

EPIDEMIOLOGIA DELLA DISSENTERIA SUINA IN USA E RECENTI RICERCHE RIGUARDO FATTORI DI RISCHIO, ALIMENTAZIONE E TECNICHE DIAGNOSTICHE

ERIC R. BURROUGH
DVM, PhD, Diplomate ACVP

*Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine
College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, Iowa, USA*

INTRODUZIONE

La dissenteria suina (SD) è stata descritta in letteratura nei primi anni venti (1), i focolai tipici di SD sono caratterizzati da una diarrea sanguinolenta con presenza di muco, più frequentemente osservati in suini in magronaggio e ingrasso. In alcuni casi, le feci diarroiche possono contenere filamenti di fibrina e tessuto intestinale, con tassi di morbilità e mortalità elevati, che possono avvicinarsi al 30% (2). Le lesioni macroscopiche sono limitate al cieco e al crasso e comprendono la presenza di abbondante muco nel lume e di sangue, in misura variabile. Microscopicamente, il tessuto del colon di suini colpiti con infezione acuta è caratterizzato da un ispessimento della mucosa, con presenza di muco luminale ed emorragia, necrosi superficiale della mucosa e infiltrazione ed essudazione di neutrofili con numerose spirochete intra-lesione (3). La diagnosi definitiva di SD è tradizionalmente basata sull'isolamento di spirochete fortemente beta-emolitiche dal tessuto del colon o dalle feci di suini colpiti; tuttavia, più di recente, sono stati sviluppati metodi molecolari, come la reazione a catena della polimerasi (PCR) e l'ibridazione in situ (ISH) per dimostrare la presenza di *Brachyspira spp.* nei campioni analizzati (2).

Quadro clinico

Nonostante la SD sia tradizionalmente associata alla presenza di *Brachyspira hyodysenteriae*, recentemente sono stati segnalati in Europa e Nord America casi di una malattia simile alla SD, nei quali è stata isolata una spirocheta fortemente beta-emolitica, non riconducibile a *B. hyodysenteriae* mediante i test biochimici e molecolari. Questi risultati hanno portato alla proposta di due potenziali nuove specie, "*Brachyspira suanatina*" (4) e "*Brachyspira hamptonii*" (5). Infezioni sperimentali hanno confermato che queste potenziali nuove specie possono indurre lesioni e/o sintomatologie indistinguibili dall'infezione con *B. hyodysenteriae* nel modello topo (6) e in suini (4,7,8). Questi risultati indicano che la SD può effettivamente verificarsi anche a seguito di un'infezione con *Brachyspira spp.* fortemente beta-emolitiche, non riconducibili a *B. hyodysenteriae* con i comuni metodi di laboratorio, e inoltre suggeriscono che la definizione eziologica di SD dovrebbe essere ampliata per includere anche queste potenziali nuove specie.

Epidemiologia e ri-emergenza della SD in USA

Tra il 1970 e il 1990, la SD è stata una delle principali cause di perdite economiche per l'allevamento suino in USA, con una stima di più di 60 milioni di dollari di perdita annua totale. Verso la metà degli anni '90, tuttavia, la prevalenza negli allevamenti americani è scesa a livelli così bassi che la malattia era considerata da molti come un problema ormai marginale per l'industria suina. La scomparsa della SD nel 1990 fu probabilmente dovuta ad una migliore comprensione della malattia, una migliore biosicurezza, e la disponibilità di antibiotici efficaci e correttamente utilizzati in programmi aziendali di controllo della malattia.

A metà degli anni 2000, il laboratorio diagnostico veterinario della Iowa State University riportava un aumento dell'incidenza di casi di SD (9), con una parte di questi casi in suini importati dal midwest degli Stati Uniti per l'ingrasso. Dall'inizio di queste positività, *B. hyodysenteriae* è stato isolato da suini di 13 stati diversi e "*B. hampsonii*" da suini provenienti da 8 diversi stati, questi risultati rivelano una distribuzione capillare di allevamenti infetti negli Stati Uniti. Con l'aumento della sorveglianza per la malattia, in quasi tutte le principali aree di produzione di suini negli Stati Uniti sono stati identificati allevamenti infetti; tuttavia, la ricaduta clinica negli allevamenti infetti è risultata variabile e probabilmente legata a fattori immunitari e all'uso di antibiotici.

