

P2702

**POUVOIR PATHOGENE DE PASTEURELLA MULTOCIDA
POUR LE JEUNE PORC.
ESSAI DE REALISATION D'UN MODELE DE PNEUMONIE AIGUE EXPERIMENTALE**

*J.P. RAYNAUD (1), G. BRUNAUT (1), C. MAIRE (2), L. RENAULT (2)
et P. PERREAU (3) **

(1) Station de Recherche et Développement Vétérinaire et Nutrition Animale PFIZER INTERNATIONAL - 37400 Amboise

(2) Laboratoire Vétérinaire SANDERS S.A. - 17, Quai de l'Industrie - 91260 Juvisy-sur-Orge

(3) Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux - 10, rue Pierre Curie - 94700 Maisons-Alfort

Nous désirons réaliser au laboratoire un "modèle" de pathologie expérimentale, provoquer une pneumonie aiguë bactérienne pour :

- a) expérimenter de façon approfondie l'efficacité d'antibactériens et antibiotiques divers.
- b) rechercher les caractéristiques pharmacologiques d'antibiotiques sur l'animal malade. Aucun travail semblable n'existe chez le porc à notre connaissance, sauf WALLACE and WHITEHAIR (1965) qui analysent les taux sanguins de Chlortétracycline lorsque des animaux infectés de T.G.E. sont traités. Nous avons eu l'occasion de présenter la pharmacologie d'une Oxytétracycline chez le porc sain et normal (RAYNAUD et SENNELIER, 1975).

C'est donc une tentative de réalisation d'un "modèle" de pneumonie aiguë avec *Pasteurella multocida* que nous présentons ici.

MATERIEL ET METHODES :

- **Porcs** : Jeunes porcs sevrés de 7 à 8 semaines, issus d'une station SPF. Dans certains cas l'absence de contact antérieur avec *Pasteurella multocida* a été vérifiée par hémagglutination passive.

- ***Pasteurella multocida*** : 7 souches de type A isolées du poumon et/ou de la muqueuse nasale de porcs morts de pneumonie. Le type A est le plus répandu en France dans les affections respiratoires du porc (PERREAU et al. 1962).

Les souches ne sont pas entretenues par repiquages, mais une culture primaire est conservée congelée à -20°.

- ***Ascaris suum*** : souches issues de Pontes "P" d'*Ascaris in vitro*, qui donnent des œufs "nus" sans coque, ou de Matières Fécales "M.F.". Le pouvoir pathogène est estimé sur souris (RAYNAUD et al. 1975).

- **Lésions de pneumonie** enregistrées suivant le code proposé par BRASSINE et al., 1971. L'étendue des lésions est notée pour chaque lobe de chaque poumon (de 0 à 7), les notes sont additionnées et le total maximum est 45.

- **Enregistrement des données** : l'analyse clinique et pathologique se fait pour chaque semaine qui suit l'administration de *Pasteurella*.

- a) **Hyperthermie** : les températures supérieures (ou égales) à 40°5 sont notées et l'on compte la fréquence des temps d'hyperthermie sur le nombre de mesures (2 par jour).

- b) **Symptômes Respiratoires Graves (S.R.G.)** : la Dyspnée avec coup de flanc est enregistrée, on compte là aussi la fréquence des S.R.G. (2 observations/jour).

* Avec la collaboration technique de M. FOUASSE, F. GANSUANA, J. TAILLANT.

c) Bofteries, Arthrites - Ictère et Gain Moyen Quotidien (G.M.Q.)

- Nébulisation : Appareil BIRD - Réf. : 500 cc INLINE (R).

Il distribue des particules de $0,1 \mu$ à 3μ , d'où des particules de 1 à 3μ pour les Pasteurella (taille réelle 1μ). Suivant HATCH and GROSS 1964 page 63, la rétention intraalvéolaire de ces brouillards est de 80 % pour des particules de $0,4$ à $0,8 \mu$ - 40 % pour $1,2 \mu$ et de 20 % pour $2,8 \mu$.

RESULTATS

1/ Pouvoir pathogène de *P. multocida* injectée en intraveineuse chez le porc :

	HYPERTHERMIE $\geq 40^{\circ}5$			FIN = MORT ou SACRIFICE	SYMPT. RESPIR.	BOITERIE PARALYSIE	ICTERE A PARTIR DE	GAIN DE POIDS
	1 ^{er} sem.	2 ^{er} sem.	3 ^{er} sem.					
Pur = $4,6 \times 10^9$	1) Mort en 1 jour Septicémie 2) Mort en 4 jours Septicémie, lésions généralisées							
$10^{-1} =$ $4,6 \times 10^8$	61 %	50 %	13 %	M + 19 S + 21	Poumons sains	Paralysie Paralysie	+ 16 j.	0
$10^{-2} =$ $4,6 \times 10^7$	36 %	0	0	M + 18 S + 21	Poumons sains	Paralysie Paralysie	+ 5 j. 0	- +
$10^{-3} =$ $4,6 \times 10^6$	0	0	0		Pas	Boiterie 1 %	0	+
$10^{-4} =$ $4,6 \times 10^5$	0	0	0		Pas	0	0	+

Essai 3 octobre 1975 : 8 porcs de 17 kg. Injection de 1 ml en I.V. - Souche P 2193 : culture utilisée $4,6 \times 10^9$ germes par ml. 10 porcs : 2 porcs par dose - Résultats moyens.

