

## Actualités sur la pleuropneumonie porcine

Marcelo GOTTSCHALK (1), Hervé MORVAN (2), André BROES (3), Robert DESROSIERS (4), Marylène KOBISCH (5)

(1) Faculté de médecine vétérinaire, Université Montréal, 3200 Sicotte, St-Hyacinthe, Québec, Canada

(2) Laboratoire de Développement et d'Analyses des Côtes d'Armor, BP 54, 22440, Ploufragan, France

(3) Génétiporc Inc., 1312, rue St-Georges, St-Bernard, Québec, Canada

(4) Boehringer Ingelheim Vetmedica Canada, 2235 Carillon, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 7W1

(5) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), Zoopôle, B.P.53, 22440 Ploufragan, France

### Actualités sur la pleuropneumonie porcine

La pleuropneumonie porcine, causée par *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App), constitue une préoccupation importante dans de nombreux pays producteurs de porcs. Il est important de connaître les concepts de biotype et sérotype, car certains isolats pourraient ne pas être bien identifiés au laboratoire. De nouveaux sérotypes ont été décrits au cours des dernières années et l'on rapporte même l'existence de souches non-typables. La sérologie, avec l'ajout d'un nouveau test (test pour la toxine ApxIV) qui pourrait s'avérer complémentaire à des tests déjà existants, demeure toujours un outil indispensable pour le diagnostic des troupeaux infectés en absence de signes cliniques. Cependant, dans certaines circonstances, la détection directe d'App à partir des amygdales est également nécessaire. Dans cette communication, nous présentons quelques informations récentes relatives au diagnostic des infections à App chez le porc.

### An update on swine pleuropneumonia

Swine pleuropneumonia, caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App), is one of the important bacterial diseases of the respiratory tract of the pig and occurs in most if not all pig-keeping countries. It is important to understand the concepts of biotype and serotype, since some App isolates might be misidentified in some laboratories. New serotypes (and even untypable strains) have been reported in the last years. Serology, with a new ApxIV-toxin test that might be used as a complement to other available serological tests, is still the most important tool to be used for the diagnosis of the infection in subclinically infected herds. Under specific circumstances, the detection of App directly from tonsils might also be necessary. In this communication, we would like to present the latest developments relative to the diagnosis of infections caused by App in the pig.

## INTRODUCTION

La pleuropneumonie porcine constitue une préoccupation importante dans de nombreux pays producteurs de porcs. La maladie est causée par *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App). Les conséquences des infections à App varient en fonction de la virulence de la souche impliquée et de facteurs intercurrents (infections concomitantes, conduite de l'élevage, traitements, etc.). Dans de nombreux cas, les infections ne se traduisent par aucun signe clinique évident. Dans d'autres cas, elles provoquent une pleuropneumonie sévère, unilatérale ou bilatérale, affectant entre autres les lobes diaphragmatiques et qui peut entraîner la mort en quelques heures en l'absence de traitement approprié. La forme chronique se caractérise par la présence de foyers fibrino-nécrotiques au niveau d'anciennes lésions de pleuropneumonie. Cette forme se retrouve souvent dans les troupeaux où la forme aiguë a été contrôlée par des traitements antibiotiques et/ou un programme de vaccination, ou lorsque la souche impliquée est de plus faible virulence. Les conséquences économiques liées à la maladie sont considérables par la mortalité, les saisies à l'abattoir et les frais vétérinaires (antibiotiques, vaccins, autovaccins) qu'elle entraîne. Les impacts de la maladie sur les performances zootechniques sont encore controversés (ANDREASEN et al, 2001 ; GOTTSCHALK et TAYLOR, 2005).

