

POUVOIR PATHOGÈNE EXPÉRIMENTAL DE *PASTEURELLA MULTOCIDA* ET ACTION DE L'EXOTOXINE PROTÉIQUE CHEZ LE PORCELET

Marylène KOBISCH

Station de Pathologie Porcine, B.P. 9, 22440 PLOUFRAGAN

avec la collaboration technique de P. MORVAN, A. LABBE et R. CARIOLET

INTRODUCTION

De nombreux auteurs ont essayé de reproduire des lésions de rhinite atrophique en infectant des porcelets, ils ont obtenu des résultats variables en fonction des souches de *P. multocida* utilisées. En effet, seules les souches possédant une exotoxine, thermolabile, au pouvoir dermonécrosant sont semble-t-il capables d'induire des lésions nasales graves (de JONG *et al.*, 1982 ; RUTTER et ROJAS, 1982). De plus, pour d'autres auteurs, certaines mesures comme l'infection préalable par *B. bronchiseptica* (HARRIS et SWITZER, 1968) ou le traitement des cavités nasales par l'acide acétique (PEDERSEN et ELLING, 1984) doivent être prises avant d'envisager l'infection par *P. multocida*.

Les travaux de de JONG *et al.* (1980) ont montré que l'exotoxine était présente chez *P. multocida* appartenant au **groupe capsulaire D**. Cependant ELLING et PEDERSEN (1983) ont mentionné l'existence de souches de *P. multocida* de **groupe A** également toxigènes. Les travaux actuels cherchent à déterminer si les activités léthale, cytotoxique et ostéolytique de *P. multocida* doivent être attribuées à la même ou à différentes toxine(s) (RUTTER, 1987).

L'expérience que nous allons décrire a consisté à suivre l'évolution des lésions induites expérimentalement chez le porcelet par *P. multocida* de groupe capsulaire A ou D mais aussi par leur toxine respective.

MATERIEL ET METHODES

1. LES ANIMAUX

38 porcs SPF de race Large White issus de la porcherie protégée de la Station de Pathologie Porcine sont utilisés dans l'expérience. Le troupeau de cette porcherie est constitué d'animaux obtenus par hystérectomie et maintenus à l'abri des contaminations (filtration d'air, douches à l'entrée...). Les animaux sont répartis en cinq lots : 7 porcs sont infectés par

P. m. de groupe capsulaire D, 6 porcs reçoivent l'exotoxine de cette bactérie, 9 porcs sont infectés par *P. m.* de groupe capsulaire A et 6 porcs reçoivent l'exotoxine de cette bactérie. Deux porcs sont mis au contact des porcs ayant reçu la toxine et 8 porcs non infectés constituent le lot témoin négatif.

2. LES SOUCHES BACTERIENNES

P. m. de groupe capsulaire D est la souche MH81-P4 (1) dont le titre est de 10⁸ germes/ml au moment de l'infection. *P. m.* de groupe capsulaire A (souche 9469) est isolée en Bretagne de poumons de porcs atteints de pneumonie et possède un titre de 10⁹ germes/ml au moment de l'infection expérimentale. Les deux souches sont incubées 24 heures à 37°C sur gélose-tryptose-sérum (sérum de cheval à 10 %).

3. EXTRACTION DE L'EXOTOXINE ET CARACTÉRISATION

La toxine brute est isolée à partir des deux souches de *P. m.* étudiées selon la technique décrite par RUTTER et MACKENSIE, 1984. Le caractère thermolabile de la toxine et l'action dermonécrosante ont été vérifiés chez le cobaye (NAKAI *et al.*, 1984). L'effet cytotoxique a également été apprécié sur des cellules VERO (PENNING et STORM, 1984). La toxine brute a été neutralisée par un antiserum de porc selon la technique décrite par RUTTER et LUTTER (1984).

4. INFECTION EXPÉRIMENTALE

* Les porcelets sont infectés à 20 jours d'âge par voie nasale (*P. m.* de type D) ou trachéale (*P. m.* de type A : 7 porcs) à raison de 2 ml de la suspension bactérienne correspondant à chacune des souches. Deux porcs reçoivent *P. m.* de type A par voie nasale.

(1) Nous remercions vivement J.-M. RUTTER du Laboratoire de COMPTON de nous avoir fourni la souche de *P. multocida*.

• La toxine brute lyophilisée (RUTTER et MACKENZIE, 1984) est injectée par voie intrapéritonéale ou intramusculaire (250 µg de toxine sous un volume de 2 ml de tampon PBS par porcelet dont le poids individuel est voisin de 2,5 kg).

• 4 porcs témoins reçoivent le milieu de culture par voie trachéale et les 4 autres porcs subissent une injection de 2 ml de Tampon PBS par voie intrapéritonéale.

