

UNIVERSITEIT GENT  
FACULTEIT DIERGENEESKUNDE  
Academiejaar 2015 - 2016

**BELANG VAN *MYCOPLASMA HYORHINIS* EN *MYCOPLASMA  
HYOSYNOVIAE* BIJ VARKENS**

door

Viviane VAN DE HEIJNING

Promotoren: Drs. Annelies Michiels  
Dr. Filip Boyen

Literatuurstudie in het kader  
van de Masterproef

© 2016 *Viviane van de Heijning*



*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 2015 - 2016

**BELANG VAN *MYCOPLASMA HYORHINIS* EN *MYCOPLASMA  
HYOSYNOVIAE* BIJ VARKENS**

door

Viviane VAN DE HEIJNING

Promotoren: Drs. Annelies Michiels  
Dr. Filip Boyen

Literatuurstudie in het kader  
van de Masterproef

© 2016 *Viviane van de Heijning*

## **VOORWOORD**

Het schrijven van deze literatuurstudie was geen eenvoudige opdracht voor mij. Daarom wil ik een aantal personen op wiens steun ik kon rekenen, bedanken. Allereerst wil ik graag mijn promotor drs. A. Michiels bedanken voor haar tijd en de moeite die ze heeft gestoken in het nalezen en verbeteren. Zonder haar tips en kritische opmerkingen zou het werk niet geworden zijn wat het nu is. Ook wil ik graag co-promotor dr. F. Boyen bedanken om het werk te controleren. Daarnaast wil ik Annemie bedanken voor het regelmatig nalezen en verbeteren. Tenslotte wil ik graag mijn ouders en mijn vriend bedanken om mij te steunen gedurende mijn studie.

# INHOUDSOPGAVE

VOORBLAD (vrijwaringsclausule)

TITELBLAD

VOORWOORD

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING .....	1
INLEIDING .....	2
LITERATUURSTUDIE .....	3
1. ALGEMENE KENMERKEN VAN <i>MYCOPLASMA</i> .....	3
2. <i>MYCOPLASMA HYORHINIS</i> .....	4
2.1. EPIDEMIOLOGIE .....	4
2.2. PATHOGENESE .....	5
2.3. SYMPTOMEN.....	7
2.4. LETSELS .....	8
2.5. DIAGNOSE .....	9
2.6. DIFFERENTIAAL DIAGNOSE.....	11
2.7. THERAPIE .....	12
2.8. PREVENTIE .....	13
3. <i>MYCOPLASMA HYOSYNOVIAE</i> .....	13
3.1. EPIDEMIOLOGIE .....	13
3.2. PATHOGENESE .....	13
3.3. SYMPTOMEN.....	14
3.4. LETSELS .....	15
3.5. DIAGNOSE .....	16
3.6. DIFFERENTIAAL DIAGNOSE.....	18
3.7. THERAPIE .....	19
3.8. PREVENTIE .....	20
BESPREKING .....	21
REFERENTIELIJST .....	23

## **SAMENVATTING**

*Mycoplasma hyorhinis* en *M. hyosynoviae* zijn beide kiemen die van belang zijn in de intensieve varkenshouderij. *Mycoplasma hyorhinis* veroorzaakt polyserositis bij biggen van drie tot tien weken oud en bij oudere dieren artritis. De kiem is een normale bewoner van de bovenste luchtwegen en tonsillen. Kolonisatie treedt op door contact met andere biggen na het spenen. Een infectie veroorzaakt niet altijd klinische ziekte, maar onder bepaalde omstandigheden, zoals bij stress of co-infecties met andere pathogenen, kan de kiem systemisch spreiden naar de serosae of de gewrichten waarbij polyserositis en artritis kunnen ontstaan. Soms ontstaat er een pneumonie. Typische symptomen zijn koorts, een verminderde eetlust met groeiachterstand, kreupelheid en een droge hoest. *Mycoplasma hyosynoviae* veroorzaakt een artritis op een leeftijd van tien tot twaalf weken. De dieren kunnen geïnfecteerd worden na spenen waarbij er een tonsillitis optreedt. De kiem kan t.h.v. de tonsillen persisteren waarna het dier een subklinische drager wordt, of kan in bepaalde gevallen hematogeen spreiden naar de synoviae met een artritis tot gevolg. Typisch treedt er kreupelheid op. Het al of niet systemisch worden hangt o.a. af van de leeftijd, immuniteit, virulentiefactoren, infectiedruk, stress en genetische factoren. De diagnose van beide *Mycoplasma* species is niet eenvoudig en wordt best gesteld door cultuur of real-time PCR uit te voeren op een staal van exsudaat of weefsel van letsels bij geselecteerde dieren. Cultuur wordt beschouwd als de gouden standaard, maar omdat dit zeer moeilijk uit te voeren is, gebeurt het weinig. In de praktijk worden deze kiemen het meest bestreden d.m.v. tylosine of lincomycine. Er bestaat geen vaccin voor deze *Mycoplasma* species. Preventief moet men de risicofactoren zoveel mogelijk onder controle houden.

**Key words: artritis, *M. hyorhinis*, *M. hyosynovia*, polyserositis, varken**

## INLEIDING

De varkenshouderij is in België een belangrijke sector in de landbouw. Ze maakt één procent van de wereldproductie uit en vijf procent van de totale Europese varkensproductie (Anonymous, 2015b). In 2015 waren er 6.256.423 Belgische varkens, waarvan 5.977.805 varkens in Vlaanderen gehuisvest. In 2014 waren dit in België nog 6.350.180 varkens en in 2012 een totaal van 6.633.613 varkens (Anonymous, 2016). Men ziet dus een dalende trend, die mede veroorzaakt zou zijn doordat Rusland in 2014 zijn grenzen sloot omwille van de vrees voor insleep van Afrikaanse varkenspest komende uit Europa. Voordien vond er zo'n 23% export van varkens vanuit Europa richting Rusland plaats. Er viel dus een grote afzetmarkt weg en de marktprijzen zakten. Bovendien stegen de veevoederprijzen. Veel varkensbedrijven kregen het moeilijk en ondervinden nu nog steeds moeilijkheden om hun hoofd boven water te houden (Anonymous, 2015a). Extra uitval of productieverliezen door o.a. infectieuze agentia zijn niet wenselijk.

Een voor de varkenshouderij belangrijke kiem binnen het genus *Mycoplasma* is *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*) vanwege de belangrijke economische schade die de kiem kan aanrichten. Deze kiem veroorzaakt enzoötische pneumonie en speelt een belangrijke rol in het Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC). *Mycoplasma flocculare* (*M. flocculare*) is ook een veelvoorkomend *Mycoplasma* species bij varkens, maar blijkt weinig pathogeen te zijn. Een andere kiem behorende tot het genus *Mycoplasma* is *Mycoplasma suis* (*M. suis*), welke tot 2001 nog *Eperythrozoon suis* heette. Deze kiem veroorzaakt vooral anemie bij varkens (Thacker en Minion, 2012). *Mycoplasma hyosynoviae* (*M. hyosynoviae*) is tevens een veelvoorkomende kiem bij varkens wereldwijd en heeft een specifieke affiniteit voor gewrichtsweefsel. Het is een belangrijke oorzaak van artritis bij varkens (Kobisch en Friis, 1996). Een laatste courante *Mycoplasma* kiem bij varkens is *Mycoplasma hyorhinis* (*M. hyorhinis*). Het is een normale bewoner van de bovenste luchtwegen, maar kan polyserositis en/of artritis veroorzaken (Friis en Feenstra, 1994). Het belang van de twee laatst aangehaalde *Mycoplasma* species wordt besproken in deze literatuurstudie. Dit wordt uitgewerkt door de epidemiologie, pathogenese, symptomen en letsels, diagnose, differentiaal diagnose, therapie en preventie grondig te bespreken.



# LITERATUURSTUDIE

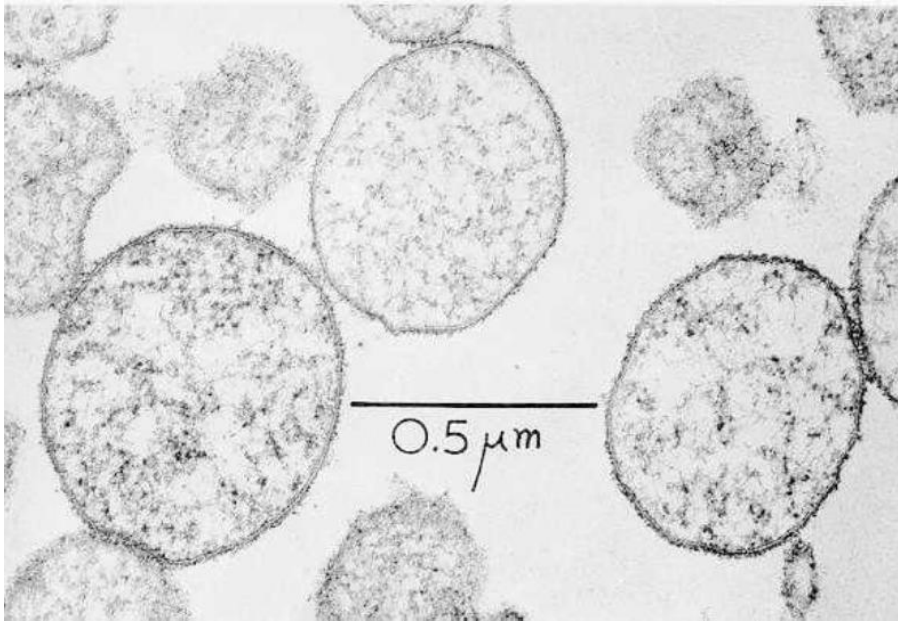
## 1. ALGEMENE KENMERKEN VAN *MYCOPLASMA*

*Mycoplasma* kiemen behoren met hun afmetingen tot 0,2 µm tot de kleinste zelf-replicerende organismen (Razin, 1978; Pollack et al., 1997). Het zijn veelvoorkomende bacteriën in de natuur die zowel mens als dier kunnen aantasten en men neemt aan dat de species die op dit moment bestudeerd zijn, maar een klein aandeel uitmaken van het totale aantal species (Razin, 1992). *Mycoplasma* kiemen worden gekenmerkt door het gebrek aan een celwand, waardoor het cytoplasma enkel door de celmembraan gescheiden is van de omgeving (Razin, 1978). Dit gegeven verschilt significant van andere prokaryoten en daardoor worden ze in een aparte klasse ondergebracht: de *Mollicutes* (Razin, 1996). Deze klasse wordt verder opgedeeld in ordes, families en genera (Ludwig et al., 2010). Figuur 1 geeft een taxonomisch overzicht weer.

Phylum XVI. *Tenericutes*<sup>VP</sup>  
Class I. *Mollicutes*<sup>AL</sup>  
Order I. *Mycoplasmatales*<sup>AL(T)</sup>  
Family I. *Mycoplasmataceae*<sup>AL</sup>  
Genus I. *Mycoplasma*<sup>AL(T)</sup>  
Genus II. *Ureaplasma*<sup>VP</sup>  
Family II. *Incertae sedis*  
Genus I. *Eperythrozoon*<sup>AL</sup>  
Genus II. *Haemobartonella*<sup>AL</sup>  
Order II. *Entomoplasmatales*<sup>VP</sup>  
Family I. *Entomoplasmataceae*<sup>VP</sup>  
Genus I. *Entomoplasma*<sup>VP(T)</sup>  
Genus II. *Mesoplasma*<sup>VP</sup>  
Family II. *Spiroplasmataceae*<sup>VP</sup>  
Genus I. *Spiroplasma*<sup>AL(T)</sup>  
Order III. *Acholeplasmatales*<sup>VP</sup>  
Family I. *Acholeplasmataceae*<sup>AL</sup>  
Genus I. *Acholeplasma*<sup>AL(T)</sup>  
Family II. *Incertae sedis*  
Genus I. "Candidatus Phytoplasma"  
Order IV. *Anaeroplasmatales*<sup>VP</sup>  
Family I. *Anaeroplasmataceae*<sup>VP</sup>  
Genus I. *Anaeroplasma*<sup>AL(T)</sup>  
Genus II. *Asteroleplasma*<sup>VP</sup>

Fig. 1: Taxonomisch overzicht van de *Mollicutes* (uit Ludwig et al., 2010).