La principale source de contamination des élevages par App est l'introduction d'animaux provenant de troupeaux qui sont infectés sans présenter de signes cliniques évidents ou de lésions caractéristiques. Toutefois certaines études laissent supposer que la transmission indirecte de l'organisme puisse être responsable d'un nombre non négligeable de cas (DESROSIERS et MOOR, 1998 ; FUSSING et al, 1998 ; ZHUANG et al, 2002). Beaucoup d'efforts de recherche ont été consentis ces dernières années à développer et valider des techniques permettant d'identifier ces troupeaux infectés de façon «subclinique». L'utilisation de ces techniques dans le cadre de programmes de surveillance des troupeaux reproducteurs a permis des avancées importantes dans le diagnostic des infections à App mais a aussi soulevé de nouvelles questions. Dans cette communication, nous présenterons quelques informations récentes relatives au diagnostic des infections par App. Pour des revues complètes sur le diagnostic et sur la pathogenèse de l'infection, le lecteur peut se référer à GOTTSCHALK et TAYLOR (2005) et BOSSÉ et al (2002).

### 1. BIOTYPES (OU BIOVARS) ET SÉROTYPES (OU SEROVARS) : DES NOTIONS QUI PEUVENT ENTRAÎNER UNE CONFUSION ET QUI SONT DONC IMPORTANTES POUR LE DIAGNOSTIC

La notion de biotype fait référence à certaines caractéristiques physiologiques des bactéries. Dans le cas d'App, il s'agit de sa capacité de se développer, ou non, en culture en l'absence de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) ou facteur V. Par convention, les souches incapables de se développer dans des milieux dépourvus de NAD appartiennent au biotype 1 alors que les autres souches appartiennent au biotype 2. La plupart des souches d'App appartiennent au biotype 1.

Cette caractéristique est prise en compte par les laboratoires de diagnostic qui utilisent des milieux enrichis en facteur V lors de la recherche d'App. La dépendance au facteur V constitue également un critère important d'identification d'App. Les souches appartenant au biotype 2 sont donc plus rares et leur indépendance vis-à-vis du facteur V peut éventuellement conduire à des erreurs d'identification (confusion avec d'autres bactéries apparentées).

La notion de sérotype se réfère, quant à elle, aux caractéristiques antigéniques des bactéries. Dans le cas d'App, ces antigènes sont constitués de molécules situées à la surface des bactéries, au niveau de la capsule (antigènes capsulaires). En pratique, la détermination du sérotype fait appel à des anticorps spécifiques (antisérums préparés chez le lapin ou anticorps monoclonaux préparés chez la souris) fournis par des laboratoires de référence et à des techniques (coagglutination, immunodiffusion, etc.) réservées à des laboratoires spécialisés. On reconnaît actuellement quinze sérotypes chez App (voir ci-après). Il faut signaler que cette bactérie possède également des antigènes situés au niveau de la paroi (antigènes de paroi ou lipopolysaccharides, appelé « LPS »), qui sont aussi caractéristiques d'un ou plusieurs sérotypes (antigènes communs). Ces antigènes sont utilisés dans certaines épreuves sérologiques (ex. ELISA à chaînes longues de LPS ou LC-LPS) afin de détecter la présence éventuelle d'anticorps dans le sérum des animaux.

#### 1.1. App biotype 1 : un classique

Jusqu'à récemment, on connaissait 12 sérotypes au sein du biotype 1 (sérotypes de 1 à 12). Il est à noter que le sérotype 5 était divisé en sérotypes 5a et 5b; cette subdivision n'est pas toujours effectuée dans tous les laboratoires, mais son importance est relative car les deux sous-types ont le même pouvoir pathogène. Tout récemment, on a rapporté l'existence d'un nouveau sérotype, le sérotype 15 (les sérotypes 13 et le 14 étant du biotype 2, voir ci-après). Le sérotype 15 d'App semble être très fréquent en Australie (BLACKALL et al, 2002).

