

INTÉRÊTS ET LIMITES DE DIFFÉRENTS TYPES DE PRÉLÈVEMENTS POUR LA RECHERCHE DES CONTAMINANTS RESPIRATOIRES BACTÉRIENS DANS LES ÉLEVAGES PORCINS VENDEURS DE REPRODUCTEURS

P. LE FOLL (1), H. MORVAN (2), Y. NICOLAS (1)

(1) I.T.P. - Pôle Amélioration de l'Animal - BP 3 - 35650 Le Rheu.

(2) LDA22 - rue du Sabot - BP 54 - 22440 Ploufragan.

Parmi les contaminants dont la transmission par l'intermédiaire des jeunes reproducteurs est possible, certains agents bactériens de l'appareil respiratoire ont une importance majeure. Leur contrôle dans les élevages de sélection passe par le sacrifice de porcelets de 8 à 10 semaines qui sont autopsiés et soumis à des bactériologies. Cette méthode, mise en place en 1990 dans 53 élevages de sélection de Bretagne, permet de constater l'absence ou la quasi-absence des trois contaminants majeurs : *Actinobacillus pleuropneumoniae*, souches de *Pasteurella multocida* productrices de toxine, et *Streptococcus suis* II. Des *Pasteurella* non toxigènes sont isolées sur 19 % des porcelets répartis dans 28 % des élevages.

Parallèlement, trois autres techniques de prélèvement sont testées : écouvillonnage nasal et d'amygdale, biopsie d'amygdale. Cette dernière technique apparaît très satisfaisante ; la sensibilité de la bactériologie sur biopsie est quasiment équivalente à celle de la bactériologie sur amygdale après sacrifice du porcelet. D'un coût moindre, la biopsie permet également de multiplier les prélèvements et d'augmenter la précision statistique du diagnostic. Elle constitue un outil intéressant dans le cadre du contrôle sanitaire des élevages de sélection et de multiplication.

Detection of respiratory bacterial agents by different sampling techniques in nucleus and multiplier herds : interest and limits

Among the infectious agents young sows and boars can transmit, some respiratory bacterial organisms are very important. The control of these germs in nucleus herds is based on the euthanasia, necropsy and bacteriology of eight-to-ten weeks old piglets. This method, applied in Brittany on 53 nucleus herds in 1990, showed the quasi absence of three main infectious agents : *Actinobacillus pleuropneumoniae*, toxigenic strains of *Pasteurella multocida* and *Streptococcus suis* type II. Non toxigenic P.m. strains were found on 19 % of the piglets from 28 % of the herds.

Besides, three other sampling techniques were tested : nasal and tonsil swab, and tonsil biopsy. This last technique proved to be very interesting. Bacteriological detection through tonsil biopsy was almost as sensitive as bacteriological detection of tonsil from euthanasied piglet. Tonsil biopsy is less expensive thus allows to increase the size of the sample for a better statistical significance. Tonsil biopsy is a useful tool for health control in nucleus and multiplier herds.

INTRODUCTION

Les élevages de sélection et de multiplication jouent un rôle majeur dans la filière porcine, puisque environ 70 % des truies et plus de 90 % des verrats utilisés en élevages de production proviennent de ces unités. Ainsi un faible nombre de cheptels situés au sommet de la pyramide génétique (environ un millier) influent sur un grand nombre d'élevages en aval (environ vingt mille). Sur le plan sanitaire, cela signifie qu'ils doivent disposer d'un statut élevé pour ne pas diffuser de contaminants dans l'ensemble de la pyramide.

Parmi les contaminants dont la transmission par l'intermédiaire des reproducteurs est possible, les plus préoccupants sont d'une part les agents des Maladies Légèrement Réputées Contagieuses, soumis à une réglementation nationale stricte, d'autre part certains agents respiratoires majeurs, en particulier *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* II et les souches productrices de toxine de *Pasteurella multocida*.

Avant de proposer une démarche collective spécifique à ces bactéries, il importe de connaître précisément leur fréquence dans les élevages de sélection-multiplication. A cette fin, la méthode «classique» d'intervention, recourant à des autopsies de porcelets, est utilisée et les résultats présentés ici. Mais cette approche, qui nécessite le sacrifice d'animaux, est coûteuse ; elle oblige donc à limiter le nombre de prélèvements qui sont insuffisants pour assurer une bonne représentativité statistique. Aussi le second objectif de la présente étude est de tester d'autres techniques d'investigation, qui pourraient à l'avenir remplacer les autopsies dans le cadre du dépistage des contaminants bactériens respiratoires.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Cadre de l'étude : le programme de suivi sanitaire permanent

A partir de 1988, un programme de Suivi Sanitaire Permanent est conduit dans les élevages porcins de sélection et de multiplication. Mis en place dans un premier temps en Bretagne, il est étendu par la suite à plusieurs autres régions françaises. Ce programme, qui porte essentiellement sur la pathologie respiratoire, consiste à centraliser et à analyser les principales informations recueillies par les organisations génétiques et leurs vétérinaires. Après des traitements statistiques appropriés, les résultats sont retournés aux schémas de sélection ; les élevages insuffisants pour certains critères sont détectés.

