

LES MODELES EXPERIMENTAUX DANS LA PATHOLOGIE PULMONAIRE DU PORC : LEUR INTERET POUR EVALUER L'ACTIVITE DES MOLECULES

Marylène KOBISCH (1), F. GENIN (2)

(1) Ministère de l'Agriculture, Station de Pathologie Porcine, BP 9 22440 PLOUFRAGAN

(2) Rhône-Poulenc Animal Nutrition, 20 Avenue Raymond Aron, 92165 Antony Cédex

avec la collaboration de P. MORVAN (1), ANNIE LABBE (1), R. CARIOLET (1)

INTRODUCTION

La pneumonie et la pleuro-pneumonie sont deux affections fréquemment rencontrées dans les élevages porcins. La pneumonie enzootique, dont l'agent étiologique primaire est *Mycoplasma hyopneumoniae*, évolue parfois vers une pneumopathie complexe où s'associent virus, mycoplasmes et bactéries (CIPRIAN et al, 1986 ; BAEKBO, 1988). La pleuro-pneumonie causée par *Actinobacillus pleuropneumoniae* et décrite en France depuis 1979 (PERRIN et al) a une incidence économique qui varie selon qu'elle entraîne des symptômes cliniques ou de la mortalité, qu'elle évolue sous une forme chronique ou qu'elle concerne des porteurs asymptomatiques.

Le contrôle des troubles respiratoires est d'abord d'ordre sanitaire, ainsi la maîtrise simultanée des 11 paramètres retenus par MADEC (MADEC et JOSSE, 1981) constitue le remède le plus adéquat. Cependant, la mise en place d'une prophylaxie médicale rationnelle reste complémentaire. Les vaccins contre les affections pulmonaires sont encore à ce jour au stade expérimental, mais certains agents anti-infectieux sont quant à eux, parfois distribués dans l'aliment des animaux infectés et constituent une aide efficace. A cet égard, nous nous sommes attachés à mettre au point des modèles d'infection expérimentale qui offrent la possibilité d'évaluer l'action des molécules in vivo et de compléter les informations fournies par l'antibiogramme ou la C.M.I. (concentration minimale inhibitrice). En effet, le simple contact de la bactérie et de la molécule in vitro n'est pas toujours le reflet de l'activité de cette dernière chez l'animal.

Dans cette étude, nous nous proposons de décrire deux modèles d'infections expérimentales utilisant *Mycoplasma hyopneumoniae* ou *Actinobacillus pleuropneumoniae* et d'évaluer l'action d'un macrolide qui présente une affinité marquée pour les tissus dans lesquels il se concentre : la Spiramycine (VIDEAU, 1978 ; CHMITELIN, 1987).

1. LES MODELES EXPERIMENTAUX

1.1. *Mycoplasma hyopneumoniae*

Le protocole expérimental et les résultats sont regroupés dans

le tableau 1.

1.1.1. Protocole expérimental

L'infection est effectuée chez des porcelets E.O.P.S de 16 jours d'âge (soit un jour après le sevrage) ainsi que chez des porcelets de 8 semaines d'âge (c'est-à-dire au moment où les animaux se trouvent dans les locaux de post-sevrage et se révèlent particulièrement sensibles à l'infection dans les conditions de l'élevage). La souche de *Mycoplasma hyopneumoniae* BQ14 utilisée a été isolée chez un porc de 10 semaines d'âge présentant des lésions de pneumonie. Chaque porcelet est infecté par voie trachéale, à raison de 5.10^8 organismes. Les animaux témoins reçoivent le milieu de culture (FRIIS 1975) dans les mêmes conditions. Les porcelets des différents lots sont sacrifiés entre 6 et 12 semaines après l'infection.

1.1.2. Résultats

Mycoplasma hyopneumoniae induit une légère augmentation de la température corporelle des jeunes porcelets ainsi que de la toux chez tous les animaux, 10 à 15 jours après l'infection. De la pneumonie est constatée chez 12 très jeunes porcelets ainsi que chez les 10 porcs de 8 semaines. Les lésions sont observées essentiellement au niveau des lobes pulmonaires antérieurs. Dans les stades les plus tardifs, ces lésions ont tendance à évoluer vers la cicatrisation. Au plan histologique, les lésions sont caractérisées par l'existence d'une pneumonie interstitielle, des infiltrats lymphoïdes riches en cellules mononucléées en position périlobulaire et périlobolaire. *Mycoplasma hyopneumoniae* est ré-isolé chez tous les porcelets présentant de la pneumonie. Des anticorps sériques (détectés par ELISA) sont mis en évidence dès la troisième semaine et persistent durant toute l'expérience. L'ensemble des animaux témoins se révèle dépourvu de lésions.