Balish en Duncan (2006) geven aan dat *Mycoplasma* kiemen een pleomorfe vorm hebben, mede door hun gebrek aan een celwand. Toch heeft de kiem een cytoskelet. Deze kiemen bevatten een minimum aan celorganellen met enkel een plasmamembraan, ribosomen en een genoom dat bestaat uit dubbelstrengig DNA. Vooral pathogene species zoals *M. pneumoniae* bezitten soms een adhesie-organel (Razin, 1996). Figuur 2 geeft een elektronenmicroscopische doorsnede weer van een *Mycoplasma* kiem. De donkere granules zijn ribosomen en de draadvormige structuren zijn chromosomaal materiaal. Het species wordt niet vermeld. (Razin, 1996).



**Fig. 2: Elektronenmicroscopisch beeld van doorsnedes van *Mycoplasma* kiemen (uit Razin, 1996).**

Deze organismes zijn geëvolueerd uit gram-positieve bacteriën, waarbij ze een groot deel van de chromosomen hebben verloren, maar de essentiële genen om te kunnen leven hebben behouden. Dit noemt men een proces van reductieve of degeneratieve evolutie. Het genoom dat overblijft, bevat een hoog percentage aan geconserveerde genen, wat gebruikt kan worden voor genus en stam identificatie aan de hand van genoom sequencing (Razin et al., 1998). Typisch aan het genoom is dat het een lage hoeveelheid guanine en cytosine bevat (Razin, 1996). Door de reductie van het aantal genen zijn veel metabole processen niet meer aanwezig en moeten *Mycoplasma* kiemen veel stoffen uit hun omgeving halen om te kunnen overleven. Razin (1998) geeft aan dat deze kiemen als het ware als parasieten samenleven met hun gastheer. Bijgevolg ontstaan er meestal milde en chronische infecties en doden ze hun gastheer zelden. *Mycoplasma* kiemen hebben gesofisticeerde mechanismen ontwikkeld om hun gastheer te koloniseren en de immuniteit van de gastheer te ontwijken. Hierdoor is er een vrij strikte gastheer- en weefsel specificiteit (Razin, 1992).

*Mycoplasma* kiemen zijn afhankelijk van hun gastheer om te kunnen overleven. Het is niet eenvoudig om deze kiemen *in vitro* te kweken omdat de samenstelling van nutriënten en de omgevingscondities in het weefsel moeilijk na te bootsen zijn (Razin et al., 1998). Tegenstrijdig genoeg zijn er ook regelmatig gevallen waarbij bepaalde *Mycoplasma* species cel culturen contamineren, zoals *M. fermentans* en *M. hyorhinis* (Razin, 1992).

## **2. MYCOPLASMA HYORHINIS**

### **2.1. EPIDEMIOLOGIE**

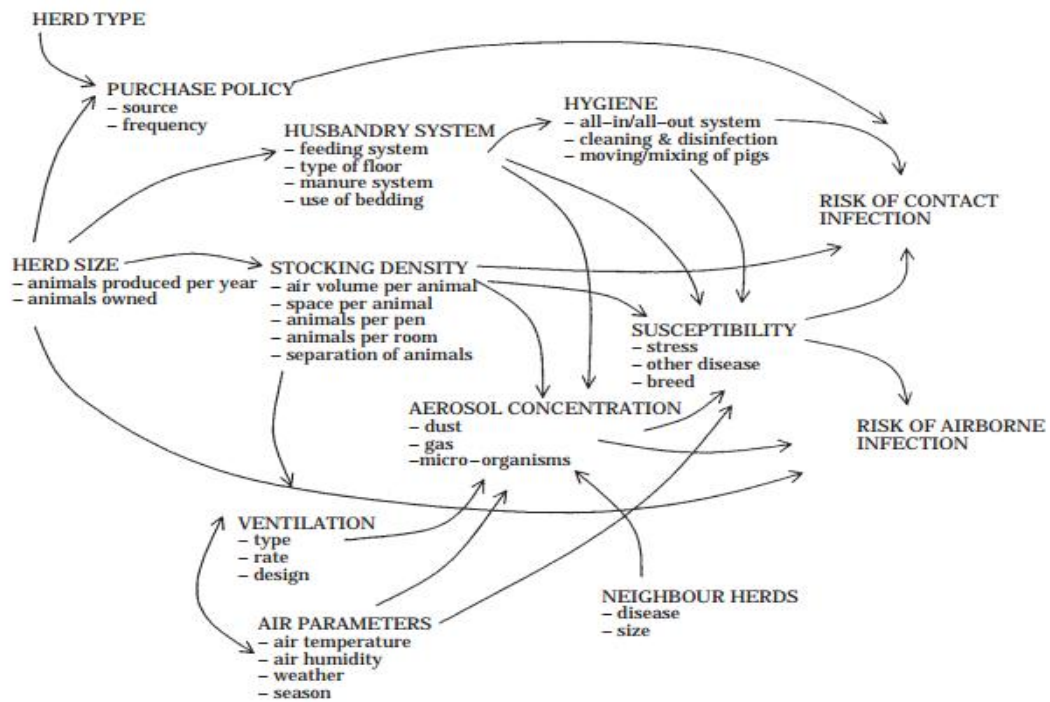
*Mycoplasma hyorhinis* is een veelvoorkomende bacterie in de varkenspopulatie van commerciële varkensbedrijven (Thacker en Minion, 2012) en veroorzaakt polyserositis bij varkens van drie tot tien weken oud (Clavijo et al., 2012). Op een leeftijd van drie tot zes maanden kan het een oorzaak zijn van artritis (Potgieter en Ross, 1972). Biggen worden vaak op jonge leeftijd geïnfecteerd door contact met zeugen of oudere varkens in het bedrijf (Thacker en Minion, 2012). De kiem is facultatief

pathogeen en een normale bewoner van de mucosale membraan van de bovenste luchtwegen en de tonsillen (Friis en Feenstra, 1994). Biggen worden beschermd door maternale antistoffen (Neto et al., 2012). Deze nemen af na het spenen doordat de dieren geen melk meer opnemen van de zeug en hierdoor worden de meeste varkens gekoloniseerd rond een leeftijd van drie tot vier weken (Clavijo et al., 2012). De meerderheid van de geïnfecteerde dieren ontwikkelen geen ziekte (Thacker en Minion, 2012), maar in sommige gevallen kan de kiem zich hematogeen verspreiden vanuit de ademhalingswegen naar de serosa. Andere pathogenen kunnen een invloed uitoefenen op het al dan niet ontstaan van ziekte door het verminderen van de weerstand, wat een trigger is voor de hematogene spreiding en de ontwikkeling van letsels (Friis en Feenstra, 1994).

## 2.2. PATHOGENESE

*Mycoplasma hyorhinis* is een veelvoorkomende kiem in de luchtwegen van varkens. De kiem wordt door de zeug aan haar nakomelingen doorgegeven in de eerste levensweken en later ook tussen biggen onderling (Rovira, 2009). De respiratoire tractus is de predilectieplaats voor kolonisatie (Gois et al., 1971). Zo zal *M. hyorhinis* net zoals *M. hyopneumoniae* zich vasthechten aan gecillieerde epitheelcellen van de bovenste en de diepere luchtwegen van varkens (Thacker en Minion, 2012). Er kan een opklimmende infectie ontstaan, waarbij er pneumonie letsels kunnen ontwikkelen (Friis, 1971). *Mycoplasma hyorhinis* speelt daardoor een rol in het Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC) (Lin et al., 2006; Hansen et al., 2010). In bepaalde omstandigheden zoals bij stress of infecties met andere pathogenen, kan er een systemische infectie ontwikkelen en kan de kiem hematogeen gaan spreiden (Rovira, 2009). Zo tast bij een co-infectie met het Porcine Respiratoire en Reproductieve Syndroom Virus (PRRSV), dit virus de monocytten in de longen en het lymfoïd weefsel aan en in mindere mate in andere weefsels. Hierdoor werkt het immuunstelsel niet optimaal en wordt het dier gevoeliger voor bijkomende infecties (Zimmermann et al., 2012). Varkens jonger dan acht weken ontwikkelen dan polyserositis en polyarthritis. Varkens van drie tot zes maanden kunnen een ongecompliceerde arthritis ontwikkelen (Potgieter en Ross, 1972). In een aantal studies wordt *M. hyorhinis* vermeld als een oorzaak van eustachitis (Morita et al., 1999), otitis media (Morita et al., 1995) en conjunctivitis (Friis, 1976). Shin et al. (2003) hebben de kiem vermeld als mogelijke oorzaak van abortus. De betrouwbaarheid van deze studies wordt echter betwijfeld omdat de isolatie van deze kiem uit een ziek dier er niet steeds op duidt dat deze de oorzakelijke kiem is, aangezien *M. hyorhinis* ook voorkomt bij gezonde dieren (Rovira, 2009).

*Mycoplasma hyorhinis* maakt deel uit van het PRDC en kan mede aanleiding geven tot luchtwegproblemen (Lin et al., 2006). Luchtweginfecties worden voornamelijk doorgegeven tussen dieren via direct contact of via de lucht. Ademhalingsproblemen zijn veelal multifactorieel van aard en er zijn veel risicofactoren die een invloed kunnen uitoefenen (Stärk, 2000). Deze worden schematisch voorgesteld in figuur 3 volgens een spinnenweb model hypothese en worden kort besproken onder deze figuur.



**Fig. 3: Spinnenweb model hypothese voor de associaties tussen risicofactoren bij respiratoire aandoeningen bij varkens (uit Stärk, 2000).**

- Type bedrijf en aankoop: Gesloten bedrijven hebben een lager risico t.o.v. open bedrijven om respiratoire problemen te ontwikkelen. Dit komt mede door de aankoop van dieren bij open bedrijven waarbij pathogenen kunnen geïntroduceerd worden. Als de aankoop van varkens van verschillende bedrijven gebeurt, is het risico nog groter. Vleesvarkensbedrijven lopen hierbij een hoger risico dan vermeerderingsbedrijven, aangezien mestbedrijven grote aantallen dieren met soms een verschillende herkomst aankopen, dit in tegenstelling tot vermeerderingsbedrijven, die enkel zeugen aankopen (Lindquist, 1974; Stärk, 2000). Het aantal van de aangekochte dieren en het al dan niet toepassen van maatregelen om de intrede van kiemen (zoals *Actinobacillus pleuropneumoniae*) te vermijden speelt tevens een rol (Stärk, 2000).
- Bedrijfs grootte: Bedrijven van meer dan 500 dieren lopen een groter risico (Lindquist, 1974; Stärk, 2000).
- Bedrijven in de omgeving: Bedrijven waarbij zich in de nabije omgeving veel andere bedrijven bevinden, lopen een hoger risico op de ontwikkeling van respiratoire problemen (Stärk, 2000).
- Bezettingsdichtheid: Lindquist (1974) heeft in zijn studie aangetoond dat problemen meer prevalent zijn bij bedrijven van 500 en meer dieren, als de varkens  $<3\text{m}^3$  lucht per varken hebben en  $<0,7\text{m}^2$  ruimte per varken. Ook meer dan twaalf dieren per hok is een risicofactor. Volledig dichte muren tussen de verschillende groepen dieren is te verkiezen (Flesjà et al., 1982).
- Ventilatie: De toegepaste ventilatie heeft een invloed op het al of niet ontstaan van problemen, doordat het een directe invloed heeft op de hoeveelheid aerosolen (Stärk, 2000). Flesjà (1982) geeft aan dat een ventilatie van  $>60\text{m}^3$  per uur per varken beschermend werkt.

