

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2012-2013

RISICOFACTOREN VOOR ENZOÛTISCHE PNEUMONIE (STALHOEST) BIJ VARKENS

door

Stern VERGOTE

Promotoren: Prof. Dr. D. Maes
Dierenarts Annelies Michiels

Literatuurstudie in het kader
van de Masterproef

© 2013 Stern Vergote

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

RISICOFACTOREN VOOR ENZOÛTISCHE PNEUMONIE (STALHOEST) BIJ VARKENS

door

Stern VERGOTE

Promotoren: Prof. Dr. D. Maes
Dierenarts Annelies Michiels

Literatuurstudie in het kader
van de Masterproef

© 2013 Stern Vergote

VOORWOORD

Graag zou ik iedereen willen bedanken die mij geholpen en gesteund heeft tijdens het maken van deze literatuurstudie. In het bijzonder een woord van dank aan mijn promotoren Prof. Dr. Dominiek Maes en Dierenarts Annelies Michiels. Ondanks hun drukke agenda stonden zij steeds klaar voor advies en opbouwende commentaar. Zonder hen zou ik dan ook de kans niet gekregen hebben om me in dit bijzonder interessant onderwerp te verdiepen. Daarnaast wil ik ook mijn medestudenten bedanken, die dit werk meermaals herlezen hebben.

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING	p. 1
INLEIDING.....	p. 2
LITERATUURSTUDIE	p. 3
1. De ziekte.....	p. 3
1.1 Etiologie	p. 3
1.2 Epidemiologie	p. 3
1.3 Pathogenese	p. 4
1.4 Letsels en symptomen.....	p. 4
1.5 Diagnose.....	p. 5
1.6 Behandeling en preventie.....	p. 5
1.7 Economische betekenis.....	p. 6
2. Risicofactoren	p. 7
2.1 Type productiesysteem	p. 7
2.2 Leeftijd (pariteit) van de zeugen, speenleeftijd en vaccinatie.....	p. 7
2.3 Aankoop van dieren.....	p. 8
2.4 Stress.....	p. 9
2.5 Bezettingsdichtheid	p. 9
2.6 Huisvesting	p. 10
2.7 Stalklimaat	p. 11
2.8 Seizoen.....	p. 12
2.9 Aanwezigheid andere pathogenen	p. 12
2.10 Nabijheid van geïnfecteerde bedrijven	p. 13
2.11 Virulentie van de kiem	p. 13
2.12 Overzicht.....	p. 15
BESPREKING	p. 16
REFERENTIELIJST	p. 17

SAMENVATTING

Enzoötische pneumonie is een besmettelijke ademhalingsaandoening bij varkens, die wereldwijd voorkomt. De ziekte wordt gekarakteriseerd door een chronische droge hoest, groeivertraging, lage mortaliteit en hoge morbiditeit. Het primair etiologisch agens van enzoötische pneumonie is *Mycoplasma hyopneumoniae*. Deze kiem invadeert de ademhalingstractus, waarbij het de weg kan vrij maken voor secundaire bacteriën. De klinische symptomen en de letsels zijn het resultaat van de pathogeniciteit van *M. hyopneumoniae* en de afweerreacties in de longen, echter omgevingsfactoren kunnen ook een rol spelen in het tot stand komen van de ziekte. Enzoötische pneumonie is namelijk een multifactoriële ziekte en veel verschillende risicofactoren kunnen geïdentificeerd worden. Het type productiesysteem speelt een voorname rol. Bedrijven die niet all-in/all-out produceren lopen een veel hoger risico op problemen. Met betrekking tot de bedrijfsvoering zijn ook het aankoopbeleid en de leeftijdsverdeling van de zeugenpopulatie van belang. Verder gaan alle handelingen die stress veroorzaken bij de varkens gepaard met een verminderde afweer van de dieren, waardoor het risico op infectie verhoogt. Overbezetting doet de infectiedruk voor *M. hyopneumoniae* toenemen en vormt daarom eveneens een belangrijke risicofactor. Verschillende studies tonen een verband tussen het voorkomen van enzoötische pneumonie en de klimaatomstandigheden in de stal. Een slechte afstelling van de ventilatie, bruuske temperatuurschommelingen, hoge concentraties aan ammoniak en een stofrijke omgeving zijn hierbij als belangrijke risicofactoren te vermelden. In streken waar zich veel varkensbedrijven dicht bij elkaar bevinden, doet zich nog een bijkomend risico voor. Verspreiding van de kiem tussen naburige bedrijven is immers mogelijk via de lucht. Verder kunnen we nog het seizoen, de aanwezigheid van andere pathogenen en de virulentie van de kiem als risicofactoren vermelden.

INLEIDING

Enzoötische pneumonie is een chronisch verlopende ademhalingsaandoening, die gekarakteriseerd wordt door een droge, niet productieve hoest en een verhoogde voederconversie als gevolg heeft (Vranckx et al., 2012). Het primair agens betrokken bij deze ziekte is *Mycoplasma hyopneumoniae*. Deze kiem veroorzaakt frequent letsels in de longen van vleesvarkens, waarbij vooral de cranio-ventrale longdelen aangetast worden (Van Alstine, 2012). De macroscopische letsels bestaan uit een catarrhale pneumonie, microscopisch zien we een uitgebreide peribronchiale, peribronchiolaire en perivasculaire lymfocytair hyperplasie, hetgeen aangeduid wordt als cuffing (Maes et al., 2000). Via onderdrukking van de immuniteit ter hoogte van het ademhalingsstelsel, maakt *M. hyopneumoniae* de weg vrij voor secundaire bacteriën, zoals *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* en *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *M. hyopneumoniae* speelt samen met een aantal virale pathogenen ook een centrale rol in het porcine respiratory disease complex (PRDC) (Van Alstine, 2012).

Enzoötische pneumonie gaat gepaard met belangrijke financiële verliezen voor de varkenssector in landen met een intensieve varkenshouderij. Het ziekteverloop en de economische schade van de ziekte worden in grote mate beïnvloed door de bedrijfsvoering en de klimaatomstandigheden in de stal. Onvoldoende ventilatie, een hoog ammoniakgehalte, een stofrijke omgeving en een te hoge bezettingsdichtheid zijn factoren die het risico op aanslaan van *M. hyopneumoniae* vergroten (Maes et al., 2000). Door het uitvoeren van aanpassingen in het management kan men de kans op het voorkomen van enzoötische pneumonie op een bedrijf verlagen, daarom wordt in dit werk aandacht besteed aan de risicofactoren waarop men kan inspelen.

