

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE *LAWSONIA INTRACELLULARIS* : SON IMPORTANCE EN MEDECINE VETERINAIRE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Christophe, Auguste GALLON
Né, le 4 janvier 1975 à NANCY (Meurthe-et-Moselle)

Directeur de thèse : **M. le Professeur Jean EUZEBY**

JURY

PRESIDENT :
Mme Elisabeth ARLET-SUAU

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Jean EUZEBY
M. Jean-Luc GUERIN

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur par intérim	: M.	G. BONNES
Directeurs honoraires.....	: M.	R. FLORIO
	M.	R. LAUTIE
	M.	J. FERNEY
	M.	G. VAN HAVERBEKE
Professeurs honoraires.....	: M.	A. BRIZARD
	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	D. GRIESS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **CHANTAL Jean**, *Pathologie infectieuse*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **GUELFY Jean-François**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **ECKHOUTTE Michel**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie - Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEUR ASSOCIE

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*
- M. **TAMZALI Youssef**, *Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAITRES DE CONFERENCES 1^{ère} CLASSE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MESSUD-PETIT Frédérique**, *Pathologie infectieuse*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VALARCHER Jean-François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES 2^e CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
Mlle **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du Bétail*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Productions animales*
Mlle **HAY Magali**, *Zootéchnie*
M. **MARENDA Marc**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*

MAITRES DE CONFERENCES 2^e CLASSE

- M. **GRANDJEAN Christophe**, *Gestion de la santé en élevage des ruminants*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*

A Madame le Professeur Arlet-Suau,

Professeur des Universités

Praticien hospitalier en Médecine interne,

qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Remerciements respectueux.

A Monsieur le Professeur Euzéby,

Professeur en Pathologie Générale , Microbiologie, Immunologie

à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

qui nous a fait l'honneur de diriger le jury de cette thèse, nous a conseillé dans le travail de rédaction, et a corrigé ce travail.

Remerciements chaleureux.

A Monsieur le Docteur Guérin,

Maître de Conférences en Productions Animales

à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer au jury de cette thèse.

Remerciements sincères.

**A la mémoire de mon père,
&
A tous ceux que j'aime.**

Sommaire

<u>Table des illustrations</u>	9
<u>Introduction</u>	10
<u>I Historique et taxonomie :</u>	11
1.1 <u>Historique</u>	11
1.2 <u>Taxonomie</u>	12
<u>II Caractères bactériologiques :</u>	14
2.1 <u>Morphologie et caractères généraux</u>	14
2.2 <u>Culture</u>	15
2.3 <u>Résistance</u>	16
2.4 <u>Pouvoir pathogène :</u>	17
2.4.1 <u>Virulence de la bactérie</u>	17
2.4.2 <u>Influence des antibiotiques</u>	17
2.4.3 <u>Nécessité d'une association</u>	18
2.4.4 <u>Autres facteurs influençant</u>	19
2.4.5 <u>Conclusion</u>	20
2.5 <u>Pouvoir immunogène et antigène</u>	21
<u>avec d'autres bactéries</u>	
<u>le pouvoir pathogène</u>	
<u>III Pathogénie :</u>	24
3.1 <u>Modalités de l'infection</u>	24
3.2 <u>Schéma pathogénique</u>	26
3.3 <u>Interprétation et étude chronologique des lésions</u>	28
<u>chez le hamster</u>	
3.4 <u>Réaction de l'organisme infecté</u>	29

IV Etude clinique : 29

4.1 <u>Chez le porc :</u>	29
4.1.1 <u>Adénomatose intestinale</u>	30
4.1.2 <u>Entéropathie hémorragique</u>	30
4.1.3 <u>deux autres formes plus discrètes</u>	31
4.2 <u>Chez les poulains</u>	31
4.3 <u>Chez les hamsters</u>	31

V Lésions : 31

5.1 <u>Chez les porcs</u>	31
5.2 <u>Chez les hamsters</u>	34
5.3 <u>Chez les autres espèces</u>	34

VI Epidémiologie : 35

6.1 <u>Epidémiologie descriptive :</u>	35
6.1.1 <u>Réceptivité</u>	35
6.1.2 <u>Importance économique</u>	38
6.1.3 <u>Fréquence et incidence</u>	38
6.1.4 <u>Répartition géographique</u>	39
6.2 <u>Epidémiologie analytique :</u>	40
6.2.1 <u>Sources et matières virulentes</u>	40
6.2.2 <u>Modes de transmission</u>	41
6.2.3 <u>Facteurs de réceptivité</u>	41
6.2.4 <u>Facteurs déclenchants</u>	42
6.3 <u>Epidémiologie synthétique</u>	42

VII Diagnostic : 42

7.1 <u>Diagnostic de suspicion :</u>	44
7.1.1 <u>Eléments épidémiologiques</u>	44
7.1.2 <u>Signes cliniques et nécropsiques</u>	44
7.1.3 <u>Diagnostic différentiel</u>	44
7.2 <u>Diagnostic de présomption : diagnostic histologique</u>	46
7.3 <u>Diagnostic de certitude : diagnostic expérimental</u>	47
7.3.1 <u>Diagnostic bactériologique</u>	47
7.3.2 <u>Diagnostic immunologique</u>	47
7.3.3 <u>Diagnostic sérologique</u>	48
7.3.4 <u>Diagnostic moléculaire</u>	49

<u>VIII Prophylaxie et traitement :</u>	52
8.1 <u>Prévention:</u>	53
8.1.1 <u>Programmes de prévention</u>	53
<u>incluant des changements des techniques de production</u>	53
8.1.2 <u>Utilisation d'antibiotiques préventifs</u>	53
8.1.3 <u>Mesures d'hygiène indispensables</u>	55
8.1.4 <u>Développement potentiel de vaccins</u>	56
8.2 <u>Traitement</u>	57
8.3 <u>Bilan</u>	70
<u>Conclusion</u>	71
<u>Références bibliographiques</u>	72

Table des illustrations

Figures :

Figure 1 : Schéma pathogénique	27
Figure 2 : Aspect histologique des entérites prolifératives	34
Figure 3 : Epidémiologie synthétique	43

Graphiques :

Graphique 1 : Gain de poids journalier moyen.	60
Graphique 2 : EPP comme cause de toute la mortalité.	61
Graphique 3 : Causes probables de mortalité chez les groupes traités.	62
Graphique 4 : Mortalité et causes chez le groupe non infecté.	62
Graphique 5 : Incidence de l'EPP chez les animaux sacrifiés.	63
Graphique 6 : Résultats des jours de vie avec observation clinique anormale (%).	65
Graphique 7 : Evaluation « immuno histopathologique ».	66

Tableaux :

Tableau 1 : Comparaison de la pathogénie de l'infection à <i>Lawsonia intracellularis</i> avec celle d'autres infections bactériennes intracellulaires [51].	20
Tableau 2 : Identification des bactéries intracellulaires incurvées retrouvées chez les animaux affectés d'entéropathie proliférative telle que <i>Lawsonia intracellularis</i> [51].	37
Tableau 3 : Etiologie bactérienne des gastro-entérites chez différentes espèces [34].	45
Tableau 4 : Etiologie des gastro-entérites du porc [34].	46
Tableau 5 : CMI (en µg/ml) de divers antibiotiques contre <i>Lawsonia intracellularis</i> .	55
Tableau 6 : Causes probables de mortalité.	61
Tableau 7 : Résultats cliniques de l'étude.	64
Tableau 8 : Résultats de production de l'étude.	64
Tableau 9 : Jours de vie avec score supérieur à 2 en pourcentage.	65
Tableau 10 : Pourcentage de positifs à la PCR (positifs/total échantillonné).	65
Tableau 11 : Valeurs de concentrations minimales inhibitrices (CMI ₅₀ en µg/ml) vis-à-vis de <i>Lawsonia intracellularis</i> .	68
Tableau 12 : Mortalité en pourcentage.	68
Tableau 13 : Scores de diarrhée.	69
Tableau 14 : Performances de croissance.	69
Tableau 15 : Examen des fèces à la fin.	69

Introduction

Les entéropathies prolifératives du porc sont fréquentes et économiquement importantes. C'est un ensemble d'affections caractérisées par un épaissement de la muqueuse de l'intestin grêle et parfois du gros intestin, par une prolifération et une immaturité des cellules de l'épithélium intestinal et par une absence de cellules calciformes [36, 106]. Cette lésion primaire est à l'origine de diverses manifestations cliniques selon l'âge des animaux et l'éventuelle présence de lésions traumatiques de la muqueuse [36, 106]. Leur étiologie est restée longtemps mystérieuse. Elles ont longtemps été attribuées à des *Campylobacter* sp. et ce n'est que récemment, en 1995, que ces nouvelles bactéries ont pu être identifiées et nommées *Lawsonia intracellularis* [97]. Cette bactérie, parasite obligatoire, affecte principalement la filière porcine, causant alors des pertes économiques (de la mortalité parfois mais surtout une baisse des performances des porcs en croissance avec un gain de poids diminué), mais elle touche également d'autres espèces ; on suspecte alors aujourd'hui une possible contamination croisée ce qui pose problème dans le traitement et la prévention des entéropathies prolifératives du porc. La sensibilisation des éleveurs vis-à-vis de la maladie a considérablement augmenté ces dix dernières années.

Les caractères uniques de cette bactérie, sa répartition mondiale et sa réceptivité chez de nombreuses espèces motivent l'étude suivante ; celle-ci s'attachera à rassembler les connaissances acquises depuis peu sur *Lawsonia intracellularis*, les hypothèses émises sur les mécanismes pathogéniques ainsi que les problèmes posés en terme de diagnostic, de prévention et de traitement.

I Historique et Taxonomie :

1.1 Historique :

Biester et Schwarte ont décrit l'entérite proliférative en 1931 (identifiée dans les abattoirs américains) [4, 5].

Dans les années 1970, les iléites prolifératives ont été décrites et sont connues comme étant un ensemble complexe d'entités cliniques. Des bactéries intracellulaires ont été observées dans les cellules épithéliales intestinales des porcs malades sans qu'elles puissent être isolées ; en effet, ce sont Rowland et al. qui ont été les premiers en 1973 à décrire la présence d'une bactérie incurvée dans les lésions prolifératives [132]. En 1974, Rowland et Lawson ont montré que de nombreux autres *Campylobacter* sp. recouvraient les lésions (*Campylobacter mucosalis*, *Campylobacter hyointestinalis*,...) [130].

Un parallèle a été fait entre l'entérite proliférative du porc et l'hyperplasie intestinale du hamster (chez lequel des bactéries incurvées ont également été retrouvées) [149]. Il a été prouvé qu'il était possible de reproduire les deux maladies (celles du porc et du hamster) en inoculant des animaux par voie orale avec des homogénats d'intestins lésés [59, 92, 127]. Gebhart et al. ont démontré en 1985 la sensibilité des hamsters à l'agent infectieux du porc [47, 103].

L'origine bactérienne des entérites prolifératives est donc connue depuis plus de 20 ans et chez toutes les espèces affectées (porc, furet, hamster,...), il est possible de mettre en évidence des bactéries se multipliant dans le cytoplasme des entérocytes en prolifération et dont la morphologie évoque un représentant du genre *Campylobacter* (bactérie *Campylobacter-like*) [36]. Malgré de nombreux travaux, ces bactéries restaient mystérieuses et elles n'ont pu être identifiées que récemment. En effet, la bactérie intracellulaire a pu être observée dans les tissus intestinaux anormaux de toutes les formes d'entéropathie proliférative porcine ; cependant, en dépit de l'isolement d'un grand nombre de *Campylobacter* sp. chez beaucoup d'animaux affectés, cette bactérie est souvent rare ou apparemment absente de la forme hémorragique de la maladie [84, 87]. L'absence de *Campylobacter* sp. dans de nombreux cas suggère qu'ils sont distincts de la bactérie intracellulaire. Lawson et al. (1985) ont immunisé des lapins avec des extraits de bactérie intracellulaire provenant d'intestins malades et relativement peu contaminés par des *Campylobacter* sp. [86]. Cette approche a fourni des résultats inattendus : les anticorps produits ne réagissaient pas dans les tests sérologiques simples avec aucun des *Campylobacter* sp. cultivés à partir des lésions de la maladie ; ils réagissaient, cependant, avec l'organisme intracellulaire issu de tissus fixés au formol provenant d'entérite proliférative du hamster et du porc. L'organisme intracellulaire était donc différent des *Campylobacter* sp. qui pouvaient être récupérés à partir des lésions. Cette hypothèse a été confirmée par des analyses plus détaillées des antigènes et par la création d'ADN clonée spécifique de l'organisme intracellulaire [48, 94]. En 1985, Lawson a mis en évidence une bactérie intracellulaire portant un antigène spécifique (Ag oméga) [86]. Cet antigène se retrouve également chez les bactéries intracellulaires présentes chez le hamster [86], furet [39], lapin [136] atteints d'entérite proliférative.

Les entérites prolifératives sont donc dues à des bactéries intracellulaires différentes des espèces du genre *Campylobacter* préalablement identifiées. Comme leur habitat est particulier et leur pouvoir pathogène est spécifique, on a supposé l'existence d'une nouvelle espèce ou d'un nouveau genre bactérien [46, 48]. On a alors dénommé cette bactérie "*Ileal symbiont intracellularis*" [46], "*Ileobacter intracellularis*" [82, 106] ou "*Candidatus intracellularis*" (*Candidatus* désignant un taxon de rang hiérarchique inconnu dont la séquence ARN r 16S est connue) [121].

« *Ileobacter intracellularis* » semble responsable d'EPP chez le porc car, en inoculant 21 porcs âgés de 10 semaines avec un broyat de muqueuse d'un animal mort d'entérite proliférative, G.F. Jones et al. [71] établissent une corrélation claire entre « *Ileobacter intracellularis* » et les EPP : 2 à 5 semaines après l'infection, les porcs présentent des signes cliniques ; 1 à 5 semaines après l'infection, ils excrètent la bactérie dans leurs fèces (détection effectuée par PCR [70]) ; il existe une forte corrélation entre la présence de la bactérie dans les selles ou les cellules intestinales et l'existence de lésions caractéristiques ; il existe une liaison entre la sévérité des lésions et le pourcentage de cellules infectées.

Il y a longtemps eu une confusion sur la véritable identité du germe à cause des moyens immunologiques utilisés qui ont donné des résultats divergents. De plus, il n'est pas toujours possible d'incriminer un agent avec certitude car, dans certains cas, il est extrêmement difficile pour le laboratoire d'isoler les bactéries pathogènes du fait du grand nombre de bactéries présentes dans le tube digestif. A partir de là, le progrès dans la compréhension de la maladie s'est accéléré jusqu'à la culture de l'organisme [83, 142] et jusqu'à la reproduction de la maladie [102, 142].

Ce n'est que soixante ans après la description des iléites prolifératives que Lawson et al. (1993) ont réussi à isoler et maintenir ces bactéries *in vitro* dans une lignée de cellules épithéliales de rats [82, 83]. Dès lors, de nombreuses études phénotypiques et génétiques ont été menées [46, 82, 83] conduisant Steven Mc Orist et al. en 1995 à proposer le nom de *Lawsonia intracellularis* pour cette bactérie intracellulaire [97].

Depuis la découverte de la maladie (années 1970 [133]) et l'identification de leur agent étiologique (1995 [97]), l'entéropathie proliférative a émergé et est devenue une pathologie significative du porc dans le monde [4]. Mais lui trouver un nom, a-t-il permis de mieux la combattre qu'auparavant? Pas directement mais on a maintenant de meilleurs outils pour percer le mystère de cette pathologie.

1.2 Taxonomie :

Après un grand nombre d'années, c'est-à-dire après la prise de conscience qu'aucun des *Campylobacter* sp. isolés des cas de maladie n'était capable d'initier l'entéropathie proliférative, les bactéries intracellulaires ont été décrites comme étant « un organisme *Campylobacter-like* » (CLOs) ou « un organisme intracellulaire » (IOs). Il a été démontré, plus tard, que ces CLOs ou IOs étaient antigénétiquement différents des *Campylobacter* sp. [94] et possédaient des profils de fragments d'ADN de restriction différents [107]; de plus, ils ont pu être identifiés par des sondes d'ADN spécifiques [48]. Un unique rapport a décrit, à l'aide d'anticorps monoclonal, un antigène commun aux CLOs du hamster et avec les *Campylobacter* sp. [143]. Jacoby (1978) et Johnson et Jacoby (1978) ont démontré clairement que l'antigène bactérien intracellulaire

augmentait en parallèle avec l'évolution de la maladie et avec la prolifération cellulaire [57, 64].

La position taxonomique de ce germe paraissait délicate à établir. Les études génomiques le rapprochaient des espèces du genre *Desulfovibrio* [46] alors que le parasitisme intracellulaire conduisait à le rapprocher des espèces du genre *Rickettsia* (qui sont parmi les rares bactéries intracellulaires obligatoires capables de se multiplier à l'état libre dans le cytoplasme). Mais ce rapprochement a été exclu car les Rickettsies ont une morphologie différente, elles appartiennent à la division *alpha* des Protéobactéries et leur transmission nécessite un arthropode [36, 37].

Cette bactérie avait été provisoirement désignée sous les noms de "*Ileal symbiont intracellularis*" [46], "*Ileobacter intracellularis*" [82] ou de "*Candidatus intracellularis*" [121] et placée dans la division *delta* des Protéobactéries (grâce à sa séquence ADN r 16S). Ce qui a permis d'identifier définitivement l'organisme intracellulaire est le séquençage de l'ADN ribosomal 16S (qui consiste en l'isolement d'une portion du génome pour l'amplifier par PCR, la séquencer et la comparer à celles des autres organismes suspects d'être à l'origine des entéropathies prolifératives du porc). La séquence de l'ADN r 16S comparée avec plus de 400 séquences disponibles auprès du "Ribosomal RNA Database Project" [123] révèle une affinité avec les diverses espèces de la famille des "*Desulfivibrionaceae*" et plus particulièrement avec *Desulfovibrio desulfuricans* (91 % de similitude génétique) [46].

En 1995, S.Mc Orist et coll. [97] soumettent à des tests phénotypiques et génétiques 6 souches d' "*Ileal symbiont intracellularis*" isolées de porcs atteints d'entérite proliférative et 2 souches de *Desulfovibrio desulfuricans* ATCC 27774. "*Ileal Symbiont Intracellularis*" se distingue de *Desulfovibrio desulfuricans* par la séquence de son ARN r 16S, par le profil électrophorétique de ses protéines, par ses caractères morphologiques (*Desulfovibrio desulfuricans* est plus grand, n'est pas acido-résistant et possède un flagelle polaire), par ses caractères culturels (*Desulfovibrio desulfuricans* cultive sur des milieux inertes), par son type respiratoire (*Desulfovibrio desulfuricans* est anaérobie stricte), par ses caractères biochimiques (*Desulfovibrio desulfuricans* réduit les sulfates) et par son habitat (les espèces du genre *Desulfovibrio* ne sont pas des parasites intracellulaires). De plus, une sonde nucléaire dirigée contre l'ADN r 16S de "*Ileal symbiont intracellularis*" ne se fixe pas sur l'ADN de *Desulfovibrio desulfuricans* [46, 49] et des anticorps monoclonaux dirigés contre "*Ileal symbiont intracellularis*" [95] ne réagissent pas avec *Desulfovibrio desulfuricans*. Le nom d' « *Ileal symbiont intracellularis* » [46] n'était plus approprié quand la pathogénie de l'organisme a été établi et quand les caractéristiques qui distinguaient clairement l'organisme intracellulaire de *Desulfovibrio* ont été prises en considération. Par conséquent, la bactérie a été positionnée dans un nouveau genre *Lawsonia* sous la nomenclature de *Lawsonia intracellularis* en l'honneur de G.H.K.Lawson [97]. La séquence d'ADN r 16 S obtenue indiquait que la bactérie pouvait être placée dans la subdivision *delta* des protéobactéries [36]. Il existe 92% de similitude entre cette séquence et celle d'une bactérie anaérobie pathogène pour les hommes, *Bilophila wadsworthia* [134]. En utilisant une approche différente, Dale et al. (1998) en arrivaient à la même conclusion [25]. Les comparaisons de la séquence d'insertion de *Lawsonia intracellularis* avec celle d'autres bactéries ont été entreprises ; les auteurs concluaient que la bactérie était

isolée taxonomiquement mais montrait 61% de similitude avec quelques *Chlamydia* spp. et avec *Helicobacter pylori*.

Des isolats d'entéropathies prolifératives associées à la bactérie intracellulaire issus d'espèces animales variées montrent près de 98% de similitudes au niveau de la séquence d'ADN r 16S avec les cultures provenant du porc ; les isolats de hamsters [125], furets [38], lapins [56], cerfs et autruches [23, 24] et chevaux [21, 22, 79] ont été examinés de cette façon.

II Caractères bactériologiques :

2.1 Morphologie et caractères généraux :

Lawsonia intracellularis est un bacille anaérobie strict [78] de forme incurvée avec des extrémités effilées mesurant 1,25µm à 1,75µm de long sur 0,25µm à 0,43µm de diamètre [97]. Elle est non sporulée, non capsulée, n'a pas de flagelle ni de pili ou fimbriae [46, 80]. Cependant, un long, unique, flagelle unipolaire a été observé par microscopie électronique dans trois cultures cellulaires isolées (C.J.Gebhart et R.A.M.Mackie 1999, observations non publiées [80]).

La séquence des gènes qui code pour l'ARN 16S montre que l'organisme est unique. Toutes les séquences d'ADN et les analyses protéiques trouvées actuellement indiquent que *Lawsonia intracellularis* montre une structure génétique identique avec un cycle de vie unique dans un type cellulaire particulier [93]. A la surface externe de *Lawsonia intracellularis* se trouve une glycoprotéine de 27-29 kDa avec laquelle les anticorps réagissent spécifiquement.

La membrane bactérienne comprend une enveloppe externe trilamellaire. Aucune étude systématique des protéines d'enveloppe de *Lawsonia intracellularis* n'a été entreprise. Deux petits rapports (réalisés par Mc Orist et al. en 1989 [94] et en 1995 [97] pour établir que le profil protéique de *Lawsonia intracellularis* diffère de celui des *Campylobacter* sp.) signalaient que l'électrophorèse de toutes les protéines cellulaires en gel de polyacrylamide montrait des bandes majeures de poids moléculaires de 53, 42, 37 et 30 kDa ; les 2 premières et une petite de 47 kDa étaient probablement localisées dans la membrane. Des anticorps monoclonaux qui réagissaient avec deux bandes mineures en 25-27 kDa ont été produits. Ceux-ci (IG 4 et 4F5) réagissaient donc dans les tests d'immunofluorescence [95]. La microscopie immuno-électronique révèle que l'antigène 25-27 kDa repose en partie externe de la membrane bactérienne [105]. Connie J.Gebhart a tenté de cloner et d'exprimer un ou plusieurs des gènes principaux de l'enveloppe externe de *Lawsonia intracellularis*. La culture de cette bactérie a permis la production d'une quantité suffisante de membrane bactérienne pour l'analyse. Trois méthodes pour identifier les gènes codant pour les antigènes principaux ont été utilisés. Les stratégies employées pour créer des clones produisant une protéine spécifique de membrane ont échoué [45].

Cette bactérie à gram négatif retient la carbofuschine lors de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (*Lawsonia intracellularis* est donc une bactérie acido-résistante). Elle peut donc être détectée dans des frottis de muqueuse ou dans les monocouches par cette réaction [46, 82, 83]. Elle ne réduit pas les sulfates : elle est donc PAS négatif [37].

Les organismes sont mieux détectés dans les coupes tissulaires par la coloration à l'argent, par des techniques immunologiques avec des anticorps polyclonaux [86] ou monoclonaux [95], ou par hybridation *in situ* avec des sondes d'ADN [9, 49].

Les modifications rapportées dans les cultures cellulaires après examen microscopique sont variables. Quand le nombre de bactéries présentes est suffisant, l'organisme peut être vu dans les cellules infectées [142]; quand très peu sont présentes, les cellules infectées ne peuvent pas être décelées sans réaction immunologique (c'est-à-dire sans utilisation d'anticorps marqués) [82, 83].

Sa multiplication se fait transversalement par fission binaire dans le cytoplasme des cellules infectées sans être inclus dans une vacuole [46]; la bactérie se multiplie sans diffuser d'une cellule à une autre et cette croissance n'altère pas les cellules et ne provoque pas leur lyse [83].

In vivo, elle est libre dans le cytoplasme apical des entérocytes de porc en dessous de la bordure en brosse et ne forment ni amas, ni corps d'inclusion [37]. Après plusieurs jours d'infection, beaucoup de cellules infectées commencent à se détacher de la monocouche et les bactéries sont relâchées à partir de protrusions cellulaires [101].

2.2 Culture :

La culture de ce parasite obligatoire est tout d'abord apparue délicate : en effet, il est non cultivable sur milieux inertes (plus de 80 milieux ont été testés), ni sur les oeufs embryonnés [46]. Des efforts substantiels pour faire pousser la bactérie sur un milieu bactériologique conventionnel, y compris un milieu « spécial *Desulfovibrio* », ont échoué [97]. Lawson et al. ont signalé en 1993 l'isolement et le maintien en culture cellulaire des organismes intracellulaires d'entéropathie proliférative du porc [82, 83]. La bactérie a été isolée dans 10 cas d'entérite proliférative ; cela représente par conséquent un outil pratique pour l'isolement de l'organisme à partir de la muqueuse malade. Un grand nombre de lignées cellulaires a été évalué pour la croissance des organismes intracellulaires ; c'est la lignée cellulaire intestinale de rat (IEC-18 = ATCC CRL 1589) qui a apporté le plus de satisfaction [46, 81, 83]. *Lawsonia intracellularis* est également cultivable sur les entérocytes de porcelets (cellules IPEC-J2). Les cultures cellulaires sont contaminées par des bactéries provenant de muqueuse infectée, après purification par filtration en présence de néomycine et de vancomycine. Les bactéries apparaissent en grand nombre dans le cytoplasme cellulaire 7 à 8 jours après l'infection. Les cultures étaient indemnes de toutes autres bactéries, notamment *Chlamydia*, et plus tard elles se sont révélées être capables de transmettre l'entéropathie proliférative aux hamsters [60] et aux porcs [102]. D'autres auteurs, en utilisant des techniques similaires, ont réussi à cultiver la bactérie issue de porcs malades en Australie [18] et aux USA [63].

La culture de l'organisme dans une lignée cellulaire d'entérocytes de rats a permis de désigner la souche NCTC 12656 (souche 1482/89=12656) comme la souche type et a permis de décrire le nouveau genre et la nouvelle espèce [97].

La stimulation de la croissance bactérienne (en culture *in vitro*) par les glutamates et par l'adénosine triphosphate est caractéristique de beaucoup de bactéries intracellulaires ; aucune substance, cependant, n'améliore la croissance de *Lawsonia intracellularis*. Celle-ci peut être inhibée par la cycloheximide [46]. La croissance bactérienne en culture cellulaire nécessite une atmosphère contenant 5% à 15% d'oxygène et est optimale à 8% d'oxygène [82, 83, 142]. Quelques isolats ne poussent pas en présence d'O₂ à la pression atmosphérique et peuvent même mourir à une telle exposition ; la sensibilité à l'oxygène varie donc selon les isolats [81].

2.3 Résistance :

Sous de bonnes conditions (atmosphérique, thermique ...), plusieurs souches de cet organisme survivent pendant 1 à 2 semaines en dehors des cellules hôtes [102, 138]. En effet, un nombre important de bactéries est décelable après mise en culture de *Lawsonia intracellularis* ayant subi une exposition à l'air pendant 6 jours à 5°C [16]. La bactérie peut donc survivre dans des conditions extracellulaires pendant 1 à 2 semaines à des températures allant de 5 à 15°C. [16]

La sensibilité de *Lawsonia intracellularis* aux antibiotiques (cf *infra*) varie suivant la capacité de l'antibiotique à pénétrer ou non dans les cellules. Ainsi ceux ayant une efficacité extracellulaire ou ceux qui agissent contre les bactéries à gram + ne montrent pas d'activité contre *Lawsonia intracellularis* et ne sont donc pas recommandés [96].

En élevage, les antibiotiques les plus utilisés sont la tylosine et la tiamuline mais d'autres molécules ont été utilisées : olaquinox, monensin, salinomycine, tétracyclines... [37].

Les macrolides (tylosine), tétracyclines et pleuromulines (tiamuline) sont efficaces contre *Lawsonia intracellularis* car ils entrent dans la cellule (diffusion intracellulaire), s'accumulent dans le cytoplasme, agissent sur les ribosomes de la bactérie gram – et sont donc capables de la tuer [96].