Fattori di rischio per SD

L'espressione clinica della SD può essere significativamente influenzata da fattori alimentari (2). Nonostante i pareri in letteratura siano differenti, è generalmente accettato che una dieta altamente digeribile sia associata ad una diminuita espressione clinica della SD a seguito dell'infezione da *B. hyodysenteriae* (10), mentre una dieta ricca di fonti di fibra rapidamente fermentabile possa aumentare l'espressione della malattia (11). Anche diete ricche di inulina sono state associate ad una ridotta espressione della malattia dopo infezione sperimentale con *B. hyodysenteriae* ed è stato ipotizzato che questo effetto sia dovuto ad alterazioni del microbiota del colon (12). Tale ruolo del microbiota nella patogenesi della SD è supportato da studi precedenti, nei quali era richiesta la presenza di vari batteri sinergici per lo sviluppo della SD in suini gnotobiotici (13). È interessante notare che durante il recente periodo di ri-emergenza della SD negli Stati Uniti, ci sia stata una tendenza verso diete contenenti quantità crescenti di sottoprodotti di produzione dell'etanolo, come *distillers dried grains with solubles* (DDGS), che sono una fonte di fibra alimentare insolubile prontamente disponibile. L'utilizzo di una dieta contenente il 30% di DDGS è risultato associato ad un minor tempo di insorgenza di SD e ad una maggiore incidenza complessiva della malattia dopo infezione sperimentale con *B. hyodysenteriae*, rispetto ai suini alimentati con diete contenenti lo 0% di DDGS (14). Inoltre, una tendenza simile, verso una più rapida insorgenza della malattia nei suini alimentati con un 30% DDGS, è stata osservata anche dopo l'infezione con "*B. hampsonii*" (14). Questi risultati suggeriscono ancora che la presenza di fibra nel colon possa aumentare l'espressione della SD, ma non è chiaro quali siano le caratteristiche della fibra (solubile rispetto insolubile e fermentescibilità) richieste. Inoltre si può ipotizzare che le alterazioni della flora batterica del colon associate alle varie diete, possano essere più importanti della sola formulazione della dieta. In generale, questi studi confermano l'importanza della composizione della dieta come fattore di rischio per lo sviluppo di SD e la dieta dovrebbe essere presa in considerazione nelle strategie di gestione della malattia.

I roditori selvatici (topi e ratti) possono veicolare *Brachyspira* spp. nel loro intestino (15) e sono un'importante fonte di potenziale trasmissione di agenti patogeni all'interno e tra allevamenti. Numerose specie di *Brachyspira*, tra cui *B. hyodysenteriae*, sono state isolate da roditori catturati in allevamenti di suini (16), e la derattizzazione continua ad essere parte integrante delle misure di biosicurezza efficaci per il controllo SD. Il ruolo di uccelli acquatici come fonte di trasmissione delle spirochete patogene tra allevamenti è supportato dal recente isolamento di "*B. suanatina*" dalle feci di anatre domestiche in Svezia (4) e di "*B. hampsonii*" dalle feci di uccelli migratori, tra cui oche in Canada (17) e anatre domestiche e oche selvatiche in Spagna (18). Ulteriori confronti genetici di isolati di *Brachyspira* di origine aviaria e da suini da diversi paesi potrebbero essere utili per valutare le omologie di questi isolati.

I reflui dell'allevamento possono rappresentare una fonte di infezione da *Brachyspira*

patogene (19) ed è particolarmente preoccupante in sistemi in cui vengono riciclati e riutilizzati durante le procedure di pulizia in allevamento. Un recente studio negli Stati Uniti ha rivelato che la sopravvivenza di *B. hyodysenteriae* in liquidi reflui è ridotta in presenza di un pH alcalino (> 8.0) e temperature elevate (> 30° C)(20).