Les paramètres sanitaires sont collectés par les vétérinaires à l'abattoir (notation des lésions de pneumonie, pleurésie et rhinite atrophique) et en élevage (utilisation d'un questionnaire standardisé). Cette méthode de travail a été présentée par ailleurs (LE FOLL, 1990).

En outre, le programme de Suivi Sanitaire Permanent prévoit le recours au laboratoire d'analyse pour la détection d'un certain nombre de contaminants, qui risquent de se propager dans la pyramide génétique par l'intermédiaire des jeunes reproducteurs. Ainsi, les ateliers de sélection qui adhèrent au programme sont soumis à des autopsies de porcelets, dont le principal objectif est le dépistage des contaminants respiratoires bactériens. Parallèlement, d'autres types de prélèvements sont expérimentés.

1.2. Les types de prélèvements étudiés

1.2.1. Porcelets

La méthode classiquement utilisée en France pour établir l'inventaire de la flore bactérienne des voies respiratoires dans un élevage consiste à envoyer au laboratoire d'analyse quelques porcelets vivants, choisis parmi les animaux moyens de manière à être représentatifs des bandes dont ils sont issus (MAILLET-LEPRINCE et al., 1984 ; MADEC et al., 1986).

Cette méthode est utilisée, entre mai et août 1990, dans 53 élevages de sélection de la région Bretagne. Dans chaque élevage, 3 porcelets moyens âgés de 8 à 10 semaines sont prélevés au hasard et envoyés au laboratoire. L'autopsie comprend :

- un examen nécropsique :
 - examen externe (omphalite, plaies, gale, poux...) ;
 - examen des articulations ;
 - observation des lésions de l'appareil respiratoire ; notation quantitative des lésions de rhinite atrophique, de pneumonie et de pleurésie ;
- des recherches bactériologiques sur cavités nasales, amygdales et poumons. Elles sont considérées comme la technique de référence, par rapport à laquelle les résultats obtenus sur les autres types de prélèvements sont comparés (figure 1).

1.2.2. Écouvillons nasaux et d'amygdales

A leur arrivée au laboratoire et avant leur sacrifice, 57 des 159 porcelets (correspondant à 19 des 53 élevages) sont soumis à un écouvillonnage nasal et d'amygdale. Les résultats des bactériologies sur écouvillons peuvent ainsi être comparés aux résultats des bactériologies sur autopsie, pour les mêmes animaux et sur les mêmes sites.

La technique d'écouvillonnage nasal est la suivante : contention du porc au lasso ; nettoyage du groin à l'aide d'un tampon ; introduction de l'écouvillon dans une seule narine sans toucher l'extérieur du nez, le plus profond possible (environ 10 cm), puis rotation pour racler les parois. L'écouvillon est ensuite placé dans un milieu de transport (1), et conservé environ 18 heures avant d'être ensemencé, ceci pour se rapprocher des conditions du terrain où un temps de transport au laboratoire serait nécessaire.

L'écouvillonnage d'amygdale nécessite l'emploi d'un pas d'âne spécial (DE JONG, communication personnelle) permettant de maintenir la gueule de l'animal ouverte, langue plaquée vers le bas. Une seule amygdale est raclée avec un écouvillon de même type que précédemment.