Steven Mc Orist a présenté des résultats d'étude en mars 2000 recherchant une antibiorésistance chez le pathogène [8]. Selon lui, aucun cas d'antibiorésistance ne s'est déclaré jusque là. Cependant, plusieurs producteurs et vétérinaires ont répertorié des porcs présentant une antibiorésistance à la tylosine (Tylan[®]). Mc Orist expliquait « que cela devait être dû à un mauvais diagnostic à cause des similitudes entre les caractéristiques de l'iléite et d'autres maladies, à cause de dosages inadéquats ou à cause de porcs ne mangeant pas assez de médicaments dans l'alimentation jusqu'à la dose efficace ». A l'heure actuelle, l'hypothèse d'une quelconque antibiorésistance reste donc douteuse.

Quand à la sensibilité de la bactérie aux désinfectants, les cultures pures de *Lawsonia intracellularis* sont toutes sensibles au désinfectant ammonium quaternaire (3% de cetrimide), un peu moins à 1% de polyvidone iodé et pas du tout à 1% de peroxymonosulfate de potassium ou à 0,33% d'une préparation phénolique [16].

2.4 Pouvoir pathogène :

2.4.1 Virulence de la bactérie :

Mc Orist a inoculé par voie orale la souche 916/91 à des porcs conventionnels âgés de 29 jours ce qui a permis de reproduire la maladie [102]. Les porcs inoculés avec $3,7 \cdot 10^6$ bactéries ayant subi 6 passages développent des lésions plus sévères que les porcs inoculés avec $1,5 \cdot 10^6$ bactéries et il est possible d'isoler la souche de leurs fèces.

La virulence de la bactérie est diminuée lors des cultures successives : des porcs inoculés avec $3,7 \cdot 10^6$ bactéries ayant subi 13 passages présentent des lésions minimales comparativement aux porcs inoculés avec $3,7 \cdot 10^6$ bactéries ayant subi 6 passages (lésions sévères d'entéropathie proliférative).

Il existe également plusieurs souches de *Lawsonia intracellularis* : S.H. Smith et S.Mc Orist [138] ont utilisé 30 porcelets sevrés à 21 jours d'âge séparés en 4 groupes et inoculés oralement à 24 jours. 6 porcelets ont reçu $1 \cdot 10^8$ bactéries de souche 916/91 (NCTC 12657) après 12 passages *in vitro* ; 6 autres $5 \cdot 10^8$ de la même souche ; 7 avec $3 \cdot 10^8$ *Lawsonia* de souche LR 189/5/83 après 9 passages et 11 témoins ont reçu une solution tampon de sucre-potassium-glutamate. Les fèces ont été analysées par PCR. Plus de cinq porcs dans chaque groupe exposé excrétaient des *Lawsonia intracellularis* détectables dans les fèces (cela intervenait entre 2 et 10 semaines après l'exposition). Plusieurs porcs avaient plus de $7 \cdot 10^8$ *Lawsonia intracellularis* par gramme de matières fécales. De nombreuses bactéries étaient détectées dans l'intestin de tous les porcs exposés à la souche LR 189/5/83 et chez 2 des porcs exposés à la souche 916/91 mais pas dans d'autres tissus. La souche LR 189/5/83 semble donc être plus virulente que la souche 916/91.

Il a été rapporté que les souches isolées de porcs américains et européens sont relativement similaires [76]. Jusqu'à ce que la bactérie intracellulaire ne soit cultivée à partir d'un plus grand nombre d'espèces animales et que les résultats d'un plus grand nombre d'analyses immunologiques et d'acides nucléiques ne soient disponibles, la relation exacte entre les souches porcines et les autres n'est pas évidente. Les isolats de porcs peuvent infecter les hamsters [60, 95], mais les études d'infections croisées avec les souches d'autres espèces n'ont pas encore été rapportées. Cependant, il est raisonnable de s'attendre à ce que les isolats de beaucoup d'autres espèces aient la capacité d'une contamination croisée.

2.4.2 Influence des antibiotiques :

L'utilisation d'antibiotiques par voie orale joue un rôle important dans le retard du début de l'infection [93]. Des études sur des porcs ayant reçu des antibiotiques par voie orale jusqu'à 18 semaines ont montré qu'ils étaient encore plus sensibles et beaucoup développaient une entérite proliférative hémorragique aiguë. L'utilisation d'antibiotiques oraux pour éliminer l'infection de sujets précédemment exposés doit donc être capable de fournir une immunité bénéfique aux animaux. Tout cela représente la complexité de l'iléite [93]. La médication continue, particulièrement à hautes doses durant la période de croissance, a tendance à réduire le niveau de l'immunité des animaux contre

l'entéropathie proliférative (mesurée par la réponse sérologique à une exposition et par la sensibilité à une ré-exposition) [17].

2.4.3 Nécessité d'une association avec d'autres bactéries :

L'exposition à l'infection de porcelets axéniques n'entraîne pas de lésions ; il y a donc une absence de colonisation détectable aussi bien au niveau intracellulaire qu'extracellulaire. Les animaux axéniques d'âges similaires développent des entéropathies prolifératives après exposition à un filtrat infectieux intestinal qui contient d'autres bactéries intestinales [104].

Mc Orist et Gebhart concluaient en 1994 que *Lawsonia intracellularis* seule ne cause pas d'entéropathies prolifératives [98]. Les porcs gnotobiotiques (dont le tube digestif n'héberge que des streptocoques) inoculés par la souche 916/91 ne développent pas d'entérite [102]. L'intestin n'est donc pas colonisé ce qui suppose que d'autres bactéries doivent favoriser la colonisation et le pouvoir pathogène de *Lawsonia intracellularis*. Une autre expérimentation a donc eu lieu : ces porcelets gnotobiotiques étaient pré-infestés par un mélange de souches non virulentes de *Bacteroides vulgatus* (souche 01) et d'*Escherichia coli* (souche 1027/81) ; l'administration ultérieure par voie orale de la souche 916/91 conduisait alors à l'apparition de lésions sévères d'entérite proliférative [111]. De même, les porcs "Specific Pathogen Free" avec une flore intestinale normale infestés par la bactérie développaient une entéropathie proliférative. Mc Orist concluait que les porcs devaient avoir une flore intestinale "normale" (non-gnotobiotique) pour développer la maladie. Par conséquent, le contrôle de la maladie passe aussi par le contrôle des agents secondaires [98].

Cela a également été signalé chez les lapins où deux germes associés (*Lawsonia intracellularis* et *Escherichia coli* entéropathogène) ont été présentés comme étant la cause d'entérocolite avec un fort taux de mortalité [135]. En effet, l'entérocolite est une cause importante de morbidité et de mortalité chez les lapins et l'infection provoquée par *Escherichia coli* est peut-être la cause la plus importante des entérocolites chez cette espèce. L'examen histologique a montré un infiltrat inflammatoire modéré des cellules et une diminution du nombre des cellules calciformes. Les cellules épithéliales des cryptes étaient hypertrophiées [135]. Il semble que les forts taux de mortalité et de morbidité des lapins soient liés à la synergie pathogénique des deux germes. En effet, il n'a pas été démontré qu'ils étaient imputables à la virulence de la souche EPEC [135]. Chez les hamsters, une synergie pathogénique comparable a été rapportée par Frisk et Wagner [43]. Ces auteurs avaient émis l'hypothèse selon laquelle l'infection par *Escherichia coli* précédait et devait faciliter l'infection ultérieure par *Lawsonia intracellularis*. L'infection par EPEC doit donc augmenter la sensibilité des lapins à la bactérie intracellulaire obligatoire. Cependant, une infection par *Lawsonia intracellularis* peut se déclencher chez les lapins en dehors de toute contamination par *Escherichia coli* entéropathogène [56, 136]. La source de ces deux types de bactéries n'a pas été établie. Aucun nouveau lapin n'avait été introduit dans la colonie. Mais un groupe de porcs avait été introduit dans la ferme. C'est donc possible que les lapins aient été exposés aux fèces contaminées de porcs [135]. Il a d'ailleurs été rapporté des cas d'entéropathies

prolifératives chez le porc suite à une infection associant les deux germes, à l'origine, peut-être, d'une contamination croisée entre espèces des porcs aux lapins. Il n'y a aucune donnée expérimentale pour supporter cette hypothèse, mais la transmission croisée inter-espèces de *Lawsonia intracellularis* des porcs aux hamsters a été rapportée précédemment [60,103]. Il faut rappeler également que la reproduction de l'infection n'est pas possible chez le porc exempt d'organismes pathogènes spécifiés, à moins de lui associer des bactéries intestinales non pathogènes, traduisant l'existence d'une synergie entre *Lawsonia intracellularis* et les bactéries commensales du tube digestif.

Plusieurs exemples d'une double infection par *Lawsonia intracellularis* et d'autres pathogènes ont été décrites : des co-infections avec les coccidies chez le furet [80], *Trichuris suis* chez les porcs [80] et peut-être *Chlamydia trachomatis* chez les hamsters [41]. Plusieurs auteurs suggèrent que ces pathogènes modifient la réponse immunitaire et ainsi prédisposent à une infection mixte. La réduction de la muqueuse cellulaire qui prend place dans les lésions sévères d'entéropathie proliférative, et l'absence de barrière muqueuse physique qui en découle augmentent donc la sensibilité à toute infection.

2.4.4 Autres facteurs influençant le

pouvoir pathogène :

Il a été suggéré que l'alimentation modifierait la sensibilité des animaux à *Lawsonia intracellularis* et un rapport unique fait état de la variation de la sensibilité du hamster à l'infection suite à deux régimes alimentaires différents [58]. Des études ultérieures chez le porc ont montré, cependant, que des animaux recevant des aliments différents, tels que le lait ou sevrés à la farine, pouvaient être infectés de façon équivalente [102, 111]. Des travaux ont été réalisés par Joens, Nibbelink, Glock dans une université de l'Arizona pour évaluer l'influence de l'âge et du stress (représenté par l'administration de dexaméthasone) sur le pouvoir pathogène de *Lawsonia intracellularis* [63]. Cette dernière était extraite de tissus présentant des lésions d'entéropathie proliférative du porc puis cultivée dans une lignée de cellules de Henle 407 à 37°C sous une atmosphère de 5% de CO₂. 32 porcs de 3 à 7 semaines ont été inoculés oralement par une solution issue de la préparation au 10^{ème} jour. Des porcs témoins ont été inoculés avec des cellules de Henle non infectées. Les porcs ont été observés quotidiennement par rapport aux signes cliniques et autopsiés à leur mort ou à la fin de l'étude. Les lésions de l'intestin grêle et du gros intestin ont été enregistrées. Les résultats de ces travaux [63] sont les suivants : les porcs exposés présentaient de la diarrhée 4 à 7 jours après l'inoculation (des lésions histologiques d'EPP ont alors été notées). Les lésions intestinales étaient absentes dans le groupe de porcs témoins. Les différences lésionnelles n'étaient pas significativement différentes en fonction de l'âge de l'animal et en fonction de la dexaméthasone. Les conclusions, qui sont propres à cette étude [63] (paradoxaes vis-à-vis de celles de Mc Orist et de Lawson), sont que les différences d'âge et le stress (induit par l'administration de DXM) n'ont eu aucun effet sur le développement des lésions intestinales.

2.4.5 Conclusion :

La biologie moléculaire a beaucoup fait progresser la compréhension de la pathogénie [69]. Les bactéries intracellulaires obligatoires sont beaucoup plus difficiles à travailler que les pathogènes extracellulaires et seulement peu de temps s'est écoulé depuis l'acceptation de *Lawsonia intracellularis* comme étant la cause des entéropathies prolifératives. Le tableau 1 établit une comparaison entre quelques aspects connus de la pathogénie de *Lawsonia intracellularis* et d'autres bactéries intracellulaires intestinales [80]. Plusieurs espèces bactériennes adoptent des stratégies complètement différentes pour garantir leur persistance en position intracellulaire. Les connaissances limitées suggèrent déjà que les membres du genre *Lawsonia* adopteront également des mécanismes différents pour assurer leur survie chez leur hôte [80].

Tableau 1 : Comparaison de la pathogénie de l'infection à *Lawsonia intracellularis* avec celle d'autres infections bactériennes intracellulaires (d'après Moulder 1985, Finlay et Falkow 1989 et autres) [51].

Observation	<i>Chlamydia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Lawsonia</i>
Bactéries aérobies strictes (O) ou aéro-anaérobies (F)	O	F	F	F	O
Type cellulaire parasité	Epithélial	Epithélial et Plaques de Peyer	Muqueuse épithéliale	Plaques de Peyer	Cellules de la crypte de l'épithélium de la muqueuse
Bactérie vivante nécessaire pour la pénétration cellulaire	NON	OUI	OUI	NON	NON
Héparine inhibe l'infection cellulaire	OUI	?	?	?	NON
Microfilaments de la cellule hôte essentiels pour l'entrée	En partie	OUI	OUI	OUI	OUI
Site de multiplication	Vacuole cytoplasmique	Vacuole cytoplasmique	Cytoplasme	Vacuole cytoplasmique	Cytoplasme
Transfert de cellule en cellule	L'infection cellulaire permet une division limitée	Par lyse et réinfection	Transfert de cellule en cellule	Par lyse et réinfection	Principalement par division des cellules de la crypte

2.5 Pouvoir immunogène et antigène :

Les études de réponse immunitaire n'en sont encore qu'à leur début. La présence d'anticorps sériques dirigés contre la bactérie intracellulaire a été décrite par Jacoby, qui montrait que le sérum provenant de hamsters présentant des lésions avancées reconnaissait les organismes intracellulaires dans les sections de tissus malades examinées par immunofluorescence [57]. Donc, tous les hamsters qui développaient des lésions après exposition aux homogénats bruts d'entéropathie proliférative montraient des anticorps au 10^{ème} jour après l'infection.

Les bactéries induisent également la production d'anticorps chez les porcs atteints d'entéropathie proliférative. Ces anticorps n'apparaissent que lors du déclenchement de la maladie [84].

Les animaux mettent 2 à 3 semaines pour séroconvertir après l'exposition à *Lawsonia intracellularis*. Les porcs en croissance d'un élevage affecté par l'entéropathie proliférative montrent une séroconversion durant une période de croissance faible mais les anticorps persistent pendant moins de deux mois. Les résultats sérologiques des porcs adultes atteints de PHE semblent ressembler à ceux des porcs en croissance infectés, mais l'information selon laquelle les anticorps persistent chez les adultes n'est actuellement pas disponible.

Les anticorps produits chez les porcs en croissance se composent principalement d'immunoglobulines IgM et la majorité des animaux avec des lésions d'entérite proliférative montre une réponse humorale. Seuls quelques sujets sans lésion se révèlent être positifs. Les réponses en IgG et en IgA sont moins marquées que celle en IgM; des accumulations importantes d'IgA ont, cependant, été décrites à l'intérieur des entérocytes et adjacentes aux bactéries intracellulaires [87, 108]. C'est supposer que cet anticorps soit spécifique de *Lawsonia intracellularis*, mais ceci n'a pas été étayé.

Afin de mettre au point un test sérologique à sensibilité améliorée à des fins diagnostiques, Knittel et al. en 1998 [74] ont utilisé un test immunofluorescent basé sur des monocouches IEC-18 infectées par *Lawsonia intracellularis*, plutôt que sur des organismes issus de tissus. Le test détectait des anticorps IgG chez la plupart des porcs (90%) 3 à 4 semaines après l'exposition à l'infection. Ces résultats saisissants indiquent que l'antigène produit dans les cultures cellulaires diffère de celui produit dans les tissus malades [74].

Selon Holyoake et al., qui ont utilisé un essai ELISA IgG avec des antigènes extraits de tissus, la réponse humorale des porcs expérimentés était faible [53]. Des résultats chez d'autres animaux ont indiqué que les jeunes porcelets possédaient des concentrations en baisse d'anticorps IgG acquis passivement à 3 semaines d'âge qui déclinent vers 3 à 5 semaines d'âge puis semblaient ensuite séroconvertir entre 7 et 24 semaines d'âge.

La réponse immunitaire à composante cellulaire des porcs infectés présentant des lésions est faible car les cellules épithéliales immatures, infectées par la bactérie, sont dépourvues d'antigène d'histocompatibilité de classe II et ne peuvent donc pas présenter les antigènes aux lymphocytes [108]. Cela semble compromettre l'utilisation de la sérologie pour le diagnostic de la maladie [53].

Les lymphocytes sanguins de porcs possédant des anticorps IgM circulants contre *Lawsonia intracellularis* montrent une mitogénèse spécifique en rapport avec l'antigène, ce qui est absent chez les animaux séronégatifs [106]. La réponse cellulaire

inflammatoire est limitée dans la forme chronique de la maladie, consistant principalement en une localisation des cellules T CD8⁺ et CD25⁺ dans la *lamina propria* intestinale. Par opposition, dans les entéropathies hémorragiques, la réponse est plus vigoureuse et supplémentée par des cellules B IgM [108].

En 1993, Holyoake et Cutler présentait des informations relatives au développement immunitaire et à la sensibilité des porcs à *Lawsonia intracellularis* grâce à des essais utilisant des enzymes pour mesurer les IgG sériques [53]. Holyoake étudiait le rôle des antibiotiques alimentaires dans le développement de l'immunité :

*Dans une première partie expérimentale, ces auteurs prélevaient un échantillon de porcs toutes les 3 semaines à partir de 3 semaines d'âge (porcs en croissance) jusqu'à 24 semaines (porcs en finition). Ces porcs étaient sous olaquinox (Bayo-nox^R; Bayer Australie) ou sous chlortétracycline à intervalles irréguliers durant la période de croissance. Un tiers des porcs produisaient des anticorps à 18 semaines d'âge, le reste à 24 semaines. Holyoake et Cutler concluaient que la réapparition de l'entérite chez ces porcs en finition pouvait être expliquée par l'inaptitude de certains porcs à produire une réponse immunitaire avant 24 semaines d'âge.

*Dans une seconde expérience, Holyoake testait l'impact de l'administration de médicaments dans l'alimentation sur le développement de l'immunité à *Lawsonia intracellularis*. Les porcs étaient nourris avec des fourrages contenant 25g/tonnes d'olaquinox ou 220g/tonnes de chlortétracycline ou aucune médication, de 5 à 10 semaines d'âge. Les sérums étaient prélevés à 5, 10 et 15 semaines d'âge. Les porcs sous olaquinox séroconvertissaient durant la période 5-10 semaines, tandis que ceux traités à la chlortétracycline ne produisaient pas d'anticorps durant ce délai. Ils ne le faisaient qu'à 15 semaines. Holyoake concluait que l'olaquinox était à un niveau sub-thérapeutique et permettait une infection sub-clinique avec la production d' anticorps. Par ailleurs, elle pensait que la chlortétracycline était à un niveau thérapeutique et ne permettait pas l'infection ni la séroconversion à *Lawsonia intracellularis*. Une fois que les chlortétracyclines étaient ôtées, les porcs étaient exposés et donc séroconvertissaient.

En 1997, Bane étudiait l'impact de l'administration de différentes doses de tylosine sur la séroconversion de porcs naturellement infectés par *Lawsonia intracellularis* [3]. Bane fournissait de la tylosine à des doses dégressives commençant par 100g/tonne puis, 40g/tonne et enfin 20g/tonne. Un autre groupe recevait 100g/tonne suivi d'une non-médication. Un troisième groupe n'était pas traité. Puis il mesurait les différents taux d'anticorps immunofluorescents anti-*Lawsonia*. Environ 60 % des animaux non traités et les porcs traités à 100g/t suivi d'une non-médication étaient séropositifs à la fin des 16 semaines (la séropositivité concernait 8 % du premier groupe). Aucun des porcs dans les 3 groupes n'avait de signes cliniques d'entérite. La transmission de *Lawsonia intracellularis* diminuait grâce aux administrations continues de tylosine ou bien, les porcs étaient moins sensibles à la bactérie que dans les deux autres groupes. Les niveaux d'exposition à la bactérie n'étaient pas suffisamment élevés pour engendrer des signes cliniques mais ils l'étaient pour entraîner des séroconversions en l'absence de tylosine.

Les travaux d'Holyoake [53] et de Bane [3] ont permis de formuler plusieurs questions en ce qui concerne les connaissances sur l'immunité à *Lawsonia intracellularis* et,

notamment, comment intégrer cela dans une stratégie efficace de contrôle. Tandis que Holyoake et Bane ont démontré que les anticorps anti-*Lawsonia* étaient présents en l'absence de traitement antibiotique, l'importance de ces anticorps ne reste pas évidente.

Dans le but d'approfondir la compréhension du pouvoir immunogène de *Lawsonia* et pour proposer des stratégies de contrôle, Steve Mc Orist a lui-aussi examiné l'impact des antibiotiques sur la séroconversion des animaux infectés par *Lawsonia intracellularis*.

*Dans un premier essai [112], McOrist s'est intéressé à l'impact sur des porcs d'une administration de chlortétracycline à 600 ppm 10 à 24 jours après une infestation à *Lawsonia*. Ces porcs excrétaient des *Lawsonia intracellularis* dans leurs fèces et étaient sérologiquement positifs aux anticorps immunofluorescents anti-*Lawsonia* 21 à 35 jours après l'infestation. Ces porcs ainsi que le groupe non traité étaient ensuite infectés 7 semaines après la première infestation. Tous les non traités (porcs non infectés initialement) présentaient les signes cliniques d'entéropathie proliférative, excrétaient des *Lawsonia* dans leurs selles et étaient positifs aux anticorps immunofluorescents anti-*Lawsonia*. Par opposition, les porcs initialement infectés ne présentaient aucun signe clinique et n'excrétaient rien dans leurs fèces. Ces résultats sont en accord avec un rapport de Collins où des porcs infectés développaient des signes cliniques et des anticorps quand ils étaient infectés à 3 semaines. Quand ces porcs et un groupe témoin étaient ré infestés 7 semaines après, seul le groupe témoin présentait des signes cliniques et des IgG dirigés contre *Lawsonia intracellularis*.

*Dans le but d'en savoir plus sur l'influence de la première exposition et de la médication sur le développement de l'immunité et des signes cliniques, Mc Orist a répété son premier essai. Ce nouvel essai [117] comportait les 3 groupes suivants : 1- non traités, infestés ; 2- administration de 600 ppm de chlortétracycline au moment de l'infestation pendant 24 jours ; 3- administration de 600 ppm de chlortétracycline de 10 à 24 jours après l'infestation. Les groupes 2 et 3 étaient ré infestés 4 semaines après. Les porcs qui ont reçu la chlortétracycline au moment de l'infestation pendant 24 jours ne développaient pas de signes cliniques, pas plus que des excréments fécaux de *Lawsonia* et pas de séroconversion. Le groupe 3 développait des signes cliniques au début du traitement, excrétrait des bactéries dans leurs fèces et séroconvertissait. Le groupe 1 présentait les mêmes résultats mais avec des signes cliniques plus sévères. Après la deuxième exposition, le groupe 2 avait des signes cliniques, des *Lawsonia* dans leurs selles et des anticorps immunofluorescents. Le groupe 3 cependant ne développait pas de signes cliniques après la ré infestation, pas d'excrétion fécale. Tous les porcs du groupe 3 avaient une réponse anticorps après une première exposition. Mc Orist conclue que les porcs exposés à l'infestation ensuite traités avec un antibiotique efficace contre *Lawsonia intracellularis* tel que la chlortétracycline, développent une immunité qui protège contre une nouvelle exposition.

Quand on compare les travaux de Mc Orist [112, 117] et ceux de Holyoake [53] et de Bane [3], il est évident que le moment des administrations ponctuelles de l'antibiotique est important pour permettre une exposition de l'animal à *Lawsonia* pour que l'immunité puisse se développer.

Tout cela préfigure la complexité du contrôle de l'iléite qui fait intervenir l'utilisation des antibiotiques et également le système immunitaire. Comme l'entéropathie proliférative est rarement observée chez les porcs apparemment rétablis ou chez les porcs de plus de 2 ans, cela suppose qu'une immunité naturelle existe ; la réponse anticorps à l'infection est d'ailleurs détectable. Il faut donc autoriser une période d'exposition de l'animal à *Lawsonia intracellularis* avant de médicaliser les animaux. Pas plus de 2-3 semaines doivent s'écouler avant d'incorporer le programme médical. Cette tactique, qui permet le développement de l'immunité, semble être la meilleure dans la gestion de la forme aiguë [124].

III Pathogénie :

3.1 Modalités de l'infection :

Lawsonia intracellularis pénètre chez l'hôte par voie orale : en effet l'inoculation de porcs par voie orale avec des cultures de *Lawsonia intracellularis* aboutit à une infection intracellulaire et à des lésions typiques d'iléite [102].

Les porcs sensibles se contaminent suite à une exposition au germe [124]. Le mode de transmission le plus courant est la voie orale, mais l'entérite proliférative peut être propagée aussi par les oiseaux, les rongeurs et par les équipements contaminés.

La bactérie envahit ensuite l'iléon. . La présence des bactéries à cet endroit a été confirmée par des essais immunologiques ou grâce à des sondes d'ADN [93].

Une étude a montré que la bactérie était détectable dans les amygdales des porcs et que cette présence semblait être corrélée à la sévérité des lésions intestinales, consécutivement à une rétention locale et non comme une phase de la pathogénie de l'entéropathie proliférative [62].

Les examens en microscopie électronique révèlent que les bactéries pénètrent dans les cellules intestinales grâce à une vacuole d'endocytose mais que, en moins de 3 heures, elles quittent cette vacuole et se retrouvent dans le cytoplasme [37].

Les mécanismes impliqués dans l'adhésion sont inconnus [37]:

- * la bactérie est dépourvue de couche S=S-layer (structure impliquée dans l'adhésion chez certaines bactéries).
- * ses adhésines ne semblent pas porter la séquence Arg-Gly-Asp fréquemment impliquée dans la fixation sur des récepteurs cellulaires.
- * elle est dépourvue d'invasine.
- * son adhésion est inhibée par un anticorps monoclonal qui se fixe sur une protéine de 25 à 27 kDa mais on ne sait pas si cette protéine constitue l'adhésine ou si les anticorps agissent par encombrement stérique.

Mc Orist S., Mackie R.A., Lawson G.H. et Smith D.G. [110] stipulent qu'il n'y a pas de différence dans la capacité de *Lawsonia intracellularis* à s'attacher et à entrer dans les

entérocytes avec ou sans la présence de fibronectine plasmatique bovine, ou le peptide Arg-Gly-Ser. La présence du peptide Arg-Gly-Asp (RGD) augmente l'invasion de *Lawsonia*; celle-ci est réduite en présence de fragments monovalents d'anticorps monoclonal IgG dirigés contre un constituant de la surface externe de la bactérie. Cette neutralisation montre un effet concentration-dépendant du titre en anticorps. L'exacte nature du ligand et les interactions des cellules réceptrices à *Lawsonia* restent à être déterminées [110].

Elle se multiplie en étant libre dans le cytoplasme des entérocytes de l'iléon et du colon mais ne diffuse pas d'une cellule à l'autre ; sa multiplication intracellulaire n'altère pas les cellules hôtes et ne provoque pas leur lyse [83]. *Lawsonia intracellularis* est souvent proche des mitochondries dans le cytoplasme.

Les événements ayant lieu dans l'infection d'une culture cellulaire montrent beaucoup de caractéristiques communes avec la maladie naturelle. *Lawsonia intracellularis* entre rapidement dans les entérocytes de rats en culture (au bout d'une heure après exposition) et leur nombre augmente les 18 heures suivantes [81]. Le processus d'entrée est dépendant de l'activité cellulaire et ne dépend pas de la viabilité de la cellule. L'inhibition du processus d'internalisation par la cytochalasine D indique que cet événement est actine-dépendant ; ceci est réduit par la présence d'anticorps spécifique et amélioré par le peptide synthétique Arginine-Glycine-Acide aspartique [110].

Les bactéries entrent dans les cellules séparément après une association étroite avec la membrane cellulaire, et par la suite elles rentrent à l'intérieur d'une vacuole d'endocytose à limite membranaire. Libérée de la vacuole, 3 heures après l'infection cellulaire [101], la bactérie commence à se multiplier librement dans le cytoplasme. Les substances qui inhibent la croissance cellulaire inhibent donc la multiplication bactérienne [81], indiquant que la division cellulaire est une condition préalable nécessaire à la multiplication bactérienne.

La libération de la bactérie dans la lumière intestinale semble impliquer des protubérances cytoplasmiques contenant de nombreuses bactéries [37]. Cet organisme détériore l'absorption des nutriments et de l'eau par l'épithélium intestinal.

