

PATHOLOGIE PULMONAIRE DU PORC : LÉSIONS EXPÉRIMENTALEMENT INDUITES PAR *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* ET *PASTEURELLA MULTOCIDA*

Marylène KOBISCH (1), Béatrice BLANCHARD (1), P. MORVAN (1), Marie LAGADIC (2)

(1) Ministère de l'Agriculture, Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires, Station de Pathologie Porcine, BP 53, Les Croix, 22440 PLOUFRAGAN.

(2) Laboratoire d'Histo-cytopathologie Vétérinaire, 13, rue de Rouen, 94700 MAISONS-ALFORT.

Avec la collaboration d'Annie LABBE(1), R. CARIOLET (1) et P. JULOU (1)

49 porcelets gnotobiotiques ont été utilisés dans cette expérience, 40 d'entre eux ont été infectés avec *Mycoplasma hyopneumoniae* (M.h) ou *Pasteurella multocida* (P.m) ou avec ces deux agents à la fois, les 9 autres porcs ont reçu les milieux de culture. Les porcelets avaient 15 jours d'âge lors de l'infection par M.h et 20 jours d'âge lors de l'infection par P.m, ils ont été sacrifiés à l'âge de 6 semaines.

Les porcelets infectés uniquement avec M.h développèrent une légère hyperthermie, de la toux et de la pneumonie. M.h a été détecté chez tous les porcs. Quatre animaux infectés uniquement avec P.m ne survécurent pas à l'infection, les autres montrèrent des signes cliniques discrets. Les lésions pulmonaires concernaient environ 50 % des animaux qui se sont alors révélés porteurs de P.m. Les animaux infectés successivement avec les deux germes présentaient une forte fièvre, de la toux, de la dyspnée et des lésions de pneumonie, trois porcs sont morts à la suite de l'infection. M.h a toujours été retrouvé alors que P.m n'était pas toujours présente. Les animaux infectés par M.h ou P.m ainsi que les animaux non infectés avaient des performances zootechniques similaires. Dans le cas de l'infection mixte, le gain moyen quotidien des porcelets est fortement diminué.

Au plan histologique, les lésions induites par M.h étaient caractérisées chez tous les porcs par une hyperplasie du tissu lymphoïde associé aux bronches. La microscopie électronique à transmission et à balayage a révélé une érosion des cils de l'épithélium trachéal et bronchique, des leucocytes nombreux, beaucoup de mucus et des mycoplasmes à l'apex des cils préservés. Les porcelets qui ont développé des lésions pulmonaires après l'infection par P.m, présentaient une bronchopneumonie suppurée mais l'épithélium cilié des bronches était intact en microscopie à balayage. Il semble que P.m ne soit pas un agent primaire de la pneumonie mais qu'elle agisse en compliquant les lésions préalablement induites par M.h.

Pulmonary disease in swine : lung lesions experimentally induced with *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Pasteurella multocida*

49 gnotobiotic piglets were used in this trial, 40 were infected with *Mycoplasma hyopneumoniae* (M.h) or *Pasteurella multocida* (P.m) or with the both agents, 9 piglets received broth mediums. The experimental piglets were 15 days old when inoculated with M.h and were 20 days old when inoculated with P.m. They were killed at 6 weeks of age.

Pigs inoculated only with M.h developed moderate fever, cough and pneumonia from which M.h was recovered. Four pigs infected only with P.m, died and discreet clinical signs were observed in the remaining pigs. Lung lesions were noted in about 50 % of the pigs, from which the agent was isolated. Pigs infected with both agents had high fever, severe cough, dyspnea and lung lesions from which M.h was recovered but P.m was only isolated in some cases. Three pigs died after P.m infection in this group. The animals infected with M.h or P.m and the uninfected pigs had similar growth rates, but the daily growth was affected in the group inoculated with M.h and P.m.

