

Effet de l'âge du porc sur l'infection expérimentale à *Streptococcus suis*, sérotype 2

Florence BERTHELOT-HÉRAULT (1), J. L. JOBERT (2), Marylène KOBISCH (1)

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
Laboratoire Central de Recherches Avicoles et Porcines - B. P. 53, 22440 Ploufragan

(1) Unité Mycoplasmologie-Bactériologie

(2) Unité d'Épidémiologie Porcine et Assurance Qualité

Effet de l'âge du porc sur l'infection expérimentale à *Streptococcus suis*, sérotype 2

La sensibilité de porcs de 7 et 15 semaines d'âge à *Streptococcus suis* sérotype 2 est évaluée lors d'une infection expérimentale. Quinze porcs Exempts d'Organismes Pathogènes Spécifiques (EOPS) répartis en 2 lots, sont installés dans 2 animaleries protégées : 7 et 8 porcs âgés respectivement de 7 et 15 semaines. Les animaux sont inoculés par voie veineuse à raison de 2×10^8 unités formant colonies par animal. Deux lots de porcs témoins (8 et 6 animaux) du même âge reçoivent le milieu de culture dans les mêmes conditions.

Les symptômes induits sont sévères dans les 2 lots d'animaux : élévation de la température corporelle au-delà de 41°C, difficultés locomotrices et symptômes nerveux. L'infection à *S. suis* induit des pertes pondérales significatives ($P < 0,05$) chez les 2 lots infectés : le gain moyen quotidien est négatif. Les lésions sont surtout observées au niveau des séreuses (articulations, péricarde, plèvre) et elles sont souvent analogues chez les 2 groupes de porcs. Un cas de méningite est observé chez un porc infecté à 15 semaines d'âge. La contamination du sang et des organes par *S. suis* est fréquente et analogue pour les 2 lots infectés.

Dans les conditions expérimentales décrites, les porcs EOPS de 7 et 15 semaines d'âge présentent la même sensibilité à l'infection par *S. suis* sérotype 2.

The effect of age on the experimental infection of pigs with *Streptococcus suis* capsular type 2

In order to evaluate the susceptibility to *Streptococcus suis* of 7 compared to 15 week old pigs, fifteen Specific Pathogen Free (SPF) animals were divided into 2 groups, and placed in 2 separate isolation rooms. Seven and 8 pigs (of respectively 7 and 15 weeks of age) were experimentally infected intravenously with a field *S. suis* strain capsular type 2 (2.10^8 Colony-Forming-Units per animal), isolated from a case of meningitis. Fourteen non-infected animals (8 and 6 pigs, of respectively 7 and 15 weeks of age) were also reared in separated rooms and received the culture broth in the same conditions.

Clinical signs were acute in both infected groups: hyperthermia (rectal temperature higher than 41°C), lameness and tremors. Anorexia was also recorded in all infected animals, a significant loss of weight was recorded ($P < 0.05$). At autopsy, lesions localised particularly in serous membranes (joint, pericardium, pleura) were severe in both infected groups. One case of meningitis was also observed in a 15 week old pig. Contamination of blood and organs with *S. suis* was frequent and generally similar in both infected groups.

Under the experimental conditions described there was no difference in susceptibility of SPF pigs aged 7 or 15 weeks to *S. suis* infection, capsular type 2.

INTRODUCTION

Streptococcus suis est une bactérie Gram positif, β hémolytique. La sérotypie, fondée sur la composition des antigènes de la capsule, révèle actuellement l'existence de 35 sérotypes : les sérotypes de 1 à 34 et le sérotype 1/2 (GOTTSCHALK et al., 1989, 1991ab ; HIGGINS et al., 1995). Le sérotype 2 est le plus répandu et aussi le plus fréquemment associé à une pathologie (VECHT et al., 1985 ; GALINA et al., 1992 ; HIGGINS et GOTTSCHALK 1996, 1997, 1998 ; BERTHELOT-HÉRAULT et al., 1999, communication personnelle). Néanmoins, il existe une variation dans la virulence de *S. suis* sérotype 2 (VECHT et al., 1989 ; HIGGINS et GOTTSCHALK, 1989) et certains autres sérotypes sont également associés à une pathologie (REAMS et al., 1994).

La pathologie induite par *S. suis* chez le porc correspond à un syndrome associant méningite, arthrite, endocardite, pneumonie, polysérite, septicémie (REAMS et al., 1994, 1995 ; VASCONCELOS et al., 1994). Les pertes économiques engendrées par ce syndrome sont considérables : mortalité, frais vétérinaires élevés, déclassement des carcasses, etc.. Ainsi, STAATS et al. (1997) indiquent que le coût annuel de l'infection à *S. suis* s'élève à 300 millions de dollars pour la filière porcine américaine.