LITERATUURSTUDIE

1. De ziekte

1.1 Etiologie

Het primair agens betrokken in het ontstaan van enzoötische pneumonie is *M. hyopneumoniae*. Dit is een obligaat symbiotisch, zeer gastheer specifiek micro-organisme (er bestaan geen andere gastheren dan het varken), dat weinig resistent is in de omgeving. Mycoplasmata behoren tot de klasse Mollicutes. Dit is een groep van bacteriën zonder celwand, die een gevarieerd aantal species kunnen infecteren. Er bestaan verschillende stammen van *M. hyopneumoniae*, die van elkaar verschillen op genetisch en antigenisch vlak. Tussen de stammen bestaan ook virulentieverschillen en deze verschillen spelen naast de bedrijfsvoering en de klimaatomstandigheden in de stal, een belangrijke rol in de ernst van de klinische symptomen (Thacker en Minion, 2012).

Het voornaamste secundair pathogeen organisme dat een rol speelt bij enzoötische pneumonie is *Pasteurella multocida*. Vooral niet-toxinevormende type A-stammen zijn frequent aanwezig in pneumonieletsels. Ook *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica* en *Trueperella pyogenes* zijn frequent voorkomende secundaire bacteriën (Maes et al., 2000). *M. hyopneumoniae* speelt, naast een aantal virale pathogenen (PRRSV, PCV2, influenza), ook een centrale rol in het porcine respiratory disease complex (PRDC) (Thacker en Minion, 2012).

1.2 Epidemiologie

In veldomstandigheden gebeurt besmetting met *M. hyopneumoniae* vooral via contact met geïnfecteerde varkens. Zowel direct neus-neus contact als aërosolen geproduceerd door geïnfecteerde dieren tijdens het niezen en het hoesten zijn hierbij van belang. Overdracht via gecontamineerde voorwerpen is weinig of niet van belang. Placentaire en lactogene overdracht van *M. hyopneumoniae* komen niet voor (Maes et al., 2000).

Binnen het bedrijf zijn er twee belangrijke infectieroutes. Biggen worden reeds in de kraamstal besmet, via neus-neus contact met de zeug. Van zodra de kiem bij enkele zuigende biggen aanwezig is, vindt verdere overdracht plaats naar toomgenoten. Op deze manier speelt de zeug een belangrijke rol in het enzoëtisch blijven van mycoplasma pneumonie op bedrijfsniveau. De belangrijkste infectieroute is echter de verspreiding bij de gespeende biggen en de vleesvarkens. De verspreiding na de kraamstalperiode wordt des te belangrijker naarmate er met een doorschuifproductiesysteem gewerkt wordt, dit zal verder in de tekst dan ook besproken worden als een belangrijke risicofactor voor het voorkomen van enzoëtische pneumonie (Thacker en Minion, 2012). Alhoewel *M. hyopneumoniae* weinig resistent is in de omgeving en vrij grote hoeveelheden van de kiem nodig zijn om de infectie te doen aanslaan, is verspreiding tussen bedrijven toch mogelijk via de lucht (Maes et al., 2000).

1.3 Pathogenese

Opname van *M. hyopneumoniae* vindt plaats door inhalatie. Hierna zal het organisme zich vasthechten aan het trilhaarepitheel van de trachea, bronchiën en grotere bronchiolen en daar vermeerderen. De trilharen van de geïnfecteerde cellen klonteren samen en worden vervolgens afgestoten, waarna degeneratie van de cellen plaatsvindt.

Een infectie met *M. hyopneumoniae* kan via verschillende mechanismen de weg vrij maken voor secundaire kiemen. Namelijk via de hierboven beschreven interferentie met het mucociliair apparaat, dat een belangrijke rol speelt in verband met de aspecifieke afweer ter hoogte van het ademhalingsstelsel. Daarnaast onderdrukt deze bacterie de humorale respons en heeft een negatief effect op de fagocytose door macrofagen, wat het ontstaan van secundaire infecties in de hand werkt. Ook onderdrukt bronchio-alveolair vocht van biggen die experimenteel werden geïnfecteerd met *M. hyopneumoniae* de functie van de neutrofielen (Haesebrouck, 2011).

Enzoötische pneumonie kan zowel endemisch als epidemisch voorkomen. Een epidemische situatie is zeldzaam en komt voor wanneer *M. hyopneumoniae* geïntroduceerd wordt in een volledig naïeve populatie. De endemische vorm komt het meest voor, typisch worden hierbij eerst enkele dieren ziek en verspreidt de ziekte zich vervolgens over de hele afdeling.

1.4 Letsels en symptomen

M. hyopneumoniae veroorzaakt typische longletsels, namelijk rode tot grijze verdichtingshaarden, die vooral voorkomen ter hoogte van de voorste en middelste longkwabben, de accessoire longkwab en het voorste deel van de achterste longkwabben. In de luchtwegen kan een sereus exsudaat voorkomen en de bronchiale en mediastinale lymfeknopen zijn vaak gezwollen (Maes et al., 2000).

Het is mogelijk dat een cytotoxisch proteïne betrokken is in het ontstaan van de letsels. Dit toxine werd enkel in vivo en niet in vitro geproduceerd. Verder onderzoek is echter nodig om de rol van mogelijke toxines te bevestigen. Ook de immunologische reactie van de gastheer speelt een rol bij het ontstaan van de letsels. *M. hyopneumoniae* stimuleert de migratie en mitogenese van mononucleaire cellen, wat resulteert in een massale opstapeling van deze cellen rond de bronchiën en bronchiolen (dit wordt "cuffing" genoemd). Dit kan interfereren met de normale functie van de luchtwegen (Thacker en Minion, 2012).

Het belangrijkste symptoom is een chronische, niet productieve hoest die vooral duidelijk is wanneer de varkens worden opgejaagd. Aangetaste dieren kunnen hoesten gedurende een periode van 2-3 weken, maar het hoesten kan ook aanhouden gedurende de ganse groeiperiode. De lichaamstemperatuur kan licht verhoogd zijn. Bij secundaire bacteriële infecties kunnen erge ademhalings symptomen optreden en zelfs sterfte (Thacker en Minion, 2012).

1.5 Diagnose

M. hyopneumoniae groeit zeer moeilijk in vitro. Om deze kiem te isoleren moet men gebruik maken van speciale vloeibare media, medium volgens Friis wordt het meest gebruikt. Ook zijn er tijdens de incubatie speciale milieucondities nodig. Na inoculatie van het medium kan er na 3-30 dagen troebeling en kleuromslag gezien worden. De isolatie van *M. hyopneumoniae* wordt bemoeilijkt door overgroei van andere bacteriën of andere Mycoplasmata. *M. hyorhinis* is vaak aanwezig in longweefsel, als primaire of secundaire kiem bij pneumonie en groeit veel beter dan *M. hyopneumoniae*. *M. flocculare* is een niet pathogeen mycoplasma, dat eveneens vaak aanwezig is in de longen van varkens. Op antigenisch en morfologisch vlak, alsook qua groeikarakteristieken lijkt deze kiem zeer sterk op *M. hyopneumoniae*. Dit kan moeilijkheden geven bij de identificatie (Maes et al., 2000). Alhoewel cultuur van de bacterie aanzien wordt als de gouden standaard voor de diagnose van enzoëtische pneumonie, wordt deze methode omwille van bovengenoemde complicaties niet routinematig gebruikt (Ross, 1999; Desrosiers, 2001).

