

Etude du statut microbiologique des porcelets issus de truies opérées par hystérectomie aseptique

Jean-Philippe MOYSAN (1), Alain CHAUVIN (2), Sylviane BOULOT (3), Frédéric PABOEUF (1)

(1) Anses, Service de Production de Porcs Assainis et d'Expérimentation, BP 53, 22440 Ploufragan, France

(2) INRAE, UEPR, 16 le Clos, 35520 Saint-Gilles

(3) Ifip Institut du porc, La Motte au Vicomte, BP35104, 35651 Le Rheu

jean-philippe.moysan@anses.fr

Microbiological status of piglets from sows subjected to aseptic hysterectomy

Production of axenic piglets is a prerequisite in many studies related to swine pathogens and particularly for the study of digestive microbiota of animals. However, despite stringent procedures implemented at the Anses laboratory in Ploufragan, France, true axenic piglets have never been produced. Piglets are always contaminated by non-pathogenic germs from the environment. A microbiological study was carried out to identify the origin and nature of the germs involved in the contamination of piglets born from an aseptic hysterectomy. The hysterectomy was performed in a nearly aseptic room. Samples from some of the piglets were taken under sterile conditions. All areas in contact with piglets, such as the operating environment, the mother's vagina, the uterus, and the amniotic fluid, as well as the piglets themselves (skin, respiratory and digestive organs) were also tested microbiologically. Potentially colonizing germs were not found in the piglets' internal organs but were found on body parts in direct contact with the environment, such as the skin, throat and snout. These germs were mainly saprophytic and commensal germs common in the environment. Finally, in our experimental conditions, the axenic status of the piglets was not assured. Solutions to guarantee this status are currently sought, in particular based on optimizing several treatment methods described in the literature, such as washing piglets by passing them through antiseptic solutions.

INTRODUCTION

Le Service de Production de Porcs Assainis et d'expérimentation du Laboratoire de l'Anses Ploufragan-Plouzané-Niort produit des porcs Exempts d'Organismes Pathogène Spécifiés ou EOPS. Le statut et la stabilité sanitaires de ces animaux contribuent à la robustesse des modèles expérimentaux développés depuis plus de 40 ans par les scientifiques du Laboratoire.

Ces porcs, indemnes de tous les contaminants spécifiés de l'espèce, ne sont pas axéniques. Dans nos conditions de production, les animaux issus d'opérations d'hystérectomie aseptiques et réanimés dans un isolateur stérile sont exposés à des contaminations par des flores communément présentes dans l'environnement (Cariolet *et al.*, 1987). L'origine de ces contaminations est à ce jour encore mal connue.

L'objectif de cette étude était de déterminer le statut microbiologique des porcelets issus de truies opérées par hystérectomie aseptique et cela avant leur extraction des cornes utérines.

1. MATERIEL ET METHODE

Deux truies de race Large White, d'un statut sanitaire très satisfaisant, qui provenaient d'un élevage de sélection externe à l'ANSES, sous filtration d'air, ont été transférées à l'INRAE à Saint-Gilles (35) pour y être opérées par hystérectomie aseptique le 2 octobre 2018. La durée des gestations antérieures a conditionné le choix des animaux de telle sorte que les truies étaient théoriquement à 48 heures et 72 heures du terme le jour des opérations (respectivement 112 jours et 113 jours de gestation).

Dans les 24 heures précédant les opérations, les truies ont été lavées. Après avoir été anesthésiées et positionnées en décubitus dorsal sur une table d'opération, une solution à base de Bétadine® a été appliquée le long et de part et d'autre de la ligne blanche de l'abdomen. La paroi abdominale de chaque truie a ensuite été incisée, les cornes utérines et une partie du col de l'utérus ont été extraites et placées dans un drap. L'ensemble a ensuite été transféré dans un isolateur ventilé, équipé d'un système de filtration de l'air, maintenu en pression positive et équipé d'un sas liquide de transfert permettant d'isoler la partie interne de l'isolateur de l'environnement extérieur.

Pour chaque truie, 4 porcelets ont été isolés dans leur portion utérine. La section choisie était localisée au milieu d'une des deux cornes. Les extrémités des deux sections étaient maintenues fermées par des colliers de serrage. Ces porcelets n'ont par conséquent jamais été en contact direct avec l'environnement extérieur. Ils ont été maintenus dans l'utérus et placés dans des containers de transfert stériles. Ces containers ont ensuite été transportés puis ouverts sous une hotte. Des prélèvements ont alors été réalisés dans des conditions aseptiques, notamment grâce à l'utilisation de plusieurs becs bunsen. Les autres animaux ont été extraits de la matrice puis réanimés dans l'isolateur.

Les salles d'opération et de prélèvement, l'intérieur de l'isolateur et des containers ont été décontaminés par nébulisation d'une solution d'acide peracétique à 4,5 % avant le démarrage de cette expérimentation. Le matériel chirurgical a été stérilisé par autoclavage à 121°C durant 15 minutes. Le sas liquide pour le transfert de l'utérus vers l'enceinte de l'isolateur stérile contenait un mélange d'eau et d'Hibitan® (5 %). Entre les deux opérations, un litre d'Hibitan® a été ajouté dans ce sas. Une désinfection des parois de l'isolateur par aspersion de Phargosurf® a été réalisée entre les deux opérations.

Le statut sanitaire de l'isolateur a été contrôlé par des prélèvements de surface avant le démarrage de la procédure, à la suite de la première opération, avant la seconde opération après un lavage et une désinfection de surface de l'enceinte interne de l'isolateur puis après la seconde opération. Un prélèvement vaginal a été effectué à l'aide d'un écouvillon avant la laparotomie des deux truies. La peau, différents segments du système digestif, le cordon ombilical, des organes du système respiratoire ainsi que le liquide amniotique entourant les porcelets ont fait l'objet d'écouvillonnages soit 10 prélèvements par porcelet.