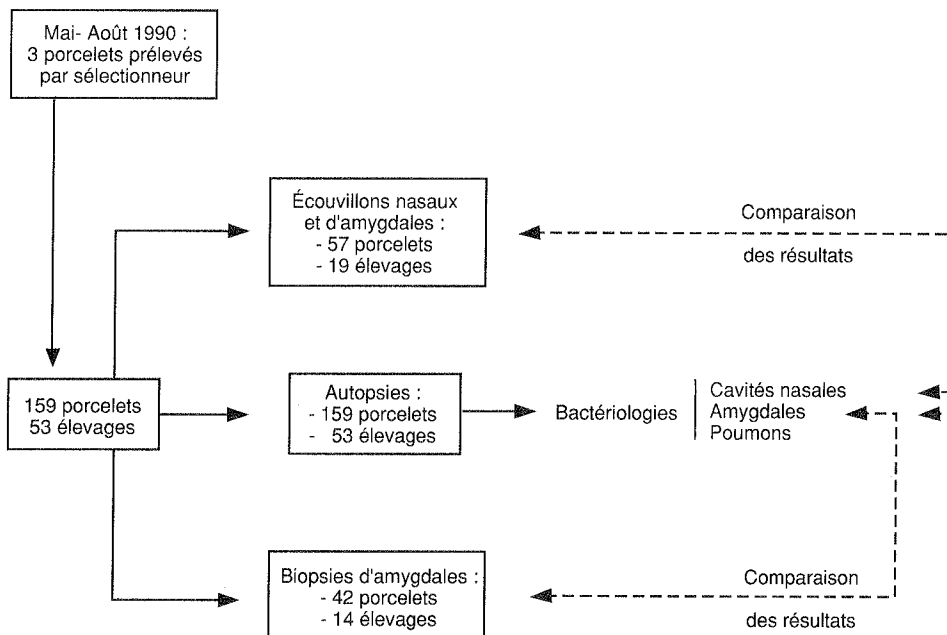
1.2.3. Biopsies d'amygdales

Les biopsies, comme les écouvillonnages, sont réalisées sur les porcelets avant sacrifice, de manière à comparer les résultats à ceux des bactériologies sur amygdales effectuées après autopsie. 42 des 159 porcelets autopsiés, provenant de 14 élevages, sont soumis à biopsie ; 18 d'entre eux appartiennent à la série d'animaux qui subissent des écouvillonnages.

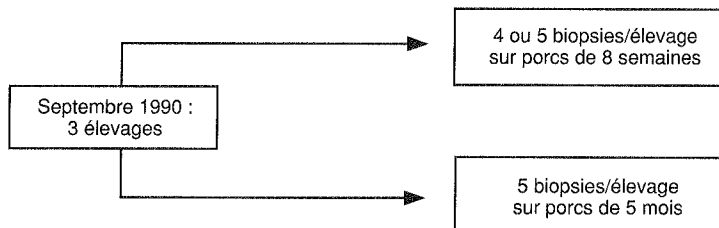
(1) Milieu de Stuart, système de transport "pluri-jerm", CEFIBRA SARL

FIGURE 1
MODALITÉS D'ÉTUDE DES DIFFÉRENTS TYPES DE PRÉLÈVEMENTS

ÉTAPE 1 : COMPARAISONS "INTRA-PORCELETS"



ÉTAPE 2 : VALIDATION EN ÉLEVAGE DES BIOPSIES D'AMYGDALES



Par ailleurs, une seconde série de biopsies est effectuée en septembre 1990 sur 28 porcs répartis dans 3 élevages choisis pour leur historique de rhinite atrophique sévère. Dans chaque élevage deux types d'animaux sont prélevés : porcelets de 8 semaines et porcs de 5 mois (figure 1), ces deux âges correspondant à des périodes d'excrétion importante de *Pasteurella multocida*, en particulier de souches productrices de toxines (DE JONG, 1983 et 1988).

Le porc étant contenu au lasso, sa gueule maintenue ouverte grâce à un pas d'âne, la biopsie se fait en deux temps :

- incision grâce à un trépan emporte-pièce de 8 millimètres de diamètre, encore appelé « biopsy punch » (1), fixé au bout d'un manche,
- extraction grâce à une pince.

Le prélèvement est ensuite placé dans un tube contenant 0,5 ml de sérum physiologique stérile, de manière à éviter sa déshydratation avant l'arrivée au laboratoire.

(1) Laboratoires STIEFEL à Nanterre (92)

1.3. Les techniques de bactériologie

Après autopsie des porcelets, les prélèvements sont réalisés à partir de trois sites, de la manière suivante :

- cornets nasaux : coupe transversale du groin ; flambage ; écouvillonnage en profondeur des deux cornets ; mise en suspension de l'écouvillon dans 2 ml d'eau physiologique stérile ; ensemencement des boîtes (50 µl/boîte).
- amygdale : cautérisation en surface ; incision longitudinale des deux amygdales ; écouvillonnage ; mise en suspension puis ensemencement.
- poumon : coupe de préférence en périphérie de lésions ; aspiration grâce à une pipette pasteur du liquide présent dans les petites bronchioles ; ensemencement.

Les écouvillons réalisés sur porcs vivants sont mis en suspension dans du sérum physiologique ; l'ensemencement se fait ensuite par pipetage. Les biopsies, déjà en suspension dans du sérum à leur arrivée au laboratoire, sont homogénéisées au Vortex durant 3 minutes.

Cinq milieux de culture sont utilisés pour les bactériologies réalisées à partir des sinus et des amygdales :

- 2 milieux de base :
 - (a) gélose au sang (base Columbia avec 5 % de sang de mouton)
 - (b) gélose PPLO (Peripneumonia Like Organisms) supplémentée en NAD et en sérum de cheval
- 3 milieux sélectifs :
 - (c) milieu sélectif pour *Bordetella bronchiseptica* : gélose au sang supplémentée en céphalexine (SMITH et BASKERVILLE, 1979)
 - (d) milieu sélectif pour *Pasteurella multocida* : gélose au sang supplémentée en néomycine et en bacitracine (RUTTER et al., 1984)
 - (e) milieu sélectif pour les bactéries à gram négatif, en

particulier *Actinobacillus* : gélose au sang supplémentée en NAD avec cristal violet, en lincomycine et en bacitracine.

Les poumons constituant un site moins pollué par la flore bactérienne commensale, seuls 2 milieux sont utilisés (a et b).

