

P8604

# MISE A PROFIT D'UN MODÈLE EXPÉRIMENTAL ASSOCIANT *BORDETELLA BRONCHISEPTICA* ET *PASTEURELLA MULTOCIDA* DANS LE CONTROLE DE VACCINS CONTRE LA RHINITE ATROPHIQUE DU PORC

Marylène KOBISCH

Ministère de l'Agriculture, Station de Pathologie Porcine, B. P. 9, Les Croix, 22440 PLOUFRAGAN

avec la collaboration de P. MORVAN, A. LABBE, Marguerite LE MENEZ  
(Laboratoire Vétérinaire Départemental des Côtes-du-Nord), M. M. LE MOINE, Ph. JULOU ET P. ECOBICHON.

Pendant de nombreuses années, *Bordetella bronchiseptica* a été considérée comme l'agent étiologique majeur de la rhinite atrophique du porc. Cependant, si l'infection expérimentale de jeunes porcelets par *Bordetella bronchiseptica* provoque une atrophie des cornets nasaux, les lésions induites sont généralement moins sévères que celles que l'on observe dans les conditions naturelles (DUNCAN *et al.*, 1966 ; HARRIS et SWITZER, 1968 ; SHIMIZU *et al.*, 1971 ; KOBISCH *et al.*, 1979 ; NOVOTNY *et al.*, 1985). En 1980, de JONG *et al.*, montrent que les souches de *Pasteurella multocida*, de type capsulaire D possédant une toxine au pouvoir dermonécrotique, sont capables de produire des lésions nasales graves. Ces mêmes souches associées à *Bordetella bronchiseptica* provoquent une rhinite atrophique dont la sévérité correspond aux observations faites dans les élevages porcins (PEDERSEN et BARFOD, 1981 ; RUTTER et ROJAS, 1982).

Le résultat de ces travaux a conduit de nombreux laboratoires à produire des vaccins bivalents utilisables la plupart du temps chez la truie gestante en vue de la protection passive du porcelet. Afin d'évaluer l'efficacité de ces vaccins, nous nous sommes attachés à mettre au point un modèle expérimental et nous nous proposons d'exposer dans ce rapport le résultat des premiers essais.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1 - LES ANIMAUX ET LES CONDITIONS D'ÉLEVAGE

Les 6 truies primipares utilisées dans l'expérience sont de race Large-White et proviennent de la porcherie protégée de la Station de Pathologie Porcine. 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 truies sont réparties en deux lots : les porcelets de 4 truies sont infectés par *Bordetella bronchiseptica* et *Pasteurella multocida*, les porcelets des deux autres truies ne sont pas infectés et constituent le lot témoin.

## 2 - LES SOUCHES BACTÉRIENNES

\* *Bordetella bronchiseptica*, isolée d'un élevage breton où une forte proportion des animaux sont atteints de rhinite atrophique, est incubée 18 heures à 37 °C en milieu de Bordet-Gengou et possède un titre de  $10^9$  ufc/ml au moment de l'infection.

\* *Pasteurella multocida*, de type capsulaire D est la souche MH 81 - P<sub>4</sub>\* incubée 24 heures à 37 °C sur gélose au sang cuit et possédant un titre de  $10^8$  ufc/ml au moment de l'infection. L'existence du pouvoir dermonécrotique de la toxine est vérifiée par une injection intradermique de 0,2 ml d'un filtrat stérile de la culture à un cobaye.

## 3 - L'INFECTION EXPÉRIMENTALE

37 porcelets sont infectés à l'âge de 2 jours par *Bordetella bronchiseptica* (0,5 ml de la suspension/narine) et par *Pasteurella multocida* 5 jours plus tard (0,5 ml de la suspension/narine).

Les 13 porcelets du lot témoin reçoivent les milieux de culture dans les conditions précédemment décrites.

## 4 - ÉTUDE CLINIQUE

La température corporelle et les signes cliniques sont notés (la toux et les éternuements sont décomptés par fréquence durant une période d'observation quotidienne de 10 mn). Des ponctions sanguines sont effectuées chaque semaine sur l'ensemble des animaux. La croissance des porcelets est évaluée par des pesées hebdomadaires.

