

Udział *Pasteurella multocida* w wywoływaniu zespołu chorobowego układu oddechowego świń

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Zakład Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

Contribution of *Pasteurella multocida* to the porcine respiratory disease complex

Summary

The present study describes the role of *Pasteurella* (*P.*) *multocida*, in the multifactorial etiology of the porcine respiratory disease complex (PRDC). The losses due to PRDC are significant, particularly among weaners and finishers in middle-sized and large farms. They are connected with retarded growth and the necessity of eliminating some percentage of animals before the completion of the finishing process.

The primary etiological factors of PRDC are: the porcine respiratory and reproductive syndrome virus (PRRSV), *Mycoplasma hyopneumoniae*, the swine influenza virus (SIV), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), *Streptococcus suis*, type 2, and the pseudorabies virus. One of the most important secondary etiological factors of PRDC is *P. multocida*. That is why the mechanism of the pathogenicity of this facultatively pathogenic microorganism is described here. The capsular and somatic antigens, which characterize the most important pathogenic serotypes, i.e. A:3, A:5, and D:3, are discussed. However, even representatives of these serotypes do not demonstrate pathogenicity without other factors weakening the innate immunity of swine. These immunosuppressive factors include environmental deficiencies which decrease the welfare of the swine population, and the above-mentioned pathogens, which are the primary etiological agents of PRDC.

Despite controversial results concerning the importance of toxins of the *P. multocida* strains isolated from swine lungs, their contribution to the pathogenesis of PRDC can not be excluded. The role of the bacterial capsule and the ability of *P. multocida* (serotypes A and D) to attach themselves even to ciliated epithelial cells of the respiratory tract is of minor importance in explaining the participation of these microorganisms in the pathogenesis of PRDC, and further research is needed.

The study comments on the tests used for the identification of serotypes of *P. multocida*, important in the etiology of PRDC, the indirect, passive haemagglutination test being "the golden standard". However, at present this method is being increasingly replaced by PCR. Molecular typing of *P. multocida* strains is also performed by restriction enzyme digestion with or without subsequent hybridization with a standard probe or the sequencing of multiple loci of predominantly house-keeping genes. These modern methods contributed to a new perspective on the role of *P. multocida* in swine pneumonia: it came to be perceived as its secondary pathogenic agent rather than a major etiological factor. During the last decade these tests have also enabled the discovery of other, more important microorganisms, which would not have been possible earlier, when only classical diagnostic tests were used for identifying phenotypic properties of microorganisms. Segregated early weaning is the recommended method of preventing PRDC.

Keywords: *P. multocida*, PRDC

Enzootyczne zapalenie płuc świń (porcine enzootic pneumonia), obecnie częściej określane jako zespół chorobowy układu oddechowego świń (porcine respiratory disease complex, PRDC), zwane też, zwłaszcza dawniej, zapaleniem płuc wywołanym przez *Pasteurella multocida* (pneumonic pasteurellosis), jest schorzeniem o etiologii wieloczynnikowej. Występuje szczególnie często w średnio- i wielkotowarowych chlewniach u warchlaków i tuczników (24). Straty spowodowane w chowie świń z powodu PRDC są

ogromne ze względu na powszechność jego występowania. Związane są z utratą apetytu i w konsekwencji ze zmniejszonymi w okresie tuczu przyrostami masy ciała (m.c.) do stanów znacznego wyniszczenia organizmu włącznie, uzasadniającego eliminację takich zwierząt z tuczu przed uzyskaniem wagi rzeźnej. Główne objawy kliniczne to kaszel i przyspieszone oddychanie. Powszechność PRDC potwierdzają badania pośmiertne. Na zbadane w USA (24) 6634 świnię u 75% stwierdzono zmiany zapalne w płucach, a u 13%

zapalenie opłucnej. W innej publikacji wykazano w czasie oględzin poubojowych świń od 30% do 80% osobników ze zmianami zapalnymi w płucach (24).

Do najczęściej izolowanych czynników etiologicznych z przypadków PRDC od 10-22-tygodniowych świń zalicza się: wirus zespołu rozrodczo-oddechowego świń (PRRSV, Arteriviridae), *Mycoplasma hyopneumoniae*, wirus grypy świń (Orthomyxoviridae, SIV), zwłaszcza podtypu A/H1N1, A/H1N2 i A/H3N2, *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App), *Streptococcus suis* typ 2 i wirus choroby Aujeszky'ego (Herpesviridae) (29).