De nouvelles hypothèses sont émises sur les possibles mécanismes pathogéniques [116]: les aspects ultra structuraux des lésions incluent la présence de cryptes intestinales hypertrophiées contenant des cellules épithéliales immatures indifférenciées et l'absence de cellules caliciformes. De nombreuses *Lawsonia intracellularis* étaient constamment présentes à l'intérieur des cellules affectées. Les aspects chronologiques semblent être les suivants :

- 1 : présence commune de cellules épithéliales inflammées et hypertrophiées ;
- 2 : cellules épithéliales atrophiées et dégénérées ;
- 3 : apoptose des cellules épithéliales et des macrophages ;
- 4 : réapparition des cellules caliciformes normales ;
- 5 : réduction du nombre de *Lawsonia intracellularis* à l'intérieur des lésions.

La présence de *Lawsonia intracellularis* doit perturber les processus normaux de croissance cellulaire, de différenciation et d'apoptose dans l'épithélium intestinal [116].

Les cellules infectées continuent de se diviser, même quand elles sont hautement infectées, et par conséquent, la proportion de telles cellules augmente ce qui est à

l'origine du développement d'une monocouche [82, 83]. L'infection cellulaire atteint plus de 90% entre 2 et 6 jours, ce qui dépend de la souche et du nombre de bactéries dans l'inoculum, et ensuite cela commence à décliner. Quelques cellules hautement infectées montrent des protrusions en forme de ballons, puis se détachent de la monocouche et relâchent les bactéries libres dans le milieu de culture [101].

In vivo, les bactéries sont donc relâchées des cellules grâce à des protrusions cytoplasmiques à l'intérieur de la lumière intestinale [116]. L'organisme est excrété dans les fèces des porcs infectés. La source la plus probable des nouvelles infections et de la transmission aux autres porcs est les selles contaminées. Les fèces des mères contaminent leurs porcelets dans la case de la maternité (ils sont ainsi les premiers exposés) qui deviennent des porcs porteurs dans la nurserie [124]. Après le sevrage, la maladie se propage des jeunes (porcs sensibles) aux plus vieux (porcs infectés) [4]. Les animaux porteurs peuvent excréter les organismes sans ne montrer aucun signe de maladie et ils contaminent alors les parcs de reproducteurs sensibles; ou bien, ils peuvent développer des signes cliniques d'iléite s'ils sont stressés ou lors d'un déclin d'immunité [124]. La présence de ces animaux porteurs est suspectée mais cela n'a pas été démontré [4]. Si leur existence s'avère être vraie, cela rend l'éradication de la maladie extrêmement difficile.

L'excrétion fécale de *Lawsonia intracellularis* peut persister au moins 10 semaines [124, 138]. Il faut noter également que certains animaux n'excrètent pas. Plusieurs souches de cet organisme survivent pendant 1 à 2 semaines en dehors des cellules hôtes [102, 138].

Smith D.G., Mitchell S.C., Nash T. et Rhind S. ont étudié l'influence de l'interféron gamma sur l'hyperplasie de l'épithélium intestinal causée par *Lawsonia intracellularis* chez la souris : l'invasion des cellules épithéliales et l'hyperplasie des cellules infectées qui en résulte sont le processus central de la pathogénie de la maladie [140]. Leur étude avait pour but d'établir comment une souris pouvait être sensible et comment l'interféron gamma contribuait à la pathogénie de l'infection. 129 souris de souche sauvage (129-SV-EV- mice) et d'autres ne possédant pas d'interféron gamma (IFN-gamma R(-)) ont été inoculées oralement par $5,5 \cdot 10^7$ *Lawsonia intracellularis*. L'ensemble des souris (129+IFN-gamma(-)) étaient infectées, mais l'étendue de l'infection, déterminée par la proportion de cryptes infectées, était sensiblement moins élevée chez les 129 souris par rapport aux souris IFN-gamma(-). En dépit de ces différences, les cryptes infectées montraient des caractéristiques typiques d'entéropathie proliférative retrouvées chez d'autres espèces, c'est-à-dire une colonisation intracellulaire des cellules épithéliales par *Lawsonia intracellularis* avec une hyperplasie épithéliale résultante. L'infection des 129 souris était évidente entre 21 et 28 jours post-inoculation, tandis que l'infection des IFN-gamma (-) était déjà claire chez 100% des individus avant 21 jours. De plus, l'infection de ces derniers était tellement étendue que la mortalité eut lieu. En bilan de cette étude, les interférons gamma jouent un rôle significatif dans la pathogénie en limitant l'infection intracellulaire et en limitant la prolifération cellulaire associée à *Lawsonia intracellularis* [140].

3.2 Schéma pathogénique : cf figure 1 page 27

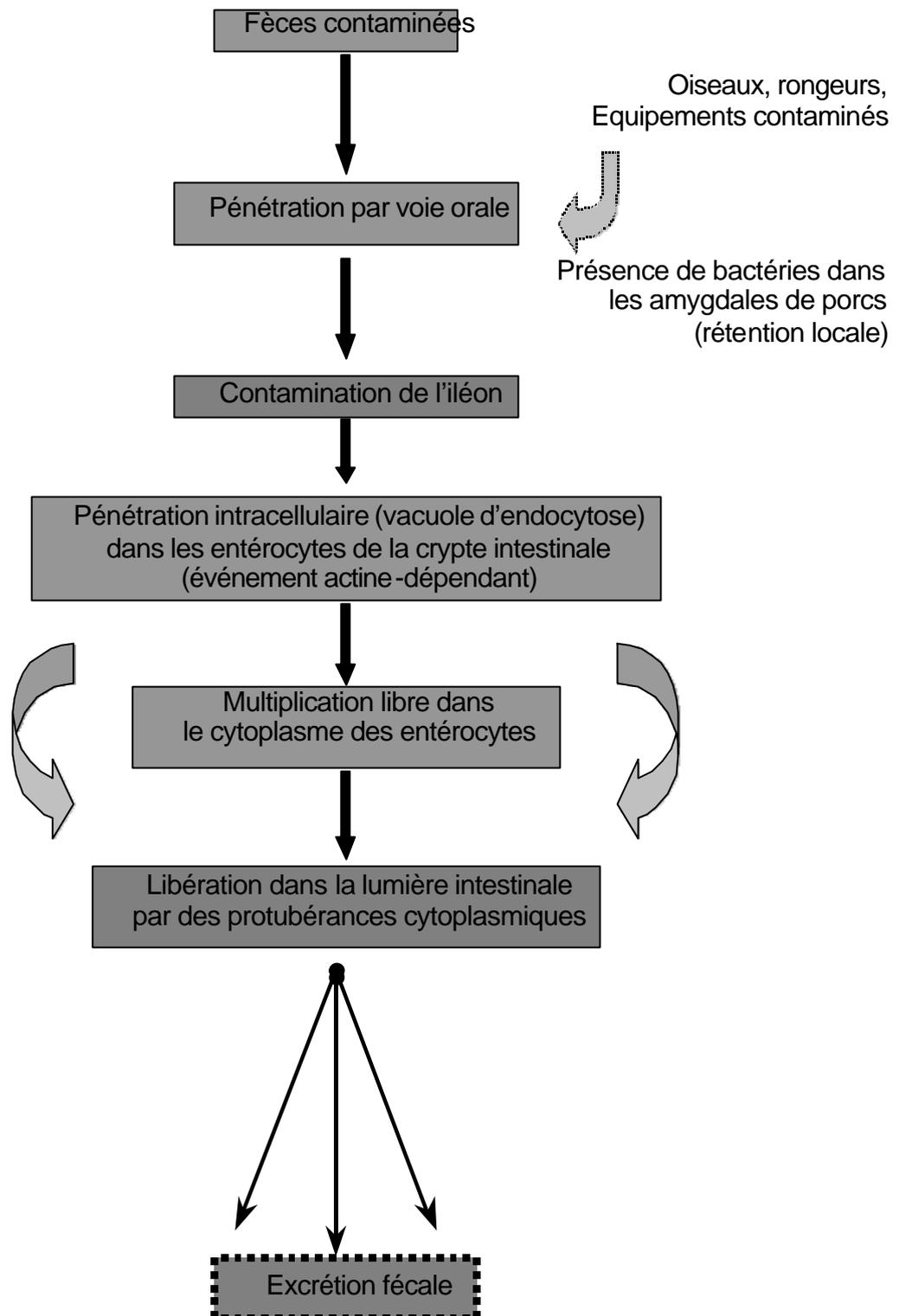


Figure 1 : Schéma pathogénique.

3.3 Interprétation et étude chronologique des lésions chez le

hamster :

Jacoby (1978) [57] et Johnson et Jacoby (1978) [64] ont fourni une étude sur le développement séquentiel des lésions chez le hamster. Quelques éléments permettent de supposer que ce déroulement est similaire chez le porc [92]. La bactérie est d'abord détectée dans le cytoplasme des cellules des cryptes des hamsters cinq jours après la contamination. L'invasion cellulaire, un éventuel passage inter-cellulaire et l'adhérence de la bactérie à la surface de l'entérocyte ne sont pas observés. La lumière glandulaire des tissus affectés de hamsters et de quelques porcs contient des bactéries d'ultrastructure similaire ; ces organismes semblent être antigénétiquement distincts de *Lawsonia intracellularis* [105].

Les événements à l'origine de l'infection des cellules de la crypte se déroulant les 5 premiers jours sont peu connus. Il est possible que la présence d'une flore intestinale modifie la pathogénie en altérant les potentiels d'oxydo-réduction au niveau des intestins ou qu'elle affecte la vitesse de division des entérocytes, mais ceci n'est pour l'instant que pure spéculation.

Dix jours après l'exposition aux hamsters, le nombre de bactéries intracellulaires augmente et l'hyperplasie cellulaire est évidente. La phase d'hyperplasie commence par une élongation des villosités et une extension de l'épithélium glandulaire à la base de celles-ci. Avant le 15^{ème} / 20^{ème} jour, les villosités affectées sont 2 à 3 fois plus longues que la normale, déformées et entièrement composées d'épithélium hyperplasique [57, 64]. Il a été prouvé que l'hyperplasie survient en premier dans les cryptes ; cependant, d'autres avis, basés seulement sur des preuves morphologiques, ont été exprimés. Ainsi, Boothe et Cheville considéraient que l'hyperplasie commençait à la zone d'extrusion au bout des villosités [7].

Le début de l'hyperplasie, suite à l'augmentation du nombre de bactéries, indique une étroite relation entre les deux événements. Donc, la résolution des lésions est corrélée, de près, à la disparition de la bactérie intracellulaire. Le moyen par lequel l'organisme induit l'hyperplasie est inconnu mais Mc Orist et al. (1994) ont passé en revue les possibles mécanismes [100]. Les entérocytes qui prolifèrent dans les entéropathies prolifératives montrent peu de complexes majeurs d'histocompatibilité de classe II, menant probablement à une réponse immunitaire déprimée [108]. La perte des antigènes de présentation dans les entérocytes infectés doit fournir une niche protectrice pour la croissance et la division de *Lawsonia intracellularis* [108]. L'échec pour détecter cette bactérie à la surface cellulaire ou la pénétration cellulaire suggère que la répartition de la bactérie au sein de l'épithélium se produit par l'intermédiaire des cellules infectées. L'organisme entre probablement dans les cellules de la crypte puis se divise ; les cellules de la crypte infectées peuplent ensuite l'épithélium selon un processus analogue à celui du remplacement épithélial normal.

Le stade lésionnel ultérieur chez le hamster est souvent compliqué par des changements pyogranulomateux [57] ; malgré cela, les lésions prolifératives qui en ressortent sont similairement très proches de celles du porc. L'épithélium malade contient des cellules infectées qui font protrusion dans la lumière intestinale. D'autres

cellules infectées toutes entières sont trouvées libres dans la lumière glandulaire ainsi que des cellules épithéliales ratatinées. Des cellules en voie d'apoptose sont distribuées sur l'ensemble de la muqueuse. Adjacentes à ces lésions, des aires d'épithélium normal présentent des cellules caliciformes, des formations villosités et une absence de bactérie intracellulaire [116].

L'extrusion des cellules infectées de l'épithélium permet à la bactérie de coloniser le tissu intestinal distal à une lésion primaire ; cela mène donc à une excrétion fécale. Les lésions de l'intestin grêle chez le porc sont souvent discrètes en partie antérieure et confluent plus bas ; cela est une indication que ces dernières lésions se développent à partir d'une infection intestinale située plus au dessus.

3.4 Réaction de l'organisme infecté :

Les signes cliniques et les lésions peuvent être observés après une période d'incubation de 2 à 3 semaines [37, 78]. Le déclenchement de l'iléite clinique se produit typiquement 2 semaines après un facteur majeur de stress (changement alimentaire, stress lié au transport, surpeuplement, fluctuations de température [refroidissement ou réchauffement], changement de bâtiment et présence d'autres maladies...) [4].

Les facteurs particuliers qui déclenchent la clinique est une combinaison d'une immunité faible et d'une mauvaise hygiène menant à une charge environnementale élevée [93].

L'hyperplasie épithéliale résultant de l'infection intracellulaire et l'infiltration cellulaire diffuse de la muqueuse altèrent les capacités d'absorption de l'épithélium intestinal ; les porcs malades présentent alors des performances moindres avec un gain de poids moyen diminué.

IV Etude clinique :

4.1 Chez les porcs :

L'entéropathie proliférative du porc est une maladie intestinale touchant les animaux en croissance et en finition. L'infection des porcs par cette bactérie est corrélée à la présence de lésions prolifératives sur la muqueuse de l'iléon et du gros intestin, menant à des conséquences cliniques ou sub-cliniques sur la croissance pondérale, la digestion et sur la consistance des fèces [93]. Les porcs affectés montrent des signes cliniques variés comportant diarrhée, perte de poids, croissance anormale et mortalité. Parfois, des animaux atteints ne présentent aucun signe clinique [124].

L'incubation est assez longue, de deux à trois semaines [37, 78].

La maladie s'exprime cliniquement sous quatre formes :

- une forme aiguë, hémorragique, appelée entéropathie hémorragique (PHE) ;
- une forme chronique, proliférative, appelée adénomatose intestinale (PIA) ;
- l'entérite nécrosante ;
- l'iléite régionale [36].

Sur le terrain, les formes les plus fréquemment observées sont l'adénomatosose intestinale et l'entéropathie proliférative hémorragique [82]. Mais c'est probablement la forme subclinique ou inapparente qui est la plus répandue. La baisse des performances est le seul trait de cette forme avec un gain de poids diminué et une mauvaise digestion. Elle est donc largement sous-estimée [4].

Les entérites prolifératives s'expriment généralement sous une forme chronique induisant des retards de croissance et des diarrhées grises. Les formes aiguës, parfois observées, induisent des hémorragies digestives (fèces molles et de couleur noire) et de la mortalité [36].

4.1.1 Adénomatosose intestinale (PIA) :

L'entérite proliférative chronique affecte les porcs sevrés de 6 à 20 semaines [106]. Son expression clinique, plutôt frustrée, se traduit par de l'apathie, de la diarrhée présente chez 15 à 20 % des porcs et généralement modérée avec une petite perte de la couleur habituelle, une variation de poids des porcs en croissance (croissance faible qui persiste pendant plusieurs semaines) [4, 80]. Ces retards de croissance associés à une augmentation de l'indice de consommation sont finalement coûteux [78]. Les cas bénins peuvent être difficiles à détecter mais cela reste relativement courant dans les élevages porcins [93]. Le diagnostic clinique de cette forme est difficile et seul un enregistrement des gains de poids semble en mesure de détecter la présence de l'affection dans un élevage [37]. Ces retards de croissance débutent trois semaines après l'inoculation. Par conséquent, les exploitations porcines devraient être inspectées avec soin vis-à-vis des retards de croissance, des cas irréguliers de diarrhée et des avortements [93]. Ces formes bénignes guérissent spontanément, l'anorexie disparaît et la croissance redevient normale [37]. La mortalité soudaine est rare [80].

4.1.2 Entéropathie hémorragique (PHE) :

Les cas d'entéropathie proliférative hémorragique aiguë se rencontrent le plus généralement chez les animaux en finition, les animaux nouvellement introduits dans le stock de reproducteurs ou chez des jeunes adultes de 4 à 12 mois : anémie hémorragique aiguë, fèces noires ou rouge-sang non formées (qui est souvent le premier signe visible) [93]. Il n'y a pas de signe prémonitoire ; en effet certains animaux meurent sans selles anormales et montrent seulement une pâleur marquée des muqueuses [93]. La PHE clinique aiguë est parfois associée à l'avortement des femelles gravides, mais il n'y a aucune preuve pour suggérer que cet événement est lié à l'infection des tissus fœtaux par *Lawsonia intracellularis*. Les truies gestantes avortent, la majorité 6 jours après le début des signes cliniques aigus [93]. Souvent les animaux atteints par cette forme meurent avec une mortalité pouvant atteindre 50 % des animaux (souvent suite à une perforation intestinale) [124]. La mortalité intervient généralement 48 heures après le début des symptômes. Cependant, certains animaux se rétablissent et 5 à 10 % développent une forme chronique [4]. Parmi les animaux sensibles, une proportion considérable de l'exploitation peut être atteinte. Les animaux qui survivent

s'améliorent progressivement sur une période d'environ une semaine [80]. Cette forme a été plus étudiée ces dernières années à cause de son incidence chez les porcs en finition et chez les porcs de remplacement [124].

4.1.3 Deux autres formes plus discrètes :

L'entérite nécrosante se caractérise par une adénomatosose accompagnée d'une inflammation et d'une nécrose de la muqueuse intestinale qui conduisent à une anorexie marquée, à un amaigrissement et à des diarrhées intermittentes. La mort est alors possible [37].

L'iléite régionale se traduit par une forte hypertrophie de la paroi iléale qui peut se perforer et entraîner une péritonite fatale [37].

4.2 Chez les poulains [29, 79, 151]:

L'entéropathie proliférative affecte principalement les poulains sevrés âgés de 4 à 6 mois. Elle est associée à un syndrome d'entérite avec déperdition protéique. L'image clinique se caractérise par une diarrhée profuse liquide, des coliques, des œdèmes sous-cutanés, de l'hypoprotéinémie et de l'anorexie suivis d'une perte de poids rapide et marquée.

4.3 Chez les hamsters [65, 149]:

Le "Wet Tail" est une maladie intestinale très sévère des jeunes hamsters, qui entraîne souvent la mort. La maladie ne semble pas être transmissible à l'homme. Elle touche surtout les hamsters de 3 à 6 semaines mais tous les âges sont sensibles. Le tableau clinique regroupe léthargie, perte d'appétit, diarrhée très liquide, aire mouillée ("wet"), souillée et emmêlée autour de l'anus et de la queue ("tail"), déshydratation (yeux ternes et creux), douleurs abdominales, sang dans la diarrhée (dans les cas extrêmes), sang autour de l'anus, protrusion du rectum. La mortalité est fréquente, 48 heures après l'apparition des symptômes.

V Lésions :

5.1 Chez les porcs :

Il faut d'abord rappeler la structure histologique normale du tube digestif [34] : celui-ci est formé de cinq tuniques concentriques et possède la même structure de base, sur la totalité de sa longueur : une muqueuse (épithélium et chorion), une musculaire muqueuse formée de deux couches de fibres musculaires lisses, une sous muqueuse

conjonctive, une musculeuse formée de deux épaisses couches de fibres musculaires lisses, et une séreuse (ou adventice), de nature conjonctive.

Selon la zone du tube digestif, les diverses tuniques sont plus ou moins développées : dans l'estomac, la muqueuse est très épaisse formant des glandes, notamment au niveau du fundus ; dans l'intestin grêle (jéjunum et iléon), la muqueuse forme des villosités intestinales et possède des glandes à sa base ; dans le duodénum, il existe, en plus, des glandes au niveau de la sous muqueuse ; dans le gros intestin, colon et cæcum, la muqueuse forme des replis délimitant des glandes sans aucune villosité.

La maladie due au développement de la lésion primaire, sans complication, est connue sous le nom d'adénomatose intestinale. Lorsque d'autres modifications se surajoutent à la lésion primaire on parle, selon les cas, d'entérite nécrosante, d'iléite régionale (ou d'iléite terminale ou proliférative) et d'entéropathie proliférative hémorragique [106].

Dans la forme chronique de la maladie (entéropathie proliférative), les lésions macroscopiques se situent le plus généralement dans les 50 derniers centimètres de l'intestin grêle (jéjunum, iléon) et dans le tiers supérieur du colon proximal avec le cæcum. L'amplitude de la prolifération varie sur une grande étendue. Dans les lésions développées, la paroi est épaissie et le diamètre global augmente [93]. Cet épaississement de la muqueuse varie suivant le stade de la maladie, et sur les lésions les plus avancées, la lumière intestinale est largement réduite. La muqueuse est surélevée donnant lieu à des plis profonds, longitudinaux ou transverses ce qui donne l'aspect de carton ondulé. La surface de la muqueuse est humide mais non mucoïde, parfois avec un exsudat inflammatoire adhérent [93]. Dans les lésions mineures, la portion terminale de l'iléon (10 cm proximale à la valvule iléo-cæcale) est examinée comme le site le plus probable de l'infection (en effet, les lésions les plus bénignes ne font qu'une dizaine de centimètres de long et sont localisées en amont de la valvule iléo-cæcale) [78].

L'entérite proliférative hémorragique aiguë affecte l'iléon terminal et le colon proximal [78]. L'intestin affecté est épaissi avec un œdème séreux. La lumière de l'iléon et du colon contient couramment un caillot de sang ou, davantage, mais souvent avec d'autres liquides sanguins [78]. Le rectum contient des selles noires (éléments digérés mêlés à du sang). Les lésions macroscopiques de la muqueuse sont en revanche fort discrètes [78]. La muqueuse de la portion intestinale affectée montre des petites grosseurs, ulcères ou érosions ; parfois, seulement, une hyperplasie marquée est présente [93].

L'entérite est caractérisée microscopiquement par une prolifération massive des cryptes intestinales immatures, une atrophie villositaire souvent prononcée (la bordure en brosse constituée de micro villosités est généralement peu développée) ainsi que la présence, dans le chorion, d'un infiltrat de cellules inflammatoires en quantité variable [151].

La coloration à l'argent (Warthin Starry) révèle la présence de nombreuses bactéries incurvées dans le cytoplasme apical de toutes les cellules épithéliales prolifératives de la muqueuse affectée ; cependant, la bactérie n'est pas présente dans les cellules du tissu adjacent non atteint. Les bactéries se présentent en groupes et il est courant d'en

trouver un grand nombre à l'intérieur d'une seule cellule [151]. Dans la forme hémorragique de la maladie (PHE), les bactéries sont trouvées libres, ou dans les macrophages, ou à l'intérieur des capillaires de l'épithélium et dans la lymphe [89].

L'aspect histologique des lésions est univoque, avec une hypertrophie des cryptes qui, normalement bordées d'une seule couche cellulaire, en comportent cinq, dix voire davantage. Elles sont en outre entourées de cellules épithéliales immatures [78]. En effet, les colorations histochimiques des intestins affectés soulignent l'immaturité de la muqueuse malade [129].

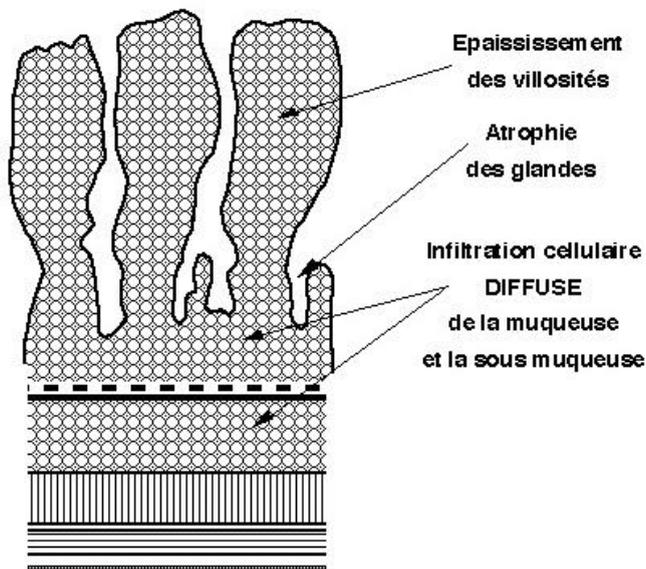
Les examens histologiques d'un épithélium intestinal envahi par *Lawsonia intracellularis* révèlent l'expansion et l'élongation des cryptes intestinales. Les cellules épithéliales prolifératives avec des noyaux allongés altèrent les cryptes. Les figures mitotiques sont nombreuses [133]. Les cryptes prolifératives peuvent alors bifurquer, s'étendre et s'ouvrir à la surface de la muqueuse. Quand l'épithélium normal et anormal se rencontrent, la jonction est clairement définie et l'accumulation de cellules inflammatoires ne représente pas un aspect marqué de la maladie [133]. Les cellules prolifératives de la muqueuse se limitent principalement à la couche superficielle de l'épithélium, mais parfois, elles pénètrent la *lamina propria* et la musculaire muqueuse [33, 128].

Les cellules caliciformes sont absentes de l'épithélium anormal [133].

La plupart des nœuds lymphatiques drainant l'intestin affecté montrent peu de changements spécifiques, mais certains peuvent contenir des éléments glandulaires avec une structure similaire à celle des lésions intestinales et avec des bactéries intracellulaires [33, 128]. Ces lésions métastatiques chez le porc ont seulement été décrites dans les nœuds de drainage locaux.

Il existe également deux autres formes, moins répandues : l'entérite nécrosante et l'iléite régionale. La première est une nécrose de coagulation extensive de l'épithélium, accompagnée d'une inflammation intense [78], qui aboutit souvent à une mortalité rapide [131]. La muqueuse est recouverte d'une masse caséuse gris jaunâtre adhérente [78]. L'iléite régionale est observable chez les animaux qui survivent à un épisode d'entérite nécrotique ; une très grande partie de la muqueuse endommagée est remplacée par un tissu de granulation associé à une hypertrophie de la couche musculaire [131]. Dans cette forme, la lésion caractéristique est l'intestin en « tuyau de pipe » [78]. Elle est localisée au niveau de la partie distale de l'iléon. La muqueuse est ulcérée, mais le trait le plus typique est l'hypertrophie de la musculature [78].

Aspect histologique des entérites prolifératives



- *MACRO* = Epaississement diffus et important de la paroi, Plis épais, blanchâtres

- *HISTO* = Infiltration diffuse, massive du chorion de la muqueuse et de la sous- muqueuse par des cellules inflammatoires

Figure 2 : Aspect histologique des entérites prolifératives [34].

5.2 Chez les hamsters :

Le « Wet tail » ou entérite du hamster est une maladie commune des hamsters de laboratoire sevrés chez lesquels des iléites prolifératives ont été remarquées lors de leurs autopsies [65]. Les lésions prolifératives affectent principalement l'iléon et sont comparables à celles du porc [57, 64]; le dernier stade lésionnel est caractérisé, cependant, par des colonnes de cellules épithéliales qui pénètrent la musculaire muqueuse et les couches musculaires, associé à une inflammation pyogranulomateuse [59]. Les animaux qui survivent souffrent souvent de fibrose et de sténose de la valvule iléo-cæcale, ce qui occasionne une obstruction fatale. Les nœuds lymphatiques drainant l'intestin affecté montrent de nombreuses réponses inflammatoires mais il n'y a pas de foyers métastatiques.

Une maladie proliférative supplémentaire, distincte de l'iléite typique, a été notée chez les hamsters [26]. Dans cette maladie, les lésions prolifératives épithéliales accompagnées d'une hyperplasie des cellules calciformes se situent dans le cæcum ou le colon; les organismes intracellulaires, qui sont parfois présents, sont immunologiquement sans rapport avec *Lawsonia intracellularis*.

5.3 Chez les autres espèces :

Les lésions chez les autres espèces diffèrent dans leur localisation et leurs détails histologiques, mais toutes montrent une prolifération des entérocytes associée à la présence de bactéries intracellulaires.

Chez les furets [40], les renards bleus [35] et les lapins de laboratoire [136], les lésions les plus sévères sont le plus souvent situées dans le cæcum et dans le colon proximal.

Les lésions du furet pénètrent les couches musculaires et apparaissent à la surface de la séreuse intestinale et dans les nœuds lymphatiques de drainage, cependant il peut y avoir des foyers métastatiques (omentum, foie...).

