

Résumé de thèse de doctorat

Utilisation du biomonitoring de la toux chez le porc pour l'évaluation et la gestion de l'antibiothérapie des bronchopneumonies

Use of cough biomonitoring in pigs for the assessment and management of bronchopneumonia antibiotherapy

CANDIDAT : **David Halloy**

PROMOTEUR : **Professeur P. Gustin**

Département et Service

Département des Sciences fonctionnelles, Service de Pharmacologie, Pharmacothérapie et de Toxicologie, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Belgique

Date de la défense publique : 24 juin 2005

Composition du Jury

• MEMBRES EXTÉRIEURS À LA FACULTÉ :

Professeur G. Martineau, ENVT, France

Professeur P. Reinhold, BFAV, Allemagne

• MEMBRES INTERNES À LA FACULTÉ DE MÉDECINE VÉTÉRINAIRE :

Professeur L. Istasse, Professeur F. Rollin, Docteur D. Desmecht, Docteur N. Kirschvink, Docteur M. Vandenheede

DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

Les bronchopneumonies porcines engendrent peu de signes cliniques observables lorsqu'elles passent dans leurs phases subaiguës et chroniques. C'est pourquoi elles restent actuellement sous diagnostiquées. L'intensification des élevages et la réduction importante du temps consacré à l'observation des animaux permettent à ceux-ci d'arriver à l'abattoir avec des lésions respiratoires étendues ce qui engendre des pertes économiques énormes (Morris *et al.*, 1995) et qui altère le bien-être des animaux. Dans ces circonstances, le biomonitoring des signes cliniques pourrait contribuer à une meilleure gestion des pathologies respiratoires.

Pour débiter nos travaux, nous avons cherché à étoffer la gamme des paramètres classiquement utilisés pour quantifier l'impact des pneumopathies chez le porcelet, le plus souvent, au moment de leur autopsie. Cependant, aucune technique de mesure non-invasive des altérations respiratoires n'était disponible. Nous avons donc adapté la pléthysmographie corporelle barométrique à cette espèce. La technique est validée chez la souris et permet de mesurer, sans avoir recourt à des manipulations stressantes, des paramètres dérivés de l'analyse du « pattern » respiratoire (Hamelmann *et al.*, 1997). Ces paramètres sont utilisés pour mesurer un index appelé Penh dont l'évolution est parallèle à la résistance pulmonaire totale lors d'une nébulisation d'agents bronchoconstricteurs (Hamelmann *et al.*, 1997).

Dans le but de reproduire un modèle de bronchopneumonie subaiguë exsudative faisant intervenir un pathogène fréquemment isolé chez le porc et pour étudier les interactions existantes entre des polluants environnementaux et une infection respiratoire, les animaux ont été exposés soit à des endotoxines d'*E. coli* soit à la fumonisine B1 (FB₁) avant d'être inoculés avec *Pasteurella multocida*. Les endotoxines se retrouvent dans les poussières des bâtiments d'élevage (Rylander, 2002) et sont capables d'engendrer une puissante réaction inflammatoire caractérisée par une diminution de la clairance mucociliaire et par une augmentation de la perméabilité épithéliale (Hosoe *et al.*, 1998; Li *et al.*, 1998). La fumonisine B1 est une mycotoxine contaminant la nourriture et qui possède, à forte concentration, une toxicité pulmonaire

et hépatique aiguë. A plus faible concentration, cette mycotoxine altère les défenses immunitaires (Norred, 1993).

L'association des endotoxines et de *P. multocida* nous a permis de reproduire, de façon acceptable, une bronchopneumonie caractérisée par une symptomatologie discrète. Ce modèle a donc été retenu pour déterminer l'intérêt du biomonitoring des signes cliniques au cours de la maladie. Concrètement, la fréquence de la toux et la température corporelle ont été mesurées de manière à déterminer si l'un de ces symptômes pouvait être utilisé comme un indicateur de l'évolution et de l'intensité de la maladie. Pour répondre à cette question, ces symptômes ont été mis en relation avec des paramètres permettant de quantifier et de caractériser l'impact de la bronchopneumonie sur l'état fonctionnel et lésionnel du tractus respiratoire et sur les performances zootechniques des individus.