S. suis peut aussi être hébergé dans les cavités nasales ou les amygdales de porcs ne présentant aucun symptôme. De plus, la bactérie a été isolée chez d'autres espèces animales (DEVRIESE et al., 1990, 1992, 1993) et même chez l'homme. Les professionnels de la filière porcine sont les plus concernés (ARENDS et ZANEN, 1988 ; TROTTIER et al., 1991).

Dans les élevages porcins, la transmission de l'agent a lieu par voie nasale ou par voie cutanée lors de blessures (castrations, morsures, etc..), par les animaux présentant des signes de l'infection mais aussi par les porteurs asymptomatiques (CLIFTON-HADLEY, 1986 ; MWANIKI et al., 1994). Ces animaux peuvent aussi être des porcs convalescents ayant présenté des signes cliniques. Selon CLIFTON-HADLEY (1984), *S. suis* peut persister au moins un an dans les amygdales. La bactérie a également été isolée à partir de l'appareil reproducteur de truies ne présentant pas de signes de l'infection (ELLIOT et al., 1966).

Les animaux concernés par l'infection sont généralement les porcelets âgés de 4 à 12 semaines (REAMS et al., 1993). Les manifestations cliniques sont particulièrement sévères après le sevrage. Elles correspondent à l'existence de méningite, arthrite, pneumonie et endocardite. Chez le porcelet allaité, ces lésions peuvent conduire à la mort par septicémie (REAMS et al., 1993, 1994 ; MIRY, 1999, communication personnelle). Pendant la seconde phase de l'engraissement, les porcs peuvent développer une endocardite et une pneumonie, *S. suis* est alors souvent associé à d'autres bactéries (MORVAN, 1999, communication personnelle). Le porc reste sensible à l'infection à *S. suis* durant toute sa vie économique. Des cas de méningite sont rapportés chez les animaux en fin d'engraissement (TOKASH, 1993). Cependant,

il semble que le porcelet soit l'animal le plus sensible à l'infection par *S. suis*. La truie est vraisemblablement la source principale de l'infection (ELLIOT et al., 1966), mais l'environnement, le matériel, le personnel, les rongeurs, les insectes, la poussière, etc.. contribuent à la dissémination de *S. suis*. Dans les élevages, l'effectif des animaux hébergeant *S. suis* peut varier de 0 à 100% (MWANIKI et al., 1994). Ces animaux peuvent contaminer leurs congénères à la faveur d'un stress, de mauvaises conditions d'élevage, d'infections intercurrentes. La maladie peut alors se déclarer et la mortalité peut atteindre 20% des animaux. La prescription rapide d'un antibiotique efficace peut réduire la mortalité de 20% à 5% (GUISE et al., 1985).

Dans la présente étude, des porcelets EOPS ont été expérimentalement infectés à 7 semaines ou à 15 semaines d'âge, avec une souche de *S. suis* sérotype 2 isolée d'un cas clinique. La symptomathologie et la pathologie induites, ainsi que l'incidence sur les performances zootechniques des animaux sont présentées.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Souche bactérienne et animaux

Une souche de *S. suis* sérotype 2, (UMB98-93) issue d'un cas clinique, est utilisée pour l'infection expérimentale. La bactérie a été isolée à partir d'un encéphale présentant une méningite. Cette souche bactérienne a fait l'objet d'une caractérisation biochimique (galerie API 20 STREPT, BioMérieux) et son sérotype a été déterminé par une technique de coagglutination.

L'expérimentation animale utilise 4 lots de porcs EOPS, de race Large White, issus de la porcherie protégée de l'AFSSA Ploufragan, répartis dans 4 animaleries protégées. Des animaux de 7 semaines d'âge constituent les lots 1 et 2 (respectivement 7 et 8 porcelets). Des porcs de 15 semaines d'âge composent les lots 3 et 4 (respectivement 8 et 6 animaux). Les porcs des lots 1 et 3 sont infectés par *S. suis*. Ceux des lots 2 et 4 correspondent aux témoins de l'expérience.

1.2. Infection expérimentale

La souche de *S. suis*, sérotype 2 est clonée 3 fois. Une colonie de *S. suis* est cultivée dans du milieu Todd Hewitt (THB, Difco) contenant du sérum de veau foetal inactivé (5%). Le titre de la suspension bactérienne est ajusté à 10^8 ufc /ml. L'inoculation a lieu par voie intraveineuse (veine marginale de l'oreille) à raison de 2 ml de la suspension bactérienne par animal. Les porcs des lots 2 et 4 reçoivent le milieu THB dans les mêmes conditions.