Wymienione drobnoustroje określane są obecnie jako pierwotne czynniki etiologiczne PRDC. Natomiast *Pasteurella multocida* uznawana jest za jeden z ważnych, ale dopiero wtórnie współdziałających w rozwoju zapalenia płuc i opłucnej, patogenów. Oznacza to zmianę wcześniejszego poglądu o jej głównej roli w etiologii enzootycznego zapalenia płuc świń (czyli PRDC), co nawet skłaniało do korzystania z podanej na wstępie nazwy „pneumonic pasteurellosis” (19, 24, 28).

Powyższe stwierdzenia oraz nowe dane dotyczące mechanizmu chorobotwórczości *Pasteurella multocida*, jak również postęp w zakresie identyfikacji szczepów tego drobnoustroju uzasadniają przedstawienie aktualnego piśmiennictwa na ten temat.

Pasteurella (P.) multocida (22) obejmuje trzy podgatunki: *P. multocida* podgatunek *multocida*, *P. multocida* podgatunek *gallicida*, *P. multocida* podgatunek *septica*.

U świń w przypadkach PRDC występuje podgatunek *multocida*, który w następującym tekście jest określony jak *P. multocida*. Drobnoustrój ten jest czynnikiem etiologicznym zakaźnego zanikowego zapalenia nosa świń (zzzn) oraz, jak wspomniano, jedną z istotnych wtórnych przyczyn wymienionego zespołu chorobowego.

Przy użyciu surowic typowo swoistych rozróżnia się u *P. multocida* 5 serotypów otoczkowych – A, B, D, E, F oraz 16 cyfrowo określanych serotypów somatycznych. U świń występują serotypy otoczkowe A, B i D, przy czym głównie A i D, w tym serotyp A najczęściej jako współuczestniczący w etiologii PRDC, przy wzrastającym znaczeniu serotypu D. Uwzględniając antygeny otoczkowe i somatyczne najczęściej stwierdzanymi serotypami są: A:3, A:5 i D:3 (24).

P. multocida, w przeciwieństwie do dawnych poglądów (19, 24, 28) bez dodatkowych czynników sprzyjających ujawnieniu chorobotwórczości, nie wywołuje samoistnie PRDC, co potwierdza fakt, że po eksperymentalnej infekcji parenteralnej jest szybko usuwana (clearance) z krwiobiegu (29).

Inaczej jest w przypadku cholery drobiu czyli pasterelozy ptaków (avian pasteurellosis). Chorobę tę wywołują jako pierwotny czynnik etiologiczny serotypy otoczkowe A, B, D, E, F *P. multocida* bez wcześniejszego udziału innych drobnoustrojów (26). Ana-

logiczna sytuacja ma miejsce w przypadku krwotocznej posocznicy (haemorrhagic septicaemia) bydła i bawołów, występującej w Azji i Afryce. Czynnikiem etiologicznym są szczepy *P. multocida* o antygenie otoczkowym B lub E i somatycznym 2 czyli B:2 oraz E:2 (1).