Enfin, la fréquence de la toux a été utilisée pour déterminer le début d'un traitement antibiotique (ceftiofur). Nous avons voulu vérifier si la précocité de la détection de la maladie était suffisante pour instaurer une antibiothérapie adéquate et si le suivi de la toux permettait d'évaluer l'efficacité de ce traitement. L'intérêt de l'association d'un anti-inflammatoire non stéroïdien (flunixin) avec un antibiotique a également été envisagé.

RÉSULTATS

La mesure de la Penh nous a permis de détecter un bronchospasme engendré par des doses croissantes d'acétylcholine et d'établir une courbe dose-réponse pouvant être inhibée par une administration préalable d'un agent bronchodilatateur (clenbutérol). Pour tester l'hypothèse d'une relation entre l'élévation de la valeur de la Penh et un rétrécissement de la lumière bronchique, la Penh et des paramètres de la mécanique ventilatoire ont été mesurées simultanément chez des animaux anesthésiés et soumis à une administration intraveineuse de métacholine (Mch). Il est apparu que la Penh était significativement corrélée avec la résistance pulmonaire totale et à la compliance dynamique. Afin d'évaluer l'intérêt de la mesure de la Penh en situation pathologique, ces paramètres ont également été observés au cours d'une bronchopneumonie

aiguë engendrée par une instillation d'endotoxines. L'élévation des valeurs de la Penh était très nette et des corrélations similaires à celles obtenues lors de l'administration intraveineuse de Mch ont été obtenues. Une corrélation positive et significative a également été trouvée entre les valeurs de la Penh et la quantité de cellules inflammatoires présentes dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (BALF) des animaux malades.

Pour étudier les interactions potentielles existant entre les endotoxines et l'infection à *P. multocida*, plusieurs doses d'endotoxines d'*E. coli* ont été administrées seules ou préalablement à l'inoculation de la bactérie. Trois doses d'endotoxines ont été testées : 10, 100 et 400 µg par kg de poids vif. Les doses inférieures à 400 µg/kg testées ont uniquement engendré une réduction significative du gain quotidien moyen et une pneumonie interstitielle subaiguë peu étendue. A la dose de 400 µg/kg, la pneumonie était plus sévère et se caractérisait par de l'hyperthermie, une augmentation croissante de la Penh, un afflux de macrophages dans le BALF et par une réduction du gain quotidien moyen. Les résultats obtenus en combinant l'administration d'endotoxines et l'inoculation de *P. multocida* variaient selon la dose d'endotoxines utilisée. En employant de 10 et 100 µg/kg d'endotoxines, nous avons observés une réduction du gain quotidien moyen, une augmentation de la Penh et un afflux de cellules inflammatoires dans le BALF. Toutefois, l'intensité du phénomène inflammatoire obtenu était plus sévère en utilisant 100 µg/kg. De même, les lésions de bronchopneumonie étaient plus étendues et s'accompagnaient d'exsudats alvéolaires et bronchiques de nature subaiguë. Ces dernières n'étaient associées à aucune bactérie pathogène. A l'inverse de l'ensemble des autres individus, les animaux instillés avec la dose de 400 µg/kg et inoculés avec *P. multocida* ont présenté de la toux, une hyperthermie, une réduction sévère du gain quotidien moyen, une élévation majeure de la Penh et une augmentation constante du nombre de macrophages, de neutrophiles et de lymphocytes dans le BALF. La majorité du volume pulmonaire était entrepris par des lésions de bronchopneumonie exsudative subaiguë. Chez certains porcelets, ces lésions s'étendaient à la plèvre ainsi qu'au péricarde. *Bordetella bronchiseptica* a été irrégulièrement isolé de ces lésions

mais aucun des échantillons (BALF, poumon) collectés ne contenait *P. multocida*. Cette caractéristique troublante de notre modèle a été confirmée à l'aide d'une technique PCR.

Dans le cadre de la recherche d'un modèle expérimental de bronchopneumonie subaiguë, l'intérêt d'utiliser la FB₁ pour sensibiliser le système respiratoire à l'action de *P. multocida* a été exploré. Pour se rapprocher des conditions de terrain, les animaux ont été gavés durant 7 jours avec une faible dose de FB₁ (0,5 mg/kg/jour). L'exposition des animaux à cette concentration a provoqué une augmentation significative du taux de neutrophiles dans le BALF et une élévation de la synthèse de certaines cytokines inflammatoires (IL-8, IL-18 et IFN-γ). Lorsque l'inoculation de *P. multocida* a été réalisée, ces animaux ont présenté une hyperthermie, de la toux et une absence de gain de poids. L'inflammation pulmonaire faisant intervenir des macrophages et des lymphocytes dans le BALF ainsi qu'une augmentation de la synthèse de TNF-α, d'IFN-γ et d'IL-18. Des lésions étendues de pneumonie interstitielle subaiguë d'intensité modérée ont également été mesurées. Aucune contamination bactérienne n'a été observée.