1.3. Étude clinique et examens post-mortem

L'étude clinique est réalisée au cours d'une visite quotidienne de 15 minutes de chacun des lots d'animaux. La température corporelle et les symptômes sont relevés. L'évolution de la concentration de *S. suis* dans le sang est étudiée par des ponctions sanguines journalières. Les performances zootechniques sont évaluées par des pesées bi-hebdomadaires.

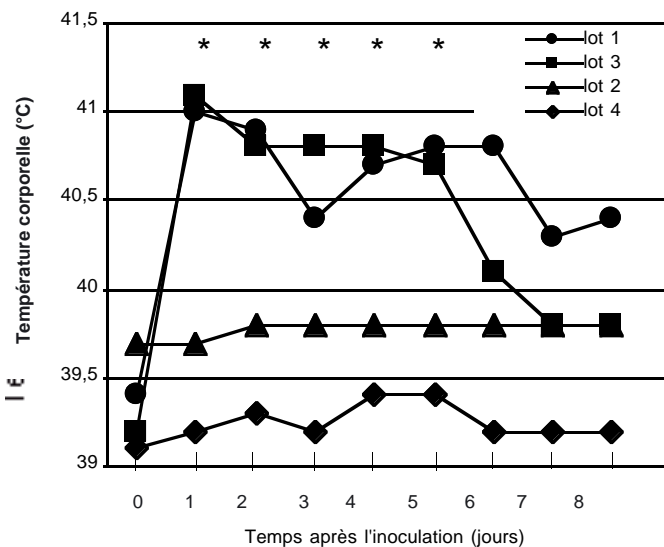
Les porcs infectés devaient être autopsiés à intervalles réguliers pendant les 10 jours suivant l'infection expérimentale mais bien souvent, pour des raisons de protection humanitaire des animaux, les porcs ont été euthanasiés prématurément, lors de l'apparition des premiers signes sévères de l'infection (symptômes nerveux, etc.). Les animaux du lot 1 sont autopsiés à J3, J6, J8 après l'infection (2 animaux par jour d'autopsie) et à J9 (1 animal), ceux du lot 3 à J8 et J9 (4 animaux par jour d'autopsie). Après l'autopsie des animaux, la recherche de *S. suis* est effectuée par un "écouvillonnage" des organes, préalablement cautérisés. Les écouvillons sont placés dans 5 ml de THB. Après agitation, 30 µl de la suspension sont mis en culture sur un milieu gélosé (gélose columbia). Les cultures sont incubées 18h à 37°C ± 2°C, en présence de 5% de CO₂. la recherche de *S. suis* dans le sang est réalisée selon le même protocole.

1.4. Analyses statistiques

La concentration moyenne de *S. suis* dans le sang des animaux est calculée en ufc (log10) / ml lors de chaque prélèvement. La moyenne de la température rectale, celle de la concentration sanguine de *S. suis* et celle du gain moyen quotidien (GMQ) sont calculées pour chacun des 4 lots de porcs. La comparaison des données entre les 4 lots est réalisée avec le test d'analyse de variance de KRUSKALL WALLIS (logiciel SYSTAT 7.0). Les comparaisons 2 à 2 sont réalisées avec le test U de MANN-WHITNEY. Le nombre d'organes lésés et le nombre d'organes contaminés par *S. suis* sont évalués et comparés par le test EXACT de FISHER (logiciel OMNISTAT) pour les animaux des lots 1 et 3. Toutes les valeurs sont considérées comme significativement différentes lorsque la probabilité est inférieure à 5%.

Figure 1 - Évolution de la température corporelle des porcs des 4 lots expérimentaux

Les animaux des lots 1 et 3 sont infectés avec *Streptococcus suis* ; ceux des lots 2 et 4 sont des animaux non infectés.
Les animaux des lots 1 et 2 ont 7 semaines d'âge au moment de l'épreuve ; ceux des lots 3 et 4 sont âgés de 15 semaines le jour de l'infection



* Différence significative ($P < 0,05$) entre la température corporelle des porcs des 4 lots

