

P8404

EFFICACITÉ IN VITRO ET IN VIVO DE LA SPIRAMYCINE (EMBONATE) SUR MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE

Marylène KOBISCH (1), P. PERREAU (2), F. GENIN (3)

(1) Ministère de l'Agriculture - Direction de la qualité - Services Vétérinaires - Station de pathologie porcine - B.P. 9 - 22440 PLOUFRAGAN.

(2) Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux - 10, rue Pierre-Curie - 94700 MAISONS-ALFORT.

(3) A.E.C. - 03600 COMMENTRY.

avec la collaboration technique de R. CARIOLET (1), A. LABBE (1), P. MORVAN (1) et Ph. JULOU (1)

La pathologie respiratoire demeure l'un des principaux problèmes de l'élevage porcine en France (TILLON *et al.*, 1980 - MADEC ET DERRIEN, 1981) mais aussi en Europe (MADEC ET JOSSE, 1981) et même aux U.S.A. où elle est considérée comme la question sanitaire la plus importante en élevage du porc et des bovins (N., 1981).

Le contrôle des troubles, le plus souvent d'origine virale et mycoplasémique mais également bactérienne, est d'abord d'ordre sanitaire. Ainsi, chez le porc, la maîtrise simultanée des 11 paramètres retenus par MADEC (MADEC ET JOSSE, 1981) constitue sans aucun doute le remède le plus sûr. Mais, une prophylaxie médicale, rationnelle, mise en place en toute connaissance de cause, reste complémentaire.

A cet égard, la spiramycine, antibiotique macrolide vrai qui s'individualise par une affinité marquée pour les tissus dans lesquels elle se concentre (NEUMAN, 1979 - GENIN ET PASCAL, 1982 - GENIN, 1983) et par une pénétration lente mais progressive dans la cellule cible (VIDEAU, 1978) se révèle avoir un intérêt non négligeable. A cet effet, nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices (C.M.I.) de la spiramycine sur *Mycoplasma hyopneumoniae* et contrôlé son efficacité chez des porcelets exempts d'organismes pathogènes spécifiques (E.O.P.S.) infectés expérimentalement par *Mycoplasma hyopneumoniae*.

DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE DE LA SPIRAMYCINE

1 - Principe et réalisation

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (C.M.I.) est faite en milieu liquide sous forme d'un micro-test(1) fondé sur l'appréciation d'un « changement de couleur » en rapport avec les propriétés métaboliques (hydrolyse du glucose) de *Mycoplasma hyopneumoniae* cultivé en milieu de Friis (FRIIS, 1975).

(1) Selon méthode mise au point pour les mycoplasmes des Ruminants au Laboratoire de Microbiologie - I.E.M.V.T., 10, rue Pierre-Curie - 94700 MAISONS-ALFORT, (Dr PERREAU) et décrite par BERENGER (1983) adaptée au porc.

La spiramycine base est diluée selon une progression géométrique de raison 2 de façon à obtenir des concentrations finales variant de 44,4 à 0,011 $\mu\text{g/ml}$ exprimées en spiramycine étalon international 3 200 UI/mg.

Deux souches de *Mycoplasma hyopneumoniae* sont étudiées. Elles ont été isolées à la station de pathologie porcine à partir des poumons lésés d'animaux atteints de pneumonie enzootique. La souche 1 est utilisée dans l'infection expérimentale (cf. paragraphe 2).

L'inoculum titre 10^4 germes/ml au moment de la réalisation du test, les microplaques sont incubées à 37°C. Les « changements de couleur » sont notés toutes les 24 heures jusqu'à stabilisation. Un contrôle microscopique permet de vérifier l'absence d'interférences bactériennes.

2 – Résultats et discussion

Les résultats sont regroupés dans le tableau 1 :

TABLEAU 1
C.M.I. DE LA SPIRAMYCINE SUR MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE
($\mu\text{g/ml}$ DE SPIRAMYCINE A 3 200 UI/ml)

	Durée d'incubation (jours)				
	1	2	3	4	5
Souche 1	absence de culture	0,173	0,173	0,347	0,347
Souche 2	absence de culture	0,173	0,173	0,173	0,173

Le test décrit peut être appliqué à *Mycoplasma hyopneumoniae*, espèce pourtant réputée à croissance lente. Ainsi, 48 heures après la mise en culture, la concentration initiale inhibitrice (C.I.I.) est déterminée à l'égard des deux souches. La souche 2 présente une C.M.I. identique à la C.I.I. alors que pour la souche 1 ces deux paramètres ne diffèrent que d'une dilution.