Pour tenter de détecter précocement une bronchopneumonie sur base de la toux et de la température corporelle, nous avons quantifiés les signes cliniques accompagnant le modèle faisant intervenir les endotoxines et *P. multocida*. Au cours de cette expérience, ces signes cliniques ont évolué parallèlement à l'intensité du processus inflammatoire et à l'étendue des lésions pulmonaires. De plus, ces paramètres sont très rapidement devenus prédictifs de la quantité de cellules inflammatoires retrouvées dans le BALF et du volume lésionnel. En effet, les premières corrélations significatives apparaissent dès le 1^{er} jour suivant l'inoculation de *P. multocida*. Un seuil permettant de détecter précocement les porcelets malades au sein de différents lots d'animaux a également été défini. Ce dernier nous a permis de discerner les lots d'animaux présentant des lésions de bronchopneumonies des animaux sains et ce durant les 2 jours suivant l'inoculation à *P. multocida*. Au cours de cette étude, une corrélation significative entre la Penh et le volume des lésions respiratoires a également été trouvée.

Sur base de ces résultats, des traitements à base de ceftiofur accompagné ou non de flunixin ont été démarrés précocement. L'utilisation de ceftiofur a permis d'éviter la réduction du gain quotidien moyen, d'enrayer complètement la toux et de ramener simultanément la température à des valeurs normales. Aucune modification de la Penh n'a été observée chez les animaux traités. Des lésions résiduelles de pneumonie interstitielle subaiguë de faible intensité et de volume restreint ont été observées chez les animaux traités. L'utilisation de l'association ceftiofur-flunixin a donné des résultats similaires. Néanmoins, cette association a permis d'éviter le développement des lésions pulmonaires chez un individu sur 5. Aucune bactérie pathogène n'a été isolée des lésions observées.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La pléthysmographie corporelle barométrique est une méthode non invasive qui s'adapte parfaitement au caractère stressé du porc et autorise la répétition de la mesure de la Penh sur des animaux libres de leurs mouvements. La Penh est un index permettant de quantifier les variations du pattern respiratoire accompagnant l'administration de substances cholinergiques, l'inflammation pulmonaire aiguë provoquée par des endotoxines ou une bronchopneumonie subaiguë exsudative engendrée par une administration successive d'endotoxines et de *Pasteurella multocida*. En accord avec des études réalisées chez la souris et cobaye, l'évolution de cet index était parallèle à celle de la résistance pulmonaire totale et de la compliance dynamique survenant dans les mêmes circonstances (Hamelmann *et al.*, 1997 ; Bergren, 2001). De ce point de vue, la Penh a donc une valeur prédictive vis-à-vis des altérations fonctionnelles du système respiratoire. Cependant, cette technique ne permet pas de les identifier et doit être considérée comme une méthode de screening permettant le suivi d'un processus pathologique chez un individu. La corrélation entre la Penh et les paramètres cytologiques mesurés dans le BALF et le volume des lésions renforce l'intérêt de la pléthysmographie barométrique comme outil de screening.