- Hygiëne: Bedrijven waar een grondige reiniging en desinfectie wordt toegepast tussen de verschillende productierondes in een stal, kennen een vermindering van micro-organismes. Een bedrijf waar volgens een continu systeem gewerkt wordt, is de mogelijkheid tot reinigen en leegstand veel meer beperkt. (Stärk, 2000).
- Luchtparameters: Afwijkende temperatuur en tocht zijn de belangrijkste factoren in het stalklimaat die er voor kunnen zorgen dat de dieren gevoeliger worden voor luchtwegpathogenen (Stärk, 2000).
- Aërosol concentratie: Stof en de hiermee geassocieerde pathogenen, ammoniak en koolstofdioxide worden gelinkt aan pneumonie en pleuritis. De concentratie hiervan is afhankelijk van de ventilatie in de stal. Een hogere ventilatie zal lagere gehalten van ammoniak, CO<sub>2</sub>, endotoxines en microben veroorzaken, maar er zullen wel hogere concentraties stof zijn doordat het meer in circulatie wordt gehouden. Ammoniak is vooral belangrijk bij vleesvarkensbedrijven (Donham, 1991). Varkens verkiezen verse lucht boven lucht met veel ammoniak (Smith et al., 1996).
- Bedrijfskenmerken: Het type vloer, het voersysteem, het meststelsel en het beddingmateriaal hebben een invloed op de luchtkwaliteit en dus eveneens het respiratoir systeem (Stärk, 2000).
- Vatbaarheid: De algemene gezondheid en immuunstatus zijn belangrijke factoren die de vatbaarheid voor respiratoire problemen beïnvloeden. Andere ziektes hebben hier ook een impact op, doordat ze een verandering van de immuunstatus teweeg brengen (Stärk, 2000). Co-infecties met andere pathogenen kunnen een belangrijke rol spelen in het ontwikkelen van pneumonie letsels. In combinatie met PRRSV kunnen er ernstigere letsels ontstaan, dan een infectie met PRRSV alleen (Kobayashi et al., 1995; Kawashima et al., 1996; Palzer et al., 2015). Algemene immunosuppressieve factoren zoals selenium en vitamine E deficiëntie en voeder dat mycotoxines of zware metalen bevat, hebben een invloed (Bollwahn, 1989). Een jonge leeftijd bij spenen (<24 dagen), een laag geboortegewicht (<1kg) en bepaalde rassen (Yorkshire) worden geassocieerd met respiratoire problemen (Gardner en Hird, 1990). Er bestaat tevens een link tussen de sociale status van het dier en zijn immuunrespons. Er komen significant hogere waarden in lymfocyt proliferatie voor bij dominante dieren dan bij meer onderdanige dieren. Dominante dieren hebben dus een betere celgemedieerde immuniteit (Hessing et al., 1994). Stress kan een activerende of inhiberende invloed op het immuunsysteem uitoefenen. Het precieze mechanisme hierachter is zeer complex en nog niet volledig gekend. Indien een inhiberende werking gezien wordt, zorgt het ervoor dat het dier vatbaarder is voor pathogenen, o.a. deze van het respiratoir stelsel (Salak-Johnson en McGlone, 2014). In de huidige intensieve varkenshouderij is sociale stress onoverkomelijk, aangezien er veel dieren bij elkaar opgesloten zitten (Hessing et al., 1994).

### 2.3. SYMPTOMEN

*Mycoplasma hyorhinis* veroorzaakt typisch polyserositis bij biggen op een leeftijd van drie tot tien weken oud, maar soms ook bij oudere dieren. De symptomen treden meestal drie tot tien dagen na infectie op (Thacker en Minion, 2012). Er kan lichte koorts, depressie, een verminderde eetlust en een

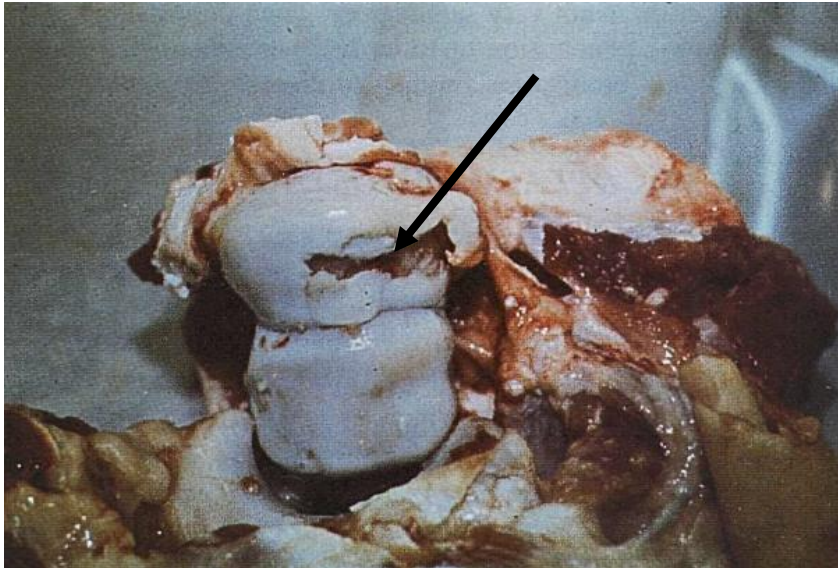
ruw haarkleed gezien worden. Vaak ontwikkelen de dieren een groeiachterstand, moeilijkheden met ademen en abdominale gevoeligheid. De dieren kunnen stijf tot kreupel zijn met gezwollen gewrichten (Kobisch, 1983; Thacker en Minion, 2012). De acute klinische symptomen zullen verminderen na tien tot veertien dagen, afhankelijk van hoe erg de dieren zijn aangetast. Enkele dieren zullen ernstige symptomen blijven vertonen en kunnen zelfs sterven. Artritis kan twee tot drie maanden persisteren. Een groot aandeel van de dieren kan kreupel blijven tot zes maanden leeftijd (tot slachtleeftijd) (Thacker en Minion, 2012).

*Mycoplasma hyorhinis* koloniseert typisch het respiratoir epitheel van de bovenste en diepere luchtwegen. Hierbij worden er weinig klinische symptomen opgemerkt. De kiem kan in sommige gevallen pneumonie letsels veroorzaken die een niet-productieve, droge hoest tot gevolg kan hebben (Thacker en Minion, 2012).

## 2.4. LETSELS

### 2.4.1. Macroscopisch

Een gegeneraliseerde infectie met *M. hyorhinis* veroorzaakt in de acute fase serofibrineuze tot fibrinopurulente pericarditis, pleuritis en peritonitis. In aangetaste gewrichten treedt er hypertrofie van de synoviale membranen op en de hoeveelheid synoviaal vocht neemt toe, waarbij het een serohemorhagisch tot fibrineus aspect aanneemt (Kobisch, 1983; Thacker en Minion, 2012). De synoviale membranen hebben een rode tot geelachtige kleur (Duncan en Ross, 1973). Typisch ontstaan er bij chronisch aangetaste gewrichten georganiseerde fibreuze adhesies en articulaire erosies (Kobisch, 1983; Thacker en Minion, 2012). Er kan ook pannusweefsel ontstaan en erosie van het articulaire kraakbeen (Thacker en Minion, 2012). Figuur 4 geeft een chronisch aangetast gewricht weer, waarbij de pijl een articulaire erosie aanduidt, maar er ook duidelijke bindweefsel adhesies en serohemorhagisch synoviaal vocht te zien zijn (Kobisch, 1983). Letsels in de longen veroorzaakt door *M. hyorhinis* komen sterk overeen met deze veroorzaakt door *M. hyopneumoniae*, maar zijn vaak milder. Men kan bij acute gevallen van *M. hyopneumoniae* cranioventraal tot diffuus verspreid vastere longdelen terugvinden die niet collabereren met eventueel oedeem. Longen van chronisch aangetaste dieren vertonen cranioventraal paarse tot grijze rubberachtige consolidaties met een lobulair patroon (Thacker en Minion, 2012). Friis (1971) inoculeerde biggen met *M. hyorhinis* aerosolen op tien dagen leeftijd, waarbij pneumonie letsels ontwikkelden in de cardiale en apicale longlobben. *Mycoplasma hyorhinis* kan tevens otitis veroorzaken en als hier secundaire bacteriële pathogenen bij betrokken zijn, zoals *Trueperella pyogenes* of *Pasteurella multocida*, kan de middenoorgang gevuld zijn met purulent exsudaat (Thacker en Minion, 2012).



**Fig. 4: Chronisch aangetast gewricht door *M. hyorhinis* (uit Kobisch en Friis, 1996).**

#### **2.4.2. Microscopisch**

Er ontstaat een fibrineuze inflammatie van de serosale membraan en tevens infiltratie van mononucleairen (Kobisch, 1983). Indien er artritis is ontstaan, kan men een villieuze hypertrofie van de synoviale membraan waarnemen. De synoviale aflijningscellen zijn hyperplastisch en bestaan uit enkele cellagen. In de perivasculaire gebieden kan men accumulaties van lymfocyten en plasmacellen terugvinden, waarbij deze soms op germinale centra lijken. Er zijn barsten en gaten in het kraakbeen die reiken tot in het subchondrale gebied. Hier krijgt men gebieden met necrose, fibrose, cystevorming en soms lymfocyten accumulaties (Duncan en Ross, 1973). Friis (1971) heeft in zijn onderzoek waarbij hij biggen inoculeerde met *M. hyorhinis* aërosolen, een katharrhale bronchopneumonie waargenomen bij de dieren. Er werd veel migratie van histiocyten gezien van de interalveolaire septa naar de alveolaire lumina en er waren accumulaties van lymfocyten en histiocyten aanwezig in de peribronchiale en perivasculaire gebieden ("cuffing"). Ook in de interalveolaire septa kon men accumulaties van mononucleaire cellen zien, waardoor deze licht verdikt waren.

#### **2.5. DIAGNOSE**

Een vermoedelijke diagnose kan gesteld worden op basis van de typisch klinische symptomen, zoals eerder beschreven. Hierbij moet men rekening houden met andere mogelijke oorzaken voor polyserositis en artritis zoals *Haemophilis parasuis* en *Streptococcus suis*. De diagnose kan bevestigd worden door detectie van het organisme door middel van Polymerase Chain Reaction (PCR) of bacteriële cultuur na staalname van letsels bij geselecteerde dieren (Neto et al., 2012; Thacker en Minion, 2012). De keuze bij welk dier men stalen neemt, is belangrijk. Het beste is om acuut aangetaste dieren te nemen, die nog niet behandeld werden met antibiotica (Neto et al., 2012). Chronische aangetaste dieren waarbij het oorzakelijk agens vaak niet meer terug te vinden is en reeds gestorven dieren waarbij postmortale groei van contaminanten optreedt, vermijdt men best aangezien de kans op detectie van de oorzakelijke kiem kleiner wordt (Neto et al., 2012; Riedel en Doern, 2014).

*Mycoplasma hyorhinis* komt voor als een commensale kiem in de luchtwegen. Om de kiem als de oorzaak van polyserositis aan te duiden, moet men stalen nemen in de aangetaste weefsels zoals

serosale oppervlaktes of gewrichten die typisch exsudaat of fibrine bevatten. Na euthanasie van het geselecteerde dier, kunnen swabs genomen worden, welke in Amies transportmedium moeten gebracht worden om dehydratatie te voorkomen. (Neto et al., 2012; Thacker en Minion, 2012). Ook kan men stalen van pericardiale, thoracale of peritoneale vloeistof nemen als er polyserositis aanwezig is. Dit moet in polystyreen tubes getransporteerd worden, wat lekkage en kruiscontaminatie voorkomt tijdens transport. Er moeten stalen van longweefsel genomen worden indien er een fibrineuze pleuritis aanwezig is en *M. hyorhinis* verdacht wordt als mogelijk oorzakelijk agens. Stalen van hart en andere abdominale weefsels zoals lever en milt, kunnen worden genomen als polyserositis aanwezig is. De stalen voor histologie worden in 10% formaline bewaard. Weefselstalen en stalen van vloeistof moeten ingevroren worden voor transport. Alle stalen moeten goed geïdentificeerd en verpakt zijn om lekkage te vermijden. Men voegt best een volledige anamnese bij het staal met een beschrijving van de symptomen, hoelang deze zich al voordoen, de leeftijd van de dieren, het aantal aangetaste dieren, de mortaliteit en eventueel een differentiaal diagnose (Neto et al., 2012).

