

## PLEUROPNEUMONIA IN PIGS IN FARM CONDITIONS

M. Zutic<sup>1</sup>, V. Ivetic<sup>1</sup>, Jadranka Drezga<sup>1</sup>, Z. Markic<sup>2</sup>, S. Mrenoski<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Veterinary Scientific Institute of Serbia – Belgrade, Yugoslavia

<sup>2</sup> Veterinary Institute Skopje, Macedonia

<sup>3</sup> Faculty of Veterinary Medicine Skopje, Macedonia

## ПЛЕУРОПНЕВМОНИЈА КАЈ СВИЊИ ВО ФАРМСКИ УСЛОВИ

М. Жуџиќ<sup>1</sup>, В. Иветиќ<sup>1</sup>, Јадранка Дрезга<sup>1</sup>, З. Маркиќ<sup>2</sup>, С. Мреношки<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Научен институт за ветеринарство на Србија-Белград, Југославија

<sup>2</sup> Ветеринарен институт Скопје, Македонија

<sup>3</sup> Ветеринарен факултет Скопје, Македонија

### SUMMARY

The paper describes pleuropneumonia in pigs in farm conditions. The disease occurs after decreasing of the outside temperature and affect piglets in technological phase of prefattening, with body weight of around 30-kg. Approximately 30% of the total number (450) of the animals were affected and intensity of clinical signs depended of the form of appearance (acute or peracute). Pneumonia, as a presumptive diagnose, were establish according to anamnestic data and the clinical signs in the affected piglets. Pathomorphological findings were typical for pleuropneumonia. *Actinobacillus pleuropneumoniae* was isolated in 9, of 12 inoculated lung samples. The aethyological agent was identified according to microscopic appearance, cultural characteristics and biochemical properties of the isolated strains. In the paper, the procedure for isolation and identification of *A. pleuropneumoniae* is described. Antimicrobial susceptibility test was performed with all isolated strains and according to the results, appropriate therapy was administrate at all animals in the object. The disease, in relative short time, was successfully cured.

**Key words:** pleuropneumonia, pig, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, isolation, identification, antimicrobial susceptibility testing, therapy.

### РЕЗИМЕ

Во трудот е опишана актинобациларната плеурупневмонија кај свињи, во фармски услови на одгледување. Болеста се појави непосредно после промената на атмосферските услови (пад на надворешната температура) и ги афектира прасињата во технолошката фаза на предтовот, со тежина од околу 30 кг. Од 450 прасиња изложени на инфекцијата, забелеа околу 30%. Интензитетот на клиничките симптоми варираше од животно до животно, во зависност од тоа дали се работеше за акутна или перакутна форма. Према анамнестичките податоци и клиничкиот преглед, беше поставено сомневање на пневмонија. Патолошко-морфолошкиот наод беше типичен за плеурупневмонија. Со бактериолошко испитување, *Actinobacillus pleuropneumoniae* беше изолиран кај 9, од вкупно 12-те засадени мостри на бели дробови. Предизвикувачот беше идентифициран на основ на микроскопскиот изглед, културелните карактеристики и биохемиските особини на изолираните соеви. Во трудот е опишана процедурата на изолација и идентификација на *A. pleuropneumoniae*. Испитана беше и осетливоста на причинителот на повеќе антибиотици и врз основа на тие резултати превземена е соодветна терапија на сите животни во објектот. Болеста, после релативно кратко време, беше успешно санирана.

**Клучни зборови:** плеурупневмонија, свиња, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, изолација, идентификација, антибиограм, терапија.



## INTRODUCTION

Pleuropneumonia is a highly contagious disease, caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* (synonyms *Haemophilus parahaemolyticus*, *H. pleuropneumoniae*), that can occur in peracute, acute and chronic form with pathomorphological findings of focal haemorrhagic and necrotic pneumonia and fibrinous pleuritis. This disease was first described in 1957<sup>11</sup>, following by a lot of reports that describe the disease and characterise the causative agent.<sup>6,12,7,9,3,14,1,5,15,4</sup>

Pleuropneumonia is disease in pigs that is spread worldwide. The incidence and economical importance are permanently increased as the result of intensification of industrial pig production. Factors that have influence at economical losses are significant reduce of daily growth, the costs of therapy and mortality. The pigs of all categories can be affected with high morbidity and high mortality. Stress, changes in temperature, high relative humidity, sufficient ventilation, high concentration of harmful gases and a large number of animals, favorize the occurrence of this disease.<sup>16</sup>

Sources of the infection are sick or latent infected animals, with aerogenic transmission of the infection between and inside the flocks. In acute cases, infection is transmitted rapidly direct, by aerosols, or indirect, by contaminated exudates. Pigs in big agglomerations, particularly, are exposed at big risk of infection. Depending of the form of appearance, the clinical symptoms are high temperature, apathy, anorexia and strong respiratory signs (dyspnoea, coughing and moist-respiration). The skin at nose and ears, and later at all body, became cyanotic. Also, there is possibility of haemorrhagic discharges from the nose and mouth.