De diagnose is meestal gebaseerd op de observatie van macroscopische longletsels bij het slachten van de varkens. Deze letsels zijn typisch, maar wel niet pathognomonisch voor de kiem en werden hierboven reeds uitgebreid besproken. Ook serologie wordt vaak gebruikt in de diagnose van enzoëtische pneumonie. ELISA's zijn beschikbaar, waarbij antistoffen worden opgespoord tegen een specifiek epitoom van *M. hyopneumoniae*. Serologie is niet geschikt om bij een individueel dier een diagnose te stellen, de resultaten dienen steeds op groepsniveau geïnterpreteerd te worden. Door middel van een serologisch profiel, waarbij bloed wordt genomen bij verschillende leeftijdsgroepen, kan men een duidelijk beeld krijgen van de infectiestatus van het bedrijf (Maes et al., 2000).

Immunofluorescentie is vooral geschikt om tijdens de acute fase van de infectie een diagnose te stellen. Hierbij wordt *M. hyopneumoniae* antigeen aangetoond in vriescoupes van longweefsel. Bij een positief resultaat ziet men een lijnvormige fluorescentie ter hoogte van de trachea, bronchiën of bronchiolen. Door middel van histopathologie kan men de typische microscopische longletsels waarnemen, namelijk peribronchiolaire en perivasculaire infiltratie met lymfocyten en monocyten. Tenslotte kan *M. hyopneumoniae* aangetoond worden in longweefsel, in bronchiale spoelsels en in neusswabs door middel van PCR, deze techniek is echter duur. Nested PCR is de meest gevoelige techniek. Recent worden er ook kwantitatieve PCRs gebruikt, waarbij het aantal Mycoplasma organismen kan bepaald worden bv. in longspoelvocht (Thacker, 2004).

1.6 Behandeling en controle

M. hyopneumoniae is gevoelig voor een groot aantal verschillende antibiotica, zoals tetracyclines, tylosine, tilmicosine, lincomycine, tiamuline, valnemuline, spiramycine en de nieuwere fluoroquinolones. Door het ontbreken van de celwand, is de bacterie ongevoelig voor antibiotica die interfereren met de bouw van de celwand, namelijk penicilline, ampicilline, amoxicilline en

cephalosporines. De kiem is ook van nature uit resistent aan sulfonamiden, trimethoprim, 14-ring macroliden en polymyxines (Maes et al., 2000).

Controle van *M.hyo pneumoniae* infecties kan op verschillende wijzen bereikt worden. In deze tekst wordt de nadruk gelegd op de risicofactoren voor het ontstaan van enzoötische pneumonie. Er zal blijken dat het inspelen op deze risicofactoren een belangrijke rol speelt in de preventie. Zo kan een juiste afstelling van de ventilatie en het hanteren van een optimale bezettingsdichtheid het risico op infectie met de kiem reeds sterk doen dalen. Daarnaast wordt er bij de controle gebruik gemaakt van antimicrobiële middelen en vaccinatie (Maes et al., 2008).

1.7 Economische betekenis

De economische schade door enzoötische pneumonie is aanzienlijk. Zowel het verhoogd medicatie gebruik als de verminderde prestaties van de biggen leiden tot financieel verlies (Maes et al., 2008). Een ongecompliceerde *Mycoplasma* pneumonie kan een reductie van de dagelijkse groei van 12,7% veroorzaken bij vleesvarkens tussen 50 en 85 kg. Bij jongere dieren kan dit zelfs resulteren in een afname van 15,9%. Er is ook een nadelige beïnvloeding van de voederefficiëntie (reductie van 13,8%). De economische verliezen kunnen nog groter zijn bij gevallen die gecompliceerd worden door andere kiemen (Haesebrouck, 2011). Zowel het ziekteverloop als de financiële schade kunnen beïnvloed worden door de bedrijfsvoering en de klimaatomstandigheden in de stal, maar goede bedrijfsomstandigheden gaan niet altijd automatisch gepaard met een verminderd voorkomen van enzoötische pneumonie, net zoals slechte bedrijfsomstandigheden niet altijd resulteren in ernstige ziekte (Maes et al., 2000; Vicca et al., 2002).

2. Risicofactoren

2.1 Type productiesysteem

Zoals reeds besproken onder epidemiologie gebeurt de verspreiding van *M. hyopneumoniae* vooral bij de gespeende biggen en de vleesvarkens. Het risico op kiemoverdracht wordt des te groter naarmate er met een doorschuifproductiesysteem gewerkt wordt. Bij dergelijk systeem wordt de mestafdeling telkens aangevuld met jonge, nog niet besmette varkens. De jongere dieren worden geïnfecteerd door de oudere varkens en op deze manier wordt de infectieketen op het bedrijf in stand gehouden. Bovendien vormt het mengen van varkens een bron van stress voor de dieren, waardoor de kans op kiemoverdracht nog vergroot. Het percentage dieren dat serologisch positief is, stijgt geleidelijk naar het einde van de mestperiode toe (Maes et al., 2000).

Om de cyclus van kiemoverdracht van oudere naar jongere varkens te onderbreken, is het beter met een all-in/all-out (AIAO) productiesysteem te werken (Clark et al., 1991a). Hierbij doorlopen de biggen de verschillende productiestadia als een groep en worden ze niet gemengd. Hoe strikter de scheiding tussen de leeftijdsgroepen wordt doorgevoerd, hoe meer uitgesproken de effecten zijn op de gezondheidsstatus van de dieren. Het leeftijdsverschil tussen varkens van eenzelfde afdeling moet minder dan drie weken bedragen. Maximaal effect kan bekomen worden met het three-site productiesysteem, waarbij de verschillende leeftijdsgroepen, namelijk de zuigende biggen, de gespeende biggen en de vleesvarkens in aparte bedrijven worden gehouden die op voldoende afstand van mekaar gelegen zijn (Maes et al., 2000).

Naast het onderbreken van de kiemoverdracht, kan het positief effect van AIAO produceren ook verklaard worden doordat zich hier de mogelijkheid biedt tot een grondige schoonmaak en desinfectie tussen de verschillende groepen varkens. Dit helpt om de hoeveelheid pathogenen waaraan de dieren blootgesteld worden en de infectiedruk binnen het bedrijf te verminderen (Fablet, 2009). Clark et al. (1991b) toonden aan dat een AIAO productiesysteem resulteert in een verbetering van de dagelijkse groei en de voederconversie, en in een vermindering van de longletsels.