Er kunnen verschillende diagnostische testen uitgevoerd worden, waarvan real-time PCR een van de meest sensitieve testen is (Neto et al., 2012). De voordelen en nadelen van PCR zijn beschreven in tabel 1 en 2. De PCR test is snel, specifiek, kan uitgevoerd worden op levende en dode dieren en kan geautomatiseerd worden (Lin et al., 2006). Neto et al. (2015) heeft een kwantitatieve real-time PCR beschreven op basis van orale, tonsillaire en nasale vloeistof om zo o.a. de prevalentie en incidentie te onderzoeken. Bacteriële cultuur wordt beschouwd als de gouden standaard, maar vaak is er overgroei van andere bacteriële species. Bovendien kost het veel tijd en hebben *Mycoplasma* kiemen specifieke media nodig om te groeien die meestal niet goedkoop zijn (Razin, 1994; Neto et al., 2012). Er wordt hierbij het 'Friis medium' voor *M. hyopneumoniae* gebruikt, soms met meer antibiotica toegevoegd (Friis et al., 1991). Lichtmicroscopie kan uitgevoerd worden om de kiem te bevestigen, indien er staalname van de aangetaste weefsels is gebeurd. Men gebruikt hiervoor een hematoxiline-eosine kleuring (Neto et al., 2012). Eventueel kunnen er ook serologische testen uitgevoerd worden na bloedname. Door middel van complement fixatie testen of indirecte haemagglutinatie testen kunnen antilichamen gedetecteerd worden bij geïnfecteerde dieren (Kobisch en Friis, 1996). Er kunnen antistoffen gedetecteerd worden tot zes weken na infectie (Kobisch, 1983), maar er is vaak een zwakke specifieke serologische respons van de gastheer, dus het gebruik van serologische testen is beperkt (Razin, 1994). Tevens is de detectie van antistoffen geen bewijs voor een acute infectie (Waites, 2015).



**Tabel 1: Voordelen van PCR in de diagnose van *Mycoplasma* infecties (naar Razin, 1994).**

<b>Voordelen van PCR in de diagnose van <i>Mycoplasma</i> infecties</b>
1. Het opkweken van de kiem is niet nodig.
2. Resultaten kunnen bekomen worden in minder dan 24u.
3. Kiemen die geïnhibeerd worden door antibiotica in klinische stalen, kunnen ook gedetecteerd worden.
4. PCR resultaten worden meestal niet beïnvloed door de aanwezigheid van andere kiemen in klinische stalen.
5. PCR is sensitiever dan cultuur, kan <i>Mycoplasma</i> kiemen detecteren in asymptomatische patiënten en kan als een epidemiologische tool gebruikt worden.
6. PCR is positief voordat er een serologische respons is en is ook effectief in immuun-gecompromiteerde gastheren.
7. Het DNA-extract van klinische stalen is stabiel en kan gemakkelijk gebruikt worden om de test te herhalen.

**Tabel 2: Nadelen van PCR in de diagnose van *Mycoplasma* infecties (naar Razin, 1994).**

<b>Nadelen van PCR in de diagnose van <i>Mycoplasma</i> infecties</b>
1. Er komen veel vals-negatieve resultaten voor door inhibitoren in geëxtraheerd DNA, een gecontamineerd reagens of een slecht uitgevoerde procedure.
2. PCR kan te sensitief zijn, zo kan het positieve resultaten opleveren in asymptomatische patiënten, waardoor men denkt dat het de oorzaak is van de ziekte waaraan de patiënt lijdt.
3. Vals-positieve resultaten zijn vrij vaak voorkomend door contaminatie van PCR reagens met target DNA.
4. Kwantificatie van organismes in een klinisch staal is enkel mogelijk bij kwantitatieve (real-time) PCR.
5. De PCR procedure is bij bepaalde PCR testen te complex om in een routine diagnostisch labo gebruikt te worden.

## 2.6. DIFFERENTIAAL DIAGNOSE

*Mycoplasma hyorhinis* veroorzaakt typisch polyserositis bij varkens van drie tot tien weken (Thacker en Minion, 2012). De belangrijkste bacteriën om tussen te differentiëren zijn *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis* en *Escherichia coli* (Done et al., 2012).

- *Haemophilus parasuis* oftewel Glässers disease: Deze kiem veroorzaakt typisch een fibrineuze tot fibrinopurulente polyserositis, polyarthritis en meningitis bij meestal vier tot acht maanden oude varkens, maar de leeftijd kan variëren afhankelijk van de mate van maternale immuniteit en kolonisatie. De typische klinische tekenen zijn hoge koorts, hoesten, abdominaal ademen, gezwollen gewrichten, kreupelheid en zenuwstoornissen zoals laterale decubitis en trillen, maar acute sterfte kan ook optreden (Aragon et al., 2012). Een infectie met

*M. hyorhinis* komt significant meer voor in combinatie met *H. parasuis* en PRRSV (Palzer et al., 2015).

- *Streptococcus suis*: Na infectie met *S. suis* kan er artritis, polyserositis en zenuwstoornissen optreden, zoals het schuin houden van het hoofd (Funk en Wagstrom, 2012). Het exsudaat dat ontstaat bij polyserositis is meer suppuratief van aard (Reams et al., 1994). Gewoonlijk zijn de aangetaste dieren vijf tot tien weken oud, maar dit kan sterk variëren (Gottschalk, 2012b).
- *Escherichia coli*: Deze kiem is een belangrijke oorzaak van verschillende ziektes bij varkens zoals neonatale diarree, speendiarree, oedeemziekte, septicemie, polyserositis, coliforme mastitis en urineweginfecties. Polyserositis kan ontstaan na een septicemie die primair of secundair van aard kan zijn. Primaire septicemie kan optreden bij biggen die tot vier dagen oud zijn bij te weinig maternale immuniteit. Secundaire septicemie kan ontstaan bij infectie met enterotoxigene *Escherichia coli* (ETEC) bij oudere zuigende biggen, maar ook zeugen kunnen aangetast zijn (Fairbrother en Gyles, 2012).

Op latere leeftijd kan een infectie met *M. hyorhinis* leiden tot een artritis (Potgieter en Ross, 1972). De differentiaal diagnose van artritis wordt bij 3.6 besproken.

## 2.7. THERAPIE

Er is geen commercieel vaccin beschikbaar om de verspreiding van *M. hyorhinis* op een varkensbedrijf te voorkomen. Om de economische verliezen toch te beperken, kan men in geval van aanslepende bedrijfsproblematiek best chemotherapeutica gebruiken (Wu et al., 2000; Koboyashi et al., 2005). *Mycoplasma* is gevoelig aan lincosamides, pleuromutilines, macrolides, tetracyclines en quinolones (Laak et al., 1991; Rovira, 2009; Karriker et al., 2012). *Mycoplasma* kiemen zijn natuurlijk resistent voor antibiotica die met de celwand synthese interfereren, zoals de beta-lactam antibiotica (Maes et al., 1996; Razin, 1996). In het AMCRA-formularium wordt *M. hyorhinis* niet specifiek vermeld, wèl zijn er richtlijnen opgesteld voor *M. hyopneumoniae*. Er zijn geen eerste keus antibiotica bepaald, aangezien men in de eerste plaats preventieve maatregelen moet nemen. Tweede keus antibiotica bestaan uit tetracyclines (doxycycline, oxy- en chloortetracycline), macroliden (tylosine, tylvalosine, tylmicosine en tulathromycine), lincosamides (lincomycine), aminoglycosiden (gentamycine) en de combinatie lincomycine-spectinomycine. Deze chemotherapeutica mogen enkel toegediend worden indien de kiem is aangetoond met een laboratoriumonderzoek. Derde keus antibiotica zijn fluoroquinolones (enrofloxacin en marbofloxacin). Deze mogen enkel gebruikt worden indien door middel van een diagnostische test de kiem is aangetoond en dat de kiem niet gevoelig is voor tweede keus antibiotica, enkel nog voor derde keus antibiotica (Anoniem, 2013).

Er is reeds resistentie aangetoond voor tetracyclines in 1991. Toch worden de tetracyclines veel gebruikt als behandeling aangezien ze goedkoop zijn (Laak et al., 1991). In het verleden is dit antibioticum veel gebruikt als groeipromotor in voer, wat heeft geleid tot resistentie ontwikkeling bij veel bacteriën (Waites, 2006). Laak et al. (1991) en Koboyashi et al. (1996) hebben aangetoond aan dat bepaalde stammen van de kiem *in vitro* reeds resistentie hebben ontwikkeld t.o.v. erythromycine. Er is tevens resistentie voor neomycine, streptomycine, kanamycine en oleandomycine aangetoond

(Williams, 1978). In de praktijk worden voornamelijk lincomycine, tiamuline en tylosine gebruikt (Rovira, 2009). In de richtlijnen van het AMCRA staat aangegeven dat tiamuline voorbehouden is voor de bestrijding van dysenterie, en niet meer toegediend mag worden voor deze kiem (Anoniem, 2013). Behandeling van klinisch aangetaste dieren is vaak niet succesvol doordat de laesies al in een chronisch stadium zijn en dus zal eliminatie van de kiem de adhesies en inflammatie die reeds zijn opgetreden, weinig reduceren (Rovira, 2009; Thacker en Minion, 2012).

## 2.8. PREVENTIE

Het is niet mogelijk om te vaccineren tegen *M. hyorhinis* aangezien er geen commercieel vaccin beschikbaar is. Omstandigheden waardoor de dieren gepredisponeerd zijn voor systemische spreading van *M. hyorhinis*, moeten vermeden worden (Thacker en Minion, 2012). Zo kan PRRSV de lymfocyten in o.a. de long aantasten, wat zorgt voor een verminderde immuniteit. Hierdoor kan een *M. hyorhinis* infectie een ernstiger verloop kennen vergeleken met een enkelvoudige infectie met *M. hyorhinis* (Kobayashi et al., 1995; Kawashima et al., 1996; Palzer et al., 2015). Er is geen goede behandeling van PRRSV mogelijk. Vermijden van de introductie van het virus in naïeve groepen dieren en de introductie van nieuwe varianten is daarom belangrijk (Dee et al., 2001; Pitkin et al., 2009). Vaccinatie tegen PRRSV is mogelijk met geïnactiveerde of levende geattenuerde vaccins. Geïnactiveerde vaccins zijn weinig effectief, maar worden toegepast ter bescherming van een naïeve populatie (Hu en Zhang, 2014).

## 3. MYCOPLASMA HYOSYNOVIAE

### 3.1. EPIDEMIOLOGIE

*Mycoplasma hyosynoviae* komt wereldwijd voor in de meerderheid van de varkenspopulatie in de industriële sector en kan voor economische schade zorgen. Varkens zijn de natuurlijke en enige gastheer voor deze kiem. *Mycoplasma hyosynoviae* heeft bij deze dieren een speciale affiniteit voor synoviaal weefsel en kan de oorzaak zijn van artritis (Kobisch en Friis, 1996). De spreading van de kiem gebeurt door contact met geïnfecteerde dieren die de acuut systemische fase doormaken of chronisch geïnfecteerd zijn (Hagedorn-Olsen et al., 1999b). Alhoewel de kiem aanwezig kan zijn in geïnfecteerde zeugen, zal ze toch niet doorgegeven worden naar de biggen tot een leeftijd van vier tot acht weken (Ross en Spear, 1973). De biggen worden namelijk beschermd tegen *M. hyosynoviae* door de passieve transfer van colostrale antilichamen afkomstig van de zeug. De graduele afname van de titer van de antistoffen rond acht tot twaalf weken, maakt de varkens gevoelig voor infectie (Hagedorn-Olsen et al., 1999a; Lauritsen et al., 2008).