2. RÉSULTATS

2.1. Autopsies de porcelets

2.1.1. Fréquence des contaminants et sites d'isolement

Le tableau 1 présente les fréquences d'isolement des différents contaminants bactériens respiratoires. Ces fréquences sont exprimées en nombre et pourcentage de porcelets, et en nombre et pourcentage d'élevages pour lesquels au moins un des trois porcelets autopsiés est porteur.

TABLEAU 1
FRÉQUENCE DES CONTAMINANTS BACTÉRIENS ISOLÉS SUR AUTOPSIE

	Fréquence globale	Fréquence par site		
		Sinus	Amygdales	Poumons
<i>Pasteurella multocida</i>				
% de porcelets	19	11	11	4
% d'élevages (1)	28	17	19	8
<i>Bordetella bronchiseptica</i>				
% de porcelets	27	26	3	3
% d'élevages	36	34	6	4
<i>Hémophilus parasuis</i>				
% de porcelets	26	22	6	2
% d'élevages	42	38	9	2
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>				
% de porcelets	1	0	1	0
% d'élevages	4	0	4	0
<i>Streptococcus suis II</i>				
% de porcelets	3	3	1	0
% d'élevages	8	6	2	0
Au moins un contaminant				
% de porcelets	57	52	19	8
% d'élevages	77	70	28	13

(1) Il s'agit du % d'élevages pour lesquels au moins 1 des 3 porcelets autopsiés est porteur du contaminant

Dix neuf pour cent des porcelets, répartis dans 28 % des élevages, sont infectés par *Pasteurella multocida* (*Pm*) ; il s'agit dans tous les cas de souches non productrices de toxine. Les sites d'isolement préférentiels sont les amygdales et les cavités nasales : dans 4 élevages, des *Pm* sont isolées sur ces deux sites, dans 6 élevages elles sont isolées seulement sur amygdales, et dans 5 autres seulement sur cavités nasales.

Une *Pm* n'est isolée du poumon que dans 4 élevages ; dans 3 d'entre eux elle est également présente sur amygdales.

Actinobacillus pleuropneumoniae (*Apl*) n'est présent que sur les amygdales de 2 porcelets issus du même élevage ; il s'agit d'un biovar 1 sérovar 3. Trois pour cent des animaux, répartis dans 8 % des élevages (soit 4 unités de sélection) sont infectés

par *Streptococcus suis* type II (*SsII*). Les sites préférentiels d'isolement sont les cavités nasales suivies des amygdales.

Enfin, les deux bactéries les plus fréquentes sont *Bordetella bronchiseptica* (*Bb* : 27 % des porcelets et 36 % des élevages) et *Hémophilus parasuis* (*Hp* : 26 % des porcelets et 42 % des élevages). Leur site préférentiel d'isolement est la cavité nasale ; leur présence sur les poumons est exceptionnelle, et dans ce cas *Bb* et *Hp* sont également présents sur un autre site (cavités nasales ou amygdales).

2.1.2. Relations avec les lésions de l'appareil respiratoire

Le tableau 2 présente les liaisons statistiques entre les contaminants bactériens isolés et les lésions observées sur les mêmes porcelets. Pour les tests statistiques, les différentes variables sont exprimées sous forme bimodale : présence ou absence du contaminant, présence ou absence de la lésion.

On constate l'absence totale de relation entre la présence d'agents bactériens et les lésions de pneumonie. En revanche,

TABEAU 2
RELATIONS ENTRE LES CONTAMINANTS BACTÉRIENS ET LES LÉSIONS DES PORCELETS (1)

	<i>Pm</i>	<i>Pm</i> sur cavités nasales	<i>Pm</i> sur amygdales	<i>Bb</i>	<i>Hp</i>
Lésions de rhinite	* (2)	**	NS	*	***
Lésions sévères de rhinite	S	S	NS	S	***
Lésions de pneumonie	NS	NS	NS	NS	NS

(1) Calculs effectués sur 159 porcelets autopsiés, les variables étant exprimées sous forme bimodale : présence ou absence du contaminant, présence ou absence de la lésion.

(2) Test du χ^2 : NS non significatif.
S P < 0,10 ** P < 0,01
* P < 0,05 *** P < 0,001

les lésions de rhinite sont plus fréquentes chez les porcelets porteurs d'une au moins des trois bactéries fréquemment mises en évidence : *Pm*, *Bb* et *Hp*. Pour *Pasteurella multocida*, c'est l'isolement sur cavité nasale qui est en relation avec la rhinite, l'isolement sur amygdale étant indépendant. Si l'on s'intéresse aux seules lésions sévères de rhinite atrophique, les relations contaminants-lésions ne sont plus significatives au seuil de 5 %, excepté pour *Hémophilus parasuis* ; 12 des 17 porcelets porteurs d'*Hp* sont atteints de lésions sévères.