La maladie du lapin a des caractéristiques non observées généralement chez les autres espèces. Les lésions prédominent dans le gros intestin. Les cryptes prolifèrent mais le changement le plus notable est la dégénérescence et la perte des cellules absorbantes superficielles. Ces modifications sont associées à la présence d'une bactérie *vibrio-like* à la fois dans la lumière glandulaire et dans les cellules épithéliales dégénérées. La bactérie intracellulaire est souvent localisée dans des vacuoles proches de la membrane et l'organisme a un flagelle polaire unique, caractéristiques non observées habituellement dans les entéropathies prolifératives. Umemura et al. en 1982 ont décrit des lésions iléales de lapins avec de nombreux macrophages dans la *lamina propria* et la présence d'une bactérie incurvée non flagellée libre dans le cytoplasme apical des cellules épithéliales [145]. En 1990, Schoeb et Fox ont décrit la pathologie sous trois formes: dégénérescence érosive de la surface, accumulation de macrophages et prolifération de cellules épithéliales. Les cellules épithéliales contenaient des bactéries incurvées immunologiquement apparentées à *Lawsonia intracellularis*. La relation entre cette dernière et l'aspect des lésions reste à être définie [136].

Les lésions décrites chez les poulains [29, 42, 79, 151], les cerfs [27], les chiens [14] et les cochons d'Inde [122] se produisent principalement dans l'iléon et sont similaires de près à celles décrites chez les porcs et chez les hamsters.

VI Epidémiologie :

6.1 Epidémiologie descriptive :

6.1.1 Réceptivité :

Les deux espèces principalement affectées par les entéropathies prolifératives sont le porc et le hamster, chez lesquels la maladie peut être cliniquement sévère. Des lésions pathologiques similaires ont été décrites chez de nombreuses autres espèces. Chez beaucoup, la bactérie intracellulaire a été décrite dans les lésions et identifiée comme étant *Lawsonia intracellularis*. Chez d'autres, l'organisme est morphologiquement similaire à *Lawsonia* mais n'a pu être identifié comme tel. Enfin dans un troisième groupe, des animaux ont été observés avec des lésions intestinales similaires mais aucune bactérie intracellulaire n'a été retrouvée.

Les espèces animales reconnues comme étant atteintes de lésions d'entérite proliférative associées à des organismes intracellulaires sont le hamster (Wet-Tail) [41, 149], le furet (colite proliférative) [39, 40], le lapin (entérotyphlocolite) [136], le daim [37],

l'émeu [88], les ovins [36], le poulain (adénomatose intestinale) [29, 79], le chien (iléite proliférative) [14], le rat [36], le renard bleu (adénomatose intestinale) [77], le chevreuil et le cobaye (hyperplasie duodénale) [36]. Dans ces 3 premières espèces, des anticorps anti-25-27kDa réagissent avec la bactérie intracellulaire retrouvée dans les lésions.

Hotchkiss C.E., Shames B., Perkins S.E. et Fox J.G. ont démontré en 1996 que le séquençage d'un fragment d'ADN de 550 paires de bases de l'organisme responsable d'entéropathie proliférative chez le lapin (obtenu par PCR) révélait plus de 98% de similitude avec la séquence homologue de *Lawsonia intracellularis* [56]. Des cas d'entéropathie proliférative subclinique associée à *Lawsonia intracellularis* chez des lapins ont été mis en évidence par Duhamel G.E., Klein E.C., Elder R.O. et Gebhart C.J. : l'agent étiologique a été détecté dans les tissus en utilisant des méthodes morphologiques, immunohistochimiques et moléculaires [28]. L'entéropathie proliférative était associée à une infection des villosités et des cryptes intestinales par des organismes intracellulaires génétiquement et antigéniquement semblables à *Lawsonia intracellularis* trouvée chez de nombreuses autres espèces animales.

Il n'a pas été déterminé formellement si l'entérite proliférative est causée par le même agent dans chacune de ces espèces ou si différentes étiologies existent ; cependant, la maladie peut être transmise des hamsters aux porcs [60, 103]. Des essais immunohistologiques suggèrent que *Lawsonia intracellularis* est apparentée aux organismes qui causent l'entérite proliférative chez les autres espèces. En effet, l'entérite proliférative est une maladie intestinale qui affecte une grande variété d'animaux. Les antigènes des agents intracellulaires trouvés dans les lésions des différentes espèces animales sont similaires [23]. De plus, les souches provenant des porcs, furets et hamsters montrent des similitudes génétiques. Cooper D.M., Swanson D.L., Barns S.M., Gebhart C.J. ont comparé la séquence de l'ADN ribosomal 16S issue des agents intracellulaires trouvés chez le hamster, le cerf et l'autruche à celle du porc [23]. Les résultats signalent qu'il existe de fortes similitudes, indiquant qu'ils appartiennent tous au genre *Lawsonia* et qu'ils doivent donc être la même espèce : *Lawsonia intracellularis*. La séquence de l'ADNr 16S des bactéries retrouvées dans le cytoplasme des cellules épithéliales de la muqueuse de hamster atteints d'iléite proliférative présente une similitude de 98,4% avec celle de *Lawsonia intracellularis* [125]. Celle des bactéries retrouvées dans le cytoplasme des cellules épithéliales de la muqueuse de furets atteints d'EPP ne diffère de celle des bactéries isolées chez le hamster que par une seule base [38].

Klein E.C., Gebhart C.J. et Duhamel G.E. ont mis en évidence le déclenchement de l'entérite proliférative causée par *Lawsonia intracellularis* dans des jeunes colonies de macaques Rhésus en 1999 [73]: 10 jeunes singes Rhésus (*Macaca mulatta*) sont morts soudainement. Une caractéristique de la maladie est l'issue fatale rapide des jeunes singes entre 6 et 18 mois d'âge. C'est la partie terminale de l'iléon qui est touchée et cela comporte beaucoup de caractéristiques communes avec l'entérite proliférative hémorragique du porc. Les animaux présentaient un épaissement de l'iléon associé à une muqueuse proliférative, nécrotique, associant inflammation exsudative, ulcération et hyperplasie des cryptes. Une méthode spécifique immunohistochimique utilisant des anticorps monoclonaux anti-*Lawsonia intracellularis* a confirmé la présence de *Lawsonia intracellularis*. Cette infection due à *Lawsonia intracellularis* a été retrouvée chez beaucoup d'hôtes, suggérant qu'elle doit demeurer inconnue dans beaucoup d'autres espèces, notamment chez l'homme [73].

Les oiseaux peuvent également être affectés par cette bactérie : Lemarchand T.X., Tully T.N. Jr, Shane S.M. et Duncan D.E. (1997) ont signalé un prolapsus rectal comme étant le signe clinique présenté dans un groupe de jeunes émeus (*Dromaius novaehollandiae*) [88]. Histologiquement, ces animaux montraient une hyperplasie des entérocytes, une dilatation des glandes et un infiltrat dense d'hétérophiles, de macrophages, de lymphocytes et de cellules plasmatiques dans la *lamina propria*. Des organismes *Campylobacter-like* morphologiquement compatibles avec *Lawsonia intracellularis* ont été observés par microscopie électronique. Les bactéries ont été davantage caractérisées par immunofluorescence indirecte utilisant un anticorps monoclonal spécifique d'une protéine de 25-27 kDa de la membrane externe de *Lawsonia intracellularis* [88]. Elles ont été récemment décrites chez l'autruche [24].

Chez les espèces animales autres que le porc, le renard bleu et le hamster, la maladie se déclenche dans des cas isolés et selon des formes mineures.

Le tableau 2 liste les espèces chez lesquelles la maladie a été rapportée [80].

Tableau 2: Identification des bactéries intracellulaires incurvées retrouvées chez les animaux affectés d'entéropathie proliférative telle que *Lawsonia intracellularis* [51].

Espèces	Mise en évidence de la bactérie intracellulaire	Référence
Renard bleu, <i>Alopex lagopus</i>	IO	Ericksen et al.1990
Cerf <i>Odocoileus virginianus</i>	27kea, tissu PCR 16S r DNA	Drolet et al.1996 Cooper et al.1997
Chien	27kea	Leblanc et al.1993
Emeu, <i>Dromaius novaehollandiae</i>	27kea ; 16S r DNA	Lemarchand et al.1997
Cochon d'Inde	IO	Elwell et al.1981
Hamster <i>Mesocricetus auratus</i>	27kea ; culture 16S r DNA	Mac Orist et al.1987 Stills 19991 Peace et al.1994
Cheval	Tissu PCR ; 27kea	Williams et al.1996
Singe Rhésus Macaque, <i>Macaca mulata</i>	27kea	Klein et al.1999
Porc	27kea ; 16S r DNA culture	Mac Orist et al.1989 Gebhart et al. 1993 Lawson et al.1993
Autruche, <i>Struthio camelus</i>	16S r DNA	Cooper et al.1997
Lapin, <i>Oryctolagus cuniculus</i>	27kea ; 16S r DNA	Schoeb et Fox 1990 Hotchkiss et al.1996
Rat	IO	Vandenberghe et al.1985

27kea : antigène d'enveloppe de 25-27 kDa ;
culture : croissance de la bactérie intracellulaire *in vitro* ;

16S r DNA : la séquence de gènes de l'ARN 16S montre plus de 96% de similitude avec l'organisme retrouvé chez le porc ;
tissu PCR : les extraits d'ADN des lésions tissulaires montrent des séquences similaires par analyses PCR ;
IO : bactérie intracellulaire incurvée identifiée seulement par coloration argentique ou par microscopie électronique.

La souris de laboratoire semble avoir une sensibilité limitée à *Lawsonia intracellularis* après culture [15] ou à la bactérie extraite des tissus de porcs malades [11]. Les animaux infectés développent seulement des lésions apparentes histologiquement et ne présentent pas d'excrétion fécale. Des cas naturels de maladie n'ont donc pas été rapportés chez la souris.

6.1.2 Importance économique :

Un certain nombre d'auteurs ont essayé d'évaluer les pertes économiques liées à l'entéropathie proliférative supportées par les producteurs de porcs [4, 55, 118, 147] ; ils se sont concentrés principalement sur les pertes liées à la faible croissance chez les porcs engraisés et à la mortalité associée à l'entérite proliférative hémorragique et sur les traitements. D'autres pertes sont également importantes mais plus difficiles à quantifier. Il s'agit notamment du coût de la nourriture supplémentaire : en effet les porcs atteints ingèrent davantage (le coût alimentaire d'un porc atteint durant toute sa vie va de 2\$ à 20\$) [118]. Les pertes incluent également un gain moyen quotidien diminué ce qui engendre une période plus longue en finition et une variation des poids des porcs à l'abattage. Les pertes économiques en 1999 dues à l'iléite proliférative causée par *Lawsonia intracellularis* (perte de porcs, performances moindres, mortalité [4]) sont estimées à 4 millions de livres en Grande Bretagne pour l'ensemble de la filière porcine et à 98 millions de dollars aux Etats Unis [80, 93, 148].
L'infection est très répandue dans les élevages (30 à 50% sont infectés), associée à tous les types de système de production et dans tous les continents [12, 80].

6.1.3 Fréquence et incidence :

La fréquence des entéropathies prolifératives du porc est mal connue car, le plus souvent, les signes cliniques sont discrets et ils sont atténués ou prévenus par l'incorporation d'antibiotiques dans l'alimentation [36, 52, 82]. Pour certains auteurs, les EPP représentent la pathologie intestinale la plus fréquente en élevage porcin chez les porcs en croissance [4, 20] ; toutefois, ces affections seraient rarement diagnostiquées en France [36]. Une grande enquête, réalisée en 1995 par Smith et Mc Orist au Royaume Uni, indique que la maladie se rencontre préférentiellement dans les grands effectifs (plus de cinq cents truies) et dans les élevages où sévit la pneumonie enzootique [78]. Les études de prévalence dans plusieurs continents comme l'Europe, l'Asie et l'Amérique du Nord indiquent que 24 à 47 % des porcs ont eu une iléite dans les trois dernières années [93]. Récemment on estimait à, à peu près, un tiers des élevages aux Etats Unis atteint d'iléite. Des estimations précises du pourcentage de porcs

infectés ont été difficiles à obtenir. Les informations disponibles indiquent que 20 à 75 % des porcs sont infectés par *Lawsonia* et parmi ces porcs infectés, 5 à 20 % développent la maladie [4]. D'autres sondages suggèrent que 1 à 2 % des porcs de plus de 2 ans sont touchés par la forme aiguë mais ces cas aigus peuvent toucher 12 à 50 % des porcs au sein d'une exploitation quand les conditions d'hygiène ne sont pas satisfaisantes [148].

Keith Laurence, conseiller technique chez Elanco, a présenté en décembre 2000 les résultats d'une étude sérologique menée par ce laboratoire sur la prévalence de *Lawsonia intracellularis* en Europe dans des élevages suspects de fait de troubles digestifs et/ou de retards de croissance. Les résultats doivent être interprétés prudemment, les échantillons n'ayant pas été tirés au sort. Le pourcentage d'élevages séropositifs varie selon les pays de 52 % (en Allemagne) à 100 % (en Suède et en Finlande). Il est de 62 % en France, 70 % aux Pays Bas et 93 % au Danemark. Le taux d'animaux séropositifs est généralement compris entre 30 et 50 %.

Diverses publications indiquent que le pourcentage des élevages infectés dans les pays ayant une agriculture développée s'élève à 30-50% [126]. Une étude épidémiologique [126] sur les exploitations de porcs en Pologne a été réalisée afin de découvrir la prévalence du cheptel infecté par *Lawsonia intracellularis*. Les résultats indiquent que les petites fermes (celles qui comportent moins de 50 porcs) sont séronégatives. Le pourcentage le plus élevé de prélèvements fécaux positifs (84,2%) concerne les exploitations d'engraissement. Les exploitations ayant une activité unique comporte le pourcentage le plus bas d'animaux infectés. La plupart des élevages atteints d'entéropathie proliférative en Pologne présentent la forme chronique de la maladie [126].

6.1.4 Répartition géographique :

Les entérites prolifératives du porc ont été reconnues comme une pathologie spécifique au début des années 1970 [133]. La bactérie a été isolée sur des porcs affectés d'entérite en Afrique du Sud, Amérique du Nord, Australie, Belgique, Brésil, Canada, Danemark, Espagne, Finlande, France, Grèce, Inde, Japon, Pays Bas, Royaume Uni, Suède, Taiwan et Yougoslavie [36, 93]. *Lawsonia intracellularis* est mondialement répandue à cause de l'élévation du commerce des porcs, de son adaptation à l'hôte, de sa capacité à contaminer des espèces différentes et de la facilité de sa transmission (voie oro-fécale) [93].

La bactérie affecte actuellement 96,2% des élevages porcins aux Etats-Unis [4]. Cela représente 77,2 millions de porcs touchés annuellement par la maladie [147]

Le bilan sérologique dont nous disposons actuellement en France, réalisé sur cent soixante élevages, tous suspects du fait de troubles digestifs et/ou de retards de croissance, indique une prévalence de 50 % dans cette population particulière d'élevages [78]. La positivité est de 25 à 30 % à 135-140 jours. Toutes les régions de France sont concernées. Les résultats obtenus dans d'autres pays européens sont variables. L'infection est répandue en Grande-Bretagne et au Danemark, avec près de 80 % de positifs, elle est également élevée aux Pays-Bas, mais moins dans les autres pays [78].

Une étude faite au Brésil a déterminé l'incidence de *Lawsonia* dans l'état de Santa Catarina à 33,4 %, 29,4 % à Parana, 23,3 % dans Minas Gerais, 16,7 % dans la Mato Grosso et 7,1% dans la région de Sao Paulo. L'incidence totale était de 20 % [13].

Dans une étude danoise de cas-contrôles, *Lawsonia intracellularis* a été détectée chez 75 % des porcs ayant la diarrhée et chez 39% des porcs sans diarrhée [120]. Stege H, Jensen T.K., Moller K., BackBo P. et Jorsal S.E. ont étudié la prévalence de pathogènes intestinaux (et notamment *Lawsonia intracellularis*) chez des porcs danois en finition [141]. Un total de 79 élevages a été sélectionné et visité durant l'année 1998. De chaque élevage, 20 fèces ont été collectées de porcs individuels pesant 30 à 50 Kg. Ces selles (1580 prélèvements fécaux) ont été examinées par PCR. *Lawsonia intracellularis* a été retrouvée dans 74 élevages (93,7%). La prévalence de la bactérie à l'intérieur de chaque élevage était de 25 à 30%. C'était le seul pathogène retrouvé dans les fèces de 25 exploitations (32 %) (aucun autre pathogène détecté du type *Brachyspira hyodysenteriae*, *Serpulina intermedia*, *Brachyspira innocens*, *Brachyspira pilosicoli*, *Escherichia coli* pathogène [sérogroupes O138, O139, O141 et O149]).

6.2 Epidémiologie analytique :

6.2.1 Sources et matières virulentes :

La principale matière contaminante est représentée par les matières fécales contenant des bactéries excrétées. Selon Mc Orist, *Lawsonia intracellularis* vit dans les fèces de porcs pendant 1 à 2 semaines. Il faut à peu près un million de bactéries par gramme de fèces pour contaminer un porc. Les fèces contiennent en moyenne dix millions de bactéries par gramme. L'organisme intracellulaire est donc très contagieux ; à partir d'un porc infecté, plus d'une douzaine peuvent le devenir par simple contact de porc à porc [98].

La proportion la plus élevée de prélèvements fécaux positifs (22,9 %), évaluée par PCR, est trouvée chez des porcs 10 à 24 jours après le sevrage [120]; un nombre plus faible de porcs en croissance et en finition (12,9 %) est positif et les animaux adultes montrent rarement des signes d'infection (de 0 à 3,4 %). La même étude indique donc la possible importance épidémiologique de l'infection chez les truies de reproduction et chez les porcelets qui têtent ; chez ces derniers, les symptômes liés à l'infection n'ont pas été évalués de façon générale. Le revêtement du sol en lattes ou en grillage est un facteur de risque important pour l'entéropathie proliférative [139] ; de tels sols, présents généralement dans les logements de post-sevrage, sont souvent insuffisamment nettoyés. Il faut donc préférer les sols bétonnés et/ou paillés aux caillebotis partiels ou intégraux. De même, la dépopulation totale des locaux occupés par des porcs âgés de deux à quatre mois permet de réduire le risque, tandis que la dépopulation partielle est sans effet [78].

6.2.2 Modes de transmission :

L'excrétion fécale, décelée par PCR, est détectable une semaine après l'exposition expérimentale, quand la plupart des animaux (78 %) ont acquis l'infection. L'excrétion diminue après la seconde semaine, mais continue durant les 4 semaines suivantes [71] (elle peut même durer huit semaines [78]). Smith et Mc Orist (1997), qui ont mis en présence des porcs en sevrage avec des bactéries cultivées plutôt qu'avec du tissu malade, apportent un échantillon de résultats beaucoup plus varié [138]. Ainsi, l'excrétion fécale était beaucoup plus irrégulière, apparaissait plus tard après l'infection et persistait plus longtemps. Deux animaux demeuraient positifs à la PCR dans les 8^{ème} et 10^{ème} semaines après l'inoculation; les lésions suggestives de rétablissement étaient présentes à l'autopsie 3 semaines après. La bactérie intracellulaire n'était pas visible par immunofluorescence dans les coupes tissulaires, mais les deux animaux produisaient la bactérie sur des cultures d'intestin. Ces résultats ont permis d'expliquer quelques unes des caractéristiques de la maladie, et plus particulièrement celles de l'entérite proliférative hémorragique du porc, et ont illustré un aspect de l'infection avec des souches de virulence faible ou avec des petits nombres d'organismes viables.

L'analyse de la réponse à l'infection chez des porcs dans différentes études ont indiqué que la réponse sérique en IgG est détectable 3 semaines après l'infection, que *Lawsonia* est détectable dans les fèces environ 2 semaines après l'infection [74]. L'entéropathie proliférative chronique peut être une maladie persistante, subclinique dans beaucoup d'exploitations avec une infection endémique [93]. D'autres études montrent que l'infection persiste chez plusieurs porcs au moins dix semaines avec de nombreux organismes excrétés dans les fèces [138]. L'infection est plus fréquente parmi les porcs après le sevrage de 6 à 16 semaines d'âge [106, 120], mais peut également toucher les jeunes animaux [36, 37] ou ceux âgés de plusieurs années [52].

Les études indiquent que ces porcs en fin de croissance, en plus d'être des stocks reproductifs de *Lawsonia*, jouent un rôle important dans la transmission aux animaux sensibles plus jeunes, par l'intermédiaire des fèces infectées [93].

6.2.3 Facteurs de réceptivité :

La maladie chez les porcs en sevrage et chez les porcs en croissance représente probablement à toutes les deux une infection endémique de l'élevage et ceci est lié également à l'absence de traitement ou de procédures de contrôle qui modifieraient le processus de la maladie. Une proportion variable mais généralement petite d'animaux est cliniquement affectée. La mortalité dans de telles circonstances, principalement liée à la forme entérite nécrotique ou iléite régionale doit s'attendre à être d'environ 1%. Beaucoup plus de porcs présentent des pertes de poids pouvant être sévères dans au moins 2,5% des cas et peut-être au-dessus de 20% chez les porcs à risque [80].

L'infection des adultes se manifeste principalement sous forme d'entérite proliférative hémorragique clinique et la maladie, contrairement aux porcs en croissance, a souvent plus les caractéristiques cliniques d'une maladie infectieuse aiguë [80]. Les cas cliniques sont nombreux, avec une morbidité de 12 à 50% chez les animaux sensibles, et une mortalité pouvant atteindre 50% des sujets affectés [80, 90, 133]. La maladie est souvent associée à des élevages de statut sanitaire élevé, récemment regroupés, mais

ceci représente largement une opinion clinique subjective [80]. L'épidémiologie de l'infection dans des contextes d'entéropathies prolifératives n'est souvent pas évidente. Des infections asymptomatiques, l'absence de contact avec d'autres porcs, le retrait de l'exposition à l'infection par l'intermédiaire des médicaments ou l'introduction de l'infection à partir d'autres espèces, doivent tous jouer un rôle. La taille de l'élevage a été trouvé comme étant un facteur de risque important par Holyoake et al. (1994) et Smith et al. (1998) qui ont montré une augmentation du risque d'entéropathie proliférative dans les élevages de plus de 80 ou 500 truies, respectivement [52, 139]. Dans une étude sérologique des élevages de reproducteurs et d'animaux en croissance, il a été démontré que les animaux séropositifs parmi les porcs en croissance augmentent le risque de séropositivité parmi les reproducteurs, et vice-versa ; de même celui-ci est augmenté quand la proportion en femelles non gravides s'élève à 10-20% de la population adulte [4].

La plupart des enquêtes menées auprès des abattoirs ont enregistré seulement des cas occasionnels d'entéropathie proliférative chez les porcs adultes [33, 129] ; excepté en Australie où Pointin en 1989 a rapporté que 5 à 20% des animaux étaient atteints et que, occasionnellement, ce chiffre peut s'élever à 40% des porcs abattus. En même temps, beaucoup des élevages d'origine étaient affectés par l'entérite proliférative hémorragique. Ce modèle est évidemment exceptionnel et les investigateurs n'offrent toujours pas d'explications [80].

6.2.4 Facteurs déclenchants :

Outre la contamination bactérienne, l'expression clinique de l'affection nécessite des facteurs déclenchants représentés par des stress divers (déplacement des animaux entre différents sites de production, changement de régime alimentaire, surpeuplement, variations de température, état sanitaire insuffisant...) [4, 20, 37, 52, 106].

6.3 Epidémiologie synthétique : cf figure 3 page 43

VII Diagnostic :

Le diagnostic se base sur les signes cliniques, les lésions macroscopiques *post-mortem*, les observations microscopiques des tissus et, plus récemment, il porte essentiellement sur la mise en évidence de la présence de *Lawsonia intracellularis* par PCR (réaction en chaîne par polymérase) ou par sérologie [4]. Il n'est pas facile car d'autres maladies intestinales entraînent souvent les mêmes symptômes que ceux de l'iléite (dysenterie, salmonelloses...) [124].

Pendant plusieurs années, le diagnostic de l'entéropathie proliférative clinique nécessitait autopsie et microscopie. Cela dépendait de la mise en évidence de lésions macroscopiques typiques et histologiques, incluant la présence de bactéries intracellulaires incurvées dans les cellules épithéliales. Seules les colorations à l'argent

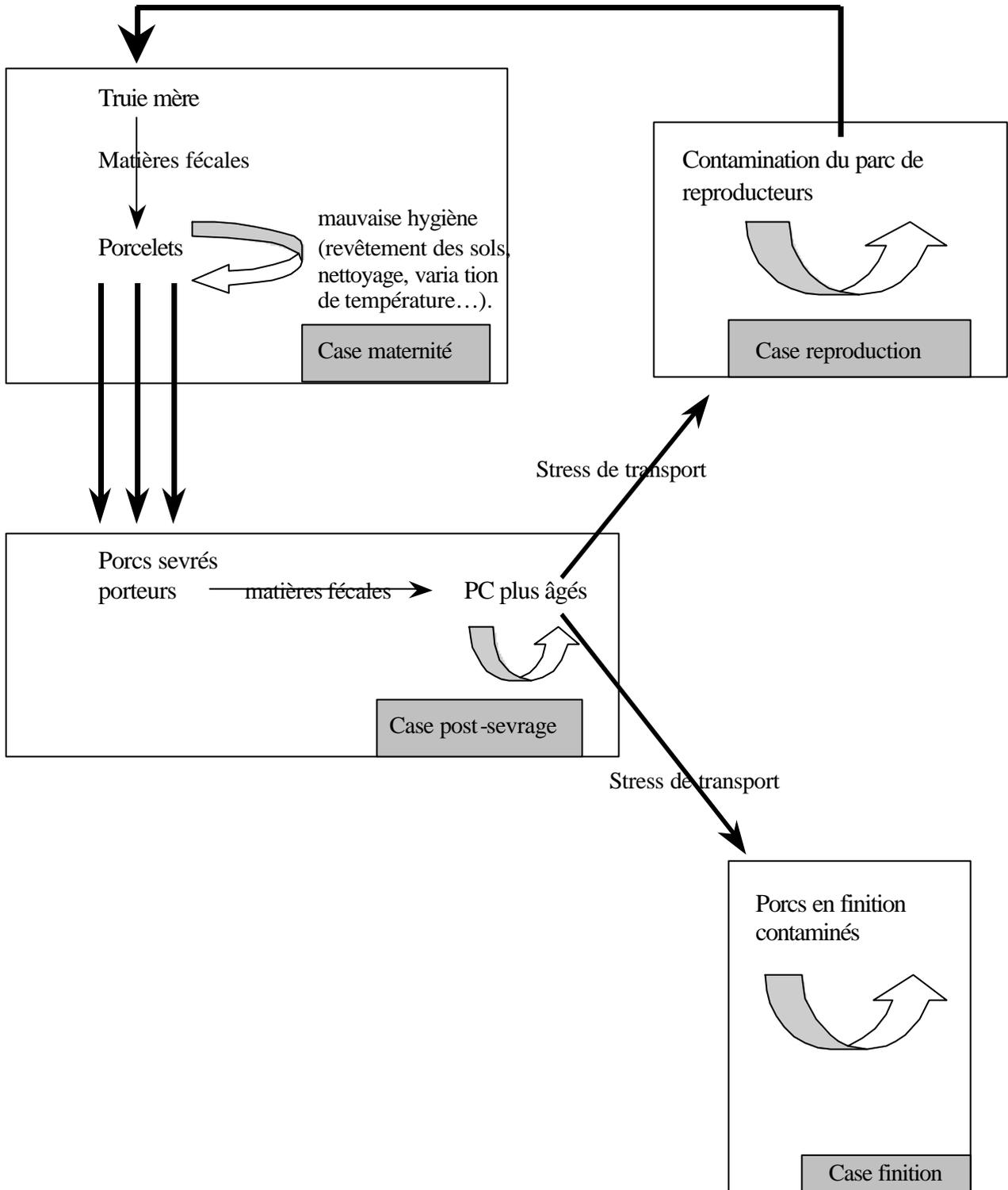


Figure 3 : Epidémiologie synthétique.

de coupes tissulaires sont capables de les mettre en évidence par microscopie, mais l'utilisation avec succès de cette coloration nécessite de l'expérience. La coloration de frottis de muqueuse par la technique de Ziehl-Neelsen est capable de confirmer le diagnostic en l'absence d'histologie [90].