Ces prélèvements ont été placés en incubation à 32°C dans un milieu Thioglycolate avec Résazurine pendant 14 jours. L'identification des germes, pour les prélèvements présentant des troubles, a été effectuée grâce à la technologie Maldi-Tof par le GIP Laboceca des Côtes d'Armor.

2. RESULTATS

Les résultats des analyses du liquide du sas de transfert montrent l'absence d'une flore revivifiable à 37°C.

Les résultats des prélèvements de surface de l'isolateur à l'issue de la première et la seconde opération révèlent la présence d'une contamination (Tableau 1). Par contre, ces contaminants sont absents après la décontamination de surface précédant la deuxième opération.

Les écouvillons réalisés sur les parois des matrices sont stériles. La majorité des écouvillons réalisés sur les organes internes des porcelets le sont également. En effet, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Micrococcus luteus* et *Moraxella sp* sont isolés en monocontamination, respectivement sur un écouvillon cutané abdominal, sur un écouvillon trachéal et sur un écouvillon nasal. *Oerskovia turbata* est également isolé sur un pool de cordons ombilicaux. *Staphylococcus simulans* est isolé sur les gants et le sol de l'isolateur à l'issue de la première et de la seconde opération. Ce contaminant est également présent dans la flore vaginale des truies.

Tableau 1 - Synthèse des résultats positifs en microbiologie

	Germe	Localisation	Commentaire
Flore présente dans l'isolateur	<i>Delftia acidovorans</i>	Gants	Germes présents après la première et la seconde opération
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Gants + sol	
	<i>Staphylococcus simulans</i>	Gants + sol	
Flore Vaginale	<i>Trueperella arborituis</i>	Vagin	Germes présents sur les écouvillons vaginaux
	<i>Streptococcus suis</i>	Vagin	
	<i>Staphylococcus microti</i>	Vagin	
	<i>Actinomyces hyovaginalis</i>	Vagin	
	<i>Escherichia coli</i>	Vagin	
	<i>Actinobacillus sp</i>	Vagin	
	<i>Staphylococcus simulans</i>	Vagin	
Flore des porcelets	<i>Micrococcus luteus</i>	Trachée	Germes présents sur les écouvillons après 72 heures d'incubation
	<i>Oerskovia turbata</i>	Cordon ombilical	
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Peau	
	<i>Moraxella sp</i>	Groin	

3. DISCUSSION

Les prélèvements de surface de l'isolateur avant chaque opération et après décontamination ne révèlent aucun germe. Le protocole appliqué pour la stérilisation du milieu est donc satisfaisant.

L'absence de flore revivifiable à 37°C dans le sas liquide atteste l'absence de germes saprophytes et commensaux communément rencontrés dans l'environnement. Par contre, ces germes sont présents sur les gants et le sol de l'isolateur immédiatement après la première et la seconde opération. Des germes saprophytes et commensaux sont également présents sur les zones externes des porcelets en contact direct avec le liquide amniotique. Ces contaminations restent d'un niveau extrêmement faible (trois résultats positifs sur 82 prélèvements).

La contamination est également spécifique : un seul germe isolé sur chacune des zones contaminées.

D'une manière générale, la présence de germes dans l'isolateur initialement stérile et d'un germe commun (*Staphylococcus simulans*) entre la flore vaginale et celle isolée sur les gants et le sol de l'isolateur immédiatement après les deux opérations montrent qu'il y a un transfert de germes de la truie et/ou de l'environnement externe vers l'enceinte de l'isolateur. Ce passage interviendrait au moment du transfert de la matrice. L'absence de germe dans le liquide du sas de transfert n'est donc pas une garantie absolue du maintien de la stérilité de l'enceinte de l'isolateur.

Enfin, l'absence de germes communs entre la flore vaginale et celle des porcelets ne permet pas d'exclure totalement leur passage *in-utero* dans les jours qui précèdent la mise-bas. Ce transfert pourrait être concomitant à la préparation des truies à la parturition. En effet, le jour des opérations, le col de l'utérus des deux truies était à un stade d'ouverture avancé et le bouchon muqueux en cours de liquéfaction.

CONCLUSION

Dans nos conditions expérimentales, une flore microbienne communément présente dans l'environnement est isolée sur des parties externes des porcelets. Ces contaminations sont cependant d'un niveau très faible. L'origine de ce transfert nécessite de nouvelles investigations, notamment la vérification d'un passage in-utero de germes au moment de l'ouverture du col de l'utérus et de la liquéfaction du bouchon muqueux.

La présence de germes sur les animaux ne permet pas de garantir leur statut axénique. Des germes, présents dans l'isolateur après chaque opération d'hystérectomie, sont également potentiellement à risque pour le statut des porcelets. La mise en œuvre de procédures complémentaires, incluant notamment le lavage des nouveau-nés dans des bains antiseptiques (Gouet *et al.*, 1979), pourra être envisagée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Cariolet R., Tillon J.P., Le Menec M., 1987. Control of the microbiological quality of piglets free of specific pathogenic microorganisms evidence of a flora selected by the decontamination techniques. In Symposium international de gnotobiologie, Pavillon de Recherche-Institut Gustave Roussy.
- Gouet P., Riou Y., Contrepoint M., Dubourguier H.C., Andant G., 1979. Efficacité d'une technique simple de production d'agneaux axéniques et de veaux oligoxéniques par décontamination à la naissance. Annales de Recherches Vétérinaires, 10, 49-54.