Les valeurs trouvées ici sont relativement élevées mais une conclusion définitive nécessiterait avant tout de comparer ces valeurs à celles trouvées avec d'autres antibiotiques dans les mêmes conditions.

Mais, les résultats de C.M.I. obtenus *in vitro* méritent d'être complétés *in vivo* en contrôlant l'efficacité de l'antibiotique chez des porcelets E.O.P.S. infectés expérimentalement par *Mycoplasma hyopneumoniae*.

CONTRÔLE DE L'EFFICACITÉ DE LA SPIRAMYCINE CHEZ DES PORCELETS E.O.P.S. INFECTÉS EXPÉRIMENTALEMENT PAR MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE

-1 – Description de l'expérience

La spiramycine est testée sur le modèle animal de la Station de Pathologie Porcine de Ploufragan (KOBISCH et TILLON, 1976) selon le protocole décrit dans la publication de KOBISCH et SIBELLE (1982), à savoir :

- porcelets pesés puis répartis après randomisation en 3 lots dans 3 animaleries protégées : témoin négatif (5 animaux non infectés, non traités), témoin positif (7 animaux infectés non traités), lot spiramycine (7 animaux infectés et traités),
 - contamination à l'âge de 16 jours avec 5 ml par voie intratrachéale d'une suspension de *Mycoplasma hyopneumoniae* titrée à 10^8 germes/ml en milieu artificiel (FRIS, 1975), isolé à partir d'un animal atteint de pneumonie enzootique (KOBISCH et TILLON, 1976),
 - traitement : 9 jours après infection et pendant 10 jours.
- L'antibiotique est fourni par un aliment à 250 ppm (titre contrôlé 234 ppm) de spiramycine (étalon O.M.S. 3 200 UI/mg) sous forme d'embonate mis en libre disposition.

-2 - Résultats et discussion

Les résultats sont résumés dans le tableau 2.

FIGURE 1

EFFICACITÉ IN VIVO DE LA SPIRAMYCINE SUR MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE
(distribution et nature des lésions)

<p>TEMOIN POSITIF</p> <p>6 semaines après infection</p> <p>12 semaines après infection</p>	
<p>TRAITEMENT</p> <p>6 semaines après infection</p> <p>12 semaines après infection</p>	
<p>TÉMOIN NÉGATIF</p>	

— sillon cicatriciel

■ pneumonie

TABLEAU 2

EFFICACITÉ DE LA SPIRAMYCINE CHEZ DES PORCELETS E.O.P.S. INFECTÉS EXPÉRIMENTALEMENT PAR MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE

	Témoin - (non infecté non traité)	Témoin + (infecté non traité)	SPIRAMYCINE
PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL			
• Nombre d'animaux	5	7	7
• Jours entre infection et début du traitement			9
• Dose d'utilisation de spiramycine(*)			
- mg/kg d'aliment	-	-	234
- mg/kg P.V.	-	-	20
• Durée du traitement (jours)	-	-	10
SIGNES CLINIQUES	néant	Hyperthermie (≥ 40 °C) dès l'infection et pendant environ le mois suivant). Toux quinteuse et persistante (température du 15 ^e jour de l'infection à la fin de l'essai.	néant (température < 39°7)
ANATOMO-PATHOLOGIE (schéma 1) (lésions macroscopiques) Nombre de porcs présentant des lésions sur nombre de porcs autopsiés :			
- 6 semaines après infection	0/5	4/4 (pneumonie exsudative gé- néralisée)	0/4
- 12 semaines après infection		3/3 (pneumonie exsudative gé- néralisée et lé- sions en voie de cicatrisation)	1/3 (lésions en voie de cicatri- sation)
HISTO-PATHOLOGIE (lésions microscopiques) Nombre de porcs présentant des foyers d'infiltration péri-bronchiolaires sur nombre d'observations :			
- 6 semaines après infection	0/5	4/4	0/4
- 12 semaines après infection		3/3	1/3
RECHERCHES MICROBIOLOGIQUES			
Isolement de Mycoplasma hyopneumoniae	néant	7/7	4/7 après sub- culture
Mise en évidence de Mycoplasma hyopneumoniae par immunofluorescence	néant	7/7	3/7
Recherches bactériologiques	négatives	négatives	négatives
SEROLOGIE Réaction d'hémagglutination passive positive sur nombre d'observations 9 semaines après infection	0/2	4/4	1/3

(*) exprimée par rapport à l'étalon international à 3 200 UI/mg.