Approcci diagnostici alle infezioni da *Brachyspira*

In generale, sono due i motivi principali per cui si richiede il test di ricerca di *Brachyspira*: 1) la conferma della malattia clinica in suini in accrescimento e 2) la sorveglianza nei riproduttori e/o delle fonti ambientali in allevamenti a rischio. Quando si scelgono i test diagnostici, vanno considerate sensibilità e specificità dei test selezionati; tuttavia, è essenziale ricordare che sensibilità e specificità analitiche non corrispondono a sensibilità e specificità diagnostiche. La specificità diagnostica si riflette nel valore predittivo positivo di un test, indipendentemente dalla sensibilità e dalla specificità analitica. Allo stesso modo, la sensibilità diagnostica è un riflesso del valore predittivo negativo di un test.

Per la conferma della malattia clinica (suini con tipica diarrea muco emorragica) il rilevamento delle spirochete è semplice e le differenze nel valore predittivo positivo delle varie tecniche di rilevazione (colture in terreni selettivi, PCR specie-specifiche) sono minime; tuttavia, la sensibilità diagnostica è più alta per l'esame colturale, siccome questo test non è limitato per particolari specie di *Brachyspira* e può quindi rilevare anche ceppi nuovi e ceppi atipici. Anche le lesioni macroscopiche e microscopiche in corso di SD sono utili per confermare la malattia clinica. Le lesioni sono limitate a cieco e colon e comprendono edema mesenterico da lieve a moderato del colon spirale, infiammazione della mucosa del colon, abbondante muco luminale, e quantità variabili di sangue. Le lesioni macroscopiche sono visibili all'apice del colon spirale, e campioni freschi di tali lesioni sono utili da prelevare e inviare al laboratorio per l'esame colturale per *Brachyspira*.

Sebbene non richiesto, può essere prelevato anche un campione mediante scraping della mucosa del colon interessata, per l'esame microscopico diretto per la ricerca di spirochete, oppure per l'esame colturale e la PCR. La conferma delle lesioni macroscopiche in istologia è utile per valutare la presenza di altri agenti o sindromi che possono contribuire alla sintomatologia clinica osservata. La dimostrazione di spirochete all'interno delle lesioni viene solitamente effettuata con l'ausilio della impregnazione argentea o della ibridazione in situ (21,22). Il rilevamento di spirochete patogene in campioni clinici è essenziale per una diagnosi definitiva di SD e la capacità di rilevare tali spirochete in campioni clinici dipende in gran parte del campione stesso. L'utilizzo di farmaci riduce di molto la probabilità di isolare spirochete, quindi i campioni per l'esame colturale devono essere ottenuti da animali non sottoposti a terapia, clinicamente infetti. I campioni devono essere mantenuti umidi e refrigerati durante il trasporto. I campioni di tessuto o di raschiato dalla mucosa del colon sono di altissimo valore diagnostico per la rilevazione delle spirochete, seguiti da feci fresche contenenti muco e sangue e tamponi rettali da suini con patologia clinica. Studi recenti suggeriscono inoltre che i campioni di saliva raccolti da box di suini con SD sono un'ulteriore matrice utile per il rilevamento di *Brachyspira* (23).

In molte aree del mondo, i programmi di sorveglianza per SD fanno molto affidamento sulle analisi basate su PCR per *B. hyodysenteriae* dalle feci. La SD può verificarsi anche a seguito dell'infezione da altre specie di *Brachyspira* fortemente beta-emolitiche, e questi modelli basati su PCR specifiche possono dare risultati falsi negativi. Inoltre, diversi studi hanno dimostrato che la sensibilità analitica (cioè la soglia di rilevazione) per il rilevamento *B. hyodysenteriae* è superiore utilizzando l'esame colturale con terreni selettivi rispetto alla PCR sulle feci (24,25). Pertanto, nella sorveglianza della SD, la sensibilità diagnostica del