Histologically, the lung lesions induced by M.h, in all the piglets, were characterized by alveolar cell pneumonia, mononuclear cell accumulations and persistent hyperplasia of bronchitic associated lymphoid tissue. A scanning and transmission electron microscope studies of the trachea showed areas with damaged cilia, leucocytes, a large amount of mucus and numerous mycoplasmas on the top or between the remaining cilia. Piglets developing macroscopic lung lesions after P.m infection, had mucopurulent pneumonia with polymorphonuclear cells but no modification of the epithelium was observed. It seemed that P.m was not a primary pulmonary pathogen but aggravated the pneumonia initiated by M.h.

INTRODUCTION

Les maladies respiratoires du porc, les pneumopathies en particulier, sont à l'origine de pertes économiques considérables au sein des élevages porcins. Parmi les agents pathogènes rencontrés dans l'appareil respiratoire, *Pasteurella multocida* (P.m) est la plus fréquente. Cette bactérie est souvent associée aux septicémies, aux arthrites, aux méningites ou aux affections respiratoires dans lesquelles on la considère comme un germe de surinfection de la pneumonie enzootique à *Mycoplasma hyopneumoniae* (M.h) (CARTER, 1975 ; PIJOAN et al, 1984) ou comme l'agent principal de la rhinite atrophique (de JONG et al, 1980 ; FARRINGTON, 1981 ; RUTTER, 1983). Cependant, P.m est également isolée chez des porteurs asymptomatiques (LITTLE, 1975 ; PERREAU, 1976).

Ce sont les souches de P.m du groupe capsulaire A qui sont

le plus souvent associées à la pathologie pulmonaire (RUTTER, 1983 ; COWART et BACKSTGROM, 1984 ; IWAMATSU et SAWADA, 1988). La forte concentration en acide hyaluronique d'origine capsulaire chez les souches de groupe A réduirait la phagocytose par les macrophages alvéolaires et expliquerait leur fréquence au niveau pulmonaire (MAHESHARAN, 1979). Les travaux cherchant à évaluer l'importance de l'exotoxine protéique de P.m dans l'établissement de la pneumonie sont peu nombreux. Les résultats de BAEKBO (1986 et 1988) indiquent que cette toxine serait plus un amplificateur qu'un inducteur de lésions pulmonaires mais que sa présence serait à l'origine d'une diminution nette des performances zootechniques des animaux, surtout si P.m est associée à M.h.

Afin de compléter ces observations, nous avons infecté expérimentalement des porcelets avec P.m et/ou M.h et nous nous proposons de décrire les résultats obtenus à l'aide de ces modèles.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

TABLEAU 1
PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Lots expérimentaux	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4
Nombre de porcelets	13	9	18	9
Infection expérimentale	<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>P. multocida</i> A.T.+	<i>M. hyopneumoniae</i> et <i>P. multocida</i> A.T.+	Milieux de culture
	à 15 jours	à 20 jours	à 15 et 20 jours	à 15 et 20 jours
	5.10 ⁸ voie trachéale	2.10 ⁹ voie trachéale	5.10 ⁸ et 2.10 ⁹ voie trachéale	5 et 2 ml voie trachéale

49 porcelets exempts d'organismes pathogènes spécifiques sont sevrés à 15 jours d'âge puis placés, après randomisation dans quatre animaleries protégées (tableau 1). Les animaux des lots 1, 2 et 3 sont infectés, soit par M.h, soit par P.m, soit par les deux germes successivement. La souche de M.h (BQ14) a été isolée chez un porc de 10 semaines d'âge présentant des lésions de pneumonie. Chacun des porcelets des lots 1 et 3 est infecté par voie trachéale, à l'aide d'une suspension de 5.10⁸ organismes, à 15 jours d'âge. La souche de P.m (9469) appartenant au groupe capsulaire A et au type somatique 5, possédant une exotoxine protéique, a été isolée d'un poumon de porc atteint de pneumonie. Chaque porcelet des lot 2 et 3 reçoit une suspension de 2.10⁹ organismes par voie trachéale, à 20 jours d'âge. Les milieux de culture sont respectivement celui décrit par FRIIS (1975) pour M.h et une gélose-tryptose-sérum à 10 % pour P.m. Ces deux milieux sont administrés aux animaux du lot 4 par voie trachéale. Les animaux sont examinés chaque jour afin de relever la température corporelle et les signes cliniques. Les porcelets sont tous sacrifiés à 6 semaines d'âge. Les voies et organes respiratoires subissent un examen macroscopique, microscopique et microbiologique. Chez certains animaux, le foie, les reins et les uretères font également l'objet d'un examen histologique. M.h est recherché par le test d'immunofluorescence direct (KOBISCH et al, 1978). Les observations histologiques sont effectuées sur des organes fixés dans une solution de formol à 10 %, inclus en paraffine, coupés à une épaisseur