2. RÉSULTATS

2.1. Symptômes

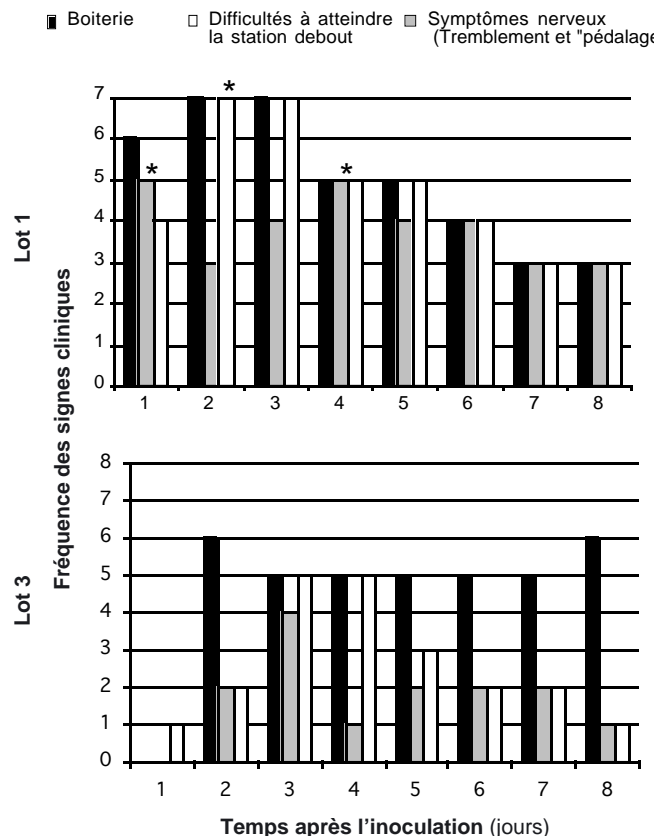
Les animaux des 2 lots non infectés ne présentent aucun symptôme durant toute la durée de l'étude. Les porcs ayant été euthanasiés dès l'apparition de signes d'infection aigus, aucune mortalité n'a été constatée chez les animaux inoculés avec *S. suis*. Il est vraisemblable que certains animaux très atteints n'auraient survécu que quelques jours.

Les premiers symptômes apparaissent dix-huit heures après l'infection expérimentale. La température rectale des animaux des lots 1 et 3 est nettement supérieure à la valeur normale (39,5°C). Elle atteint 41°C chez la majorité des porcs infectés (figure 1).

L'hyperthermie persiste pendant les 6 jours post inoculation (pi). La température corporelle des animaux infectés est significativement supérieure ($P < 0,01$) à celle des animaux témoins (jusqu'au 5ème jour pi) pour chaque groupe d'âge. Cependant, aucune différence significative ($P > 0,72$) n'est observée entre les 2 lots infectés (figure 1).

Les symptômes concomitants sont des difficultés locomotrices, enregistrées chez la majorité des porcs infectés (figure 2). Des boiteries sont observées essentiellement au niveau des articulations des membres postérieurs et plus particulièrement celles du jarret, qui, à la palpation, se révèlent

Figure 2 - Signes cliniques manifestés au cours des 15 minutes d'observation quotidienne des porcs des lots 1 et 3 (infectés respectivement à 7 et 15 semaines d'âge)



* Différence significative ($P < 0,05$) entre la fréquence des signes cliniques manifestés par les porcs des lots 1 et 3

douloureuses, chaudes et tuméfiées. Ces symptômes concernent les animaux des 2 lots infectés qui présentent également des difficultés à atteindre la station debout. Ils sont prostrés et adoptent très souvent la position en décubitus latéral. Ces manifestations sont observées chez tous les animaux du lot 1 dès le 2ème jour de l'étude. Chez les porcs du lot 3, les difficultés à atteindre la station debout apparaissent généralement 24 heures plus tard. L'infection à *S. suis* engendre également des symptômes nerveux : des tremblements et des signes de "pédalage" (2 porcelets du lot 1 et 1 porc du lot 3).

2.2. Évolution pondérale des porcs

Au moment de l'infection expérimentale, le poids moyen des porcs des lots 1 et 2 et celui des lots 3 et 4 sont analogues (respectivement 20 kg et 63 kg). Les porcelets des lots 1 et 3, inoculés avec *S. suis*, ont une croissance négative après l'infection expérimentale (figure 3).

Cette perte pondérale est maximale pour les 2 lots d'animaux, durant les 3 premiers jours de l'expérimentation. Le GMQ de ces animaux est négatif et nettement inférieur à celui des porcs témoins ($P < 0,01$). Trois jours pi, les porcelets du lot 1, pèsent en moyenne 4,3 kg de moins que leurs congénères non infectés (perte moyenne de poids d'environ 20%). Les animaux du lot 3 ont un poids inférieur en moyenne de 6,4 kg à celui mesuré chez les animaux sains du même âge. La croissance des animaux infectés s'améliore ensuite progressivement mais à la fin de l'étude, le GMQ (calculé entre J6 et J9) est toujours inférieur à celui des porcs non contaminés. Le GMQ des animaux du lot 1 est encore négatif (- 400g) et celui des animaux du lot 3 inférieur de 300g à celui du lot 4.