The causative agent of the pleuropneumonia in pigs is *A. pleuropneumoniae*. Until now, there have been discovered 12 serovars and 2 biovars (5A and 5B) of this microorganism.<sup>2</sup> The serovars are determined by capsular polysaccharide and cellular lipopolysaccharide. It is significant to mention that the distribution of serovars is connected with certain localities.<sup>13,4</sup> Virulence factors that *A. pleuropneumoniae* possesses, are capsule, endotoxin, and egzo-

## БОБЕД

Плеуропневмонијата е високо контагиозна болест предизвикана од *Actinobacillus pleuropneumoniae* (синоними *Haemophilus parahaemolyticus*, *H. pleuropneumoniae*), која може да се појави во перакутна, акутна и хронична форма со патолошко-анатомски наод на фокална хеморагично-некротична пневмонија и фибринозен плевритис. Болеста е за прв пат опишана 1957-та година<sup>11</sup>, после што се објавени многу трудови кои ја опишуваат самата болест и го карактеризираат предизвикувачот.<sup>6,12,7,9,3,14,1,5,15,4</sup>

Плеуропневмонијата е болест кај свињите раширена низ целиот свет. Појавувањето и економската важност постојано се зголемуваат како резултат на интензивирањето на индустриското производство на свињи. Фактори кои имаат влијание на економските губитоци се сигнификантното смалување на дневниот прираст, трошоците на терапијата и угинувањето на животните. Свињите од сите категории можат да бидат афектирани, со висок степен на морбидитет и морталитет. Стресот, температурните промени, високата релативна влажност, смалената вентилација, големата концентрација на штетни гасови и големиот број на животни се фактори кои го фаворизираат појавувањето на болеста.<sup>16</sup>

Извори на инфекцијата се болни или латентно инфицирани животни а пренесувањето помеѓу и во самите стада, е аерогено. Кај акутните случаи, инфекцијата се пренесува директно, со аеросоли или индиректно, со контаминирани ексудати. Свињите во големите агломерати се нарочито изложени на ризик од заболување. Во зависност од клиничката форма на појавување, болеста се манифестира со висока температура, апатија, анорексија и силно истакнати респираторни пореметувања (диспноја, кашлање и дишење на уста). Кожата на носот и ушите, а покасно и на целото тело, станува цијанотична. Исто така можна е и појава на хеморагичен исцедок од носот.

Предизвикувачот на плеуропневмонијата кај свињите е *A. pleuropneumoniae*. До сега се откриени 12 серовари и 2 биовари (5A и 5B) од овој микроорганизам.<sup>2</sup> Припадноста на поедини серовари ја одредуваат капсу-



toxins marked as Apx I, Apx II and Apx III. These toxins determine 4 models of toxicity for all 12 serovars. It is established that lipopolysaccharid, except his activity as endotoxin, act as adhesin too, which, besides fimbrias, is responsible for adhesion of bacterium at tracheal rings.

As a major condition for the successfully isolation and cultivation of the *A. pleuropneumoniae*, is presence of the factor V (Nicotinamid-dinucleotid, NAD) in the isolation medium. The absens of this factor, could be a reason for negative bacteriological findings in routine work with this bacterium.

## MATERIALS AND METODS

On one farm, the sings of pneumonia occur in the phase of prefattening, at piglets with around 30-kg weight. Total of 450 piglets were in the object and the clinical signs were seen in, approximately, 30% of all animals. The signs includes respiratory disturbances (coughing and dispnoe), febrile state, apathy, the absens of appetite and permanent lying on the floor. Haemorrhagic discharges from nose were recorded in a few animals only.

In the first days of the outbreak, 17 animals were died and necropsy was performed at all of them. The dominant pathomorphological findings were sharply limited necrotic focuses in diaphragmatic lobules of lungs. In some cases, pneumonic changes were more voluminous and the part of lung's parenchym was change, too. Almost regularly, there was presence of the fibrinous pleuritis. Mediastinal lymphnodes were enlarge and haemorrhagic. From the other organs, the changes were recorded on the pericard, as a fibrinous or adhesive pericarditis.