Le tableau 3 présente les relations entre les contaminants bactériens isolés sur porcelets et les lésions des porcs charcutiers des mêmes élevages, abattus à la même période (moyenne des observations à l'abattoir du 1^{er} semestre 1990). On retrouve une indépendance totale entre présence de bactéries et lésions de pneumonie. Les lésions de rhinite sont plus fréquentes dans les élevages porteurs de *Pm* ; la relation statistique est du même type quel que soit le site d'isolement (cavités nasales ou amygdales).

TABEAU 3
RELATIONS ENTRE LES CONTAMINANTS BACTÉRIENS SUR PORCELETS ET LES LÉSIONS DES PORCS CHARCUTIERS CONTEMPORAINS

Contaminant sur porcelets	Classe (1)	Nombre d'élevages	Poumons indemnes à l'abattoir		Nez indemnes à l'abattoir	
			%	Signification (2)	%	Signification
<i>P. multocida</i>	0	38	85,1	NS	89,1	*
	1	15	84,1		77,2	
<i>B. bronchiseptica</i>	0	34	81,6	NS	85,7	NS
	1	19	90,5		85,2	
<i>H. parasuis</i>	0	31	85,8	NS	88,7	NS
	1	22	83,5		81,1	

(1) 0 = absence du contaminant sur les 3 porcelets de l'élevage
1 = présence du contaminant sur au moins 1 des 3 porcelets

(2) NS = différence entre les 2 classes non significative
* = P < 0,05

Enfin, aucune relation significative ne peut être mise en évidence entre les lésions des porcelets autopsiés et les lésions observées à l'abattoir sur les porcs charcutiers contemporains provenant des mêmes élevages.

2.2. Écouvillonnages

Les résultats des bactériologies sur écouvillons nasaux et d'amygdales figurent dans le tableau 4, où ils sont comparés aux résultats des bactériologies après sacrifice, sur les 57 mêmes animaux.

Aucune *Pm* n'est isolée à partir d'écouvillons, alors que 10 isollements (2 sur sinus et 8 sur amygdales) sont possibles sur autopsies. La même conclusion s'impose pour *Hp* : tous les écouvillons sont négatifs, alors que 6 porcelets répartis dans 4 élevages sont porteurs au niveau des sinus.

Pour *Bb*, 11 des 16 porcelets infectés, et 5 des 7 élevages concernés sont retrouvés. La situation est plus ambiguë pour *SsII* : 1 écouvillon nasal est positif alors que la bactériologie sur

le porcelet correspondant reste négative ; inversement, 1 porcelet est porteur sur les amygdales, sans que l'on retrouve l'agent sur l'écouvillon.

Un certain nombre de contaminants banals qui peuvent se développer sur les milieux de culture engendrent une «pollution» qui rend plus difficile la lecture des boîtes de Pétri. Les plus fréquemment rencontrés sont des *Microcoques*, *Proteus*, *Bacillus*, *Staphylocoques* et *E. coli*. Le tableau 5 compare la pollution des prélèvements sur autopsies à celle des autres types de prélèvements. Les écouvillons apparaissent beaucoup plus pollués que les pièces d'autopsies, en particulier au niveau des cavités nasales.

2.3. Biopsies

2.3.1. Comparaison autopsies-biopsies

L'ensemble des élevages où des *Pm* sont isolées à partir de prélèvements d'amygdales sur autopsies, sont également détectés par la technique des biopsies (tableau 4). La Pasteu-

TABLEAU 4
RÉSULTATS COMPARÉS DES BACTÉRIOLOGIES SUR ÉCOUVILLONS, BIOPSIES ET AUTOPSIES (1)

	Cavités nasales		Amygdales		Amygdales	
	Écouvillonnage sur porcs vivants	Autopsie	Écouvillonnage sur porcs vivants	Autopsie	Biopsie	Autopsie
<i>P. multocida</i>						
nb de porcelets	0	2	0	8	7	10
nb d'élevages	0	2	0	5	6	6
<i>B. bronchiseptica</i>						
nb de porcelets	11	16	0	0	0	0
nb d'élevages	5	7	0	0	0	0
<i>H. parasuis</i>						
nb de porcelets	0	6	0	0	0	0
nb d'élevages	0	4	0	0	0	0
<i>S. suis II</i>						
nb de porcelets	1	0	0	1	2	1
nb d'élevages	1	0	0	1	2	1

(1) Les résultats des 3 techniques «alternatives» sont comparés aux résultats de la technique «de référence» (bactériologie sur le même site après autopsie), mise en oeuvre sur les mêmes porcelets.