Un modèle expérimental basé sur une

synergie entre les endotoxines d'*E. coli* et *Pasteurella multocida* a été développé. La bronchopneumonie subaiguë exsudative ainsi induite s'est caractérisée par : une diminution du gain quotidien moyen ; de la toux et une hyperthermie modérée ; une augmentation de la Penh ; un afflux de macrophages, de neutrophiles et de lymphocytes dans les voies aériennes et des lésions respiratoires étendues parfois accompagnées de pleurésie et de péricardite. Il est apparu que l'intensité de cette action synergique dépend directement de la dose d'endotoxines préalablement administrée. Néanmoins, le phénomène inflammatoire observé n'est pas dépendant de la colonisation du système respiratoire par la bactérie qui semble être rapidement éliminée du poumon. Le mécanisme par lequel *Pasteurella multocida* intervient dans notre modèle n'a pas été identifié. Cependant, l'inhibition de la clairance muco-ciliaire et l'augmentation de la perméabilité épithéliale classiquement provoquées par les endotoxines pourraient retarder l'élimination de la bactérie du tractus respiratoire et favoriser son action pathogène (Hosoe *et al.*, 1998 ; Li *et al.*, 1998). Il semble donc que le phénomène inflammatoire soit surtout lié à la dose d'endotoxines administrée et que l'inoculation de *Pasteurella multocida* joue le rôle de compliquant. Les concentrations en LPS rencontrées dans l'air des bâtiments d'élevage sont très inférieures à celles utilisées dans notre étude (Carson, 1992 ; Omland, 2002 ; Rylander, 2002). Ceci suggère que l'impact pulmonaire des endotoxines n'aurait qu'un intérêt limité sur le plan clinique. Toutefois, ces substances permettent la reproduction expérimentale d'un modèle de bronchopneumonie tout en évitant les aléas liés à la combinaison de plusieurs agents biologiques. De ce point de vue, ce modèle témoigne de l'existence d'une sensibilisation du système respiratoire suite à l'exposition à des agents biologiques. Rappelons enfin que la dose la plus petite testée dans notre étude s'est soldée par l'apparition d'effets synergiques sur le plan respiratoire ne permettant pas d'exclure d'interaction à des doses plus faibles encore. Les résultats apportés par notre étude ne permettent donc pas de trancher définitivement cette question en tenant compte des interactions multiples pouvant être envisagées entre les endotoxines et les nombreux agents biologiques susceptibles d'en-

gendrer des pathologies respiratoires chez le porc.

Après l'étude de la synergie entre les endotoxines administrées par la voie aérogène et *Pasteurella multocida*, nous nous sommes interrogés sur l'effet d'une intoxication par la voie orale sur l'action pathogène de la bactérie. Pour ce faire, nous avons utilisé la FB₁. Il nous est apparu qu'une faible concentration en FB₁ présente dans l'alimentation des porcs a prédisposé les animaux à un phénomène inflammatoire pulmonaire caractérisé par un afflux de neutrophiles dans les voies aériennes et par la production d'IL-8, d'IL-18 et d'IFN- γ . La neutrophilie observée dans le BALF coïncide avec l'augmentation de l'expression de l'IL-8. En effet, cette cytokine est reconnue pour être un facteur chimiotactique participant au recrutement des neutrophiles sur le site inflammatoire (Baggiolini *et al.*, 1994 ; Lin *et al.*, 1994 ; Gangur *et al.*, 2002). Le pattern de production des cytokines observé au niveau pulmonaire chez les porcelets traités à la FB₁ est semblable à celui décrit dans le foie des souris (Bhandari *et al.*, 2002) où une activation des cytokines (TNF- α , IL-1a, IL-1b, antagoniste du récepteur IL-1 (IL-1Ra), IL-6, IL-10, IL-12 p40, IL-18 et IFN γ) a été notée. Plusieurs études indiquent que les mycotoxines pourraient augmenter la susceptibilité des animaux aux pathologies infectieuses (Tai *et al.*, 1988 ; Fukata *et al.*, 1996 ; Oswald *et al.*, 1998 ; Marin *et al.*, 2002 ; Oswald *et al.*, 2003). En ce qui concerne la FB₁, elle augmente la colonisation du système digestif par une souche pathogène d'*E. coli* (Oswald *et al.*, 2003) et diminue la clearance de *Pseudomonas aeruginosa* après une inoculation intraveineuse (Smith *et al.*, 1996). L'inoculation des animaux intoxiqués avec *P. multocida* a aggravé le processus qui se manifestait alors par un appel de macrophages et de lymphocytes et par une synthèse de TNF- α , d'IL-18 et d'IFN- γ . Cette pathologie s'accompagnait d'une faible toux et d'une diminution du gain quotidien moyen mais aucune lésion spécifique de l'infection à *P. multocida* n'a été mesurée. La colonisation du poumon par *P. multocida* ne constituait pas une étape nécessaire à l'induction du processus inflammatoire. Etant donné les concentrations élevées de FB₁ retrouvées dans l'alimentation des animaux et dans les denrées alimentaires humaines (Scudamore *et al.*,

1990; Murphy *et al.*, 1993; Shephard *et al.*, 1996), des études supplémentaires sont nécessaires pour identifier les mécanismes impliqués dans l'action synergique existant entre cette mycotoxine et les bactéries responsables de pathologies respiratoires.