### 3.2. PATHOGENESE

Infectie met *M. hyosynoviae* treedt pas op vanaf acht tot twaalf weken, zoals reeds eerder aangehaald, door het afnemen van de colostrale immuniteit (Ross en Spear, 1973; Hagedorn-Olsen et al., 1999a; Lauritsen et al., 2008). Artritis door *M. hyosynoviae* komt typisch voor op een leeftijd van tien tot twintig weken oftewel op een gewicht van 40 tot 100kg (Ross, 1970). Een varken in de acute systemische fase of een chronisch geïnfecteerd dier kan de kiem doorgeven aan niet-geïnfecteerde dieren via secreties van de bovenste luchtwegen. Dit resulteert initieel in een tonsillaire infectie,

waarna de kiem systemisch kan gaan verspreiden naar de gewrichten en diverse organen. Artritis kan optreden na een incubatietijd van vier tot negen dagen. De acute fase treedt twee tot drie weken na blootstelling aan de kiem op ofwel één tot twee weken na het optreden van klinische artritis en duurt één tot twee weken. In de subacute en chronische fase, drie tot zestien weken na het optreden van klinische artritis, blijven de tonsillen geïnfecteerd en wordt het dier een subklinische drager van de kiem. In sommige gevallen treedt er ook persistentie in gewrichten en lymfeknopen op. De kiem verdwijnt normaal 21 dagen na infectie uit de gewrichten en verdwijnt 15 dagen na infectie uit de andere weefsels (Hagedorn-Olsen et al., 1999b).

Er treedt niet altijd een systemische infectie op, dit is afhankelijk van verschillende factoren. Leeftijd, immuniteit, virulentiefactoren en infectiedruk spelen een rol (Hagedorn-Olsen et al., 1999a). De maternale antistoffen gaan gradueel afnemen bij oudere biggen, wat uiteindelijk leidt tot een titer die niet meer beschermt en de dieren dus gevoelig worden aan infectie (Lauritsen et al., 2008). Bij een hoge infectiedruk treedt er eerder infectie op en hiervoor is meestal nauw contact met volwassen varkens nodig. Bijkomende triggers zoals stress door managementproblemen of omgevingsveranderingen en een verminderde algemene weerstand kunnen een invloed hebben (Ross, 1973; Hagedorn-Olsen et al., 1999a). Onder omgevings- of sociale stress verstaat men bijvoorbeeld het mengen van verschillende groepen, sorteren, verplaatsen, vechten, transport en klimaatveranderingen (Ross et al., 1971). Meer gespierde rassen, zoals Hampshire, zijn meer gepredisponeerd om artritis te ontwikkelen doordat de zware spieren meer druk uitoefenen op de gewrichten, wat de ontsteking bevordert (Ross, 1970; Ross, 1973).

### 3.3. SYMPTOMEN

*Mycoplasma hyosynoviae* wordt geassocieerd met artritis bij varkens van drie tot vijf maanden. Een typisch kenmerk is dat de dieren kreupel zijn in meer dan één poot (Thacker en Minion, 2012). Volgens Hagedorn et al. (1999b) en Nielsen et al. (2001) manifesteert het zich vooral aan de achterpoten. Hagedorn-Olsen et al. (1999b) neemt aan dat het moeilijk te diagnosticeren valt wanneer dieren zowel vooraan als achteraan kreupel zijn, doordat dit zich mogelijk minder klinisch uit. Het femerotibiale, coxofemorale, elleboog en tibiotarsaal gewricht zijn het meeste aangetast (Ross, 1973). De dieren ondervinden pijn bij het bewegen en vertonen hierbij een onevenwichtige verdeling van het gewicht. Dit is te zien op figuur 5, waarbij het varken de poot met artritis ontlast. Ze staan meestal niet zelfstandig op en als ze recht gejaagd worden, willen ze onmiddellijk terug gaan liggen (Ross, 1970; Nielsen et al., 2001). Typisch nemen de dieren een hondenzit aan (Hagedorn-Olsen et al., 1999b). Gewrichten kunnen vergroot zijn, waarbij ze zacht en fluctuerend aanvoelen, ofwel normaal in grootte (Nielsen et al., 2001; Thacker en Minion, 2012). De dieren kunnen een verminderde eetlust ontwikkelen met een bijbehorend gewichtsverlies (Hagedorn-Olsen, 1999b; Thacker en Minion, 2012). De acute symptomen houden gedurende drie tot tien dagen aan, waarna ze gradueel verminderen. Er treedt meestal volledige genezing op, maar sommige dieren blijven stijfheid ondervinden (Thacker en Minion, 2012).

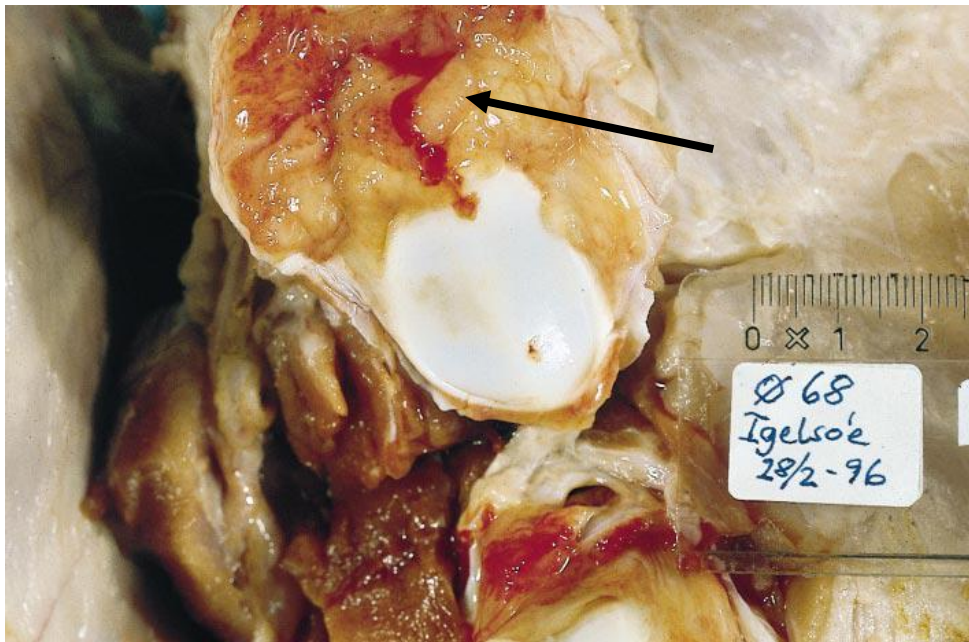


**Fig. 5: Artritis door *M. hyosynoviae* (uit Jackson en Cockcroft, 2007).**

### 3.4. LETSELS

#### 3.4.1. Macroscopisch

Artritis geassocieerd met *M. hyosynoviae* wordt in de acute fase gekarakteriseerd door erge proliferatie, hyperemie en oedeem van de synoviale membranen (Hagedorn-Olsen et al., 1999c). Er kan een gele tot rode verkleuring van de synoviale membraan geobserveerd worden in sommige aangetaste gewrichten (Hagedorn-Olsen et al., 1999a). Deze typische laesies zijn te zien op figuur 6, waar een verhoogde hoeveelheid van synoviaal vocht met een sereus tot serohemorhagisch aspect aangeduid is met de pijl. Deze letsels zijn karakteristiek voor *M. hyosynoviae* artritis (Hagedorn-Olsen et al., 1999a). Tevens is het gewrichtsvocht troebel met variabele hoeveelheden fibrine (Hagedorn-Olsen et al., 1999c). Kleine hoeveelheden van fibrineus tot fibrinopurulunt exsudaat kunnen de binnenzijde van de synoviale membranen bekleden (Thacker en Minion, 2012). In de chronische fase lijken de meeste gewrichten normaal, maar enkele gewrichten zullen een milde proliferatie en milde hyperemie vertonen en de synoviale membraan zal geel verkleuren en oedemateus worden. De hoeveelheid synoviaal vocht is normaal tot licht verhoogd in de meeste gewrichten. Het synoviale membraan kan verdikt zijn door fibrose, maar het articulaire oppervlakte is meestal niet aangetast (Ross en Duncan, 1970; Hagedorn-Olsen et al., 1999c; Thacker en Minion, 2012).



**Fig. 6: Kniegewricht aangetast door *M. hyosynoviae* (uit Hagedorn-Olsen et al., 1999a).**

### **3.4.2. Microscopisch**

Acute laesies in de synoviale membranen worden gekarakteriseerd door oedeem, hyperemie en hyperplasie van de synoviale cellen. Er kunnen ook perivasculaire infiltraties met lymfocyten, plasmacellen en macrofagen zijn (Thacker en Minion, 2012). De aantallen plasmacellen en lymfocyten kunnen toenemen bij verdere infectie en soms ontstaan er lymfoïde follikels (Duncan en Ross, 1973; Thacker en Minion, 2012). Er kan ook fibrose ontstaan (Thacker en Minion, 2012).

### **3.5. DIAGNOSE**

Acute kreupelheid bij varkens met een leeftijd van tien tot twintig weken, die niet responsief is op behandeling met beta-lactam antibiotica, is suggestief voor *M. hyosynoviae* (Ross, 1970; Thacker en Minion, 2012). Om deze diagnose te bevestigen, moet men stalen nemen en verdere diagnostische testen uitvoeren (Neto et al., 2012). Men zal voornamelijk acuut aangetaste dieren waarbij al één tot drie dagen kreupelheid te zien is, selecteren voor staalname. Deze dieren mogen nog niet behandeld zijn met antibiotica. Chronisch aangetaste dieren moeten vermeden worden (Ross, 1970; Neto et al., 2012). Reeds gestorven dieren kan men beter ook niet kiezen, aangezien deze eventueel chronisch geïnficeerd of gestorven zijn aan een niet-infectieus proces of een ander infectieus proces (Neto et al., 2012). Bij gestorven dieren is er tevens kans op postmortale groei van contaminanten waardoor de kans op detectie van het oorzakelijk agens kleiner wordt (Riedel en Doern, 2014).

Het dier hoeft niet noodzakelijk geëthanaseerd te worden voor staalname. Bij deze alternatieve methode wordt het staalnamegebied eerst geprepareerd en gaat men synoviaal vloeistof collecteren met een steriele spuit en naald. De dieren worden hiervoor best gesedeerd (Neto et al., 2012).

Indien er besloten wordt om over te gaan naar euthanasie, kan er synoviaal vocht gecollecteerd worden o.a. van de elleboog, knie en schouders. Dit moet met een steriele spuit en naald gebeuren. Eerst moet de huid worden verwijderd en wordt de regio gedecontamineerd om bacteriële

contaminatie te vermijden. Indien er onvoldoende gewrichtsvocht aanwezig is, kunnen er verschillende swabs genomen worden van de binnenzijde van het gewricht. Er worden best ook een aantal weefselstalen genomen van het synovium. Men kan tevens een volledige poot met aangetaste gewrichten opsturen naar het labo als alternatief (Neto et al., 2012).

Er zijn specifieke richtlijnen om de verschillende genomen stalen te bewaren. Synoviale swabs worden in Amies medium bewaard tijdens transport, dit om dehydratatie te voorkomen. Synoviaal vocht wordt best bewaard in polystyreen tubes. Hierbij moet lekkage, kruiscontaminatie en schade voorkomen worden tijdens transport. Weefselstalen voor histologie moeten in 10% formaline bewaard worden en moeten goed verpakt worden om lekkage te voorkomen. Synoviale swabs en vloeistof, weefselstalen en volledige poten moet men ingevroren transporteren en binnen de 24 uur naar het laboratorium versturen. In het ideale geval wordt er een volledige anamnese bij het staal gevoegd met de symptomen, de leeftijd van de dieren, het aantal aangetaste dieren, hoelang het probleem zich al voordoet, de mortaliteit en eventueel een differentiaal diagnose (Neto et al., 2012).