Neuf jours après l'infection expérimentale, l'étude globale montre une perte pondérale de 4 kg chez les animaux du lot 1 (figure 3). Les animaux du lot 2 ont une croissance de plus de 5 kg. La croissance des porcs du lot 3 a été négative mais les animaux ont une croissance positive à la fin de l'étude. En revanche, le 9^{ème} jour pi, les porcs du lot 3 pèsent encore en moyenne 10 kg de moins que les porcs non infectés du lot 4.

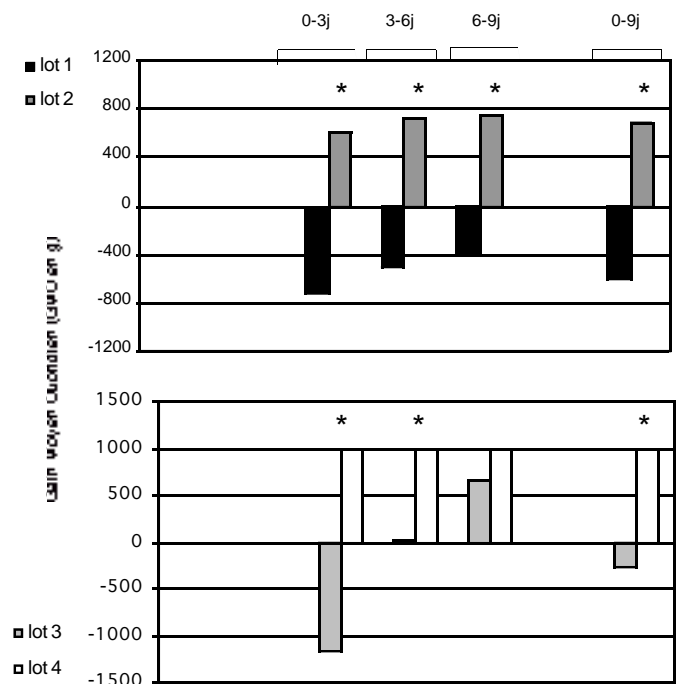
2.3. Examens post-mortem

2.3.1. Examen macroscopique des organes

Aucune lésion n'est observée chez les porcs non infectés. Chez les animaux des lots 1 et 3, infectés par *S. suis*, les lésions concernent essentiellement les séreuses et elles sont mises en évidence chez les animaux des 2 lots infectés. Seuls les porcs du lot 3 présentent une pneumonie et une méningite (figure 4).

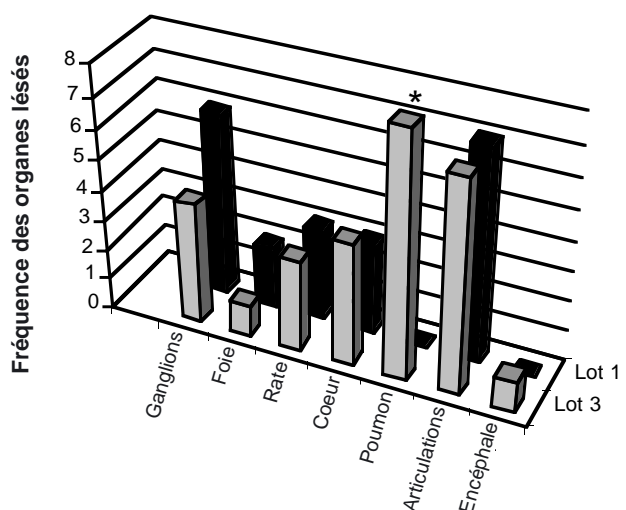
L'importance des lésions révélées par l'examen macroscopique est analogue chez les animaux des lots 1 et 3. Les articulations sont très souvent affectées. Le liquide synovial, plus opaque, plus épais et plus abondant que la normale est parfois sanguinolent. Des dépôts de fibrine sont observés au niveau du cartilage articulaire. L'infection provoque une réaction ganglionnaire : les ganglions iliaques et mésentériques sont hypertrophiés et congestionnés. Les lésions pulmonaires se manifestent sous la forme d'une pneumonie

Figure 3 - Gain Moyen Quotidien (GMQ) des porcs des lots 1, 2 (7 semaines d'âge), 3 et 4 (15 semaines d'âge). Les porcs des lots 1 et 3 sont infectés par *Streptococcus suis*. Les animaux des lots 2 et 4 ne sont pas infectés



* Différence significative ($P < 0,05$) entre le GMQ des porcs infectés et celui des porcs témoins, pour chaque groupe d'âge.

Figure 4 - Fréquence des lésions au niveau des principaux organes chez les porcs des lots 1 et 3 (infectés respectivement à 7 et 15 semaines d'âge)



* Différence significative ($P < 0,05$) entre le nombre des organes lésés chez les porcs des lots 1 et 3.

et/ou d'une pleurésie. Les lésions cardiaques (péricardite et endocardite) peuvent être accompagnées d'une périhépatite, d'une périhépatite et d'une méningite, avec des dépôts de fibrine (figure 4).