metodo colturale selettivo dovrebbe essere superiore, non solo a causa delle differenze nella sensibilità analitica rispetto alla PCR, ma anche perché è in grado di rilevare specie nuove o non note SD-associate (come ad esempio “*B. hampsonii*” e “*B. suanatina*”). Infine, dati i problemi di gestione del campione fino al laboratorio, e data la possibile presenza di antibiotici dovuti al trattamento dell’animale, la vitalità delle spirochete può essere compromessa o ridotta, quindi un test eseguito in parallelo al metodo colturale, come la PCR, permette di avere la massima sensibilità diagnostica per la sorveglianza dell’infezione.

Trattamento e controllo della SD

Gli antibiotici comunemente usati per trattare la SD comprendono tiamulina, valnemulina, tilosina, e lincomicina. Di questi, le pleuromutiline (tiamulina e valnemulina) sono tra i più utilizzati, data la frequente presenza di resistenze a tilosina e lincomicina (2). La tiamulina è molto efficace nel trattamento della SD associata a isolati di *Brachyspira spp.*, ed è stata riportata l’eliminazione di *B. hyodysenteriae* dopo un trattamento di almeno 21 giorni con uno 0,006% di tiamulina nell’acqua (26). La risoluzione della diarrea è stata riportata già nelle prime 24 ore dopo un trattamento con uno 0,006% di tiamulina nell’acqua, con spirochete vitali non più rilevabili nelle feci dopo 72 ore dall’inizio del trattamento, in suini infettati sperimentalmente sia con *B. hyodysenteriae* che con “*B. hampsonii*” (27).

Purtroppo, viene però sempre più spesso riportata una resistenza alle pleuromutiline in isolati di *B. hyodysenteriae* da diversi paesi, tra cui Cecoslovacchia (28), Germania (29), Italia (30) e Spagna (31). Inoltre, questa resistenza sembra aumentare nel tempo e nelle allevamenti endemicamente infetti, suggerendo una selezione locale di cloni resistenti. Una recente analisi di isolati italiani suggerisce una diffusione transnazionale di *B. hyodysenteriae* resistente in tutta l’Europa (30). È interessante notare che potrebbe esser presente anche una certa variabilità geografica nello sviluppo della resistenza alle pleuromutiline: recenti studi in Polonia (32) e Giappone (33) riportano sensibilità degli isolati di *B. hyodysenteriae* a tiamulina e valnemulina, diversamente in Svezia (34) non è stata osservata resistenza alla tiamulina, anche se un recente studio ha rilevato un graduale aumento delle MIC della tiamulina nel tempo (35). Allo stesso modo, mentre gli isolati dagli Stati Uniti sono generalmente sensibili alla tiamulina, è stato osservato un lieve aumento della MIC₉₀, tra i valori riportati nel 1990 e quelli riportati nel 2011 (36). Di conseguenza, un uso corretto delle pleuromutiline è importante per limitare l’ulteriore sviluppo di resistenza delle *Brachyspira spp.* in tutto il mondo e la valutazione della MIC è fondamentale prima di iniziare il trattamento.

Con l’emergere di “*B. hampsonii*” in associazione alla SD in Nord America (9), e il suo rilevamento nei suini da Belgio (37) e Germania (38) e negli uccelli acquatici in Spagna (39), si è reso necessario valutare i pattern di sensibilità anche di questi isolati. Una recente indagine su isolati spagnoli di “*B. hampsonii*” da oche e anatre selvatiche ha rivelato che questi isolati sono sensibili a vari antibiotici, tra cui la tiamulina (39). Allo stesso modo, una recente indagine su specie di *Brachyspira* isolate durante la routine diagnostica negli Stati Uniti ha rilevato che “*B. hampsonii*” è sensibile sia a tiamulina che a valnemulina (40). Nonostante questi studi suggeriscono che molti isolati di “*B. hampsonii*” sono ancora sensibili alle pleuromutiline, tali ceppi hanno comunque la potenzialità di sviluppare resistenza nel tempo. Deve quindi essere garantito anche per questi isolati un uso corretto degli antibiotici, con un monitoraggio delle MIC nel tempo.