Les questions suivantes sont fréquemment posées à propos du biotype 1 :

##### a. Tous les sérotypes d'App sont-ils pathogènes ?

La distribution des sérotypes isolés de cas cliniques varie selon les régions. En Amérique du Nord, par exemple, les sérotypes le plus souvent impliqués dans les formes cliniques sont les sérotypes 5, 7 et 1 ; le sérotype, (ou sérogroupe) 3/6/8, jusqu'ici peu important du point de vue clinique, est aussi en émergence ces dernières années. En France, les sérotypes 2, 9/11 puis 3/6/8 sont le plus fréquemment isolés des cas pathologiques (tableau 1). Par contre, ceci ne permet pas de dire que les autres sérotypes ne sont pas pathogènes. En effet, il faut plutôt les considérer comme « moins » pathogènes. Ces sérotypes sont souvent présents dans les troupeaux conventionnels en absence de signes cliniques. En général, ceci ne représente pas un problème majeur. Toutefois, dans certaines circonstances, ces sérotypes peuvent être responsables de signes cliniques, parfois accompagnés de mortalité. En règle générale, il s'agit de cas sporadiques. C'est ce qui est actuellement observé avec le sérotype 12 en Amérique du Nord.

**Tableau 1** - Répartition (%) des différents sérotypes d'App biotype 1 isolés au laboratoire LDA22 à Ploufragan, France

Séro	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
<b>1</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>2</b>	13	15	31	18	26	26	28	29	30	31	36	39	49	57	48
<b>3,6,8</b>	18	19	15	8	9	5	7	12	7	11	11	8	14	9	9
<b>4</b>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
<b>5</b>	0	0	2	3	1	0	0	1	1	1	1	1	2	1	0
<b>7</b>	16	13	11	10	17	10	11	6	8	4	5	6	6	4	4
<b>9,11</b>	53	50	35	60	40	57	48	47	47	48	40	45	28	28	38
<b>10</b>	0	0	2	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
<b>12</b>	0	4	5	3	7	2	6	4	5	5	7	2	1	1	1

*b. Le «pouvoir pathogène» peut-il varier parmi les souches d'un même sérotype ?*

La réponse est affirmative. Un bon exemple est le sérotype 2. Ce sérotype est l'un des plus fréquemment isolés de cas cliniques en France (tableau 1). Les souches «françaises» sont très virulentes lors d'infections expérimentales. Cependant, ce sérotype n'est que très rarement isolé à partir d'animaux malades en Amérique du Nord, bien qu'il soit l'un des plus répandus (observations non publiées). Nous avons pu établir que les souches « françaises » de sérotype 2 produisent deux toxines (ApxII et ApxIII), tandis que les souches « américaines » ne produisent que l'ApxII. Les autres caractères (LPS, capsule, etc.) de ces deux types de souches qui pourraient être liés à la virulence, semblent être très similaires. La différence, liée à la production de la toxine ApxIII, pourrait donc être suffisante pour émettre l'hypothèse que les souches américaines sont moins virulentes. L'infection expérimentale de jeunes porcelets exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS), donc très sensibles, par l'une de ces souches n'a provoqué ni signe clinique ni lésion, ce qui corrobore l'hypothèse (observations non publiées). L'effet dose a également un rôle. Ainsi, des infections expérimentales effectuées chez des porcelets EOPS, avec de faibles doses d'une souche pathogène d'App, n'ont pas induit de manifestations cliniques de la maladie (observations non publiées).

*c. Des sérotypes « pathogènes » peuvent-ils être présents dans un troupeau sans provoquer de signes cliniques ?*

La réponse est affirmative. Il existe de nombreux troupeaux infectés par les sérotypes 2 ou 9 en France ou par les sérotypes 1, 5 ou 7 au Canada qui ne présentent pas de signes cliniques évidents. Ces troupeaux, qui n'utilisent pas toujours de mesures pour prévenir la maladie ou détecter la présence de la bactérie, hébergent des porteurs asymptomatiques qui peuvent ne pas manifester la maladie pendant des années. Toutefois, des épisodes aigus de pleuropneumonie peuvent survenir occasionnellement à la suite d'infections intercurrentes (comme par exemple, le syndrome dysgénésique et respiratoire porcin ou SDRP) ou d'erreurs dans la conduite d'élevage (surcharge des locaux, ventilation défectueuse, règles de l'hygiène non respectées, etc.). Curieusement, on n'a jamais pu démontrer scientifiquement une influence du SDRP sur des épisodes de pleuropneumonie (POL et al, 1997). Cependant les observations de plusieurs praticiens suggèrent l'existence de cette corrélation sur le terrain. En France, il semble, dans certains cas, qu'il existe encore une

certaine tendance erronée à considérer que la présence d'App dans un troupeau s'accompagne toujours de signes cliniques ou de lésions.

*d. Une souche peut-elle s'avérer plus ou moins « pathogène » d'un élevage à l'autre ?*

La réponse est affirmative. Lors d'infections expérimentales de porcelets avec une dose donnée d'une même souche d'App sérotype 1, nous avons constaté des taux de mortalité variant de 5 % à 50 % (KLOPFENSTEIN et al, 2004 ; PARADIS et al, 2004). Comment expliquer une telle différence ? Dans le premier cas (5 % de mortalité), les animaux provenaient d'un troupeau exempt d'App sérotype 1 mais vraisemblablement infecté par d'autres sérotypes « moins pathogènes » alors que dans le deuxième cas, ils provenaient d'un troupeau exempt de tous les sérotypes d'App. L'infection préalable des animaux par des sérotypes peu pathogènes pourrait conférer un certain degré d'immunité contre d'autres sérotypes plus pathogènes. A contrario, des animaux qui n'ont jamais été exposés à App, seraient probablement hautement sensibles. Ceci peut en partie expliquer que dans certains troupeaux, la présence de sérotypes « pathogènes » ne se traduise pas par des signes cliniques et que par ailleurs, l'introduction de tels animaux dans des troupeaux exempts d'App puisse provoquer l'apparition de signes cliniques chez les animaux de l'élevage. Inversement, des porcs exempts d'App introduits dans des troupeaux infectés sans signe clinique peuvent très rapidement présenter des symptômes et des lésions de pleuropneumonie (y compris les animaux adultes).

## **1.2. App biotype 2 : un nouveau venu ou un ancien App qui revient ?**

On isole des souches d'App biotype 2 depuis plusieurs années, surtout en Europe. Les souches de ce biotype ont généralement été considérées comme moins pathogènes. Toutefois, récemment, MALDONADO et al (2004) ont rapporté l'isolement de souches d'App biotype 2 à partir de cas cliniques graves de pleuropneumonie porcine en Espagne. GAMBADE et MORVAN (2001) ont aussi rapporté de la mortalité brutale causée par des souches d'App du biotype 2 en France. En Amérique du Nord, il n'y a qu'une seule publication sur l'isolement de ce type d'App (FRANK et al, 1992). Cependant, des souches de biotype 2 sont de plus en plus souvent isolées de cas cliniques dans l'ouest canadien

**Tableau 2** - Utilisation des tests ELISA LC-LPS et ApxIV pour App dans différentes situations

Situation	ELISA LC-LPS	Commentaires	ELISA ApxIV	Commentaires
Diagnostic de l'infection à App (présence de signes cliniques)	Oui	Dans les cas où on procède à l'isolement (fortement recommandé), la sérologie n'est pas nécessaire. Cependant, dans les rares cas où l'isolement n'est pas disponible, la sérologie pourrait confirmer que le problème est App en utilisant deux prélèvements sanguins à 3-4 semaines d'intervalle. Par contre, il faudrait tester plusieurs sérotypes pour avoir une confirmation (très onéreux).	Oui	Ne permet pas de préciser les sérotypes présents dans l'élevage; cependant, dans les rares cas où l'isolement n'est pas disponible, il pourrait confirmer que le problème est App en utilisant deux prélèvements sanguins à 3-4 semaines d'intervalle.
Diagnostic de l'infection à App (absence de signes cliniques ; surveillance épidémiologique)	Oui	Il faut cibler les sérotypes importants. Ex. 2 et 9/11 en France	Non	La présence fréquente de sérotypes «non pathogènes» complique le diagnostic
Surveillance des troupeaux réputés négatifs à tous les sérotypes	Oui (mais)	Très onéreux, car il faut plusieurs tests pour chaque sérum; de plus, le test n'est pas disponible pour tous les sérotypes	Oui (mais)	Principale indication de ce test ; il devrait cependant être validé au préalable sur un nombre suffisant de troupeaux et d'animaux
Réponse sérologique à la vaccination (bactérines)	Oui	Certains vaccins n'induisent toutefois qu'une faible réponse sérologique avec ce test	Non	Les bactérines n'induisent pas d'anticorps contre apxIV
Réponse sérologique à la vaccination (vaccins sous-unitaires à base de toxines)	Non	Ce test ne détecte pas les anticorps dirigés contre les toxines	Non	Les vaccins sous-unitaires actuels ne contiennent pas de toxine ApxIV
Interférence des anticorps maternels à la vaccination (bactérines)	Oui	On doit cibler le sérotype	?	Pas assez de données disponibles
Interférence des anticorps maternels à la vaccination (vaccins sous-unitaires à base de toxines)	Non	L'ELISA LPS ne détecte pas les anticorps dirigés contre les toxines	?	Pas assez de données publiques disponibles
Programme d'éradication	Oui (mais)	On doit cibler le (ou les) sérotype(s) concerné(s)	Oui (mais)	Il n'est pas possible de cibler un (ou plusieurs) sérotype(s)

(Musangu Ngeleka, University of Saskatchewan, communication personnelle; voir ci-après). Même si les raisons de l'émergence de souches de biotype 2 sont inconnues, il convient d'attirer l'attention des laboratoires de diagnostic sur le fait qu'ils ne doivent pas seulement rechercher les souches « classiques » (biotype 1).

La distribution des sérotypes appartenant à ce biotype est moins claire. Initialement, les souches de biotype 2 ont été

associées aux mêmes sérotypes que les souches de biotype 1, tels que les sérotypes 2, 4, 7 ou 9. Un sérotype donné peut comprendre des souches des deux biotypes. Ces dernières années, deux nouveaux sérotypes ont été officialisés (sérotypes 13 et 14) (NIELSEN et al, 1997). Les souches originales de ces deux sérotypes appartiennent au biotype 2. La distribution de ces sérotypes n'est pas connue. La plupart des souches de biotype 2 isolées en Espagne par MALDONADO et al, (2004) ont été sérotypées dans notre laboratoire

(Université Montréal) comme étant du sérotype 13. Nous avons également isolé deux souches d'App sérotype 13 (une au Canada et une autre aux États Unis) responsables de cas cliniques de pleuropneumonie porcine. Cependant, ces souches n'appartiennent pas au biotype 2 mais bien au biotype 1. De plus, les deux souches sont génétiquement très proches (il s'agit probablement de la même souche) mais très différentes de la souche de référence de biotype 2 isolée en Europe (NIELSEN et al, 1997). Nous étudions actuellement les antigènes de capsule et de paroi de ces deux types de souches car nous pressentons que la réponse sérologique des animaux infectés diffère selon les souches dans l'épreuve ELISA LC-LPS (observations non publiées).

Nous avons également reçu récemment des souches d'App « atypiques » responsables de mortalités brutales dans un élevage de type conventionnel des États-Unis. Cette souche appartient au biotype 2 et ne correspond à aucun des 15 sérotypes connus. En étudiant des souches non typables de notre collection, nous avons constaté que des souches similaires avaient été isolées depuis 10 ans dans au moins 4 États différents des États Unis (souches adressées par le Dr Brad Fenwick, Kansas State University, U.S.A.). Dans des conditions expérimentales standardisées et avec des animaux EOPS hautement sensibles (AFSSA site de Ploufragan), nous avons constaté que la souche originale était faiblement pathogène. Des conditions intrinsèques aux troupeaux affectés expliquent peut-être la virulence de cette souche sur le terrain. Les problèmes cliniques ont d'ailleurs été considérablement diminués dans le troupeau affecté depuis qu'un autovaccin est utilisé. Il est possible que cette souche devienne un nouveau sérotype d'App bien qu'une étude sérologique portant sur des sérums du Canada et de 10 États différents des États-Unis n'a pas permis de déceler la présence d'anticorps contre ce sérotype. Cette souche ne semble donc pas très répandue sur le continent nord-américain.

## **2. LA SÉROLOGIE COMME OUTIL POUR DÉTERMINER LE STATUT D'UN TROUPEAU SANS SIGNES CLINIQUES : AVONS-NOUS ENCORE DES QUESTIONS?**

La recherche d'anticorps (sérologie) est largement utilisée dans les programmes de surveillance des élevages qui diffusent des reproducteurs de renouvellement. Présentement, nous sommes occupés à valider l'utilisation du colostrum comme échantillon pour effectuer la recherche d'anticorps vis-à-vis de différents agents pathogènes dont App. Les résultats préliminaires semblent indiquer une sensibilité et une spécificité très similaires à celles obtenues avec le sérum, tout en offrant une plus grande flexibilité (échantillons prélevés par le producteur et conservés au congélateur). La sérologie permet aussi de confirmer la présence d'une infection persistante dans un troupeau, de rechercher les anticorps chez les porcelets, afin d'étudier la persistance des anticorps d'origine maternelle (4 à 8 semaines selon le test utilisé) et de déterminer le meilleur moment de la vaccination (pour éviter une interférence avec des anticorps d'origine maternelle). Elle peut aussi être utilisée pour évaluer le succès d'un programme d'éradication. Généralement, les anticorps circulants sont détectés 3 à 4 semaines après l'infection. La per-

sistance des anticorps est mal connue puisque peu d'études ont été entreprises sur ce sujet. Certaines observations suggèrent que les anticorps sont détectés jusqu'à la fin de la période d'engraissement et même au-delà (DESROSIERS, 2004). La séropositivité des porcs en fin d'engraissement traduit la présence d'une infection à App dans l'élevage. Cependant, la vaccination peut aussi engendrer la production d'anticorps circulants, qui varieront selon les vaccins et la technique sérologique utilisée.

L'épreuve ELISA la plus employée au Canada, en France et au Danemark repose sur l'utilisation comme antigène des chaînes longues des LPS d'App (ELISA-LPS-LC) (DUBREUIL et al, 2000 ; GOTTSCHALK et TAYLOR, 2005). On dispose actuellement d'antigènes spécifiques des sérotypes 2, 5, 10 ou 12 et des sérogroupes 1-9-11, 4-7 et 3-6-8.

Exceptionnellement, des souches non pathogènes qui appartiennent à une espèce bactérienne biochimiquement et antigéniquement similaire mais génétiquement différente d'App peuvent coloniser certains animaux et provoquer une très faible réponse sérologique vis-à-vis du sérotype 1-9-11 (GOTTSCHALK et al, 2003). En général, un faible pourcentage de sujets est alors trouvé douteux ou positif, à des titres peu élevés. Nous avons récemment étudié une souche atypique d'App sérotype 1 qui ne possède pas de « LC-LPS » et ne génère pas d'anticorps détectables par le test ELISA-LPS-LC (observations non publiées). Cependant, ce type de souche (isolée en 1991) dont l'origine est vraisemblablement une mutation ponctuelle n'a jamais plus été rencontrée depuis. Plus récemment, un test ELISA permettant de détecter les anticorps dirigés contre la toxine ApxIV a été développé. Il permet de détecter indistinctement les infections par tous les sérotypes d'App (DREYFUS et al, 2004). Ce test n'a toutefois pas été validé à large échelle. A quel moment doit-on utiliser ces tests ? Différentes options sont suggérées dans le tableau 2. Chaque test peut avoir une utilisation différente en fonction des objectifs recherchés. Il est important de se rappeler que rares sont les troupeaux qui ne sont pas infectés par un ou plusieurs sérotypes d'App. Il est donc normal de trouver dans ces troupeaux des anticorps contre les sérotypes présents et contre la toxine apxIV.

## **3. LA MISE EN ÉVIDENCE D'APP CHEZ LES ANIMAUX D'UN TROUPEAU SUSPECT D'ÊTRE INFECTÉ**

La sérologie constitue le meilleur moyen de dépister un troupeau infecté en absence de signes cliniques et de lésions typiques à l'abattoir (technique peu coûteuse, facilement automatisable, sensibilité satisfaisante). La prévalence de sujets réacteurs pour un sérotype donné peut être faible et elle peut varier selon l'âge des animaux et dans le temps, il est donc important d'examiner un nombre suffisant de sujets et de ne pas conclure sur un seul résultat négatif.

Il arrive rarement que la sérologie donne des résultats difficiles à interpréter comme par exemple une faible prévalence et des titres faibles à l'échelle du troupeau (ceci est différent du fait, souvent observé en France, de ne pas croire à un résultat clairement positif dans un troupeau sans signes cliniques). Dans ces cas relativement exceptionnels, on doit

avoir recours à la mise en évidence d'App par isolement ou par PCR. L'isolement d'App à partir des amygdales est difficile au moyen des techniques bactériologiques conventionnelles. Au Canada et au Danemark, une méthode a été mise au point et est utilisée avec succès pour un isolement sélectif dirigé envers un sérotype en particulier : l'isolement immunomagnétique (GAGNE et al, 1998 ; ANGEN et al, 2001). Cette technique est toutefois onéreuse.

La technique d'amplification génique (PCR) peut aussi être utile. Différents tests PCR ont récemment été comparés et validés au niveau du terrain (FITIPALDI et al, 2003). La méthode PCR s'est avérée beaucoup plus sensible que l'isolement, en particulier à partir de biopsies d'amygdales. La plupart de ces tests ne peuvent pas différencier les sérotypes (ils indiquent la présence ou l'absence d'App). Or, la plupart des troupeaux peuvent être infectés par des sérotypes « moins pathogènes ». Par conséquent, un résultat positif par PCR ne permet pas de conclure que le troupeau est infecté par un sérotype pathogène (exemple, le sérotype 2 en France). Des résultats négatifs sont évocateurs de l'absence d'App, mais il faut que les tests aient porté sur un nombre suffisant d'animaux, et pendant une durée significative pour tirer des conclusions. On suggère d'examiner les animaux positifs ou suspects en sérologie car il semble y avoir une très bonne corrélation entre une réaction positive en sérologie et un résultat positif en PCR au niveau des amygdales (FITIPALDI et al, 2003). Plus récemment, des tests PCR spécifiques de certains sérotypes ont été rapportés (ANGEN et JESSING, 2004). Une fois validés, ces tests pourraient être très utiles.

La technique PCR est extrêmement utile également pour confirmer l'identité de souches isolées des amygdales et identifiées comme étant de l'App par des tests phénotypiques (tests biochimiques, sérotypie). En effet, comme mentionné précédemment, il existe des espèces bacté-

riennes proches d'App, que l'on pourrait appeler des « App-like », qui possèdent le profil biochimique d'App, qui sont sérotypées comme des sérotypes 1 (au Canada) ou 9 (en France) mais qui n'appartiennent pas à l'espèce pleuropneumoniae (GOTTSCHALK et al, 2003). Dans notre laboratoire (Université de Montréal), chaque souche isolée d'amygdales et qui est identifiée comme étant de l'App est examinée par PCR avant même d'effectuer la sérotypie. Dans le cas où le résultat s'avère négatif, la sérotypie n'est pas effectuée.

#### 4. VERS OÙ PEUT S'ORIENTER LA RECHERCHE ?

Bien que la pleuropneumonie porcine soit une maladie très étudiée, il existe encore plusieurs interrogations la concernant : connaît-on le temps pendant lequel un animal peut rester porteur d'App ? Quelle est la durée des anticorps circulants ? Existe-t-il une corrélation entre l'état de porteur asymptomatique et la durée/le titre des anticorps ? Quelle est la corrélation entre le niveau des anticorps maternels, le temps et le degré de colonisation des porcelets ? Les anticorps maternels induits après une vaccination des truies ou cochettes ont-ils un rôle analogue à celui des anticorps présents chez les truies naturellement infectées, dans la prévention (même partielle) de la colonisation de l'appareil respiratoire du porcelet ? Quelle variation dans la réponse y-a-t-il entre les différents types de vaccin (bactérines, vaccins sous-unitaires, vaccins vivants, etc.) du point de vue degré et durée de protection ? Pourquoi certains troupeaux sont-ils infectés par plusieurs sérotypes en maternité (truies, cochettes) mais que seul l'un d'entre eux est parfois transmis aux porcelets ? Pourquoi certains troupeaux présentent-ils des signes cliniques en engraissement lorsque la prévalence sérologique en maternité (et même en engraissement!!!) vis-à-vis du sérotype impliqué reste faible ? Beaucoup d'autres questions restent encore sans réponse. Il s'agit de poursuivre nos efforts en vue de les élucider.

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDREASEN M., MOUSING J., KROGSGAARD T. et al, 2001. *Prev. Vet. Med.* ; 49, 19-28.
- ANGEN, O., JESSING S., 2004. *Proc Int Congr Pig Vet. Soc.* ; 18, 161.
- ANGEN O., HEEGAARD P.M., LAVRISTSEN D. T. et al, 2001. *Vet. Microbiol.*, 79, 19-29.
- BLACKALL J., KLAASEN H.L., VAN DEN BOSCH H. et al, 2002. *Vet. Microbiol.*, 84, 47-52.
- BOSSÉ J. T., JANSON H., SHEEHAN B., et al, 2002. *Microb. Infect.*, 4, 225-235.
- DESROSIERS R., 2004. Howard Dunne Memorial Lecture. *Proc Am Ass Swine Vet* 9-37.
- DESROSIERS R., MOORE C., 1998. *Swine Health Prod.*, 6, 263-265.
- DREYFUS A., SCHALLER A. NIVOLLET S. et al, 2004. *Vet. Microbiol.*, 99, 227-238.
- DUBREUIL D, JACQUES M., MITTAL, K. et al, 2000. *Animal Health Res. Rev.*, 2, 73-93.
- FITIPALDI N., BROES A., HAREL J. et al, 2003. *J. Clin. Microbiol.*, 41, 5085-5093.
- FRANK R.K., CHENGAPPA M. M., OBERST R. D. et al, 1992. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 4, 270-278.
- FUSSING V., BAFOD K., NIELSEN R. et al, 1998. *Vet. Micro.*, 64, 145-162.
- GAGNÉ A., LACOUTURE S., BROES A. et al, 1998. *J. Clin. Microbiol.*, 36, 251-254.
- GAMBADE P, MORVAN H., 2001. *Bulletin des GTV.*, 12, 19-22.
- GOTTSCHALK M., TAYLOR D.J., 2005. In: Straw B. E., D'Allaire S., Mengeling W. L., Taylor D. J. (Eds). *Disease of Swine.* (9<sup>th</sup> Edition). Sous presse.
- GOTTSCHALK M., BROES A., MITTAL K. et al, 2003. *Vet. Microbiol.*, 92, 87-101.
- KLOPFENSTEIN, C., PARADIS, M. A., GOTTSCHALK M. et al, 2004. *Proc. Int. Congr. Pig Vet. Soc.*, 18, 511.
- MALDONADO J., RIERA P., MARTINEZ E., et al, Riera, P., 2004. *Proc. Int. Congr. Pig Vet. Soc.*, 18, 159.
- NIELSEN R., ANDRESEN L. O.; PLAMBECK T. et al, 1997. *Vet. Microbiol.*, 54, 35-46.
- PARADIS M. A., VESSIE G. H., MERRILL J.K. et al, 2004. *Can J Vet Res.*, 68, 7-11.
- POL J., VAN LEENGOED L. A. M. G., STOCKHOF N., 1997. *Vet Micro*, 55, 259-264.
- ZHUANG Q., WACHMANN H., MORTENSEN S. et al. *Proc. Int. Congr. Pig Vet. Soc.*, 2, 228.