1.2. *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Le protocole expérimental et les résultats sont regroupés dans le tableau 2.

TABEAU 1
MODELE EXPERIMENTAL *Mycoplasma Hyopneumoniae*

Protocole Expérimental	Nombre d'animaux	Animaux EOPS infectés à 16 jours d'âge	Animaux EOPS* non infectés âgés de 16 jours	Animaux EOPS infectés à 8 semaines d'âge	Animaux EOPS non infectés âgés de 8 semaines
		13	10	10	5
Résultats des observations	Infection	Mycoplasma Hyopneumoniae BQ 14 voie trachéale 5.10 ⁸ organismes	Milieu de culture voie trachéale : 5 ml	Mycoplasma Hyopneumoniae BQ 14 voie trachéale 15.10 ⁸ organismes	Milieu de culture voie trachéale : 5 ml
	Sacrifices	6 à 12 semaines après l'infection	après 6 et 12 semaines	4 semaines après l'infection	Après 4 semaines
	Mortalité	0/13	0/10	0/10	0/5
	Signes cliniques	Température corporelle > 40°C (4 semaines) Toux 10 jours après l'infection jusqu'au sacrifice	absence	Toux 2 semaines après l'infection jusqu'au sacrifice	absence
	Lésions des organes respiratoires	Lésions macroscopiques: Pneumonie	absence	10/10	absence
		Lésions microscopiques	Pneumonie interstitielle, infiltrats lymphoïdes riches en cellules mono- nucléées en position péribronchique	Pneumonie interstitielle manchons lymphoïdes péri- bronchiques - hyperplasie de l'épithélium bronchique	absence
	Lésions autres organes		absence	absence	absence
	Ré-isolement de <i>Mycoplasma Hyopneumoniae</i>		0/10	10/10	0/5

* EOPS : animaux exempts d'organismes pathogènes spécifiques : nés par hystérectomie à la Station de Pathologie Porcine de Ploufragan et maintenus à l'abri des contaminations

TABEAU 2
MODELE EXPERIMENTAL *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Protocole Expérimental	Nombre d'animaux	Animaux EOPS* infectés à 45 jours d'âge		Animaux EOPS non infectés âgés de 45 jours		Animaux SPF** infectés à 14 semaines d'âge		Animaux SPF non infectés âgés de 14 semaines		
		6		4		8		4		
Résultats des observations	Infection	Actinobacillus pleuropneumoniae biovar 1 - sérotype 9 - voie trachéale 10 ^e organismes		bouillon nutritif + extraits globulaires (10%) voie trachéale (1ml)		Actinobacillus pleuropneumoniae biovar 1 - sérotype 9 - voie nasale - 10 ^e organismes (1ml)		bouillon nutritif + extraits globulaires (10%) voie nasale (1ml)		
	Sacrifices	2/6 5 jours après l'infection		4/4 après 5 jours		5/8 entre 12 et 20 jours après l'infection		4/4 entre 12 et 20 jours après l'infection		
	Mortalité	3/6 24 heures après l'infection 1/6 4 jours après l'infection		0/4		2/8 48 heures après l'infection 1/8 4 jours après l'infection		0/4		
	Signes cliniques	hyperthermie (42°C)-signes nerveux dyspnée-hémorragie nasale-anorexie		absence		hyperthermie (42°C)-signes nerveux dyspnée-hémorragie nasale-anorexie		absence		
	Lésions des organes respiratoires	Pleuro- pneumonie	6/6		0/4		5/8		0/4	
		Pleurésie	1/6		0/4		7/8		0/4	
		Abscès pulmonaires	0/6		0/4		3/8		0/4	
	Lésions autres organes	Péricardite	1/6		0/4		0/8		0/4	
		Congestion des organes	6/6		0/4		0/8		0/4	
	Lésions microscopiques	Thrombose vasculaire. Lésions hémorragiques et congestives au niveau des différents parenchymes (poumons, foie, rate, ganglions)		0/4 thrombose vasculaire		pleuropneumonie fibrino- hémorragique - oedème -		0/4		
Ré-isolément d'Actinobacillus pleuropneumoniae	Poumons et cavités nasales	6/6		0/4		6/8		0/4		

