I. Varkensdysenterie

Varkensdysenterie kent verschillende synoniemen zoals vibrio dysenterie, bloederige diarree, hemorrhagische dysenterie en zwarte diarree en wordt gekenmerkt door een halfvaste tot waterige, mucoïde tot muco-hemorrhagische diarree (Jensen *et al.*, 1998), waarbij inflammatie, overmatige mucusproductie en zelfs necrose van de dikke darmen optreedt (ter Huurne en Gaastra, 1995). De overmatige vloeistofopstapeling in het colon van geïnfecteerde varkens kan veroorzaakt worden door hypersecretie naar aanleiding van enterotoxine productie ofwel door malabsorptie (Argenzio *et al.*, 1980).

De eerste ziekte tekens zijn koliek, hyperemie ter hoogte van de huid, verminderde eetlust, eventueel geeuwen en een voorbijgaande hyperthermie. Echter veelal wordt als eerste symptoom een geel-grijze, slappe mest opgemerkt. Op histologisch beeld is er oedeem ter hoogte van het mesocolon en de serosa, in combinatie met een diffuse colitis, een overmatige mucusproductie en een oppervlakkige necrose (Jensen *et al.*, 1998). Klinische ziekte tekens kunnen variabel zijn van aard, wat

verklaard kan worden door het maskeren van de ziekte door het profylactisch gebruik van antimicrobiële middelen of door verschillen in voedersamenstelling (Pluske *et al.*, 1996; Hansen *et al.*, 2011). Ook kan het verschil in virulentie tussen verschillende isolaten een verklaring geven voor de gerapporteerde verschillen (La *et al.*, 2011). Ziekte komt voor bij alle varkens, doch treft vooral gespeende biggen, voornamelijk in de vleesvarkensbedrijven (ter Huurne en Gaastra, 1995). De economische verliezen worden het meest veroorzaakt door groeivertraging (ter Huurne en Gaastra, 1995; Jacobson *et al.*, 2003; La *et al.*, 2011). Sommige dieren echter sterven hyperacuut zonder voorafgaande symptomen, wellicht door een verbloedingsdood ter hoogte van het colon.

II. Porciene Intestinale Spirochaetosis (PIS)

Taylor *et al.* (1980) leverden het eerste bewijs dat zwak β -hemolytische *Brachyspira* spp. ook diarree kunnen veroorzaken. Deze aandoening van de dikke darmen uit zich door een milde typhlocolitis en waterige tot mucoïde diarree, eventueel met de bijmenging van kleine hoeveelheden bloed (Trott *et al.*, 1996a; Jensen *et al.*, 2004; Reiner *et al.*, 2011). De eerste klinische ziektekenen zijn verminderde eetlust en zachte, kleverige faeces. Hyperthermie en koliek kunnen zich voordoen. Nadien worden de faeces grijs-bruin met een olieachtige glans. Groeivertraging kan voorkomen bij gespeende biggen en (jonge) vleesvarkens, al zijn de symptomen milder dan bij varkensdysenterie (ter Huurne en Gaastra, 1995; Movahedi en Hampson, 2010). Veelal presteren de dieren na herstel minder goed.

III. Andere porciene intestinale spirocheteten

Het pathogeen belang van *Brachyspira* spp. bij varkens anders dan *B. hyodysenteriae* en *B. pilosicoli* wordt sterk betwist (Trott *et al.*, 1996a; Komarek *et al.*, 2009; Jensen *et al.*, 2010). Zwak β -hemolytische kiemen werden geïsoleerd uit varkens zonder klinische tekenen van diarree, maar ook bij gemixte infecties of bij variabele chronische ziekten (Burrough *et al.*, 2012). Door sommige auteurs worden deze species dan ook als apathogene species beschouwd (Taylor *et al.*, 1980; Taylor en Trott, 1997; Backhans *et al.*, 2011), terwijl enkele andere auteurs een potentiële pathogeniciteit van de deze species bewezen. Namelijk wanneer gespeende biggen worden geïnoculeerd met isolaten van *B. murdochii* ontwikkelen enkele biggen een uitgesproken catarrhale colitis. Histopathologische veranderingen ter hoogte van de crypten en het epitheel zijn minder ernstig dan bij PIS, echter de dikte van de mucosa en de slijmbekercel hyperplasie zijn wel vergelijkbaar met gevallen van PIS. Hoge aantallen van de kiem zijn echter nodig om de mucosale letsels te induceren. Bovendien komt de kiem vaak voor in combinatie met andere kiemen bij variabele chronische ziekten (Jensen *et al.*, 2010). Ook bij enkele gevallen van colitis, waarbij *B. hyodysenteriae* en *B. pilosicoli* afwezig waren, kon *B. murdochii* worden aangetoond door middel van de Polymerase Chain Reaction (PCR) (Weissenböck *et al.*, 2005; Komarek *et al.*, 2009). Gevallen van een *B. murdochii* infectie zonder tekenen van diarree zijn echter ook gerapporteerd (Burrough *et al.*, 2012). *B. intermedia* wordt geassocieerd met diarree en laesies ter hoogte van het colon, al kan er na experimentele inoculatie geen kolonisatie of enige pathogeniciteit bekomen worden. Bovendien wordt de kiem weinig geïsoleerd uit varkens (Trott en Hampson, 1998; Burrough *et al.*, 2012). *B. innocens* veroorzaakt geen dysenterie bij varkens en kan geklasseerd worden bij de commensalen (Burrough *et al.*, 2012), al kan het een mucoïde diarree in combinatie met een milde colitis veroorzaken (Trott en Hampson, 1998). Indien colitis veroorzaakt wordt door bepaalde *B. intermedia* en *B. innocens* stammen noemt men dit Porcine Spirochaetal Colitis (PSC) (Taylor en Trott, 1997).

Ook "*B. suanatina*" en het nieuwe species '*B. hampsonii*' konden na experimentele infectie ziekte bij varkens induceren met gelijkaardige symptomen als varkensdysenterie; muco-hemorragische diarree en colitis konden hierbij worden opgemerkt (Råsbäck *et al.*, 2007; Rubin *et al.*, 2013).

1.1.4 Diagnose

Diagnose van *Brachyspira* spp. en differentiatie tussen pathogene en apathogene species is erg belangrijk in de economische varkensindustrie en in het kader van epidemiologische studies (Jensen *et al.*, 1998). Een vermoedelijke diagnose kan gesteld worden aan de hand van de klinische ziekte tekens en de letsels bij necropsie. Het aantonen van spirocheten in uitstrijkjes van faeces of van afkrabsels van de dikke darm kunnen de vermoedelijkheidsdiagnose bekrachtigen, doch niet bevestigen. Zilverkleuring van histologische coupes kan bij lichtmicroscopie alleen een vermoeden geven van de aanwezigheid van *Brachyspira* spp., maar kan geen onderscheid maken tussen de verschillende species (Hovind-Hougen *et al.*, 1982). Wanneer er gebruik gemaakt wordt van Transmissie Electronen Microscopie (TEM) kan er wel een onderscheid gemaakt worden tussen de verschillende species (Hovind-Hougen *et al.*, 1982), al kan er geen onderscheid gemaakt worden tussen pathogene en apathogene spirocheten (Jensen *et al.*, 1998), en is deze methode te duur en omslachtig als routinetest. Serologische tests zoals ELISA gebaseerd op lipopolysacchariden kunnen gebruikt worden voor de diagnose van *B. hyodysenteriae*, sommigen isolaten vertonen echter niet de typische eigenschappen wat de interpretatie van deze test lastig kan maken. Ze kunnen eventueel wel geschikt zijn voor screening op bedrijfsniveau, indien voldoende stalen worden onderzocht (Harris en Lysons, 1992; Koopman *et al.*, 1993). Immunofluorescentietests kunnen routinematig gebruikt worden voor het aantonen van *B. hyodysenteriae*. Er kunnen zich echter wel kruisreacties voordoen met andere *Brachyspira* spp. of tussen verschillende serotypes van *B. hyodysenteriae* (Koopman *et al.*, 1993; Trott *et al.*, 1996b). Jensen *et al.* (1998) konden aan de hand van de Fluorescentie *in situ* Hybridisation- test (FISH) zelfs één enkele *B. hyodysenteriae* kiem aantonen in formaline- gefixeerde weefselcoupes en toonden zodoende een snelle en sensitieve methode aan om *B. hyodysenteriae* te detecteren.

Ook kan er gebruik gemaakt worden van een cultuur van de kiem op selectieve media of door middel van PCR (Roper, 2013). De isolatie van *B. hyodysenteriae* is gevoeliger dan PCR door de lagere drempelwaarde van 140 bacteriën per gram faeces (Fellstrom *et al.*, 2001). Dit geldt echter voornamelijk voor de diagnose van *B. hyodysenteriae*, voor de diagnose van zwak β - hemolytische kiemen of bij gemixte infecties is PCR meer sensitief (Komarek *et al.*, 2009). Bij diagnose door middel van cultuur kunnen *Brachyspira* spp. geïdentificeerd en gedifferentieerd worden door middel van fenotypische kenmerken met betrekking tot de graad van β -hemolyse (zwak, positief, sterk), indolproductie, hippuraat-hydrolyse, α -galactosidase, α -glucosidase en β -glucosidase (Hovind-Hougen *et al.*, 1982; Fellström en Gunnarsson, 1995). Groep 1 bestaat uit sterk hemolytisch, indolproducerende isolaten, welke bestaat uit *B. hyodysenteriae* (Fellström en Gunnarsson, 1995). Later zijn ook sterk hemolytische, indol negatieve isolaten aangetoond (Thomson *et al.*, 2001; Fellström *et al.*, 2001), waardoor ook '*B. suanatina*' en '*B. hampsonii*' tot groep 1 behoorden. Groep 2 bestaat uit *B. intermedia*, welke minder sterk hemolytisch is maar wel indol produceert. Het is echter lastig om deze gegevens te kunnen interpreteren nu geweten is dat ook *B. intermedia*, "*B. suanatina*" en *B. 'hampsonii'* eveneens sterk hemolytische isolaten kunnen zijn. Het onderscheid tussen deze species kan dan gemaakt worden door middel van PCR analyse (Burrough *et al.*, 2012). Groep 3a wordt gevormd door *B. murdochii*, groep 3b wordt vertegenwoordigd door *B. innocens*, en groep 4 bestaat uit *B. pilosicoli* (Burrough *et al.*, 2012).

1.1.5 Behandeling

De eliminatie van een *B. hyodysenteriae* infectie op een bedrijf kan in grote lijnen op 2 manier tot stand komen, namelijk door een drastische depopulatie ofwel door behandeling van alle varkens met antimicrobiële middelen. In het laatste geval worden ofwel alle varkens behandeld in combinatie met een strikte hygiëne en een knaagdierenbestrijding, ofwel behandelt men de zeugen totdat ze vrij zijn van infectie, waarna men de biggen apart opfokt in een hygiënische, kiemvrije omgeving. Dit laatste vergt een zeer strikte bedrijfsvoering en is lastiger toe te passen op gesloten bedrijven.

Wanneer aangetaste dieren behandeld worden met een werkzaam middel herstellen de varkens in de regel vrij vlot. Het nadeel is echter dat ze zodoende geen immuniteit opbouwen en evenwel de kiem nog langdurig kunnen uitscheiden. Pleuromutulinen (valnemuline, tiamuline) worden als gouden standaard vermeld voor de behandeling van *B. hyodysenteriae*. Bij resistentie tegen pleuromutulinen kan er behandeld worden met voornamelijk tylosine en lincomycine, maar eventueel ook met ampicilline of tetracyclines (Zmutzki *et al.*, 2012; Vytt *et al.*, 2012; Roper, 2013). Ook tylvalosine (Aivlosin®) kan gebruikt worden bij resistentie tegen pleuromutulinen (Vytt *et al.*, 2012).

Resistentie tegen antimicrobiële middelen die werkzaam zijn tegen *Brachyspira* spp. is wijdverspreid (Movahedi en Hampson, 2010). Tot het jaar 2000 werd er een lage Minimum Inhibitorische Concentratie (MIC) voor tiamuline en valnemuline beschreven. MIC₅₀ en MIC₉₀ stegen in de periode van 2000-2009 echter tot 16 maal de initiële MIC. Hetzelfde geldt voor efrotomycine, een groeibevorderaar welke verondersteld wordt een antimicrobiële activiteit te bezitten. Lincomycine en tylosine hadden gedurende de gehele studieperiode (1985-2009) een hoge MIC van 32 µg/ml (Ohya en Sueyoshi (2010). Zmutzki *et al.* (2012) vonden echter de laagste MIC waarden voor tylosine en lincomycine, en bovendien geen verlaagde antimicrobiële gevoeligheid voor tiamuline en valnemuline. Door deze toenemende resistentie tegen antimicrobiële middelen is in januari 2012 het Antimicrobial Consumption and Resistance in Animals (AMCRA) opgericht om het antibioticagebruik in de Belgische veehouderij terug te dringen. Het AMCRA heeft gezondheidsgidsen voor varkens opgesteld, om door middel van een goed preventiebeleid het antibioticumgebruik terug te kunnen dingen.