P. multocida powszechnie występuje w stadach świń, gdzie duży ich odsetek to bezobjawowi jego nosiciele. Namnażanie i chorobotwórczość następuje, kiedy obniża się u świń wrodzona (innate) odporność na zakażenie, reprezentowana przez płucne makrofagi (pulmonary alveolar macrophages) i występujące obok nich wielojądrowe leukocyty (polymorphonuclear leucocytes) (4, 8, 9, 20, 23, 32). Przyczyną są niekorzystne warunki chowu i/lub drobnoustroje o właściwościach immunosupresyjnych (31). Przy ich przewadze następuje przyspieszone namnażanie *P. multocida* i rozprzestrzenianie się w organizmie zwierzęcia. Ma również miejsce wydzielanie przez te drobnoustroje toksyn, które w szczególności uszkadzają komórki tkanki płucnej. Po wykazaniu przez Pijoana w 1984 r. (25) toksykogennych szczepów *P. multocida* izolowanych z płuc, również inni autorzy szczepy tego rodzaju izolowali z płuc tak serotypu A, jak też D. Kielstein (18) oraz Iwamatsu i Sawada (13) wyosobniali z płuc świń, zależnie od badanego stada, szczepy *P. multocida*, wytwarzające toksyny, od 25% do 45% badanych zwierząt. Podobnie Hoie i wsp. (10) wykazali, że 94% szczepów serotypu A i 90% szczepów serotypu B, izolowanych z przypadków zapalenia płuc u świń, było toksykogennych. Jednak Baekbo (2) twierdził, że wytwarzanie toksyn przez szczepy *P. multocida*, izolowane z przypadków zapalenia płuc świń nie było istotnym wskaźnikiem ich zjadliwości u świń, zakażanych eksperymentalnie w celu wywołania PRDC. Zgodnie z tym były wyniki Rubiesa i wsp. (27), którzy wśród 218 szczepów serotypu A lub D, wyosobnionych z zapalnie zmienionych płuc świń, nie wykazali izolatów toksykogennych. Mimo sprzecznych wyników cytowanych wyżej autorów wydaje się, że znaczenia toksyn *P. multocida* w patogenezie PRDC nie można wykluczyć.

Czynnikiem zjadliwości *P. multocida* jest otoczka, szczególnie w przypadku serotypu A. Okazała się bowiem pomocna w przeciwdziałaniu fagocytozie przez znajdujące się w pęcherzykach płucnych makrofagi. Zgodnie z danymi Maheswarana i Thiesa (21), fagocytoza pastereli mająca tam miejsce jest jednak niskiego stopnia, nawet w obecności opsonin. Dane te potwierdzili Fuentes i Pijoan (8) oraz Jacques i wsp. (15), nie oceniając znaczenia otoczki *P. multocida* jako czynnika patogenności szczególnie wysoko.

Zdolność łączenia się szczepów *P. multocida* z komórkami nabłonka dróg oddechowych, w tym zwłaszcza oskrzelików i pęcherzyków płucnych, jest warunkiem kolonizacji i ewentualnego namnożenia się ich w tym obszarze, co stanowi istotny warunek ujawnienia działania chorobotwórczego. Jak jednak wynikało z publikacji Jacquesa i wsp. (14), wywierana przez

pasterele zdolność zasiedlania się nawet w nabłonku urzęsionym nie była wysoka. Issacson i Trigo (12) wykazali, że niektóre szczepy posiadały *pili*, czyli analogiczne do fimbrii wyrostki na powierzchni komórki bakteryjnej, które mogą odgrywać rolę w łączeniu się pastereli z komórkami nabłonka dróg oddechowych. W podsumowaniu przedstawionych danych dotyczących roli otoczki, zdolności adhezji, a nawet toksyn szczepów *P. multocida* można stwierdzić, że patogeniza PRDC nie została dotychczas w stopniu dostatecznym wyjaśniona. Wymaga ona zatem dalszych badań. Pewne jest natomiast, iż w demonstrowaniu warunkowej chorobotwórczości pastereli istotną rolę odgrywa wspomniane uprzednio immunosupresyjne działanie innych drobnoustrojów.

Holko i wsp. (11), badając pośmiertnie próbki 98 świń z PRDC, wyizolowali 41 szczepów (44%) *P. multocida*, 38 szczepów (40,8%) *Actinobacillus pleuropneumoniae* i 27 szczepów (29%) *M. hyopneumoniae*. Najczęstsze wspólne występowanie odnosiło się do *M. hyopneumoniae* i *P. multocida*.

Udział *P. multocida* i/lub *Mycoplasma hyopneumoniae* w etiologii PRDC w latach 2003 i 2004 w USA przedstawia ryc. 1 (17). Nie uwzględnia ona udziału pierwotnie działających innych drobnoustrojów, które podobnie jak *M. hyopneumoniae* przyczyniają się do ujawnienia chorobotwórczości *P. multocida*.

Współzależności w patogenizie PRDC między poszczególnymi gatunkami patogenów prezentuje również następująca praca (3). Wykazano w niej, że cytotoksyny *App* unieczynniały makrofagi występujące w pęcherzykach płucnych, czego efektem było rozwinięcie chorobotwórczego działania bytujących w płucach, do tego momentu, niepatogennych pastereli.