7.1 Diagnostic de suspicion :

7.1.1 Eléments épidémiologiques :

Une forte proportion de porcs sevrés âgés de 6 à 20 semaines [106] atteints de diarrhée, une mauvaise hygiène, beaucoup de stress divers [4] et une introduction récente d'animaux dans l'élevage sont autant d'éléments qui permettent de suspecter une entérite à *Lawsonia intracellularis* et qui doivent donc conduire l'éleveur à s'intéresser de plus près à l'état sanitaire de ses animaux.

7.1.2 Signes cliniques et nécropsiques :

Une suspicion d'entéropathie proliférative du porc à *Lawsonia intracellularis* doit être faite en présence d'une diarrhée mucoïde à hémorragique chez les porcs en croissance, d'une baisse des performances (retards de croissance), d'une anémie ou d'une mortalité [4]. Mais cela doit être confirmé par des examens complémentaires. Parmi ceux-ci, l'observation nécropsique des lésions est la plus usuelle. Dans la forme sub-clinique, les lésions de l'intestin grêle ne sont pas toujours macroscopiquement visibles. Dans la forme aiguë, du sang rouge vif à noir et des matières fécales se trouvent dans l'intestin grêle. La forme chronique est marquée par un épaissement prononcé de la muqueuse de l'intestin grêle. La muqueuse apparaît rouge et inflammée avec des plis longitudinaux et transverses irréguliers. Dans les cas avancés, elle est nécrosée avec la formation d'une pseudo-membrane [4].

A l'autopsie l'observation d'un intestin épaissi, en tuyau de pipe, est caractéristique ; il est possible de pratiquer un dépistage rapide à l'abattoir en palpant les vingt derniers centimètres de l'iléon, juste en avant de la valvule iléo-cæcale. Cette technique manque cependant de précision et le diagnostic doit donc être confirmé [78].

Les sections de l'intestin grêle présentant les lésions les plus typiques doivent être mises dans des conservateurs et envoyées au laboratoire pour l'examen microscopique et pour une identification des lésions caractéristiques de l'entéropathie proliférative. La présence de l'épaississement de la muqueuse intestinale et l'observation d'organismes intracellulaires à l'intérieur de la muqueuse confirment le diagnostic de l'entérite [4].

7.1.3 Diagnostic différentiel : [34]

Les entérites sont des lésions inflammatoires de l'intestin, fréquentes et graves chez le jeune car elles provoquent des diarrhées à l'origine d'une déshydratation et de déséquilibres hydroélectrolytiques pouvant entraîner la mort de l'animal. Ces lésions

intestinales sont très fréquentes dans le règne animal. Mais il n'est pas toujours possible d'incriminer un agent avec certitude car de nombreux facteurs entrent en jeu: une modification brutale dans la composition de la ration alimentaire peut provoquer une diarrhée et une entérite aiguë, quelque soit le germe causal. D'autre part, dans certains cas, il est extrêmement difficile pour le laboratoire d'isoler les bactéries pathogènes du fait du grand nombre de colonies bactériennes présentes dans le tube digestif.

L'aspect macroscopique lésionnel est loin d'être spécifique d'une étiologie donnée, dans la majorité des cas. Toutefois, cet aspect macroscopique permet d'orienter des suspicions afin de pouvoir réaliser les bons prélèvements et les bonnes analyses complémentaires.

· Etiologie bactérienne des gastro-entérites chez différentes espèces :

Les bactéries sont des agents étiologiques très fréquents des entérites dans toutes les espèces animales et à tous les âges (jeunes au moment du sevrage, jeunes adultes, adultes).

Tableau 3: Etiologie bactérienne des gastro-entérites chez différentes espèces [34].

Agents étiologiques	Espèces atteintes	Localisations	Age
-colibacilles -salmonelles - <i>Clostridium perfringens</i>	Toutes espèces	Intestin grêle (IG) + gros intestin (GI)	Jeunes et adultes
- <i>Campylobacter</i> sp.	Porc, chien, veau, bovins, oiseaux, homme	IG	Jeunes
- <i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	Porc (dysenterie porcine)	GI	Jeunes
- <i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	Ruminants	IG	Adultes
- <i>Clostridium piliforme</i>	Rongeurs, lapin, cheval (maladie de tyzzer)	IG +/- GI	Jeunes
- <i>Actinobacillus equuli</i>	Poulain (shigellose)	GI	Jeunes
- <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Rongeurs, primates, lapin, chat, homme	IG + GI	Tous âges

- Etiologie des gastro-entérites du porc :

Tableau 4 : Etiologie des gastro-entérites du porc [34].

PORC	PORCELET	ADULTE
virus	-rotavirus -coronavirus	-coronavirus +/-
bactéries	-colibacilles (souche K88 - <i>Brachyspira hyodysenteriae</i> (dysenterie du porc) -salmonelles -clostridies	-salmonelles - <i>Campylobacter</i> sp.
parasites	-coccidiose -balantidiose	-trichurose

Chez les porcelets, les lésions provoquées par le coronavirus de la gastro-entérite transmissible GET (syndrome associant des diarrhées jaunâtres profuses et des vomissements) ainsi que par les rotavirus sont communes. Les gastro-entérites du jeune peuvent être causées par le pestivirus (agent de la peste porcine classique) ou par l'iridovirus (peste porcine africaine). Les colibacilloses et les dysenteries à *Brachyspira hyodysenteriae* sont fréquentes. De plus, une infection bactérienne peut accompagner ou compliquer une entérite virale chez le jeune.

Chez les porcs adultes, on rencontre surtout des gastro-entérites à salmonelles ou à *Campylobacter* sp.

7.2 Diagnostic de présomption : diagnostic histologique

En plus de l'autopsie des cas cliniques, plusieurs chercheurs ont étudié la présence de cette maladie dans les abattoirs de porcs. L'intestin est examiné vis-à-vis d'un éventuel épaissement puis ces parties épaissies, sectionnées, sont analysées histologiquement [33, 129]. De telles méthodes sont capables d'indiquer la présence de l'infection en l'absence de maladie clinique, mais elles sont laborieuses. De nombreux intestins atteints restent sûrement non détectés et l'épaississement iléal non associé à l'entéropathie proliférative est présent chez beaucoup de porcs [80].

La présence d'un oedème mésentérique associé à un épaissement de l'iléon est fortement indicateur d'entéropathie proliférative [66].

L'histologie est particulièrement spécifique car les lésions sont univoques [78]: hypertrophie des cryptes, bordées de cinq, dix couches cellulaires ou davantage (au lieu d'une seule habituellement); elles sont, en outre, entourées de cellules épithéliales immatures.

Histologiquement, dans la forme aiguë, des proliférations des cellules de la crypte sont observées [124]. Classiquement, le diagnostic de *Lawsonia intracellularis* s'effectue en observant des coupes de tissus lésés après coloration. La technique classique la plus utilisée est la coloration argentique de Warthin-Starry. La bactérie apparaît alors comme un organisme incurvé très sombre dans la partie apicale du cytoplasme des entérocytes.

Ce diagnostic histologique est le plus fréquemment réalisé sur des prélèvements d'animaux morts. Les colorations histologiques classiques révèlent une augmentation du nombre des cellules mononucléées dans la *lamina propria* et dans la sous-muqueuse ainsi qu'une hyperplasie des entérocytes des cryptes [37].

7.3 Diagnostic de certitude : diagnostic expérimental

7.3.1 Diagnostic bactériologique :

L'isolement et la croissance de *Lawsonia intracellularis* pure *in vitro* nécessitent des milieux de cultures cellulaires adéquats (habituellement des entérocytes de rats ou de porcelets) [124]. Cette procédure est difficile et ce n'est pas un moyen pratique de diagnostic [37].

7.3.2 Diagnostic immunologique :

* Recherche de l'antigène dans les fèces par les anticorps monoclonaux :

Les réactions d'immunofluorescence ne peuvent pas être pratiquées sur des animaux vivants [37]. L'organisme peut être détecté dans les frottis fécaux de cas d'entéropathie proliférative des porcs à l'aide d'anticorps monoclonal faisant intervenir un *test d'immunofluorescence indirecte* [105]. Une fois encore, cela ne confirme pas complètement le diagnostic, parce que les animaux en parc cliniquement sains peuvent héberger des bactéries intracellulaires dans leurs fèces. Le test a une sensibilité inconnue et nécessite une confirmation visuelle de la morphologie de l'organisme. Par ailleurs, des réactions non spécifiques entre un ou d'autres anticorps et des bactéries commensales dans les selles peuvent mener à des résultats erronés.

Un *test d'immunofluorescence direct* a également été décrit mais il s'avère insuffisamment sensible pour être utilisé dans des études épidémiologiques.

Les anticorps monoclonaux IgG 4 ont été préparés en 1986 et ont été utilisés comme marqueurs spécifiques pour l'immunofluorescence de *Lawsonia intracellularis*. Cela a été utilisé pour détecter cette bactérie dans des parties d'intestin lésé par des essais d'immunoperoxydase ou d'immunofluorescence. Les anticorps réagissent spécifiquement avec une glycoprotéine de 27-29 kDa située sur la surface externe de *Lawsonia intracellularis* [93].

La plupart de ces techniques ne peuvent être appliquées que sur des animaux morts, c'est pourquoi de nombreux auteurs ont développé des techniques de diagnostic moléculaire applicables sur des animaux vivants [69].

7.3.3 Diagnostic sérologique :

* Recherche des anticorps :

Elle se fait par IFA. Les porcs doivent être infectés depuis au moins 14 jours pour être positifs [74]. La présence d'anticorps sériques IgM anti-*Lawsonia intracellularis* peut être utilisée pour diagnostiquer la maladie actuelle chez les porcs en croissance mais n'identifiera pas les animaux rétablis cliniquement. La spécificité du test par immunofluorescence a été améliorée par l'utilisation d'antigènes issus de cultures cellulaires ; il est maintenant capable de détecter les IgG [74]. Ces essais sérologiques ont l'avantage d'être relativement bon marché et spécifiques mais ont l'inconvénient d'indiquer seulement les expositions antérieures à la bactérie et pas nécessairement l'infection active [93].

Quelques laboratoires ont des difficultés à obtenir une croissance bactérienne suffisante pour fournir des antigènes [18], mais cela peut être surmonté. On ne sait pas pendant combien de temps les anticorps IgG persistent. Des animaux cliniquement atteints et d'autres non malades montrent des anticorps à l'issue du test, qui mesure donc l'exposition à l'infection plus que la maladie (les essais sérologiques ne permettent pas de distinguer une infection présente d'une infection passée [93]).

Les tests sérologiques peuvent, par conséquent, être utilisés pour confirmer une exposition à *Lawsonia intracellularis*. Les animaux séroconvertissent en 2-3 semaines et se révèlent alors positifs au test de sérologie [124].

L'utilisation de la sérologie est, tout de même, compromise car la réponse immunitaire des porcs infectés présentant des lésions est faible [53].

Cependant, un test sérologique a été mis au point par Elanco en collaboration avec Steven Mc Orist [10]. En France ce test est, dans un premier temps, étudié par le LDA 22 (Ploufragan, Côtes d'Armor) avant une diffusion plus large. Ce diagnostic sérologique a une sensibilité de 90 % et une spécificité de 96 %. C'est un test de recherche d'anticorps par immunofluorescence indirecte. Les sérums prélevés sont mis en contact avec des antigènes de *Lawsonia intracellularis* sur des lames. L'observation au microscope d'une fluorescence témoigne de la présence d'anticorps dirigés contre la bactérie [10]. La séroconversion est révélée par cette méthode vingt jours après l'inoculation et les anticorps produits persistent au moins huit semaines [78]. Dans le cadre d'un diagnostic d'élevage, vingt à trente prélèvements s'avèrent nécessaires compte tenu de la spécificité du test. Le diagnostic est confirmé si au moins deux sérums sont positifs [10]. La technique est bien adaptée à la détection de la maladie dans un élevage et permet, si elle est pratiquée sur des sujets d'âge différents (90, 114, 135, 156 jours), de préciser le moment de l'infection. Il est alors possible de prescrire un traitement à bon escient, mieux ciblé et qui, appliqué au bon moment, sera efficace tout en limitant la consommation d'antibiotiques [78]. Ce test a été présenté lors des journées de l'Association française de médecine vétérinaire porcine (les 2 et 3 décembre 1999).

7.3.4 Diagnostic moléculaire :

* sondes moléculaires :

La méthode actuelle de croissance de *Lawsonia intracellularis* ne permet pas à l'organisme d'être isolé des fèces, et même si c'était possible, cela deviendrait laborieux et très long. Les sondes d'acide nucléique sont donc devenues d'une importance cruciale dans la détection de la bactérie qui est difficile à cultiver et qui est présente dans un environnement hautement contaminé [107]. Dès 1991, avant même d'avoir pu isoler et caractériser le germe, Gebhart et al. ont donc développé des sondes spécifiques de la bactérie intracellulaire en clonant un fragment d'ADN spécifique d'un *Campylobacter Like Organism* (CLO like) responsable d'entérites prolifératives [48]. Utilisant ces sources similaires d'organismes purifiés, ils ont élaboré une librairie de sondes génétiques. Plusieurs plasmides recombinants montraient une hybridation avec des extraits de tissus variés d'entéropathie proliférative mais pas avec l'intestin normal du porc ; ces sondes spécifiques (fragments d'ADN) n'arrivent donc pas à hybrider avec *Campylobacter* sp. associés à la maladie [48]. Les mêmes sondes sont utilisées pour démontrer la localisation de la bactérie *in situ* (dans la muqueuse des porcs atteints d'EPP), dans les sections tissulaires congelées [49]. Des plasmides purifiés comprenant de l'ADN marqué à la digoxigénine ont permis une hybridation avec des coupes intestinales, les réactions étant visualisées par des expositions ultérieures à des anticorps anti-digoxigénine (technique du DOT-BLOT) [69]. Les tissus entéroprolifératifs montraient, *in situ*, des réactions positives dans le cytoplasme apical des entérocytes anormaux ; de plus, les hybridations avec des sondes spécifiques de *Campylobacter* sp. n'ont donné aucune réaction significative [49].

En utilisant la sonde p78 de *Lawsonia intracellularis* de 1,8 kb clonée, Jones et al. (1993) ont réussi à détecter les bactéries dans les fèces quand elles étaient présentes à une concentration de $10^7/g$ (une concentration trouvée dans les infections naturelles et expérimentales) [68]. L'excrétion est détectable peu de temps après l'infection expérimentale, au 21^{ème} jour, mais pas immédiatement à l'autopsie.

Cette sonde permet un diagnostic spécifique mais peu sensible puisque ce test est comparable, en terme de sensibilité, à celui obtenu par immunofluorescence.

La sensibilité limitée de la sonde p78 n'était donc pas suffisante pour en faire une technique de diagnostic satisfaisante. Jones et al. (1993) [70] ont, alors, développé une réaction en chaîne par polymérase (PCR) améliorée à partir de la sonde pCL078 [46]. Ils ont séquencé ce fragment d'ADN (GenBank L08049) et choisi des amorces spécifiques afin de réaliser un test PCR [70].

* PCR :

La PCR , c'est-à-dire l'amplification enzymatique de l'ADN *in vitro*, est utilisée principalement pour permettre le diagnostic de routine d'agents pathogènes difficilement ou non cultivables. La réaction en chaîne par polymérase permet en quelques heures d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique de séquence et de longueur définies [6]. Du fait de sa capacité à amplifier des séquences d'acides nucléiques présentes en faible quantité

dans un échantillon, la PCR est utile au diagnostic d'infections causées par des microorganismes dont la culture est difficile voire impossible comme *Lawsonia intracellularis*. Grâce à sa spécificité, il est aisé de mettre en évidence les gènes recherchés, même au sein d'une flore contaminante présente dans le prélèvement. Le test PCR peut alors se substituer aux tests de diagnostic ayant un manque de spécificité dû à des antigènes communs ou à des caractères biochimiques proches [6].

Elle permet de recopier un segment d'ADN de 319 paires de bases [37] présent dans un échantillon en de nombreux exemplaires en utilisant des amorces spécifiques de *Lawsonia intracellularis* [70, 99]. L'extraction d'ADN des échantillons se fait au moyen de réactifs mis au point et commercialisés par la société QIAGEN. Un ADN témoin synthétique appelé « contrôle interne » ou « témoin interne » est présent dans chaque réaction [6]. La visualisation des produits amplifiés s'effectue sur un gel d'agarose à 1,3 % [70, 99].

Ce test PCR a été évalué sur 37 souches appartenant à 27 espèces bactériennes isolées chez le porc et sur plusieurs centaines d'échantillons [99]. L'application de la PCR pour la détection des élevages atteints d'entéropathie proliférative a été décrite par Holyoake et al. en 1996 [54]. Les résultats de ces derniers auteurs étaient variables quand 20 prélèvements fécaux étaient examinés ; les exploitations qui avaient eu récemment des expériences de la maladie étaient principalement positives, mais quand il y avait un délai entre les prélèvements et la présence d'une maladie légère ou bien marquée, les prélèvements se révélaient souvent négatifs. En effet, la PCR est utilisée pour détecter précocement l'ADN de la bactérie dans les tissus intestinaux de porcs ou dans leurs fèces (et également chez d'autres animaux-hôtes variés) et elle offre donc l'avantage de déterminer les porcs souffrant d'une infection active [93].

Les prélèvements utilisés sont un fragment d'iléon ou des fèces de porc [70]. C'est la seule technique de diagnostic directement applicable à la fois sur la muqueuse intestinale et sur les fèces. Cette technique offre l'avantage de pouvoir détecter les animaux excréteurs [70, 78, 99]. Elle détecte la présence de 100 bactéries présentes dans la muqueuse intestinale purifiée et, suivant les auteurs, entre 10^3 et 10^2 bactéries par gramme de fèces [70, 99, 120]. En effet, un signal d'amplification positif peut être obtenu à partir de 0,1 g de fèces extrait et dilué de 100 à 1000 fois. Ceci signifie que les fèces de porcs infectés contiennent entre $2 \cdot 10^5$ et $2 \cdot 10^7$ bactéries par gramme de fèces. Ces résultats concordent avec ceux de Jones et al. qui ont décrit que les fèces de porcs infectés pouvaient contenir jusqu'à 10^8 germes/gramme [70].

Le nombre d'exemplaires croît exponentiellement au cours d'une réaction PCR pour obtenir plusieurs milliards de copies de l'ADN recherché ; c'est donc une méthode sensible qui permet de détecter les agents pathogènes chez les porteurs asymptomatiques ou chez les animaux au stade précoce d'une maladie, avant même l'apparition des anticorps [6].

La rapidité de la méthode (24-48h) est intéressante pour les microorganismes à croissance lente. Mais contrairement à la sérologie, la PCR ne permet pas de savoir si l'infection est ancienne ou récente [6]. Cette technique, grâce à sa spécificité et sa sensibilité, est très utilisée à travers le monde pour étudier la prévalence des entéropathies prolifératives. Elle permet également de détecter la bactérie à partir

d'échantillons congelés ou fixés dans le formol et peut être utilisée sur différentes espèces animales [24].

Ce nouvel outil de diagnostic doit permettre aux praticiens d'obtenir un dépistage rapide et spécifique et conduire à la mise en place d'un traitement précoce au sein d'un élevage [6].

La PCR apparaît être plus sensible et plus spécifique pour la détection de la bactérie dans la muqueuse iléale que la coloration de Warthin-Starry et que l'IFAT (Indirect ImmunoFluorescent Antibody Test) [72]. Une étude démontrait l'évidence selon laquelle la PCR doit être utilisée comme la méthode de référence pour la détection de *Lawsonia intracellularis* (méthode rapide). Cependant, le test est encore trop laborieux et trop cher pour un diagnostic de routine [72].

L'IFAT (Indirect ImmunoFluorescent Antibody Test) qui détecte les anticorps IgG anti-*Lawsonia intracellularis* apparaît être un test *ante-mortem* plus sensible pour la détection des porcs infectés expérimentalement alors que la PCR est une méthode qui décèle directement les organismes dans les fèces [74]. Le défaut de sensibilité de la PCR (qui, pratiquée tous les 7 jours après inoculation, ne permet de détecter l'excrétion que sur 39% des animaux) s'explique à la fois par le fait qu'elle ne détecte que les excréments supérieures à 1000 bactéries par gramme de fèces et par le caractère intermittent de l'excrétion [78]. En effet, les animaux peuvent être infectés sans excrétion fécale, résultant en de faux négatifs. Il faut alors sélectionner des animaux ayant la diarrhée pour maximiser la détection de l'organisme au sein des élevages.

* Autres techniques de diagnostic à l'avenir :

Zhang P., Gebhart C.J., Burden D., et Duhamel G.E. ont présenté en avril 2000 le développement d'un essai "enzyme-linked oligosorbent" [152] (ELOSA) pour l'identification spécifique des gènes de *Lawsonia intracellularis* (328 pb amplifiées par PCR). Une étude sur 315 cas cliniques a révélé 78 % de sensibilité, 100 % de spécificité et 94 % d'exactitude. L'ELOSA produit un signal spectrophotométrique qui confirme l'authenticité des produits obtenus par PCR.

* Bilan :

Dans une comparaison de tests sur les porcs d'abattoirs, Jones et al. (1993) ont trouvé que l'examen macroscopique ne réussit pas à détecter tous les intestins affectés histologiquement [66]. Presque 50% des intestins classés comme « épaissis » n'étaient pas prolifératifs, mais les résultats des essais PCR réalisés sur les selles étaient en relation avec les lésions intestinales; le dot blot était sensible mais moins spécifique (cette technique utilisant une sonde d'ADN marquée à la digoxigénine permet de détecter 10^7 bactéries par gramme de selle [69]; la PCR est 10 000 fois plus sensible mais la technique se heurte à des problèmes de contamination croisée [69]). D'autres ont comparé l'utilisation des examens histologiques, des colorations immunologiques et la PCR sur des animaux suspectés d'être affectés d'entéropathie proliférative. Toutes se sont révélées être des techniques de diagnostic spécifiques et quand l'histologie apportait un résultat douteux, une des deux autres méthodes était capable d'établir le

diagnostic [61]. Les auteurs insistent sur l'importance de la présence de l'antigène localisé à l'intérieur des macrophages en interprétant les changements prolifératifs atypiques. Une comparaison d'un test sérique IFAT et d'un essai PCR sur les matières fécales (tests *ante-mortem*) indique une meilleure sensibilité du premier. Avec un nombre similaire de prélèvements sanguins et fécaux, l'IFAT détectait 21 porcs sur 23, alors que la PCR seulement 4 sur 23 [74].

Pour établir un diagnostic de certitude de la maladie au sein d'un élevage, il faut prélever les matières fécales, le sérum et les tissus intestinaux pour réaliser des examens de laboratoire. C'est primordial de réaliser le bon diagnostic pour mettre en place un traitement et une prévention adaptés et efficaces.

VIII Prophylaxie et Traitement :

Le traitement de l'entéropathie proliférative peut être considéré de deux façons différentes :

- 1° : Dans les élevages où la mortalité est minimale et où la thérapie concerne principalement le contrôle des effets cliniques de la maladie, à moins que le dépeuplement puisse être entrepris, il est difficile de supprimer les sources de contamination et des thérapies continues de plusieurs types sont nécessaires. Des observations expérimentales valident l'efficacité de plusieurs antibiotiques, mais les effets de ces produits sur les conditions d'exploitation sont beaucoup plus difficiles à estimer, puisqu'ils affectent aussi, sûrement, d'autres pathogènes présents.
- 2° : Dans la forme hémorragique de la maladie affectant les animaux adultes, le but est de minimiser la mortalité et de réduire les éventuelles réapparitions au sein des groupes à risque. Chez de tels animaux, qui approchent de la reproduction, l'utilisation continue d'antibiotiques est souvent inacceptable.

Les stratégies de contrôle devraient surtout être axées sur la prévention. Mais comme il est difficile de prévoir à l'avance quand le déclenchement aura lieu, les recherches dans le traitement de la maladie représentent une part importante du contrôle de l'iléite [124].

La tylosine à 100g / tonne pendant 3 semaines a été approuvée aux Etats-Unis pour la prévention et le traitement des entéropathies prolifératives du porc causées par *Lawsonia intracellularis* [3].

Les stratégies de contrôle continues sont très chères, elles empêcheraient le développement de l'immunité et ne sont pas autorisées d'après les instructions générales édictées par les labels. L'autre solution, qui consiste en des administrations ponctuelles d'antibiotiques, est idéale. La stratégie serait de contrôler les bactéries secondaires (tel que les *bacteroides* sp., *Escherichia coli*, ...) qui causent la maladie clinique, associé à des administrations thérapeutiques non continues d'antibiotiques pour conserver des niveaux bas de *Lawsonia intracellularis* mais assez pour prévenir le déclenchement d'une maladie clinique et pour permettre un développement immunitaire.

Selon Mc Orist, "l'utilisation des antibiotiques peut être un succès mais n'est pas pratique pour des raisons de coût, de disponibilité et les possibles résidus" [2]. Pour cette raison, il est indispensable qu'une attention particulière soit portée aux procédures

d'élimination utilisant des désinfectants efficaces. En effet, il n'est pas évident que l'éradication de l'entéropathie proliférative du porc soit faite par la médication. L'utilisation des désinfectants pourrait aider dans le contrôle de la maladie. C'est particulièrement utile quand les porcs sont élevés en système "all-in, all-out" où la contamination de l'environnement doit être la seule voie d'infection entre les groupes de porcs [2].

8.1 Prévention :

Malgré des traitements draconiens, beaucoup d'exploitations continuent d'observer des cas d'entéropathie proliférative et se tournent donc vers la prévention afin d'assurer les performances de leurs animaux et leurs profits. Le problème réside dans l'identification et dans la suppression de la voie par laquelle les porcs deviennent infectés [80]. Comme il n'est pas évident d'éradiquer la maladie d'une exploitation, il est essentiel d'établir un programme de contrôle (incluant médication, planification et désinfection) pour réduire les pertes liées à cette maladie [148]. De plus, les recherches actuelles se concentrent sur le développement potentiel de vaccins.

8.1.1 Programme de prévention incluant des changements des techniques de production :

Certains changements permettent de réduire l'incidence et la sévérité de l'iléite [148]:

- * réduire le stress lié au transport ;
- * diminuer les mélanges de porcs dans les parcs (éviter de mélanger des stocks d'animaux d'âges différents et d'origines différentes) ;
- * réduire le stress environnemental tel que des variations de température, une mauvaise ventilation ;
- * éviter le surpeuplement (maîtriser des densités convenables de stockage) ;
- * adopter le système "all-in, all-out" par parcs ;
- * garantir des bons abreuvoirs et des bons distributeurs d'aliments. Eviter les interruptions dans l'approvisionnement ;
- * limiter les variations dans la qualité des aliments ;
- * contrôler les autres maladies.

Toutes les approches pour augmenter le confort des porcs sont importantes.

8.1.2 Utilisation d'antibiotiques

préventifs :

La chlortétracycline (200 ppm dans l'alimentation) avec de la pénicilline G et de la sulfaméthazine (50 et 100 ppm respectivement) ont été les premières substances à être utilisées pour prévenir la maladie chez des animaux qui seraient des sources de l'infection (incubateurs) [91].

Les expériences ont confirmé l'efficacité de la chlortétracycline à des taux de 300 ou 600 ppm administrée dans l'alimentation les 4 jours précédant l'exposition [112, 117]. Les lésions étaient présentes dans 6 cas sur 7 des animaux non traités et absentes de tous les sujets traités 21 jours après l'infection par *Lawsonia intracellularis*. Des concentrations plus faibles en chlortétracycline utilisées pour traiter des porcs infectés par un homogénat de muqueuse amélioreraient la croissance, mais beaucoup de porcs traités présentaient des lésions d'entéropathie proliférative [80].

L'utilisation de la tiamuline au sein de l'alimentation à une concentration de 50 ppm pour prévenir l'infection a été estimée en exposant des porcs à des bactéries cultivées 2 jours après le début de la médication [119]. D'autres animaux ont reçu 150 ppm à partir du 7^{ème} jour après l'exposition. Des lésions d'entéropathie proliférative étaient présentes chez 5 des 7 porcs témoins non traités mais absentes des animaux traités. Des concentrations plus faibles en produit (38,5 et 55 ppm), cependant, avaient échoué pour éliminer l'infection, tandis qu'elles avaient prévenu les effets cliniques majeurs de la maladie [137]. Des essais cliniques appuient l'intérêt des concentrations plus élevées (150 ppm) de tiamuline [80]. La tiamuline permet de contrôler l'ensemble des bactéries anaérobies impliquées dans les troubles digestifs du pré-engraissement : *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira pilosicoli* et *Brachyspira hyodysenteriae*. La substance apparentée, la valnémuline, s'est également révélée être efficace [112].