2.2 Leeftijd (pariteit) van de zeugen, speenleeftijd en vaccinatie

Biggen kunnen reeds in de kraamstal besmet worden door de zeug via neus-neus contact. Infectie overdracht gebeurt hier voornamelijk via de gelten en jonge zeugen. Oudere zeugen scheiden immers minder *M. hyopneumoniae* organismen uit, en geven ook meer colostrale immuniteit door aan hun biggen (Maes et al., 2000). Alhoewel oudere zeugen ook nog *M. hyopneumoniae* kunnen overbrengen naar hun nakomelingen, vormt de aanwezigheid van teveel jonge zeugen op het bedrijf een risicofactor voor problemen.

Om het risico op infectie met *M. hyopneumoniae* te verkleinen, kunnen op grote bedrijven de gelten (en hun biggen) apart gehuisvest worden van de oudere zeugen, tot ze hun tweede dracht bereikt

hebben. Tegen deze tijd zouden ze de gewenste immuniteitsstatus moeten bezitten en zouden ze geen gevaar meer mogen vormen voor destabilisatie van de immuniteit op het bedrijf (Hoy et al, 1986; Joo, 2003).

Gedurende de eerste drie levensweken worden de biggen beschermd door colostrale immuniteit (Wallgren et al., 1998). Na deze periode valt de bescherming tegen infectie weg en wordt de kans op kiem overdracht van zeug naar big groter. Te lang wachten met spenen zou dus een risicofactor kunnen vormen voor het ontstaan van enzoötische pneumonie. Door middel van medicated early-weaning kan men *M. hyopneumoniae*-vrije biggen bekomen van geïnfecteerde zeugen. Hierbij worden de biggen gemedicineerd en gespeend vóór de twintigste levensdag (Maes et al., 2000).

Ook het niet vaccineren van de zeugen vormt een risicofactor voor het ontstaan van longletsels bij hun nakomelingen. Sibila et al. (2007) voerden een studie uit waarbij kolonisatie en serologische status voor *M. hyopneumoniae* werden vergeleken tussen gevaccineerde en niet-gevaccineerde zeugen. Ook het effect van vaccinatie van de zeugen op kolonisatie en serologische status voor *M. hyopneumoniae* bij de biggen werd hierbij nagegaan. Vijftig zeugen (25 gevaccineerd en 25 niet-gevaccineerd) en vijf van hun biggen werden betrokken in deze studie. Vaccinatie met een two shot *M. hyopneumoniae* vaccin resulteerde in een significant hoger percentage seropositieve zeugen dan in de niet-gevaccineerde groep. Op 3-4 weken ouderdom was ook het procent seropositieve biggen van gevaccineerde zeugen significant hoger dan van niet-gevaccineerde zeugen. Vooral van belang was dat het aantal biggen met erge longletsels significant lager was voor de biggen afkomstig van gevaccineerde zeugen. Vaccinatie van zeugen kan dus de kolonisatie van biggen door *M. hyopneumoniae* niet verhinderen, maar zorgt wel voor een verhoging van het aantal seropositieve zeugen en biggen, en voor verminderde longletsels bij de biggen.

2.3 Aankoop van dieren

Het frequent aankopen van dieren vormt een risicofactor in het ontstaan van enzoötische pneumonie. In Deense SPF (specific pathogen free) bedrijven vond men een verhoogd risico op respiratoire problemen naargelang het aantal diergroepen dat aangekocht werd en het aantal verschillende herkomsten van de dieren (Jorsal en Thomsen, 1988). Maes et al. (2001) vonden eenzelfde resultaat voor Belgische varkensbedrijven. De studie bestond uit een onderzoek op 150 varkensbedrijven met meer dan 50 zeugen. Men vond een hogere prevalentie en ernst van longletsels bij slachtvarkens afkomstig van bedrijven waar frequent gelten aangekocht werden. Immers op een gesloten bedrijf of in een gesloten productiesysteem is de bedrijfsimmunitet voor *M. hyopneumoniae* stabiel dan op bedrijven waar varkens worden aangekocht.

Zowel aankoop van dieren met een lage gezondheidsstatus, als aankoop van dieren met een zeer hoge gezondheidsstatus vormen een risico. Dieren met een heel goede gezondheidsstatus zullen immers negatief zijn voor *M. hyopneumoniae* en bezitten dus ook geen immuniteit. Wanneer dergelijke

dieren in contact komen met de kiem, kunnen ze ziek worden, wat aanleiding kan geven tot een plotselinge toename in excretie. Op deze manier kan het evenwicht tussen infectiedruk en bedrijfsimmunitet verstoord raken (Maes et al., 2000).

Een bijkomende risicofactor die verband houdt met het aankoopbeleid is het niet of onvoldoende hanteren van een quarantaineperiode. Aangekochte dieren worden idealiter minstens 30 dagen in quarantaine gesteld, dit verhindert dat een eventuele infectie meteen overslaat op de andere dieren van het bedrijf. Tijdens deze quarantaineperiode zal duidelijk worden of de varkens al dan niet besmet zijn met *M. hyopneumoniae* en kunnen eventueel onderzoeken worden uitgevoerd (Amass en Baysinger, 2006).

2.4 Stress

Varkens die frequent blootgesteld worden aan stress zijn onrustig en kunnen dwangmatig gedrag gaan ontwikkelen, zoals staart- en oorbijten. De afweer van de dieren vermindert, waardoor ze minder weerstand bieden tegen ziektes. Vooral bacteriën en virussen kunnen in dit geval gemakkelijker toeslaan.

Alle handelingen die een vorm van stress veroorzaken bij de varkens, zoals verhoeken, vermengen en transporteren van dieren, vormen risicofactoren voor de verspreiding van *M. hyopneumoniae* en moeten bijgevolg zoveel mogelijk vermeden worden (Maes et al., 2008). Preventieve maatregelen zoals castratie, knippen van de tanden, couperen van de staartjes, ijzer toediening, vaccinatie en ontwormen moeten rustig en zo hygiënisch mogelijk uitgevoerd worden.

Wanneer drachtige zeugen frequent blootgesteld worden aan stress gedurende het laatste stadium van de dracht, kan dit langdurige effecten hebben op de immuun functie van hun nakomelingen. De mogelijkheid van de biggen om efficiënt te reageren op infecties tijdens de zoogperiode en rond de speenleeftijd vermindert hierdoor (Courret et al., 2009). Het frequent verplaatsen van de drachtige zeugen (zodat ze constant naast nieuwe, onbekende dieren komen te staan), kan hierbij als risicofactor vermeld worden.