Disposant d'un modèle expérimental reproductible de bronchopneumonie sub-aiguë, nous avons décidé d'étudier les caractéristiques symptomatiques accompagnant le modèle faisant intervenir les endotoxines et *P. multocida*. Il apparaît que la température et la toux peuvent être employées comme des indicateurs de l'intensité et de l'évolution de la réaction inflammatoire et des changements fonctionnels accompagnant la maladie. Cependant, seule la toux permet d'évaluer l'importance de la réduction du gain quotidien moyen. Pour envisager une détection précoce des groupes de porcelets atteints de bronchopneumonie, nous avons focalisé notre étude sur la mesure de la toux étant donné l'impossibilité pratique

de réaliser une mesure individuelle de la température dans les conditions de terrain. Grâce à la quantification de la toux, nous avons pu détecter précocement des groupes d'animaux malades présentant peu d'autres symptômes cliniques. Cette observation nous a permis d'initier rapidement des traitements curatifs. Dès lors, l'administration de ceftiofur améliore les performances zootechniques et diminue la sévérité des lésions respiratoires. Enfin, l'utilisation simultanée de flunixin bien que susceptible de favoriser la régression des lésions n'a pas montré d'avantage majeur par rapport à l'antibiothérapie seule. L'efficacité de ces traitements était également illustrée par l'arrêt de l'expression de la toux. Par conséquent, le suivi de la toux permet d'évaluer l'efficacité des médicaments utilisés.

A l'avenir, le développement d'une technique de mesure automatisée de la toux devrait permettre d'assurer le suivi du statut respiratoire des animaux dans les élevages intensifs et

de détecter précocement des bronchopneumonies en vue d'instaurer des traitements antibiotiques (Van Hirtum *et al.*, 2002a ; 2002b). L'optimisation de l'efficacité de ces traitements obtenue par une administration précoce pourrait permettre de diminuer l'importance des pertes économiques liées aux pathologies respiratoires porcines et de diminuer la quantité d'antibiotiques nécessaire pour contrôler ces pathologies.

REMERCIEMENTS

Nos recherches ont été subsidiées par la DGVI du Ministère de Classes moyennes et de l'Agriculture.

RÉFÉRENCES

- BAGGIOLINI M., DEWALD B., MOSER B. Interleukin-8 and related chemotactic cytokines--CXC and CC chemokines. *Adv. Immunol.*, 1994, **55**, 97-179.
- BERGREN D. R. Chronic tobacco smoke exposure increases airway sensitivity to capsaicin in awake guinea pigs. *J. Appl. Physiol.*, 2001, **90**, 695-704.
- BHANDARI N., BROWN C.C., SHARMA R.P. Fumonisin B1-induced localized activation of cytokine network in mouse liver. *Food Chem. Toxicol.*, 2002, **40**, 1483-1491.
- CARSON T. Toxic minerals, chemicals, plants, and gases. 1992, Lemman, 777-790.
- FUKATA T., SASAI K., BABA E., ARAKAWA A. Effect of ochratoxin A on Salmonella typhimurium-challenged layer chickens. *Avian Dis.*, 1996, **40**, 924-926.
- GANGUR V., BIRMINGHAM N.P., THANESVORAKUL S. Chemokines in health and disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2002, **86**, 127-136.
- HAMELMANN E., SCHWARZE J., TAKEDA K., OSHIBA A., LARSEN G.L., IRVIN C.G., GELFAND E.W. Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. *Am. J. Respir. Crit Care Med.*, 1997, **156**, 766-775.
- HOSOE H., KAISE T., OHMORI K. Erdosteine enhances mucociliary clearance in rats with and without airway inflammation. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 1998, **40**, 165-171.
- LI X.Y., DONALDSON K., MACNEE W. Lipopolysaccharide-induced alveolar epithelial permeability: the role of nitric oxide. *Am. J. Respir. Crit Care Med.*, 1998, **157**, 1027-1033.
- LIN G., PEARSON A.E., SCAMURRA R.W., ZHOU Y., BAARSCH M.J., WEISS D.J., MURTAUGH M.P. Regulation of interleukin-8 expression in porcine alveolar macrophages by bacterial lipopolysaccharide. *J. Biol. Chem.*, 7-1-1994, **269**, 77-85.
- MARIN D.E., TARANU I., BUNACIU R.P., PASCALE F., TUDOR D.S., AVRAM N., SARCA M., CUREU I., CRISTE R.D., SUTA V., OSWALD I.P. Changes in performance, blood parameters, humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxin. *J. Anim Sci.*, 2002, **80**, 1250-1257.
- MORRIS C.R., GARDNER I.A., HIETALA S.K., AND CARPENTER T.E. Enzootic pneumonia: comparison of cough and lung lesions as predictors of weight gain in swine. *Can. J. Vet. Res.*, 1995, **59**, 197-204.
- MURPHY P.A., RICE L.G., ROSS P.F. Fumonisin B1, B2 and B3 content of Iowa, Wisconsin and Illinois corn and corn screening. *J. Agric. Food Chem.*, 1993, **41**, 263-266.