Er kunnen verschillende diagnostische testen gebruikt worden. Real-time PCR is een van de meest sensitieve testen om *Mycoplasma* kiemen te detecteren. In tabel 1 en 2 zijn de voor- en nadelen opgesomd van deze test. Er is een kwantitatieve real-time PCR beschreven door Neto et al. (2015), die gebruikt kan worden om de incidentie en prevalentie van de kiem in de kudde in te schatten. De kiem kan eveneens gediagnosticeerd worden door middel van bacteriële cultuur, wat beschouwd wordt als de gouden standaard (Neto et al., 2012; Thacker en Minon, 2012). *Mycoplasma hyosynoviae* wordt gecultiveerd in een Hayflick type medium. De kiem metaboliseert arginine en hierdoor wordt het medium vaak verrijkt met arginine en bacteriologische mucine. Men moet opletten voor overgroei van *M. hyorhinis* en andere bacteriën. Om dit te voorkomen, kan men selectieve inhibitoren zoals cycloserine en Tween 20, toevoegen (Friis et al., 1991). Lichtmicroscopie waarbij een hematoxiline-eosine gebruikt wordt, kan de min of meer karakteristieke laesies aantonen van *M. hyosynoviae* geassocieerde artritis. Typisch is er een hyperplasie van synovia, synoviale villose hypertrofie, oedeem, mononucleaire cel infiltratie en een milde fibrose van het kapsel (Neto et al., 2012). Serologische testen om antistoffen aan te tonen tegen *M. hyosynoviae* kunnen bijdragen aan de definitieve diagnose. Complement fixatie testen en verschillende ELISA testen zijn beschreven, maar deze zijn niet altijd beschikbaar in diagnostische labo's (Thacker en Minon, 2012). *Mycoplasma hyosynoviae* kan levenslang persisteren in de tonsillen. Hierdoor is het detecteren van antistoffen niet geschikt voor de diagnose van acute of chronische gevallen van artritis, maar het kan wel helpen bij het identificeren van het oorzakelijke agens bij grote groepen van varkens (Nielsen et al., 2005). Hagedorn-Olsen et al. (1999b) geven aan dat er een mogelijk alternatief is voor de moeilijke staalname en cultivatie van gewrichtsvocht bij plotse uitbraken. Door de relatief lange systemische fase kan men bloed gaan cultiveren om een diagnose te stellen. De isolatie van de kiem uit synoviaal vocht heeft een hogere diagnostische waarde, waardoor men bij dubbel zoveel dieren bloed moet afnemen voor cultuur om eenzelfde zekerheid van diagnose te bekomen (Nielsen et al., 1998).

Nielsen et al. (1996) hebben een methode ontwikkeld om tonsillaire dragers te detecteren bij levende dieren. Het oppervlak van de tonsillen wordt op een atraumatische manier geschrapt, waarna het staal geanalyseerd kan worden door cultuur of PCR.

### 3.6. DIFFERENTIAAL DIAGNOSE

*Mycoplasma hyosynoviae* wordt geassocieerd met artritis bij varkens met een leeftijd van drie tot vijf maanden (Thacker en Minion, 2012). In figuur 7 worden de mogelijke oorzaken van kreupelheid in samenhang met de leeftijd weergegeven. De belangrijkste oorzaken zijn *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Streptococcus suis*, *Actionobacillus suis*, *Mycoplasma hyorhinis*, osteochondrose, fracturen, mond-en-klauwzeer en blaasjesziekte (Jackson en Cockcroft, 2007).

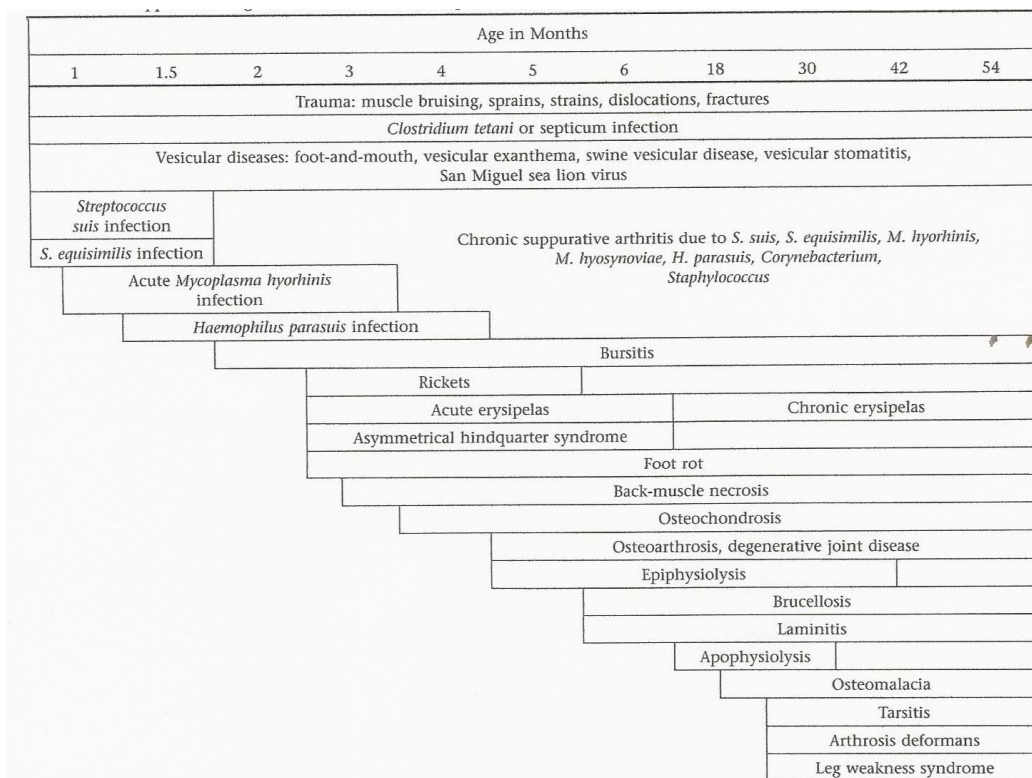


Fig. 7: Differentiaal diagnose van kreupelheid bij varkens (uit Straw et al., 2006).

- *Erysipelothrix rhusiopathiae* oftewel vlekziekte: De acute of septicemische vorm kan acute sterfte, abortus en depressie veroorzaken. De dieren hebben pijnlijke gewrichten, blijven veel liggen en kunnen moeilijk opstaan. De voedselopname neemt sterk af, de lichaamstemperatuur verhoogt sterk en er ontstaan karakteristieke roodachtige huidlaesies. De subacute vorm vertoont minder klinische tekenen dan de acute vorm. Bij chronische gevallen kan men typisch een chronische artritis zien. De dieren zijn mild tot duidelijk kreupel en de voedselopname neemt af. De hak, knie of carpale gewrichten kunnen aangetast zijn. Ook kan er een valvulaire endocarditis ontstaan. Dieren jonger dan drie maanden zijn minder gevoelig voor infectie door passieve immuniteit en dieren ouder dan drie jaar zijn tevens minder gevoelig door herhaalde subklinische ziekte (Opriessnig en Wood, 2012).
- *Streptococcus suis*: Een infectie met *S. suis* kan resulteren in een septicemie en polyserositis of een gelokaliseerde infectie in o.a. een gewricht. Aangetaste dieren zijn meestal vijf tot tien



weken oud, maar dit kan variëren (Fairbrother en Gyles, 2012). Er kan plotse dood optreden, maar meestal ontstaat er kreupelheid met een verhoogde lichaamstemperatuur. Occasioneel ontstaat er endocarditis (Jackson en Cockcroft, 2007).

- *Actinobacillus suis*: Infectie met *A. suis* ontstaat typisch bij dieren jonger dan drie maanden, waarbij er een plotse dood, endocarditis en polyarthritis kan optreden. Sommige varkens hebben een verhoogde lichaamstemperatuur en bewegen moeilijk. Aangetaste gewrichten voelen warm en gezwollen aan bij palpatie (Jackson en Cockcroft, 2007). Letsels komen voornamelijk voor bij zuigende en gespeende biggen, maar kunnen ook optreden bij mestvarkens (Yaeger, 1996; Gottschalk, 2012a).
- *Mycoplasma hyorhinis*: Deze kiem veroorzaakt typisch polyserositis bij varkens met een leeftijd van drie tot tien weken en artritis vanaf een leeftijd van drie maanden (Ross, 1970; Thacker en Minion, 2012). Indien er ook artritis ontstaat, zijn de varkens kreupel, anorectisch, lethargisch en vertonen een verhoogde temperatuur en slechte eetlust. De gewrichten zijn gezwollen en voelen warm bij aanraking (Jackson en Cockcroft, 2007).
- Osteochondrose: Klinische tekenen van osteochondrose worden maar in 30% gezien bij dieren die aan deze aandoening leiden. De dieren hebben pijn bij staan of lopen, waarbij er een wijdbeense stand kan aangenomen worden. Er is een verhoogde kans op het ontwikkelen van osteochondrose bij snel groeiende varkens, onevenwichtige voeding en een slechte huisvesting en komt vooral voor bij groeiende en oudere varkens (Jackson en Cockcroft, 2007).
- Fracturen: Er treedt een plotse acute kreupelheid op, waarbij er geen gewicht meer op de poot kan gezet worden en de spiertonus verminderd zal zijn. Dit kan op elke leeftijd voorkomen, maar tweedeworps zeugen zijn gevoeliger (Jackson en Cockcroft, 2007).
- Mond- en klauwzeer: Na infectie met dit aphtovirus ontstaat er plotse kreupelheid, waarbij er vesikels ter hoogte van de klauwen en mond kunnen gevonden worden. De lichaamstemperatuur zal verhoogd zijn (Jackson en Cockcroft, 2007). De dieren kunnen op elke leeftijd geïnfecteerd worden (Straw et al., 2006).
- Blaasjesziekte: Varkens geïnfecteerd met dit enterovirus zullen kreupelheid en een verhoogde temperatuur vertonen. Er ontstaan vesikels ter hoogte van de kroonrand van de klauwen, soms ook ter hoogte van de tong en mond (Jackson en Cockcroft, 2007). Letsels kunnen op elke leeftijd ontstaan (Straw et al., 2006).

### 3.7. THERAPIE

Men heeft niet de beschikking over een commercieel vaccin ter preventie van ziekten veroorzaakt door *M. hyosynoviae* (Thacker en Minion, 2012). Er wordt voornamelijk antibiotica gebruikt om de infectie te bestrijden. *Mycoplasma* kiemen zijn in het algemeen gevoelig aan lincosamides, pleuromutilines, macrolides, tetracyclines en quinolones (Laak et al., 1991; Karriker et al., 2012). Er is een natuurlijke resistentie voor antibiotica die met de celwandsynthese interfereren doordat *Mycoplasma* kiemen geen celwand bevatten. Beta-lactam antibiotica vallen hieronder (Maes et al., 1996; Razin, 1996). In het AMCRA-formularium wordt *M. hyosynoviae*, net zoals *M. hyorhinis*, niet vermeld. Wèl zijn er richtlijnen opgesteld voor *M. hyopneumoniae*, welke reeds uitvoerig besproken zijn bij 2.7

(Anoniem, 2013). Aerestrup en Friis, 1998 geven aan dat lincomycine en tiamuline het meeste gebruikt worden, maar ook tylosine, tetracycline en enrofloxacin worden regelmatig gebruikt. In de richtlijnen voor antibiotica gebruik van AMCRA staat dat pleuromutilines (tiamuline) uitsluitend gebruikt mogen worden voor dysenterie en dus niet meer ter bestrijding van *M. hyosynoviae* toegediend mogen worden (Anoniem, 2013). Varkens moeten worden behandeld met antibiotica in de vroege stadia van infectie om goede resultaten te bekomen (Ross en Duncan, 1970). Vroege parenterale therapie met voor de kiem gevoelige antibiotica resulteert in een kortere periode van kreupelheid (Nielsen et al, 2001). Corticosteroïden kunnen gebruikt worden om de pijn geassocieerd met de ziekte te verlichten (Ross en Duncan, 1970). Meloxicam, natriumsalicylaat en paracetamol worden regelmatig gebruikt bij kreupelheid om inflammatie te bestrijden en pijn te verlichten (Ihson en Rutherford, 2014).