## 5 - SACRIFICE DES ANIMAUX

Les dates de sacrifice des porcelets ont été choisies en fonction des événements les plus marquants de la vie d'un porcelet : 4, 7 et 11 semaines d'âge. Les truies sont sacrifiées au moment du sevrage des porcelets (à 28 jours).

## 6 - EXAMENS NÉCROPSIQUES ET RECHERCHES DE LABORATOIRE

Chaque porcelet, mort ou sacrifié, fait l'objet d'un examen nécropsique plus particulièrement orienté vers la recherche des lésions de l'appareil respiratoire. 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 leur importance en tenant compte de l'intensité de l'atrophie des volutes nasales ainsi que de la déformation éventuelle de la cloison médiane (tableau 1). Le prognathisme inférieur est également enregistré.

TABLEAU 1  
CLASSEMENT DES LÉSIONS NASALES

Aspect macroscopique normal	Atrophie partielle des cornets nasaux	Atrophie nette des cornets nasaux	Disparition des cornets nasaux	Disparition des cornets nasaux déviation de la cloison médiane
0	+	++	+++	++++

\*Nous remercions vivement J. M. RUTTER du laboratoire de Compton de nous avoir fourni la souche de *Pasteurella multocida*.

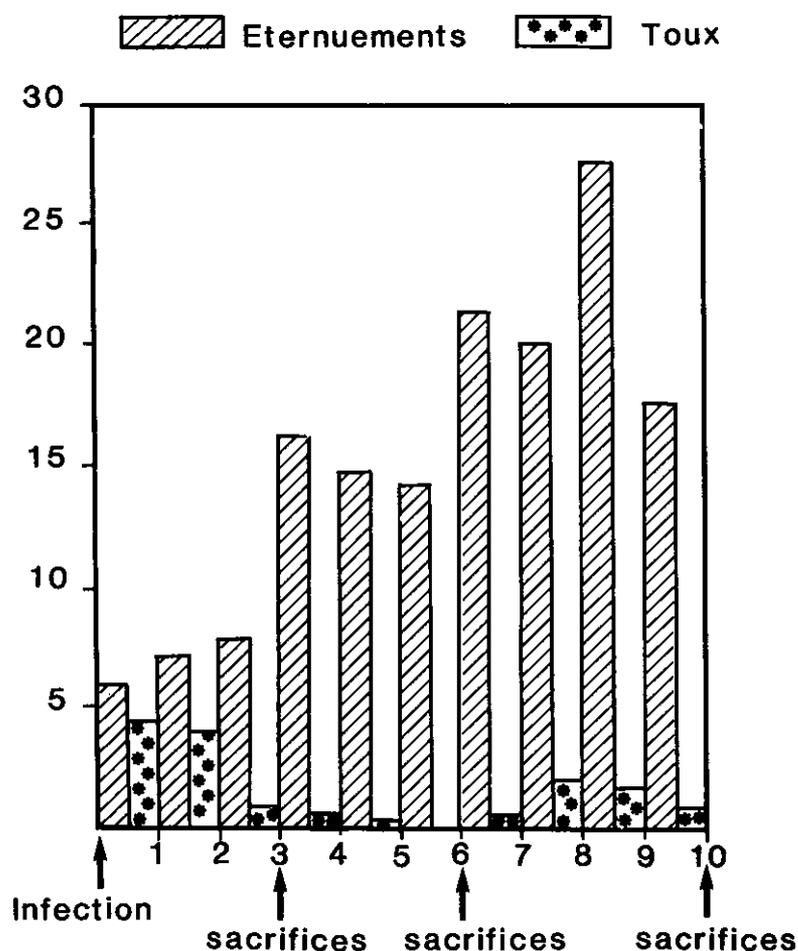
Les lésions pulmonaires sont notées en attribuant une note de 0 à 4 à chacun des 7 lobes (MADEC et KOBISCH, 1982). La recherche de *Bordetella bronchiseptica* et de *Pasteurella multocida* est effectuée à partir des cavités nasales, des poumons ainsi que des autres organes lésés. Les anticorps sériques anti *Bordetella bronchiseptica* sont détectés par une technique d'agglutination lente dont le seuil de positivité est de 1/4 (DESMETTRE, sous presse). Ne disposant pas de test fiable, les anticorps anti *Pasteurella multocida* n'ont pas été recherchés.