Ze względu na to, że lochy są nosicielami bezobjawowymi szczepów *P. multocida*, uczestniczących w etiologii PRDC u warchlaków i tuczników oraz oprócz tego stanowiących główną przyczynę zakaźnego, zanikowego zapalenia nosa świń (zzzn) (16) zalecane jest w celach profilaktycznych w odniesie-

niu do potomstwa, u którego wymienione choroby występują, eliminowanie tego rodzaju loch z hodowli. Obok testów klasycznych, jak metody izolacji pastereli i określania ich cech fenotypowych, dostępne są obecnie diagnostyczne testy genotypowe. W procesie identyfikacji wskazane są porównania genomu szczepów wyosobnionych od loch z genomami szczepów referencyjnych *P. multocida*, stanowiącymi sprawdzone patogeny (6).

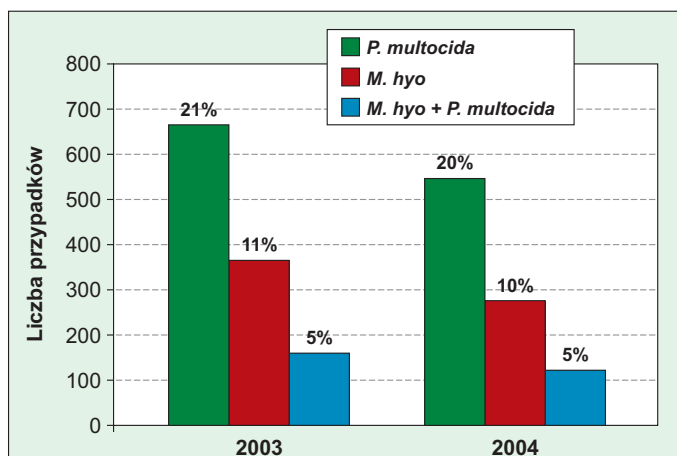
Zgodnie z danymi Dzivy i wsp. (5) oraz Ewersa i wsp. (7), przyjęte w podręcznikach znaczenie określonych serotypów *P. multocida*, jako odgrywających rolę w etiologii PRDC, może być obecnie niemiarodajne w związku z następującą w tym zakresie zmiennością. Mimo to, do chwili obecnej, test pośredniej biernej hemaglutynacji (indirect passive haemagglutination, IPHA) znajduje szerokie zastosowanie do identyfikacji antygenów otoczkowych tzw. serotypów chorobotwórczych. Słusznie jednak w związku z powyższą obserwacją (5) zaczyna wypierać go metoda identyfikacji oparta na polimerazowej reakcji łańcuchowej – PCR (30).

Do zalecanych testów genotypowych zalicza się gatunkowo swoisty PCR (species specific, PCR) ze swymi odmianami (6), uwzględniającymi różne geny, które kodują charakterystyczne dla szczepów *P. multocida* czynniki patogenne u poszczególnych gatunków zwierząt gospodarskich, w tym u świń. Duże znaczenie praktyczne zyskały zestawy identyfikujące (amplifikujące) geny, (*tox A*), które kodują toksynę *P. multocida* istotną w etiopatogenezie zzzn (6). Aktualnie praktyczne zastosowanie znajduje też do identyfikacji szczepów wywołujących zzzn zestaw ELISA, służący do wykrywania toksyny *P. multocida*, czyli *P. multocida* toxin ELISA (produkcji DAKO) (6).

Typowanie molekularne osiąga się też stosując: 1) analizę restrykcyjną z trawieniem z użyciem enzymów restrykcyjnych i hybrydyzacji z użyciem lub bez użycia standardowej sondy, 2) sekwencjonowanie określonych genów genoforu *P. multocida* (6).

W ograniczaniu częstości występowania PRDC zastosowanie znalazły programy zmierzające do uzyskania świń wolnych zwłaszcza od *M. hyopneumoniae*. Jednakże napotyka się na trudności eliminowania szczepów *P. multocida* z górnych dróg oddechowych. Ponieważ ich działanie chorobotwórcze wyzwalają oprócz *M. hyopneumoniae* również inne drobnoustroje immunosupresyjne, eliminacja mykoplazm nie gwarantuje obniżenia zachorowalności na PRDC (24).

