

## PATHOLOGIE PULMONAIRE DU PORC : UN MODÈLE EXPÉRIMENTAL ASSOCIANT *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* ET *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE*

Marylène KOBISCH, Annie LABBÉ, P. MORVAN, Marie-Madeleine LE MOINE, B. BEAUREPAIRE, R. CARIOLET, J.F. PANSART

C.N.E.V.A. - L.C.R.A.P. - U.R. Station de Pathologie Porcine, Les Croix, BP 53, 22440 Ploufragan

*M. hyopneumoniae*, l'agent primaire de la pneumonie enzootique du porc, est considéré comme un facteur prédisposant l'animal aux infections bactériennes à *A. pleuropneumoniae*, en particulier.

Seize porcelets SPF sont répartis en deux groupes de 8 animaux puis infectés par *A. pleuropneumoniae* (s9) à 12 semaines d'âge ou par *M. hyopneumoniae* à 10 semaines puis par *A. pleuropneumoniae* (s9) à 12 semaines. 8 porcs témoins reçoivent les milieux de culture dans des conditions analogues.

*M. hyopneumoniae* exacerbe la sévérité des signes cliniques et des lésions induits par *A. pleuropneumoniae* : 5 porcs sur 8 meurent après l'infection. Les animaux présentent une forte élévation de la température corporelle, de la toux, une dyspnée, des signes nerveux... La pleuropneumonie est associée à une pleurésie et à une pneumonie. L'association des deux germes a une incidence négative sur les performances des animaux, une différence significative est notée ( $P < 0.001$ ) entre ce lot d'animaux et les deux autres lots (non infecté ou infecté avec *A. pleuropneumoniae* seul). Les porcelets témoins ne présentent ni symptômes, ni lésions.

### **Respiratory diseases in swine : an experimental model with *Mycoplasma hyopneumoniae* in combination with *Actinobacillus pleuropneumoniae***

*M. hyopneumoniae* is the primary agent in porcine pneumonia. It is assumed to be a major predisposing factor in bacterial pneumonias and has been shown to predispose to the effect of *A. pleuropneumoniae*.

Sixteen SPF piglets were allocated to 2 groups of 8 animals, assigned to receive *A. pleuropneumoniae* (s 9) at 12 weeks of age, or *M. hyopneumoniae* at 10 weeks and *A. pleuropneumoniae* (s 9) at 12 weeks of age. 8 control piglets received culture mediums in the same conditions.

*M. hyopneumoniae* infection increased the severity of clinical symptoms and lung lesions caused by *A. pleuropneumoniae* : 5/8 piglets died with an elevated temperature, coughing, dyspnoea, nervous signs... Pleuropneumonia accompanied with pleurisy and pneumonia were observed.

The combination of the two agents improved significantly ( $P < 0.001$ ) weight gain until day 7 after *A. pleuropneumoniae* infection, compared to uninfected controls or infected with *A. pleuropneumoniae* alone. Control pigs had no symptoms and no lesions.

## INTRODUCTION

La pathologie respiratoire, les pneumopathies en particulier, constituent la cause essentielle des pertes économiques en élevage porcin. Les examens à l'abattoir des organes respiratoires permettent d'évaluer le nombre, l'étendue et la nature des lésions : pneumonie, pleuropneumonie, pleurésie, abcès pulmonaires... A cet égard, une enquête récente effectuée dans 4 abattoirs de la région de Bretagne montre que sur 4000 poumons observés (correspondant à 84 lots), 67 % sont atteints de pneumonie et 26.3 % présentent une pleurésie (entraînant parfois une adhérence totale des organes respiratoires à la cage thoracique) ou des foyers de nécrose au sein du parenchyme pulmonaire (KOBISCH *et al*, 1992). Les agents infectieux les plus fréquemment isolés, seuls ou en association, sont *Mycoplasma hyopneumoniae* et *Actinobacillus pleuropneumoniae* (VAN TIL *et al*, 1991), bien que la pathologie

respiratoire soit d'origine multifactorielle (ROSS, 1992).