2.3.2. Examen anatomopathologique

Au niveau des articulations, les gaines synoviales sont généralement hypertrophiées, infiltrées par des polynucléaires neutrophiles et des cellules lymphoplasmocytaires. Des lésions exsudatives sont à noter. Elles sont de nature fibrineuse, fibrino-leucocytaire, fibrino-purulente ; on observe des péricardites, méningites et arthrites exsudatives. De la congestion vasculaire, des hémorragies, des manchons périvasculaires et des microabcès sont observés au niveau du cervelet et du cerveau. Des lésions plus chroniques telles que des péricardites fibrineuses sont notées.

2.4. Isolements de *S. suis*

2.4.1. Recherches chez l'animal vivant

Les recherches bactériologiques se sont révélées négatives à partir des animaux des lots 2 et 4.

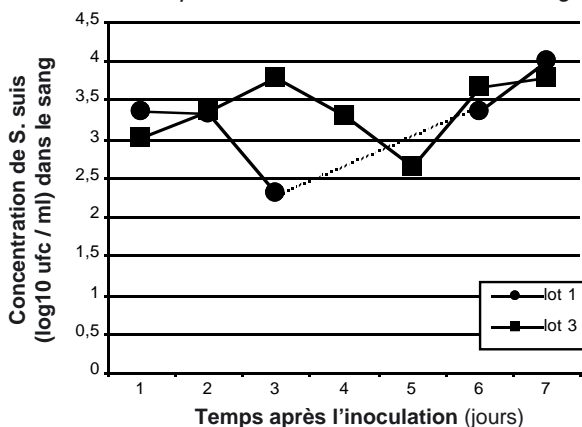
Vingt quatre heures pi, *S. suis* est présent dans le sang de tous les animaux des lots 1 et 3 à la concentration de 10^3 ufc de *S. suis* / ml de sang (figure 5). La bactérie s'y maintient durant toute l'expérience. Aucune différence significative n'est observée ($P > 0,05$).

2.4.2. Recherches post-mortem

Les recherches bactériologiques sont négatives à partir des organes des porcs des lots 2 et 4.

La figure 6 présente le résultat des recherches de *S. suis* dans les organes chez les animaux des lots 1 et 3. *S. suis* est isolé à partir de la majorité des organes contrôlés : ganglions iliaques et mésentériques, foie, rate, cœur, poumons, articulations et amygdales.

Figure 5 - Concentration de *Streptococcus suis* dans le sang des porcs des lots 1 et 3 (infectés respectivement à 7 et 15 semaines d'âge)



La bactérie est plus fréquemment retrouvée chez les porcs du lot 1, particulièrement dans les poumons et le foie ($P < 0,02$). Elle n'est pas isolée à partir de l'encéphale des porcs du lot 3.

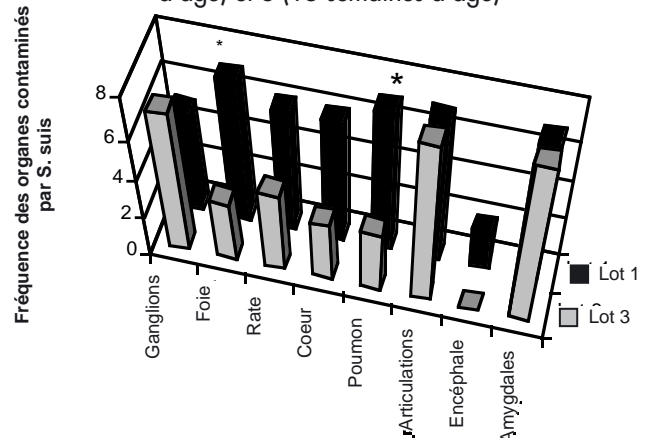
3. DISCUSSION - CONCLUSION

Les manifestations cliniques et lésionnelles engendrées par l'infection à *S. suis* sérotype 2 ont été décrites par différents

groupes de recherche (HIGGINS et GOTTSCHALK, 1999 ; REAMS et al., 1994 ; VASCONCELOS et al., 1994). Dans les élevages conventionnels, les animaux infectés par des souches virulentes de *S. suis* manifestent une forte hyperthermie accompagnée de lésions marquées des viscères thoraciques et abdominaux, de l'encéphale et des articulations. La mort des porcs peut intervenir dans les cas les plus graves, en particulier lorsque les animaux se trouvent dans le local de post-sevrage (REAMS et al., 1993).