## RÉSULTATS

### 1 - SYMPTOMES CLINIQUES

Les truies ne manifestent aucun signe clinique. Les porcelets infectés présentent de l'hyperthermie ( $> 40^{\circ}\text{C}$ ) dans les jours qui suivent l'infection. 8 porcelets meurent entre 24 heures et 17 jours après l'infection par *Pasteurella multocida*. Le nombre de toux et d'éternuements, relevé pendant 10 minutes d'observation quotidienne, évalué par semaine et par porcelet est donné par la figure 1.

FIGURE 1  
ÉVOLUTION DES SYMPTOMES RESPIRATOIRES  
COMPTABILISÉS PAR SEMAINE ET PAR PORC APRÈS 10 MINUTES D'OBSERVATION



Les étternuements débutent dans les heures qui suivent l'infection et leur fréquence augmente progressivement en particulier au-delà de la troisième semaine puis de la sixième semaine après l'infection (ce qui correspond aux dates des premiers sacrifices). La toux, généralement discrète, se manifeste surtout au cours des deux semaines qui suivent l'infection avec une légère tendance à la reprise à la fin de l'expérience. Aucun symptôme n'est relevé chez les animaux témoins.

## 2 - ÉVOLUTION PONDÉRALE DES PORCELETS

La croissance des porcelets est évaluée par le calcul du gain de poids moyen quotidien de la naissance à l'âge de 11 semaines = 310 g chez les porcelets infectés et 439 g chez les porcelets du lot témoin. L'interprétation de ces résultats est délicate dans la mesure où le nombre d'animaux est faible.

## 3 - EXAMENS POST-MORTEM ET RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES

Le résultat des observations macroscopiques est rapporté dans le tableau 2. La plupart des porcelets, morts entre 24 heures et 17 jours après l'infection, présentent soit de la pneumonie sur l'ensemble des lobes pulmonaires, soit une pleurésie fibrineuse associée à une péricardite ou une péritonite. Les cornets nasaux de ces 8 porcelets sont atrophiés partiellement.

**TABLEAU 2**  
EXAMENS POST MORTEM ET RÉSULTATS DE LABORATOIRE

Temps après l'infection par <i>P. multocida</i> (mort* ou sacrifice)	Nombre de porcelets	Pneumonie /28	Pleurésie	Autres lésions	Atrophie des cornets nasaux de 0 à ++++	Recherches bactériologiques		
						Poumons	Cavités nasales	Autres organes
24 heures*	3	20/28 (1/3) 22/28 (1/3)	1/3	péricardite 1/3	0 (3/3)	B.b. 2/3	B.b. 3/3	
3 jours	1	10/28			++	B.b.-P.m.	B.b.-P.m.	
8 jours*	2	18/28 (1/2) 15/28 (1/2)			++ (1/2) +++ (1/2)	B.b. 2/2 P.m. 2/2	B.b. 2/2 P.m. 2/2	
12 jours*	1	0/28	1/1		+++	B.b. P.m.	B.b.	cœur
17 jours*	1	16/28	1/1	péritonite	+++	B.b. P.m.	B.b.	cœur
3 semaines	9	0/28 (5/9) 4/28 (2/9) 5/28 (1/9) 9/28 (1/9)			+++ (8/9) ++++ (1/9)	B.b. (5/9) P.m. (1/9)	B.b. (8/9) P.m. (5/9)	
6 semaines	6	0/28 (1/6) 4/28 (1/6) 7/28 (1/6) 11/28 (1/6) 12/28 (1/6) 16/28 (1/6)	1/6	abcès (1/16)	++++ (6/6) prognathisme inférieur de 1,5 à 2 cm	B.b. (3/6) P.m. (2/6)	B.b. (4/6) P.m. (6/6)	
10 semaines	14	0/28 (5/14) 2/28 (1/14) 3/28 (2/14) 5/28 (1/14) 7/28 (1/14) 8/28 (2/14) 10/28 (1/14) 12/28 (1/14)	1/14		++++ (14/14) prognathisme inférieur = 2,5 cm	B.b. (0/14) P.m. (0/14)	B.b. (6/14) P.m. (9/14)	