Afin de compléter ces observations, nous avons infecté des porcelets exempts d'organismes pathogènes spécifiques avec *A. pleuropneumoniae* ou avec *M. hyopneumoniae* puis *A. pleuropneumoniae* et nous nous proposons de décrire les résultats obtenus à l'aide de ce modèle expérimental.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Vingt-quatre porcelets exempts d'organismes pathogènes spécifiques sont sevrés à 15 jours d'âge puis placés, après randomisation, dans trois animaleries protégées (tableau 1). Les porcelets du lot 1 ne sont pas infectés, ceux du lot 2 reçoivent *A. pleuropneumoniae* et ceux du lot 3 *M. hyopneumoniae* puis *A. pleuropneumoniae*.

Tableau 1 - Protocole expérimental

Lots expérimentaux	Lot 1	Lot 2	Lot 3
Nombre de porcelets	8	8	8
Infection expérimentale	milieu de culture à 10 semaines voie trachéale		<i>M. hyopneumoniae</i> à 10 semaines 5. 10 <sup>8</sup> voie trachéale
	à 12 semaines voie nasale	<i>A. pleuropneumoniae</i> à 12 semaines 10 <sup>3</sup> voie nasale	<i>A. pleuropneumoniae</i> à 12 semaines 10 <sup>3</sup> voie nasale

La souche de *M. hyopneumoniae* (BQ 14) a été isolée en France, chez un porcelet de 10 semaines d'âge, présentant une pneumonie. La souche d'*A. pleuropneumoniae* (4915) appartient au serovar 9 et a été isolée, en France, chez un porc de 5 mois présentant une pleuropneumonie hémorragique.

Les milieux de culture sont respectivement le milieu décrit par FRIIS (1975) pour *M. hyopneumoniae* et celui préconisé par NICOLET (1987) pour *A. pleuropneumoniae*.

Les animaux sont examinés chaque jour afin de relever la température corporelle et les signes cliniques. L'évolution pondérale et la consommation alimentaire sont évaluées chaque semaine. Des ponctions sanguines permettent de suivre la cinétique des anticorps. Les porcelets sont sacrifiés deux

semaines après l'infection par *A. pleuropneumoniae*. Les organes respiratoires subissent un examen macroscopique, microscopique et microbiologique. Les amygdales, les cavités nasales et le cœur font également l'objet d'une recherche bactériologique. *M. hyopneumoniae* est détecté par la réaction d'immunofluorescence (KOBISCH *et al*, 1978). Les anticorps sont recherchés par ELISA indirect (KOBISCH *et al*, 1991 ; KOBISCH *et al*, 1992).

## 2. RÉSULTATS

### 2.1. Symptômes cliniques

Les résultats sont regroupés dans le tableau 2.

Tableau 2 - Symptômes cliniques

	Toux	Hyperthermie		Anorexie	Dyspnée Ataxie	Tremblements	Vomissements
		≥ 40°C	≥ 41°C				
Lot 1 (non infecté)	-	-	-	-	-	-	-
Lot 2 (infecté par Ap)	+ (1)	4/8	2/8	+	+	+	+
Lot 3 (infecté par Mh + Ap)	++ (1)	5/8	3/8	+	+	+	-

(1) + : toux discrète ++ : toux intense, parfois quinteuse

Les animaux du lot 1 ne manifestent aucun signe. Dans le lot infecté par *A. pleuropneumoniae*, les porcelets présentent une élévation de la température rectale, 48 heures après l'infection. Celle-ci évolue irrégulièrement (40 - 41°C) en fonction des animaux, dans les jours qui suivent l'infection. Un porc meurt 5 jours après l'infection. L'hyperthermie s'accompagne de toux, de dyspnée, parfois d'anorexie, de tremblements, d'ataxie et de vomissements.

Dans le lot infecté par *M. hyopneumoniae*, les animaux présentent de la toux (parfois quinteuse), dès la première semaine suivant l'infection. Elle est accompagnée d'une légère augmentation de la température corporelle (40 - 40.5°C). L'hyperthermie apparaît réellement chez un seul porc (42°C) puis se généralise à partir du quatrième jour après l'infection par *A. pleuropneumoniae*. Cinq porcs sur huit meurent entre 5 et 9 jours après l'infection. La toux s'accompagne de dyspnée,

d'anorexie, de tremblements mais les symptômes apparaissent plus tardivement dans ce lot (épisode aigu entre 4 et 7 jours après *A. pleuropneumoniae*).