TABLEAU 5
ÉTUDE COMPARATIVE DE LA CONTAMINATION DES PRÉLÈVEMENTS PAR LA FLORE BACTÉRIENNE COMMENSALE
(en pourcentage d'échantillons)

	Écouvillons cavités nasales	Écouvillons amygdales	Biopsies amygdales
Contamination identique	18 %	30 %	41 %
Contamination supérieure de la technique alternative	78 %	58 %	27 %
Contamination supérieure de la bactériologie sur l'autopsie	4 %	12 %	32 %

relle est isolée sur 7 des 10 biopsies correspondant à des porcelets dont les amygdales sont infectées. *SsII* est isolé dans deux élevages à partir des biopsies, contre un seul à partir des autopsies. Les autres contaminants ne sont isolés sur aucune des amygdales des 42 porcelets inclus dans l'étude comparative, quelle que soit la méthode.

Le tableau 5 montre que la pollution des biopsies et celle des bactériologies sur amygdales après autopsie sont à peu près similaires. Les biopsies sont plus polluées que les autopsies

dans 27 % des cas, et les autopsies plus polluées que les biopsies dans 32 % des cas.

2.3.2. Étude en élevages

Les résultats sont présentés dans le tableau 6. Les 3 élevages sont des naisseurs-engraisseurs de 80 à 120 truies, avec antécédents de rhinite atrophique. Dans l'élevage A, une série de 15 écouvillons nasaux effectuée en décembre 1989 sur porcs de 5 mois avait déjà permis d'isoler une *Pm* sur 1 prélè-

TABLEAU 6
RÉSULTATS DES BIOPSIES EFFECTUÉES EN ÉLEVAGES

Age du porc	Résultats bactériologiques		
	Elevage A	Elevage B	Elevage C
8 semaines	0	0	0
8 semaines	0	0	<i>Pm</i> tox(-)
8 semaines	0	<i>Pm</i> tox(-)	0
8 semaines	0	<i>Pm</i> tox(-) et <i>Apl</i> biovar1 sérovar12	0
8 semaines	0	/	<i>Pm</i> tox(+)
5 mois	0	<i>Pm</i> tox(+)	0
5 mois	0	<i>Pm</i> tox(+)	0
5 mois	<i>Pm</i> tox(-)	<i>Pm</i> tox(-) et <i>Apl</i> biovar 2	<i>Pm</i> tox(+)
5 mois	0	0	0
5 mois	<i>Pm</i> tox(-) et <i>Apl</i> biovar1 sérovar3	<i>Pm</i> tox(-) et <i>Apl</i> biovar2	-

0 = absence de contaminants bactériens

Pm tox(+) = souche de *Pm* productrice de toxine

vement (non productrice de toxine), et une *Bb* sur 9 prélèvements. Dans l'élevage B, 2 porcelets autopsiés en août 1990 avaient permis la détection d'une *Pm* productrice de toxines, alors que des écouvillons nasaux réalisés parallèlement étaient négatifs ; des signes cliniques nets de rhinite existent (déviations de groins).

Des *Pm* sont isolées dans les trois élevages. Deux d'entre eux sont également infectés par différents sérovars d'*Apl*.

3. DISCUSSION

3.1. Fréquence des contaminants bactériens

Les résultats des autopsies de porcelets montrent que les trois contaminants respiratoires bactériens qui peuvent être considérés comme majeurs - *Actinobacillus pleuropneumoniae*, souches productrices de toxines de *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis II* - sont absents ou quasi-absents des élevages de sélection bretons. Cet excellent résultat doit toutefois être considéré avec prudence :

- pour des raisons de coût, seulement 3 porcelets par élevage sont autopsiés ; cela ne constitue pas un échantillon représentatif de l'élevage, ni en termes quantitatifs (nombre de prélèvements par rapport au nombre d'ani-

maux présents), ni en termes qualitatifs (stade physiologique des animaux prélevés).

- les méthodes de laboratoire mises en oeuvre évoluent rapidement dans le sens d'une plus grande sensibilité ; des milieux de culture de plus en plus sélectifs sont employés.

Les sites d'isolement les plus fréquents sont les cavités nasales (*Pm*, *Bb*, *Hp*, *SsII*) et les amygdales (*Pm*, *Apl*, *SsII*). Les isollements sur poumons sont rares, et le plus souvent concomitants d'isollements sur amygdales. Les poumons n'apportent pas non plus d'informations majeures sur le plan des lésions macroscopiques : les lésions de pneumonie sur porcelets, dont la fréquence dans les élevages étudiés est très faible, ne sont en relation ni avec les contaminations bactériennes, ni avec les lésions de pneumonie sur les porcs charcutiers contemporains dans les mêmes élevages. La poursuite de l'étude permettra dans quelques mois d'analyser les relations entre contaminants sur porcelets et lésions sur porcs charcutiers issus des mêmes bandes, et donc abattus 3 mois plus tard.

En revanche, une relation statistiquement significative existe entre, d'une part la présence de *Pm*, d'autre part la fréquence des lésions de rhinite sur les porcs charcutiers contemporains, et les lésions de rhinite sur porcelets. Une autre liaison forte, entre les lésions de rhinite sur porcelets et le portage d'*Hp*, est

plus difficile à expliquer ; *Hp* peut constituer, soit un agent pathogène, soit un germe de sortie.