Les animaux sacrifiés à 4, 7 et 11 semaines d'âge sont, dans la majorité des cas, porteurs de pneumonie d'étendue variable et en voie de cicatrisation à la fin de l'expérience. Des lésions de la plèvre associées à des abcès pulmonaires sont également notées chez deux porcs. Dès la troisième semaine suivant l'infection par *Pasteurella multocida*, on remarque la disparition totale des cornets nasaux ainsi qu'une déviation de la cloison médiane à partir de la sixième semaine. Ces lésions sont accompagnées d'une torsion du groin. Le prognathisme inférieur varie de 1,5 à 2,5 cm.

*Pasteurella multocida* n'est pas retrouvée dans les voies et organes respiratoires des animaux morts 24 heures après l'infection. Le réisolement des deux germes est positif chez les 6 porcs morts entre 3 et 17 jours après l'infection par *Pasteurella multocida*. Cette bactérie n'est cependant pas mise en évidence dans les cavités nasales de deux des six porcs. Le tableau 3 indique les pourcentages de réisolement des deux germes au moment du sacrifice des porcelets. Le nombre de ces réisollements diminue généralement avec l'âge et s'annule même au niveau des poumons après la dixième semaine. Les deux germes sont hébergés au niveau des cavités nasales de la plupart des porcelets. *Bordetella bronchiseptica* est fréquemment isolée dans les semaines qui suivent l'infection puis *Pasteurella multocida* devient dominante : ainsi à la sixième semaine, 100 % des cavités nasales et 33 % des poumons sont contaminés, contre 55 % et 11 % à la troisième semaine. A la fin de l'expérience, une forte proportion des animaux est encore infectée.

**TABLEAU 3**  
RÉISOLEMENTS DE *BORDETELLA BRONCHISEPTICA* ET DE *PASTEURELLA MULTOCIDA*  
AU MOMENT DU SACRIFICE DES PORCELETS (RÉSULTATS EXPRIMÉS EN POURCENTAGES)

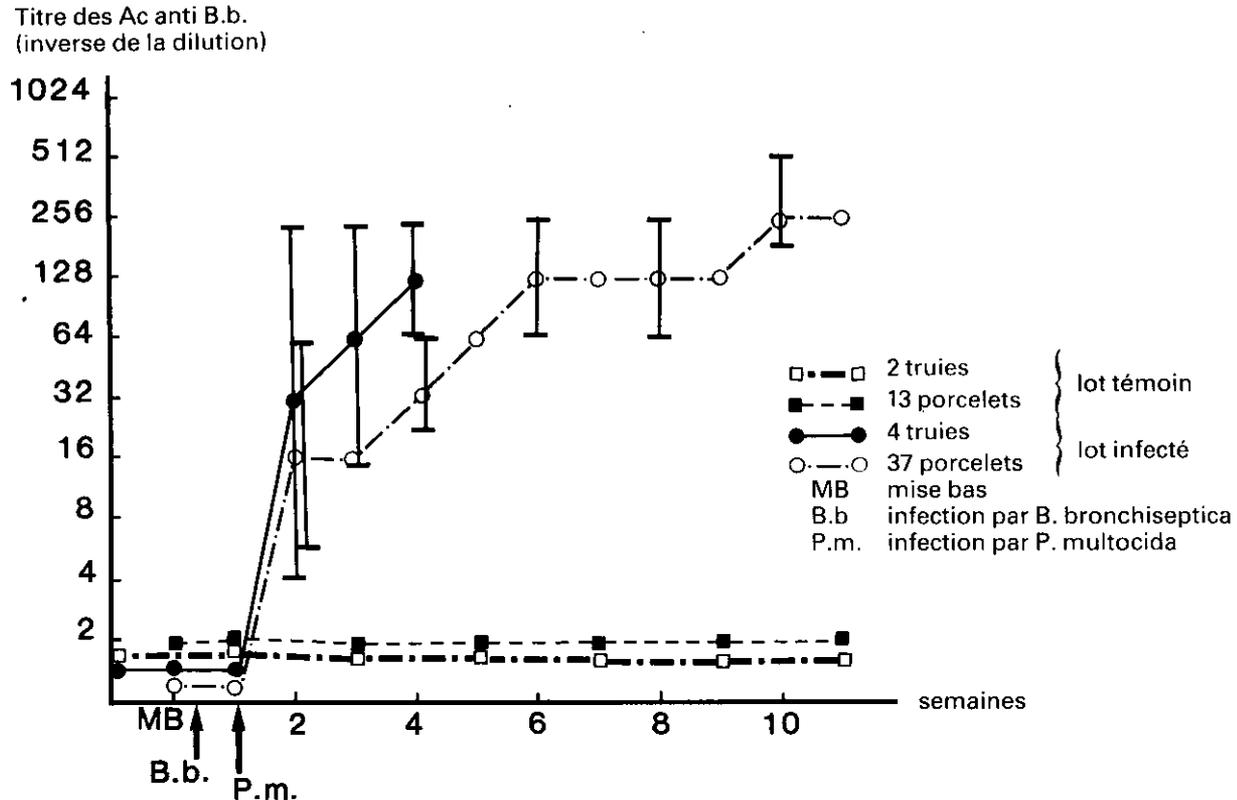
temps près l'infection par <i>P. multocida</i>	Réisollements bactériens	<i>Bordetella bronchiseptica</i>		<i>Pasteurella multocida</i>	
		poumons	cavités nasales	poumons	cavités nasales
3 semaines		55	88	11	55
6 semaines		50	66	33	100
10 semaines		0	42	0	64