Naast het gebruik van antimicrobiële middelen zijn een strikte hygiëne in combinatie met een agressieve knaagdierenbestrijding onontbeerlijk bij zowel het elimineren van de infectie als bij de preventie van insleep op een bedrijf (Harris en Lysons, 1992). Andere preventieve maatregelen zijn het vermijden van het invoeren van dragers van de kiem in een bedrijf (ter Huurne en Gaastra, 1995). Aangezien varkens de kiem tot 90 dagen na klinisch herstel kunnen uitscheiden, is dit niet altijd haalbaar. Als derde preventieve maatregel kan het vaccineren van varkens tegen het species *B. hyodysenteriae* vermeld worden, al wordt dit commercieel hedendaags nog niet gedaan. Een vaccin voor *B. pilosicoli* is nog niet beschikbaar, bovendien is de werkzaamheid van een autovaccin in het verleden niet aangetoond.

Een alternatieve behandelingsmethode tegen *Brachyspira* spp. is gebaseerd op een bestanddeel uit de cichoreiwortel. Thomson *et al.* (2007) veronderstelden dat een cichoreiwortel en lupinen - bevattend dieet varkens zullen beschermen tegen het ontwikkelen van varkensdysenterie. Hansen *et al.* (2011) demonstreerden echter dat het voederen van 80g-kg LG inuline, een fructo-oligosaccharide voedingsvezel geëxtraheerd uit cichoreiwortels varkens eerder beschermde tegen dysenterie dan het bestanddeel lupine. Inuline induceert veranderingen in de fermentatie ter hoogte van het caecum en het colon, waardoor de concentratie vluchtige vetzuren en de pH respectievelijk lineair stijgt en daalt; wat zorgt voor een verandering van de intestinale flora.

1.2 BRACHYSPIRA BIJ VOGELS

1.2.1 Voorkomen

Bij *Brachyspira* spp. bij vogels is men vooral geïnteresseerd in de eventuele productiedalingen en economische verliezen bij pluimveebedrijven en bovendien naar de rol van wilde vogels bij de transmissie van *Brachyspira* spp. Tabel 2 geeft een overzicht van het voorkomen van *Brachyspira* spp. bij verschillende vogelsoorten.

Tabel 2: *Brachyspira* spp. bij verschillende vogelsoorten.

Vogelsoort	<i>Brachyspira</i> spp.	Bron
Kippen	<i>B. pilosicoli</i> , <i>B. innocens</i> , <i>B. intermedia</i> , <i>B. murdochii</i> , ' <i>B. pulli</i> ', <i>B. alvinipulli</i> , ' <i>B. corvi</i> '	Taylor <i>et al.</i> , 1980; Trott <i>et al.</i> , 1996a; Swayne <i>et al.</i> , 1995; Stanton <i>et al.</i> , 1998; Stephens en Hampson, 2002a; Backhans <i>et al.</i> , 2011
Eenden	<i>B. pilosicoli</i> , <i>B. hyodysenteriae</i> , <i>B. intermedia</i> , ' <i>B. suanatina</i> '	Sagartz <i>et al.</i> , 1992; Buckles <i>et al.</i> , 1997; Webb <i>et al.</i> , 1997; Swayne en McLaren, 1997; Oxberry <i>et al.</i> , 1998; Jansson <i>et al.</i> , 2001; Jansson <i>et al.</i> , 2001; Råsbäck <i>et al.</i> , 2007; Glavits <i>et al.</i> , 2011
Ganzen	<i>B. hyodysenteriae</i> , <i>B. alvinipulli</i>	Glavitz <i>et al.</i> , 2011
Nandoes	<i>B. hyodysenteriae</i>	Sagartz <i>et al.</i> , 1992; Buckles <i>et al.</i> , 1997; Swayne en McLaren, 1997; Jansson <i>et al.</i> , 2001; Glavits <i>et al.</i> , 2011
Wilde watervogels	<i>B. pilosicoli</i>	Webb <i>et al.</i> , 1997; Oxberry <i>et al.</i> , 1998; Jansson <i>et al.</i> , 2001
Musachtigen	' <i>B. corvi</i> '	Jansson <i>et al.</i> , 2008
Vogels algemeen	<i>B. innocens</i> , <i>B. intermedia</i> , <i>B. murdochii</i>	Kinyon en Harris, 1979; Stanton <i>et al.</i> , 1997

Alle *Brachyspira* spp. zijn bij vogels aangetoond, met uitzondering van de niet-officieel erkenden species '*B. canis*', '*B. aalborgi*', '*B. christiani*' en *B. 'ibarakii*'. Op basis van het 16S rRNA worden de species ingedeeld in 4 clusters, namelijk groep 1 (*B. hyodysenteriae*, *B. intermedia*, '*B. suanatina*'), groep 2 (*B. innocens*, *B. murdochii*), groep 3 (*B. alvinipulli*), en groep 4 (*B. pilosicoli*). *B. 'pulli*' wordt afhankelijk van de selectiecriteria ingedeeld in één van de 4 groepen (Jansson *et al.*, 2008).

Tweeënzeventig procent van de pluimveebedrijven en 71% van de tomen bleek positief te zijn voor *Brachyspira* spp. in het noorden van Italië (Bano *et al.*, 2008). Deze prevalentie komt overeen met de prevalentie die gevonden werd in het oosten van Australië, namelijk 68.2% (Stephens en Hampson, 1999) en is hoger dan de prevalentie in het westen van Australië van 35.1% (McLaren *et al.*, 1996). De 2 species die verondersteld worden pathogeen te zijn voor kippen, namelijk *B. pilosicoli* en *B. intermedia*, werden aangetoond in 41.3% van de isolaten in noord Italië (Bano *et al.*, 2008). Dit komt overeen met de resultaten uit het oosten van Australië en Nederland (Stephens en Hampson, 1999; Feberwee *et al.*, 2008). Ook gemengde infecties komen veel voor (Bano *et al.*, 2008).

Er is weinig gekend over de kolonisatie van spirocheten in de darmen van wilde vogels. Bovendien kan er geen causaal verband tussen de aanwezigheid van spirocheten in het darmkanaal van wilde

vogels en ziekte worden aangetoond, aangezien klinische ziekte tekens niet altijd opgemerkt worden en histopathologisch onderzoek ontbreekt (Jansson *et al.*, 2004).

Jansson *et al.* (2004) vond *Brachyspira* spp. bij wilde eenden (78%), evenals bij gekweekte eenden (93%). Het percentage bij wilde eenden komt ongeveer overeen met eerdere studies in Australië en de VS, waar er een prevalentie van 74-88% gerapporteerd werd (Swayne en McLaren, 1997; Oxberry *et al.*, 1998). Bij wilde eenden komen er gemiddeld 1.5 isolaten per geïnfecteerde vogel voor; waarbij er verschillende fenotypen en combinaties van zwakke- en sterk β -hemolytische isolaten gevonden worden (Jansson *et al.*, 2004).

1.2.2 Pathogenese

Volgens sommige auteurs zijn *B. intermedia*, *B. pilosicoli* en *B. alvinipulli* pathogeen voor vogels (Bano *et al.*, 2008; Hampson en Swayne, 2008). Anderen beweren dat deze *Brachyspira* spp. geen klinische symptomen veroorzaken bij eenden (Swayne en McLaren, 1997; Jansson *et al.*, 2001) of andere vogelsoorten (Stephens en Hampson, 1999; Jansson *et al.*, 2001; Bano *et al.*, 2008; Hampson en Swayne, 2008). *B. hyodysenteriae*, *B. innocens*, *B. murdochii* en '*B. pulli*' lijken apathogeen te zijn voor vogels (Stephens en Hampson, 1999; Jansson *et al.*, 2001; Bano *et al.*, 2008; Hampson en Swayne, 2008).

Het indelen van *Brachyspira* spp. in een pathogene of apathogene groep is dus niet eenduidig; subklinische kolonisatie van zowel pathogene of apathogene *Brachyspira* spp. werd gevonden in eenden (Oxberry *et al.*, 1998; Jansson *et al.*, 2001; Jansson *et al.*, 2004; Hampson en Swayne, 2008). Ook gemengde infecties met verschillende *Brachyspira* species werden gevonden (Stephens en Hampson, 1999; Bano *et al.*, 2008; Feberwee *et al.*, 2008).

Watervogels zijn veelal geïnfecteerd met *B. pilosicoli* en zijn waarschijnlijk een bron voor transmissie naar andere diersoorten (Jansson *et al.*, 2001) door faecale contaminatie van vijvers of de bodem (Jansson *et al.*, 2004). Aangezien het aantal spirocheten bij wilde eenden 2 maal zo hoog is in de herfst wanneer de eenden migreren, dan in de lente, lijkt een gegeven als migratie bij eenden een invloed te hebben op de prevalentie van *Brachyspira*. Een verklaring hiervoor kan worden gevonden in het feit dat bij migratie er sprake is van een tijdelijk immunosuppressie ten gevolge van een verhoogde cortisol spiegel (Jansson *et al.*, 2004). Doch ook factoren als sexe, leeftijd of het seizoen kunnen niet uitgesloten worden als oorzaak hiervan, aangezien er significant vaker intestinale spirocheten worden gevonden bij kippen ouder dan de leeftijd van 40 weken (Stephens en Hampson, 1999; Bano *et al.*, 2008). Bij de pathogene species was er geen significant verband tussen de aanwezigheid van de species en waterige faeces en/of platte mest, maar er was wel een significante overeenkomst tussen de aanwezigheid van pathogene species en verminderde ei productie al dan niet in combinatie met waterige/platte mest (Bano *et al.*, 2008).

1.2.3 Symptomen

Aviaire intestinale spirochetosis (AIS) is een complex ziektebeeld bij vogels dat geassocieerd wordt met de kolonisatie van de darmen door spirocheten (Swayne en McLaren, 1997; Stephens en Hampson, 2002a). Als specifieke veroorzaker van AIS wordt *B. pilosicoli* vernoemd (Trott *et al.* 1996a; Stephens en Hampson 2002a). AIS gaat gepaard met niet- specifieke klinische symptomen en productieproblemen, waaronder voornamelijk diarree, eventueel met een verhoogde vetexcretie in de faeces, een verhoogde voederopname doch malabsorptie, faecale bevuiling van de eieren, een verlate aanvang van de leg en verminderde ei productie (Dwars *et al.*, 1990, Dwars *et al.*, 1992; Trampel *et al.*, 1994; Stephens en Hampson, 2002a; Bano *et al.*, 2008; Movahedi en Hampson,

2010). Bano *et al.* (2008) vonden wel een correlatie tussen infectie met *Brachyspira* en verminderde ei productie, maar geen significante relatie met een verminderde consistentie van de faeces. Daarenboven vertonen nakomelingen van geïnfecteerde ouderdieren een verminderde voederconversie en zijn er een verhoogd aantal zwakke kuikens met een tragere groei (Trott en Hampson, 1998; Hampson *et al.*, 2002). AIS wordt gezien bij de kip (Trott en Hampson, 1998; Glavitz *et al.*, 2011), fazanten, patrijzen, de nandoe en de kalkoen (Shivaprasad en Duhamel, 2005; Glavitz *et al.*, 2011). Nemes *et al.* (2006) schreven een sterftepercentage van opfokganzen van 18-28% toe aan AIS.

Bij een experimentele infectie met *B. intermedia* wordt een meer waterige faeces en een verminderde ei productie vastgesteld (Trott en Hampson, 1998; Hampson en McLaren, 1999), de kiem is pathogeen voor kuikens en leghennen (Trott en Hampson, 1998). Zowel *B. pilosicoli* als *B. intermedia* veroorzaken productieproblemen bij leg- en braadkippen (Stephens en Hampson, 1999).

Brachyspira hyodysenteriae wordt verondersteld necrotiserende typhlocolitis met een hoge mortaliteit te veroorzaken bij de nandoe (Sagartz *et al.*, 1992; Jansson *et al.*, 2004). Buckles (1996) echter inoculeerde nandoes met de R1- stam van *B. hyodysenteriae*, waarna bij 75% van de vogels spirocheten teruggevonden konden worden maar geen letsels. Glavits *et al.* (2011) vond een hemorrhagische tot fibronecrotische typhlocolitis doch zonder diarree, in combinatie met renale degeneratie, zwelling van het metatarsaal- en teengewricht, en amyloïdose van de milt en de lever bij een groep eenden met stijgende mortaliteit. Zowel *B. hyodysenteriae* als *B. pilosicoli* konden worden geïsoleerd. De letsels kwamen overeen met de letsels die zijn beschreven bij zoogdieren, met uitzondering van de renale laesies, die wel voordien al beschreven zijn geweest bij ganzen (Nemes *et al.*, 2006). Daarentegen zijn er geen klinische tekenen van diarree of ziekte gevonden na infectie met *B. hyodysenteriae* bij eenden in de studie van Jansson *et al.* (2004).

B. murdochii werd geassocieerd met productieproblemen in een braadkip productie bedrijf in Australië (Stephens en Hampson, 1999). Daarentegen konden Jensen *et al.* (2010) de kiem enkel isoleren uit kippen zonder ziekte.