2.5 Bezettingsdichtheid

Varkenshouders hebben vaak de neiging om de bezettingsdichtheid te verhogen, om zo de productiekosten te verminderen en hun opbrengsten te verhogen. Een afname van de vrije vloeroppervlakte per big leidt echter tot overbezetting, wat een risicofactor is voor enzoötische pneumonie. Een toename van de bezetting verhoogt immers de kans op infectie met *M. hyopneumoniae*. Dit kan verklaard worden doordat de kans op neus-neus contact met geïnfecteerde varkens en ook de kans op verspreiding via aërosol tussen hokgenoten toeneemt (Fablet, 2009). Ook

een tijdelijke overbezetting, bijvoorbeeld op het einde van de batterij- of de voormestperiode, kan zorgen voor een toename van de infectiedruk van *M. hyopneumoniae* (Maes et al., 2000). Daarnaast veroorzaakt overbezetting stress bij de varkens, vooral bij ondergeschikte dieren. Zoals eerder besproken heeft stress een negatieve invloed op de immuniteit, waardoor het risico op ziekte toeneemt (Fablet, 2009). Te lage hokbezettingen zijn echter economisch niet verantwoord en dus ook tegenaangewezen. Het is belangrijk om naar een goed compromis te zoeken.

De oppervlakte vereisten voor varkens van verschillende gewichtsklassen, zijn vastgelegd in een EU-wetgeving.

Tabel 1: Benodigde oppervlakte per varken volgens EU-regelgeving (naar Maes et al., 2000)

Gemiddeld diergewicht (kg)	Oppervlakte vereiste in m ² per dier ^a
≤ 10 kg	0,15
10-20 kg	0,20
20-30 kg	0,30
30-50 kg	0,40
50-85 kg	0,55
85-110 kg	0,65
≥ 110 kg	1,00

^a Oppervlakte vrije vloer: de oppervlakte die een dier nodig heeft om comfortabel gehuisvest te zijn. Objecten die op de grond staan of ruimtes die niet permanent toegankelijk zijn, moeten hiervan afgetrokken worden.

2.6 Huisvesting

Te grote afdelingen, waarbij te veel varkens eenzelfde luchtruimte delen, vormen een risicofactor voor het voorkomen van enzoötische pneumonie. De kans op verspreiding van zwevende deeltjes (kiemen) neemt namelijk exponentieel toe met de toename van de hoeveelheid varkens in eenzelfde ruimte. De kraamstal, de biggenbatterij en de afmeststal moeten daarom gecompartmenteerd zijn in kleine afdelingen. Een maximum van 200-300 varkens per afdeling wordt aanbevolen. Idealiter bevinden zich niet meer dan 150 varkens in eenzelfde ruimte, waarbij voldoende plaats per dier voorzien wordt (Sørensen et al., 2006). Wanneer gewerkt wordt met roostervloeren, moet de scheiding tussen de afdelingen ook onder de roosters doorlopen. Tussen de hokken worden best vaste afscheidingen

geplaatst, van minstens 60cm hoog. Deze voorkomen hoge luchtsnelheden ter hoogte van de varkens en beperken de overdracht van *M. hyopneumoniae* door neus-neus contact tussen varkens van naburige hokken. Dergelijke afscheidingen kunnen echter de verspreiding van *M. hyopneumoniae* via aërosol niet verhinderen (Maes et al., 2000).

Een slechte isolatie van de afdelingen vormt eveneens een risicofactor voor enzoötische pneumonie. Een inadequate isolatie gaat namelijk gepaard met warmteverlies (vooral in de winter) en grote dagelijkse temperatuurschommelingen (Sörensen et al., 2006). Vooral in oude stallen moet men met dit risico rekening houden en moet de isolatie geregeld gecontroleerd worden op mogelijke schade door ongedierte of als gevolg van condensatie (Maes et al., 2000). Ook diepe mestputten doen het risico op problemen toenemen. Ze verhogen de kans op putventilatie en kunnen aldus leiden tot een hoger ammoniakgehalte in de stallucht (Maes et al., 2000).

2.7 Stalklimaat

Een slechte afstelling van de ventilatie zal gepaard gaan met een verhoogd risico op problemen door enzoötische pneumonie. Tocht en bruske temperatuurschommelingen predisponeren immers tot respiratoire infecties, door een vermindering van het weerstandsvermogen van de varkens (Van Alstine, 2012). Natuurlijke ventilatie vergroot de kans op ademhalingsziekten in vergelijking met mechanische ventilatie. Ook het hanteren van een directe luchtinlaat (waarbij de lucht niet opgewarmd wordt vooraleer hij bij de dieren komt) vergroot het risico (Fablet, 2009). Op bedrijven waar gespeende biggen frequent aan tocht blootgesteld worden, vond men een hoger voorkomen van hoesten en niezen dan in de controlegroep. Volle scheidingen tussen biggengroepen worden geassocieerd met een vermindering in incidentie van pneumonie. Men veronderstelt dat dit te wijten is aan een vermindering van tocht (Haesebrouck, 2011). Volgens Maes et al. (2000) mag de luchtsnelheid bij de dieren niet meer bedragen dan 0.15 m/s in de batterij en 0.2 m/s in de mestafdeling. Een correcte afstelling van de ventilatie is ook van belang voor het bekomen van een goede luchtvochtigheid in de stal. Een relatieve luchtvochtigheid van 60-80% is optimaal (Maes et al., 2000).

De stalgassenconcentraties moeten lager zijn dan volgende waarden (in ppm): NH₃ 20, CO₂ 3000, H₂S 0.5 en CO 10 (Maes et al., 2000). Hoge concentraties ammoniak zijn nadelig voor de respiratoire gezondheid en verhogen het risico op problemen met *M. hyopneumoniae*. Ammoniakconcentraties van 50-100ppm interfereren met het normale mucociliaire systeem van de ademhalingstractus. Epidemiologische studies toonden aan dat de hoogste incidentie van respiratoire ziekten voorkomt in die bedrijven met de hoogste ammoniakconcentraties in de lucht (Pointon et al., 2012). Clark et al. (1993) vonden echter geen hogere incidentie of ergere letsels van enzoötische pneumonie bij biggen blootgesteld aan hogere ammoniakconcentraties en variabele temperaturen in vergelijking met de controlegroep. Ook een effect van deze omgevingsfactoren op de dagelijkse gewichtsaanzet kon niet aangetoond worden. De invloed van CO₂ op het voorkomen van ademhalingsziekten is nog niet duidelijk beschreven. Hoge CO₂ gehalten zijn gerelateerd met een te lage ventilatie en worden

gecorrleerd met hoge hoeveelheden pollutanten in de stallucht, zoals micro-organismen, endotoxinen en NH₃. Het effect van CO₂ op problemen met enzoötische pneumonie zou daarom eerder indirect zijn. (Fablet, 2009).