* EOPS : animaux exempts d'organismes pathogènes spécifiques : nés par hystérectomie à la Station de Pathologie Porcine de Ploufragan et maintenus à l'abri des contaminations

** SPF : animaux nés naturellement dans la porcherie protégée de la Station de Pathologie Porcine de Ploufragan

1.2.1. Protocole Expérimental

Les animaux utilisés dans ce modèle sont soit nés par l'hystérectomie de truies (dans ce cas, les porcelets sont âgés de 45 jours) ; soit nés naturellement dans la porcherie protégée de la Station de Pathologie Porcine (le choix de 14 semaines d'âge correspondant à la phase d'engraissement, c'est-à-dire le moment où l'infection est la plus fréquente en élevage). La souche d'*Actinobacillus pleuropneumoniae* appartient au sérotype 9 du biovar 1 (NAD dépendant) et a été isolée chez un porc charcutier atteint de pleuro-pneumoniae. L'infection a lieu par voie trachéale (10^6 organismes) ou par voie nasale (10^4 organismes) sous un volume de 1 ml. Les animaux témoins reçoivent le milieu de culture (bouillon nutritif enrichi aux extraits globulaires à 10 %) dans des conditions identiques. Les porcs sont sacrifiés dans les jours qui suivent l'infection (un peu plus tardivement chez les porcs de 14 semaines, ce qui permet d'observer l'infection dans sa phase chronique).

1.2.2. Résultats

Dans les conditions d'hygiène de l'expérience, le sérotype 9 d'*Actinobacillus pleuropneumoniae* provoque la mort de 4 porcelets sur 6 (porcelets âgés de 45 jours) et de 3 porcelets

sur 8 (porcelets âgés de 14 semaines). Dans les deux types d'expérience, les porcs manifestent une forte hyperthermie (pouvant atteindre 42°C), des signes nerveux, de la dyspnée, une hémorragie nasale ainsi que de l'anorexie. Ces symptômes s'estompent après 10 jours. Au niveau lésionnel, *Actinobacillus pleuropneumoniae* induit de la pleuro-pneumonie chez la plupart des animaux. Dans le cas de l'infection à 14 semaines, on observe de plus de la pleurésie et des abcès pulmonaires (dans les stades les plus tardifs). Une péricardite et surtout une congestion générale des organes sont également constatées. Les lésions microscopiques correspondent à une nécrose et à des hémorragies au niveau des différents parenchymes, à une pleurésie fibrineuse accompagnée d'œdème et de thrombose artérielle et veineuse. *Actinobacillus pleuropneumoniae* est retrouvé chez tous les porcelets de 45 jours et chez 6 porcelets de 14 semaines. Tous les porcs du lot témoin se montrent indemnes de lésions.

2. EVALUATION DE L'ACTIVITE DE LA SPIRAMYCINE A L'AIDE DES MODELES EXPERIMENTAUX

2.1. *Mycoplasma hyopneumoniae*

Les résultats sont transmis par le tableau 3.

TABEAU 3
UTILISATION DU MODELE *Mycoplasma hyopneumoniae*
EVALUATION DE L'ACTIVITE "IN VIVO" DE LA SPIRAMYCINE

Protocole Expérimental	Nombre d'animaux EOPS	Spiramycine 234 ppm
		7
Infection		Voie trachéale 5.10^8 organismes (BQ 14) à 16 jours d'âge
Molécule		9 jours après l'infection pendant 10 jours
Résultats des observations	Signes cliniques	Température corporelle < 39°7 absence de toux
	Pneumonie	1/7
	Infiltrats lymphoïdes péribronchiques riches en cellules mononucléées	1/7
	Ré-isolement de <i>Mycoplasma Hyopneumoniae</i>	4/7

La Spiramycine a été incorporée dans l'aliment, à la dose de 234 ppm (18,4 mg/kg de poids vif) 9 jours après l'infection et pendant 10 jours. La Spiramycine réduit les symptômes cliniques et les lésions pulmonaires provoquées par l'infection expérimentale. *Mycoplasma hyopneumoniae* est également éliminé chez certains animaux (KOBISCH et al, 1984). La posologie est à établir d'une manière rigoureuse avant le début du traitement, ainsi la Spiramycine a-t-elle été volontairement distribuée à deux doses différentes dans l'aliment (tableau 4). A la posologie de 125 ppm (8,7 mg/kg de poids vif), la molécule a moins d'effet puisque des signes cliniques et des lésions pulmonaires sont présentes chez 50 % des animaux (KO-

BISCH et GENIN, 1984).