1.2.4 Diagnose

De diagnose van AIS kan gesteld worden aan de hand van de klinische symptomen, na Giemsa kleuring van een afkrabsel van de caeca bij autopsie, de bevindingen op autopsie en immunofluorescentie. Een diagnose kan enkel gesteld worden door het aantonen van de kiemen in letsels van een voldoende aantal dieren. Bovendien kunnen de kiemen na isolatie uit de faeces in een geschikt medium worden gebracht, waarbij de fenotypische kenmerken zoals de mate van β -hemolyse, indol productie, hippuraat hydrolyse en α -galactosidase voornamelijk *B. hyodysenteriae* kan onderscheiden van andere species. Bovendien kan er PCR worden uitgevoerd op het 23S rRNA gen. Bij de aanwezigheid van atypische stammen kan er bovendien PCR worden uitgevoerd op het 16s rRNA gen, ofwel PFGE of RAPD worden uitgevoerd (Jansson *et al.*, 2004).

1.2.5 Behandeling

Meerdere antimicrobiële middel zijn getest op hun werkzaamheid tegen *Brachyspira* spp. Ivanics *et al.* (2009) testten de werkzaamheid van de combinatietherapie tiamuline en doxycycline bij leghennen met een profuse diarree. Tijdens de behandeling verminderde het aantal gevallen met diarree maar na stopzetten van de therapie ontstond er al snel opnieuw diarree. Stephens en Hampson (1999) en Hampson *et al.* (2002) vonden een soortgelijk resultaat na behandeling met tiamuline of lincospectine. Dit toont aan dat herinfectie problematisch kan zijn, voornamelijk bij infecties met grote aantallen

Brachyspira vóór het instellen van een behandeling, wellicht door een hoge infectiedruk of door de overleving van *Brachyspira* spp. in de omgeving. Stephens en Hampson (2002b) behandelden kippen met een *B. pilosicoli* infectie 5 dagen lang met ofwel lincomycine ofwel tiamuline, waarna de diarree ophield. Ook wordt behandeling met oxytetracycline of nitro-imidazoles vermeld, wat niet gebruikt mag worden bij voedselproducerende dieren.

Naast de welbekende mechanismen van antimicrobiële middelen ontdekten Hampson *et al.* (2002) dat wanneer men zink-bacitracine (ZnB) verwijdert uit het voeder van vogels na inoculatie met *B. intermedia*, er een duidelijke proliferatie van de kiem ontstaat. *B. intermedia* werd significant minder geïsoleerd van vogels behandeld met 50 ppm ZnB dan vogels die niet werden behandeld of die werden behandeld met 100 ppm ZnB. Waarschijnlijk berust het inhiberend effect van ZnB niet op de directe inhibitie van de proliferatie van *B. intermedia* maar eerder op een indirect effect op andere componenten van de intestinale flora of van de intestinale omgeving.

1.3 BRACHYSPIRA BIJ KNAAGDIEREN

1.3.1 Voorkomen

Knaagdieren kunnen geïnfecteerd worden door *Brachyspira* spp. Bij cultivatie van caecale isolaten van wilde knaagdieren (de huismuis, de bruine rat, de grote bosmuis en de woelrat) die gevangen werden op Zweedse pluimvee- en varkensbedrijven alsook op andere locaties zoals parkvijvers, stadsmolens, waterzuiveringsinstallaties en andere veebedrijven, werden alle bekende species van *Brachyspira* aangetoond, waaronder ook de pathogene species *B. hyodysenteriae* en *B. pilosicoli*. *B. murdochii* heeft de grootste prevalentie onder de knaagdieren (Backhans *et al.*, 2010). De prevalentie positieve knaagdieren op deze Zweedse varkensbedrijven, pluimveebedrijven en andere locaties was 43%, 40% en 63% respectievelijk. Ratten (85%), muizen (32%) en andere knaagdieren (10%) waren met *Brachyspira* spp. gekoloniseerd, die gerelateerd zijn aan de isolaten van varkens en pluimvee. Deze percentages werd gezien op alle locaties (Backhans *et al.*, 2011). In een eerdere studie van Fellström *et al.* (2004) konden er eerder uitzonderlijk isolaten van *B. pilosicoli* bij wilde muizen aangetoond worden, en enkel na het voeren van een speciaal dieet bestaande uit een uitgebalanceerd muizenvoer gesupplementeerd met 50 ppm Zink bacitracine en 50% lactose. Ook werden er nog onbekende varianten van *Brachyspira* spp. aangetoond, die na sequenceren van het 16S rRNA gen fylogenetisch als een zijtak van de *B. pilosicoli*-cluster werden ingedeeld. Deze variant werd '*B. rattus*' genoemd. Fellström *et al.* (2008) toonden 2 nieuwe varianten van *Brachyspira* aan door middel van de Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) test; ze werden '*B. muridarum*' (gevonden bij zowel de bruine rat als de huismuis) en '*B. muris*' (gevonden bij de huismuis en de grote bosmuis) genoemd. Voornamelijk '*B. muris*' en '*B. muridarum*' zijn wijdverspreid, hun pathogeen belang is nochtans nog niet volledig opgehelderd; '*B. rattus*', '*B. muridarum*' en '*B. muris*' zijn bovendien nog niet officieel aanvaard (Backhans *et al.*, 2010). Ook bij knaagdieren gehouden in laboratorium omstandigheden werden er intestinale spirocheten aangetoond (Joens en Kinyon, 1982; Backhans *et al.*, 2010).

1.3.2 Pathogenese

De exacte pathogenese van een *Brachyspira* infectie bij knaagdieren is niet volledig opgehelderd. Naar analogie met andere diersoorten zal de kiem per oraal worden opgenomen, waarna de kiemen het colon en het caecum koloniseren. Na opname scheiden muizen de kiem tot 2 maanden uit, ratten scheiden de kiem enkel gedurende 2 dagen uit. Nochtans worden ratten geacht als belangrijk

reservoir te dienen door hun levensstijl en de hogere prevalentie van *Brachyspira* spp. in vergelijking met muizen (Fellström *et al.*, 2004).

1.3.3 Symptomen

Er is niets bekend over de *in vivo* symptomen bij knaagdieren na een natuurlijke infectie met *Brachyspira* spp. Laboratorium muizen ontwikkelen na experimentele inoculatie met *B. hyodysenteriae* gelijkaardige laesies als varkens (Backhans *et al.*, 2010). Zo werd er tyflitis, caecale atrofie en een verhoging van de mucusproductie gerapporteerd, echter zonder klinische tekenen van dysenterie. Zowel wilde- als laboratorium ratten ontwikkelen geen ziekte na inoculatie van *B. murdochii* (Jenssen *et al.*, 2010). Ook andere zwak β -hemolytische *Brachyspira* spp. konden in muizen en ratten geen laesies veroorzaken, ook niet bij knaagdieren die gevangen werden op een bedrijf met een geschiedenis van varkensdysenterie. Bovendien waren niet alle isolaten in staat om te koloniseren (Burrough *et al.*, 2012). Een verklaring voor het gebrek aan informatie over de symptomen bij knaagdieren kan gevonden worden in het feit dat men voornamelijk is geïnteresseerd in knaagdieren als infectiebron en niet zozeer in de ziekte bij deze diersoorten zelf.

1.3.4 Diagnose

De diagnose van *Brachyspira* spp. in knaagdieren wordt gesteld in functie van studies met het oog op de prevalentie van *Brachyspira* spp. bij knaagdieren, hun rol als reservoir en de extrapolatie van gegevens naar andere diersoorten .

Ten eerste kan een infectie met *Brachyspira* en tevens een onderscheid in verschillende species gemaakt worden aan de hand van hun biochemisch reactiepatroon zoals bij varkens en vogels is besproken. Ook kan er gebruik gemaakt worden van een PCR techniek van de *nox*-, *tlyA*-, 16S rRNA-, *rfaA*, -B, -C en -D en 23S rRNA genen (Backhans *et al.*, 2010; Backhans *et al.*, 2011). Ten slotte kan de techniek van Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) of Pulsed Field Electrophorese (PFGE) worden toegepast.

1.3.5 Behandeling

Het is niet verwonderlijk dat er in de literatuur weinig vermeld is over de behandeling van *Brachyspira* infecties bij knaagdieren. Of de behandelingen voor honden, varkens, vogels en de mens mogen geëxtrapoleerd worden naar knaagdieren is tot op heden nog niet gekend. Lui *et al.* (2010) onderzochten het effect van African Potato Methanolic Extract (AMPE), wat wordt geëxtraheerd uit *Hypoxis hemerocallidea* corn, in *B. hyodysenteriae* geïnfecteerde muizen. In vergelijking met de controle groep (experimenteel geïnfecteerd met *B. hyodysenteriae* maar zonder behandeling met AMPE), zorgde behandeling met AMPE voor een significante vermindering van gewichtsverlies en significant minder caecale laesies. Dit leidt tot de veronderstelling dat AMPE een anti-inflammatoir effect bezit. AMPE beïnvloedt echter de groei van *B. hyodysenteriae* niet, het effect van AMPE berust op een modulatie van de immuniteit van de gastheer of door een vermindering van de inflammatoire respons.

1.4 BRACHYSPIRA BIJ DE HOND

1.4.1 VOORKOMEN

De species die voorkomen bij de hond zijn *B. pilosicoli*, '*B. canis*' (Duhamel *et al.*, 1998; Fellström *et al.*, 2001; Prapasarakul *et al.*, 2003), en *B. hyodysenteriae* (Fellström *et al.*, 2001; Prapasarakul *et al.*, 2003). In 1 hond werd *B. murdochii* aangetoond (Hidalgo *et al.*, 2010).

De prevalentie van *Brachyspira* spp. bij honden ligt tussen de 6.9 en 66% (Oxberry en Hampson, 2003). In Spanje is dit 13.2% (Hidalgo *et al.*, 2010). Dit is iets lager dan de prevalentie in Australië, welke 18.7% bedraagt (Lee en Hampson, 1996). Hier waren de honden echter afkomstig uit een gemeenschap van Aboriginals, of betrof het zieke honden die reeds naar een dierenarts waren gebracht (Oxberry en Hampson, 2003). De prevalentie wijkt ook enigszins af van de prevalenties van een Beaglekolonie en van gezelschapshonden in Zweden, namelijk 65.6% en 17.6% respectievelijk. Dit kan echter worden verklaard daar in beide laatste gevallen de geselecteerde honden leden aan acute of chronische diarree (Fellström *et al.*, 2001). In het onderzoek van Oxberry en Hampson (2003) naar de prevalentie van *Brachyspira* spp. bij pups in dierenwinkels in Australië werd er een prevalentie van 40.8% zwak β -hemolytische *Brachyspira* spp. beschreven. Hierbij kwam 14.2% voor als *B. pilosicoli*. De prevalentie van *B. pilosicoli* en '*B. canis*' in Spanje waren 4.8% en 8.0% respectievelijk (Hidalgo *et al.*, 2010). Dit komt overeen met de prevalentie van *B. pilosicoli* in Papua New Guinea waar het 5.3% bedraagt. Ten slotte zijn er ook al gevallen bekend van *B. pilosicoli* met atypische biochemische reactiepatronen (Fellström *et al.*, 2001). Er werden geen honden gevonden die met meer dan 1 *Brachyspira* species geïnfecteerd waren (Hidalgo *et al.*, 2010).

Een verklaring voor het verschil in prevalenties kan worden gegeven door een verschil in de gevoeligheid van de verschillende detectiemethoden. Namelijk wanneer *B. pilosicoli* in cultuur wordt gebracht vond men een prevalentie van 4.1% vergeleken met 14.2% wanneer de Culture Resuspension Diatomaceous Earth Extraction (CRDEX) werd toegepast. In een eerdere studie werd er 88,7% van de rectale staalnames positief bevonden voor spirocheet-achtige kiemen wanneer er enkel gebruik wordt gemaakt van de lichtmicroscop (Oxberry en Hampson, 2003). Daarenboven kunnen de prevalentiewaarden verschillen wanneer er vooral stalen worden genomen van adulte honden die worden gehouden in asielen of die samen met de oorspronkelijke bewoners van Australië (Aboriginals) leven, of van zieke dieren die reeds naar een dierenarts waren gebracht (Lee en Hampson, 1996).

1.4.2 Pathogenese

Wat betreft de pathogeniciteit zijn de resultaten in de literatuur niet geheel eenduidig. Zo werd er bij enkele studies aangetoond dat intestinale spirochetten commensalen zijn, terwijl andere studies aantonen dat intestinale spirochetten ziekte kunnen veroorzaken (Oxberry en Hampson, 2003). De kiem wordt per oraal opgenomen na uitscheiding van de kiemen door de moeder of door andere diersoorten en de mens, of vanuit de omgeving. Na opname scheiden honden de kiem gemiddeld 13 dagen lang uit.

De vasthechting van *B. pilosicoli* aan de mucosa van de dikke darmen bij honden en de hiermee gepaard gaande intestinale spirochetose, evenals micro- en macroscopische veranderingen in associatie met de aanwezigheid van *B. pilosicoli* werd reeds bij honden aangetoond (Fellström *et al.*, 2001). *B. pilosicoli* wordt meer aangetroffen bij honden jonger dan 1 jaar dan honden die ouder zijn dan 1 jaar (Hidalgo *et al.*, 2010). Twee risicofactoren die aan een infectie met *B. pilosicoli* zijn verbonden zijn de afkomst van de dieren en bovendien de omstandigheden waarin de hond wordt aangehouden. In het eerste geval is de kans op een *B. pilosicoli* infectie het grootst wanneer de hond

uit een opvanginstelling komt, gevolgd door honden die afkomstig zijn van fokkers, wat verklaard kan worden door de hoge densiteit van honden in beide gevallen. In het tweede geval is de kans op infectie het grootst wanneer de hond tot een kruising behoort; het maakte echter geen significant verschil of de hond als bedrijfs- of als waak- of jachthond word gehouden (Hidalgo *et al.*, 2010).