La tylosine phosphate apparaît d'efficacité équivalente dans la prévention quand elle est administrée à 100 ou 40 ppm 4 jours avant l'exposition et ce pendant 16 jours, suivie de 40 ou 20 ppm respectivement ; de plus, le traitement d'une infection installée avec 100 ppm, commençant 7 jours après l'exposition, a démontré une efficacité similaire [114]. Des tests originaux *in vitro* ont montré que la concentration minimale inhibitrice du tartrate de tylosine vis-à-vis des souches de *Lawsonia intracellularis* est de 64µg/ml ; des travaux ultérieurs confirment cela mais montrent, par des tests *in vitro* différents, qu'une concentration de 4µg/ml est aussi active [96]. Les gains de poids quotidiens de porcs exposés traités par de la tylosine à 100 ppm sont identiques à ceux des témoins non traités, mais ils sont nettement inférieurs à ceux des porcs traités par la chlortétracycline à 300 ppm [112].

Les antibiotiques les plus utilisés sont donc la tylosine (Tylan^R-Elanco), la tiamuline (Tiamutin^R-Leo) et les chlortétracyclines (variés). Cette médication doit être administrée aux animaux récemment introduits dans une situation infectée pour prévenir le développement de la maladie clinique. La durée d'administration est de 14 jours mais cela ne doit pas être différé de plus de 2 semaines après l'exposition. [148] Quand la maladie entraîne des problèmes chez les porcs en croissance et en finition, une médication continue est nécessaire. Ces programmes médicaux sont un succès dans le contrôle de l'iléite mais n'est pas pratique vu les coûts que cela engendre et les possibles résidus [148].

Les antibiotiques doivent présenter de faibles taux d'absorption pour rester principalement dans la lumière intestinale [96].

Tableau 5 : CMI (en µg/ml) de divers antibiotiques contre *Lawsonia intracellularis*.

Antibiotique	« Traitement » Activité intracellulaire	« Prévention » Activité extracellulaire	Absorption relative
Tiamuline	4	4	élevée
Chlortétracycline	1	16	élevée
Lincomycine	32	32	modérée
Tylosine	64	64	faible

8.1.3 Mesures d'hygiène indispensables :

Comme la principale voie de contamination est les fèces et que l'infection peut persister dans les bâtiments non habités pendant une semaine, la désinfection représente une part importante du programme de contrôle. C'est un des aspects le moins coûteux de ce programme. Des détergents tel que le HD3 doivent être utilisés. Tous les équipements mobiles doivent être traités, ensuite désinfecter en utilisant un agent dont l'efficacité contre *Lawsonia intracellularis* a été prouvée tel que le Virkon S (Antec international). Les systèmes d'eau doivent être drainés et nettoyés avec le même agent. Il faut réaliser également un bon nettoyage des bottes [148].

Les fèces contaminées peuvent être transportées par des bottes sales, vêtements et équipements, donc des pratiques simples de bio-sécurité doivent être renforcées. Les porcs infectés excrétant l'organisme pendant plusieurs semaines après l'infection continueront à contaminer l'environnement et leurs congénères. Un bâtiment séparé, un parc isolé ou un espace pour les porcs malades montrant des signes cliniques de diarrhée devraient donc aider à réduire la contamination [124].

Laver et désinfecter les bâtiments (et plus particulièrement les sols) entre chaque arrivée de porc est primordial. L'enlèvement des selles et la désinfection par des ammoniums quaternaires ou des dérivés iodés réduisent le niveau de contamination [124].

Plusieurs désinfectants ont été testés [16]: un mélange de suspensions de *Lawsonia intracellularis* avec un ammonium quaternaire, le cetrimide, pendant trente minutes, ne produisait aucune *Lawsonia intracellularis* lors de culture; le mélange avec 1% de polyvidone iodé pendant trente minutes ne produisait pas ou peu de bactéries détectables lors de remises en culture. Les mélanges de suspensions avec ou bien 1% de peroxymonosulfate de potassium ou 0,33% d'une préparation phénolique pendant 30 minutes étaient moins efficaces. L'hypochlorite de sodium s'est révélé être efficace. Les composants à base de formol ou de glutaraldéhyde n'ont pas été testés [16].

Des essais réalisés à l'université d'Edimbourg ont confirmé que le désinfectant "Virkon S" est efficace contre *Lawsonia intracellularis* [2]. Les essais *in vitro* entrepris par Steven McOrist ont montré que 1 % de la solution Virkon S (un désinfectant / détergent virucide et bactéricide) se révélait être efficace contre la souche de la bactérie qui cause la forme chronique de la maladie [2]. La possibilité de contamination fécale des parcs, des abreuvoirs et des équipements peut conduire à un cycle continu de l'infection des nouveaux porcs [102, 138]. C'est donc vital d'identifier l'efficacité des meilleurs désinfectants tel que le Virkon [2].

L'existence commune de la maladie dans les élevages de statut sanitaire élevé souligne un des problèmes du contrôle. La source de l'infection dans de tels élevages n'est pas souvent évidente. Dans bien des cas, des animaux capables de porter l'infection avaient dû être introduits. Dans d'autres cas, le statut de barrière des élevages apparaîtrait avoir empêché l'introduction de l'infection chez les porcs, et d'autres espèces animales devaient être responsables. Il y a une association positive entre la taille de l'élevage et la présence de l'entéropathie proliférative ; un système « all-in, all-out » permet de réduire l'apparition de la maladie [139]. Ces observations suggèrent que les petites exploitations dans lesquelles les groupes de porcs sont bien isolés ont tendance à produire des porcs adultes qui restent sensibles à l'infection ; la médication et un degré d'isolement doivent avoir le même effet.

L'entéropathie proliférative hémorragique existe quand des animaux adultes sensibles sont introduits dans des élevages infectés. L'existence de la maladie clinique peut être réduite en introduisant des animaux importés pendant une période n'excédant pas 21 jours et ensuite en les traitant avec des produits dans lesquels le principal constituant actif est la chlortétracycline [91]. Même avec cette procédure, davantage d'animaux resteront sensibles à l'infection et un nombre réduit de cas cliniques existera après le retrait des traitements [80].

En conclusion, un bon état sanitaire, des notions simples de bio-sécurité et le contrôle des facteurs de stress associé à la médication permettent de prévenir le déclenchement de la maladie.

8.1.4 Développement potentiel de

vaccins :

Plusieurs compagnies internationales concentrent leur recherche sur le développement de vaccins afin d'éviter une utilisation abusive et coûteuse des antibiotiques dans le contrôle de la maladie. Le développement de l'immunité à *Lawsonia intracellularis* a été décrit lors de la forme aiguë de l'entérite proliférative [91]. Des truies reproductrices et des sangliers de tout âge, qui recevaient des antibiotiques, ont été exposés à la maladie. Deux à trois semaines après cette première exposition, ces animaux ont été mis en contact avec des truies et des jeunes sangliers nouvellement introduits dans l'unité de reproduction après que la période d'infection fut terminée. Ces derniers animaux s'immunisaient alors contre la maladie durant ce second épisode.

De plus, les études de ré-exposition ont indiqué que les porcs n'excrétaient pas des niveaux détectables de *Lawsonia intracellularis* dans leur fèces, mais ils développaient une seconde réponse sérique en IgG [19].

Une compagnie américaine a récemment développé un isolat avirulent de *Lawsonia intracellularis* puis la souche a été atténuée. Ils ont maintenant apporté la preuve du concept de vaccination contre l'iléite dans des études expérimentales de vaccination avec la souche avirulente NP 40 délivrée dans l'eau de boisson ou par voie intra nasale [75]. Dans une étude, des groupes de porcs ont reçu différentes doses intra nasales avec un volume de 2 ml de souche vaccinale de *Lawsonia intracellularis*, ou restaient non vaccinés. 22 jours après la vaccination, tous les porcs ont été exposés à une souche virulente de *Lawsonia intracellularis*. Des lésions macroscopiques et

microscopiques typiques d'entéropathie proliférative prévalaient dans le groupe de porcs témoins par rapport aux vaccinés (33 des 34 porcs vaccinés ne montraient aucune lésion). Cette étude était la première à démontrer l'efficacité d'un isolat avirulent de *Lawsonia intracellularis* sur la réduction du développement lésionnel, de l'excrétion fécale et des pertes de productivité dues à l'entérite proliférative chez les porcs. Dans des études supplémentaires, l'utilisation de l'isolat avirulent de *Lawsonia intracellularis* dans l'eau délivré par un système analogue à celui utilisé pour délivrer les vaccins anti-salmonelles a été évalué. Le vaccin a été administré au sevrage pendant 4 heures dans l'eau de boisson, stabilisé par du thiosulfate de sodium. S'en suit une exposition à une souche virulente 7 semaines après la vaccination, les porcs ont été contrôlés puis autopsiés 3 semaines plus tard. Encore une fois, les lésions d'entéropathie proliférative étaient significativement réduites chez les animaux vaccinés. Peu d'organismes sont présents dans les selles, menant à une faible contamination des autres porcs et de l'environnement. De plus, le bénéfice pour les producteurs est le maintien du taux de croissance [75].

La vaccination par voie orale contre *Lawsonia intracellularis* est un nouvel outil pour les producteurs de porcs et leurs vétérinaires. En effet, elle offre une protection à long terme contrairement aux médications qui sont efficaces seulement quand elles sont consommées [75].

Les résultats des essais sur le terrain confirment les études expérimentales. Des études pour déterminer l'impact du vaccin Enterisol® Ileitis développé par Boehringer ont commencé. De multiples recherches en immunologie continuent, notamment sur les effets des anticorps maternels. D'autres compagnies ont fait breveter des parties du génome de *Lawsonia* et devraient donc développer d'autres stratégies vaccinales. Les vaccins bactériens sont maintenant utilisés activement dans des essais sur le terrain dans des exploitations agricoles.

8.2 Traitement :

Love et Love en 1977 [91] ont été les premiers à fournir une évidence convaincante de la valeur du traitement à base de chlortétracyclines dans la forme hémorragique de la maladie. La tétracycline a été prouvée comme étant efficace dans la prévention de l'iléite du hamster, mais le diméridazole était moins efficace, et la néomycine inefficace. Par la suite, jusqu'à la culture de *Lawsonia intracellularis*, peu d'avancées scientifiques ont été réalisées dans le traitement de la maladie. Plusieurs produits ont été testés vis-à-vis de leur capacité à prévenir ou à contrôler l'infection intracellulaire d'entérocytes de rats *in vitro* [109]. C'est en particulier le cas des macrolides (tylosine, lincomycine, tilmicosine, spiramycine, érythromycine) des pleuromulines (tiamuline, valnémuline), des tétracyclines, des pénicillines et des fluoroquinolones [78].

A propos de la sensibilité de *Lawsonia intracellularis* aux antibiotiques, une étude effectuée en culture cellulaire sur un nombre limité de souches (au maximum trois, toutes isolées au Royaume Uni) par S.Mc Orist [109] a permis de déterminer les concentrations permettant d'inhiber la multiplication de 99% des bactéries :

0.1 µg/ml : érythromycine et difloxaciné.

1 µg/ml : chlortétracycline, virginiamycine, pénicilline G et ampicilline.

2 µg/ml : tilmicosine.

4 µg/ml : tiamuline.

8 µg/ml : ceftiofur et enrofloxacin.

32 µg/ml : lincomycine et oxytétracycline.

>32 µg/ml : bacitracine-zinc, avoparcine, vancomycine, tylosine, apramycine, spectinomycine, néomycine et gentamicine.

Le traitement doit être mis en place aux périodes critiques : allotement ou pic infectieux détecté par le profil sérologique de l'élevage. Mc Orist conseille la tiamuline (150 ppm), la tylosine (100 ppm), la chlortétracycline (400 ppm), par voie orale pendant quatorze jours ou encore l'association lincomycine-spectinomycine (3,3-6,6 mg/kg/j) [78].

Gebhart et al. (1998) ont estimé l'efficacité de la lincomycine (44, 110 et 220 ppm) et de la tylosine (110 ppm), les porcs étant contrôlés cliniquement et les fèces testées vis-à-vis de la présence de *Lawsonia intracellularis* par PCR [50]. La lincomycine à 220 ppm diminuait l'excrétion, mais des concentrations plus basses permettaient une excrétion importante chez des animaux exposés. De façon intéressante, les porcs recevant un traitement à base de tylosine excrétaient de façon presque aussi élevée que les témoins non traités ; cela suggère que le produit doit être parfois moins efficace que d'autres chercheurs l'avaient indiqué.

Un certain nombre d'auteurs ont décrit l'effet bénéfique des promoteurs de croissance sur les animaux affectés par l'entéropathie proliférative. Cependant, leur effet sur l'entérite elle-même est moins évidente.

Les producteurs utilisent des antibiotiques dans l'alimentation pour contrôler les symptômes cliniques d'iléite. Plusieurs médicaments efficaces sont reportés dans la littérature. Ces stratégies emploient ou bien une administration continue d'antibiotiques ou bien une dose thérapeutique pendant un temps court à plusieurs moments donnés.

La méthode la plus commune pour contrôler la diarrhée chronique est l'administration continue de médicaments, généralement dans l'alimentation. La médication continue des truies gestantes 1 à 2 semaines avant la mise-bas réduit la transmission de l'infection à leurs porcelets. La médication continue des porcs nouvellement sevrés dans la nurserie diminue l'incidence de l'iléite dans ce bâtiment et donc chez les porcs en croissance et en finition. Un des risques de l'administration continue est que les animaux, qui restent sensibles à l'infection, peuvent déclencher une iléite clinique après le retrait des médicaments [124].

Sélectionner le bon niveau d'antibiotique au sein de l'alimentation est difficile, surtout si le porc est infecté simultanément par d'autres organismes intestinaux comme c'est souvent le cas [124].

Les antibiotiques connus pour être efficaces sont la tiamuline (50-150 ppm) et la chlortétracycline (300-600 ppm) ; ils ont la capacité de prévenir et de traiter la maladie [93]. La tylosine (Tylar^R Elanco) permet également de stimuler la croissance et d'améliorer la digestion des porcs. En l'absence de vaccin ou de protocole d'éradication, l'utilisation de ces antibiotiques est le moyen le plus efficace pour limiter les pertes

économiques des exploitations infectées. Il n'a pas été prouvé qu'il était possible d'éliminer *Lawsonia intracellularis* des "systèmes rassemblés" de porcs [93].

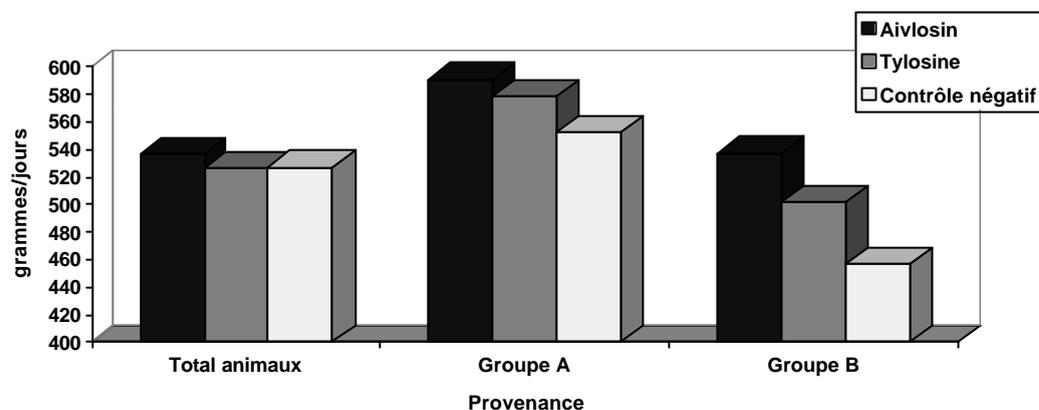
L'efficacité du Tylan^R a été testée sur 80 porcelets appariés et traités en double aveugle [44]. Les porcs étaient répartis dans 10 cases contenant 4 paires de porcs par case (8 porcs par case, 4 porcs par traitement par case). Les injections de Tylan^R 200 étaient administrées en IM deux fois par jour à raison de 1 ml pour 20 kg de poids vif pendant 3 jours, 14 jours après l'infection avec *Lawsonia intracellularis*. Le groupe des porcs négatifs recevaient une injection de l'excipient Tylan^R 200 en IM deux fois par jour, 14 jours après l'infection à *Lawsonia intracellularis*. L'étude était terminée 14 jours après l'administration des premières injections. Le score de diarrhées individuel et le score d'examen clinique étaient mesurés quotidiennement. Le poids individuel des porcs, et la recherche de *Lawsonia* sur fèces par PCR étaient relevés à J0, J7 et J14. Les sérums étaient prélevés le jour de l'infection (14 jours avant le début de l'essai) et le jour de l'autopsie (J14) pour révéler les anticorps positifs à *Lawsonia* par IFA. Tous les porcs étaient autopsiés à J14 et les lésions intestinales étaient évaluées. Des parties d'iléons de tous les animaux étaient expédiés au laboratoire de l'Université du Minnesota pour examen histologique, coloration argentique et immunohistochimie en vue d'une recherche de *Lawsonia*. Le Tylan^R 200 injectable a été efficace pour le traitement et le contrôle de l'entéropathie proliférative porcine causée par *Lawsonia intracellularis*. Les porcs dans cette étude ont une réponse positive au traitement avec une amélioration du tableau clinique des diarrhées et du score d'examen clinique aux jours 0-7, 8-14, et 0-14. Après 4 jours, les scores de diarrhées sont statistiquement inférieurs pour le groupe Tylan^R 200 par rapport au groupe témoin négatif. Les lésions macroscopiques de l'intestin sont diminuées pour le groupe Tylan^R 200 Injection. Les porcs du traitement Tylan^R 200 Injection ont un gain moyen quotidien amélioré aux jours 0-7, 8-14, et 0-14. Les poids des porcs traités Tylan^R 200 étaient à J14 de 27.6 kg et le poids des porcs témoins négatifs était de 23.47 kg qui révèle une différence à la fois de poids moyen et d'homogénéité des poids en faveur du groupe Tylan^R à J14.

Une étude a été réalisée à propos de l'efficacité de l'Aivlosin dans le contrôle des infections causées par *Lawsonia intracellularis* en 1999-2000 à la faculté vétérinaire de Mexico par le professeur Gerardo Iglesias [30, 31]. Le but de cette étude était d'évaluer l'efficacité d'un traitement et d'une prévention de l'entérite proliférative en utilisant un nouvel antibiotique macrolide : 3'-o-acetyl, 4"-o-isovaleryl tylosine, encore nommé "AIVLOSIN"(nom commercial). Pour créer un modèle expérimental, où l'infection de porcs sains dans un environnement infecté peut être reproduite, il a été décidé d'étudier des porcs venant de 2 sources complètement différentes. Ainsi, 53 porcs de deux fermes ont été acquis : une ferme « A » qui a connu des épisodes d'entéropathie proliférative avec un échec thérapeutique et une ferme « B » indemne de la maladie. Cinq animaux de chacune des fermes ont été sacrifiés pour confirmer la présence et l'absence d'entérite. Les 96 autres ont été divisés en 3 groupes thérapeutiques de 32 animaux chacun. Le logement était des enclos de 16 animaux. Dans chaque groupe et dans chaque enclos, les animaux provenant des fermes « A » et de « B » étaient répartis équitablement. Le groupe 1 n'avait aucun traitement (groupe témoin, contrôle négatif). Le 2ème recevait de l'Aivlosin dans le fourrage : 50 ppm pendant 1 semaine, suivi de 20 ppm jusqu'à ce que l'animal fasse 50 kg, suivi de 10 ppm jusqu'à l'abattage.

Le groupe 3 était traité par de la tylosine dans le fourrage à 110 ppm pendant 21 jours puis à 44 ppm pendant 3 semaines et enfin 3 semaines supplémentaires à 22 ppm (au moment de l'étude, c'était le seul traitement autorisé au Mexique pour l'éradication de l'entéropathie proliférative des porcs ; contrôle positif).

Les paramètres cliniques étudiés [30] étaient l'incidence de la diarrhée, le gain de poids quotidien moyen, la mortalité des animaux provenant de la ferme « B », la cause de mortalité durant l'étude.

Concernant l'incidence sur la diarrhée, la dose d'Aivlosin à 50 ppm durant la première semaine suffit à prévenir complètement la diarrhée et l'incidence de la diarrhée est significativement plus basse durant toute la période étudiée. Il n'y a pas eu de différence significative entre le groupe traité avec la tylosine et le groupe contrôle négatif.



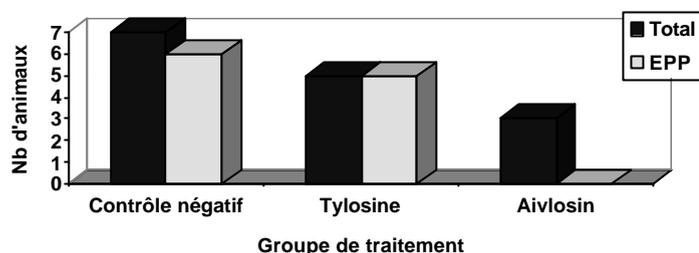
Graphique 1 : Gain de poids journalier moyen.

Ces tableaux démontrent clairement l'activité supérieure du traitement de l'Aivlosin comme agent thérapeutique et préventif.

Concernant la mortalité due à l'EPP chez les animaux provenant de la ferme « B » (animaux sains) :

- 4/32 du groupe sans traitement (contrôle négatif)
- 2/32 du groupe tylosine (contrôle positif)
- 0/32 du groupe Aivlosin

Chez 2 animaux du groupe tylosine et 1 du groupe contrôle négatif, l'EPP a été compliquée par des problèmes de pneumonie.



Graphique 2 : EPP comme cause de toute la mortalité.

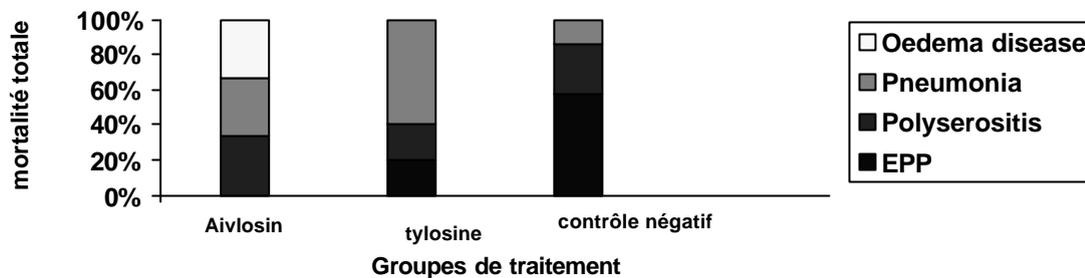
L'Aivosin prévient donc l'apparition et l'incidence de la diarrhée dans un environnement infecté [30]. Aucune différence n'a été décelée entre le groupe Tylosine et le groupe sans traitement. La croissance des animaux traités avec Aivosin a été considérablement augmentée. Les animaux traités venant de la ferme « B » (non-infectés) ont augmenté de 15% leur gain de poids journalier par rapport aux animaux non-traités et de 7% par rapport à ceux traités avec la tylosine. Aucun des animaux morts dans le groupe aivosin ne l'a été à cause de l'EPP.

Les paramètres *post-mortem* étudiés [31] sont les lésions considérées comme cause de mortalité, l'incidence de l'entéropathie proliférative chez les animaux sacrifiés et l'évaluation des lésions.

Les résultats, propres à cette étude, relatifs aux lésions considérées comme cause de mortalité sont :

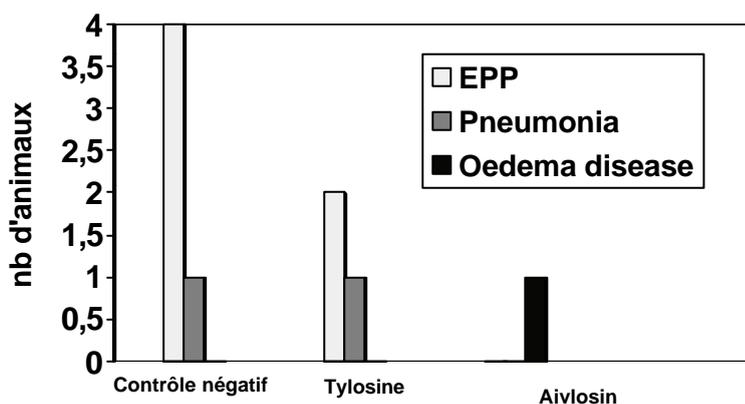
Tableau 6 : Causes probables de mortalité.

	AIVLOSIN (3)	TYLOSINE (5)	GRUPE 1 (7)
EPP	0	1	4
"Polysérosités"	1	1	2
Pneumonie	1	3	1
Oedeme	1	0	0



Graphique 3 : Causes probables de mortalité chez les groupes traités.

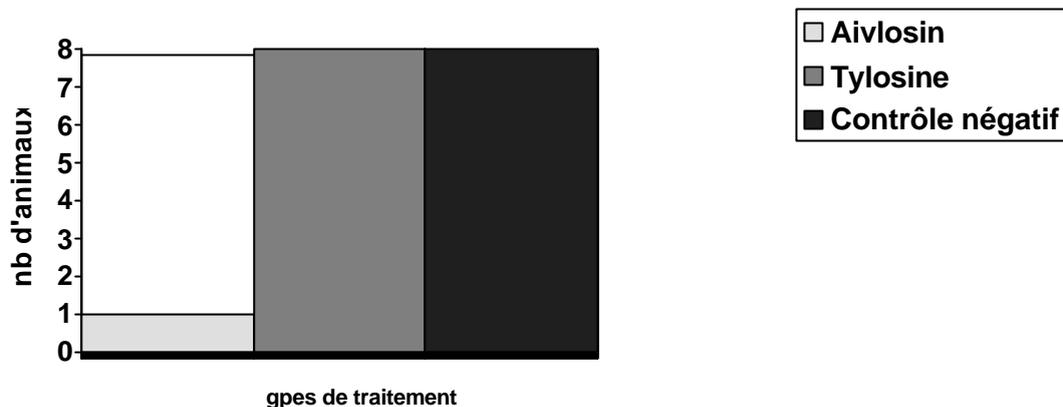
(tous les animaux de chaque groupe (15 au total) qui mourraient durant l'étude étaient autopsiés pour un examen pathologique et une cause possible de la mort était établie. Dans certains cas, la cause de mortalité a été une combinaison de plusieurs maladies). En regardant de plus près les causes de mortalité chez les animaux venant de la ferme non infectée « B », on note qu'aucune n'est due à l'EPP chez les animaux traités avec l'AIVLOSIN.



Graphique 4 : Mortalité et causes chez le groupe non infecté.

Le graphique ci-dessus illustre clairement que seulement 1 animal du groupe Aivlosin est mort et que ce décès n'est pas dû à l'EPP.

Au bout de dix semaines d'étude, 8 animaux de chaque groupe ont été abattu pour évaluer l'incidence des lésions sur l'intestin grêle dues à l'EPP. Les résultats sont les suivants :



Graphique 5 : Incidence de l'EPP chez les animaux sacrifiés.

Le seul animal du groupe 2 (groupe Aivlosin) qui présentait des lésions typiques d'entéropathie proliférative dans l'intestin grêle provenait de la ferme infectée « A » alors que les autres groupes montraient des lésions semblables entre les animaux provenant de A et de B. Les scores moyens de lésions étaient 1,68 (groupe 2), 2,31 (groupe 3) et 2,40 (groupe 1).

En conclusion de cette étude [31], aucun des animaux qui sont morts dans le groupe traité à l'Aivlosin ne pouvait être attribué à *Lawsonia intracellularis*. L'antibiotique traitait non seulement les animaux provenant d'une source infectée, mais protégeait aussi ceux issus d'un milieu non infecté. Ceci a été confirmé sur les 8 animaux sacrifiés à la 10^{ème} semaine de l'étude. Seul un animal du groupe Aivlosin a eu des lésions légères du type EPP alors que tous les autres en présentaient. La sévérité des lésions exprimée par le score moyen de lésion pour les animaux traités à l'aivlosin est significativement moins élevée que pour ceux traités à la tylosine. Cette étude recommande donc l'Aivlosin avec succès dans le traitement des animaux infectés et dans la prévention des animaux indemnes.

Une seconde étude sur cet antibiotique a été réalisée au Minnesota par le Dr Winkelman [32]. Elle consiste à infecter les porcs artificiellement durant 2 jours avec des muqueuses préalablement homogénéisées (qui contiennent un nombre calculé d'organismes) provenant de porcs *Lawsonia intracellularis* positifs. Sept jours après l'infection, plus de 40% des animaux avaient de la diarrhée, preuve de l'efficacité de l'infection.