La comparaison témoin négatif - témoin positif confirme la bonne reproductibilité de l'infection par *Mycoplasma hyopneumoniae* dans les conditions de ce modèle d'étude dont elle atteste la fiabilité.

Parmi les porcs infectés et traités, un seul animal est porteur de lésions pulmonaires macroscopiques et microscopiques. Le mycoplasme y est retrouvé après une subculture. Ce porc est porteur d'anticorps. Par contre, les 3 autres porcs infectés et traités chez qui on a retrouvé *Mycoplasma hyopneumoniae* après subculture n'ont pas développé ni de lésions (macroscopiques ou microscopiques), ni d'anticorps. Cela tend à prouver que le niveau d'infection est resté très bas, la spiramycine s'y étant montrée efficace. A cet égard, il est intéressant de remarquer que ces animaux, chez lesquels on a mis en évidence le mycoplasme, ne se sont pas montrés « excréteurs du germe » puisque trois animaux sont restés « mycoplasmes free ».

Ainsi, dans nos conditions, la spiramycine a un effet marqué sur l'infection expérimentale à *Mycoplasma hyopneumoniae* confirmant en particulier le travail de FRITZSCHE (1969).

CONCLUSION

Les C.M.I. de la spiramycine vis-à-vis de deux souches de *Mycoplasma hyopneumoniae* ont été déterminées en milieu liquide. Les valeurs trouvées sont 0,173 et 0,347 $\mu\text{g/ml}$.

Par ailleurs, administrée à la dose de 250 ppm dans l'aliment, la spiramycine (embonate) supprime les signes cliniques normalement observés dans la mycoplasmosse expérimentale ainsi que les lésions anatomo et histo-pathologiques.

En définitive, ce travail confirme, d'une part la sensibilité du mycoplasme à la spiramycine qui, d'autre part, se révèle efficace pour maîtriser l'infection *Mycoplasma hyopneumoniae*.

BIBLIOGRAPHIE

- BERENGER S., 1983. Contribution à l'étude de la sensibilité des mycoplasmas à quelques antibiotiques. Thèse, Doct. Pharm. LYON.
- FRIIS N., 1975. Nord. Vét. Méd., **27**, 337-339.
- FRITZSCHE K., Résultats d'emploi de la spiramycine contre la pneumonie enzootique du porc. Résultats non publiés.
- GENIN F., 1983. Étude de la pharmacocinétique de l'embonate de spiramycine chez le porc : évolution des concentrations tissulaires de spiramycine en fonction de la dose d'administration au cours d'un traitement. Résultats non publiés.
- GENIN F. et PASCAL C., 1982. Étude de la pharmacocinétique de l'embonate de spiramycine : évolution des concentrations tissulaires de spiramycine au cours d'un traitement chez le porc. Résultats non publiés.
- KOBISCH M. et SIBELLE Ch., 1982. Rec. Méd. Vét., **158**, 4, 375-381.
- KOBISCH M. et TILLON J.P., 1976. Rec. Méd. Vét., **152**, 12, 817-827.
- MADEC F. et DERRIEN H., 1981. Journées Rech. Porcine en France. **13**, 231-236.
- MADEC F. et JOSSE J., 1981. Application d'une méthode d'étude sanitaire globale à la prévention des troubles respiratoires chez le porc à l'engrais - Compte rendu des travaux réalisés dans le cadre du réseau d'enquête épidémiologique. Avril 1980-Février 1981. Doc. Station de Pathologie Porcine, 22440 PLOUFRAGAN, France.
- NEUMAN M., 1979. Vade-mecum des antibiotiques et agents chimio-thérapeutiques anti-infectieux (4^e édition). Maloine S.A. Éditeur, Paris.
- PLONAIT H., 1970. Dtsch. Tierärztl. Wschr., **77**, 18-473.
- TILLON J.P., MEURIER C. et MADEC F., 1980. Bull. Off. Inter. épizoot., **92**, 5-6, 371-385.
- VIDEAU D., 1978. Cah. Méd. Vét., **47**, 155-164.
- N., 1981. Animal Drug. Report, Mai 1981.