Bardziej skuteczna w tym względzie okazała się strategia chowu świń w stadach o wysokim standardzie zdrowia przez łączenie zasady segregacji potomstwa z wczesnym odsadzaniem (segregated early weaning). Niestety, efekt jest połowiczny, gdyż następuje często jedynie przesunięcie występowania PRDC do późniejszego okresu chowu warchlaków przy udziale *M. hyopneumoniae* jako czynnika pierwotnego i *P. multocida* jako wtórnego patogena (24).



Ryc. 1. Przypadki zapalenia płuc związane z *P. multocida* i/lub *M. hyopneumoniae* oraz odsetek przypadków reprezentowanych przez każdą grupę (17)

W konkluzji: porównując przedstawione w niniejszej publikacji dane z opiniami prezentowanymi w latach sześćdziesiątych ubiegłego stulecia można stwierdzić, że aktualna ocena znaczenia *P. multocida*, jako przyczyny strat produkcyjnych w chowie świń, różni się istotnie od wtedy prezentowanej. Drobnoustroj ten uznawano bowiem dawniej za najważniejszy zakaźny czynnik etiologiczny enzootycznego zapalenia płuc u świń (19, 24, 28), czemu przeczą aktualne wyniki badań, wskazujące na nadrzędne znaczenie szeregu immunosupresyjnych drobnoustrojów.

Zmiana poglądów w odniesieniu do znaczenia *P. multocida* jako przyczyny strat w chowie świń związana jest przede wszystkim z rozwojem technik diagnostyki laboratoryjnej, z zastosowaniem osiągnięć biologii molekularnej i genetyki. Nowe metody pozwoliły bowiem na wykazanie obecności w populacji trzody chlewnej wielu innych wymienianych patogenów, odgrywających większą niż *P. multocida* rolę w etiologii PRDC, których wcześniej od padłych świń nie izolowano.