Injectée en I.V., la Pasteurella est mortelle à une certaine dose ; elle tue l'animal avec des lésions septicémiques. L'infection se manifeste par une hyperthermie, l'absence de symptômes respiratoires (et de lésion du poumon) et les bofteries dues à une polyarthrite pouvant entraîner une paralysie. Dans ce cas on est en présence d'une forme septicémique, sans atteinte spécifique du poumon.

2/ Pouvoir pathogène de *P. multocida* injectée en Intraveineuse et Intratrachéale chez le porc :

Essai 7 novembre 1975 : 7 porcs de 17 kg.

- Sur tous : I.V. 2 ml, dose : 8×10^7 germes ;
- Sur 4 + I.T. de 10 ml (dose 4×10^{10}) ;
- Sur 3 + I.T. de 20 ml (8×10^{10}).

(On avait préalablement confirmé que le porc sain supporte sans ennui une I.T. de 40 à 50 ml de bouillon BH frais).

Résultats : tous les animaux sont morts en 1 à 2 jours de septicémie, sans lésion pulmonaire.

3/ Décision pour la réalisation d'un modèle de Pneumonie Aigüe Expérimentale :

P. multocida même administrée in situ ne se fixe pas au poumons et ne saurait développer une affection respiratoire. Ce germe est septicémique et pourrait être "fixé" au poumon par des germes ou parasites ayant

l'initiative de lésions spécifiques. D'où notre décision de provoquer ces lésions d'amorçage des affections respiratoires par *Ascaris suum* dont les larves migrent au travers du poumon.

4/ Pouvoir pathogène d'*Ascaris suum* seul chez le jeune porc.

Nous désirons provoquer des lésions importantes dans le poumon à partir desquelles la *Pasteurella* pourra se multiplier et jouer son rôle d'envahisseur secondaire (CARTER, 1970). Nous nous rapprochons donc du modèle de OSE et al. 1973. Un essai a été réalisé pour comparer le pouvoir pathogène de 2 souches d'*Ascaris*, l'une issue de Matières Fécales (22 M.F.), l'autre issue de Pontes (25 P.) et administrées à la même quantité : 160.000 œufs embryonnés pour des porcs de 20 kg de poids moyen. Le pouvoir pathogène de ces deux souches, estimé sur souris, était de 2,7 + pour la 22 M.F. et de 1,3 + pour la 25 P.

Résultats : fréquence des symptômes et G.M.Q.

	SOUCHE M.F. n° 22				SOUCHE P. n° 25			
	HYPER-THERMIE	SYMPTOMES RESPIRAT. GRAVES	TOUX	G.M.Q. (g)	HYPER-THERMIE	SYMPTOMES RESPIRAT. GRAVES	TOUX	G.M.Q. (g)
1 ^e sem.	14 %	21 %	14 %	-215	4 %	14 %	7 %	+ 107
2 ^e sem.	0	100 %	93 %	-179	0	100 %	82 %	+ 357
3 ^e sem.	0	100 %	11 %	+214	0	14 %	0	+ 250
4 ^e sem.	0	100 %	0	+607	0	0	0	+ 893
5 ^e sem.	0	32 %	0	+464	0	0	0	+ 750
GLOBAL				+ 179 (38%)				+ 471

Commentaires : Il y a des différences de pouvoir pathogène entre les souches, ce qui était déjà noté sur souris : 2,7 + pour MF n° 22 et 1,3 + pour P n° 25. Les symptômes caractéristiques sont la dyspnée grave, la toux et la perte de poids. Il y a peu ou pas d'hyperthermie.

5/ Modèle de Pneumonie aiguë avec *Ascaris Suum* et *P. Multocida* en nébulisation :

Essai du 9 avril 1975 : 17 porcs d'un poids moyen de 16,4.kg ont reçu :

100.000 œufs embryonnés d'*Ascaris suum* souche 20 P. Le même jour une injection I.M. de 2 mg/kg de Prednisolone retard (DEPOMEDROL). 8 jours après une nébulisation d'une suspension de *P. Multocida* pendant 20 mn.