Dans les conditions expérimentales décrites dans la présente étude, le porc EOPS se montre sensible à l'infection par une souche de *S. suis*, sérotype 2, isolée chez un animal atteint de méningite. L'âge des animaux expérimentalement infectés (7 ou 15 semaines) correspond à la période de post-sevrage ou à celle de l'engraissement dans un élevage conventionnel et elle n'a pas d'incidence majeure sur l'expression de l'infection. Les animaux des 2 groupes présentent des symptômes et des lésions caractéristiques de l'infection à *S. suis*. Les animaux de 15 semaines d'âge restent sensibles à l'infection. Dans la majorité des cas, il n'existe pas de différence significative entre les paramètres mesurés dans les 2 lots de porcs infectés. Ces observations sont en accord avec celles décrites par d'autres auteurs (TOKASHI, 1993 ; MIRY et MORVAN, 1999, communications personnelles). En effet, des cas de méningite à *S. suis* ont été observés chez le porc à l'engrais, bien que la maladie s'exprime généralement chez le porcelet au moment du sevrage, entre 4 et 12 semaines, ainsi que le décrivent LAMONT et al. (1980) et REAMS et al. (1993). Il est vraisemblable que la truie infecte ses porcelets qui contaminent eux-mêmes leurs congénères au moment du sevrage.

Figure 6 - Contamination des organes par *Streptococcus suis* sérotype 2 chez les animaux des lots 1 (7 semaines d'âge) et 3 (15 semaines d'âge)



* Différence significative ($P < 0,05$) entre la fréquence d'organes contaminés par *S. suis* dans les lots de porcs 1 et 3

Dans cette étude, l'infection expérimentale est réalisée chez l'animal cible, contrairement à des modèles décrits par d'autres auteurs, qui ont utilisé le modèle murin (BEAUDOUIN et al., 1992 ; VECHT et al., 1997 ; WILLIAMS et al., 1988) et *S. suis* est le seul agent infectieux utilisé. En effet, aucun autre agent susceptible d'exacerber la virulence de *S. suis* n'a été nécessaire. D'autres auteurs ont par exemple utilisé *Bordetella bronchiseptica* ou des traitements immunosuppresseurs afin d'observer une symptomathologie,

analogue à celle engendrée par une infection naturelle à *S. suis* (VECHT et al., 1989).

Dans le cadre de la présente étude, plusieurs paramètres expérimentaux ont favorisé l'expression de l'infection à *S. suis*. Les animaux utilisés ont un statut sanitaire élevé (porcs EOPS) et toute maladie intercurrente est exclue dans les animaleries protégées. La dose infectante a été très forte et vraisemblablement trop élevée pour induire un portage asymptomatique chez l'animal. La voie intraveineuse reste artificielle, bien que l'entrée de la bactérie puisse se faire par des blessures cutanées (STAATS et al., 1997). Ainsi afin de mieux connaître les modalités de contamination par *S. suis*, il serait judicieux d'envisager d'infecter des porcs par une voie plus proche de celle des conditions naturelles d'infection. L'infection par la voie nasale ainsi que la contamination de porcs sentinelles par contact direct ou indirect pourraient être envisagées. Des résultats récents (BERTHELOT-HÉRAULT, 1999, communication personnelle) sembleraient confirmer ces observations, particulièrement lorsqu'une souche virulente de *S. suis* est utilisée par voie aérienne.

Dans les élevages porcins infectés par *S. suis*, l'effectif des porcs hébergeant *S. suis* dans les cornets nasaux ou les amygdales varie de 0 à 100% mais généralement la mortalité reste faible, de 0 à 5% (WINDSOR, 1975 ; MWANIKI et al., 1994). Le déterminisme du pouvoir pathogène de *S. suis* est de nature multifactorielle (présence d'autre contaminants, conditions d'élevage défavorables, virulence de la souche, etc.) et il est nécessaire de poursuivre les études afin de connaître cette infection qui préoccupe la filière porcine.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient R. CARIOLET, B. BEAUREPAIRE, J. P. JOLLY, Annie LABBÉ (AFSSA Ploufragan) et A. M. KERIBIN (LDA22 Ploufragan) de leur participation à la réalisation de l'expérience.