*In vitro* kon er 50% resistentie voor tylosine opgemerkt worden in 1998, dit in tegenstelling tot stammen van de kiem die 30 jaar oud waren en wel gevoelig waren. De resistentie kan mogelijk ontstaan zijn doordat het een veelgebruikt antibioticum is en in het verleden toegevoegd werd aan het voer als groeipromotor (Aerestrup en Friis, 1998). Hannan en Windsor (1997) hebben de *in vitro* activiteit tegen *M. hyosynoviae* van valnemuline vergeleken met tiamuline, tylosine, oxytetracycline en enrofloxacin. Men heeft aangetoond dat valnemuline veel actiever is dan de andere antibiotica. Ook in deze studie is er opgemerkt dat er hoge resistentie is ontwikkeld voor tylosine (Hannan en Windsor, 1997).

### 3.8. PREVENTIE

Er is geen commercieel vaccin beschikbaar om ziekte door infectie met *M. hyosynoviae* te voorkomen (Thacker en Minion, 2012). Risicofactoren voor het al dan niet ontwikkelen van een klinische infectie kan men best vermijden. Dit zijn stress door problemen met management of veranderingen van de omgeving en een verminderde algemene weerstand (Ross en Duncan, 1970; Ross, 1973; Hagedorn-Olsen et al., 1999a). Het beste kan men de dieren in kleine groepen houden (Ross en Duncan, 1970; Smith, 1999) en selectie van dieren met een goede conformatie met weinig artritis problemen (Ross en Duncan, 1970). Een gesloten bedrijf heeft minder kans om de kiem te introduceren (Ross en Duncan). Dieren die blootgesteld worden aan omgevings- of sociale stress zoals het mengen van verschillende groepen, sorteren, verplaatsen, vechten, transport en klimaatveranderingen, hebben meer kans om artritis te ontwikkelen. Deze factoren kunnen best vermeden worden (Ross et al., 1971).

## BESPREKING

*Mycoplasma hyorhinis* en *hyosynoviae* zijn beide veelvoorkomende kiemen in de varkenshouderij. Er is hier al vrij veel kennis over, maar veel van die informatie is afkomstig van onderzoeken van 20 tot 30 jaar geleden. Sindsdien zijn er maar een beperkt aantal studies over deze kiemen uitgevoerd. Een mogelijke reden hiervoor is dat er nog steeds veel aandacht gespendeerd wordt aan *M. hyopneumoniae*. Uit recente maar ook uit minder recente literatuur blijkt nochtans dat het belang van *M. hyorhinis* en *M. hyosynoviae* niet onderschat mag worden.

*Mycoplasma hyorhinis* komt als facultatieve kiem voor in de bovenste luchtwegen. Ze maakt deel uit van het PRDC en kan samen met andere kiemen pneumonie letsels veroorzaken. Vaak wordt deze kiem als verwaarloosbaar gezien bij PRDC problemen, terwijl de rol ervan niet te onderschatten is. In bepaalde gevallen kunnen er systemische infecties ontwikkelen waarbij voornamelijk polyserositis en polyarthritis ontstaan. Wanneer dit zich voordoet bij varkens van drie tot tien weken oud, kan er bij deze dieren een groeiachterstand optreden en dit veroorzaakt economische verliezen. Op latere leeftijd kan de kiem artritis veroorzaken waarbij kreupelheid optreedt. Vooral bij fokdieren heeft dit een economische impact aangezien kreupelheid een reden kan zijn tot het vroegtijdig afvoeren van deze dieren. *Mycoplasma hyosynoviae* veroorzaakt eerst een tonsillaire infectie, waarna de kiem systemisch kan spreiden en op een leeftijd van tien tot twintig weken artritis kan veroorzaken. Eens geïnfecteerd, blijft het dier de kiem herbergen in de tonsillen en wordt het varken een subklinische drager. Hierdoor is het dus moeilijk om de bacterie, eens die zijn insleep kent in het bedrijf, te verwijderen uit het bedrijf. Artritis door *M. hyosynoviae* veroorzaakt voornamelijk kreupelheid, en dezelfde economische schade kan optreden als hoger genoemd bij *M. hyorhinis*, maar ook een verminderde eetlust kan het gevolg zijn van een *M. hyosynoviae* infectie, hetgeen leidt tot verminderde groei en dus eveneens economische schade.

Het is niet eenvoudig om de diagnose te stellen van deze *Mycoplasma* species. Idealiter gebeurt staalname van acuut geïnfecteerde dieren na euthanasie. Dit is niet eenvoudig in de praktijk. Ten eerste wordt er doorgaans weinig staalname uitgevoerd voor deze kiemen en hebben dierenartsen hier dus meestal weinig ervaring in. Ten tweede zijn bepaalde staalnames, zoals een gewrichtspunctie moeilijk uit te voeren in het veld. Deze handeling moeten ook steriel gebeuren, wat niet eenvoudig is op een varkensbedrijf. Een oplossing hiervoor is om het dier te euthanaseren en in zijn geheel op te sturen naar een diagnostisch laboratorium, waar de staalnames correct en op een zo hygiënisch mogelijke manier kunnen gebeuren. Helaas staan veel veehouders erg weigerachtig tegenover het opofferen van een dier voor staalname. Ten derde worden de aangewezen testen meestal niet routinematig uitgevoerd in de laboratoria. Hierbij komt dat de groei van *Mycoplasma* kiemen vaak niet evident is, veel tijd in beslag neemt en de media niet goedkoop zijn.

Voor beide kiemen is er geen commercieel vaccin beschikbaar. Dit kan voor moeilijkheden zorgen wanneer een bedrijf lang aanslepende problemen kent veroorzaakt door deze kiemen. Indien dan preventieve maatregelen, zoals het voorkomen van andere infecties en het vermijden van stress, geen effect hebben, grijpt men vaak naar chemotherapeutica. In de praktijk worden hoofdzakelijk lincomycine en tylosine gebruikt en bijkomend voor *M. hyosynoviae* tetracycline en enrofloxacin. Het

gebruik van antibiotica is niet meer vanzelfsprekend op dit moment. Het kenniscentrum voor antibioticagebruik en -resistentie bij dieren (AMCRA) wil het antibioticagebruik tegen 2020 halveren en wil steunen richting een duurzaam antibioticabeleid. Verder onderzoek verrichten naar het ontwikkelen van vaccins ter preventie van lang aanslepende problemen met deze kiemen is dus zeker geen verloren moeite, dit om in de toekomst het antibioticum gebruik verder te reduceren.

## REFERENTIELIJST

- Aarestrup F.M., Friis N.F. (1998). Antimicrobial susceptibility testing of *Mycoplasma hyosynoviae* isolated from pigs during 1968 to 1971 and during 1995 and 1996. *Veterinary Microbiology* 61, 33-39.
- Anoniem (2013). Formularium voor verantwoordelijk gebruik van antibacteriële middelen in de varkenshouderij. 1ste editie. AMCRA, Merelbeke, p. 6-7, 14-15.
- Anonymous (2015a). Actualisatie van de studie over de varkenskolom, mei 2015. Internetreferentie: [http://economie.fgov.be/nl/binaries/Actualisatie\\_studie\\_varkenskolom\\_mei2015\\_tcm325-267698.pdf](http://economie.fgov.be/nl/binaries/Actualisatie_studie_varkenskolom_mei2015_tcm325-267698.pdf) (geconsulteerd op 3 maart 2016).
- Anonymous (2015b). Crisis in varkenssector blijft de politiek beroeren. Internetreferentie: <http://www.vilt.be/crisis-in-varkenssector-blijft-de-politiek-beroeren> (geconsulteerd op 3 maart 2016).
- Anonymous (2016). Landbouwgegevens 2015. Internetreferentie: [http://statbel.fgov.be/nl/modules/publications/statistiques/economie/downloads/agriculture\\_-\\_chiffres\\_d\\_agricole\\_de\\_2015\\_-\\_resultats\\_provisoires.jsp](http://statbel.fgov.be/nl/modules/publications/statistiques/economie/downloads/agriculture_-_chiffres_d_agricole_de_2015_-_resultats_provisoires.jsp) (geconsulteerd op 3 maart 2016).
- Aragon V., Segales J., Oliveira S. (2012). Glässers Disease. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) *Diseases of swine*, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 760-769.
- Balish M.F., Krause D.C. (2006). Mycoplasmas: a distinct cytoskeleton for wall-less bacteria. *Journal of molecular microbiology and biotechnology* 11, 244-255.
- Bollwahn V.W. (1989). Infektiöse faktorenkrankheiten beim schwein- pathogenese und bekämpfung. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 102, 410-412.
- Clavijo M.L., Bruner L., Olson S., Rosey E.L., Pearce D., Rovira A. (2012). Dynamics of infection of *Mycoplasma hyorhinis* in two commercial swine herds. *Allen D. Leman Swine Conference* 39, p. 91-92.
- Dee S.A., Torremorell M., Rossow K., Mahlum C., Otake S., Faaberg K. (2001). Identification of genetically diverse sequences (ORF 5) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a swine herd. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 65, 254-260.
- Done S., Williamson S.M., Strugnell B.W. (2012). Nervous and Locomotor Systems. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) *Diseases of swine*, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 313-314.
- Donham K.J. (1991). Association of environmental air contaminants with disease and productivity in swine. *American journal of veterinary research* 52, 1723-1730.
- Duncan J.R., Ross R.F. (1973). Experimentally induced *Mycoplasma hyorhinis* arthritis of swine: pathologic response to 26th postinoculation week. *American journal of veterinary research* 34, 363-366.

- Fairbrother J.M., Gyles C.L. (2012). Colibacillosis. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) Diseases of swine, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 723-749.
- Flesjà K. I., Forus I.B., Solberg I. (1982). Pathological lesions in swine at slaughter. *Acta Veterinaria Scandinavica* 23, 169-183.
- Friis N.F. (1971). *Mycoplasma hyorhinis* as a causative agent in pneumonia of pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica* 12, 116-119.
- Friis N.F. (1976). A serologic variant of *Mycoplasma hyorhinis* recovered from the conjunctiva of swine. *Acta Veterinaria Scandinavica* 17, 343-353.
- Friis N.F., Ahrens P., Larsen H. (1991). *Mycoplasma hyosynoviae* isolation from the upper respiratory tract and tonsils of pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica* 32, 425-429.
- Friis N.F., Feenstra A.A. (1994). *Mycoplasma hyorhinis* in the etiology of serositis among piglets. *Acta Veterinaria Scandinavica* 35, 93-98.
- Funk J., Wagstrom E. (2012). Preharvest Food safety, Zoonotic Diseases, and the Human Health Interface. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) Diseases of swine, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 172.
- Gardner I.A., Hird D.W. (1990). Host determinants of pneumonia in slaughter weight swine. *American journal of veterinary medicine* 51, 1306-1311.
- Gois M., Pospisil Z., Cerny M., Mrva V. (1971). Production of pneumonia after intranasal inoculation of gnotobiotic piglets with three strains of *Mycoplasma hyorhinis*. *Journal of Comparative Pathology* 81, 401-410.
- Gottschalk M. (2012a). Actinobacillosis. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) Diseases of swine, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 653-669.
- Gottschalk M. (2012b). Streptococcosis. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) Diseases of swine, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 841-855.
- Hagedorn-Olsen T., Nielsen N.C., Friis N.F., Nielsen J. (1999a). Progression of *Mycoplasma hyosynoviae* infection in three pig herds. Development of tonsillar carrier state, arthritis and antibodies in serum and synovial fluid in pigs from birth to slaughter. *Journal of veterinary medicine of America* 46, 555-564.
- Hagedorn-Olsen T., Nielsen N.C., Friis N.F. (1999b). Induction of arthritis with *Mycoplasma hyosynoviae* in pigs: clinical responses and re-isolation of the organism from body fluids and organs. *Journal of veterinary medicine of America* 46, 317-325.