La souche d'*Ascaris suum* 20 P avait donné + 1,8 de lésions pulmonaires en souris et, à la dose de 100.000 œufs embryonnés + 3,2 de lésions pulmonaires moyennes chez 5 porcs.

Résultats :

1°/ Animaux morts : 3 animaux sont morts, 8 jours en moyenne après la nébulisation de *Pasteurella*. (P + 8) : N° 322 mort à P + 5 jours, après avoir présenté 60 % de temps d'hyperthermie et de la Dyspnée grave avec coup de flanc à partir de P + 3. L'animal est mort amaigri, en détresse respiratoire. Lésions : Ictère - Poumon : 45/45 : bronchopneumonie aiguë avec forte réaction éosinophilique (*Pasteurellose* + *Ascaridose*). Dans les lésions, la *P. multocida* est retrouvé en moyenne à plus de 500.000 germes/g de tissu. N° 329 mort à P + 5, semblable, mais sur la bronchopneumonie aiguë étaient surimposées des zones purulentes. N° 333 mort à P + 14. Hyperthermie dans la semaine qui suivait la nébulisation (66 %) puis 0 ensuite. Polyarthrite, puis paralysie à partir de P + 3. Dyspnée grave à partir de P + 4. Lésions pulmonaires : 35/45 : bronchopneumonie aiguë avec foyers purulents. La *P. multocida* est retrouvée dans les abcès à plus de 500.000 germes/g.

2°/ Sur les animaux sacrifiés 16 jours après la nébulisation : 14 porcs.

Résultats moyens depuis la nébulisation : Hyperthermie : 1ère semaine 22 % , 2ème semaine 5 % - Symptômes respiratoires graves : 1ère semaine 45 % , 2ème semaine 30 % - Arthrites, Paralysies : sur 7 animaux

sur 14 (50 %), Arthrites graves à partir du 4ème jour - Ictères : sur 29 % des animaux (4/14), à partir du 6ème jour - G.M.Q. en 27 jours : 227 g/jour (1/14 a perdu du poids) - Lésions du poumon : 18,6 (maximum : 45).

Commentaires : Par rapport à l'affection provoquée par *Ascaris* seul, notre modèle avec *Pasteurella* en nébulisation apporte :

- des symptômes respiratoires graves avec forte réaction hyperthermique,
- des polyarthrites entraînant une paralysie pour 50 % des animaux et de l'ictère sur 29 % des animaux (comme dans l'affection à *Pasteurella* seule),
- un Gain Moyen Quotidien réduit,
- des lésions pulmonaires : Bronchopneumonie aigüe, où le spécialiste reconnaît aisément la *Pasteurellose* aigüe et l'*Ascarirose* larvaire.

Mais ce modèle présente des inconvénients car la nébulisation pose, dans nos conditions de travail, des problèmes de manipulation difficile à résoudre. Nébuliser avec des masques individuels les quelques 20-25 porcs qu'il nous faudrait pour réaliser un protocole, est assez délicat.

7/ Modèle de pneumonie aigüe avec *Ascaris* et *P. Multocida* en injection intratracheale :

Essai du 5 novembre 1975 : 15 porcs de 25 kg de poids moyen ont été infectés.

- *Ascaris* : souche MF. n° 22.

- *Pasteurella* en intratrachéale, 1,25 ml ou 5 ml et Q.S.P. 20 ml de bouillon sérum B.H. - Numération de la culture de *P. multocida* : $4,5 \times 10^9$ germes soit I.T. faible : $5,6 \times 10^9$ germes et I.T. forte : $2,3 \times 10^{10}$ germes/porc.

- *Pasteurella* en intraveineuse : 1 ml d'un bouillon à 10^{-2} , soit $4,5 \times 10^7$ germes/porc.

Résultats : mortalités en jours après *Pasteurella* (P + ...) et clinique (BP = Bronchopneumonie).