5. ETUDE CLINIQUE

La température corporelle et les signes cliniques sont relevés quotidiennement, le sacrifice des animaux est prévu entre 5 et 6 semaines après l'infection ou l'injection de toxine.

6. EXAMENS NECROPSIQUES ET RECHERCHES DE LABORATOIRE

Chaque porcelet mort ou sacrifié fait l'objet d'un examen nécropsique approfondi. Des sections transversales du groin sont effectuées dans un plan perpendiculaire au plan sagittal de la tête, au niveau de la première prémolaire supérieure. Les lésions nasales sont classées selon l'intensité (0 à + + + +) de l'atrophie des volutes nasales (KOBISCH, 1986). Le prognathisme inférieur ainsi que l'érosion de la muqueuse pituitaire sont également relevés. Tous les organes sont attentivement observés et font l'objet d'examens bactériologiques et histologiques en cas de lésions.

RESULTATS

1. SYMPTOMES CLINIQUES

Le résultats des observations quotidiennes est résumé dans le Tableau 1.

• Les 8 porcelets du lot témoin ainsi que les deux porcs mis au contact des animaux ayant reçu la toxine ne manifestent aucun signe clinique.

• Les porcelets du lot infecté à l'aide de la souche *P. m. de type D* (voie nasale dans tous les cas) présentent une température corporelle supérieure à 40 °C dans les heures qui suivent l'infection. Après 5 semaines la température redevient normale. De la toux et de nombreux éternuements sont

constatés dans ce lot (environ 10 éternuements sont comptés au cours des 10 mn d'observation quotidienne).

• Parmi les 6 porcs qui ont reçu la toxine de *P. m. de groupe D*, 3 meurent entre 24 heures et 5 jours après l'injection (2 porcs correspondant à l'injection par voie musculaire et 1 porc à l'injection par voie péritonéale). Les 6 animaux manifestent de l'hyperthermie et des éternuements. La toux est inexistante dans ce lot. Des vomissements (contenu hémorragique) et un ictère sont constatés chez tous les animaux, en particulier chez ceux qui ne survivent pas à l'injection de la toxine.

• Dans le lot infecté par la souche de *P. m. de groupe capsulaire A*, 4 porcs meurent entre 2 et 5 jours après l'infection expérimentale (par voie trachéale). La température corporelle des animaux dépasse 40°C et atteint 41,5°C dans certains cas. Quelques porcelets présentent des arthrites, d'autres de l'oedème oculaire associé à une conjonctivite. De la toux et surtout des éternuements sont constatés chez tous les animaux de ce lot.

• L'injection de toxine de *P. m. de groupe capsulaire A*, par voie péritonéale ou musculaire, entraîne la mort de 2 porcelets, respectivement après 2 jours et 5 jours. La température corporelle des animaux dépasse 40°C durant toute l'expérience. Des vomissements et de l'ictère sont observés chez tous les porcs de ce lot.

2. EXAMENS POST-MORTEM ET RECHERCHES BACTERIOLOGIQUES

Le Tableau 2 résume le résultat des observations et des recherches entreprises.

• Les porcs infectés par *P. m. de groupe capsulaire D* ne développent pas de pneumonie, mais des abcès pulmonaires ainsi que de la pleurésie (14 % des animaux). L'infection entraîne aussi une érosion de la muqueuse pituitaire et une atrophie des cornets nasaux qui s'accompagnent d'un prognathisme inférieur.

• La toxine de *P. m. de type D* ne provoque pas de lésions des organes respiratoires mais une érosion de la muqueuse pituitaire et une atrophie des cornets nasaux. Un prognathisme inférieur est également observé chez ces animaux. Les lésions nasales sont associées dans 50 % des cas à des polysérites (périhépatite, péritonite) à des lésions hépatiques (dégénérescence du foie qui est hypertrophié et décoloré), à des lésions rénales (hypertrophie des reins et des uretères) et à la présence d'un ictère.

TABLEAU 1
SYMPTOMES CLINIQUES OBSERVÉS DANS LES 5 LOTS EXPÉRIMENTAUX

	P. m. D	Toxine D	P. m. A	Toxine A	Témoins non infectés	Porcs mis au contact
Nombre d'animaux	7	6	9	6	8	2
Voie d'inoculation	nasale	musculaire (50 %) péritonéale (50 %)	trachéale (77 %) nasale (23 %)	musculaire (50 %) péritonéale (50 %)	trachéale (50 %) péritonéale (50 %)	
Mortalité	0	50 % (24h - 5j)	44 % (2 - 5 j)	33 % (10 j)	0	0
Hyperthermie	> 40°C	> 40°C	> 40°C	> 40°C	0	0
Toux	+	0	+	0	0	0
Eternuements	+	+	+	+	0	0
Vomissements	0	+	0	+	0	0