## 2.2. Performances zootechniques des animaux

L'évolution du gain moyen quotidien des animaux est présentée dans le tableau 3. L'analyse de la variance (test de Fischer) montre qu'il n'y a pas de différence entre les lots jusqu'au 7ème jour après *A. pleuropneumoniae*. A partir de cette date, une différence significative ( $P < 0.001$ ) est observée en comparant les gains moyens quotidiens des lots infectés à ceux du lot non infecté, mais aussi en comparant les deux lots infectés entre eux (les performances du lot doublement infecté étant nettement inférieures). Au-delà du 7ème jour, le nombre de porcelets du lot 3 étant trop faible ( $n=3$ ) l'analyse devient impossible.

**Tableau 3 - Performances zootechniques des animaux**

G.M.Q.	Lots d'animaux	Lot 1	Lot 2	Lot 3
		(non infecté)	(infecté par Ap)	(infecté par Mh + Ap)
Jour de l'infection par Mh		n = 8 927 g	n = 8 915 g	n = 8 888 g
7 jours après Ap		n = 8 1044 g (1)	n = 7 247 g (1)	n = 5 - 414 g (1)
11 jours après Ap		n = 8 1073 g	n = 7 287 g	n = 3 - 393 g

(1) différence significative ( $P < 0.001$ ) entre les lots infectés et le lot non infecté, ainsi qu'entre les 2 lots infectés eux-mêmes, 7 jours après l'infection par Ap.

## 2.3. Examens post-mortem et résultats de laboratoire

Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Les animaux du lot 1 ne présentent aucune lésion. Les 16 porcelets infectés montrent des lésions pulmonaires qui se caractérisent par une pleuropneumonie hémorragique dans la phase aiguë de l'infection (en particulier chez les porcelets qui

ne survivent pas à l'infection). On observe de plus une pleurésie associée à la présence de foyers nécrotiques au sein du parenchyme pulmonaire, chez la plupart des sujets. On constate l'existence d'une pneumonie chez trois porcs infectés par les deux agents qui sont détectés chez tous les porcs infectés. *A. pleuropneumoniae* est hébergé au niveau des organes respiratoires mais aussi dans les cavités nasales et les amygdales.

**Tableau 4 - Examens post-mortem et résultats de laboratoire**

	Mortalité	Pleuropneumonie hémorragique	Pneumonie	Pleurésie	Foyers de nécrose (parenchyme pulmonaire)	Réisolements Ap (1)			IF (Mh) (2)
						P	A	CN	
Lot 1 n = 8 (non infecté)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lot 2 n = 8 (infecté par Ap)	1/8 (5 j après Ap)	3/8	0/8	4/8	7/8	8/8	8/8	7/8	-
Lot 3 n = 8 (infecté par Mh + Ap)	5/8 (5j et 9j après Ap)	3/8	3/8	6/8	5/8	8/8	8/8	8/8	8/8

(1) P : poumons - A : amygdales - CN : cavités nasales -

(2) : IF : réaction d'immunofluorescence Mh.

Tableau 5 - Résultats bactériologiques (réisollements Ap)

Réisollements Ap	Poumons	Amygdales	Cavités Nasales	Coeur
Lots d'animaux				
Lot 1 n = 8 (non infecté)	- : 8/8	- : 8/8	- : 8/8	- : 8/8
Lot 2 n = 8 (infecté par Ap)	+ (3) : 6/8 + (1) : 2/8	+ (3) : 4/8 + (1) : 4/8	+ (3) : 3/8 + (1) : 4/8 - : 1/8	+ (3) : 1/8 + (1) : 1/8 - : 6/8
Lot 3 n = 8 (infecté par Mh+Ap)	+ (3) : 8/8	+ (3) : 8/8	+ (3) : 8/8	- : 8/8

(1) : 1 à 10 colonies      (2) : 11 à 50 colonies      (3) : > 50 colonies

Le tableau 5 montre que ce microorganisme est également présent dans le coeur de deux animaux. Le nombre de colonies bactériennes isolées à partir de 50µl d'inoculum est constant et plus élevé chez les animaux ayant subi la double infection.