Les animaux du lot témoin ainsi que les 6 truies sacrifiées au moment du sevrage des porcelets sont dépourvus de lésions et aucun germe pathogène spécifique n'est isolé des voies ou organes respiratoires.

#### 4 - RECHERCHES SÉROLOGIQUES

La figure 2 présente la cinétique d'apparition des anticorps dans le sérum des animaux. L'infection par *Bordetella bronchiseptica* induit la synthèse d'anticorps chez les porcelets infectés mais également chez les quatre truies appartenant à ce lot. La technique d'agglutination lente détecte les anticorps dès le douzième jour suivant l'infection. Les réactions individuelles sont cependant très variables, en particulier chez les truies au début de l'expérience où les écarts peuvent atteindre six dilutions. Durant les quatre semaines qui suivent l'infection des porcelets, le taux moyen des anticorps chez les truies est supérieur à celui des porcelets. Le titre des anticorps, qui diffère assez peu d'une portée à l'autre, augmente régulièrement chez les porcelets pour atteindre une valeur moyenne de 1/256 à la fin de l'expérience, soit 11 semaines après l'infection. Les truies ainsi que les porcelets du lot témoin sont dépourvus d'anticorps.

**FIGURE 2**  
CINÉTIQUE D'APPARITION DES ANTICORPS ANTI *B. BRONCHISEPTICA*  
DANS LE SÉRUM DES TRUIES ET DES PORCELETS INFECTÉS (TITRE MOYEN)



## DISCUSSION

Dans les conditions de l'expérience, l'association de *Bordetella bronchiseptica* et de *Pasteurella multocida* provoque la mort de 21 % des porcelets, induit des signes cliniques, des lésions pulmonaires et une atrophie des cornets nasaux. Si nous comparons les résultats d'expériences précédentes (KOBISCH, 1983) à ceux qui viennent d'être décrits, nous constatons que *Bordetella bronchiseptica* seule produit des lésions pulmonaires chez une forte proportion de porcs (92 %), alors que seuls 64 % sont atteints lors de l'infection mixte. Dans ce cas, les lésions nasales sont plus graves et apparemment irréversibles associant une atrophie complète des cornets nasaux, une torsion du groin et un prognathisme inférieur net. De telles observations ont été décrites par d'autres auteurs (RUTTER et ROJAS, 1982 ; RUTTER, 1983).

Dans le cadre de cette étude nous n'avons pas constaté de reconstitution osseuse au niveau des cornets nasaux, ainsi que nous l'avions mentionné dans les expériences d'infection unique (KOBISCH *et al.*, 1984). PEDERSEN et ELLING (1984) formulent l'hypothèse que certains facteurs émis par *Pasteurella multocida* stimuleraient la résorption de l'os tout en empêchant sa synthèse ce qui expliquerait l'absence de reconstitution osseuse après une infection par cette bactérie.