de 5 µm et colorés par l'hémalum-éosine-safran. L'étude en microscopie électronique à balayage (MEB) est mise en oeuvre après une fixation, une déshydratation, une métallisation à l'or des tissus de l'arbre respiratoire. Les échantillons observés en microscopie électronique à transmission (MET) subissent une fixation, une post-fixation osmiée, une déshydratation, une imprégnation à l'épon-araldite puis une inclusion. Les coupes ultra-fines (90-100 nm) sont ensuite colorées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb.

2. RÉSULTATS

2.1. Symptômes cliniques

Les résultats sont regroupés dans le tableau 2.

Quatre porcelets du lot 2 et trois du lot 3 meurent entre 1 et 7 jours après l'infection par P.m. Aucune mortalité n'est constatée dans les deux autres lots. M.h induit une légère hyperthermie (la température corporelle varie de 39°C à 40°C, 24 heures après l'infection et durant le mois suivant). Dans le lot 2, l'augmentation de la température rectale est plus sensible, atteignant 40°C chez certains porcelets pendant quelques heures. Dans le lot 3, où les porcelets sont infectés à la fois par M.h et P.m, l'hyperthermie est manifeste : la température corporelle de l'ensemble des animaux se situe entre 41°C et

41°C dans les heures qui suivent l'infection par *P.m* et se maintient ainsi pendant une dizaine de jours. La température rectale des porcs du lot 4 est en moyenne de 39°C.

Les animaux infectés par *M.h* présentent de la toux, parfois quinteuse, une semaine après l'infection expérimentale et durant le mois suivant. Dans le lot 2, *P.m* induit des étarnue-

ments, des problèmes locomoteurs chez un porc et une toux très discrète chez quelques animaux. Les porcelets infectés à la fois par *M.h* et *P.m* manifestent de la toux, accompagnée de dyspnée, des étarnuements et des problèmes locomoteurs pour l'un d'entre eux. Ces symptômes cliniques ne sont pas constatés chez les animaux du lot 4.

TABLEAU 2
SYMPTÔMES CLINIQUES OBSERVÉS CHEZ LES ANIMAUX INFECTÉS PAR *M. HYOPNEUMONIAE* ET/OU *P. MULTOCIDA*

Lots expérimentaux	Lot 1 n = 13	Lot 2 n = 9	Lot 3 n = 18	Lot 4 n = 9
Infection expérimentale	<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>M. hyopneumoniae</i> et <i>P. multocida</i>	non infecté
Mortalité	0	4	3	0
Symptômes cliniques :				
· Température corporelle	39°C à 40°C quelques heures à 1 mois après infection	39°C à 40°C quelques heures après infection	41°C à 41°C quelques heures après <i>P. multocida</i> et pendant 10 jours	39°C
· Toux	1 semaine après infection à la fin de l'expérience	Très discrète	Dyspnée 1 semaine après infection à la fin de l'expérience	0
· Eternuements	0	quelques heures après infection à la fin de l'expérience	quelques heures après infection à la fin de fin de l'expérience	0
· Problèmes locomoteurs	0	chez un porc	chez un porc	0

2.2. Lésions macroscopiques

Les résultats sont fournis par le tableau 3.

TABLEAU 3
LÉSIONS CONSTATÉES CHEZ LES ANIMAUX INFECTÉS PAR *M. HYOPNEUMONIAE* ET *P. MULTOCIDA*.