#### 2.4. Examens anatomopathologiques

Les porcelets du lot 1 sont dépourvus de lésions. Parmi les porcelets infectés par *A. pleuropneumoniae*, un seul (mort après 5 jours) est porteur de lésions aiguës de pleuropneumonie hémorragique. Trois animaux montrent des lésions plus anciennes caractérisées par une fibrose de la plèvre et des cloisons interlobulaires et par la présence de territoires de nécrose du parenchyme «enkystés» par un tissu fibreux périphérique, richement fibroblastique. Les autres porcs montrent exclusivement une sévère pneumonie, la plèvre étant recouverte soit de flammèches fibreuses, soit d'un exsudat fibrineux partiellement organisé. Ces lésions pleurales étant spécifiques de l'infection à *A. pleuropneumoniae*. Quatre porcs du lot 3 développent des lésions intenses soit de pleurésie, soit de pleuropneumonie nécrotique, typiques de l'action pyogène d'*A. pleuropneumoniae*. Ces mêmes lésions sont associées à des lésions d'alvéolite macrophagique, parfois d'alvéolite suppurée et de pneumonie interstitielle qui traduisent la dualité des deux agents.

*A. pleuropneumoniae* induit également une congestion marquée des organes abdominaux. Le foie montre des lésions d'intensité modérée de périhépatite fibrineuse.

#### 2.5. Résultats sérologiques

Les animaux étant morts entre 5 et 11 jours après l'infection par *A. pleuropneumoniae*, aucune séropositivité n'a été observée.

Deux semaines après l'infection par *M. hyopneumoniae*, un porcelet est séropositif, une semaine plus tard, les trois porcs survivants sont séropositifs.

#### CONCLUSION

Dans les conditions expérimentales décrites, l'infection associant *M. hyopneumoniae* et *A. pleuropneumoniae* a induit des symptômes et des lésions plus graves que ceux que l'on

observe lors d'une infection unique à *A. pleuropneumoniae*. Des résultats identiques ont été obtenus par YAGIHASHI *et al* (1984), qui accordent à *M. hyopneumoniae* un rôle fondamental à la fois dans l'exacerbation des lésions pulmonaires et dans la survie des deux agents dans les organes des animaux infectés. Dans le cas de notre étude, les résultats bactériologiques montrent que la présence des deux microorganismes reste constante durant toute l'expérience. Dans le cas de l'infection unique, *A. pleuropneumoniae* est moins fréquent (nombre de colonies réisolées) dans les voies et organes respiratoires mais est retrouvé dans deux cas à partir du coeur. Les cavités nasales, mais surtout les amygdales se révèlent être des sites de multiplication intense de la bactérie. Lors d'une précédente expérience, réalisée dans des conditions similaires, 4 porcs sur 8 infectés par *A. pleuropneumoniae* et qui n'avaient développé ni symptômes ni lésions, hébergeaient la bactérie uniquement dans les cryptes amygdaliennes et se révélaient séropositifs (KOBISCH, 1992, communication personnelle). Ces observations confirment l'intérêt des contrôles effectués à partir de biopsies d'amygdales (LE FOLL *et al*, 1991) puisqu'ils permettent de détecter les porteurs asymptomatiques. En effet, ce paramètre est essentiel à prendre en compte lors de l'introduction de tels porteurs dans des cheptels non infectés (INZANA, 1991).