Le misure di controllo della SD dovrebbero prevedere una terapia antibiotica appropriata e l’eliminazione dei fattori di rischio ambientali attraverso il miglioramento di pulizia e biosicurezza. Anche lo spostamento di animali in terapia in un ambiente pulito e separato può essere utile nell’eliminazione della malattia. Il risanamento ambientale, con la rimozione di

tutto il materiale fecale contaminato è essenziale nelle strutture infette ed è risultato efficace anche un protocollo con lavaggio a pressione, disinfezione, e applicazione di soluzioni concentrate di calce sulle superfici ambientali (41). Il miglioramento della biosicurezza deve prevedere un rigoroso controllo dei roditori, l'isolamento da uccelli acquatici, e una riduzione delle entrate/uscite dall'allevamento di persone e veicoli. Dove possibile, una gestione all-in / all-out limita la diffusione dell'infezione e riduce il rischio di reinfezione nei suini trattati.

RIASSUNTO

Mentre la SD è stata riconosciuta come una malattia specifica dei suini per quasi un secolo, c'è ancora molto da chiarire circa la patogenesi della malattia e il ruolo della dieta e del microbiota del colon nello sviluppo e nell'espressione clinica della malattia. I test diagnostici per *Brachyspira* spp. si sono evoluti velocemente con il continuo sviluppo di strumenti diagnostici e analisi più specifici. I test più recenti possono migliorare la specificità della diagnosi eziologica e rivelano spesso relazioni epidemiologiche interessanti. Tuttavia, la specificità viene spesso ottenuta a costo della sensibilità. I test diagnostici per SD dovrebbero essere in grado di rilevare tutte le spirochete potenzialmente patogene e avere anche una sensibilità sufficiente per rilevare anche bassi livelli di spirochete, come quelli che possono essere escreti da animali portatori con infezione subclinica. Ad oggi la caratteristica comune a tutte le specie di *Brachyspira* associate con SD è la forte beta-emolisi su piastre di agar sangue, con la maggiore beta-emolisi come un indicatore sensibile del potenziale di indurre SD (7). Fino a quando un test molecolare non sarà in grado di identificare i geni di virulenza unici o altri bersagli genetici specifici universalmente presenti nelle spirochete SD-associate, la coltura su terreni selettivi continuerà a essere parte integrante della rilevazione di *Brachyspira* e della diagnosi di SD.

BIBLIOGRAFIA

1. Whiting RA, Doyle LP, Spray RS. Swine dysentery. *Purdue Univ Agric Exp Stn Bull* 1921;257:3-15.
2. Hampson DJ. Brachyspiral colitis In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, et al., eds. *Diseases of swine*. 10th ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, 2012;680 - 696.
3. Glock RD, Harris DL. Swine dysentery. II. Characterization of lesions in pigs inoculated with *Treponema hyodysenteriae* in pure and mixed culture. *Vet Med Small Anim Clin* 1972;67:65-68.
4. Råsbäck T, Jansson DS, Johansson KE, et al. A novel enteropathogenic, strongly haemolytic spirochaete isolated from pig and mallard, provisionally designated '*Brachyspira suanatina*' sp. nov. *Environ Microbiol* 2007;9:983-991.
5. Chander Y, Primus A, Oliveira S, et al. Phenotypic and molecular characterization of a novel strongly hemolytic *Brachyspira* species, provisionally designated "*Brachyspira hampsonii*". *J Vet Diagn Invest* 2012;24:903-910.
6. Burrough ER, Strait EL, Kinyon JM, et al. Comparison of atypical *Brachyspira* spp. clinical isolates and classic strains in a mouse model of swine dysentery. *Vet Microbiol* 2012;160:387-394.
7. Burrough ER, Strait EL, Kinyon JM, et al. Comparative virulence of clinical *Brachyspira* spp. isolates in inoculated pigs. *J Vet Diagn Invest* 2012;24:1025-1034.
8. Rubin JE, Costa MO, Hill JE, et al. Reproduction of mucohaemorrhagic diarrhea and colitis indistinguishable from swine dysentery following experimental inoculation with "*Brachyspira hampsonii*" strain 30446. *PLoS One* 2013;8:e57146.
9. Burrough ER. Swine dysentery - Re-emergence in the United States and Canada.