2.2. *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Les résultats sont présentés dans le tableau 5.

La Spiramycine, incorporée dans l'aliment à 330 ppm (10 mg/kg de poids vif dans les conditions de notre expérience) pendant 10 jours empêche la mortalité et réduit les lésions des organes respiratoires (5 porcs sur 8 se révèlent indemnes) ainsi que le nombre de porcs infectés par le microorganisme (KOBISCH et GENIN, 1988).

TABLEAU 4
 UTILISATION DU MODELE *Mycoplasma hyopneumoniae*
 EVALUATION DE L'ACTIVITE DE LA SPIRAMYCINE A 2 POSOLOGIES DIFFERENTES

Protocole Expérimental		Spiramycine 234 ppm	Spiramycine 125 ppm
	Nombre d'animaux	7	10
	Infection	Voie trachéale 5.10 ⁸ organismes (BQ 14) à 16 jours d'âge	
	Molécule	9 jours après l'infection pendant 10 jours	
Résultats des observations	Signes cliniques	Température corporelle < 39°7 absence de toux	Température corporelle > 40°C 5 jours après l'infection Pendant 1 mois (4/10) Toux 3 semaines après l'infection jusqu'à la fin de l'expérience
	Pneumonie	1/7	5/10
	Infiltrats lymphoïdes péribronchiques riches en cellules mononucléées	1/7	6/10
	Ré-isolément de <i>Mycoplasma Hyopneumoniae</i>	4/7	7/10

TABLEAU 5
 UTILISATION DU MODELE *Actinobacillus pleuropneumoniae*
 EVALUATION DE L'ACTIVITE IN VIVO DE LA SPIRAMYCINE

Protocole Expérimental		Spiramycine
	Nombre d'animaux	8
	Infection	Voie nasale 10 ⁴ organismes (sérotypage 9, biovar 1) à 14 semaines d'âge
	Molécule	330 ppm depuis le jour de l'infection pendant 10 jours
Résultat des observations	Mortalité	0/8
	Signes cliniques	(Hyperthermie, anorexie, dyspnée) 3/8
	Absence de lésions pulmonaires.	5/8
	Pneumonie fibrino- hémorragique	3/8
	Pleurésie	3/8
	Abcès pulmonaires	3/8
	Lésions microscopiques	3/8
	Ré-isolément d' <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	3/8

DISCUSSION - CONCLUSION

Dans les conditions expérimentales décrites, nous avons provoqué chez l'animal des symptômes et des lésions correspondant à ceux que l'on observe dans l'élevage porcin lors des infections par *Mycoplasma hyopneumoniae* ou *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Ainsi *Mycoplasma hyopneumoniae* induit des signes cliniques discrets qui accompagnent une pneumonie caractérisée par des infiltrats septaux pérbronchiques riches en lymphocytes, généralement localisée au niveau des lobes pulmonaires antérieurs et qui évolue vers la cicatrisation après une dizaine de semaines. Ce modèle nous a permis à la fois de confirmer les résultats obtenus par d'autres auteurs (WHITTESTONE, 1973); (ROSS, 1973) et de mieux aborder l'étude de la pathogénie. *Mycoplasma hyopneumoniae* se multiplie au niveau de l'épithélium bronchique dont il endommage ou érode les cils. Le mucus bronchique et trachéal très abondant, devient alors le siège d'une accumulation de leucocytes (MEBUS et UNDERDAHL, 1977); (TAJIMA et YAGIHASHI, 1982); (VENA, 1988). *Mycoplasma hyopneumoniae* est facilement visualisé par la réaction d'immunofluorescence, directement sur des coupes fines de tissu pulmonaire (HOLMGREN, 1974); (KOBISCH et al., 1978); (AMANFU et al., 1984). Des ponctions sanguines, effectuées régulièrement dans le temps chez les animaux infectés expérimentalement nous ont fourni un matériel de choix pour la mise au point de tests sérologiques nécessaires à l'établissement d'un diagnostic à l'échelle de l'élevage (KOBISCH et al., 1978); (ABIVEN et al., 1988).