110 porcs au total, divisés en 4 groupes, ont été utilisés pour cette étude :

- 1) Sans traitement (n = 20 ; 2 x 10) ;
- 2) Traitement avec de la tylosine à 100 ppm dans l'aliment durant 21 jours (n = 30 ; 3 x 10) - seul produit approuvé aux USA jusqu'à maintenant [3] ;

- 3) Traitement avec de l'AIVLOSIN à 50 ppm dans l'aliment durant 10 jours (n = 30 ; 3 x 10) ;
 4) Traitement avec de l'AIVLOSIN à 100 ppm dans l'aliment durant 10 jours (n = 30 ; 3 x 10).

Les paramètres cliniques mesurés sont : la mortalité, l'incidence des lésions, la dimension des lésions, l'apparence clinique, le gain de poids, la consommation d'aliment.

Le score de lésions a été noté de 1 à 4 :

1. normal ;
2. oedème et hyperhémie ;
3. oedème modéré, hyperhémie et muqueuse dilatée ;
4. comme "3" mais avec nécrose et sang.

Tous les échantillons d'intestins ont été prélevés au niveau de la valvule iléo-cæcale comme point de départ. Le score >3 est considéré comme étant une lésion sévère.

Tableau 7 : Résultats cliniques de l'étude.

Groupe	Mortalité (%) & [n]	Incidence des lésions (%)	Dimension des lésions >3 (cm.)
Contrôle	15.1 [3]	80.0	43.1
Tylosine 100ppm	16.7 [5]	63.3	47.3
Aivosin 50ppm	13.3 [4]	73.3	36.2
Aivosin 100ppm	Nil	33.3*	3.15*

*Statistiquement significatif (P<0.001) par rapport à tous les groupes

Les paramètres étudiés sont : le gain de poids (mesuré individuellement), la consommation d'aliment (mesurée par groupe) et l'indice de conversion (calculé à partir des moyennes).

Tableau 8 : Résultats de production de l'étude.

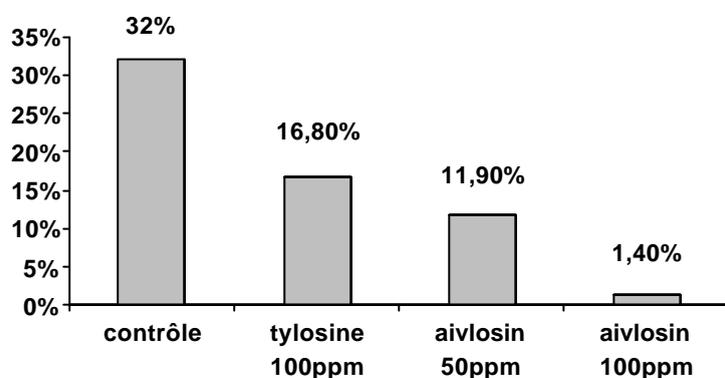
Groupe	Gain de poids (g) (% contrôle)	Consommation d'aliment (g) (% contrôle)	Indice de conversion
Contrôle	236	550	3.13
Tylosine 100ppm	230 (-2.5)	570 (+3.6)	2.48
Aivosin 50ppm	290 (+22.9)	670 (+21.8)	2.32
Aivosin100ppm	390* (+65.3)	750 (+36.4)	1.88

*Statistiquement significatif (P<0.001) par rapport à tous les groupes

Tableau 9 : Jours de vie avec score supérieur à 2 en pourcentage.

Groupe	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Total
Contrôle	12.50	73.33	85.96	83.33	56.14
Tylosine 100ppm	12.50	45.56	68.60	47.50	41.82
Aivlosin 50ppm	16.67	32.22	55.68	52.63	35.12
Aivlosin 100ppm	24.17	21.11	13.33*	24.44	20.58

*Statistiquement significatif ($P < 0.001$) par rapport à tous les groupes



Graphique 6 : Résultats des jours de vie avec observation clinique anormale (%).

Des échantillons de matières fécales de 2 animaux par groupe ont été prélevés pour analyse PCR. Les résultats sont les suivants :

Tableau 10 : Pourcentage de positifs à la PCR (positifs/total échantillonné).

Groupe	Jour 0	Jour 7	Jour 14	Jour 21	Jour 28
Contrôle	0 (0/4)	0 (0/4)	75 (3/4)	75 (3/4)	75 (3/4)
Tylosine 100ppm	0 (0/6)	0 (0/6)	100 (6/6)	83.3 (5/6)	16.7 (1/6)
Aivlosin 50ppm	0 (0/6)	33.3 (2/6)	33.3 (2/6)	83.3 (5/6)	33.3 (2/6)
Aivlosin 100ppm	0 (0/6)	16.7 (1/6)	100 (6/6)	16.7 (1/6)	0 (0/6)

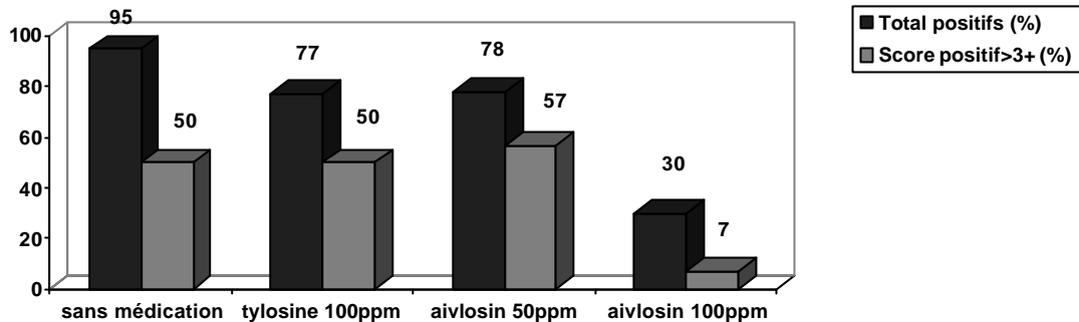
Système d'évaluation "Immuno Histopatologique":

0 = Antigènes non détectés

1+ = quelques antigènes détectés

2+ = plusieurs antigènes détectés

3+ = présence d'antigènes dans plus de 40% des tissus
4+ = présence d'antigènes dans tous les tissus



Graphique 7 : Evaluation « immuno histopathologique ».

Les conclusions de cette seconde étude [32] sont :

- l'Aivlosin à 100 ppm dans l'aliment durant 10 jours a été un traitement supérieur pour tous les paramètres mesurés. La signification statistique ($p < 0.001$) a été démontrée par rapport aux autres traitements et au groupe contrôle pour l'incidence des lésions d'entérite proliférative du porc et la dimension des lésions.
- l'Aivlosin à 100 ppm dans l'aliment durant 10 jours est statistiquement meilleure que le traitement avec la Tylosine à 100 ppm durant 21 jours pour les paramètres d'évaluation de la diarrhée, l'observation clinique et le gain de poids journalier.
- le traitement avec l'Aivlosin à 50 ppm dans l'aliment durant 10 jours est plus efficace dans cette étude que le traitement avec la Tylosine à 100 ppm pendant 21 jours. Il est numériquement meilleur dans presque tous les paramètres. On peut avancer l'hypothèse que l'Aivlosin à 50ppm dans l'aliment durant 10 jours peut agir préventivement ou en contrôle avant l'apparition de signes cliniques ou au tout début de l'infection.
- l'Aivlosin à 100 ppm durant 10 jours est un traitement hautement efficace contre les infections graves dues à *Lawsonia intracellularis*. La Tylosine à 100 ppm durant 21 jours n'a pas été aussi efficace pour le modèle étudié.

Mc Orist S., Muller Wager A., Kratzer D. et Sjosten C.G. [115] ont prouvé l'efficacité thérapeutique d'une poudre de lincomycine-spectinomycine hydrosoluble contre l'entéropathie proliférative des porcs : la diarrhée était résolue chez les porcs traités 3 à 7 jours après que la médication ait commencé tandis que la plupart des porcs non traités conservaient une diarrhée pendant au moins 10 jours. La majorité des porcs médicalisés gagnaient plus de poids que les porcs non traités après la période d'essai de 21 jours. L'absence de *Lawsonia* après le traitement était confirmée par PCR [115].

Mc Orist S., Morgan J., Veenhuizen M.F., Lawrence K. et Kroger H.W. ont réalisé une autre étude afin d'évaluer l'efficacité de l'administration par voie orale du phosphate de tylosine pour le traitement et la prévention des entéropathies prolifératives du porc

causée par *Lawsonia intracellularis* [114]: des porcs sevrés de 24 jours d'âge étaient exposés à une souche de *Lawsonia intracellularis* LR 189/5/83. Sept porcs témoins recevaient une solution tampon. Des 33 porcs exposés, 8 n'étaient pas traités. Deux groupes de porcs exposés recevaient de la tylosine phosphate débutant par 100 ou 40 ppm 4 jours avant l'inoculation et continuant pendant 16 jours, puis la dose était réduite à 40 ou 20 ppm respectivement pendant 12 jours de plus. Un autre groupe exposé recevait oralement 100 ppm de tylosine phosphate commençant 7 jours après l'exposition et ce pendant 21 jours. Les porcs étaient euthanasiés et autopsiés 4 semaines après l'exposition. Les résultats sont les suivants : les 8 porcs non traités avaient un gain de poids réduit, 3 d'entre eux avaient une diarrhée modérée 3 semaines après l'exposition. Cinq porcs présentaient de grosses lésions d'entérite proliférative à l'autopsie. Sept porcs avaient des lésions histologiques d'entéropathie proliférative avec de nombreux organismes. Aucun des porcs témoins ou des 3 groupes ayant reçu de la tylosine phosphate avant ou après exposition n'avait de signes cliniques ou des lésions d'entéropathie proliférative.

En conclusion, la tylosine phosphate semble être efficace dans la prévention et le traitement des entéropathies prolifératives [114].

Mc Orist S., Smith S.H., Shearn M.F., Carr M.M. et Miller D.J. ont étudié l'efficacité de la tiamuline par voie orale [119] : 20 porcs sevrés étaient inoculés oralement avec une souche virulente de *Lawsonia intracellularis* (LR 189/5/83), isolée en Angleterre et identifiée comme étant la cause des entéropathies prolifératives porcines, et 7 porcs témoins ont reçu une solution tampon. Sept des vingt porcs inoculés n'étaient pas traités ; leur gain de poids était moins élevé que celui des porcs témoins et trois d'entre eux développaient une diarrhée moyenne 2 semaines après l'inoculation. Tous les 7 développaient des lésions d'entéropathie proliférative, 6 des lésions macroscopiques, et de nombreux *Lawsonia intracellularis* ont été détectés dans les sections intestinales examinées 3 semaines après l'infection. Pour tester une stratégie de prévention utilisant la tiamuline, 6 des porcs inoculés ont reçu oralement 50 ppm de tiamuline, donnée 2 jours avant l'inoculation jusqu'à ce qu'ils soient euthanasiés. Pour tester une stratégie de traitement, 7 des porcs inoculés ont reçu 150 ppm de tiamuline donné 7 jours après l'inoculation jusqu'à leurs euthanasies. Tous les porcs témoins et les 13 traités à la tiamuline (soit avant, soit après l'inoculation) ont conservé un aspect clinique normal et n'ont pas eu de lésions spécifiques d'entéropathie proliférative dans les sections intestinales examinées *post-mortem*.

La valnémuline (nouvelle molécule antibiotique particulièrement performante de la famille des pleuromutilines) est un atout d'importance pour la filière porcine [146]. Elle doit être comparée à la tiamuline, première pleuromutiline disponible depuis quinze ans et aux macrolides (tylosine, lincomycine, tilmicosine, etc.) auxquels les pleuromutilines sont souvent apparentées. *Vis-à-vis* de *Lawsonia intracellularis* elle est environ deux fois plus active *in vitro* que la tiamuline (sur la base des études de concentrations minimales inhibitrices) et plus de quinze fois plus active que les macrolides (lincomycine et tylosine).

Tableau 11 : Valeurs de concentrations minimales inhibitrices (CMI₅₀ en µg/ml) vis-à-vis de *Lawsonia intracellularis*.

Valnémuline	2
Tiamuline	4
Lincomycine	32
Tylosine	64

D'après ces résultats, un essai français devrait permettre d'élargir les indications officielles de la valnémuline à l'iléite.

Les propriétés thérapeutiques de l'oregon sont connues depuis l'ancien temps. Hippocrate, le fondateur de la médecine, l'utilisait pour soigner les désordres gastro-intestinaux et les maladies respiratoires.

Maintenant, dans de récentes études [144], les huiles essentielles naturelles dérivées de l'oregon ont été prouvées comme ayant des activités antifongiques et antibiotiques grâce à leur composant phénolique. Ces substances sont utilisées comme additif alimentaire non pharmaceutique.

L'objet de cette étude [144] est d'évaluer l'efficacité de l'application de 5 % d'huiles (d'ester) dans l'alimentation sur la prévention et le traitement des entéropathies prolifératives des porcs en croissance et en finition.

Cette étude a porté sur 200 porcs dans une entreprise commerciale en Grèce Centrale ayant connu des épisodes d'entérite proliférative (et notamment la forme chronique). Des fèces ont été prélevées pour confirmer la présence de *Lawsonia intracellularis* au début de l'essai (confirmé par PCR). Du sevrage (25 +/- 3 jours) jusqu'à 161 +/- 3 jours, 3 groupes expérimentaux recevaient différentes médications :

T1 : aucun rajout antibiotique dans l'alimentation ou dans la boisson ;

T2 : Médication dans l'aliment à 250 g d'Ecodiar par tonne d'aliment ;

T3 : Médication dans l'aliment à 500 g d'Ecodiar par tonne d'aliment.

L'essai a duré sur une période de 136 jours.

Tous les animaux étaient surveillés quotidiennement vis-à-vis des signes de la maladie.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Tableau 12 : Mortalité en pourcentage.

	T1	T2	T3
Jours 25-62	8,0	5,0	5,0
Jours 63-111	8,6	2,6	5,3
Jours 112-161	6,3	5,4	0,0
Jours 25-161	25,0	8,0	10,0

Tableau 13 : Scores de diarrhée.

	T1	T2	T3
Jours 25-62	4,12	3,65	3,48
Jours 63-111	3,07	2,42	1,84
Jours 112-161	1,76	0,77	0,51
Jours 25-161	2,88	2,16	1,81

Tableau 14 : Performances de croissance.

	T1	T2	T3
ADG (g)			
Jours 25-62	436,78	451,27	462,48
Jours 63-111	578,61	646,93	693,71
Jours 112-161	723,15	812,62	852,43
Jours 25-161	572,92	653,13	687,50
FCR(indice de conversion digestif)			
Jours 25-62	2,34	2,11	2,08
Jours 63-111	3,42	2,71	2,66
Jours 112-161	3,21	3,25	3,10
Jours 25-161	3,04	2,74	2,66

Tableau 15 : Examen des fèces à la fin.

	T1	T2	T3
Total examiné	8	8	8
Positif bactériologiquement	5	1	1
Positif histologiquement	7	2	1
Positif à la PCR	7	3	1

Les résultats [144] indiquent que l'utilisation d'huiles essentielles provenant de la plante « Origanum » dans l'alimentation permet de contrôler l'entéropathie proliférative chez les porcs en croissance et en finition. En effet, les groupes T2 et T3 avaient de meilleures performances que le groupe témoin non traité, présentaient moins de diarrhée et avaient de meilleurs gains de poids et un meilleur coefficient digestif. De plus, un niveau élevé d'Ecodiar montrait des résultats meilleurs significativement en comparaison avec le groupe T2 concernant la diarrhée et le gain de poids quotidien. Les examens bactériologiques, histologiques, et la PCR, réalisés à la fin de l'étude, montraient que l'entérite proliférative était mieux contrôlée dans les deux groupes traités (37,5% et 25% de positifs dans les groupes T2 et T3 respectivement).

8.3 Bilan :

Pour une stratégie efficace de contrôle de l'iléite, il faut :

- diagnostiquer précisément la cause des faibles performances et/ou de la maladie intestinale ;
- nettoyer minutieusement puis désinfecter avec un produit efficace contre *Lawsonia intracellularis* ;
- vacciner les porcs avec Enterisol® Ileitis 4 semaines avant l'exposition, pour une protection à long terme contre *Lawsonia intracellularis* ;
- utiliser un traitement efficace après la vaccination qui a permis aux porcs de développer une immunité ou quand la vaccination ne peut pas être réalisée correctement ;
- utiliser des antibiotiques à visée à la fois digestive et respiratoire pour un maximum de bénéfices.

Conclusion

Moins de huit ans ont passé depuis que *Lawsonia intracellularis* a été confirmée comme étant l'organisme étiologique de l'entéropathie proliférative. C'est relativement court pour comprendre les complexités de la maladie et ce qui apparaît maintenant comme certain devra être réécrit dans le futur. Malgré l'accumulation rapide de connaissances, bien des choses sont encore à résoudre, le plus important étant le contrôle de l'entéropathie proliférative et la pathogénie de la bactérie intracellulaire. En effet, les dernières recherches se focalisent sur la combinaison de nouveaux outils diagnostiques, sur le développement de vaccins et sur les programmes d'éradication.

L'entérite proliférative hémorragique est un risque permanent lors de la création d'élevages à statut sanitaire élevé. Celle-ci et les autres formes d'entéropathie proliférative peuvent être contrôlées par des antibiotiques ; comment minimiser, voire si possible, éviter l'utilisation de telles substances dans le contrôle de la maladie est maintenant devenu un objectif urgent. La compréhension de l'épidémiologie de l'entéropathie proliférative est encore rudimentaire. Les méthodes moléculaires qui permettent une séparation des isolats en sont un prélude.

Aucun autre pathogène intracellulaire n'a la même variété de caractéristiques pathogéniques que *Lawsonia intracellularis*, bien que d'autres espèces individuelles montrent des mécanismes pathogéniques similaires pour l'entrée et la persistance dans les cellules. La bactérie de l'entéropathie proliférative est génétiquement isolée de beaucoup d'autres bactéries intracellulaires et cette séparation devrait permettre à la bactérie de développer de nouvelles stratégies moléculaires pour survivre. Ces mécanismes pathogéniques restent à être résolus.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, M. BONNES, Directeur par intérim de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
M. GALLON Christophe, Auguste
a été admis(e) sur concours en : 1995
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 8 juillet 1999
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, J. EUZEBY, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :
M. GALLON Christophe, Auguste
intitulée :
Contribution à l'étude de "Lawsonia intracellularis" : son importance en médecine vétérinaire

Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



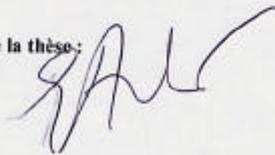
Professeur Jean EUZEBY

Vu :
Le Directeur par intérim
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Professeur Gilbert BONNES

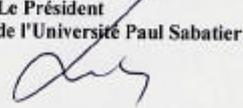
Vu :
Le Président de la thèse :



Professeur Elisabeth ARLET-SUAU

Professeur E. ARLET - SUAU
Service de Médecine Interne
CLINIQUE DIEULAFOY
HOPITAL PURPAN
F - 31059 TOULOUSE CEDEX

Vu le : 15 mars 2004
Le Président
de l'Université Paul Sabatier



Professeur Raymond BASTIDE



Références bibliographiques :

1. ALDERTON M.R., BORLAND R. et COLOE P.J. : Experimental reproduction of porcine proliferative enteritis. J. Comp. Pathol., 1992, **106**, 159-167.
2. ANTEC. (Page consultée le 26 octobre 2000). Virkon S proved effective against Porcine Ileitis, [en ligne]. Adresse URL : <http://www.antecint.co.uk/main/porcine.htm>
3. BANE D., FIRKINS L. et CALHOUN J. : Effect of Tylan premix administration on transmission of, and seroconversion to, a spontaneous *Lawsonia intracellularis* infection in growing pigs. Proceedings of the Allen D. Lemman Swine Conference, 1998 sept.18-22, **25**, 33-34.
4. BANE D., NORBY B., GARDNER I., ROOF M., KNITTEL J., BUSH E. et GEBHART C.J. : The epidemiology of porcine proliferative enteropathy. Proceedings of the International Pig Veterinary Society 15th Congress, 1998, **3**, 107.
5. BIESTER H.E. et SCHWARTE L.H. : Intestinal adenoma in swine. American Journal of Pathology, 1931, **7**, 175-185.
6. BLANCHARD B. et CHEVALLIER B. : La PCR franchit le pas du diagnostic de routine. Dans : La semaine vétérinaire des filières, 6 novembre 1999, **952**, 1-2.
7. BOOTHE A.D. et CHEVILLE N.F. : The pathology of proliferative ileitis of the golden hamster. Veterinary Pathology, 1967, **4**, 31-44.
8. BORCHER Glenda. (2001, 14 janvier). Ileitis pathogen not becoming resistant [courrier électronique à Christophe Gallon], [en ligne]. Adresse par courrier électronique : christophe.gallon2@freesbee.fr
9. BOYE M., JENSEN T.K., MOLLER K., LESER T.D. et JORSAL S.E. : Specific detection of *Lawsonia intracellularis* in porcine proliferative enteropathy inferred from fluorescent rRNA *in situ* hybridization. Veterinary Pathology, 1998, **35 (2)**, 153-156.
10. CAHEN P. : Un test sérologique pour *Lawsonia intracellularis*. Dans : La semaine vétérinaire des filières, 25 décembre 1999, **958**, 2.
11. CHANG W.L., KURTZ H.J., WARD G.E. et GEBHART C.J.: The use of a weaned mouse as a model to study the role of *Campylobacter* species in proliferative enteritis of swine. In : *Campylobacter III. Proceedings of the Third International Workshop on Campylobacter Infections*, A.D. Pearson, M.B. Skirrow, H. Lior et B. Rowe, Eds, Public Health Laboratory Service, Londres, 1985, p. 102.
12. CHANG W.L., WU C.F., WU Y., KAO Y.M. et PAN M.J. : Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in swine herds in Taiwan. Veterinary Record, 1997, **141**, 103-104.

13. CHIRIBOGA A.E., GUIMARAES W.V., VANETTI M.C. et ARAUJO E.F. : Detection of *Lawsonia intracellularis* in faeces of swine from the main producing regions in Brazil. Canadian Journal of Microbiology, 1999, **45 (3)**, 230-234.
14. COLLINS A.M., LIBAL M.C. et BROST D. : Proliferative enteritis in two pups. Journal of the American Veterinary Medical Association, 1983, **183**, 886-889.
15. COLLINS A.M., LOVE R.J., JASNI S. et MC ORIST S. : Attempted infection of mice, rats and chickens by porcine strains of *Lawsonia intracellularis*. Australian Veterinary Journal, 1999, **77**, 120-122.
16. COLLINS A.M., LOVE R.J., POZO J., SMITH S.H. et MC ORIST S. : Studies on the ex vivo survival of *Lawsonia intracellularis*. Swine health and production, 2000, **8**, 211-215.
17. COLLINS A.M., MC ORIST S., VAN DIJK M. et al. : The effect of age on clinical disease associated with *Lawsonia intracellularis* infection. Proc. 17th Conf. Aust. Pig Science Assoc., Adelaide, Australia, 1999, 277.
18. COLLINS A.M., SWIFT I. et MONKTON R.P. : Replication of Australian porcine isolates of ileal symbiont intracellularis in tissue culture. Veterinary Microbiology, 1996, **49**, 249-255.
19. COLLINS A.M., VAN DIJK M., MC ORIST S. et al. : Strategic medication and development of immunity to *Lawsonia intracellularis*. Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 2000, **16**, 30.
20. CONNOR J.F. : Diagnosis, treatment and prevention of porcine proliferative enteritis. Compendium on Continuing Education, 1991, **13**, 1172-1177.
21. COOPER D.M. : Proliferative enteritis in the hamster, horse, deer and ostrich : detection and characterization of *Lawsonia intracellularis*. MS thesis, University of Minnesota, 1996, Twin-Cities Campus.
22. COOPER D.M. et GEBHART C.J. : Comparative aspects of proliferative enteritis. Journal of the American Veterinary Medical Association, 1998, **212**, 1446-1451.
23. COOPER D.M., SWANSON D.L., BARNS S.M. et GEBHART C.J. : Comparison of the 16S ribosomal DNA sequences from the intracellular agents of proliferative enteritis in a hamster, deer and ostrich with the sequence of a porcine isolate of *Lawsonia intracellularis*. International Journal of Systematic Bacteriology, 1997, **47 (3)**, 635-639.
24. COOPER D.M., SWANSON D.L. et GEBHART C.J. : Diagnosis of proliferative enteritis in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissue from a hamster, horse, deer and ostrich using a *Lawsonia intracellularis*-specific multiplex PCR assay. Veterinary Microbiology, 1997, **54**, 47-62.

25. DALE C.J.H., MOSES E.K., ONG C.C., MORROW C.J., REED M.B., HASSE D. et STRUGNELL R.A. : Identification and sequencing of the *groE* operon and flanking genes of *Lawsonia intracellularis* : use in phylogeny. *Microbiology*, 1998, **144**, 2073-2084.
26. DILLEHAY D.L., PAUL K.S., BOOSINGER T.R. et FOX J.G. : Enterococcolitis associated with *Escherichia coli* and *Campylobacter*-like organisms in a hamster (*Mesocricetus aureus*) colony. *Laboratory Animal Science*, 1994, **44**, 12-16.
27. DROLET R., LAROCHELLE D. et GEBHART C.J. : Proliferative enteritis associated with *Lawsonia intracellularis* (ileal symbiont intracellularis) in white-tailed deer. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1996, **8**, 250-253.
28. DUHAMEL G.E., KLEIN E.C., ELDER R.O. et GEBHART C.J. : Subclinical proliferative enteropathy in sentinel rabbits associated with *Lawsonia intracellularis*. *Veterinary Pathology*, 1998, **35 (4)**, 300-303.
29. DUHAMEL G.E. et WHEELDON E.B. : Intestinal adenomatosis in a foal. *Veterinary Pathology*, 1982, **19**, 447-450.
30. Eco animal health. (Page consultée le 18 novembre 2000). What's new ?, [en ligne]. Adresse URL : <http://www.ecoanimalhealth.com/gbr/newGB16.html>
31. Eco animal health. (Page consultée le 18 novembre 2000). What's new ?, [en ligne]. Adresse URL : <http://www.ecoanimalhealth.com/gbr/newGB17.html>
32. Eco animal health. (Page consultée le 18 novembre 2000). What's new ?, [en ligne]. Adresse URL : <http://www.ecoanimalhealth.com/gbr/newGB18.html>
33. EMSBO P. : Terminal or regional ileitis in swine. *Nordisk Veterinaer Medicin*, 1951, **3**, 1-28.
34. ENVN.Anapath. (Page consultée le 17 août 2001). Lésions du tube digestif. Les gastro-entérites, [en ligne]. Adresse URL : <http://www.vet-nantes.fr/ENVN/PRIVE/Anapath/TD8.html>
35. ERIKSEN K., LANDSVERK T. et BRATBERG B. : Morphology and immunoperoxidase studies of intestinal adenomatosis in the blue fox, *Alopex lagopus*. *Journal of Comparative Pathology*, 1990, **102**, 265-278.
36. EUZEBY J.P. : L'étiologie des entérites prolifératives du porc. *Revue générale. Revue de Médecine Vétérinaire*, 1995, **146 (10)**, 623-630.
37. EUZEBY J.P. (Page consultée le 26 octobre 2000). Dictionnaire de bactériologie vétérinaire : *Lawsonia intracellularis*, [en ligne]. Adresse URL : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/l/lawsonia.html>

38. FOX J.G., DEWHIRST F.E., FRASER G.J., PASTER B.J., SHAMES B. et MURPHY J.C. : Intracellular *Campylobacter*-like organism from ferrets and hamsters with proliferative bowel disease is a *Desulfovibrio* sp. *Journal of Clinical Microbiology*, 1994, **32**, 1229-1237.
39. FOX J.G. et LAWSON G.H.K. : *Campylobacter*-like omega intracellular antigen in proliferative colitis of ferrets. *Laboratory Animal Science*, 1988, **38**, 34-36.
40. FOX J.G., MURPHY J.C., ACKERMAN J.I., PROSTAK K.S., GALAGHER C.A. et RANBOW V.J. : Proliferative colitis in ferrets. *American Journal of Veterinary Research*, 1982, **43**, 858-864.
41. FOX J.G., STILLS H.F., PASTER B.J., DEWHIRST F.E., YAN L., PALLEY L. et PROSTAK K. : Antigenic specificity and morphologic characteristics of *Chlamydia trachomatis*, strain SFPD, isolated from hamsters with proliferative ileitis. *Laboratory Animal Science*, 1993, **43**, 405-410.
42. FRANK N., FISHMAN CE, GEBHART C.J. et LEVY M. : *Lawsonia intracellularis* proliferative enteropathy in a weaning foal. *Equine Veterinary Journal*, 1998, **30**, 549-552.
43. FRISK C.S. et WAGNER J.E. : Experimental hamster enteritis : an electron microscopic study. *American Journal of Veterinary Research*, 1977, **38**, 1861-1868.
44. GARY F. : Efficacité du Tylan^R 200 injection pour le traitement et le contrôle de l'entéropathie proliférative porcine provoquée par *Lawsonia intracellularis*. Dans : La semaine vétérinaire des filières, 29 avril 2000, **974**, 1.
45. GEBHART C.J. (page consultée le 21 janvier 2001). « Expression of Major Proteins of the Agent of Proliferative Enteropathy ». In 1997 Research Investment Report. [En ligne]. Adresse URL : <http://www.nppc.org/Research/97Reports/97-Gebhart-1067.html>
46. GEBHART C.J., BARNS S.M., MC ORIST S., LIN G.F. et LAWSON G.H.K. : Ileal symbiont intracellularis, an obligate intracellular bacterium of porcine intestines showing a relationship to *Desulfovibrio* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1993, **43**, 533-538.
47. GEBHART C.J., KURTZ H.J., WARD G.E. et CHANG K. : The hamster as a model for porcine proliferative enteritis. In : *Campylobacter III. Proceedings of the Third International Workshop on Campylobacter Infections*, A.D. Pearson, M.B. Skirrow, H. Lior et B. Rowe, Eds, Public Health Laboratory Service, Londres, 1985, p99.
48. GEBHART C.J., LIN G.F., MC ORIST S., LAWSON G.H.K. et MURTAUGH M.P. : Cloned DNA probes specific for the intracellular *Campylobacter*-like organism of porcine proliferative enteritis. *Journal of Clinical Microbiology*, 1991, **29**, 1011-1015.