De aanwezigheid van hoge concentraties stof in de stal vormt eveneens een risicofactor. Stofdeeltjes kunnen irritatie veroorzaken van de luchtwegen en fungeren als drager voor pathogenen (virussen, bacteriën, schimmels) (Maes et al., 2000). Stofdeeltjes in varkensstallen zijn voornamelijk afkomstig van de voeding, dierenhuid, haar, opgedroogde urine en feces, beddingmateriaal en micro-organismen. De diameter van de aanwezige stofdeeltjes speelt een belangrijke rol, want hoe kleiner de deeltjes, hoe dieper ze kunnen penetreren in de ademhalingstractus van de varkens. Stofdeeltjes van 5-10 µm of meer worden tegengehouden ter hoogte van de bovenste ademhalingswegen (neus, lanrynx), terwijl deeltjes kleiner dan 5µm tot in de longen kunnen doordringen. Verschillende studies werden reeds uitgevoerd, waarin hoge concentraties stof geassocieerd werden met een verhoogd voorkomen van ademhalingsziekte (Fablet, 2009). De stofconcentratie in de stal kan beperkt gehouden worden door de dieren rustig te verzorgen, door een strikte hygiëne toe te passen, door te zorgen voor een goede huisvesting en door brijvoeding toe te passen (Maes et al., 2000).

2.8 Seizoen

Varkens die tijdens de winterperiode opgekweekt worden lopen meer risico om klinisch aangetast te worden, om antistoffen tegen *M. hyopneumoniae* op te bouwen en om de typische longletsels te vertonen (Maes et al., 2000). Een studie van Stärk et al. (1998) toonde aan dat de prevalentie van enzoötische pneumonie tijdens de winter 63% bedroeg, in de zomer was dit significant minder (52%). De gevonden longletsels in het slachthuis waren ook ernstiger in de winter dan in de zomer. Deze seizoeneffecten zouden veroorzaakt worden door veranderingen in de relatieve luchtvochtigheid en temperatuur, en door een verminderde ventilatie in de winter om de temperatuur in de stallen op peil te houden (Maes et al., 2000). In een epidemiologische studie, waarin 150 ad random gekozen bedrijven betrokken waren, vonden Maes et al. (2001) een hogere prevalentie en ergheid van pneumonieletsels bij varkens geslacht in de maanden januari en februari.

2.9 Aanwezigheid andere pathogenen

Een infectie met *Ascaris suum* is een risicofactor voor enzoötische pneumonie. De larven van deze parasiet kunnen immers weefselschade veroorzaken tijdens hun migratie door de long. Deze longschade verhoogt het risico op infectie met respiratoire pathogenen zoals bacteriën en virussen. Een goed ontwormingsschema is derhalve essentieel (Maes et al., 2008).

Longschade kan ook optreden als gevolg van andere respiratoire infecties, waaronder bacteriën en virussen. PRRSV (porcine reproductive and respiratory syndrome virus), influenzavirussen, PCV2

(porcine circovirus type 2) en PRCV (porcine respiratory corona virus), in combinatie met *M. hyopneumoniae* zouden zoals al eerder vermeld een belangrijke rol spelen in het ontstaan van PRDC (porcine respiratory disease complex). De impact van deze infecties kan gereduceerd worden via medicatie, vaccinatie en aanpassing van het management (Maes et al., 2008).

Ook niet-respiratoire infecties, zoals maagdarfstoornissen, kunnen predisponerend werken voor enzoëtische pneumonie. Derhalve worden deze ook best zoveel mogelijk voorkomen (Maes et al., 2008).

2.10 Nabijheid van geïnfecteerde bedrijven

Alhoewel *M. hyopneumoniae* weinig resistent is in de omgeving en relatief grote hoeveelheden nodig zijn om een infectie te doen aanslaan, is verspreiding tussen naburige bedrijven toch mogelijk via de lucht. Het is immers mogelijk dat geïsoleerde specific pathogen free (SPF) bedrijven geïnfecteerd worden door *M. hyopneumoniae* (Maes et al., 2000). De aanwezigheid van geïnfecteerde mestvarkensbedrijven en gemengde bedrijven in de nabijheid van het bedrijf vormt aldus een belangrijke risicofactor voor het voorkomen van enzoëtische pneumonie (Hege et al., 2002).

Reeds in 1985 toonde Goodwin aan dat bedrijven die zich op minder dan 3.2 km van elkaar bevinden, elkaar kunnen infecteren. Recenter onderzoek bewees echter dat verspreiding via de lucht mogelijk is over een afstand van 9.2 km (Otake et al., 2010). Ook werd in deze studie aangetoond dat de bacteriën na aëroge transmissie nog steeds infectieus zijn. Verspreiding via de lucht wordt vergemakkelijkt door verschillend meteorologische factoren. Meest significant hierbij zijn windrichting en strekte van de overheersende wind. Ook factoren zoals bewolking, turbulentie en topografie zijn van belang. Bewolking, nacht (wanneer de turbulentie meestal laag is) en hoge luchtvochtigheid vergemakkelijken aëroge transmissie van respiratoire pathogenen (Gloster et al., 1981).

Ook contact tussen bedrijven via transportvoertuigen vormt een weg voor de verspreiding van *M. hyopneumoniae* en is bijgevolg een risicofactor. Een strategische planning van de plaatsen voor vrachtwagens die dieren ophalen/leveren op het bedrijf, en schoonmaken en desinfecteren van de vrachtwagens zijn hierbij van belang (Hege et al., 2002).

2.11 Virulentie van de kiem

Er bestaat een grote variatie in virulentie tussen *M. hyopneumoniae* stammen geïsoleerd op verschillende bedrijven. Het risico op ziekte en de ernst van de klinische symptomen bij enzoëtische pneumonie hangt in belangrijke mate af van de virulentie van de aanwezige isolaten op het bedrijf (Vicca et al., 2003). De virulentie van de aanwezige stam kan dan ook aanzien worden als een belangrijke risicofactor.

Vicca et al. (2003) toonden aan dat *M. hyopneumoniae* isolaten kunnen ingedeeld worden in drie groepen: laag, middelmatig en hoog virulente stammen. Eveneens werd via RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) analyse aangetoond dat een fragment van 5000 basenparen geassocieerd is met de hoog en middelmatig virulente stammen, terwijl dit fragment afwezig is bij de laag virulente stammen.