For the laboratory investigation, samples (parts of the lung with changes, material from the liver, kidneys and spleen) were taken from 12 animals.

The lung samples were cultivated on the sheep blood agar (with 10% sheep blood) with *Staphylococcus epidermidis* as a source of the factor V, and on the chocolate agar with added PoliVitex (55652, bioMerieux). The sheep blood agar was inoculated

ларниот полисахарид и целуларниот липополисахарид. Значајно е да се спомене дека дистрибуцијата на сероварите е поврзана за одредени локалитети.<sup>13,4</sup> Вирулентите фактори кои *A. pleuropneumoniae* ги поседува се капсулата, ендотоксинот и егзотоксините означени како *Apx I*, *Apx II* и *Apx III*. Овие токсини одредуваат 4 модели на токсичност за сите 12 серовари. Исто така е востановено дека липополисахаридот, покрај тоа што делува како ендотоксин, делува и како адхезин кој покрај фимбриите е одговорен за адхезијата на бактеријата на трахеалните прстени.

Како главен предуслов за успешна изолација и култивирање на *A. pleuropneumoniae* е присуството на факторот V (Nicotinamid-dinucleotid, NAD) во подлогата за изолација. Отсуството на овој фактор може да биде причина за негативен бактериолошки наод при рутинската изолација на *A. pleuropneumoniae*.

## МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

Пратејќи ја здравствената ситуација на една свињарска фарма, приметени се знаци на пневмонија во фазата на предтов, кај прасиња со тежина од околу 30 килограми. Во објектот беа вкупно 450 прасиња а клиничките знаци беа приметени кај приближно 30% од животните. Знаците вклучуваа респираторни пореметувања (кашлање и отежнато дишење), фебрилна состојба, апатија, отсуство на апетит и лежење на подот. Хеморагичен исцедок од носот беше приметен само кај неколку животни.

Во првите неколку дена од појавата на болеста, 17 животни угинаа и врз сите нив беше извршена обдукција. Доминантен патолошко-анатомски наод беа строго ограничени некротични жаришта на дијафрагматските лобуси од белите дробови. Во некои случаи, промените на плуќата беа поопсежни така што беше зафатен поголем дел од плуќниот паренхим. Скоро редовно имаше и присуство на фибринозен плеурит. Медијастиналните лимфни јазли беа зголемени и хеморагични. Од останатите органи промени имаше на перикардот во вид на фибринозен или адхезивен перикардит.

За лабораториско испитување, мостри (променети делови од белите дробови, мате-



first with the lung's tissue directly onto the whole surface of the medium and after that with a streak of *S. intermedius* in the middle of the plate.

The lung samples were also cultivated on the sheep blood agar, but without staphylococcal streak. On the same way also, were inoculated the samples from the liver, kidneys and spleen.

Inoculated plates were incubated at 37°C in aerobic conditions.

## RESULTS

After 24 hours of incubation, the characteristic phenomenon of satellitism (Fig.1), was recorded on the 9, of 12 inoculated sheep blood mediums. Small colonies, in pure culture, were appeared along to the staphylococcal streak, and peripheral of the strike the size of the colonies was decreased. This phenomenon confirm dependency for growth from the factor V, of the isolated cultures.

ријал од црниот дроб, бубрезите и слезината) беа земени од 12 животни.

Мострите од белите дробови беа култивирани на крвен агар (со 10% овнујска крв) заедно со *Staphylococcus epidermidis* како извор на факторот V, и на чоколаден агар со додаден *PolyVitex* (55652, bioMerieux). Крвниот агар беше инокулиран прво со плуќното ткиво, директно на целата површина на подлогата а потоа беше инокулиран *S. epidermidis*, во форма на права линија по средината од плочата.

Мострите од белите дробови беа исто така засадени на крвен агар, но без инокулиран стафилокок. На истиот начин беа засадувани и материјалите од црниот дроб, бубрезите и слезината.

Инокулираните плочи беа инкубирани на 37°C во аеробни услови.