Lots expérimentaux	Lot 1 n = 13	Lot 2 n = 9	Lot 3 n = 18	Lot 4 n = 9
Infection expérimentale	<i>M.h</i>	<i>P.m</i>	<i>M.h</i> et <i>P.m</i>	non infecté
Pneumonie · nbre de porcs atteints · étendue des lésions (note maximale 35)	13 11,30	5 1,90	18 9,60	0 0
Pleurésie	0	3	4	0
Abcès pulmonaires	0	1	0	0
Péritonite	0	0	3	0
Péricardite	0	1	2	0
Lésions hépatiques	0	2	2	0
Lésions rénales	0	2	4	0
Polyarthrites	0	1	1	0
Atrophie des cornets nasaux	0	8	14	0
Réisolements des germes	13	4	<i>M.h</i> = 18 <i>P.m</i> = 8	0

Tous les porcs infectés par *M.h* développent des lésions de pneumonie, essentiellement au niveau des lobes pulmonaires antérieurs, dont l'étendue correspond à 11,30 (note maximale 35 pour l'ensemble des organes pulmonaires). Parmi les neuf porcs du lot 2 (infectés uniquement avec *P.m*), cinq (dont trois morts précocément) présentent de la pneumonie (note moyenne 1,90). Les dix huit porcs du lot 3 sont atteints de pneumonie (note moyenne 9,60). Les porcs du lot 4 sont tous dépourvus de lésions. *P.m* induit une pleurésie chez sept porcs (3 du lot 2 et 4 du lot 3). Des abcès pulmonaires sont également constatés chez l'un des trois porcs du lot 2.

Les lésions provoquées par *M.h* seul sont strictement limitées aux organes respiratoires alors que dans les deux autres lots on note une atrophie des cornets nasaux chez la grande majorité des animaux, associée parfois à un prognathisme inférieur, des polyarthrites dans deux cas, des lésions hépatiques avec présence d'ictère (4 cas) et des lésions urinaires (6 cas). Trois porcs montrent une inflammation du péritoine (associée dans deux cas à une péricardite, lésion également observée chez un des porcs du lot 2).

2.3. Réisolements de *M.h* et de *P.m*

M.h est toujours retrouvé dans les poumons des porcs infectés, le réisolement de *P.m* est positif chez quatre porcs du lot 2 (dont trois sont atteints de pneumonie), au niveau des poumons, des cavités nasales, du cœur, du foie, des reins et une fois des articulations (chez l'animal atteint de polyarthrites). Dans le lot 3, en fin d'expérience, *P.m* est présente chez 8 porcs (uniquement au niveau des poumons et des cavités nasales).

2.4. Examens microscopiques

- Les lésions histologiques chez les porcs infectés par *M.h* se caractérisent par la présence de volumineux infiltrats lymphoïdes nodulaires péribronchiques, péribronchiolaires et parfois périvasculaires. Cette hyperplasie lymphoïde s'accompagne de lésions de pneumonie interstitielle, c'est-à-dire d'une infiltration des cloisons interalvéolaires par des cellules inflammatoires mononucléées (macrophages et lymphocytes). Parallèlement la lumière des alvéoles est partiellement envahie par des cellules d'aspect macrophagiques, rarement associées à des polynucléaires neutrophiles (alvéolite desquamante). Jusqu'à la sixième semaine après l'infection, l'examen en MEB et MET révèle une érosion ciliaire de l'épithélium trachéal et bronchique ainsi que l'existence de volumineuses cellules à mucus. Les mycoplasmes restent fixés à l'apex des cils qui subsistent. La réaction histologique correspondante au niveau des bronches est une hyperplasie de l'épithélium, une discrète infiltration inflammatoire polymorphe du chorion et une hyperplasie des glandes de la muqueuse.
- Chez les quatre porcs du lot 2 morts précocément après l'infection par *P.m*, on n'observe au niveau pulmonaire que de discrètes lésions de pneumonie interstitielle, considérées comme non spécifiques dans trois cas (trois porcs morts après deux jours).