Ook andere auteurs deden reeds onderzoek naar antigene en genetische verschillen tussen *M. hyopneumoniae* isolaten, maar deze studies leverden geen informatie over virulentieverschillen (Ro en Ross, 1983; Frey et al., 1992; Artiushin en Minion, 1996).

Om een beter inzicht te krijgen in de mechanismen verantwoordelijk voor het verschil in virulentie tussen de *M. hyopneumoniae* stammen werd een studie uitgevoerd door Meyns et al. (2007). De interactie van hoog en laag virulente stammen met de respiratoire tractus van varkens werd bestudeerd en de veroorzaakte ontstekingsreacties werden vergeleken. Ook de capaciteit van de isolaten om *in vivo* en *in vitro* te vermeerderen werd vergeleken. De studie toonde aan dat het verschil in pathogeniteit tussen hoog en laag virulente isolaten mogelijk kan verklaard worden door een snellere *in vitro* groei, een hogere capaciteit om te vermeerderen in de longen en de inductie van een ernstigere ontstekingsreactie door de hoog virulente stammen.

2.12 Overzicht

Tabel 2: Overzicht van de besproken risicofactoren.

Type productiesysteem	Niet all-in/all-out produceren vormt één van de voornaamste risicofactoren voor enzoötische pneumonie.
Leeftijd (pariteit) van de zeugen	De aanwezigheid van veel jonge zeugen op het bedrijf vormt een risicofactor voor problemen.
Speenleeftijd	Hoe later men gaat spenen, hoe hoger de kans op kiem overdracht van de zeug naar haar biggen.
Vaccinatie van de zeugen	Bedrijven waar zeugen niet gevaccineerd worden tegen <i>M. hyopneumiae</i> lopen een hoger risico op voorkomen van enzoötische pneumonie bij de biggen.
Aankoop van dieren	Het frequent aankopen van dieren, en dan vooral van dieren met verschillende herkomsten, is een risicofactor.
Stress	Stress heeft een nadelige invloed op de weerstand van de dieren. Bijgevolg kunnen alle situaties of handelingen die stress veroorzaken aanzien worden als risicofactoren.
Bezettingsdichtheid	Een te hoge bezettingsdichtheid verhoogt de kans op verspreiding van <i>M. hyopneumiae</i> . Minimum normen voor vrije vloeroppervlakte per varken zijn vastgelegd in een EU-wetgeving.
Huisvesting	Te grote afdelingen, onvoldoende scheiding tussen de hokken en een inadequate isolatie verhogen het risico op infectie.
Stalklimaat	Een slechte afstelling van de ventilatie, hoge stalgassenconcentraties en een stofrijke omgeving zijn risicofactoren.
Seizoen	Varkens die tijdens de winterperiode aangehouden worden, lopen een hoger risico op enzoötische pneumonie.
Aanwezigheid andere pathogenen	Een infectie met <i>Ascaris suum</i> of andere organismen die longschade kunnen veroorzaken, verhoogt de kans op enzoötische pneumonie.
Nabijheid van geïnfecteerde bedrijven	Bedrijven die gelokaliseerd zijn in gebieden met een hoge densiteit aan varkensbedrijven, hebben een hogere kans op problemen. Dit als gevolg van aërogene transmissie van de kiem tussen naburige bedrijven.
Virulentie van de kiem	Bedrijven waar hoog virulente stammen van <i>M. hyopneumoniae</i> voorkomen, lopen een hoger risico.

BESPREKING

Uit de literatuurstudie blijkt dat het niet all-in/all-out produceren een zeer belangrijke risicofactor is. Dit is ook logisch, ermee rekening houdend dat verspreiding van oudere naar jongere biggen in de batterij en de mestafdeling de belangrijkste transmissiewegen zijn van *M. hyopneumoniae*. Een strikte scheiding van de leeftijdsgroepen doorvoeren is daarom een must op ieder varkensbedrijf. Verder zijn er veel risicofactoren die kunnen beperkt worden door eenvoudige en goedkope maatregelen. Stress wordt vaak vermeld als een belangrijke negatieve factor voor de weerstand van de dieren. Door de varkens rustig te benaderen en vermengen van dieren zoveel mogelijk te vermijden, kan men de kans op infectie verlagen. Ook het toepassen van brijvoeding en een goede hygiëne, waardoor respectievelijk de concentratie stof en ammoniak zullen verlagen, kan het risico op problemen verminderen. Onvoldoende vrije vloeroppervlakte per big gaat gepaard met een toename van de kans op overdracht van *M. hyopneumoniae* via neus-neus contact en via aërosol. Door het vermijden van overbezetting tijdens alle productiefasen, kan de varkenshouder zijn productieresultaten verbeteren. Ook het aanwezig zijn van andere aandoeningen bij de varkens, waarbij vooral *Ascaris suum* infecties van belang zijn, verhoogt het risico. Dit benadrukt nog eens het belang van een goede bedrijfsvoering. Een risicofactor waar de varkenshouder weinig tot niets aan kan veranderen is de locatie van zijn bedrijf. Aangezien transmissie mogelijk is tussen naburige bedrijven via de lucht, kan er geconcludeerd worden dat bedrijven die gelokaliseerd zijn in een streek met een hoge dichtheid aan varkensbedrijven, zoals Vlaanderen, een groter risico zullen lopen. Tenslotte blijkt ook dat er reeds veel onderzoek werd gedaan naar verschillen tussen *M. hyopneumoniae* stammen. Er is reeds aangetoond dat er virulentieverschillen bestaan tussen de stammen en dat deze een belangrijke invloed hebben op de ernst van de klinische symptomen bij enzoëtische pneumonie. Toch blijkt nog niet geheel duidelijk waardoor deze virulentieverschillen nu precies veroorzaakt worden. Verder onderzoek hiernaar zou interessant kunnen zijn.