## РЕЗУЛТАТИ

После 24 часа инкубација, карактеристичниот феномен на сателитизам (фиг. 1)

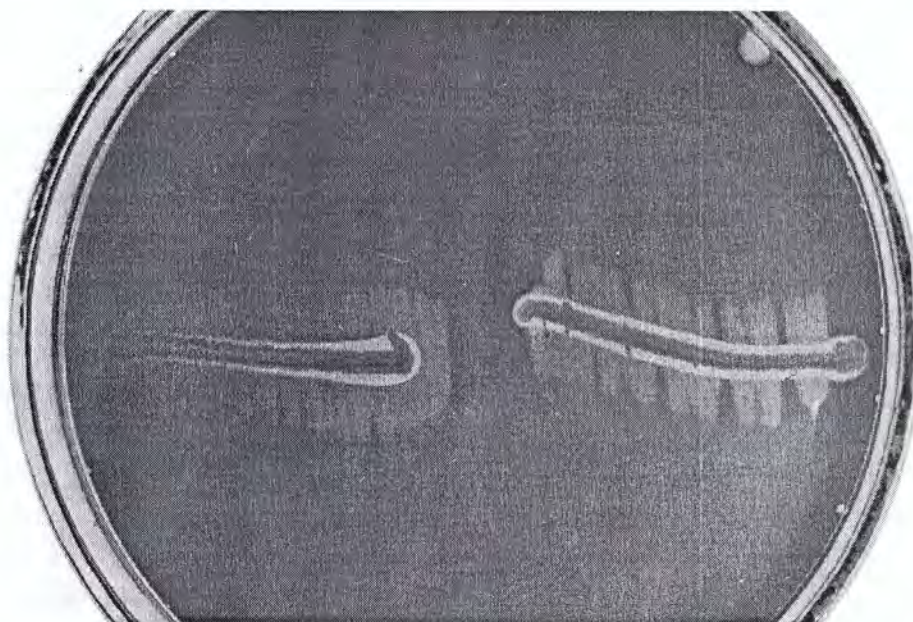


Fig.1: Characteristic phenomenon of satellitism – growth of *A. pleuropneumoniae* along to the staphylococcal streak



Appearance of the grayish colonies was recorded on the chocolate agar. This medium was used for the subcultivation and storage of the primary isolated strains, too.

Beta haemolysis on the blood sheep agar, and positive CAMP test, were recorded in all isolated strains. Hydrolysis of urea, glucose and reduction of nitrates were positive, too. In the Gram stained smears, small, Gram-negative coccobalilar forms were seen.

Cultivated sheep blood agars without staphylococcal streak, were incubated 48 hours and there was no visible growth at all inoculated plates.

Antimicrobial susceptibility test (disk diffusion method on the chocolate agar) was performed with all isolated strains. High degree of sensibility was recorded on penicillin, tetracycline, gentamicin, streptomycin, lincomycin-spectinomycin and enrofloxacin.

## DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Pneumonia, as a presumptive diagnose, were establish according to anamnestic data and the clinical signs in the affected piglets. Pathomorfological findings confirm pleuropneumonia, which were leading to *A. pleuropneumoniae* as aetiological agent. According to this fact, this bacterium was the aim of the bacteriological investigation. *Actinobacillus pleuropneumoniae* was isolated in 9, of 12 inoculated lung samples (75%), which was confirmed with microscopic appearance, cultural characteristics and biochemical properties of the isolated strains. All strains were isolated in pure culture that was indication for pleuropneumonia, although the *A. pleuropneumoniae* can occur together with other aetiological agents (bacteria, viruses or mycoplasmas).

The source of the infection was not established, although we assumed that the reason of the outbreak was asymptomatic carrier. Large number of animals and poor microclimatic conditions, were the favorizing factors for spread of disease at aerogenic way.

беше забележан кај 9, од 12-те инокуирани крвни подлоги со стафилокок. Мали колонии, во чиста култура, беа израснати долж засадениот стафилокок и периферно од него големината на истите се смалуваше. Со овој феномен е докажана зависноста на растот на изолираните култури од факторот V.

На чоколадниот агар беше забележан богат раст на сивкасти колонии. Оваа подлога беше употребена и за супкултивирање и чување на примарно изолираните соеви.

Бета хемолиза и позитивен CAMP тест беа востановени кај сите изолирани соеви. Позитивни беа и биохемиските тестови на разлагање на уреата, глукозата и редукцијата на нитратите. Во препаратите обоени по Грам, се гледаа мали Грам-негативни кокобациларни бактерии.

На сите култивирани крвни агари без стафилокок, кои беа инкубирани 48 часа, немаше видлив раст на колонии.

Тестот за испитување на осетливоста на антибиотици (диск дифузион метод на чоколаден агар) беше изведен со сите изолати. Висок степен на осетливост беше востановена на пеницилин, тетрациклин, гентамицин, стрептомицин, линкомицин-спектиномицин и енрофлоксацин.