Les résultats de la présente étude peuvent être comparés à ceux de l'enquête effectuée en 1984-85 dans 54 élevages de sélection et de multiplication du Grand-Ouest de la France, choisis parmi les plus performants (MAILLET, 1986). Dans chaque élevage 3 porcelets de 8 à 11 semaines étaient autopsiés. La fréquence de *Bb*, *Hp* et *SsII* est restée à peu près stable entre 1984 et 1990. En revanche, la fréquence d'isolement de *Pm* est multipliée par 2,5 entre les deux dates. Toutefois, il est difficile de tirer des conclusions précises, car les méthodes utilisées par les laboratoires d'analyse ont considérablement évolué depuis 6 ans. Seuls deux milieux de culture étaient utilisés à l'époque : un milieu de base et un milieu sélectif pour *Bb* (MADEC et al., 1986).

3.2. Sensibilité des différents types de prélèvements

Les écouvillons nasaux ou d'amygdales n'apparaissent pas constituer une technique intéressante. Si l'on raisonne en termes de sensibilité, en calculant la proportion des porcs infectés révélés par cette technique de dépistage, parmi l'ensemble des porcs infectés révélés par la technique de référence (bactériologie sur le même site après autopsie), on observe une sensibilité de l'ordre de 70 % pour *Bb* (en termes d'élevages). En revanche *Pm* et *Hp* n'ont jamais été isolés. La cause principale semble résider dans la pollution importante de ce type de prélèvements par des bactéries banales ou de surface, en particulier des *Proteus* et des *Microcoques*. Le développement des contaminants majeurs dans les milieux de culture est ainsi compromis. Une étude antérieure (MADEC et al., 1986) aboutit à une conclusion voisine en comparant, dans des élevages de production, les résultats d'autopsies de 3 porcelets et ceux d'écouvillonnages nasaux sur 5 autres animaux issus des mêmes bandes ; la sensibilité des écouvillonnages est de l'ordre de 100 % pour *Bb* et de seulement 60 % pour *Pm*. Les biopsies d'amygdales constituent au contraire une technique intéressante. Tous les élevages détectés comme porteurs d'un ou plusieurs contaminants par la méthode classique (bactériologie sur amygdale de porcelets sacrifiés) ont été également détectés par biopsie. Pour *Pm*, la sensibilité, telle que définie précédemment, est de 100 % en termes d'élevages et de 70 % en termes de porcelets. L'essai conduit dans les 3 élevages confirme la facilité d'isolement de *Pm* et *Apl*, et apporte une réponse positive à d'autres préoccupations :

- innocuité pour l'animal ;
- rapidité du prélèvement : quelques secondes par porc une fois la contention effective ; 50 mn au total dans un élevage pour 10 prélèvements ;
- rigueur statistique accrue : les tables statistiques (ELOIT et KOUTCHOUKALI, 1984) montrent que, par l'autopsie de trois porcelets, on ne détectera au moins un positif (pour un contaminant donné) que si une proportion d'au moins 70 % des animaux du cheptel est infectée ; les taux d'infection sont ainsi très largement sous-estimés. Avec un échantillon de 9 ou 10 porcs, les élevages où plus de 30 % des porcs sont infectés, seront détectés. Si l'échantillon passe à 14 porcs, on dépiste les élevages au-delà du taux d'infection de 20 %.

3.3. Situation dans les pays étrangers

Le recours à des autopsies de porcelets en tant que méthode d'investigation épidémiologique à grande échelle semble exceptionnel. DE JONG (1983) proposait d'autopsier 1 ou 2 groupes de 5 porcelets dans les élevages hollandais de sélection-multiplication suspects de rhinite atrophique. Mais les techniques finalement retenues dans ce pays sont les écouvillonnages et les biopsies (DE JONG, 1988). Dans chaque élevage le protocole minimum consiste à réaliser 5 écouvillonnages nasaux sur porcelets de 4 semaines, 5 autres sur porcs de 8 semaines, et 5 biopsies d'amygdales sur porcs de 5 à 6 mois. Les souches de *Pm* productrices de toxines sont plus fréquentes à 4 semaines et à 6 mois qu'aux autres stades physiologiques.

En Grande-Bretagne, il est prévu que les élevages de sélection considérés comme indemnes de rhinite atrophique par la Pig Health Control Association, subissent un screening en vue du dépistage des souches de *Pm* productrices de toxine (GOODWIN et al., 1990). La méthode retenue est l'écouvillonnage nasal, qui donne de bons résultats puisqu'une étude préliminaire dans 4 élevages infectés a permis d'isoler *Pm* sur 5 % à 50 % des prélèvements, en fonction du stage physiologique. C'est sur les truies et sur les porcs charcutiers que la fréquence d'isolement est la plus grande.

Au Danemark, 4 000 écouvillonnages nasaux ont été effectués dans les 215 élevages de sélection-multiplication considérés comme Specific Pathogen Free (FOGED et al., 1990). Dans 6 des 215 cheptels, des *Pm* productrices de toxine sont isolées.