- NORRED W.P. Fumonisins--mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *J. Toxicol. Environ. Health*, 1993, **38**, 309-328.
- OMLAND O. Exposure and respiratory health in farming in temperate zones--a review of the literature. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 2002, **9**, 119-136.
- OSWALD I.P., COMERA C. Immunotoxicity of mycotoxins. *Rev. Med.Vet.*, 1998, **149**, 585-590.
- OSWALD I.P., DESAUTELS C., LAFFITTE J., FOURNOUT S., PERES S.Y., ODIN M., LE BARS P., LE BARS J., FAIRBROTHER J.M. Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, **69**, 5870-5874.
- Rylander R. Endotoxin in the environment : exposure and effects. *J. Endotoxin. Res.*, 2002, **8**, 241-252.
- SCUDAMORE K.A., NAWAZ S., HETMANSKI M.T. Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs: II. Determination of mycotoxins in maize and maize products. *Food Addit. Contam.*, 1990, **15**, 30-55.
- SHEPHARD G.S., THIEL P.G., STOCKENSTROM S., SYDENHAM, E.W. Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. *J. AOAC Int.*, 1996, **79**, 671-687.
- SMITH G.W., CONSTABLE P.D., SMITH A.R., BACON C.W., MEREDITH F.I., WOLLENBERG G.K., HASCHEK W.M. Effects of fumonisin-containing culture material on pulmonary clearance in swine. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, **57**, 1233-1248.
- TAI J.H., PESTKA J.J. Impaired murine resistance to *Salmonella typhimurium* following oral exposure to the trichothecene T-2 toxin. *Food Chem. Toxicol.*, 1988, **26**, 691-698.
- VAN HIRTUM A., BERCKMANS D. Assessing the sound of cough towards vocality. *Med. Eng Phys.*, 2002a, **24**, 535-540.
- VAN HIRTUM A., BERCKMANS D. Automated recognition of spontaneous versus voluntary cough. *Med. Eng Phys.*, 2002b, **24**, 541-545.

PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE

- HALLOY D.J., GUSTIN P.G., BOUHET S., OSWALD I. P. Dietary fumonisin predisposes piglets to the inflammation caused by *Pasteurella multocida*. Submitted for publication, 2004.
- HALLOY D.J., BOUHET S., OSWALD I. P., GORET-NICAISE M., KOBISCH M., MAINIL J., GUSTIN P. Pathophysiological changes occurring during *Escherichia coli* endotoxin and *Pasteurella multocida* challenge in piglets: relationship with cough and temperature and predictive value for intensity of lesions. *Vet. Res.*, 2004, in press.
- HALLOY D.J., CAMBIER C., GUSTIN P.G. Initiation of the treatment of bronchopneumonia in piglets based on cough monitoring: comparison of the efficacy of ceftiofur alone and combined to flunixin. Submitted for publication, 2004.
- HALLOY D.J., KIRSCHVINK N.A., VINCKE G.L., HAMOIR J.N., DELVAUX F.H., GUSTIN P.G. Whole body barometric plethysmography: a screening method to investigate airway reactivity and acute lung injuries in freely moving pigs. *Vet. J.*, 2004, in press.
- HALLOY D.J., KIRSCHVINK N.A., MAINIL J., GUSTIN P.G. Synergistic action of *E. Coli* endotoxin and *Pasteurella multocida* type a for the induction of bronchopneumonia in pigs. *Vet. J.*, 2005, **169**, 417-426.