## ДИСКУСИЈА И ЗАКЛУЧОЦИ

Према анамнестичките податоци и клиничката слика кај заболените прасиња, беше поставено сомневање на пнеумонија. Со карактеристичниот патоанатомски наод беше докажана плеуропневмонија што упатуваше на *A. pleuropneumoniae* како етиолошки агенс. Со оглед на овој факт, оваа бактерия беше и цел на бактериолошкото испитување. *A. pleuropneumoniae* беше изолиран кај 9, од 12-те засадени мостри на бели дробови (75%), што беше потврдено со микроскопскиот изглед, културелните карактеристики и биохемиските особини на изолираните соеви. Сите соеви беа изолирани во чисти култури што укажуваше на појавата на актинобациларна пневмонија во запатот. Ова го спомнуваме поради фактот што *A. pleuropneumoniae* може да се јави не само како самостален етиолошки фактор туку и заедно со други бактерии, вируси и микоплазми.



Considering to the fact that disease was occur in period when was changes of the outside temperature, the stress, as a provocative factor should be taken too. It should be note and the fact, that this technological group of piglets has disposition to this disease.

Therapy was administrated according to the results from the antimicrobial susceptibility testing in the whole object with Ampicillin, that was aplicated per orally 7 days. In the piglets, were the symptoms were more expressed, therapy with Penicillin and Lincomycin-Spectinomycin was aplicated individually. Besides established high susceptibility of the isolated strains, it should be note that long-term administration of the antibiotics can induce multiple drug resistance in this agent.

After administration of therapy and technological improvements (ventilation), the disease was successfully cured.

Изворот на инфекција не беше откриен, но претпоставка е дека се работи за асимптоматски клиноносител. Големiot број на животни и лошите микроклиматски услови беа фаворизирачки фактори во ширењето на болеста по аероген пат. Со оглед на фактот дека болеста се појави во време на промена на надворешната температура, исто така треба да се земе во предвид и стресот како провокативен фактор. На крајот треба да се напомене и диспозицијата на оваа технолошка група на прасиња према пелуропневмонијата.

Терапијата беше спроведена, спрема резултатите од антибиограмот, во целиот објект со ампицилин кој беше аплициран перорално 7 дена. Кај прасињата со потешка клиничка слика, терапијата беше поединечна со пеницилин и линкомицин-спектиномицин. И покрај востановената висока осетливост на изолираните соеви према користените антимикробните средства, треба да се напомене дека долготрајната администрација на антибиотици создава предуслови за појава на мултипла антимикробна резистенција кај овој причинител.

После применетата терапија и скромните технолошки подобрувања (подобро вентилација) болеста беше успешно санирана.

## REFERENCES

1. Bilic, V., M. Karlovic, M. Zutić, Z. Lipej: *Praxis veterinaria*, 31, (1-3) 37, 1983.
2. Frey, J.: *Trends in Microb.* 3, 257-261, 1995.
3. Hajsig, D. M. Herceg, T. Naglic, I. Vrbanc: *Vet. arhiv* 50, (5) 239, 1980.
4. Ivetic V., M. Zutić, S. Romanic, D. Valter, Jadranka Drega: *Zbornik kratkih sadržaja radova 9. Savetovanja veterinara Srbije*, 107, Zlatibor, 1996.
5. Knezevic, N.T., M.M. Jovanovic: *Vet. glasnik* 42 (11-12) 753-756, 1988.
6. Matthews, P.R.J., I.H. Pattison: *J. Comp. Path.* 71, 44, 1961.
7. Nicolet, J., H. König: *Path. microb.* 29, 301, 1966.
8. Nicolet, J.: *Can. Vet. J.* 29, 578-580, 1988.
9. Nielsen, R.: *Nord. Vet. Med.* 22, 246, 1970.
10. Nielsen, R.: *Can. Vet. J.* 29, 580-582, 1988.
11. Pattison, I.H., D.G. Howell, J. Eliot: *J. Comp. Path.* 67, (4) 320, 1957.
12. Shope, R.E.: *J. Exp. Med.* 119, 357, 1964.
13. Suzuki, S., K. Ohmae, K. Ohishi, M. Muramatsu, T. Takahashi: *Jap. J. Vet. Science* 51, (2) 450-452, 1989.
14. Šenk, L., J. Mehle, O. Böhm: *Vet. glasnik* 36, (2) 133, 1982.
15. Zutić, M., Erski-Biljic Milanka, A. Loncarevic, Maslovacic Ljiljana: *Zbornik kratkih sadržaja radova V. Savetovanja veterinara Srbije*, 113, Kopaonik, 1992.
16. Zutić, M., V. Ivetic, D. Valter, Jadranka Drega: *Contributions to the Actinobacillus pleuropneumoniae in swine. The 7<sup>th</sup> National Congress of Veterinary Medicine* 103, Romania, 1997.