INTRATRACHEALE INTRAVEINEUSE	PASTEURILLA : I.T. FAIBLE		PASTEURILLA : I.T. FORTE	
	+ I.V.	0 I.V.	+ I.V.	0 I.V.
ASCARIS 0	824 : pas de mort pas de clinique Hyperthermie perte de poids 269 g.		820 : mort à P + 3 Septicémie perte de poids 833 g. lésions poumons : 45. 826 : pas de mort poids stable. hyperthermie pas de sympt. respiratoire	
ASCARIS 100.000	699 : mort à P + 2 700 : mort à P + 4 689 : mort à P + 1 Perte de poids 200 g. Hyperthermie ++ Sympt. resp. +++ Lésions poumon (26.17.25) = 23 Lésions > Ascaris < Pasteurella		692 : mort à P + 2 693 : mort à P + 8 Perte de poids 350 g. Hyperthermie ++++ Sympt. resp. ++++ Lésions poumon (30.7) = 19 Lésions < Ascaris > Pasteurella	694 : mort à P + 2 695 : mort à P + 2 Perte de poids 200 g. Hyperthermie ++ Sympt. resp. +++ Lésions poumon (28.45) = 37 Lésions < Ascaris > Pasteurella
ASCARIS 160.000	698 : mort à P + 2 Perte de poids 111 g Hyperthermie + Sympt. resp. ++++ Lésions poumon : 35 Lésions > Ascaris < Pasteurella	701 : mort à P + 2 703 : mort à P + 1 Perte de poids 121 g Hyperthermie + Sympt. resp. ++++ Lésions poumon : (23.45) = 34 Lésions > Ascaris < Pasteurella		704 : mort à P + 1 705 : mort à P + 1 Perte de poids 188 g Hyperthermie +++ Sympt. resp. ++++ Lésions poumon : (26.45) = 36 Lésions > Ascaris < Pasteurella

Commentaires :

Conclusion. Cette expérience montre bien que :

- sans *Ascaris*, la *Pasteurella* administrée par voie intratrachéale (associée à la voie intraveineuse) peut faire mourir l'animal de **Septicémie Pasteurellique** : il n'y a pas d'affection respiratoire aiguë caractérisée.
- un nombre élevé d'*Ascaris* (160.000 oeufs embryonnés) qui normalement, sans *Pasteurella*, provoque une baisse de poids passagère et des symptômes respiratoires graves, ne permet pas d'utiliser *Pasteurella* en I.T., les mortalités sont rapides en phase suraigüe (1 à 2 jours).
- on peut provoquer une bronchopneumonie aiguë en utilisant une dose "modérée" d'*Ascaris* et *Pasteurella* en intratrachéale.

Le modèle est utilisable et correspond à l'objectif fixé si l'on réduit légèrement les quantités réelles de germes administrés.

8/ Lésions histologiques, modèle *Ascaris* + *Pasteurella*

Les lésions constatées sont interprétées en fonction de la chronologie des infections : nombre de jours après *Ascaris* (A + ...) et nombre de jours après *Pasteurella* (P + ...). De plus, hors le cas d'affection suraigüe, les lésions sont rarement homogènes à l'intérieur de l'organe ; des prélèvements sont faits en foyer d'infection pasteurellique, d'autres en zone de lésions dues à *Ascaris*. Sur les mêmes poumons on a des foyers de pneumonie aiguë, purulente ou hémorragique. Il nous faut donc faire une synthèse de très nombreux prélèvements sur animaux morts ou sacrifiés à différentes époques.

- a) **Morts 1 jour après *Pasteurella* (8 jours après *Ascaris*).** Pneumonie suraigüe : Oedème interlobulaire, Alvéolite catarrhale aiguë - Forte réaction à polynucléaires éosinophiles en zones péribronchiques.
 - b) **Morts 2-3 jours après *Pasteurella* (9.10 jours après *Ascaris*).** Pneumonie aiguë : Alvéolite catarrhale aiguë avec présence de cellules géantes et d'une substance acidophile - Importante réaction à polynucléaires éosinophiles en zone péribronchique.
- Dans les foyers riches en *Pasteurella* :** Bronchopneumonie purulente.
- c) **Morts 8 jours après *Pasteurella*.** Alvéolite catarrhale et purulente. Formations granulomateuses autour de débris de larves d'*Ascaris*.
 - d) **Morts 17-20 jours après *Pasteurella*.** Pneumonie interstitielle avec réactions à polynucléaires éosinophiles discrètes. Formations granulomateuses englobant des débris de larves d'*Ascaris*.

BIBLIOGRAPHIE

- WALLACE L.J. and WHITEHAIR C.K. (1965) - Journ. Amer. Vet. M.A. 147 n° 9 pp. 952-957.
- RAYNAUD J.P. et SENNELIER J. (1975) - Journées Recherche Porcine en France 1975 X pp. 339-346, INRA-ITP Edit.
- PERREAU P., VALLEE A., et RENAULT L. (1962). Bull. Acad. Vet. 35, p. 129.
- RAYNAUD J.P., BRUNAUT G., et BOUCHET A. (1975) - Journées Recherche Porcine en France, 1975, pp. 371-378. Série X INRA-ITP Editeurs.
- BRASSINNE M., DEWAELE A. et BROUWERS J. (1971). Ann. Méd. Vet. 115, pp. 157-174.
- HATCH T.F. and GROSS P. (1964) - Académie Press. Publish.
- CARTER G.R. (1970) - Iowa State University Press publishers.
- OSE E.E., MUENSTER O.A. and RATHMACHER R.P. (1973) - Vet. Med./S.A.C., 68, n°5, pp. 529-543