- Proceedings of the 6th International Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans, Guildford, UK. 2013;55-56.
10. Siba PM, Pethick DW, Hampson DJ. Pigs experimentally infected with *Serpulina hyodysenteriae* can be protected from developing swine dysentery by feeding them a highly digestible diet. *Epidemiol Infect* 1996;116: 207–216.
 11. Pluske JR, Durmic Z, Pethick DW, et al. Confirmation of the role of rapidly fermentable carbohydrates in the expression of swine dysentery in pigs after experimental infection. *J Nutr* 1998;128:1737-1744.
 12. Hansen CF, Hernández Á., Mansfield J, et al. A high dietary concentration of inulin is necessary to reduce the incidence of swine dysentery in pigs experimentally challenged with *Brachyspira hyodysenteriae*. *Br J Nutr* 2011;106:1506-1513.
 13. Whipp SC, Robinson IM, Harris DL, et al. Pathogenic synergism between *Treponema hyodysenteriae* and other selected anaerobes in gnotobiotic pigs. *Infect Immun* 1979;26:1042-1047.
 14. Wilberts BL, Arruda PH, Kinyon JM, et al. Investigation of the impact of increased dietary insoluble fiber through the feeding of distillers dried grains with solubles (DDGS) on the incidence and severity of *Brachyspira*-associated colitis in pigs. *PLoS One* 2014;9:e114741.
 15. Joens LA, Kinyon JM, Isolation of *Treponema hyodysenteriae* from wild rodents. *J Clin Microbiol* 1982;15:994-997.
 16. Backhans A, Johansson K, Fellström C. Phenotypic and molecular characterization of *Brachyspira* spp. isolated from wild rodents. *Environ Microbiol Rep* 2010;2:720-727.
 17. Rubin JE, Harms NJ, Fernando C, et al. Isolation and characterization of *Brachyspira* spp. including “*Brachyspira hampsonii*” from lesser snow geese (*Chen caerulescens caerulescens*) in the Canadian arctic. *Microb Ecol* 2013;66:813-822.
 18. Martínez-Lobo FJ, Hidalgo Á., García M, et al. First identification of “*Brachyspira hampsonii*” in wild European waterfowl. *PLoS One* 2013;8:e82626.
 19. Glock RD, Vanderloo KJ, Kinyon JM. Survival of certain pathogenic organisms in swine lagoon effluent. *J Am Vet Med Assoc* 1975;166:273-275.
 20. Schwartz T, Pittman JS, Kinyon JM, Hammer JM. Effect of waste environment on survival of *Brachyspira hyodysenteriae*. Proceedings of the 43rd Annual AASV Meeting, Denver, CO, USA. 2012;85-89.
 21. Boye M, Jensen TK, Møller K, et al. Specific detection of the genus *Serpulina*, *S. hyodysenteriae* and *S. pilosicoli* in porcine intestines by fluorescent rRNA *in situ* hybridization. *Mol Cell Probes* 1998;12:323-330.
 22. Burrough ER, Wilberts BL, Bower LP, et al. Fluorescent *in situ* hybridization for detection of “*Brachyspira hampsonii*” in porcine colonic tissues. *J Vet Diagn Invest* 2013;25:407-412.
 23. Warneke H, Kinyon JM, Burrough ER, et al. Use of oral fluids as a surveillance tool for *Brachyspira* in swine herds. Proceedings of the 6th International Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans, Guildford, UK. 2013;43.
 24. Råsbäck T, Fellström C, Gunnarsson A, et al. Comparison of culture and biochemical tests with PCR for detection of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli*. *J Microbiol Methods* 2006;66:347-353.
 25. Wilberts BL, Warneke HL, Bower LP, et al. Comparison of culture, polymerase chain reaction, and fluorescent *in situ* hybridization for detection of *Brachyspira hyodysenteriae* and “*Brachyspira hampsonii*” in pig feces. *J Vet Diagn Invest* 2015;27:41-46.
 26. Taylor DJ. Tiamulin in the treatment and prophylaxis of experimental swine dysentery. *Vet Rec* 1980;106:526–528.