49. GEBHART C.J., MC ORIST S., LAWSON G.H.K., COLLINS J.E. et WARD G.E. : Specific in situ hybridization of the intracellular organism of porcine proliferative enteropathy. *Veterinary Pathology*, 1994, **31**, 462-467.
50. GEBHART C.J., WINKELMAN N. et CORNELL C.P. : Shedding of *Lawsonia intracellularis* in medicated and non-medicated pigs. *Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 15th Congress*, 1998, **2**, 61.
51. HOLYOAKE P.K. et CUTLER R.S. : Outbreaks of proliferative haemorrhagic enteropathy on two pig farms. *Australian Veterinary Journal*, 1995, **72**, 253-256.
52. HOLYOAKE P.K., CUTLER R.S. et CAPLE I.W. : Prevalence of proliferative enteritis on pig farms in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 1994, **71**, 418-422.
53. HOLYOAKE P.K., CUTLER R.S., CAPLE I.W. et MONCKTON R.P. : Enzyme-linked immunosorbent assay for measuring ileal symbiont intracellularis specific immunoglobulin G response in sera of pigs. *Journal of Clinical Microbiology*, 1994, **32**, 1980-1985.
54. HOLYOAKE P.K., JONES G.F., DAVIES P.R., FOSS D.L. et MURTAUGH M.P. : Application of a polymerase chain reaction assay for the detection of proliferative enteritis-affected swine herds. *Journal of Veterinary diagnostic Investigation*, 1996, **8**, 181-185.
55. HOLYOAKE P.K., MULLEN B.P. et CUTLER R.S. : Simulation of the economic impact of proliferative enteritis on pig production in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 1996, **73**, 89-92.
56. HOTCHKISS C.E., SHAMES B., PERKINS S.E. et FOX J.G. : Proliferative enteropathy of rabbits : the intracellular *Campylobacter*-like organism is closely related to *Lawsonia intracellularis*. *Laboratory Animal Science*, 1996, **46**, 623-627.
57. JACOBY R.O. : Transmissible ileal hyperplasia of hamsters. *American Journal of Pathology*, 1978, **91**, 433-444.
58. JACOBY R.O. et JOHNSON E.A. : Transmissible ileal hyperplasia. In: *Hamster Immune Responses in Infection and Oncologic Diseases*, J. Stein-Streilein, W. Duncan et R. Billingham, Eds, Plenum, New York, 1981, p 267-285.
59. JACOBY R.O., OSBALDISTON G.W. et JONAS A.W. : Experimental transmission of atypical ileal hyperplasia of hamsters. *Laboratory Animal Science*, 1975, **25**, 465-473.
60. JASNI S., MC ORIST S. et LAWSON G.H.K. : Reproduction of proliferative enteritis in hamsters with a pure culture of porcine ileal symbiont intracellularis. *Veterinary Microbiology*, 1994, **41**, 1-9.

61. JENSEN T.K., MOLLER K., LESER T.D. et JORSAL S.E. : Comparison of histology, immunohistochemistry and polymerase chain reaction for detection of *Lawsonia intracellularis* in natural porcine proliferative enteropathy. *European Journal of Veterinary Pathology*, 1997, **3**, 115-123.
62. JENSEN T.K., MOLLER K., LINDECORONA R. et JORSAL S.E.: Detection of *Lawsonia intracellularis* in the tonsils of pigs with proliferative enteropathy. *Research in Veterinary Science*, 2000, **68 (1)**, 23-26.
63. JOENS L.A., NIBBELINK S. et GLOCK R.D. : Induction of gross and microscopic lesions of porcine proliferative enteritis by *Lawsonia intracellularis*. *American Journal of Veterinary Research*, 1997, **58 (10)**, 1125-1131.
64. JOHNSON E.A. et JACOBY R.O. : Transmissible ileal hyperplasia of hamsters. *American Journal of Pathology*, 1978, **91**, 451-459.
65. JONAS A.M., TOMITA Y. et WYAND S. : Enzootic intestinal adenocarcinoma in hamsters. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1965, **147**, 1102-1108.
66. JONES G.F., DAVIES P.R., ROSE R., WARD G.E. et MURTAUGH M.P. : Comparison of techniques for diagnosis of proliferative enteritis of swine. *American Journal of Veterinary Research*, 1993, **54**, 1980-1985.
67. JONES G.F., WARD G.E., COLLINS J.E. et GEBHART C.J. : Transmission of proliferative enteritis to swine by use of embryonated eggs. *American Journal of Veterinary Research*, 1993, **54**, 1256-1261.
68. JONES G.F., WARD G.E., GEBHART C.J., MURTAUGH M.P. et COLLINS J.E. : Use of a DNA probe to detect the intracellular organism of proliferative enteritis in swine feces. *American Journal of Veterinary Research*, 1993, **54**, 1585-1590.
69. JONES G.F., WARD G.E., GEBHART C.J., MURTAUGH M.P. et LIN G.F. : Detection in feces of the intracellular organism of swine proliferative enteritis by molecular methods. *Proceedings of the International Pig Veterinary Society 12th Congress*, 1992, 17-20 August, 288.
70. JONES G.F., WARD G.E., MURTAUGH M.P., LIN G.F. et GEBHART C.J. : Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont intracellularis, in faeces by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 1993, **31**, 2611-2615.
71. JONES G.F., WARD G.E., MURTAUGH M.P., ROSE R. et GEBHART C.J. : Relationship between ileal symbiont intracellularis and porcine proliferative enteritis. *Infection and Immunity*, 1993, **61**, 5237-5244.

72. JORDAN D.M., KNITTEL J.P., ROOF M.B., SCHWARTZ K., LARSON D. et HOFFMAN L.J. : Detection of *Lawsonia intracellularis* in swine using polymerase chain reaction methodology. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1999, **11 (1)**, 45-49.
73. KLEIN E.C., GEBHART C.J. et DUHAMEL G.E. : Fatal outbreaks of proliferative enteritis caused by *Lawsonia intracellularis* in young colony-raised rhesus macaques. *Journal of Medical Primatology*, 1999, **28 (1)**, 11-18.
74. KNITTEL J.P., JORDAN D.M., SCHWARTZ K., JANKE B.H., ROOF M.B., MC ORIST S. et HARRIS D.L. : Evaluation of antemortem polymerase chain reaction and serologic methods for detection of *Lawsonia intracellularis*-exposed pigs. *American Journal of Veterinary Research*, 1998, **59 (6)**, 722-726.
75. KNITTEL J.P., KROLL J., MATHES M. et al. : Efficacy of an avirulent *Lawsonia intracellularis* vaccine in swine. *Proceedings of the International Pig Veterinary Society*, 2000, **16**, 24.
76. KNITTEL J.P., LARSON D.I., HARRIS D.L., ROOF M.B. et MC ORIST S. : United States isolates of *Lawsonia intracellularis* from porcine proliferative enteropathy resemble European isolates. *Swine health and production*, 1996, **4**, 119-122.
77. LANDSVERK T. : Intestinal adenomatosis in a blue fox (*Alopex lagopus*). *Veterinary Pathology*, 1981, **18**, 275-278.
78. LAVAL A. : Epidémiologie et diagnostic de l'iléite proliférative du porc. Dans : *La semaine vétérinaire des filières*, 29 avril 2000, 974, 2.
79. LAVOIE J.P., DROLET R., PARSONS D., LEGUILLETTE R., SAUVAGEAU R., SHAPIRO J., HOULE L., HALLE G. et GEBHART C.J. : Equine proliferative enteropathy : a cause of weight loss, colic, diarrhoea and hypoproteinaemia in foals on three breeding farms in Canada. *Equine Veterinary Journal*, 2000, **32 (5)**, 418-425.
80. LAWSON G.H.K. et GEBHART C.J. : Proliferative Enteropathy : a review. *J. Comp. Pathol.*, 2000, **122**, 77-100.
81. LAWSON G.H.K., MACKIE R.A.M., SMITH D.G.E. et MC ORIST S. : Infection of cultured rat enterocytes by ileal symbiont *intracellularis* depends on host cell function and actin polymerisation. *Veterinary Microbiology*, 1995, **45**, 339-350.
82. LAWSON G.H.K. et MC ORIST S. : The enigma of the proliferative enteropathies : a review. *J. Comp. Pathol.*, 1993, **108**, 41-46.
83. LAWSON G.H.K., MC ORIST S., JASNI S. et MACKIE R.A.M. : Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy : cultivation and maintenance *in vitro*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1993, **31**, 1136-1142.

84. LAWSON G.H.K., MC ORIST S., ROWLAND A.C., MC CARTNEY E. et ROBERTS L. : Serological diagnosis of the porcine proliferative enteropathies : implications for aetiology and epidemiology. *Veterinary Record*, 1988, **122**, 554-557.
85. LAWSON G.H.K. et ROWLAND A.C. : Intestinal adenomatosis in the pig : a bacteriological study. *Research in Veterinary Science*, 1974, **17**, 331-336.
86. LAWSON G.H.K., ROWLAND A.C. et MAC INTYRE N. : Demonstration of a new intracellular antigen in porcine intestinal adenomatosis and hamster proliferative ileitis. *Veterinary Microbiology*, 1985, **10**, 303-313.
87. LAWSON G.H.K., ROWLAND A.C., ROBERTS L., FRASER G. et McCARTNEY E. : Proliferative haemorrhagic enteropathy. *Research in Veterinary Science*, 1979, **27**, 46-51.
88. LEMARCHAND T.X., TULLY T.N.Jr, SHANE S.M. et DUNCAN D.E. : Intracellular *Campylobacter*-like organisms associated with rectal prolapse and proliferative enteroproctitis in emus (*Dromaius novaehollandiae*). *Veterinary Pathology*, 1997, **34(2)**, 152-156.
89. LOVE D.N. et LOVE R.J. : Pathology of proliferative haemorrhagic enteropathy. *Veterinary Pathology*, 1979, **16**, 41-48.
90. LOVE D.N., LOVE R.J. et EDWARDS M.J. : Proliferative haemorrhagic enteropathy in pigs. *Veterinary Record*, 1977, **100**, 65-68.
91. LOVE R.J. et LOVE D.N. : Control of proliferative haemorrhagic enteropathy in pigs . *Veterinary Record*, 1977, **100**, 473.
92. MAPOTHER M.E., JOENS L.A. et GLOCK R.D. : Experimental reproduction of porcine proliferative enteritis. *Veterinary Record*, 1987, **121**, 533-536.
93. MC ORIST S.(2000, 24 novembre). Porcine Proliferative Enteropathy. [courrier électronique à Gallon Christophe], [en ligne]. Adresse par courrier électronique : christophe.gallon2@freesbee.fr
94. MC ORIST S., BOID R. et LAWSON G.H.K. : Antigenic analysis of *Campylobacter* species and an intracellular *Campylobacter*-like organism associated with porcine proliferative enteropathies. *Infection and Immunity*, 1989, **57**, 957-962.
95. MC ORIST S., BOID R., LAWSON G.H.K. et MC CONNELL I. : Monoclonal antibodies to intracellular *Campylobacter*-like organisms of the porcine proliferative enteropathies. *Veterinary Record*, 1987, **121**, 421-422.
96. MC ORIST S. et GEBHART C.J. : In vitro testing of antimicrobial agents for proliferative enteropathy (ileitis). *Swine health and production*, 1995, **3 (4)**, 146-150.

97. MC ORIST S., GEBHART C.J., BOID R. et BARNES S.M. : Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov., sp. nov., the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. International Journal of Systematic Bacteriology, 1995, **45**, 820-825.
98. MC ORIST S., GEBHART C.J. et LAWSON G.H.K.: The etiology of porcine proliferative enteropathy (ileitis). Proceedings of the 13th International Pig Veterinary Society Congress, 1994, 155.
99. MC ORIST S., GEBHART C.J. et LAWSON G.H.K. : Polymerase chain reaction for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. Veterinary Microbiology, 1994, **41**, 205-212.
100. MC ORIST S., GEBHART C.J. et LAWSON G.H.K. : Enterocyte proliferation and intracellular bacteria in animals. Gut, 1994, **35**, 1483-1486.
101. MC ORIST S., JASNI S., MACKIE R.A.M., BERSCHNEIDER H.M., ROWLAND A.C. et LAWSON G.H.K. : Entry of the bacterium ileal symbiont intracellularis into cultured enterocytes and its subsequent release. Research in Veterinary Science, 1995, **59**, 255-260.
102. MC ORIST S., JASNI S., MACKIE R.A., MAC INTYRE N., NEEF N. et LAWSON G.H.K. : Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiont intracellularis. Infection and Immunity, 1993, **61**, 4286-4292.
103. MC ORIST S. et LAWSON G.H.K. : Possible relationship of proliferative enteritis in pigs and hamsters. Veterinary Microbiology, 1987, **15**, 293-302.
104. MC ORIST S. et LAWSON G.H.K. : Reproduction of proliferative enteritis in gnotobiotic pigs. Research in Veterinary Science, 1989, **46**, 27-33.
105. MC ORIST S. et LAWSON G.H.K. : Proliferative enteropathies : *Campylobacter* species in the faeces of normal and contact pigs. Veterinary Record, 1989, **124**, 41.
106. MC ORIST S. et LAWSON G.H.K. : L'entéropathie porcine proliférative. Rec. Med. Vet., 1993, **169**, 697-702.
107. MC ORIST S., LAWSON G.H.K., ROY D.J. et BOID R. : DNA analysis of intracellular *Campylobacter*-like organisms associated with the porcine proliferative enteropathies : novel organism proposed. FEMS Microbiology Letters, 1990, **69**, 189-194.
108. MC ORIST S., MAC INTYRE N., STROKES C.R. et LAWSON G.H.K. : Immunocytological responses in porcine proliferative enteropathies. Infection and Immunity, 1992, **60**, 4184-4191.

109. MC ORIST S., MACKIE R.A. et LAWSON G.H.K.: Antimicrobial susceptibility of ileal symbiont intracellularis isolated from pigs with proliferative enteropathy. Journal of Clinical Microbiology, 1995, **33**, 1314-1317.
110. MC ORIST S., MACKIE R.A., LAWSON G.H.K. et SMITH D.G. : In vitro interactions of *Lawsonia intracellularis* with cultured enterocytes. Veterinary Microbiology, 1997, **54 (3-4)**, 385-392.
111. MC ORIST S., MACKIE R.A., NEEF N., AITKEN I. et LAWSON G.H.K. : Synergism of ileal symbiont intracellularis and gut bacteria in the reproduction of porcine proliferative enteropathy. Veterinary Record, 1994, **134**, 331-332.
112. MC ORIST S. et MORGAN J. : An evaluation of chlortetracycline feed additive for control of porcine proliferative enteropathy. Proceedings of the 15th International Pig Veterinary Society, 1998, **3**, 111.
113. MC ORIST S., MORGAN J.H., RIPLEY P. et BURCH D.G.S. : In-vitro and in-life studies of efficacy of valnemulin for proliferative enteropathy. Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 15th Congress, 1998, **3**, 114.
114. MC ORIST S., MORGAN J., VEENHUIZEN M.F., LAWRENCE K. et KROGER H.W. : Oral administration of tylosin phosphate for treatment and prevention of proliferative enteropathy in pigs. American Journal of Veterinary Research, 1997, **58 (2)**, 136-139.
115. MC ORIST S., MULLER WAGER A., KRATZER D. et SJOSTEN C.G. : Therapeutic efficacy of water-soluble lincomycin-spectinomycin powder against porcine proliferation enteropathy in a European field study. Veterinary Record, 2000, **146 (3)**, 61-65.
116. MC ORIST S., ROBERTS L., JASNI S., ROWLAND A.C., LAWSON G.H.K., GEBHART C.J. et BOSWORTH B. : Developed and resolving lesions in porcine proliferative enteropathy : possible pathogenetic mechanisms. J. Comp. Pathol., 1996, **115 (1)**, 35-45.
117. MC ORIST S., SHEARN M.F.M. et MORGAN J. : Control of porcine proliferative enteropathy by oral administration of chlortetracycline. Veterinary Record, 1999, **144**, 48-49.
118. MC ORIST S., SMITH S.H. et GREEN L.E. : Estimate of direct financial losses due to porcine proliferative enteropathy. Veterinary Record, 1997, **140**, 579-581.
119. MC ORIST S., SMITH S.H., SHEARN M.F.M., CARR M.M. et MILLER D.J. : Treatment and prevention of porcine proliferative enteropathy with oral tiamulin. Veterinary Record, 1996, **139 (25)**, 615-618.

120. MOLLER K., JENSEN T.K. et JORSAL S.E. : Detection of *Lawsonia intracellularis* in endemically infected pig herds. Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 15th Congress, 1998, **2**, 63.
121. MURRAY R.G.E et STACKEBRANDT E.: Taxonomic note : implementation of the provisional status *Candidatus* for incompletely described procaryotes. International Journal of Systematic Bacteriology, 1995, **45**, 186-187.
122. MUTO T., NOGUCHI Y., SUZUKI K. et ZAW K.M. : Adenomatous intestinal hyperplasia in guinea pigs associated with *Campylobacter*-like bacteria. Japanese Journal of Medical Science and Biology, 1983, **36**, 337-342.
123. OLSEN G.J., LARSEN N. et WOESE C.R. : The ribosomal RNA database project. Nucleic Acids Res., 1991, **19**, 2017-2021.
124. ONTARIO Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. (Page consultée le 26 octobre 2000). Strategies for Ileitis Control, [en ligne]. Adresse URL : http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/livestock/swine/facts/info_hh_ilitis.htm
125. PEACE T.A., BROCK K.V. et STILLS H.F.: Comparative analysis of the 16S rRNA gene sequence of the putative agent of proliferative ileitis of hamsters. International Journal of Systematic Bacteriology, 1994, **44**, 832-835.
126. PEJSAK Z. (2002, 21 janvier). The prevalence of *Lawsonia intracellularis* in swine herds in Poland, [courrier électronique à Christophe Gallon], [en ligne]. Adresse par courrier électronique : christophe.gallon2@freesbee.fr
127. ROBERTS L., ROWLAND A.C. et LAWSON G.H.K. : Experimental reproduction of porcine intestinal adenomatosis and necrotic enteritis. Veterinary Record, 1977, **100**, 12-13.
128. ROBERTS L., ROWLAND A.C. et LAWSON G.H.K. : Porcine intestinal adenomatosis : epithelial dysplasia and infiltration. Gut, 1980, **21**, 1035-1040.
129. ROWLAND A.C. et HUTCHINGS D.A. : Necrotic enteritis and regional ileitis in pigs at slaughter. Veterinary Record, 1978, **103**, 338-339.
130. ROWLAND A.C. et LAWSON G.H.K. : Intestinal adenomatosis in the pig : immunofluorescent and electron microscopic studies. Research in Veterinary Science, 1974, **17**, 323-330.
131. ROWLAND A.C. et LAWSON G.H.K. : Porcine intestinal adenomatosis : a possible relationship with necrotic enteritis, regional enteritis and proliferative haemorrhagic enteropathy. Veterinary Record, 1975, **97**, 178-180.
132. ROWLAND A.C., LAWSON G.H.K. et MAXWELL A. : Intestinal adenomatosis in the pig : occurrence of a bacterium in affected cells. Nature, 1973, **243**, 417.

133. ROWLAND A.C. et ROWNTREE P.G.M. : A haemorrhagic bowel syndrome associated with intestinal adenomatosis in the pig. *Veterinary Record*, 1972, **91**, 235-241.
134. SAPICO F.L., REEVES D., WEXLER H.M., DUNCAN J., WILSON K.H. et FINEGOLD S.M. : Preliminary study using species-specific oligonucleotide probe for rRNA of *Bilophila wadsworthia*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1994, **32**, 2510-2513.
135. SCHAUER D.B., MC CATHEY S.N., DAPT B.M., JHA S.S., TATTERSON L.E., TAYLOR N.S. et FOX J.G. : Proliferative enterocolitis associated with dual infection with enteropathogenic *Escherichia coli* and *Lawsonia intracellularis* in rabbits. *Journal of Clinical Microbiology*, 1998, **36 (6)**, 1700-1703.
136. SCHOEB T.R. et FOX J.G. : Enterocolitis associated with intraepithelial *Campylobacter*-like bacteria in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinary Pathology*, 1990, **27**, 73-80.
137. SCHWARTZ K., WALTER D., KNITTEL J., ROOF M. et ANDERSON M. : Pathogenesis of proliferative enteropathy infection and its control with antimicrobial feed medication. *Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 15th Congress*, 1998, **3**, 116.
138. SMITH S.H. et MC ORIST S. : Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Research in Veterinary Science*, 1997, **62 (1)**, 6-10.
- 139 . SMITH S.H., MC ORIST S. et GREEN L.E. : Questionnaire survey of proliferative enteropathy on British pig farms. *Veterinary Record*, 1998, **142**, 690-693.
140. SMITH D.G., MITCHELL S.C., NASH T. et RHIND S. : Gamma interferon influences intestinal epithelial hyperplasia caused by *Lawsonia intracellularis* infection in mice. *Infection and Immunity*, 2000, **68 (12)**, 6737-6743.
141. STEGE H., JENSEN T.K., MOLLER K., BAEKBO P. et JORSAL S.E. : Prevalence of intestinal pathogens in danish finishing pig herds. *Prev. Vet. Med.*, 2000, **46 (4)**, 279-292.
142. STILLS H.F. : Isolation of an intracellular bacterium from hamster (*Mesocricetus auratus*) with proliferative ileitis and reproduction of the disease with a pure culture. *Infection and Immunity*, 1991, **59**, 3227-3236.
143. STILLS H.F., HOOK R.R. et SPROUSE R.F. : Utilization of monoclonal antibodies to evaluate the involvement of *Campylobacter jejuni* in proliferative ileitis in Syrian hamsters. *Infection and Immunity*, 1987, **55**, 2240-2246.

144. TSINAS A.C, KYRIAKIS S.C., BOURTZI-CHATZOPOULOU E., ARSENAKIS M., SARRIS K., PAPASTERIADES A. et LEKKAS S. : Control of Porcine Proliferative Enteropathy by in-feed application of Origanum essential oils. Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 15th Congress, 1998, **3**, 106.
145. UMEMURA T., TSUCHITANI M., TOTSUKA M., NARAMA I. et YAMASHIRO S. : Histiocytic enteritis of rabbits. Veterinary Pathology, 1982, **19**, 326-328.
146. VANDAËLE E. : Nouvelle pleuromutiline, la valnémuline est "l'arme antispirochète" en France. Dans : La semaine vétérinaire des filières, 11 décembre 1999, 956, 2-3.
147. VEENHUIZEN M.F., ELAM T.E. et SOENNKSEN N. : The potential economic impact of porcine proliferative enteropathy on the US swine industry. Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 15th Congress, 1998, **2**, 64.
148. WADDILOVE Jake. (2000, 26 octobre). Controlling the costs of Ileitis [courrier électronique à Christophe Gallon], [en ligne]. Adresse par courrier électronique : christophe.gallon2@freesbee.fr
149. WAGNER J.E., OWENS D.R. et TROUTT H.F. : Proliferative ileitis of hamsters : electron microscopy of bacteria in cells. American Journal of Veterinary Research, 1973, **34**, 249-252.
150. WALTER D., KNITTEL J., SCHWARTZ K. et al. : Effectiveness of tiamulin in the drinking water for treatment and control of porcine proliferative enteropathy (ileitis) due to *Lawsonia intracellularis* infection. Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 2000, **16**, 31.
151. WILLIAMS N.M., HARRISSON L.R. et GEBHART C.J. : Proliferative enteropathy in a foal caused by *Lawsonia intracellularis*-like bacterium. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 1996, **8**, 254-256.
152. ZHANG P., GEBHART C.J., BURDEN D. et DUHAMEL G.E. : Improved diagnosis of porcine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis* using polymerase chain reaction-enzyme-linked oligosorbent assay (PCR-ELOSA). Mol. Cell. Probes, 2000, **14** (2), 101-108.

Toulouse, 2002

NOM : GALLON

PRENOM : Christophe

TITRE : Contribution à l'étude de *Lawsonia intracellularis* : son importance en médecine vétérinaire.

RESUME :

Les entéropathies prolifératives représentent actuellement une dominante pathologique du porc. Connues depuis longtemps, leur étiologie est restée mystérieuse pendant de nombreuses années et ce n'est que récemment, en 1995, que de nouvelles bactéries ont pu être identifiées et nommées *Lawsonia intracellularis*. Les pertes économiques dans la filière porcine occasionnées par les retards de croissance que la bactérie engendre et la réceptivité de celle-ci chez de nombreuses espèces animales motivent cette étude. L'auteur rassemble, dans cette thèse, les connaissances concernant *Lawsonia intracellularis* dont l'importance est croissante en médecine vétérinaire.

Cette bactérie intracellulaire, parasite obligatoire, affecte de nombreuses espèces et plus particulièrement le porc et le hamster. Son mode de transmission oro-fécal la rend très contagieuse. L'entérite proliférative, consécutive à un envahissement de l'iléon par la bactérie associé à une hyperplasie intestinale, est à l'origine d'une baisse des performances voire d'une mortalité des animaux.

Les connaissances sur sa pathogénie et son épidémiologie, encore à l'état embryonnaire, rendent son diagnostic et son éradication difficiles. Cette étude énumère les divers moyens de lutte ainsi que les nouvelles voies de la recherche, notamment au niveau vaccinal.

MOTS-CLES : LAWSONIA INTRACELLULARIS – ENTEROPATHIES PROLIFERATIVES – PORC – HAMSTER

ENGLISH TITLE : Study of *Lawsonia intracellularis* : the bacteria's importance in the veterinary medicine.

ABSTRACT :

The proliferative enteropathies are a major disease of the pigs. Known since a long time, their aetiological agent has remained mysterious for many years. A new bacterium has been identified in 1995 and named *Lawsonia intracellularis*. The economical losses suffered by the pig industry due to a poor growth and the bacterium's receptivity in many species justify this study. The author collect, in this thesis, the knowledge about *Lawsonia intracellularis*, the importance of which increase in the veterinary medicine.

This intracellular bacterium, an obligate parasite, touch many species, in particular pigs and hamsters. The orally transmission from the feces make bacteria very infectious. The bacteria invade ileum of pigs. The enteritis leads to low performances and mortality sometimes.

The knowledge on bacteria's pathogenesis and epidemiology, still rudimentary, make diagnosis and eradication harder. This study list the actula means of fought and the new way of research, in particular the vaccines.

KEY WORDS : LAWSONIA INTRACELLULARIS – PROLIFERATIVE ENTEROPATHIES – PIG - HAMSTER