Dix semaines après l'infection, *Bordetella bronchiseptica* et *Pasteurella multocida* continuent à être présentes dans les cavités nasales de nombreux animaux, ce qui est en accord avec les travaux de GOÏS *et al.*, (1983). Les recherches bactériologiques effectuées chez les quatre truies du lot infecté se sont révélées négatives au niveau de l'appareil respiratoire. Ces animaux ont cependant été contaminés par leurs porcelets puisque des anticorps sériques vis-à-vis de *Bordetella bronchiseptica* ont été détectés.

Cette expérience confirme le rôle déterminant joué par *Bordetella bronchiseptica* et *Pasteurella multocida* dans l'étiologie de la rhinite atrophique du porc. Il est cependant possible de produire des lésions des cornets nasaux en infectant des porcelets à l'aide de *Pasteurella multocida* seule (MARTINEAU *et al.*, 1982) ou en injectant la toxine de *Pasteurella multocida* par voie péritonéale (RUTTER et MAKENSIE, 1984). De récents travaux nous ont conduits à des observations analogues (KOBISCH, résultats non publiés). Les connaissances actuelles accordent un rôle prépondérant à la toxine de *Pasteurella multocida* (type capsulaire D) dans la genèse de la rhinite atrophique, en revanche il ne semble pas exister de lien entre l'existence de toxines chez *Bordetella bronchiseptica* et l'établissement de la maladie chez l'animal (SHÖSS et THIEL, 1984). Le modèle expérimental qui vient d'être décrit doit pouvoir être utilisé dans le contrôle de l'efficacité de vaccins contre la rhinite atrophique qui constitue l'un des problèmes majeurs des élevages porcins.

## BIBLIOGRAPHIE

- DUNCAN J. R., ROSS R. F., SWITZER W.P., RAMSEY F. K., 1966. Am. J. Vet. Res., **27**, 457-466.
- GOÏS M., BARNES H. J., ROSS R. F., 1983. Am. J. Vet. Res., **44** (3), 372-378.
- HARRIS L. D., SWITZER W. P., 1968. Am. J. Vet. Res. **29**, 777-785
- de JONG M.F., OIE H.L., TETENBURG G.I., 1980. AR-pathogenicity-tests for *Pasteurella multocida* isolates. Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congress, Copenhagen, p. 211.
- KOBISCH M., TILLON J. P., PERRIN G., 1979. Rec. Med. Vet. **155**, 225-232.
- KOBISCH M. 1983. Passive protection against experimental infection with *Bordetella bronchiseptica*: efficacy evaluation of 7 vaccines. Commission of European Communities: Atrophic rhinitis - p. 177-192.
- KOBISCH M., LAGADIC M., LE MENEZ M., IRGENS K., 1984. Rec. Med. Vet. **6**, 573-579.
- MADEC F., KOBISCH M., 1982. Journées Rech. Porcine en France, **14**, 405-412.
- MARTINEAU G. P., BROES A., de JONG M. F., MARTINEAU-DOIZE B., 1982. Experimental reproduction of atrophic rhinitis with *Pasteurella multocida* on gnotobiotic and conventional piglets. Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Congress. Mexico, p. 88.
- NOVOTNY P., KOBISCH M., COWNLEY K., CHUBB A. P., MONTARAZ J. A., 1985. Inf. and Imm. **50** (1) (sous presse).
- PEDERSEN K. B., BARFOD K., 1981. Nord. Vet. Med., **23**, 513-522.
- PEDERSEN K. B., ELLING F., 1984. J. Comp. Pathol. **94** (2) 203-214.
- RUTTER J. M., ROJAS X., 1982. Vet. Rec., **110**, 531-535.
- RUTTER J. M., 1983. Res. Vet. Sc. **34**, 287-295.
- RUTTER J. M., MACKENSIE A. 1984. Vet. Rec. **114**, 89-90.
- SCHÖSS P., THIEL C. P., 1984. Occurrence of toxin producing strains of *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* in pig herds with atrophic rhinitis and in unaffected herds. Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Congress. Ghent p. 162.
- SHIMIZU T., NAKAGAWA M., SHIBATA S., SUZUKI K., 1971. Cornell Vet. **61**, 695-705.