Le sérotype 9 d'*Actinobacillus pleuropneumoniae*, dans le cadre de l'expérience, est à l'origine de symptômes divers

dont la gravité varie selon les animaux et qui peuvent, dans certains cas, conduire à la mort. Les lésions de pleuro-pneumonie fibrino hémorragique associées à la pleurésie et aux abcès pulmonaires sont les plus fréquentes. Au plan histologique, ces lésions correspondent à une nécrose et à une hémorragie du parenchyme accompagnée d'un oedème des cloisons interlobulaires et parfois d'une thrombose vasculaire. Une enquête montre que le sérotype 9 d'*Actinobacillus pleuropneumoniae* est très répandu en France dans les élevages porcins (KOBISCH et al., 1988). On accorde actuellement à l'endotoxine et à l'hémolysine un rôle déterminant dans la pathogénie (UDEZE and KADIS, 1988) mais les futurs travaux devraient permettre une meilleure connaissance de l'infection et les modèles expérimentaux constituent, à cet égard, une aide intéressante.

Dans cette étude, l'infection de l'animal d'expérience a permis d'évaluer l'action de la Spiramycine sur les organes cibles (le poumon en particulier). En effet, l'activité des molécules est souvent contrôlée par des tests "in vitro" qui ne sont pas toujours représentatifs de l'action "in vivo". Ainsi la CMI de la Spiramycine à l'égard de *Mycoplasma hyopneumoniae* a une valeur variant de 0,6 à 1 µg/ml (KOBISCH and GENIN, 1984). La CMI de la Spiramycine est de 32 µg/ml à l'égard de la souche d'*Actinobacillus pleuropneumoniae* utilisée, ce qui pourrait, à priori, exclure l'emploi de ce macrolide chez les animaux infectés par ce germe.

Il paraît donc judicieux, afin de mieux connaître l'action d'une molécule sur un microorganisme donné d'utiliser un modèle expérimental in vivo adapté.

BIBLIOGRAPHIE

- ABIVEN P., STRASSER M., KOBISCH M., NICOLET J., 1988. O.M. Congress Baden, p. 118
- AMANFU M.S., WENG C.N., ROSS R.F., BARNES H.J., 1984 **45** (7), 1349-1352
- BAEKBO P., 1988 IPVS Rio de Janeiro, p. 58
- CHMITELIN F., 1987 "Approche expérimentale de la pharmacocinétique de l'embonate de Spiramycine chez le porc". Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Année 1987 (67 pages).
- CIPRIAN A., DE LA GARZA, PIJOAN C., 1986 IPVS Barcelone, p. 282
- FRIIS N., 1975, Nord. Vet. Med. **27**, 337-339
- HOLMGREN N., 1974, Res. Vet. Sci., **17**, 145-153
- KOBISCH M. et GENIN F., 1984 I.O.M. Congress Jerusalem, p. 80
- KOBISCH M., GENIN F., 1988 IPVS Congress Rio de Janeiro, p. 89
- KOBISCH M., PERREAU P., GENIN F., 1984 Journées Rech. Porcine en France. **16**, 227-231
- KOBISCH M., TILLON J.P., VANNIER P., 1978 Rec. Med. Vet. **154**, **10**, 847-852
- KOBISCH M., VENA M.M., LE MENECH M., 1988 Résultats non publiés
- MADEC F., JOSSE J., 1981 Compte-Rendu Station de Pathologie Porcine Ploufragan
- MEBUS C.A., UNDERDAHL N.R., 1977 Am. J. Vet. Res. **38**, 1249-1254
- PERRIN G.G., LORANT J.M., BRUN J.Y., LE MENECH M.C., 1979 Rec. Med. Vet. **155** (6), 571-575
- ROSS R.F., 1973 Ann. New York Acad. of Sci. **225**, 347-368
- TAJIMA M., YAGIHASHI T., 1982 Inf. Immun. **3**, 1162-1169
- UDEZE P.A., KADIS S., 1988 IPVS Congress Rio de Janeiro, p. 64
- VENA M.M., 1988 Résultats non publiés
- VIDEAU D., 1978 Cah. Med. Vet. **47**, 155-164
- WHITTESTONE P., 1973 Adv. Vet. Sci. Comp. Med. **17**, 1-55