REFERENTIELIJST

1. Amass S., Baysinger A. (2006). Swine disease transmission and prevention. In: B.E. Straw, J.J. Zimmerman, S. D'Allaire, D.J. Taylor (Eds.), *Diseases of Swine* (9th ed.), Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK (2006), pp. 1075–1098.
2. Artiushin S., Minion F.C. (1996). Arbitrarily primed PCR analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates demonstrates genetic heterogeneity. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46, 324–328.
3. Clark L., Armstrong C., Knox K., Mayrose V. (1991b). The effect of all-in/all-out management on pigs from a herd with enzootic pneumonia. *Veterinary Medicine* 86, 946-951.
4. Clark L., Armstrong C., Scheidt A., Van Alstine W. (1993). The effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection on growth in pigs with or without environmental constraints. *Swine Health and Production* 1, 10-14.
5. Clark L., Freeman M., Scheidt A., Knox K. (1991a). Investigating the transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd with enzootic pneumonia. *Veterinary Medicine* 86, 543-550.
6. Couret D., Jamin A., Kuntz –Simon G., Prunier A., Merlot E. (2009). Maternal stress during late gestation has moderate but long-lasting effects on the immune system of the piglets. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 131, 17-24.
7. Desrosiers, R. (2001). A review of some aspects of the epidemiology, diagnosis, and control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections. *Swine Health and Production* 9, 233-237.
8. Fablet C. (2009). An overview of the impact of the environment on enzootic respiratory diseases in pigs. In: Aland A., Madec F., *Sustainable Animal Production: The Challenges and Potential Developments for Professional Farming*. P 239-260.
9. Frey J., Haldimann A., Nicolet J. (1992). Chromosomal heterogeneity of various *Mycoplasma hyopneumoniae* field strains. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42, 275–280.
10. Gloster J., Blackall RM., Sellers RF., Donaldson A. (1981). Forecasting the airborne spread of foot-and-mouth disease. *Veterinary Record* 108, 370-374.
11. Goodwin RF. (1985). Apparent reinfection of enzootic-pneumonia-free pig herds: search for possible causes. *Veterinary Record* 116, 690-694.
12. Haesebrouck F. (2011-2012). Bacteriële en mycotische ziekten bij het varken. *Cursus Faculteit Diergeneeskunde, Gent*, p57-70.
13. Hege R., Zimmerman W., Scheidegger R., Stärk K.D.C (2002). Incidence of reinfections with *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pig farms located in respiratory-disease-free regions of Switzerland – identification and quantification of risk factors. *Acta vet. Scand.* 43, 145-156.
14. Hoy S., Mehlhorn G., Hörügel K., Dorn W., Eulenberger K., Johannsen U. (1986). Der Einfluss ausgewählter endogener Faktoren auf das Auftreten entzündlicher Lungenveränderungen bei Schweinen. *Vet. Med.* 41, 397-400.

15. Joo H.S. (2003). Segregated parity production: a potential method to improve production and health. *Pigletter* 23, 5-6.
16. Jorsal SE., Thomsen BL (1988). A cox regression analysis of risk factors related to *Mycoplasma hyopneumoniae* reinfection in Danish SPF-herds. *Acta Vet Scand* 84, 436-437.
17. Maes D., Deluyker H., Verdonck M., Castryck F., Miry C., Vrijens B., Ducatelle R., De Kruif A. (2001). Non-infectious factors associated with macroscopic and microscopic lung lesions in slaughter pigs from farrow-to-finish herds. *Veterinary Record* 148, 41-46.
18. Maes D., Segales J., Meyns T., Sibila M., Pieters M., Haesebrouck F. (2008). Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Veterinary Microbiology* 126, 297-309.
19. Maes D., Verdonck M., de Kruif A. (2000). Enzoöstische pneumonie bij varkens deel I: de ziekte. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 69, 94-100.
20. Maes D., Verdonck M., Deluyker H., de Kruif A. (1996). Enzootic pneumonia in pigs. *Veterinary Quarterly* 18:3, 104-109.
21. Meyns T., Maes D., Calus D., Ribbens S., Dewulf J., Chiers K., de Kruif A., Cox E., Decostere A., Haesebrouck F. (2007). Interactions of highly and low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates with the respiratory tract of pigs. *Veterinary Microbiology* 120, 87-95.
22. Otake S., Dee S., Corzo C., Oliveira S., Deen J. (2010). Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Veterinary Microbiology* 145, 198-208.
23. Pointon AM., McCloud P., Heap P. (1985). Enzootic pneumonia of pigs in South Australia – factors relating to incidence of disease. *Australian Veterinary Journal* 62, 98-101.
24. Ro L., Ross R.F. (1983). Comparison of *Mycoplasma hyopneumoniae* strains by serologic methods. *Am. J. Vet. Res.* 44, 2087–2094.
25. Rohde N., Krieter J. (2009). Seroprevalence and risk factors associated with seropositivity in sows from 67 herds in north-west Germany infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Preventive Veterinary Medicine* 88, 255-263.
26. Ross, R. F. (1999). *Mycoplasma* diseases. In *Diseases of Swine*. 8th edn. Eds B. E. Straw, S. D'Allaire, W. L. Mengeling, D. J. Taylor. Ames, Iowa State. University Press. pp 495-505
27. Sibila M., Bernal R., Torrents D., Riera P., Llopart D., Calsamiglia M., Segalés J. (2008). Effect of sow vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on sow and piglet colonization and seroconversion, and pig lung lesions at slaughter. *Veterinary Microbiology* 127, 165-170.
28. Sibila M., Calsamiglia M., Segalés J., Rossel C. (2004). Association between *Mycoplasma hyopneumoniae* at different respiratory sites and presence of histopathological long lesions. *Veterinary record* 155, 57-58.
29. Sitjar, M., Noyes E., Simon X., Pijoan C. (1996). Relationship among seroconversion to *Mycoplasma hyopneumoniae*, lung lesions, and production parameters in pigs. *Swine Health and Production* 4, 273-277.
30. Sorensen V., Jorsal S.E., Mousing J. (2006). In: Straw B. E., Zimmerman J., D'Allaire S., Taylor D. J. (Eds.), *Diseases of Swine*, 9th Edition. P 149-177.

31. Stärk K.D.C., Pfeiffer D.U., Morris R.S. (1998). Risk factors for respiratory diseases in New Zealand pig herds. *New Zealand Veterinary Journal* 46, 3-10.
32. Thacker E. L. (2004). Diagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Swine Health Prod.* 12, 252-254.
33. Thacker E. L., Minion F. C. (2012). Mycoplasmosis. In: Zimmerman J., Karriker L. A., Ramirez A., Schwartz K. J., Stevenson G. W. (Eds.), *Diseases of Swine*, Tenth Edition. p 779-797.
34. VanAlstine W. G. (2012). Respiratory System. In: Zimmerman J., Karriker L. A., Ramirez A., Schwartz K. J., Stevenson G. W. (Eds.), *Diseases of Swine*, Tenth Edition. p 348-359.
35. Vicca J., Maes D., Thermote L., Peeters J., Haesebrouck F., de Kruif A. (2002). Patterns of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in Belgian farrow-to-finish pig herds with diverging disease-course. *Journal of veterinary medicine* 49, 349-353.
36. Vicca J., Stakenborg T., Maes D., Butaye P., Peeters J., de Kruif A., Haesebrouck F. (2003). Evaluation of virulence of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates. *Veterinary Microbiology* 97, 177-190.
37. Wallgren P., Bölske G., Gustafsson S., Mattsson S., Fossum C. (1998). Humoral immune responses to *Mycoplasma hyopneumoniae* in sows and offspring following an outbreak of mycoplasmosis. *Veterinary Microbiology* 60, 193-205.