1.4.3 Symptomen

B. pilosicoli is een zeer heterogene kiem, die door velen als veroorzaker van diarree bij honden wordt gezien (Fellström *et al.*, 2001; Hidalgo *et al.*, 2010). Fellström *et al.* (2001) konden echter geen causaal verband aantonen tussen diarree en de aanwezigheid van *Brachyspira* spp. bij honden. Ook Oxberry en Hampson (2003) vonden geen causaal verband. Namelijk 42.8% van de pups die geïnfecteerd waren met *B. pilosicoli* vertoonden diarree, echter dit percentage kan moeilijk geïnterpreteerd worden aangezien er een tekort aan staalnames is (3 van de 7 staalnames). Bovendien werd er geen necropsie of biopsie uitgevoerd. Hidalgo *et al.* (2010) toonde echter wel een causaal verband aan tussen de aanwezigheid van *B. pilosicoli* en het ontwikkelen van diarree. Dit causaal verband geeft een vermoeden van een passieve excretie en zodoende een commensaal karakter van andere intestinale spirocheten, al kan een facultatief pathogeen karakter van de kiemen niet worden uitgesloten. '*B. canis*' is een meer homogeen species en lijkt een commensaal te zijn (Duhamel *et al.*, 1998; Hidalgo *et al.*, 2010). Een causaal verband tussen diarree en de aanwezigheid van '*B. canis*' kon niet worden aangetoond. '*B. canis*' kan namelijk enkel geïsoleerd worden uit gezonde honden met een normale consistentie van de faeces (Duhamel *et al.*, 1998; Oxberry en Hampson, 2003).

1.4.4 Diagnose

De diagnose van *Brachyspira* spp. kan bekomen worden zoals hoger beschreven, namelijk aan de hand van biochemische typering op cultuur (Fellström en Gunnarsson, 1995; Lee en Hampson, 1996). Aan de hand van Multilocus enzyme electroforese (MLEE) kan een onderscheid gemaakt worden tussen *B. pilosicoli* en '*B. canis*'. Ten slotte kan PCR gebruikt worden op het 16S rRNA fragment (Oxberry en Hampson, 2003) of op de *nox*-genen voor het onderscheid tussen *B. pilosicoli* en '*B. canis*' (Hidalgo *et al.*, 2010).

1.4.5 Behandeling

Een aantal antimicrobiële agentia zijn werkzaam tegen *Brachyspira* spp. De meest gebruikte middelen zijn macroliden, lincosamides, pleuromutulinen en nitro-imidazoles (Prapasarakul *et al.*, 2003). De resistentie tegen deze antimicrobiële middelen bij hondenisolaten neemt toe, voornamelijk tegen de pleuromutulinen. Er word geen resistentie gevonden tegen tylosine bij hondenisolaten, maar het gebruik van dit middel bij runderen, varkens en pluimvee werkt de resistentie tegen dit antibioticum wel in de hand. Er is wel al resistentie tegen erythromycine aangetoond bij hondenisolaten. Bij resistentieontwikkeling tegen tylosine ontstaat er waarschijnlijk een kruisresistentie tegen erythromycine en niet andersom, al geven andere studies andere resultaten (Prapasarakul *et al.*, 2003).

Sommige auteurs beschrijven een effectiviteit van tiamuline tegen enkele *Brachyspira* spp. (Duhamel *et al.*, 1998; Prapasarakul *et al.*, 2003). In Japan vertonen 90% van de isolaten resistentie tegen tiamuline, in andere landen ligt dit percentage lager (Prapasarakul *et al.*, 2003). De *in vitro* effectiviteit van Carbadox (Quinoxaline; een groeibevorderaar met antimicrobiële activiteit die gebruikt

wordt bij varkens) is noemenswaardig (MIC <0.00625µg/ml). Dit wordt door meerdere auteurs vermeld (Duhamel *et al.*, 1998; Prapasarakul *et al.*, 2003). Het is echter genotoxisch en het gebruik hiervan is verboden.

1.5 BRACHYSPIRA BIJ DE MENS

1.5.1 Voorkomen

Intestinale Spirochetose en de symptomen die hiermee gepaard gaan werd voor het eerst beschreven bij de mens in 1967 door Harland en Lee. In 1997 werden *Brachyspira* spp. opgenomen in de lijst van enteropathogenen bij de mens (Calderaro *et al.*, 2006). *B. pilosicoli* wordt verondersteld het agens te zijn welke verantwoordelijk is voor IS bij vele diersoorten en de mens (Calderaro *et al.*, 2007). Naast *B. pilosicoli* komt zowel bij de mens als bij primaten ook het species *B. aalborgi* voor. *B. aalborgi* is een mogelijke veroorzaker van IS bij de mens (Calderaro *et al.*, 2007), al zijn de meningen hieromtrent verdeeld; onder andere door de trage groei van de kiem en door het feit dat het species weinig is geïsoleerd bij de mens (Munshi *et al.*, 2008).

De prevalentie van *B. aalborgi* bedraagt 6% in Australië, India en Italië (Munshi *et al.*, 2004; Calderaro *et al.*, 2007). In Bali bedraagt de prevalentie 24.7%, met een lagere prevalentie in steden en een hoge prevalentie in wijken buiten de stad. De prevalentie van *B. pilosicoli* bedraagt tussen de 3.3% en 23.4% in Bali, wat overeenkomt met de prevalentie bij de oorspronkelijke bewoners van Australië (Aboriginals) en de bewoners uit Papua New Guinea en India. In Bali werd *B. aalborgi* vaker geïsoleerd dan *B. pilosicoli*, wat in andere studies niet het geval is. Dit kan verklaard worden door een verschil in etniciteit, dieet, de samenstelling van de microbiële flora ter hoogte van de dikke darmen of door verschillen in andere factoren (Munshi *et al.*, 2008).

Intestinale Spirochetose is voornamelijk een aandoening in ontwikkelingslanden, met de hoogste prevalentie in sloppenwijken en wijken die aan de rand van steden zijn gelegen. Zowel de bevolkingsdichtheid als de armoede zijn hier het hoogst en hygiëne is hier laag (Munshi *et al.*, 2008). In de westerse landen wordt IS voornamelijk geassocieerd met immuungecompromitteerde mensen zoals bij een HIV infectie en eventueel andere factoren zoals roken, drinken, Non-Hodgkin lymfoma of tuberculose (Sacco *et al.*, 1997; Kanavaki *et al.*, 2002).

1.5.2 Pathogenese en epidemiologie

Intestinale spirocheatosis (IS) wordt veroorzaakt door *B. pilosicoli*. Na orale opname van de kiem migreert de kiem naar het colon en het caecum waarna het zich terminaal en loodrecht vasthecht aan de mucosa en zich vermeerderd. Orale opname kan gebeuren door het zwemmen in- of drinken van met faeces gecontamineerd water en een slechte voedselhygiëne (Oxberry *et al.*, 1998; Kanavaki *et al.*, 2002; Munshi *et al.*, 2004; Calderaro *et al.*, 2007). Door het grote geografische verschil in prevalentie kunnen etnische invloeden en voedselgewoonten aldus zorgen voor een verschil in gevoeligheid voor infectie; ook kan de kiem een opportunistisch pathogeen agens zijn (Oxberry *et al.*, 1998; Calderaro *et al.*, 2007). Er kon echter geen associatie worden gemaakt tussen het verkrijgen van een *B. aalborgi* infectie en leeftijd, sexe, beroep, contact met dieren, de consistentie van de faeces of de gezondheidstoestand (Munshi *et al.*, 2008). Wel lijkt sexuele geaardheid een rol te spelen naar aanleiding van een hoge prevalentie van IS bij homoseksuele mannen (Oxberry *et al.*, 1998; Kanavaki *et al.*, 2002; Calderaro *et al.*, 2007). Infectie met 1 van de *Brachyspira* spp. is een risicofactor voor infectie met de andere *Brachyspira* spp., wat duidt op een gezamenlijke risicofactor of predispositie voor infectie met deze kiemen (Munshi *et al.*, 2008).

Zowel varkens als de mens vertonen na orale opname een lange incubatieperiode. Ook de kolonisatie is van lange duur; *B. pilosicoli* kan de dikke darmen tot 4 maanden koloniseren (Oxberry en Hampson, 2003). Dit wijst op een persisterende infectie ofwel op het veelal voorkomen van herinfecties (Munshi *et al.*, 2008). De symptomen van colitis en chronische diarree worden veroorzaakt door de loodrechte terminale aanhechting van spirochetes aan het oppervlak van het colon epitheel, waarbij er morfologische veranderingen en een destructie van de microvilli van het colon optreedt. *Brachyspira* spp. worden geacht typisch niet-invasief te zijn, waarbij de kiemen zich vasthechten ter hoogte van invaginaties in de celmembraan waarna er oedeem ontstaat, hyperplasie van de crypten en een beeld van infectieuze colitis met een actieve infiltratie van monocytten, lymfocyten, plasmacellen en eosinofielen ter hoogte van de *lamina propria mucosae* (Calderaro *et al.*, 2007). Invasie ter hoogte van de mucosa van het colon met de aanwezigheid van kiemen in macrofagen ter hoogte van de *lamina propria mucosae*, in combinatie met een lokale IgE respons is echter aangetoond (Kanavaki *et al.*, 2002). Bovendien kunnen de kiemen aanwezig zijn in enterocyten, slijmbekercellen, Schwann cellen, en kan de infectie geassocieerd worden met ulceratie, necrose en abcesvorming van de crypten (Oxberry *et al.*, 1998). Deze laatste bevinding draagt bij tot het inzicht dat *Brachyspira* spp. ter hoogte van het darmstelsel van de mens potentieel pathogeen kunnen zijn, in plaats van enkel tot de commensale flora te horen.

1.5.3 Symptomen

Er is geen eenduidigheid wat betreft klinische symptomen van IS bij de mens. Sommige auteurs beweren dat IS gecorreleerd is met variabele klinische symptomen, zoals chronische diarree en colitis, rectale bloedingen met bijmenging van mucus, abdominale pijn, gewichtsverlies en ontwikkelingsstoornissen bij kinderen (Kanavaki *et al.*, 2002; Calderaro *et al.*, 2007; Munshi *et al.*, 2008; Movahedi en Hampson, 2010). Anderen veronderstellen dat *Brachyspira* spp. behoren tot de commensale flora en dus geen symptomen veroorzaken (Calderaro *et al.*, 2007). Zo konden Munshi *et al.* (2008) geen associatie maken tussen gastro-intestinale klachten en een infectie met *B. aalborgi*. Ook Trott en Hampson (1998) konden geen *B. aalborgi* kiemen isoleren uit mensen met symptomen van IS, bovendien blijkt dat voordien geïsoleerde kiemen uit het colon van mensen in werkelijkheid *B. pilosicoli* waren. Dat *B. pilosicoli* potentieel pathogeen kan zijn werd bewezen na vaststelling van invasie van de kiem in de mucosa van het colon (Kanavaki *et al.*, 2002). Ook Calderaro *et al.* (2007) kon uit patiënten met klachten van IS zowel *B. aalborgi* en *B. pilosicoli* isoleren. Door veelal vage gastro-intestinale symptomen kan de prevalentie van een *Brachyspira* infectie wellicht onder gediagnosticeerd zijn, bovendien verschillen de mogelijke diagnostische procedures in gevoeligheid. Naast gastro-intestinale symptomen ontwikkelde 1 experimenteel geïnfecteerd persoon ernstige hoofdpijn, welke verdween na behandeling (Oxberry *et al.*, 1998). In ernstig immuun gecompromitteerde patiënten kan een *B. pilosicoli* infectie zich ontwikkelen tot een spirochaetaemie, waarbij de kiem waarschijnlijk de bloedbaan betreedt via de lever (Kanavaki *et al.*, 2002).