TABEAU 2
EXAMENS POST-MORTEM ET RÉSULTATS DE LABORATOIRE

Lésions observées	P. m. D	Toxine D	P. m. A	Toxine A	Témoins non infectés	Porcs mis au contact
Pneumonie	0	0	55 %	0	0	0
Abcès pulmonaires	14 %	0	11 %	0	0	0
Pleurésie	14 %	0	33 %	0	0	0
Erosion muqueuse pituitaire	14 %	83 %	77 %	50 %	0	0
Atrophie des cornets nasaux (+ + +)	100 %	83 %	55 %	100 %	0	0
Prognathisme inférieur	2 cm	2 cm	0	0	0	0
Polysérites	0	16 %	0	16 %	0	0
Lésions hépatiques	0	50 %	33 %	33 %	0	0
Ictère	0	50 %	33 %	50 %	0	0
Lésions rénales	0	50 %	44 %	66 %	0	0
Arthrites	0	0	33 %	33 %	0	0
Oedème oculaire	0	0	33 %	0	0	0
Réisolements de <i>P. multocida</i>	14 % poumons 50 % cavités nasales	0	44 % (tous les organes 6 jours)	0	0	0

• ***P. m.* de groupe capsulaire A** induit des lésions graves de pneumonie accompagnées d'abcès pulmonaires et de pleurésie dans plusieurs cas. L'érosion de la muqueuse pituitaire est constatée chez une grande majorité des porcs. Les cornets nasaux sont atrophiés chez plus de la moitié des porcs infectés. Les lésions hépatiques et rénales (identiques à celles que l'on observe dans le lot précédent) se développent chez plusieurs porcs qui présentent également un ictère. La voie choisie pour l'infection n'a pas eu d'incidence sur la nature des lésions.

• **La toxine de *P. m.* A** injectée seule aux porcelets n'entraîne pas de lésions pulmonaires mais provoque une atrophie des cornets nasaux chez tous les sujets. Des lésions hépatiques et rénales graves accompagnent l'ictère chez de nombreux porcs.

• Les porcs du lot témoin ainsi que les 2 porcs mis au contact des lots ayant reçu les toxines sont dépourvus de lésions.

• ***P. m.* de type A** persiste assez peu dans les organes (6 jours). Par contre, ***P. m.* de type D** est présente dans 50 % des cavités nasales 6 semaines après l'infection.

3. EXAMENS HISTOLOGIQUES (1)

• **Au niveau nasal** on observe une disparition parfois complète de l'os, remplacé alors par une bande de tissu fibreux. On note également un oedème prononcé du chorion (qui est le siège d'une fibroplasie), une atrophie des glandes et une desquamation de l'épithélium superficiel. Au niveau de l'ethmoïde, les lésions sont comparables à celles des cornets nasaux : l'os a presque disparu et l'on observe de rares lamelles osseuses disposées au sein d'un tissu fibroblastique.

• **Les lésions pulmonaires** sont caractérisées par une congestion modérée de l'ensemble du parenchyme associée à l'existence d'une pneumonie interstitielle. Ces lésions correspondent à une infiltration des cloisons interalvéolaires par des cellules inflammatoires (macrophages, polynucléaires, éosinophiles et rares lymphocytes). Ces lésions sont parfois

associées à un discret oedème de la plèvre et à une infiltration par des cellules inflammatoires polymorphes.

• Chez les porcelets présentant des **lésions hépatiques** on remarque une fibroplasie, une dégénérescence hépatocytaire centrolobulaire et une stase sanguine. Ces foyers sont discrètement infiltrés par des polynucléaires neutrophiles.

• **Au niveau rénal**, les lésions observées correspondent à une congestion accusée des reins, particulièrement marquée au niveau de la jonction corticale médullaire. Ce territoire est également le siège d'hémorragies multiples. On remarque, dans la zone corticale, des lésions de néphrite épithéliale dégénérative siégeant au niveau des tubes contournés proximaux. Le chorion de la muqueuse des uretères est fortement congestionné, ainsi que la séreuse périphérique.

• Dans les cas d'arthrite, la **synoviale** montre une disparition totale des structures histologiques normales et une infiltration par des polynucléaires neutrophiles souvent dégénérés (caractère suppuré de l'inflammation).

• Les examens microscopiques effectués à partir des organes des porcs témoins ne révèlent aucune lésion spécifique.