Les lésions pulmonaires plus tardives (observées chez deux animaux) sont de type exsudatif et pyogène associant des lésions d'alvéolite fibrineuse, fibrinoleucocytaire et suppurée et, chez certains, une bronchite suppurée. Deux porcs de ce même lot, morts deux jours après l'infection, développent

également des lésions hépatiques et urinaires. Le foie est le siège de lésions focales, multiples, de nécrose hépatocytaire associées à une prolifération conjonctive des espaces portes. Une telle prolifération est également décelée au niveau du chorion de la muqueuse du bassinot rénal et de l'uretère, associée à une forte hyperplasie épithéliale. L'observation en microscopie électronique des voies respiratoires de ces animaux montre un épithélium et une structure ciliaire intègres. La sécrétion de mucus est fortement intensifiée. *P.m* n'est observée que dans deux cas au niveau des cils de l'épithélium trachéal.

- Dans le lot 3 (infecté successivement par *M.h* et *P.m*), les lésions histologiques sont, d'une manière générale, plus intenses que celles des lots précédents. Les animaux montrent des lésions mixtes de bronchopneumonie suppurée et de pneumonie interstitielle témoignant de la dualité des deux agents infectieux. L'observation en microscopie révèle des altérations de l'épithélium cilié analogues à celles qui ont été décrites chez les porcelets infectés uniquement avec *M.h*. Les animaux du lot 4 sont dépourvus de lésions.

2.5. Performances zootechniques

Le gain moyen quotidien des porcs infectés par *M.h* est de 423 g, celui des porcs infectés par *P.m* de 436 g et celui des porcs infectés à la fois par *M.h* et *P.m*, de 335 g. Le GMQ des animaux non infectés est de 448 g.

DISCUSSION - CONCLUSION

Dans les conditions de l'expérience, *M.h* induit des signes cliniques qui accompagnent une pneumonie caractérisée par une hyperplasie du tissu lymphoïde péribronchique associée à une pneumonie interstitielle. *M.h* se fixe au niveau des cils de l'épithélium bronchique et trachéal, provoque leur érosion et stimule la production de mucus qui devient le siège d'une accumulation de leucocytes, ce qui confirme les observations de MEBUS et UNDERDAHL, 1977 ; TAJIMA et YAGIHASHI, 1982.

L'infection de porcelets par *P.m* de groupe capsulaire A possédant une exotoxine protéique provoque de la mortalité, une toux discrète et, dans la plupart des cas, une atrophie des cornets nasaux associée à un prognathisme inférieur. Ces symptômes sont parfois complétés par un ictère et une polyarthrite. Les lésions pulmonaires sont inconstantes, ne concernant que cinq porcs sur neuf, et peu étendues dans l'ensemble. Il s'agit essentiellement de lésions de bronchopneumonie suppurée. La structure ciliaire de l'épithélium bronchique est préservée, mais la sécrétion de mucus est fortement intensifiée.

Les lésions viscérales associées, lorsqu'elles sont présentes, sont de type dégénératif et hyperplasique. Ces observations rejoignent celles de RUTTER et MACKENZIE (1984). Ces travaux devront être complétés afin de mieux connaître le rôle de l'exotoxine dans le développement de la pneumonie : selon RUTTER et ROJAS, 1982 ; PIJOAN et FUENTES, 1987 ; cette toxine serait à l'origine de la formation d'abcès pulmonaires et de pleurésie mais n'aurait aucun rôle dans l'induction de la pneumonie (PIJOAN, 1986 ; BAEKBO, 1988). Il paraît donc intéressant d'envisager l'infection expérimentale de porcelets à l'aide d'une souche de *P.m* non toxigène. L'association fréquente de *M.h* et de *P.m* dans les poumons de porcs

sacrifiés à l'abattoir, nous a conduits à infecter des porcs à l'aide de ces deux germes. Tous les animaux sont porteurs de lésions pulmonaires graves associant pneumonie interstitielle et bronchopneumonie suppurée. La température corporelle est très largement au-dessus de la normale chez les animaux infectés qui présentent également de la toux et un retard de croissance net par rapport aux animaux témoins ou par rapport aux animaux infectés par l'un ou l'autre germe. Ces résultats sont en accord avec ceux de CIPRIAN et al, 1986 ; BAEKBO, 1988 ; et constituent un des points les plus importants de ces travaux.