1.5.4 Diagnose

De diagnose van IS wordt in eerste instantie gesteld aan de hand van histologisch onderzoek na een colorectale biopsie. Het biopsie kan bekeken worden onder de lichtmicroscopie na een HE-kleuring waarbij een hematoxyline -gekleurde zone kan gezien worden aan de lumenale zijde van het biopsie. Deze zone wordt de 'valse borstelzoom' genoemd, die voorkomt bij zowel een *B. aalborgi* als een *B. pilosicoli* infectie (Munshi *et al.*, 2004; Calderaro *et al.*, 2007). De beste techniek voor het stellen van een diagnose is door het onderzoeken van een histologische coupe met de Transmissie Electronen

Microscop (TEM) waarbij een loodrechte aanhechting van de spirochetten kan gezien worden aan het epitheel van het colon in combinatie met een destructie van microvilli. Sommige auteurs achten de kiem typisch niet invasief met de aanwezigheid van de kiemen ter hoogte van inkepingen van de celmembraan, met hier rond tekenen van ontsteking en een verkorting van de microvilli (Calderaro *et al.*, 2007). De terminale, loodrechte aanhechting van de bacteriën in combinatie met een destructie van microvilli wordt als pathognomonisch beschouwd voor een *B. pilosicoli* infectie (Calderaro *et al.*, 2007). Zowel de pathogeniciteit als de diagnose van *Brachyspira* spp. kan verkeerd worden geïnterpreteerd wanneer er geen gebruik wordt gemaakt van TEM (Sacco *et al.*, 2003; Calderaro *et al.*, 2007). Er kan histologisch echter geen onderscheid worden gemaakt tussen een infectie met *B. aalborgi* of *B. pilosicoli*, bovendien is het een tijdrovend techniek (Calderaro *et al.*, 2007). Ook kan een diagnose gesteld worden aan de hand van PCR voor het 16S rRNA fragment en de *nox* genen van colorectale biopsiën of faeces (Munshi *et al.*, 2008). Colorectale staalnames of stalen van faeces kunnen ook in cultuur worden gebracht, waarbij isolaten getypeerd kunnen worden aan de hand van hun biochemische eigenschappen zoals β -glucosidase, hippuraat hydrolyse, α -glucosidase, α -galactosidase en indolproductie. Beide methoden zijn echter niet altijd in staat om verschillende isolaten van *B. hyodysenteriae* of van andere spirochetten te onderscheiden (Koopman *et al.*, 1993). Bovendien is het lastig en tijdrovend om spirochetten in cultuur te brengen en kunnen de resultaten verschillen naargelang de omgevingsomstandigheden (Oxberry en Hampson, 1998; Munshi *et al.*, 2008). Ten slotte kan een spirochetaemie worden gediagnosticeerd door middel van een bloedonderzoek; de incubatieperiode bedraagt echter 5 dagen (Kanavaki *et al.*, 2002).

1.5.5 Behandeling

Verschillende therapeutica worden vermeld voor de behandeling van IS waaronder penicilline en een combinatietherapie van neomycine en bacitracine (Calderaro *et al.*, 2007). β -lactam antibiotica zijn in principe bactericid voor *Brachyspira* spp., al zijn sommige stammen resistent door middel van de productie van β -lactamase (Kanavaki *et al.*, 2002). IS kan bovendien worden behandeld met 500 mg metronidazole, 3 maal daags, gedurende 10 dagen. Bij 15 van de 17 patiënten met IS die werden behandeld met deze therapie verdwenen de pathogene kiemen en werd er een *restitutio ad integrum* bekomen van het colon epitheel (Calderaro *et al.*, 2007), bovendien verdween bij 1 patiënt de hoofdpijn die werd geassocieerd met IS na behandeling met metronidazole (Oxberry *et al.*, 1998). Ook andere auteurs vermelden een succesvolle therapie met metronidazole (Kanavaki *et al.*, 2002; Calderaro *et al.*, 2007).

2 INTESTINALE SPIROCHETEN EN DE TRANSMISSIE VAN RESERVOIR NAAR PATIËNT

2.1 GEMEENSCHAPPELIJKE BRACHYSPIRA SPP. BIJ VERSCHILLENDE GASTEREN

Het is geweten dat meerdere *Brachyspira* spp. kunnen voorkomen bij verschillende diersoorten inclusief de mens. Van andere *Brachyspira* spp. zijn er een aantal specifieke diersoorten als gastheer beschreven, en van voornamelijk de 'nieuw ontdekte' *Brachyspira* isolaten moet er nog onderzocht worden of ze species-specifiek zijn of dat er potentieel transmissie kan gebeuren tussen verschillende diersoorten. Tabel 3 illustreert het voorkomen van de verschillende *Brachyspira* spp. bij knaagdieren, vogels, varkens, honden en de mens momenteel gekend is.

Tabel 3: *Brachyspira* spp. en het voorkomen bij knaagdieren, vogels, varkens, honden en de mens.

<i>Brachyspira</i> sp.	Knaagdieren	Varkens	Vogels	Honden	Mens
<i>B. hyodysenteriae</i>	x	x	x	x	
<i>B. pilosicoli</i>	x	x	x	x	x
<i>B. murdochii</i>	x	x	x		
<i>B. innocens</i>	x	x	x		
<i>B. intermedia</i>	x	x	x		
' <i>B. muris</i> '	x				
' <i>B. muridarum</i> '	x				
' <i>B. rattus</i> '	x				
' <i>B. canis</i> '				x	
' <i>B. corvi</i> '			x		
<i>B. alvinipulli</i>			x		
' <i>B. pulli</i> '			x		
<i>B. aalborgi</i>					x
' <i>B. suanatina</i> '			x		
' <i>B. hampsonii</i> '		x			

Uit tabel 3 kan geconcludeerd worden dat de species *B. hyodysenteriae*, *B. pilosicoli*, *B. murdochii*, *B. innocens*, en *B. intermedia* voorkomen bij meerdere diersoorten inclusief de mens. Aangezien het van de kiem *B. pilosicoli* algemeen bekend is dat deze vele diersoorten natuurlijk kan infecteren, zal bij de bespreking van de verschillende mogelijkheden van transmissie voornamelijk dieper worden ingegaan op deze kiem.

2.1.1 De epidemiologie van *B. pilosicoli*

B. pilosicoli infecteert op natuurlijke wijze varkens, honden, kippen, eenden, cavia's en de mens en veroorzaakt Intestinale Spirochetose en diarree bij mensen, apen, varkens, kippen, vogels, paarden, de nandoe en honden (Oxberry en Hampson, 2003). De kiem is zodoende weinig gastheerspecifiek. De welgekende symptomen van PIS komen overeen met de symptomen en het histopathologisch beeld van IS die gerapporteerd zijn geweest bij de mens, honden, rhesus apen, bavianen en vogels (Trott en Hampson, 1998; Calderaro *et al.*, 2007). Er zijn bovendien veel experimentele inoculaties uitgevoerd, waaronder de inoculatie van humane isolaten in varkens en pluimvee (Oxberry en Hampson, 2003), inoculatie van humane isolaten in pluimvee, varkens en muizen (Hampson *et al.*, 2006), inoculatie van isolaten van mensen, varkens en honden in Specific Pathogen Free (SPF) pluimvee (Sacco *et al.*, 1997), en inoculatie van isolaten van mensen, varkens, honden en vogels in kuikens en biggen (Dwars *et al.*, 1992; Trott *et al.*, 1996b). Na inoculatie werden de respectievelijke diersoorten gekoloniseerd en induceerden symptomen gelijkaardig aan IS/PIS.

Dezelfde isolaten van *B. pilosicoli* werden ook aangetoond in zowel honden als inwoners uit Papua New Guinea; het lijkt echter waarschijnlijk dat de kiem in honden kon worden aangetoond door het consumeren van menselijke faeces (Trott *et al.*, 1998). Hampson *et al.* (2006) isoleerden *B. pilosicoli* isolaten uit verschillende geografische gebieden en diersoorten (varkens, kippen, eenden, de nandoe,

honden en de mens). Na MLEE analyse vertoonden de isolaten geen clusters die overeenkomen met de diersoort of origine van de isolaten. Wel vertoonden de isolaten van vogels een grotere diversiteit dan de isolaten van de mens of van varkens; bovendien vertoonden isolaten van mensen geen gelijkenis in MLEE met isolaten van andere diersoorten. Het verschil was enkel gelokaliseerd ter hoogte van 1 allel; naar alle waarschijnlijkheid is de species recombinant wat eventueel van belang kan voor de mogelijkheid tot het koloniseren van veel verschillende diersoorten (Trott *et al.*, 1998). Burrough *et al.* (2012) konden profaag-achtige genen aantonen in het genoom van *B. pilosicoli*, *B. hyodysenteriae* en *B. intermedia*, waardoor deze kiemen mogelijks DNA kunnen uitwisselen, wat de grote genetische variëteit van dit species kan verklaren.

Het feit dat ook dieren geïnfecteerd kunnen zijn met humane isolaten, is een bewijs dat *B. pilosicoli* anthropozoönotisch is, en dat dieren eventueel kunnen zorgen voor een (her)-infectie van de mens. Opvallend echter is de lange incubatieperiode tussen moment van infectie en kolonisatie. Dit werd eveneens aangetoond bij varkens (Oxberry *et al.*, 1998). Als mogelijke verklaring kan hiervoor gegeven worden dat de kiem wellicht enkele (gastheer)-factoren moet overwinnen vooraleer infectie tot stand kan komen (Oxberry *et al.*, 1998). Als conclusie kan gesteld worden dat *B. pilosicoli* voornamelijk in experimentele omstandigheden kan worden overgedragen tussen verschillende diersoorten inclusief de mens, ondanks de waarschijnlijk aanwezig species-specifieke barrière (Hampson *et al.*, 2006).

2.1.2 De epidemiologie van andere *Brachyspira* spp.

De natuurlijke prevalentie van *B. hyodysenteriae* in andere diersoorten dan varkens is niet bekend (Jansson *et al.*, 2004), al wordt er gerapporteerd dat de kiem voorkomt bij mensen, varkens, honden, muizen, ratten en kippen (Koopman *et al.*, 1993). Uit genetische analyse blijkt dat het een zeer heterogeen, maar verwant species betreft, waarbij er waarschijnlijk gastheer-specifieke genotypes bestaan (Koopman *et al.*, 1993). Alhoewel infectie bij nandoes geassocieerd wordt met een hoge mortaliteit en een ernstige tyflocolitis (Sagartz *et al.*, 1992; Buckles *et al.*, 1997), veroorzaken bepaalde isolaten geen letsels en een variabele kolonisatie in nandoes, eendenkuikens en varkens (Buckles *et al.*, 1996). Ook isolaten van eenden konden geen kolonisatie of letsels induceren bij varkens (Jansson *et al.*, 2004).

2.1.3 Knaagdieren als reservoir en bron van transmissie van *Brachyspira* spp.

Knaagdieren worden als een belangrijke bron van infectie genoemd voor varkens en pluimvee. Sacco *et al.* (1997) vermeldt de muis als belangrijk reservoir van *Brachyspira* spp. *Brachyspira* spp. in knaagdieren komen overeen met kiemen bij andere diersoorten. De gegevens over de transmissie van knaagdieren naar andere diersoorten zijn niet geheel eenduidig.

Backhans *et al.* (2011) vond identieke isolaten van *B. pilosicoli*, *B. intermedia*, *B. murdochii* en *B. innocens* bij varkens en knaagdieren en identieke isolaten van *B. pilosicoli* bij leghennen en knaagdieren. Fellström *et al.* (2004) vernoemt tevens een transmissie van *B. pilosicoli* tussen muizen en varkens. Ook knaagdieren die geïnfecteerd zijn met *B. hyodysenteriae* kunnen varkens infecteren (Joens, 1980). Bovendien kwamen de meerderheid van de *B. hyodysenteriae* isolaten van knaagdieren, wilde eenden en varkens met dysenterie overeen in de potentiële virulentiegenen *rfaA*-, *B*-, *C*- en *D*. Ook werden er in een *Brachyspira* vrij varkensbedrijf ook alle knaagdieren *Brachyspira* vrij bevonden; wat misschien duidt op een verband tussen de intestinale flora van varkens en knaagdieren (Koopman *et al.*, 1993; Backhans *et al.*, 2010). Ten slotte werd er bij een lage prevalentie

van *B. hyodysenteriae* op varkensbedrijven in Zweden ook een lage prevalentie van *B. hyodysenteriae* in knaagdieren gevonden.

Niet alle gegevens in de literatuur bevestigen echter de veronderstelling dat knaagdieren een infectiebron zijn voor andere dieren. Natuurlijke infectie van muizen met *B. pilosicoli* is tot op heden nog niet gerapporteerd (Jamshidian *et al.*, 2004). In experimentele omstandigheden werd bewezen dat het moeilijk is om muizen met *B. pilosicoli* te infecteren zonder een speciaal dieet met lactose en ZnB. Ditzelfde dieet maakt het ook voor *B. hyodysenteriae* mogelijk om muizen te infecteren. Opvallend is dat humane isolaten er niet in slagen zich vast te hechten aan de muizenenterocyten, terwijl isolaten van varkens en vogels zich wel kunnen vasthechten aan deze cellen (Sacco *et al.*, 1997). Na experimentele infectie veroorzaakt *B. pilosicoli* geen vasthechting, klinische symptomen of enige laesies bij muizen, uitgezonderd van een minimale daling in lichaamsgewicht (Jamshidian *et al.*, 2004). Na experimentele infectie met stammen van *B. hyodysenteriae* ontwikkelden de muizen geen typische tekens van varkensdysenterie; typhlitis, caecale atrofie en een verhoogde mucusproductie kon wel worden opgemerkt (Nibbelink en Wannemuehler, 1992). Muizen op een pluimveebedrijf waren geïnfecteerd met hoge aantallen *B. murdochii* terwijl alle kippen negatief bevonden werden voor *Brachyspira* spp. Een mogelijke verklaring kan worden gegeven door het feit dat de kippen in kooien gehuisvest waren, waardoor er mogelijks minder contact is met faeces van muizen (Sacco *et al.*, 1997; Backhans *et al.*, 2011). Soortgelijk werden er maar enkele isolaten van *B. pilosicoli* gevonden in wilde knaagdieren terwijl dit species veel voorkomt bij varkens (Backhans *et al.*, 2011). Bovendien werd er uit knaagdieren die gevangen waren op varkens- en pluimveebedrijven respectievelijk *B. hyodysenteriae* en *B. murdochii* geïsoleerd, terwijl de varkens en kippen negatief bevonden werden voor *Brachyspira* spp. Hierop aansluitend werd *B. intermedia* geïsoleerd uit enkele varkens van een ander varkensbedrijf, terwijl alle knaagdieren op dat bedrijf negatief waren. Ten slotte werd er uit een rat *B. hyodysenteriae* geïsoleerd die gevangen werd op een dysenterie-vrij varkensbedrijf. Dit isolaat verschilde van andere *B. hyodysenteriae* isolaten en naar alle waarschijnlijkheid betreft het een gastheer-specifiek isolaat (Backhans *et al.*, 2011). Ook Koopman *et al.* (1993) konden *Brachyspira* spp. isoleren uit knaagdieren op varkensbedrijven zonder een voorgeschiedenis van varkensdysenterie. Bovendien kwamen isolaten uit muizen van een bepaald geografisch gebied genotypisch overeen met isolaten uit een ander geografisch gebied. Deze isolaten kwamen genotypisch niet overeen met isolaten van andere diersoorten, zelfs niet met de isolaten van ratten die gevangen werden op dezelfde boerderij. Ten slotte werden hennen op een leghennenbedrijf positief bevonden voor *B. murdochii*, waarna er een grondige knaagdierenbestrijding werd uitgevoerd. Een jaar later werden de huismuizen op het bedrijf positief bevonden voor *B. murdochii*. Dit wijst erop dat ondanks een all-in all-out management *Brachyspira* spp. aanwezig kunnen blijven op een bedrijf (Backhans *et al.*, 2011).

2.1.4 Wilde vogels als reservoir en bron van transmissie van *Brachyspira* spp.

De prevalentie van *Brachyspira* spp. in zowel tamme- als wilde eenden is hoog (Swayne en McLaren, 1997; Oxberry *et al.*, 1998); bij wilde eenden lijkt de tendens te bestaan dat voornamelijk de migrerende eenden het meest gekoloniseerd zijn (Jansson *et al.*, 2004). Bij deze laatste werden er ook enkele isolaten van *B. hyodysenteriae* gevonden. Alhoewel de kiem wordt geassocieerd met ernstige klinische symptomen en een hoge mortaliteit bij de nandoe, veroorzaakte het geen schade bij eenden of bij experimenteel geïnfecteerde biggen. Ook wilde watervogels zijn veelal geïnfecteerd met *Brachyspira* spp. (Swayne en McLaren, 1997; Oxberry *et al.*, 1998; Jansson *et al.*, 2004; Råsbäck *et al.*, 2007), waarvan veel isolaten kunnen worden geïdentificeerd als *B. pilosicoli*. De prevalentie van *B. pilosicoli* in wilde watervogels wordt waarschijnlijk onderhouden door (her)besmetting via opname

van met faeces verontreinigd water, ook al verschillen de isolaten uit het water van de isolaten van watervogels, andere vogelsoorten, varkens, honden, pluimvee en mensen (Oxberry *et al.*, 1998). Daarentegen kon uit dieren en vogels in gevangenschap, die gehouden worden in de nabijheid van waterbronnen die veel bezocht worden door wilde watervogels, geen isolaten gevonden worden van *B. pilosicoli*. Dit kan verklaard worden doordat er geen direct contact is tussen de wilde vogels en de vogels in gevangenschap, of doordat de vogels in gevangenschap geen contact hadden met de faeces van wilde vogels (Oxberry *et al.*, 1998). Hiertegenover kon uit een rat die gevangen was bij een vijver die veel bezocht werd door wilde watervogels isolaten van *B. hyodysenteriae*, *B. intermedia* en *B. murdochii* geïsoleerd worden. Bovendien was de isolaat van *B. hyodysenteriae* gelijkaardig aan de kiemen die geïsoleerd werden uit de varkens in de buurt.

2.1.5 De leefomgeving als reservoir en bron van transmissie van *Brachyspira* spp.

Naast het overleven in knaagdieren of in andere diersoorten kunnen *Brachyspira* spp. ook in andere omstandigheden lang aanwezig blijven op een bepaalde plaats (Backhans *et al.*, 2011). *B. pilosicoli* is meer resistent aan omgevingsinvloeden dan *B. hyodysenteriae* (Oxberry *et al.*, 1998). Als reservoir kunnen eventueel water, faeces of de bodem dienst doen (Munshi *et al.*, 2004; Backhans *et al.*, 2011). *B. pilosicoli* kan tot ongeveer 2 maanden overleven in vochtig organisch materiaal en inerte vectoren als materialen en kledij kunnen de kiem helpen verspreiden. Dit betekent dat zowel varkens en pluimvee als reservoirstadtheren geïnfecteerd kunnen worden door eenzelfde bron (Backhans *et al.*, 2011). Ten slotte kunnen slechte hygiëne en povere leefomstandigheden als factoren voor het verspreiden van infectie aangehaald worden.

2.1.5 Water als reservoir en bron van transmissie van *Brachyspira* spp.

Het drinken van water uit waterputten op het Indonesische eiland Bali in de regenmaand december, waarbij door overstromingen het water gecontamineerd kan worden door menselijke faeces, kan in significant verband kan worden gebracht met het ontwikkelen van een *B. aalborgi* infectie bij de mens (Munshi *et al.*, 2008) Daarentegen was de infectie met *B. pilosicoli* vaker aanwezig bij mensen die hun water haalden uit waterputten in de maand augustus, maar niet in december (Munshi *et al.*, 2008). Dit impliceert dat naast waterbronnen en hun seizoensinvloeden, er wellicht ook een biologisch verschil aanwezig is tussen de *Brachyspira* spp. *B. pilosicoli* kan tot 70 dagen aanwezig blijven in ondiepe waterbronnen bij 4°C met de aanwezigheid van veel organisch materiaal, voornamelijk in water dat niet gechloreerd is. Dit kan een probleem vormen bij het gebruik van niet-gechloreerd water in ontwikkelingslanden en in de varkens- en pluimveeindustrie. *B. pilosicoli* dat wordt geïsoleerd uit waterbronnen verschilt echter wel van de isolaten die vogels koloniseren. *B. hyodysenteriae* kan daarentegen maximaal 14 dagen overleven in water (Oxberry *et al.*, 1998).

2.1.6 Wilde varkens als reservoir en bron van transmissie van *Brachyspira* spp.

Het is totnogtoe onbekend in welke mate er *Brachyspira* spp. transmissie mogelijk is tussen wilde varkens en gedomesticeerde varkens. Wilde varkens kunnen worden blootgesteld aan *Brachyspira* spp. door gedomesticeerde varkens, daarentegen kunnen wilde varkens als reservoir fungeren zoals wordt gezien voor andere pathogene agentia (Reiner *et al.*, 2011). Varkens lijken echter geen bron van infectie te zijn voor de mens; ongeacht een hoge prevalentie bij de mens werd er geen prevalentie van *B. pilosicoli* bij varkens gevonden (Oxberry *et al.*, 1998).

2.1.7 Honden als reservoir en bron van transmissie van *Brachyspira* spp.

Honden kunnen een bron van transmissie zijn van *B. pilosicoli* voor de infectie van andere diersoorten inclusief de mens. Aangezien ook pups geïnfecteerd met *B. pilosicoli* kunnen zijn, en naar alle waarschijnlijkheid op hun leeftijd nog niet in contact zijn geweest met andere mogelijke bronnen van infectie, is de teef een bron van infectie voor de pups (Oxberry en Hampson, 2003). In Papua New Guinea en Australië werden er bij honden en mensen die in dezelfde gemeenschap leefden identieke *B. pilosicoli* isolaten aangetoond (Trott *et al.*, 1998). Ook Koopman *et al.* (1993) vonden identieke *Brachyspira* isolaten in honden en mensen met gastrointestinale symptomen; bovendien worden deze genotypes van *Brachyspira* niet gevonden bij andere diersoorten.

2.1.8 Seksueel contact als bron van transmissie van *Brachyspira* spp.

Bepaalde vormen van seksueel contact wordt verondersteld een mogelijke bron van transmissie te zijn bij mensen onderling door de hoge prevalentie *Brachyspira* spp. bij homoseksuele mannen (Kanavaki *et al.*, 2002; Calderaro *et al.*, 2007).

DISCUSSIE

Het doel van deze literatuurstudie is om een wetenschappelijk inzicht te verkrijgen op de vraag in welke mate reservoir gastheren zoals knaagdieren, wilde vogels of andere omgevingsfactoren van invloed kunnen zijn op de transmissie van een *Brachyspira* infectie naar andere diersoorten zoals varkens, pluimvee, honden en de mens.

Brachyspira spp. vertonen een grote genetische diversiteit (Backhans *et al.*, 2011), al zijn deze verschillen gelegen ter hoogte van enkele nucleotiden (Backhans *et al.*, 2010). Voornamelijk *B. pilosicoli* is een heterogeen species (Oxberry *et al.*, 1998; Hampson *et al.*, 2006). De grote diversiteit kan verklaard worden door profaag-achtige genen waardoor er uitwisseling van genetisch materiaal mogelijk is tussen *Brachyspira* spp. of bepaalde isolaten (Sacco *et al.*, 1997). Opvallend is wel dat de grote diversiteit niet gebonden is aan diersoorten of locaties waaruit de kiemen zijn geïsoleerd; vogels bezitten wel de grootste diversiteit van *Brachyspira* isolaten; en humane isolaten komen niet overeen met isolaten gevonden bij andere diersoorten uitgezonderd van hondenisolaten (Hampson *et al.*, 2006). Dieren kunnen wel gekoloniseerd zijn met humane isolaten van *B. pilosicoli*, wat bewijst dat de kiem een potentieel zoönotisch agens is (Hampson *et al.*, 2006). Door de grote genetische diversiteit is het waarschijnlijk dat er zowel pathogene- en commensale isolaten bestaan (Koopman *et al.*, 1993; Sacco *et al.*, 1997).

Tot op heden zijn er veel verschillende studies uitgevoerd om experimentele transmissie tussen verschillende diersoorten van *Brachyspira* spp. te kunnen bewijzen (Trott *et al.*, 1996b; Trott *et al.*, 1996a; Sacco *et al.*, 1997; Trott en Hampson, 1998; Fellstrom *et al.*, 2004; Backhans *et al.*, 2010). Voornamelijk de transmissie van *B. pilosicoli* is intensief onderzocht geweest waarbij bleek dat dit species weinig gastheerspecifiek is (Hampson *et al.*, 2006), al zal er hoogstwaarschijnlijk sprake zijn van een speciespecifieke barrière (Koopman *et al.*, 1993; Hampson *et al.*, 2006). Ook is er sprake van een stamafhankelijke variatie tussen isolaten (Koopman *et al.*, 1993; Trott en Hampson, 1998; Burrough *et al.*, 2012). Een verschil in mogelijkheid tot kolonisatie kan ook in verschillen tussen individuele dieren worden gezocht (Trott en Hampson, 1998). Enkel *B. murdochii*, *B. aalborgi* en humane isolaten van *B. pilosicoli* slaagden er niet in om kippen, respectievelijk muizen te koloniseren

en lestels te induceren; wellicht zijn de isolaten speciesspecifiek, of wordt dit veroorzaakt door de vele passages *in vitro* (Sacco *et al.*, 1997; Trott en Hampson; 1998; Burrough *et al.*, 2012).

Ook is er veel onderzoek gedaan naar de natuurlijke prevalentie van *Brachyspira* spp. bij verschillende diersoorten; waaronder voornamelijk knaagdieren, pluimvee en varkens (Koopman *et al.*, 1993; Trott en Hampson, 1998; Oxberry *et al.*, 1998; Backhans *et al.*, 2010; Backhans *et al.*, 2011). Knaagdieren kunnen worden gekoloniseerd door isolaten die overeenkomen met isolaten van varkens of pluimvee (Trott *et al.*, 1996b; Fellstrom *et al.*, 2004; Backhans *et al.*, 2011), waardoor knaagdieren worden gezien als een belangrijk reservoir voor *Brachyspira* spp. (Sacco *et al.*, 1997; Backhans *et al.*, 2011). Dit kan worden verklaard door een overeenkomst in de intestinale flora (Backhans *et al.*, 2011). Daarentegen zijn er als ook knaagdier-specifieke isolaten waarbij er zelfs een verschil is tussen ratten en muizen (Koopman *et al.*, 1993). Knaagdieren, varkens of pluimvee kunnen ook worden besmet door een gezamenlijke bron zoals andere wild levende dieren, water, de grond, inerte vectoren zoals vliegen of faeces (Hampson *et al.*, 2006; Backhans *et al.*, 2011).

Ook wilde (water)-vogels worden als een potentieel reservoir voor *Brachyspira* spp. gezien (Trott en al., 1996b; Swayne en McLaren, 1997; Oxberry *et al.*, 1998). Wellicht onderhouden watervogels de infectie door faecale bezoedeling en drinken van hetzelfde water, al verschillen de isolaten uit het water van de isolaten van vogels, varkens, honden, en de mens (Oxberry *et al.*, 1998). De prevalentie van *Brachyspira* spp. tussen wilde vogels en vogels in gevangenschap verschilt bovendien (Trott *et al.*, 1996b; Swayne en McLaren, 1997; Oxberry *et al.*, 1998). Dit verschil in prevalentie tussen wilde dieren en dieren in gevangenschap ontstaat waarschijnlijk door de afwezigheid van contact tussen de dieren onderling of met hun faeces (Oxberry *et al.*, 1998; Backhans *et al.*, 2011).