D'autres pays ont étudié la fréquence des *Pm* dans les élevages conventionnels (naisseurs-engraisseurs ou engraisseurs), grâce à la technique d'écouvillonnage nasal. En Suède, entre 1984 et 1987, 5 600 prélèvements sont effectués dans plus de 140 élevages ; près d'un tiers d'entre eux sont positifs pour *Pm*, des souches toxigènes étant isolées sur 4 % des prélèvements. La fréquence de *Pm* est la même dans les élevages considérés cliniquement comme indemnes de rhinite et dans les élevages atteints de rhinite ; mais la fréquence de *Pm* toxigènes est dix fois plus élevée dans le second groupe.

Au Danemark, en 1984-85, 1 360 prélèvements sont réalisés dans 68 élevages conventionnels (10 écouvillonnages sur porcelets de 4 semaines et 10 sur porcs de 10 semaines) ; 59 % des cheptels sont infectés par des souches de *Pm* productrices de toxine, mais le nombre de prélèvements positifs par élevage infecté n'est en moyenne que de 3 sur 10.

Paradoxalement, dans la majorité des études épidémiologiques menées à l'étranger sur les contaminants respiratoires bactériens, c'est donc la technique d'écouvillonnage qui est utilisée. Toutefois, les quelques travaux portant sur les biopsies concluent à la supériorité de cette technique par rapport à la précédente. C'est le cas, déjà cité, de DE JONG (1988), confirmé par VAN LEENGOED et al. (1986), qui montrent que la sensibilité des biopsies est 2 à 3 fois supérieure à celle des écouvillonnages nasaux pour *Pm*.

CONCLUSION

Les biopsies d'amygdales et les écouvillonnages nasaux ou d'amygdales constituent des types de prélèvements qui offrent

un avantage incontestable par rapport aux autopsies de porcelets : moins coûteux puisqu'ils évitent de sacrifier des animaux, ils permettent d'élargir la base d'échantillonnage et d'augmenter la précision statistique. C'est probablement pour cette raison qu'ils sont fréquemment utilisés dans la plupart des pays producteurs de porcs. La présente étude montre que la sensibilité des bactériologies effectuées sur biopsies est très supérieure à celle sur écouvillons. La méthode des biopsies d'amygdales constitue par conséquent un outil intéressant pour le dépistage des contaminants bactériens respiratoires

dans les élevages de sélection-multiplication.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été conduite dans le cadre du programme sanitaire régional mis en place en Bretagne sous la maîtrise d'oeuvre de l'UGPVB et avec le concours financier de l'OFIVAL. Nous remercions également vivement l'ensemble des vétérinaires des groupements de producteurs porcins, qui ont participé activement à la réalisation de ce travail.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- COWART R.P., BACKSTROM L., BRIM T.A., 1989. Can. J. Vet. Res., 53, 295-300.
- DE JONG M.F., 1983. in Workshop CEE «Atrophic Rhinitis», Copenhagen, 25-26.05.83, 52-60.
- DE JONG M.F., 1988. in «Les programmes de suivi sanitaire des élevages de sélection-multiplication. Séminaire ITP, Rennes, 26-27.04.88, 74-82.
- ELOIT M., KOUTCHOUKALI M.A., 1984. Epidemiol. Santé anim., (6) 61-73.
- FOGED N.T., NIELSEN J.P., BARFOD K., 1990. 11th Congress of Int. Pig Vet. Soc., Lausanne, 49.
- GOODWIN R.F.W., CHANTER N., RUTTER J.M., 1990. Vet. Record, 126, 452-456.
- LE FOLL P., 1990. The pig health scheme in nucleus and multiplier herds in Brittany ; organisation and first results. 41st Meeting of EAAP, juillet 1990, Toulouse, France.
- MADEC F., KOBISCH M., LE MENEZ M., 1986. Journées Rech. Porcine en France, 18, 331-340.
- MAILLET N., KOBISCH M., 1984. Journées Rech. Porcine en France, 16, 233-240.
- MAILLET N., 1986. Résultats d'enquête en sélection-multiplication. Document ITP, 95 pp.
- NIELSEN J.P., PEDERSEN K.B., WILLEBERG P., 1986. 9th Congress of Int. Pig Vet. Soc., Barcelona, 239.
- RUTTER J.M., TAYLOR R.J., CRIGHTON W.G., ROBERTSON I.B., BENSON J.A., 1984. Vet. Record, 115, 615.
- SMITH I.M., BASKERVILLE A.J., 1979. Research Vet. Science, 27, 187-192.
- SÖDERLIND O., NORQVIST M., THAFVELIN B., 1988. 6th Int. Congress on Animal Hygiene, Skara (Suède), 14-17.06.88, Vol. II, rapport 21.
- VAN LEENGOED L.A., KAMP E.M., VECHT U., 1986. 9th Congress Int. Pig Vet. Soc., Barcelona, 227.