H. MORVAN et N. AMENNA (LDA22) sont remerciés pour les analyses histologiques.

Cette étude a été financée par les Fonds Européens d'Orientation et de Garantie Agricole (FEOGA).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARENDS J.P., ZANEN H.C., 1988. Rev. Infect. Dis., 10, 131-137.
- BEAUDOUIN M., HIGGINS R., HAREL J. GOTTSCHALK M., 1992. FEMS Microbiol.Lett., 78, 111-116.
- CLIFTON-HADLEY F.A. ALEXANDER T.J.L., UPTON I., DUFFUS W.P.H., 1984. Vet. Rec., 114, 513-518.
- CLIFTON-HADLEY F.A. ENRIGHT M.R., ALEXANDER T.J.L., 1986. Vet. Res., 118, 275.
- DEVRIESE L.A., SUSTRONCK B., MAENHOUT T., HAESBROUCK, F., 1990. Vet. Rec., 127, 68.
- DEVRIESE L.A., CRUZ-COLQUE J.I.C., DE HERDT P., HAESBROUCK, F., 1992. J. Appl. Bact., 73, 421-425.
- DEVRIESE L.A., DESMIDT M., ROELS S., HOORENS J., HAESBROUCK, F., 1993. Vet. Rec., 132, 283.
- ELLIOT S.D., ALEXANDER T.J.L., THOMAS J.H., 1966. J. Hyg., 64, 213-220.
- GALINA L., COLLINA JE., PIJOAN C., 1992. J. Vet Diagn. Invest., 4, 195-196.
- GOTTSCHALK M., HIGGINS R., JACQUES M., MITTAL K.R., HENRICHSEN J., 1989. J. Clin. Microbiol., 27, 2633-2636.
- GOTTSCHALK M., HIGGINS R., JACQUES M., BEAUDOUIN M., HENRICHSEN J., 1991a. J. Vet. Diagn. Invest., 3, 60-65.
- GOTTSCHALK M., HIGGINS R., JACQUES M., BEAUDOUIN M., HENRICHSEN J., 1991b. J. Vet. Diagn. Invest., 29, 2590-2594.
- GUISE H.J., PENNY R.H.C., DUTHIE A.N.S., 1985. Vet. Rec., 117, 65-66.
- HIGGINS R., GOTTSCHALK M., MITTAL K.R., BEAUDOUIN M., 1989. Can. J. Vet. Res., 54, 170-173.
- HIGGINS R., GOTTSCHALK M., BOUDEAU M., LEBRUN A., HENRICHSEN J., 1995. J. Vet Diagn. Invest., 7, 405-406.
- HIGGINS R., GOTTSCHALK M., 1996. Can Vet J., 37, 242.
- HIGGINS R., GOTTSCHALK M., 1997. Can Vet J., 38, 302.
- HIGGINS R., GOTTSCHALK M., 1998. Can Vet J., 39, 300.
- HIGGINS R., GOTTSCHALK M., 1999 in Disease of swine 8th ed, Allaire S., Mengeling W. L. and Taylor D. J. (Eds), Iowa University Press pp 563-578
- LAMONT M.H., EDWARDS P.T., WINDSOR R.S., 1980. Vet. Rec., 107, 467-469.
- MWANIKI C.G., ROBERTSON I.D., TROTT D.J. et al, 1994. Epidemiol. Infect., 113, 321-334.
- REAMS R.Y., GLICKMAN L.T., HARRINGTON D.D., BOWERSOCK T.L. THACKER H.L., 1993. J. Vet. Diagn. Invest., 5, 563-567.
- REAMS R.Y., GLICKMAN L.T., HARRINGTON D.D., THACKER H.L., BOWERSOCK T.L., 1994. J. Vet. Diagn. Invest., 6, 326-334.
- REAMS R.Y., HARRINGTON D.D., GLICKMAN L.T., THACKER H.L., BOWERSOCK T.L., 1995. J. Vet. Diagn. Invest., 7, 406-408.
- STAATS J.J., FEDER I., OKWUMABUA O., CHENPAGGA M.M., 1997. Vet. Res. Com., 21, 381-407.
- TOKASH L.M., 1993. Swine Health and Production, 29-30.
- TROTTIER S., HIGGINS R., BROCHU G., GOTTSCHALK M., 1991. Rev. Infect. Dis., 13, 1251-1252.
- VASCONCELOS D., MIDDLETON D.M., CHIRINO-TREJO J. M., 1994. J. Vet. Diagn. Invest., 6, 335-341.
- VECHT U., VAN LEENGOED L.A.M.G, VERHEIJEN E.R.M., 1985. Vet. Q., 7, 315-321.
- VECHT U., ARENDS J.P., VAN DER MOLEN E.J., VAN LEENGOED L.A.M.G, 1989. Am. J. Vet. Res., 50, 1037-1043.
- VECHT U., STOCKHOFER-ZURWIEDEN N., TETENBURG B.J., WISSELINK H.J., SMITH H.E., 1997. Vet. Microbiol., 58, 53-60.
- WILLIAMS A.E., BLAKEMORE W.F., ALEXANDER T.J.L., 1988. Res. Vet. Res., 45, 394-399.
- WINDSOR R.S., ELLIOT S.D., 1975. J. Hyg., 75, 69-78.