Ter conclusie kan worden gesteld dat *Brachyspira* spp., en met name *B. pilosicoli*, in staat is om zich voornamelijk in experimentele omstandigheden te spreiden tussen diersoorten onderling, al bestaan er waarschijnlijk ook speciesspecifieke isolaten. Verder onderzoek is nodig om het belang van wilde vogels, knaagdieren en andere potentiële reservoirs als bron van transmissie naar andere diersoorten inclusief de mens te evalueren.

REFERENTIELIJST

- Argenzio R.A., Whipp S.C., Glock R.D. (1980). Pathophysiology of swine dysenterie: colonic transport and permeability studies. *Journal of Infectious Diseases*, 142: 676-684.
- Backhans A., Jansson D.S., Aspan A., Fellström C. (2011). Typing of *Brachyspira* spp. from rodents, pigs and chickens on Swedish farms. *Veterinary Microbiology*, 153: 156-162.
- Backhans A., Johansson K.E., Fellström C. (2010). Phenotypic and molecular characterization of *Brachyspira* spp. isolated from wild rodents. *Environmental Microbiology Reports*, 2(6): 720-727.
- Bano L., Merialdi G., Bonilauri P., Dall'Anese G., Capello K., Comin D., Cattoli G., Sanguinetti V., Hampson D.J., Agnoletti F. (2008). Prevalence, disease association and risk factors for colonization with intestinal spirochaetes (*Brachyspira* spp.) in duck flocks of laying hens in north-eastern Italy. *Avian Pathology*, 37:1, 281-286.
- Bellgard M.I., Wanchanthuek P., La T., Ryan K., Moolhuijzen P., Albertyn Z., Sjöhaban B., Motro Y., Dunn Y., Schibeci D.S., Hunter D. Barrero A., Phillips R., Hampson D.J. (2009) Genome Sequence of the Pathogenic Intestinal Spirochete *Brachyspira hyodysenteriae* Reveals Adaptations to Its Lifestyle in the Porcine Large Intestine. *PLoS ONE*, 4: e4641.

- Boye M., Baloda S.B., Leser T.D., Moller K. (2001). Survival of *Brachyspira hyodysenteriae* and *B. pilosicoli* in terrestrial microcosms. *Veterinary Microbiology*, 81: 33-40.
- Bowden C.A., Joens L.A., Kelley L.M. (1989). Characterization of the attachment of *Treponema hyodysenteriae* to Henle intestinal epithelial cells *in vitro*. *American Journal of Veterinary Research*, 50: 1481-1485.
- Burrough E., Strait E., Kinyon J., Bower L., Madson D., Schwartz K., Frana T., Songer J.G. (2012). Comparison of atypical *Brachyspira* spp. clinical isolates and classic strains in a mouse model of swine dysentery. *Veterinary Microbiology*, 160: 387-394.
- Buckles E.L. (1996). Inoculation of neonatal common rheas (*Rhea americana*) and mallard ducklings (*Anas platyrhynchos*) with three bacterial species associated with necrotizing typhlitis. *Studies in intestinal spirochetes of juvenile common rheas (Rhea americana)*, 43-66.
- Buckles E.L., Eaton K.A., Swayne D.E. (1997). Cases of spirochete-associated necrotizing typhlitis in captive common rheas (*Rhea americana*). *Avian Diseases*, 41: 144-148.
- Calderaro A, Bommezzadri S, Gorrini C, Piccolo G, Peruzzi S, Villanacci V, Zambelli C, Dettori G, Chezzi C. (2006). Comparative evaluation of molecular assays for the identification of intestinal spirochaetes from diseased pigs. *Veterinary Microbiology*, 118: 91-100.
- Calderaro A, Bommezzadri S, Gorrini C, Piccolo G, Peruzzi S, Villanacci V, Zambelli C, Dettori G, Chezzi C. (2007). Infective colitis associated with human intestinal spirochetosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22: 1772-1779.
- Chander Y., Primus A., Oliveira S., Gebhart C.J. (2012). Phenotyping and molecular characterization of a novel strongly hemolytic *Brachyspira* species, provisionally designated '*Brachyspira hamptonii*'. *Journal of Veterinary Diagnose Investigation*, 24: 903-910.
- Chia S.P., Taylor D.J. (1978). Factors affecting the survival of *Treponema hyodysenteriae* in dysenteric pig faeces. *Veterinary Record*, 103:68-70.
- Duhamel G.E., Trott D.J., Muniappa N., Mathiesen M.R., Tarasiuk K., Lee J.I., Hampson D.J. (1998). Canine intestinal spirochetes consist of *Serpulina pilosicoli* and a newly identified group provisionally designated '*Serpulina canis*' sp. nov. *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 2264-2270.
- Dwars R.M., Davelaar F.G., Smit H.F. (1990). Observation on avian intestinal spirochaetosis. *Veterinary Quarterly*, 1: 51-55.
- Dwars R.M., Davelaar F.G., Smit H.F. (1992). Infection of broiler chicks (*Gallus domesticus*) with human intestinal spirochaetes. *Avian Pathology*, 21: 559-568.
- Feberwee A., hampton D.J., Philips N.D., La T., van der Heijden H.M., Wellenberg G.J., Dwars R.M., Landman W.J. (2008). Identification of *Brachyspira hyodysenteriae* and other pathogenic *Brachyspira* species in chickens from laying flocks with diarrhoea or reduced production or both. *Journal of Clinical Microbiology*, 46: 593-600.
- Fellström C., Gunnarsson A. (1995). Phenotypical characterization of intestinal spirochetes isolated from swine. *Research of Veterinary Science*, 59: 1-4.
- Fellström C., Jacobsson M. (2002). Screening for *Brachyspira* spp. and *Lawsonia intracellularis* in European wild pigs. Iowa State University Press, In Proceeding of the 17th Congress of the International Pig Veterinary Society, paper 367.
- Fellström C., Landén A., Karlsson M., Gunnarsson A., Holmgren N. (2004). Mice as a reservoir of *Brachyspira hyodysenteriae* in repeated outbreaks of swine dysentery in a Swedish fattening herd. 18th International Pig Veterinary Society Congress, 1, 280.
- Fellström C., Pettersson B., Zimmerman U., Gunnarsson A., Feinstein R. (2001). Classification of *Brachyspira* spp. isolated from Swedish dogs. *Animal Health Research Reviews*, 2U: 75-82.
- Fellström C., Råsbäck T, Johansson K.E, Olofsson T, Aspán A. (2008). Identification and genetic fingerprinting of *Brachyspira* species. *Journal of Microbiological Methods*, 72: 133-140.

- Glávits R., Ivanics É., Thuma Á., Kaszanyitzky É., Samu P., Ursu K., Dencső L., Dán A. (2011). Typhlocolitis associated with spirochaetes in duck flocks. *Avian Pathology*, 40:1: 23-31.
- Glock R.D., Harris D.L. (1972). Swine dysentery 2. Characterization of lesions in pigs inoculated with *Treponema hyodysenteriae* in pure and mixed culture. *Veterinary Medicine Small Animal Clinician*, 67: 65-68.
- Guedes R.M.C., Winkelman N.L., Gebhart C.J. (2003). Relationship between the severity of porcine proliferative enteropathy and the infectious dose of *Lawsonia intracellularis*. *Veterinary Record*, 153: 432-433.
- Hampson D.J. (2011). *Brachyspira colitis*. *Disease of swine*, 10.
- Hampson D.J., Duhamel G.E. (2006). Porcine colonic spirochetosis/Intestinal spirochetosis. In: *Diseases of Swine*. 9th ed. Straw B.E, Zimmerman J.J, D'Allaire S., Taylor D.J (eds). Blackwell Publishing Ltd, 9: 755-767.
- Hampson D.J., McLaren A.J. (1999). Experimental infection of laying hens with *Brachyspira intermedia* caused reduced egg production and increased faecal water content. *Avian pathology*, 28: 113-117.
- Hampson D.J., Oxberry S.L., La T. (2006). Potential for Zoonotic Transmission of *Brachyspira pilosicoli*. *Emerging Infectious diseases* 12(5): 869-870.
- Hampson D.J., Oxberry S.L., Stephens C.P. (2002). Influence of in-feed zinc bacitracin and tiamulin treatment on experimental avian intestinal spirochaetosis caused by *Brachyspira intermedia*. *Avian Pathology*, 31: 285-291.
- Hampson D.J., Swayne D.E. (2008). Avian intestinal spirochetosis. *Disease of poultry*, 12: 922-940.
- Hansen C.F., Hernandez A, Mansfield J, Hidalgo A, La T, Philips N.D, Hampson J.R, Pluske R. (2011). A high dietary concentration of unilin is necessary to reduce the incidence of swine dysentery in pigs experimentally challenged with *Brachyspira hyodysenteriae*. *British Journal of Nutrition*, 106. 1506-1513.
- Harland W. A., Lee F. D. (1967). Intestinal spirochaetosis. *British Medical Journal*, 3: 718–719.
- Harris D.L., Glock R.D., Christensen C.R., Kinyon J.M. (1972). Swine dysentery-I. Inoculation of pigs with *Treponema hyodysenteriae* (new species) and reproduction of the disease. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, 67: 61-68.
- Harris D.L., Lysons R.J. (1992). Swine dysentery. In: *Leman A.D., B.E. Straw et al. (editors). Diseases of Swine*. Iowa State University Press, 7: 599-616.
- Hidalgo A, Rubio P, Osorio J, Carvajal A. (2010). Prevalence of *Brachyspira pilosicoli* and "*Brachyspira canis*" in dogs and their association with diarrhoea. *Veterinary Microbiology* 146: 356-360.
- Hovind-Hougen K., Birch-Andersen A., Henrik-Nielsen R., Orholm M., Pedersen J.O., Teglbjaerg P.S., Thaysen E.H. (1982). Intestinal spirochetosis: morphological characterization and cultivation of the spirochete *Brachyspira aalborgi* gen. nov., sp. nov. *Journal of Clinical Microbiology*, 16:6: 1127-1136.
- Hsu T., Hutto D.L., Minion F.C., Zuerner R.L., Wannemuehler M.J. (2001). Cloning of a beta-hemolysin gene of *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae* and its expression in *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 69: 706-711.
- Hunter D., Wood T. (1979). An evaluation of the APIZYM system as a means of classifying spirochaetes associated with swine dysentery. *Veterinary Record*, 104: 383-384.
- Ivanics E., Glavists, R., Thuma A., Simon, A., Berta P., Kaszanyitzky E., Samu P., Dencso L., Ursu K., Dan A. (2009). Intestinal spirochaetosis (brachyspirosis) in Hungarian laying hen flocks. *MAGYAR ALLATORVOSOK LAPJA*, 131(6), 323-330 .
- Jacobson M., Hård af Segerstad C., Gunnarsson A., Fellström C., de Verdier Klingenberg K., Wallgren P., Jensen-Waern M. (2003). Diarrhoea in the growing pig- a comparosin of clinical, morphological

- and microbial findings between animals from good and poor performance herds. *Research in Veterinarian Science*, 74: 163-169.
- Jamshidian M., La T., Philips N.D., Hampson D.J. (2004). *Brachyspira pilosicoli* colonization in experimentally infected mice can be facilitated by dietary manipulation. *Journal of Medicinal Microbiology*, 53: 313-318.
- Jansson D.S., Bröjer C., gavier-Widén D. Gunnarsson A. Fellström C. (2001). *Brachyspira* spp. (*Serpulina* spp.) in birds: a review and results from a study of Swedish game birds. *Animal Health Research Reviews*, 2: 93-100.
- Jansson D.S., Fellström C., Johansson K.E. (2008). Intestinal spirochetes isolated from wild-living jackdaws, hooded crows and rooks (genus *Corvus*): Provisionally designated "*Brachyspira corvi*" sp. nov. *Elsevier*, 14: 287-295.
- Jansson D.S., Johansson K.E., Olofsson T., Råsbäck T., Vågsholm I., Pettersson B., Gunnarsson A., Fellström C. (2004). *Brachyspira hyodysenteriae* and other strongly β -haemolytic and indole-positive spirochaetes isolated from mallards (*Anas platyrhynchos*). *Journal of Medical Microbiology*, 53: 293-300.
- Jensen T.K., Boye M., Møller K. (2004). Extensive intestinal spirochaetosis in pigs challenged with *Brachyspira pilosicoli*. *Journal of Medical Microbiology*, 53:309-312.
- Jensen T.K, Christensen A.S, Boye M. (2010). *Brachyspira murdochii* Colitis in Pigs. *Veterinary Pathology*. Vol. 47 no. 2. 334-338.
- Jensen T.K., Boye M., Møller K., Leser T. (1998). Association of *Serpulina hyodysenteriae* with the colonic mucosa in experimental swine dysentery studies by fluorescent *in situ* hybridization. *APMIS*, 106: 1061-1068.
- Joens L.A. (1980). Experimental transmission of *Treponema hyodysenteriae* from mice to pigs. *American Journal of Veterinary Research*, 41: 1225-1226.
- Joens L.A., Kinyon J.M. (1982). Isolation of *Treponema hyodysenteriae* from wild rodents. *Journal of Clinical Microbiology*, 15: 994-997.
- Kanavaki S. Mantadakis E., Thomakos N., Pefanis A., Matsiota-Bernard P., Karabela S., Samonis G. (2002). *Brachyspira (Serpulina) pilosicoli* Spirochetemia in an Immunocompromised Patient. *Infection*, 30: 175-177.
- Kang B., Oleander H.J. (1988). Studies on the peracute contact of *Treponema hyosydsenteriae* with the colonic mucosa of swine. *International Pig Veterinary Society Congress*, 119.
- Kennedy M.J., Rosnik D.K., Ulrich R.G., Yancey R.J. (1988). Association of *Treponema hyodysenteriae* with porcine intestinal mucosa. *Journal of Genetic Microbiology*, 134: 1565-1576.
- Kinyon J.M., Harris D.L. (1979). *Treponema innocens*, a new species of intestinal bacteria, and emended description of the type strain of *Treponema hyodysenteriae*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 29: 102-109.
- Komarek V, Maderner A, Spergser J, Weissenbock H. (2009). Infections with weakly haemolytic *Brachyspira* species in pigs with miscellaneous chronic diseases. *Veterinary Microbiology* 134: 311-317.
- Koopman M.B., Käsbohrer A., Beckmann G., van der Zeijst B.A., Kusters J.G. (1993). Genetic similarity of intestinal spirochetes from humans and a various animal species. *Journal of Clinical Microbiology*, 31(3): 711.
- La T., Philips N.D., Wanchanthuek P., Bellgard M.I., O'Hara A.J., Hampson D.J. (2011). Evidence that the 36 kb plasmid of *Brachyspira hyodysenteriae* contributes to virulence. *Veterinary Microbiology* 153: 150-155.
- Lee J.I., Hampson D.J. (1996). The prevalence of intestinal spirochaetes in dogs. *Australian Veterinary Journal*, 74: 466-467.