Piśmiennictwo

1. Alvin M. C. L. de: Haemorrhagic septicaemia – a general review. Br. Vet. J. 1992, 148, 99-112.
2. Baekbo P.: Pathogenic properties of *Pasteurella multocida* in the lungs of pigs. Proc. Int. Congr. Pig. Vet. Soc. 1988, 10, 58.
3. Chung W.-B., Bäckström L., McDonald J., Collins M. T.: Actinobacillus pleuropneumoniae culture supernatants interfere with killing of *Pasteurella multocida* by swine pulmonary alveolar macrophages. Can. J. Vet. Res. 1993, 57, 190-197.
4. Couch R. B.: The effects of influenza on host defenses. J. Infect. Dis. 1981, 144, 284-291.
5. Dziva F., Christensen H., Olsen J. E., Mohan K.: Random amplification of polymorphic DNA and phenotypic of Zimbabwean isolates of *Pasteurella multocida*. Vet. Microbiol. 82, 2001, 361-372.
6. Dziva F., Muhairwa A. P., Bisgaard M., Christensen H.: Diagnostic and typing options for investigating diseases associated with *Pasteurella multocida*. Vet. Microbiol. 2008, 128, 1-22.
7. Ewers C., Lubke-Becker A., Bethe A., Kiessling S., Filter M., Wieler L. H.: Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. Vet. Microbiol. 2006, 114, 304-317.
8. Fuentes M., Pijoan C.: Phagocytosis and intracellular killing of *Pasteurella multocida* by porcine alveolar macrophages after infection with pseudorabies virus. Vet. Immunol. Immunopathol. 1986, 13, 165-172.
9. Green G. M., Jakab G. J., Low R. B., Davis G. S.: Defense mechanisms of respiratory membrane. Am. Rev. Respir. Dis. 1977, 115, 479-514.
10. Hoie S., Falk K., Liim B. M.: An abattoir survey of pneumonia and pleuritis in slaughter weight swine from 9 selected herds. IV. Bacteriological findings in chronic pneumonic lesions. Acta Vet. Scand. 1991, 32, 395-402.
11. Holko I., Urbanova J., Holkova T., Kmet V.: Diagnostics of main bacterial agents of porcine respiratory diseases complex (PRDC) using PCR detection of *Mycoplasma hyopneumoniae*. Vet. Med. – Czech 2004, 49, 35-41.
12. Issacson R. E., Trigo E.: Pili of *Pasteurella multocida* of porcine origin. FEMS Microbiol Letters 1995, 132, 247-251.
13. Iwamatsu S., Sawada T.: Relationship between serotypes, dermonecrotic toxin production of *Pasteurella multocida* isolates and pneumonic lesions of porcine lungs. Jpn J. Vet. Sci. 1988, 50, 1200-1206.
14. Jacques M.: Adherence of *Pasteurella multocida* to porcine upper respiratory tract cells. Current Microbiol. 1987, 15, 115-119.
15. Jacques M., Belanger M., Diarra M. S., Dargis M., Malouin F.: Modulation of *Pasteurella multocida* capsular polysaccharide during growth under iron-restricted conditions and in vivo. Microbiol. 1994, 140, 263-270.
16. Jong M. F. de: Progressive and nonprogressive atrophic rhinitis, [w:] Straw B. E., Zimmerman J. J., D'Allaire S., Taylor D. J.: Diseases of Swine. 9th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA 2006, 577-602.
17. Jordan D., Hoffman L., Thacker E.: *Pasteurella multocida* as a component of porcine respiratory disease complex (PRDC). Porc. Am. Assoc. Swine Vet. 2006, s. 149-152.
18. Kielstein P.: On the occurrence of toxin-producing *Pasteurella multocida* strains in atrophic rhinitis and in pneumonias of swine and cattle. J. Vet. Med. (B) 1986, 33, 418-424.
19. Kielstein P., Martin J., Janetschke P.: Experimentelle *Pasteurella multocida*-Infektionen beim Schwein als ein Beitrag zur Ätiologie der enzootischen Pneumonie des Schweines. Arch. exper. Vet. Med. 1977, 31, 609-619.
20. Little T. W., Harding J. D.: The interaction of *Haemophilus parahemolyticus* and *Pasteurella multocida* in the respiratory tract of the pig. Br. Vet. J. 1980, 136, 371-383.
21. Maheswaran S., Thies E.: Influence of encapsulation on phagocytosis of *Pasteurella multocida* by bovine neutrophils. Infect. Immun. 1979, 26, 76-81.
22. Mutters R., Christensen H., Pasteur L.: *Pasteurella*, [w:] Brenner D. J., Krieg N. R., Staley J. T., Garrity G. M. (ed): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer, New York 2005, 1, 857-866.
23. Nickerson C. L., Jakab G. J.: Pulmonary antibacterial defenses during mild and severe influenza virus infection. Infect. Immun. 1990, 58, 2809-2814.
24. Pijoan C.: Pneumonic Pasteurellosis, [w:] Straw B. E., Zimmerman J. J., D'Allaire S., Taylor D. J.: Diseases of Swine. 9th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA 2006, 719-726.
25. Pijoan C., Lastra A., Ramirez C., Leman A.: Isolation of toxigenic strains of *Pasteurella multocida* from lungs of pneumonic swine. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1984, 185, 522-523.
26. Rimler R. B., Glisson J. R.: Fowl cholera, [w:] Calnek B. W., Barnes H. J., Beard C. W., Mc Dougald C. R., Saif J. M. (eds.): Diseases of Poultry. 10th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA 1997, 143-159.
27. Rubies X., Casal J., Fernandez J., Pijoan C.: Transmission of *Pasteurella multocida* clones in a swine pyramid structure. Proc. Int. Congr. Pig Vet. Soc. 1996, 14, 243.
28. Terseszczuk S.: Znaczenie ekonomiczne pasterelez w Polsce. Medycyna Wet. 1965, 21, 156-158.
29. Thacker E. L., Thacker B. J., Janke B. H.: Interaction between *Mycoplasma hyopneumoniae* and swine influenza virus (SIV). J. Clin. Microbiol. 2001, 39, 2525-2530.
30. Townsend K. M., Boyce J. D., Chung J. Y., Frost A. J., Adler B.: Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. J. Clin. Microbiol. 2001, 39, 924-929.
31. Truszczyński M., Pejsak Z.: Immunosupresja jako przyczyna chorób świń o etiologii wieloczynnikowej. Medycyna Wet., w druku.
32. Wilkie B. N.: Respiratory tract immune response to microbial pathogens. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1982, 181, 1077-1079.

Adres autora: prof. dr hab. Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl