

L'isolement d'*Actinobacillus pleuropneumoniae* en France

B. CHEVALLIER (1), H. MORVAN (2), S. GUZYLACK (1), Marylène KOBISCH (1)

(1) C.N.E.V.A. - Zoopôle, les Croix, BP 53, 22440 Ploufragan

(2) L.D.A. 22 - Zoopôle, le Sabot, BP 54, 22440 Ploufragan

avec la collaboration de D. Dréau, G. Harly-Gerster, M. Fabre, D. Baroux, J. Catel, P. Giraud, J.-L. Cheval, C. David, M. Bonnier, F. de Bastard, G. Fortier, J. Guillotin, B. Michel, R. Rose, J. Szymanski

L'isolement d'*Actinobacillus pleuropneumoniae* en France

La pleuropneumonie porcine est devenue, depuis ces 15 dernières années, une des principales maladies d'origine bactérienne en production porcine. *Actinobacillus pleuropneumoniae*, l'agent étiologique de la pleuropneumonie porcine, est une bactérie Gram-négative de la famille des *Pasteurellaceae*, qui comporte deux biovars et 12 serovars. 1158 isollements d'*A. pleuropneumoniae*, réalisés dans 13 laboratoires d'analyses vétérinaires français, ont été identifiés depuis 1989. 89% de ces isollements ont été réalisés à partir de porcs bretons. Les sérotypes 9-11 et 2 sont majoritaires en Bretagne et en Pays de Loire (58%), les autres régions françaises présentant une répartition plus homogène des sérotypes observés. L'isolement d'*A. pleuropneumoniae* a augmenté d'un facteur 5 en Bretagne depuis 1989, contrairement aux autres régions où il ne semble pas y avoir eu d'augmentation. Nous n'avons pas observé de différence dans la répartition des sérotypes d'*A. pleuropneumoniae* isolés en fonction du stade d'élevage des animaux infectés. Par contre, les sérotypes 9-11 et 2 sont isolés en majorité au niveau des poumons, alors qu'il ne semble pas y avoir de sérotypes préférentiellement isolés au niveau des cavités nasales et des amygdales. Les sérotypes d'*A. pleuropneumoniae* 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 et 12 sont présents en France, les plus fréquents étant les sérotypes 9-11, 2 puis 3-8, 7, 12 et 4.

Actinobacillus pleuropneumoniae isolated in France

During the last 15 years in France porcine pleuropneumonia has become one of the main bacterial diseases in pig production. *Actinobacillus pleuropneumoniae*, the aetiological agent of this pleuropneumonia, is a Gram-negative bacterium of the *Pasteurellaceae* family. Two biovars and 12 serotypes can be distinguished in this species. A total of 1158 *A. pleuropneumoniae* strains have been isolated in 13 French veterinary laboratories since 1989. Of these 89% were isolated from growing pigs in the Brittany region. Serotypes 9-11 and 2 were the most frequently encountered in Brittany and Pays de Loire (58%), in the other regions of France the distribution of serotypes was more homogeneous. In contrast to the other regions where no increase was observed, isolation of *A. pleuropneumoniae* has increased 5 fold in Brittany since 1989. We have not observed a difference in serotype distribution between the different stages of production of pigs. However, serotypes 9-11 and 2 are usually isolated from lung tissue, whereas nasal cavities and tonsils show no particular serotype distribution. *A. pleuropneumoniae* serotypes 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 and 12 are present in France, the most frequently isolated being 9-11, 2 then 3-8, 7, 12 and 4.

INTRODUCTION

L'émergence de la pleuropneumonie porcine parmi les maladies importantes correspond à la mise en place de l'intensification de la production porcine (FENWICK et HENRY, 1994). Parmi les agents infectieux impliqués dans la pathologie respiratoire entraînant des saisies totales ou partielles, *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App), agent étiologique de la pleuropneumonie porcine, joue un rôle prépondérant et cause des pertes économiques considérables dans tous les élevages industriels de porcs (NICOLET, 1992).

La forme aiguë de l'infection à App est caractérisée par une hyperthermie sévère (>41°C), une somnolence, une perte d'appétit, des vomissements, une toux et une hyperpnée. La mortalité peut survenir 4 heures après les premiers signes cliniques par choc endotoxique (FENWICK et HENRY, 1994). A l'autopsie, on observe une pleuropneumonie hémorragique essentiellement au niveau des lobes diaphragmatiques, souvent accompagnée de pleurésie, d'une pneumonie lobaire et de péricardite (NICOLET, 1992). La forme chronique se caractérise par des accès de toux et un retard de croissance. On observe généralement une chute du Gain Moyen Quotidien. Les lésions les plus fréquentes sont des endocardites, arthrites et des zones de nécrose circulaire délimitées par du tissu fibreux qui sont retrouvées sur les lobes diaphragmatiques des poumons (NICOLET, 1992). Les porcs ayant survécu à la forme aiguë ou subissant la forme chronique sont souvent porteurs d'App au niveau des cryptes amygdaliennes et dans les foyers de nécrose du parenchyme pulmonaire (AJITO et al, 1996).

A. pleuropneumoniae est une bactérie Gram négatif, appartenant à la famille des *Pasteurellaceae* (POHL et al, 1983). Cette espèce comporte deux biovars et 12 serovars au sein du biovar 1 (NIELSEN, 1986). Les souches de biovar 1 exigent pour leur croissance la présence de facteur V (NAD). Les souches qui ne montrent pas cette dépendance en NAD appartiennent au biovar 2. Les souches appartenant à ce biovar peuvent également être groupées en serovars. Les plus fréquemment rencontrés sont, selon FREY (1995), les serovars 2, 4, 7 et 9. L'isolement des App est réalisé en routine sur gélose chocolat, gélose PPLO, ou sur une gélose sélective de base au sang additionnée de lincomycine, bacitracine et cristal violet. Les colonies sont repérées après 16 à 18 heures d'incubation sous 5% de CO₂. Les colonies repiquées sont identifiées par référence aux caractères biochimiques de l'espèce et des biovars.

Le sérotypage des souches, basé principalement sur les composants de la capsule et de la membrane externe, est réalisé en routine par co-agglutination (MITAL et al, 1983). Cependant des réactions croisées sont observées entre sérotypes formant des séro-groupes, comme 1-9-11 (MITAL, 1990), 3-6-8 (MITAL et al, 1988) et 4-7 plus rarement (MITAL et al. 1983). Il est néanmoins possible de séparer ces sérotypes en utilisant d'autres techniques comme l'immunodiffusion sur des bactéries chauffées (MITAL et al, 1988).

Au Canada, depuis 1982, la gélose chocolat a été remplacée par le milieu PPLO pour la culture des App, ce qui a permis de passer de 30% de souches autoagglutinantes à moins de 1 % (MITTAL et al, 1992). Les sérotypes 1, 5 sont dominants en Amérique du nord et du sud, alors que ce sont les 2, 3, 9 et 11 qui dominent en Europe (MITTAL et al, 1992).

Récemment quelques souches d'App uréase négative ont été isolées en Bretagne (LDA22). Comme le présentent BLANCHARD et al (1993), ces souches peuvent néanmoins induire de la pleuropneumonie hémorragique. Quelques souches possèdent des résistances aux antibiotiques comme en Espagne pour le thiamphénicol, la colistine, la rifampicine ou la céphalexine (GUTIERREZ et al, 1993). Quelques souches peuvent être résistantes aux bêta-lactamides par production de bêta-lactamase (1 souche sur 137 au LDA22 en 1996).

La sérologie est fondée sur une technique ELISA utilisant des lipopolysaccharides capsulaires bactériens purifiés (GOTT-SCHALK et al, 1994a et 1994b). Cette technique a été mise en place en France pour les sérotypes 1-9-11 et 2 (CNEVA-Ploufragan).

On relie généralement le pouvoir pathogène au serovar. Récemment FREY (1995) a montré que des toxines sont impliquées dans l'expression du pouvoir pathogène de la bactérie. L'expression des 3 toxines ApxI, ApxII et ApxIII est différente en fonction des sérotypes, ce qui peut expliquer les différences de virulence observées (KAMP et al, 1994 ; BECK et al, 1994 ; JACOBSEN et al, 1996). Cette diversité génétique peut être exploitée pour le diagnostic. En effet, FREY et al (1995) ont développé un typage utilisant la technique PCR basé sur les gènes codant pour les toxines Apx. D'autres techniques de biologie moléculaire présentent des alternatives pour la détection et le typage des App (SIROIS et al, 1991 ; HENNESSY et al, 1993 ; GRAM et al, 1996).

Ayant constaté une augmentation de la pleuropneumonie porcine ces dernières années en Bretagne, nous avons voulu évaluer l'augmentation des isolements d'App, faire un bilan des sérotypes présents en France et éventuellement mettre en évidence des différences dans la répartition géographique des sérotypes.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Récolte des données

Nous avons choisi de contacter les laboratoires d'analyses vétérinaires des régions françaises productrices de porcs. Au cours d'une prospection téléphonique, nous avons pu identifier les laboratoires possédant des données l'isolement d'App durant ces 8 dernières années. Nous avons ensuite adressé, à 13 laboratoires vétérinaires départementaux et 1 laboratoire privé, des formulaires afin de recueillir ces données : le sérotype de la souche, la date de l'isolement, le lieu du prélèvement, le ou les organes à partir duquel l'iso-

lement a été réalisé et l'âge du porc infecté. Les isolements réalisés par le LDA22 ont été séparés en deux parties. De 1989 à 1995, seuls la date d'isolement et le sérotype de la souche ont été relevés, alors que pour 1996 l'ensemble des données demandées aux autres laboratoires a été récolté.

1.2. Traitement des données

Les données ont été standardisées et regroupées en un nombre de classes limités permettant un traitement statistique.

1.2.1. Le sérotype d'App

Comme nous l'avons mentionné dans l'introduction, certains sérotypes du biovar 1 présentent des réactions croisées (1-9-11, 3-6-8 et 4-7). La sérotypie effectuée par la seule technique de co-agglutination entraîne donc des imperfections, ainsi afin de limiter les erreurs nous avons créé des classes.

Dans notre étude, les souches appartenant au biovar 2 ont été regroupées (B2). Les souches, qui ne donnent aucune agglutination, sont notées : non-typable (NT). D'autres souches, de par leur caractère rugueux, agglutinent d'une manière aspécifique, elles sont notées : autoagglutinables (A). Les souches non sérotypées et celles donnant une association de sérotypes non décrite sont regroupées : non déterminées (ND). Pour certains calculs statistiques les sérotypes mineurs ont été regroupés sous le terme «autres sérotypes».

1.2.2. Le site d'isolement d'App chez l'animal

Les isolements ont été identifiés par département, puis regroupés par région : BR, Bretagne ; PL, Pays de Loire ; NO, Normandie ; RA, Rhône-Alpes ; BO, Bourgogne ; PC, Poitou-Charentes ; CA, Champagne-Ardenne ; NP, Nord-Picardie ; SO ; Sud-Ouest.

1.2.3. Le stade du porc prélevé dans l'élevage

Nous avons réparti les porcs en 3 groupes, selon leur position dans l'élevage. Les porcelets non sevrés et les truies font partie de la maternité (MA). Les porcelets en post-sevrage sont notés (PS) et les porcs engrais (EN). Si l'âge du porc n'a pas été mentionné par le laboratoire, le cas est non déterminé (ND).

1.2.4. Les organes utilisés pour l'isolement

Nous avons réparti les organes à partir desquels App a été isolé en trois classes. Premier cas : l'isolement a été réalisé au moins à partir du poumon (P). Deuxième cas : l'isolement a été réalisé à partir des cavités nasales ou des amygdales (CN-A). Les bactéries isolées d'organes dont l'origine n'est pas connue, ne sont pas prises en compte dans cette étude.

1.2.5. Étude statistique

Les différences de distribution ont été quantifiées en utilisant

le test du chi-deux. Si le niveau de signification du test (α) est inférieur à 0,05 les différences sont considérées comme significatives.

2. RÉSULTATS

2.1. Les isolements d'App identifiés

La plupart des isolements d'App réalisés dans les laboratoires d'analyses proviennent de porcs ayant développé une pathologie. Il y a donc un biais important à prendre en compte pour les interprétations et les conclusions faites à partir de ces observations.

Nous avons reçu les données concernant l'isolement d'App de 13 laboratoires d'analyses vétérinaires des départements : 01, 02, 14, 21, 22, 29, 35, 53, 56, 59, 62, 65 et 72. 1156 isolements ont été pris en compte de 1989 à 1996. 92 % ont été réalisés dans les laboratoires de Bretagne.

Les laboratoires des départements 24 et 31 n'ont pas réalisé d'isolement d'App, ces dernières années. Nous n'avons pas eu les données du laboratoire départemental de Haute Garonne, mais très peu d'isolements y ont été réalisés (aucun en 1996). Le laboratoire départemental de Vendée ne réalise plus d'isolements d'App depuis 2 ans. Aucune donnée ne nous a donc été transmise.

2.2. La répartition des isolements d'App par région

Les isolements ont été répartis en fonction de la région d'origine et du sérotype de la souche identifiée (tableau 1). Dans 2 cas sur 1156 isolements, les lieux de prélèvements n'ont pas été identifiés. Si 92 % des analyses sont réalisées en Bretagne, 89 % viennent de prélèvements bretons (Tableau 1). Les Pays de Loire, sont en seconde position, avec 3,5 % des isolements. Les sérotypes les plus fréquemment isolés en France sont ceux du sérotype 1-9-11 puis le sérotype 2 qui représentent 58 % des isolements, les sérotypes 3-6-8, 7 et 12 représentent 27 % des souches isolées. La Bretagne, première région productrice de porcs, est celle qui fournit le plus grand nombre de souches d'App. Si l'on analyse la répartition des sérotypes 1-9-11, 2 et 3-6-8, on ne constate pas de différence significative ($p=0,74$) entre la Bretagne et les Pays de Loire, alors que cette répartition pour l'ensemble des autres régions est significativement différente des deux premières ($p=8.10^{-5}$). La somme des isolements de ces autres régions présente en effet, contrairement à la Bretagne et aux Pays de Loire, une répartition beaucoup plus homogène de leurs 6 premières classes de sérotypes (tableau 1).

2.3. La répartition des isolements par année

Les isolements ont été répartis par région et par année (tableau 2). Il faut noter que l'année 1996 n'est représentée que par ses 9 premiers mois. Nous pouvons observer une

Tableau 1 - Répartition des sérotypes d'App en fonction des régions

Régions	Total	1, 9, 11	2	3, 6, 8	7	12	B2	NT	4	A	5	10	ND	% Régions
BR	1033	373	253	115	104	54	40	20	14	5	6	4	45	89,51
PL	40	16	8	6	2	1		1	1	3			2	3,47
NO	21	1	4	2	3	2	9							1,82
RA	14		1			2							11	1,21
BO	11	2		1		1				2		1	4	0,95
PC	11	3		1		4			1	2				0,95
CA	10	1	4		2	2				1				0,87
NP	8	1	2	4	1									0,69
SO	6	2		3									1	0,52
BR+PL	1073	389	261	121	106	55	40	21	15	8	6	4	47	92,98
Autres	81	10	11	11	6	11	9	0	1	5	0	1	16	7,02
FR	1154	399	272	132	112	66	49	21	16	13	6	5	63	100,00
%FR	100	34,58	23,57	11,44	9,71	5,72	4,25	1,82	1,39	1,13	0,52	0,43	5,46	

BR : Bretagne

PL : Pays de Loire

NO : Normandie

RA : Rhône-Alpes

BO : Bourgogne

CP : Poitou-Charentes

CA : Champagne-Ardennes

NP : Nord-Pas de Calais

SO : Sud-Ouest

FR : France

Autres : Somme des régions autre que la Bretagne et Les Pays de Loire

Tableau 2 - Distribution des isolements d'App par région et par an

Régions	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	89-96
BR	45	54	69	96	174	176	212	207	1033
PL			10	9	2	8	3	8	40
NO				4	6	5	4	2	21
RA			6	3		1	1	3	14
BO				3	2	3	3		11
PC			1	5			3	2	11
CA				2		1		7	10
NP					3	2	1	2	8
SO			1		1	1	1	2	6
FR	45	54	87	122	188	197	228	233	1154
% an	3,90	4,68	7,54	10,57	16,29	17,07	19,76	20,19	

BR : Bretagne

PL : Pays de Loire

NO : Normandie

RA : Rhône-Alpes

BO : Bourgogne

CP : Poitou-Charentes

CA : Champagne-Ardennes

NP : Nord-Pas de Calais

SO : Sud-Ouest

FR : France

augmentation nationale d'un facteur 4 à 5, entre 1989 et 1996. Cette tendance française est le principal reflet des isolements de Bretagne. En effet, nous n'observons pas de réelle progression des isolements d'App dans les autres régions.

La répartition de l'isolement des différentes classes de sérotypes, par année en Bretagne, est présentée dans le tableau 3. Les sérotypes majoritaires restent les mêmes depuis 1989, puisqu'il n'y a pas de différence significative dans la répartition, par an, des 4 premières classes de sérotypes de 1989 à 1996 ($p = 0,123$).

2.4. La répartition des isolements d'App en fonction des différents stades de l'élevage

Le tableau 4 présente la répartition des isolements d'App par sérotype et par stades d'élevage. Ce tableau est organisé en trois parties. La première présente les isolements d'App en 1996 du LDA22 et tous ceux des autres laboratoires (548 sérotypes identifiés au total). La deuxième et la troisième partie séparent, parmi ces 548 isolats, les prélèvements de Bretagne de ceux des autres régions. 70% des isolements d'App sont réalisés à partir de porcs en stade d'engraissement (281/398). La répartition des isolements totaux entre les 3 parties différentes de l'élevage n'est pas significativement différente entre la Bretagne et les autres régions ($p = 0,133$). La distribution des différents sérotypes n'est pas significativement différente dans les trois stades de l'élevage que ce soit sur l'ensemble de la France ($p = 0,29$) ou seulement en Bretagne ($p = 0,38$). Même si le sérotype 2 devient majoritaire (19 isolements contre 17 pour 1-9-11 et 9 pour 3-6-8) en considérant uniquement les porcs bretons de 1996 en engraissement, la répartition de ces 3 classes de sérotypes n'est pas significativement différente ($p = 0,48$) de celle donnée par le tableau 4, pour l'ensemble des porcs bretons de 1996.

2.5. La répartition en fonction des sites infectés

Le tableau 5 présente la répartition des isolements d'App par sérotype et par site de prélèvement. Ce tableau est organisé en trois parties reprenant les mêmes données que celles du tableau 5. 493 isolements ont pu être répartis dans les deux sites de prélèvements. La distribution des sérotypes dans ces deux sites est significativement différente en Bretagne ($p = 3.10^{-8}$) et dans les autres régions (chi-deux de Yates, $p < 0,005$). Les porcs infectés au niveau du poumon, le sont en majorité par les sérotypes 2, 1-9-11 puis 3-6-8. A l'inverse, les porcs porteurs d'App au niveau des amygdales ou des cavités nasales, ne présentent pas de sérotype réellement majoritaire : les sérotypes 12, 7, 2, 1-9-11 et 3-6-8 sont présents à un niveau équivalent et peu supérieur à celui des sérotypes minoritaires.

CONCLUSION

Quatre vingt onze % des isolements d'App sont réalisés dans des laboratoires d'analyses bretons dont 89 % à partir de porcs élevés en Bretagne. L'isolement d'App en Bretagne a augmenté constamment. En effet, il a été multiplié par 5 entre 1996 et 1989. Ces observations sont probablement liées à la densité des élevages en Bretagne qui produisent plus de 50% des porcs français sur moins de 10% du territoire. Cette densité pourrait avoir comme effet de favoriser la multiplication des bactéries et donc l'isolement de cas pathologiques dus à certains sérotypes. En effet, contrairement aux autres régions, les sérotypes 1-9-11 et 2 sont beaucoup plus fréquents en Bretagne. Cette variation dans l'isolement des sérotypes est observée depuis 1989. Les sérotypes 1-9-11 sont considérés comme plus virulents que le sérotype 2 (FREY, 1995). Cependant, les différences de virulence sont difficiles à apprécier dans leur globalité. Ils sont mesurés, le plus souvent à l'aide, de modèles expéri-

Tableau 3 - Répartition des sérotypes d'App par année en Bretagne

Année	Total	1, 9, 11	2	3, 6, 8	7	12	B2	NT	4	A	5	10	ND
1989	45	24	6	8	7								
1990	54	27	8	10	7	2							
1991	68	24	20	9	5	3	4	1			1	1	
1992	96	29	24	18	9	5	2	4	4		1		
1993	174	51	49	19	22	7	6	1		2	2	2	13
1994	177	74	40	12	23	4	8	2					14
1995	212	76	54	17	18	17	5	3	4			1	17
1996	207	68	52	22	13	16	15	9	6	3	2		1
Total	1033	373	253	115	104	54	40	20	14	5	6	4	45

Tableau 4 - Distribution des sérotypes d'App, en fonction des différents stades de l'élevage

	Porc	1,9,11	2	3,6,8	4	5	7	10	12	B2	NT	A	Total
France	MA	17	11	13	2		3	2	4	9		1	62
	PS	13	11	7	2		7		2	2	9	2	55
	EN	60	83	46	10	1	23		20	27	8	3	281
	ND	44	36	13	2	2	13		18	11	4	7	150
	Total	134	141	79	16	3	46	2	44	49	21	13	548
Bretagne	MA	12	10	10	2		2	1	4	7			48
	PS	12	11	5	2		5		2	2	9	2	50
	EN	44	70	38	8	1	21		16	21	7	1	227
	ND	40	31	8	2	2	9		10	10	4	2	118
	Total	108	122	61	14	3	37	1	32	40	20	5	443
Autres	MA	5	1	3			1	1		2		1	14
	PS	1		2			2						5
	EN	16	13	8	2		2		4	6	1	2	54
	ND	4	5	5			4		8	1		5	32
	Total	26	19	18	2	0	9	1	12	9	1	8	105

MA : Maternité, PS : Post-sevrage, EN : engraissement, ND : Non déterminé

Tableau 5 - Distribution des sérotypes d'App, par site d'isolement

	Site	2	1,9,11	3,6,8	B2	7	12	NT	4	A	5	10	Total
France	P	121	107	54	35	22	20	9	9	4	2	1	384
	CN-A	15	14	13	5	16	22	8	7	8		1	109
Bretagne	P	106	89	41	31	21	17	9	8	2	2	1	327
	CN-A	11	8	9	2	11	13	7	6	2			69
Autres	P	15	18	13	4	1	3	0	1	2	0	0	57
	CN-A	4	6	4	3	5	9	1	1	6	0	1	40

P : poumon, CN : cavités nasales, A : amygdales

mentaux (JACOBSEN et al, 1996). Le cas du sérotype 2 en Bretagne semble montrer que l'aptitude d'un sérotype à infecter un grand nombre de porcs, doit faire intervenir des facteurs qui échappent aux modèles expérimentaux. Les Pays de Loire ont une répartition des sérotypes App similaire à celle observée en Bretagne. Si ce type de répartition est lié à la densité et au développement de la maladie, la région Pays de Loire pourrait observer prochainement une augmentation des cas pathologiques.

Il ne semble pas y avoir de corrélation entre l'âge du porc et les sérotypes isolés, puisque nous n'avons pas observé de différences significatives dans la répartition des sérotypes en maternité, en post-sevrage et en engraissement. Cependant le sérotype est fortement lié au site d'isolement. Les porcs infectés au niveau du poumon hébergent en majorité les sérotypes 2, 1-9-11 puis 3-6-8, alors que le portage au

niveau des amygdales ne fait pas ressortir de sérotypes majoritaires. Cette observation est significative en Bretagne et pour les autres régions. Avec ce paramètre, nous avons donc séparé les porcs malades (isolement au niveau du poumon donc contamination pulmonaire plus ou moins ancienne), des porcs porteurs (isolement au niveau des amygdales ou des cavités nasales). Des différences de virulence étant décrites entre les sérotypes (FREY, 1995), nous pouvons constater un portage presque homogène de tous les sérotypes, mais une infection pulmonaire prédominante par les sérotypes les plus virulents.

Des vérifications par immuno-diffusion ont été réalisées pour quelques souches identifiées comme étant de sérotype 1. Aucune de ces souches n'était de sérotype 1, puisqu'elles ont toutes été reclassées. Il n'y aurait donc pas d'App de sérotype 1 en France. La même remarque peut

être faite pour les souches de sérotype 6. Les sérotypes d'App 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 et 12 sont donc présents en France, les plus fréquents étant les sérotypes 9-11 et 2, puis 3-8, 7, 12, et 4. Les sérotypes 5 et 10 sont très peu isolés.

L'isolement bactériologique et le sérotypage par co-agglutination ont cependant leurs limites. Dans le cas de lésions pulmonaires, l'isolement d'App ne pose pas de difficulté (forte concentration bactérienne avec très peu d'autres bactéries). Mais l'isolement d'App à partir des amygdales et des cavités nasales est plus délicat à cause de la présence de nombreuses autres bactéries (*Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *Escherichia coli*...) et de l'absence de milieu d'isolement réellement sélectif. Pour le sérotypage, des anticorps monoclonaux ont été obtenus pour les sérotypes 1 et 5 (LACOUTURE et al, 1996), ils évitent les réactions croisées entre les sérotypes. Couplés à des sphères de polystyrène, ils sont faciles d'utilisation en agglutination rapide sur lame de verre (DUBREUIL et al, 1996). De par l'importance épidémiologique du portage asymptomatique d'App (FENWICK et HENRY, 1994), il est nécessaire de

développer de nouveaux outils de diagnostic plus spécifiques et plus sensibles. Une première utilisation expérimentale de la PCR, réalisée par GRAM et al (1996), permet la détection d'App après culture sur milieu solide (additionné de lincomycine et bacitracine) des prélèvements d'amygdales. 65% de prélèvements positifs ont été identifiés par PCR contre 23% en utilisant les techniques de bactériologie classique. Ces techniques de biologie moléculaire, qui sont en cours de développement dans de nombreux laboratoires de recherche, pourront être utilisées avec profit pour réaliser l'identification et le typage des App.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les directeurs et les techniciens des différents laboratoires d'analyses de leur collaboration et de leur aide précieuse, l'ARIP (Association Régionale Interprofessionnelle Porcine) qui finance les travaux menés au CNEVA-Ploufragan dans le cadre du 11ème plan Etat-Région, et A. Auffray qui a saisi une grande partie des données collectées.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AJITO T., HAGA Y., HOMMA S., GORYO M., OKADA K., 1996. J. Vet. Med. Sci. 58, 297-303.
- BECK M., VAN DEN BOSCH J. F., JONGENELEN I. M. C. A., LOEFFEN P. L. W., NIELSEN R., NICOLET J., FREY J., 1994. J. Clin. Microbiol. 32, 2749-2754.
- BLANCHARD P. C., WALKER R. C., GARDNER I., 1993. J. Vet. Diagn. Invest. 5, 279-282.
- DUBREUIL J., LETELLIER A., STENBAEK E., GOTTSCHALK M., 1996. Can. J. Vet. Res. 60, 69-71.
- FENWICK B., HENRY S., 1994. JAVMA. 204, 1334-1340.
- FREY J., 1995. Trends Microbiol. 3, 257-261.
- FREY J., BECK M., VAN DEN BOSCH J., SEGERS R. P. A. M., NICOLET J., 1995. Mol. Cell. Probes. 9, 277-282.
- GOTTSCHALK M., ALTMAN E., CHARLAND N., DE LASALLE F., DUBREUIL J. D., 1994a. Vet. Microbiol. 42, 91-104.
- GOTTSCHALK M., DE LASALLE F., RADACOVICI S., DUBREUIL J. D., 1994b. Vet. Microbiol. 38, 315-327.
- GRAM T., AHRENS P., NIELSEN J. P., 1996. Vet. Microbiol. 51, 95-104.
- GUTIERREZ C. B., PIRIZ S., VADILLO S., RODRIGUEZ FERRI E. F., 1993. Am. J. Vet. Res. 54, 546-550.
- HENNESSY K. J., IANDOLO J. J., FENWICK B. W., 1993. J. Clin. Microbiol. 31, 1155-1159.
- JACOBSEN M. J., NIELSEN J. P., NIELSEN R., 1996. Vet. Microbiol. 49, 159-168.
- KAMP E. M., VERMEULEN T. M. M., SMITS M. A., HAAGSMA J., 1994. Infect. Immun. 62, 4063-4065.
- LACOUTURE S., JACQUES M., MITTAL K. R., GOTTSCHALK M., 1996. 14th IPVS Congress, Ilaty, 1996.
- MITTAL K. R., HIGGINS R., LARIVIERE S., 1983. J. Clin. Microbiol. 18, 1355-1357.
- MITTAL K. R., 1988. J. Clin. Microbiol. 28, 535-539.
- MITTAL K. R., HIGGINS R., LARIVIERE S., NADEAU M., 1992. Vet. Microbiol. 32, 135-148.
- MITTAL K. R., HIGGINS R., LARIVIERE S., 1988. J. Clin. Microbiol. 26, 985-989.
- NICOLET J., 1992. In «Diseases of swine», 7ème édition, 401-408. Iowa State University Press, Ames, 401-403.
- NIELSEN R., 1986. Acta. Vet. Scand. 27, 453-455.
- POHL S., BERTSCHINGER H. U., FREDERIKSEN W., MANNHEIM W., 1983. Int. J. Syst. Bact. 33, 510-514.
- SIROIS M., LEMIRE E. G., LEVESQUE R. C., 1991. J. Clin. Microbiol. 29, 1183-1187.