- Lui Z., Wilson-Welder J.H., Hostetter J.M., Jergens A.E., Wannemuehler M.J. (2010). Prophylactic treatment with *Hypoxis hemerocallidae* corm (African potato) methanolic extract ameliorates *Brachyspira hyodysenteriae*-induced murine typhlocolitis. *Experimental Biology and Medicine*, 235: 222-229.
- McLaren A.J., Hampson D.J., Wylie S.L. (1996). The prevalence of intestinal spirochaetes in poultry flocks in Western Australia. *Australian Veterinary Journal*, 74: 319-320.
- Movahedi A, Hampson D.J. (2010). Evaluation of recombinant *Brachyspira pilosicoli* oligopeptide-binding proteins as vaccine candidates in a mouse model of intestinal spirochaetosis. *Journal of Veterinary Microbiology*, 59: 353-359.
- Munchi M.A. Margawani K.R. Robertson I.D. Hampson D.J. (2008). An unexpectedly high prevalence of colonization with the intestinal spirochaete *Brachyspira aalborgi* amongst residents of the Indonesian island of Bali. *Journal of Medicinal Microbiology*. 57. 1234-1237.
- Munchi M.A., Traub R.J., Robertson I.D., Mikosza A.S.J., Hampson D.J. (2004). Colonization and risk factors for *Brachyspira aalborgi* and *Brachyspira pilosicoli* in humans and dogs on tea-estates in Assam, India. *Epidemiological Infections*, 132: 137-144.
- Nemes C.S., Glavitz R., Dobos-Kovacs M., Ivanics E., Kaszanyitzky E., Beregszaszi A. (2006). Typhlocolitis associated with spirochaetes in Goose flocks. *Avian Pathology*, 35: 4-11.
- Nibbelink S.K., Wannemuehler M.J. (1992). An enhanced murine model for studies of *Serpulina (Treponema) hyodysenteriae* pathogenesis. *Infection and Immunity*, 60: 3433-3436.
- Nuessen M.E., Joens L.A., Glock R.D. (1983). Involvement of lipopolysaccharide in the pathogenicity of *Treponema hyodysenteriae*. *Journal of Immunology*, 131: 997-999.
- Ohya T., Sueyoshi M. (2010). *In Vitro* Antimicrobial Susceptibility of *Brachyspira hyodysenteriae* Strains Isolated in Japan from 1985 to 2009. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 72(12):1651-3.
- Oxberry S.L., Hampson D.J. (2003). Colonisation of pet shop puppies with *Brachyspira pilosicoli*. *Veterinary Microbiology*, 93: 167-174.
- Oxberry S.L., Trott D.J., Hampson D.J. (1998). *Serpulina pilosicoli*, waterbirds and water: potential sources of infection for humans and other animals. *Epidemiological Infections*, 121: 219-225.
- Pluske J.R., Siba P.M., Pethick D.W., Durmic Z., Mullan B.P., Hampson D.J. (1996). The incidence of swine dysentery in pigs can be reduced by feeding diets that limit fermentation in the large intestine. *Journal of Nutrition*, 126: 2920-2933.
- Prapasarakul N., Ochi K., Adachi Y. (2003). *In vitro* Susceptibility and a New Point Mutation Associated with Tylosin-Resistance in Japanese Canine Intestinal Spirochetes. *Journal of Veterinary Medical Science*, 65(12): 1275-1280.
- Råsbäck T., Fellström C., Bergsjø B., Cizek A., Collin K., Gunnarsson A, Jensen S.M., Mars A., Thomson J., Vyt P., Pringle M. (2005). Assessment of diagnostics and antimicrobial susceptibility testing of *Brachyspira* species using a ring test. *Veterinary Microbiology*, 109: 229-243.
- Råsbäck T., Jansson D.S., Johansson K-E., Fellström C. (2007). A novel enteropathogenic, strongly haemolytic spirochaete isolated from pig and mallard, provisionally designated '*Brachyspira suanatina*' sp. nov. *Environmental Microbiology*, 9: 983-91.
- Reiner G., Winkelmann M., Willems H. (2011). Prevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae*, and *Brachyspira pilosicoli* infection in hunted wild boars (*Sus scrofa*) in Germany. *European Journal of Wildlife Research*, 57: 443-448.
- Roper I (2013). Treating infections in pigs: part two. *Veterinary times*, 43: 12-14.
- Rubin J.E., Costa M.O., Hill J.E., Kittrell H.E., Fernando C., Huang Y., O'Connor B., Harding J.C.S. (2013). *PLoS One*, 8(2): e57146.

- Sacco R.E., Trampel D.W., Wannemuehler M.J. (1997). Experimental Infection of C3H mice with Avian, Porcine, or Human Isolates of *Serpulina pilosicoli*. *Infection and Immunity*, 65(12): 5349-5353.
- Sagartz J.E., Swayne D.E., Eaton K.A., Hayes J.R. Amass K.D., Wack R., Kramer L. (1992). Necrotizing typhlocolitis associated with a spirochete in rheas (*Rhea americana*). *Avian Diseases*, 36: 282-289.
- Shivaprasad H.L., Duhamel G.E. (2005). Cecal spirochetosis caused by *Brachyspira pilosicoli* in commercial turkeys. *Avian Diseases*, 49: 609-613.
- Stanton T.B., Jensen N.S. (1993). Purification and characterization of NADH oxidase from *Serpulina (Treponema) hyodysenteriae*. *British Veterinary Journal*, 175: 2980-2987.
- Stanton T.B., Jensen N.S., Casey T.A., Tordoff L.A., Dewhirst F.E., Paster B.J. (1991). Reclassification of *Treponema hyodysenteriae* and *Treponema innocens* in a new genus. *Serpulina* gen. nov., as *Serpulina hyodysenteriae* comb. nov. And *Serpulina innocens* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41: 50-58.
- Stanton T.B. (1992). Proposal to change the genus designation *Serpula* to *Serpulina* gen. nov. Containing the species *Serpulina hyodysenteriae* comb. nov. and *Serpulina innocens* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42: 189-190.
- Stanton T.B., Fournié-Amarouz E., Postic D., Trott D.J., Grimont P.A.D., Baranton G. (1997). Recognition of two new species of intestinal spirochetes: *Serpulina intermedia* sp. nov. and *Serpulina murdochii* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47: 1007-12.
- Stanton T.B., Postic D., Jensen N.S. (1998). *Serpulina alvinipulli* sp. nov., a new *Serpulina* species enteropathogenic for chickens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48: 669-76.
- Stephens C.P., Hampson D. J. (1999). Prevalence and disease association of intestinal spirochaetes in chickens in eastern Australia. *Avian Pathology*, 28: 447-454.
- Stephens C.P., Hampson D.J. (2002a). Experimental infection of broiler breeder hens with the intestinal spirochaete *Brachyspira (Brachyspira) pilosicoli* causes reduced egg production. *Avian Pathology*, 31: 169-175.
- Stephens C.P., Hampson D.J. (2002b). Evaluation of tiamulin and lincomycin for the treatment of broiler breeders experimentally infected with the intestinal spirochaete *Brachyspira pilosicoli*. *Avian Pathology*, 31: 299-304.
- Swayne D.E., Eaton K.A., Stoutenburg J., Trott D.J., Hampson D.J., Jensen N.S. (1995). Identification of a new intestinal spirochete with pathogenicity for chickens. *Infection and Immunity*, 63: 430-436.
- Swayne D.E., McLaren A.J. (1997). Avian intestinal spirochaetes and avian intestinal spirochaetosis. In: Hampson D.J., Stanton T.B., editors: *Intestinal spirochaetosis in domestic animals and humans*, 267-300.
- Taylor D.J., Alexander T.J.L. (1971). The production of dysentery in swine by feeding cultures containing a spirochaete. *British Veterinary Journal*, 127: 58-61.
- Taylor D.J., Simmons J.R., Laird H.M. (1980). Production of diarrhoea and dysentery in pigs by feeding pure cultures of a spirochete differing from *Treponema hyodysenteriae*. *Veterinary Record*, 106: 326-332.
- Taylor, D.J., Trott, D.J. (1997). Porcine intestinal spirochaetosis and spirochaetal colitis. *Intestinal Spirochaetes in Domestic Animals and Humans*, 211-242.
- Ter Huurne A.H.M., Gaastra W. (1995). Swine dysentery: more unknown than known. *Veterinary Microbiology*, 46. 347-360.

- Ter Huurne A.A.H.M., Muir S., van Houten M., van der Zeijst B.A.M., Gaastra W., Kusters J.G. (1994). Characterization of three putative *Serpulina hyodysenteriae* hemolysins. *Microbiological Pathogens*, 16: 269-282.
- Thomson L.E., Bach Knudsen K.E., Jensen T.K. (2007). The effect of fermentable carbohydrates on experimental swine dysentery and whip worm infections in pigs. *Veterinary Microbiology*, 199: 152-163.
- Thomson J.R., Smith W.J., Murray D., Dick J.E., Sumption K.J. (2001). Porcine enteric spirochete infections in the UK: surveillance data and preliminary investigation of atypical isolates. *Animal Health Research Reviews*, 2: 31-36.
- Trampel D.W., Jensen N.S., Hoffman L.J.(1994). Cecal spirochetosis in commercial layinh hens. *Avian Diseases*, 38: 895-898.
- Trott D.J., Atyeo R.F., Lee J.I, Swayne D.A, Stoutenburg J.W., Hampson D.J. (1996b). Genetic relatedness amongst intestinal spirochaetes isolated from rats and birds. *Lett Appl Microbiol*, 23: 431-436.
- Trott D.J., Hampson D.J. (1998). Evaluation of Day-old Specific Pathogen-free Chicks as an Experimental Model for Pathogenicity Testing of Intestinal Spirochaete Species. *Journal of Comparative Pathology*, 118: 365-381.
- Trott D.J., Mikosza A.S.J., Combs B.G., Oxberry S.K., Hampson D.J. (1998). Population genetic analysis of *Serpulina pilosicoli* and its molecular epidemiology in villages in the Eastern Highlands of Papua New Guinea. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48: 659-668.
- Trott D.J., Stanton T.B., Jensen N.S., Duhamel G.E., Johnson J.L., Hampson D.J. (1996a). *Serpulina pilosicoli* sp. nov.: the agent of porcine intestinal spirochetosis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46: 206-15.
- Vyt P., Vandepitte L., Dereu A. Roozen M. (2012). The use of tylvalosin (Aivlosin®) in the successful elimination of swine dysentery on a farrow-to-finish herd. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* , 81: 205-210.
- Webb D.M., Duhamel G.E., Mathiesen M.R., Muniappa N., White A.K. (1997). Cecal intestinal spirochetosis associated with *Serpulina pilosicoli* in captive juvenile ring-necked pheasants. *Avian Diseases*, 41: 997-1002.
- Weissenböck H., Maderner A., Herzog A.M., Lussy H., Nowotny N. (2005). Amplification and sequencing of *Brachyspira* spp. specific portions of nox using paraffin-embedded tissue samples from clinical colitis in Austrian pigs shows frequent solitary presecnce of *Brachyspira murdochii*. *Veterinary Microbiology*, 111: 67-75.
- Zmudzki J., Szczotka A., Nowak A., Strzelecka H., Grzesiak A., Pejsak Z. (2012). Antimicrobial susceptibility of *Brachyspira hyodysenteriae* isolated from 21 Polish farms. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 15 (2).