Trois semaines après l'infection, le réisolement de *P.m* n'est pas constant alors que *M.h* est présent chez tous les animaux. Dans nos conditions expérimentales, l'élimination de *P.m* ne semble pas en relation avec la présence de *M.h* alors que

CIPRIAN et al, 1988 ont remarqué une difficulté à éliminer *P.m* chez les porcs préalablement infectés par *M.h*.

Dans les élevages porcins, *M.h* doit être considéré comme l'agent étiologique primaire de la pneumonie enzootique qui évolue souvent vers une forme complexe dans laquelle *P.m* est largement impliquée et qui se traduit par des pertes économiques importantes. Cependant dans certains cas, des virus, celui de la maladie d'Aujeszky ou le virus grippal, pourraient avoir un rôle initiateur et faciliter la colonisation des poumons par *P.m* (CIPRIAN et al, 1986). Il apparaît donc clairement que les connaissances actuelles doivent être complétées afin de mieux appréhender la pathologie pulmonaire porcine et de mieux définir le rôle de *P.m* dans cette pathologie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAEKBO P., 1986. IPVS Barcelona p 230.
- BAEKBO P., 1988. IPVS Rio de Janeiro p 58.
- CARTER G. R., 1975. Pasteurellosis in H. W. DUNNE and A. D. Leman, Diseases of swine (4th ed) : IOWA State Univ. Press ed., Ames, 621 p.
- CIPRIAN A., de la GARZA M., PIJOAN C., 1986. IPVS Barcelona, p. 282.
- CIPRIAN A., PIJOAN C., TONATIUTH C., CAMACHO J., TORTORA J., COLMENARES G., LOPEZ-REVILLA R., de la GARZA M., 1988. Can. J. Vet. Res. 52, 434- 438.
- COWART R. P., BÄCKSTROM L., 1984. IPVS Ghent p 159.
- FARRINGTON D. O., 1981. Pasteurellosis. In ed. H. W. Dunne and A. D. Leman. Diseases of swine (5th ed.) 378-385 IOWA State Univ. Press. ed. Ames.
- FRIIS N., 1975. Nord. Vet. Med. 27, 337-339.
- IWAMATSU S., SAWADA T., 1988. Jpn.J. Vet. Sci., 50 (6), 1200-1206.
- de JONG M. F., OEI H. L., TETENBURG G. J., 1980. IPVS Copenhagen p.211.
- KOBISCH M., TILLON J. P., VANNIER P., 1978. Rec. Med. Vet., 154 (10), 847-852.
- LITTLE T. W. A., 1975. Vet. Rec., 96, 540-544.
- MAHESWARAN S. K., THIES E. S., 1979. Inf. and Imm., 26 (1), 76-81.
- MEBUS C. A., UNDERDAHL N. R., 1977. Am. J. Vet. Res. 38, 1249-1254.
- PERREAU P., 1976. Rec. Med. Vet., 152 (3), 203-208.
- PIJOAN C., LASTRA A., RAMIREZ C., 1984. IPVS Ghent p. 121.
- PIJOAN C., 1986. Vet. Immunol. Immunopathol. 13, 141-149.
- PIJOAN C., FUENTES M., 1987. JAVMA, 191 (7), 823-826.
- RUTTER J. M. and ROJAS X., 1982. Vet. Rec. 110, 531-535.
- RUTTER J. M., 1983. Res. in Vet. sc. 34, 285-295.
- RUTTER J. M., MACKENZIE A., 1984. Vet. Rec., 114, 89-90.
- TAJIMA M., YAGIHASHI T., 1982. Inf. Immun. 3, 1162-1169.