- Hagedorn-Olsen T., Basse A., Jensen T.K., Nielsen N.C. (1999c). Gross and histopathological findings in synovial membranes of pigs with experimentally induced *Mycoplasma hyosynoviae* arthritis. *Acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* 107, 201-210.
- Hannan P.C.T., Windsor H.M. (1997). In vitro susceptibilities of recent field isolates of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyosynoviae* to valnemulin (Econor®), tiamulin and enrofloxacin and the in vitro development of resistance to certain antimicrobial agents in *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Research in Veterinary Science* 63, 157-160.
- Hansen M.S., Pors S.E., Jensen H.E., Bille-Jansen V., Bisgaard M., Flachs E.M., Nielsen O.L. (2010). An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. *Journal of comparative pathology* 143, 120-131.
- Hessing M.J.C., Scheepens C.J.M., Schouten W.G.P., Tielen M.J.M., Wiepkema P.R. (1994). Social rank and disease susceptibility in pigs. *Veterinary immunology and immunopathology* 43, 373-387.
- Hu J., Zhang C. (2014). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines: current status and strategies to a universal vaccine. *Transboundary and emerging diseases* 61, 109-120.
- Ihson S.H., Rutherford K.M.D. (2014). Attitudes of farmers and veterinarians towards pain and the use of pain relief in pigs. *The veterinary journal* 202, 622-627.
- Jackon P.G.G., Cockcroft P.D. (2007). *Handbook of Pig Medicine*, Elsevier Ltd, Philadelphia, p. 49-69.
- Karriker L.A., Coetzee J., Friendship R.M., Prescott J.F. (2012). Drug pharmacology, therapy and prophylaxis. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) *Diseases of swine*, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 106-118.
- Kawashima K., Yamada S., Kobayashi H., Narita M. (1996). Detection of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus and *Mycoplasma hyorhinis* Antigens in Pulmonary Lesions of Pigs Suffering from Respiratory Distress. *Journal of comparative pathology* 114, 315-323.
- Kobayashi H., Morozumi T., Miyamoto C., Shimizu M., Yamada S., Ohashi S., Kubo M., Kimura K., Mitani K., Ito N., Yamamoto K. (1995). *Mycoplasma hyorhinis* infection levels in lungs of piglets with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Journal of veterinary medicine science* 58, 109-113.
- Kobayashi H., Sonmez N., Morozumi T., Mitani K., Ito N., Shiono H., Yamamoto K. (1996). In vitro susceptibility of *Mycoplasma hyosynoviae* and *M. hyorhinis* to antimicrobial agents. *Journal of veterinary medicine science* 58, 1107-1111.
- Kobayashi H., Nakajima H., Shimizu Y., Eguchi M., Hata E., Yamamoto K. (2005). Macrolides and lincomycin susceptibility of *Mycoplasma hyorhinis* and variable mutation of domain II and V in 23S ribosomal RNA. *Journal of veterinary medicine science* 67, 795-800.
- Kobisch M. (1983). Pathogenicity of *Mycoplasma hyorhinis*. *Yale journal biology medicine* 56, 922-923.

- Kobisch M., Friis N.F. (1996). Swine mycoplasmosis. *Revue scientifique et technique International Office of Epizootics* 15, 1569-1605.
- Laak E.A., Pijpers A., Noordergraaf H., Schoevers E.C., Verheijden J.H.M. (1991). Comparison of Methods for in vitro testing of susceptibility of porcine mycoplasma species to antimicrobial agents. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 35, 228-233.
- Lauritsen K.T., Hagedorn-Olsen T., Friis N.F., Lind P., Jungersen G. (2008). Absence of strictly age-related resistance to *Mycoplasma hyosynoviae* infection in 6-week-old pigs. *Veterinary Microbiology* 130, 385-390.
- Lin J.H., Chen S.P., Yeh K.S., Weng C.N. (2006). *Mycoplasma hyorhinis* in Taiwan: diagnosis and isolation of swine pneumonia pathogen. *Veterinary Microbiology* 115, 111-116.
- Lindquist J.O. (1974). Animal health and environment in the production of fattening pigs. *Acta veterinaria scandinavica* 51, 1-78.
- Ludwig W., Euzeby J., Whitman W.B. (2010). Taxonomic outlines of the phyla *Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Tenericutes (Mollicutes)*, *Acidobacteria*, *Fibrobacteres*, *Fusobacteria*, *Dictyoglomi*, *Gemmatimonadetes*, *Lentisphaerae*, *Verrucomicrobia*, *Chlamydiae*, and *Planctomycetes*. In: Krieg N.R., Staley J.T., Brown D.R., Hedlund B.P., Paster B.J., Ward N.L., Ludwig W., Whitman W.B. (Editors) *Bergey's manual of Systemic Bacteriology*, 2<sup>nd</sup> edition, Springer, New York, p. 21-24.
- Mackie R.I., Koike S., Krapac I., Chee-Sanford J., Maxwell S., Aminov R.I. (2006). Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities. *Animal biotechnology* 17, 157-176.
- Maes D., Verdonck M., Deluyker H., de Kruif A. (1996). Enzootic pneumonia in pigs. *Veterinary quarterly* 18, 104-109.
- Morita T., Fukuda H., Awakura T., Shimada T., Umemura T., Kazama S., Yagihashi T. (1995). Demonstration of *Mycoplasma hyorhinis* as a possible primary pathogen for porcine otitis media. *Veterinary pathology* 32, 107-111.
- Morita T., Ohiwa S., Shimada A., Kazama S., Yagihashi T., Umemura T. (1999). Intranasally Inoculated *Mycoplasma hyorhinis* Causes Eustachitis in Pigs. *Veterinary pathology* 36, 174-178.
- Neto J.C.G., Gauger P.C., Strait E.L., Boyes N., Madson D.M., Schwartz K.J. (2012). Mycoplasma-associated arthritis: critical points for diagnosis. *Journal of swine health and production* 20, 82-86.
- Neto J.C.G., Strait E.L., Raymond M., Ramirez A., Minion C. (2014). Antibody responses of swine following infection with *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *M. hyosynoviae* and *M. flocculare*. *Veterinary Microbiology* 174, 163-171.



- Neto J.C.G., Bower L., Erickson B.Z., Wang C., Raymond M., Strait E.L. (2015). Quantitative real-time polymerase chain reaction for detecting *Mycoplasma hyosynoviae* and *Mycoplasma hyorhinis* in pen-based oral, tonsillar, and nasal fluids. *Journal of veterinary science* 16, 195-201.
- Nielsen E.O., Hagedorn-Olsen T., Friis N.F. (1996). An improved sampling technique for revelation of *Mycoplasma hyosynoviae* carrier state in pigs. *Proceedings of the 14th IPVS Congress, Bologna, Italy*, p. 224.
- Nielsen E.O., Hagedorn-Olsen T., Nielsen N.C., Friis N.F. (1998). Blood culture as a diagnostic tool in outbreaks of *Mycoplasma hyosynoviae* arthritis. *Proceedings of the 15th IPVS Congress, Birmingham, England*, p. 205.
- Nielsen E.O., Nielsen N.C., Friis N.F. (2001). *Mycoplasma hyosynoviae* arthritis in grower-finisher pigs. *Journal of veterinary medicine* 48, 475-486.
- Nielsen E.O., Laurtisen K.T., Friis N.F., Enoe C., Hagedorn-Olsen T., Jungersen G. (2005). Use of a novel serum ELISA method and the tonsil-carrier state for evaluation of *Mycoplasma hyosynoviae* distribution in pig herds with or without clinical arthritis. *Veterinary Microbiology* 111, 41-50.
- Opriessnig T., Wood R.L. (2012). Erysipelas. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) *Diseases of swine*, 10th edition, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 750-759.
- Palzer A., Haedke K., Heinritzi K., Zoels S., Ladinig A., Ritzmann M. (2015). Associations among *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyorhinis*, and porcine reproductive and respiratory syndrome virus infections in pigs with polyserositis. *Canadian Veterinary Journal* 56, 285-287.
- Pitkin A., Deen J., Dee S. (2009). Use of a production region model to assess the airborne spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary microbiology* 136, 1-7.
- Pollack J.D., Williams M.V., McElhaney R.N. (1997). The comparative metabolism of the *Mollicutes* (Mycoplasmas): the utility for taxonomic classification and the relationship of putative gene annotation and phylogeny to enzymatic function in the smallest free-living cells. *Critical Reviews in Microbiology* 23, 269-354.
- Potgieter L.N.D., Ross R.F. (1972). Demonstration of *Mycoplasma hyorhinis* and *Mycoplasma hyosynoviae* in lesions of experimentally infected swine by immunofluorescence. *American journal of veterinary research* 33, 99-105.
- Razin S. (1978). The Mycoplasmas. *Microbiological Reviews* 42, 414-470.
- Razin S. (1992). *Mycoplasma* taxonomy and ecology. In: Maniloff J. and McElhaney R.N. (Editors) *Mycoplasmas: molecular biology and pathogenesis*, American Society for Microbiology, Washington, D.C., p. 3-22.

Razin S. (1994). DNA probes and PCR in diagnosis of *Mycoplasma* infections. *Molecular and Cellular Probes* 8, 497-511.

Razin S. (1996). Chapter 37: Mycoplasmas. Internetreferentie: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7637/> (geconsulteerd op 3 maart 2016).

Razin S., Yogeve D., Naot Y. (1998). Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas. *Microbiology and molecular biology reviews* 62, 1094-1156.

Riedel S., Doern G.V. (2014). The value of post-mortem microbiology cultures. *Journal of clinical microbiology* 52, 1028-1033.

Ross R.F., Duncan J.R. (1970). *Mycoplasma hyosynoviae* arthritis of swine. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 157, 1515-1518.

Ross R.F., Switzer W.P., Duncan J.R. (1971). Experimental production of *Mycoplasma hyosynoviae* arthritis in swine. *American journal of veterinary research* 32, 1743-1749.

Ross R.F. (1973). Predisposing factors in *Mycoplasma hyosynoviae* arthritis in swine. *Journal of infectious diseases* 127, 84-86.

Ross R.F., Spear M.L. (1973). The role of the sow as a reservoir of infection for *Mycoplasma hyosynoviae*. *American journal of veterinary research* 34, 373-378.

Rovira A. (2009). Review of *Mycoplasma hyorhinis*. Allen D. Leman Swine Conference, p. 87-88.

Salak-Johnson J.L., McGlone J.J. (2014). Making sense of apparently conflicting data: Stress and immunity in swine and cattle. *Journal of animal science* 85, p. 81-88.

Shin J.H., Joo H.S., Lee Z.H., Seok H.B., Calsamig M., Pijoan C., Molitor T.Z. (2003). Identification and characterization of cytopathogenic *Mycoplasma hyorhinis* from swine farms with a history of abortions. *Journal of veterinary medicine science* 65, 501-509.

Smith J.H., Wathes C.M., Baldwin B.A. (1996). The preference of pigs for fresh air over ammoniated air. *Applied animal behaviour science* 49, 417-424.

Smith W.J. (1999). Arthritis in pigs. *The veterinary record* 145, 440.

Straw B.E., Dewey C.E., Wilson M.R. (2006). Differential diagnosis of diseases. In Straw B.E., Zimmerman J.J., D'Allaire S., Taylor D.J. (Editors) *Diseases of swine*, 9<sup>th</sup> edition, Blackwell Publishing, Ames, IA, p. 241-283.

Stärk K.D.C. (2000). Epidemiological investigation of the influence of environmental risk factors on respiratory diseases in swine- a literature review. *The veterinary journal* 159, 37-56.

Thacker E.L., Minion F.C. (2012). Mycoplasmosis. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) Diseases of swine, 10<sup>th</sup> edition, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 779-797.

Waites K.B. (2015). *Mycoplasma* Infections Workup. Internetreferentie: <http://emedicine.medscape.com/article/223609-workup> (geconsulteerd op 16 april 2016).

Williams P.P. (1978). In vitro susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* to fifty-one antimicrobial agents. Antimicrobial agents and chemotherapy 12, 210-213.

Wu C.C., Shryock T.R., Lin T.L., Faderan M., Veenhuizen M.F. (2000). Antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma hyorhinis*. Veterinary Microbiology 76, 25-30.

Yaeger M.J. (1996). An outbreak of *Actinobacillus suis* septicemia in grow/finish pigs. Journal of veterinary diagnostic investigation 8, 381-383.

Zimmerman J.J., Benfield D.A., Dee S.A., Murtaugh M.P., Stadejek T., Stevenson G.W., Torremorell M. (2012) Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus). In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (Editors) Diseases of swine, John Wiley & Sons, Hoboken, p. 461-489.