CONCLUSION

Dans les conditions de l'expérience, *P. multocida* (souches toxigènes de groupe capsulaire A ou D) se montre très pathogène pour le porcelet de 20 jours : elle entraîne des lésions graves et jusqu'à 50 % de mortalité des animaux infectés. Le groupe capsulaire auquel appartient la bactérie semble avoir une incidence sur le type de lésions établies. Bien que la voie d'infection n'ait pas toujours été la même, il semblerait que le type A soit plus lié à une pathologie pulmonaire (55 % de pneumonie) alors que le type D serait plus à l'origine de lésions nasales (100 % d'atrophie des cornets nasaux). Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres auteurs (STRAW *et al.*, 1983 ; PIJOAN *et al.*, 1984 ; COWART et BACKSTROM, 1984). *P. multocida* de groupe capsulaire A, de part la composition de sa capsule et l'existence de facteurs

(1) Nous remercions M. LAGADIC (Laboratoire d'Histo-Cytopathologie Vétérinaire 13, rue de Rouen - 94700 MAISONS-ALFORT) d'avoir bien voulu effectuer les examens histologiques.

d'attachement aurait plus d'affinité pour les organes respiratoires (GLORIOSO *et al.*, 1982 ; PIJOAN *et al.*, 1984). De plus, *P. multocida* de type A provoque des lésions hépatiques et rénales (accompagnées parfois d'arthrites) induit des abcès pulmonaires et de la pleurésie, ce qui correspond aux observations faites par RUTTER et MACKENZIE (1984).

La (les) toxine(s) n'entraîne(nt) pas de lésions pulmonaires mais une atrophie sévère des cornets nasaux ainsi que le décrivent RUTTER et MACKENZIE (1984). Ces résultats ont été obtenus avec les bactéries ou avec les toxines sans injection préalable d'acide acétique au niveau nasal et sans infection par *B. bronchiseptica*. Dans les conditions de l'expérience et 6 semaines après l'infection, il n'a pas été constaté de reconstitution osseuse au niveau de l'os nasal. Il semblerait que la régénération des cornets nasaux se produise difficilement après une infection par *P. multocida* (RUTTER, 1987). L'action de la toxine se traduit également au niveau hépatique et rénal où elle entraîne des lésions hyperplasiques et dégénératives du foie et du tractus urinaire. Ces effets sont apparentés à ceux que l'on observe après une injection de toxine purifiée (RUTTER, 1987).

Dans les conditions expérimentales décrites, *P. multocida* de groupe capsulaire A persiste assez peu dans les organes et *P. multocida* de groupe D s'installe préférentiellement au niveau nasal.

De nombreux travaux méritent d'être entrepris afin de mieux connaître la genèse des lésions induites par *P. multocida*, par la (les) toxine(s) ou par d'autres facteurs qui semblent présents chez les bactéries ne possédant pas l'exotoxine protéique.

BIBLIOGRAPHIE

- COWART R. P., BACKSTROM L., 1984. Proceedings IPVS - GHENT - p. 159.
- ELLING F., PEDERSEN K. B., 1983. Rhinitis in pigs - Edited by K. B. PEDERSEN and N. C. NIELSEN. pp. 123-135. CEE éd. Luxembourg.
- ELLING F., PEDERSEN K. B., 1985. Vet. Pathol. 22, 469-474.
- GLORIOSO J. C., JONES G. W., RUSH H. D., PENTLER L. J., DARIF C. A., COWARD J. E., 1982. Infection and immunity, 33 (3), 1103-1109.
- HARRIS D. L., SWITZER W. P., 1968. Am. J. Vet. Res. 29, 777-785.
- de JONG M. F., OEI H. L., TETENBURG G. J., 1980. Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Congress. COPENHAGUE p. 211.
- KOBISCH M., 1986. Journées Rech. Porcine en France. 18, 341-348.
- NAKAI T., SAWATA A., TSUJI M., KUME K., 1984. Am. J. Vet. Res. 45 (11), 2410-2413.
- PEDERSEN K. B., ELLING F., 1984, 94, 203-214.
- PENNING S. A. M. M. A., STORM P. K., 1984. Vet. Microbiol., 9, 503-508.
- PIJOAN C., LASTRA A., RAMIREZ C., LEMAN A. D., 1984. J. A. V. M. A. 5, 522-523.
- RUTTER J. M., ROJAS X., 1982. Vet. Rec. 110, 531-535.
- RUTTER J. M., LUTHER P. D., 1984. Vet. Rec. 114, 393-396.
- RUTTER J. M., MACKENZIE A., 1984. Vet. Rec., 114, 89-90.
- RUTTER J. M., 1987. Rec. Med. Vet. 163 (4), 439-443.
- STRAW B. E., BURGI J., HILLEY H. D., LEMAN, 1983. J. Am. Vet. Med. Ass. 182, 607-611.