27. Wilberts BL, Arruda PH, Warneke HL, et al. Cessation of clinical disease and spirochete shedding after tiamulin treatment in pigs experimentally infected with “*Brachyspira hamptonii*”. *Res Vet Sci* 2014;97:341-347.
28. Šperling D, Smola J, Čížek A. Characterisation of multiresistant *Brachyspira hyodysenteriae* isolates from Czech pig farms. *Vet Rec* 2011;168:215.
29. Rohde J, Kessler M, Baums CG, Amtsberg G. Comparison of methods for antimicrobial susceptibility testing and MIC values for pleuromutilin drugs for *Brachyspira hyodysenteriae* isolated in Germany. *Vet Microbiol* 2004;102: 25-32.
30. Rugna G, Bonilauri P, Carra E, et al. Sequence types and pleuromutilin susceptibility of *Brachyspira hyodysenteriae* isolates from Italian pigs with swine dysentery: 2003-2012. *Vet J* 2014; doi:10.1016/j.tvjl.2014.10.033.
31. Hidalgo Á, Carvajal A, Vester B, et al. Trends towards lower antimicrobial susceptibility and characterization of acquired resistance among clinical isolates of *Brachyspira hyodysenteriae* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:3330-3337.
32. Zmudzki J, Szczotka A, Nowak A, et al. Antimicrobial susceptibility of *Brachyspira hyodysenteriae* isolated from 21 Polish farms. *Pol J Vet Sci* 2012;15:259–265.
33. Uezato K, Kinjo E, Adachi Y. In vitro susceptibility of 21 antimicrobial agents to 37 isolates of *Brachyspira hyodysenteriae* isolated from pigs in Okinawa Prefecture. *J Vet Med Sci* 2004;66:307–309.
34. Karlsson M, Fellström C, Gunnarsson A, et al. Antimicrobial susceptibility testing of porcine *Brachyspira (Serpulina)* species isolates. *J Clin Microbiol* 2003;41:2596–2604
35. Pringle M, Landén A, Unnerstad HE, et al. Antimicrobial susceptibility of porcine *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli* isolated in Sweden between 1990 and 2010. *Acta Vet Scand* 2012;54:54.
36. Clothier KA, Kinyon JM, Frana TS, Naberhaus N, Bower L, Strait EL, Schwartz KJ. Species characterization and minimum inhibitory concentration patterns of *Brachyspira* species isolates from swine with clinical disease. *J Vet Diagn Invest* 2011;23:1140-1145.35.
37. Mahu M, de Jong E, De Pauw N, et al. First isolation of “*Brachyspira hamptonii*” from pigs in Europe. *Vet Rec* 2014;174:47.
38. Rohde J, Habighorst-Blome K, Seehusen F. “*Brachyspira hamptonii*” clade I isolated from Belgian pigs imported to Germany. *Vet Microbiol* 2014;168:432-435.
39. Martínez-Lobo FJ, Hidalgo Á, García M, et al. First identification of “*Brachyspira hamptonii*” in wild European waterfowl. *PLoS One* 2013;8:e82626.
40. Mirajkar NS, Gebhart CJ. Antimicrobial susceptibility patterns of *Brachyspira* species in U.S. swine herds. Proceedings of the 6th International Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans, Guildford, UK. 2013;53.
41. Burrough ER, Sexton C. Swine dysentery: Diagnostic criteria and elimination strategies. Proceedings of the 44th Annual AASV Meeting, San Diego, CA, USA. 2013;551–556.