Au cours de l'étude qui vient d'être décrite, il a été également observé une incidence négative de l'infection sur les performances des animaux. Cette incidence est plus marquée lorsque les deux agents sont présents. Ainsi, *M. hyopneumoniae* prédispose l'animal à une infection secondaire par des bactéries et cette association entraîne des pertes économiques considérables (CLARKE, *et al*, 1991). Cependant, SCHEIDT *et al*, (1990) ont constaté que la présence de lésions pulmonaires à l'abattoir n'était pas toujours en relation avec l'âge des animaux. En effet, les animaux les moins atteints, n'étaient pas toujours ceux qui avaient la meilleure croissance. FOURICHON *et al* (1991) expliquent ce phénomène en montrant, qu'à l'échelle individuelle, l'altération des performances est en relation avec la présence d'une pathologie respiratoire mais que les examens à l'abattoir ne traduisent qu'une pathologie chronique ou tardive. Cette dynamique est confirmée par NOYES *et al* (1990) qui indiquent, par des radiographies pulmonaires de porcs à l'abattoir, que les lésions progressent et régressent au cours de la vie du porc et en fonction du statut sanitaire de chaque troupeau ce qui est en accord avec INZANA (1991) et VANTIC *et al* (1991).

Les travaux de ROSS (1990) effectués dans des conditions expérimentales analogues à celles qui ont été obtenues dans la présente étude, confirment l'action synergique des deux germes, chez les porcs infectés. Lors d'infections uniques à *M. hyopneumoniae* ou à *A. pleuropneumoniae*, il est observé une stimulation de la fonction des macrophages alvéolaires. Lors d'une infection associant les deux agents, on constate une suppression de cette activité, ce qui amplifie la sensibilité des animaux à une infection bactérienne secondaire. A cette égard, BLANCHARD *et al*, (1992) ont montré que *M. hyopneumoniae*

s'attache aux cils de l'épithélium trachéo-bronchique, induit un effet cytopathique, entraînant une exfoliation cellulaire qui se traduit par une réaction cellulaire de l'hôte qui se trouve ainsi préparé à une infection secondaire d'origine bactérienne.

Dans les conditions de la pratique, les porcs infectés par *M. hyopneumoniae* sont donc sans cesse sensibles à une contamination bactérienne. Ceci implique qu'un effort considérable soit entrepris pour contrôler la pneumonie enzootique et éliminer *M. hyopneumoniae*.

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BLANCHARD B., VENA M.M., CAVALIER A., LE LANNIC J., GOURANTON J., KOBISCH M., 1992. *Vet. Microbiol.* 30, 329 - 341.
- CLARKEL.K., ARMSTRONG C.H., FREEMAN M.J., SCHEIDT A.B., FREEMAN L.S., KNOX K., 1991. *Vet. Med.*, 5, 543 - 550.
- FOURICHON C., MADECF., MORVAN P., CARIOLETR., LABBÉ A., PABOEUF F., PANSART J.F., KOBISCH M., 1991. *Journées Rech. Porcine en France*, 23, 153 - 156.
- FRIIS N., 1975. *Nord-Vet. Med.* 27, 337 - 339.
- INZANA T.J., 1991. *Microbiol. pathogenesis...*
- KOBISCH M., BLANCHARD B., LE POTIER M.F., 1992. *Ann. Rech. Vet.* (sous presse)
- KOBISCH M., LARIVIÈRE S., MORVAN P., LABBÉ A., DELASALLE F., GUILMOTO H., PINAULT J.C., GOELLO L., BRIANT J., PICARD J., 1991. *Journées Rech. Porcine en France*. 23, 167 - 173.
- KOBISCH M., MORVAN P., LABBÉ A., 1992. (Communication personnelle).
- KOBISCH M., TILLON J.P., VANNIER P., 1978. *Rec. Med. Vet.* 154 (10), 847 - 852.
- LE FOLL P., MORVAN H., NICOLAS Y., 1991. *Journées Rech. Porcine en France*, 23, 157 - 165.
- NICOLET, J., 1987. *Rec. Med. Vet.* 163(4), 445 - 449.
- NOYES E.P., FEENEY D.A., PIJOAN C., 1990. *JAVMA* 197 (8), 1025 - 1029.
- ROSS R.F., 1990, 8th IOM Congress, Istambul, p 127 - 128.
- ROSS R.F., 1992. in *Diseases of swine*. 537 - 551. Leman A.D. ed., IOWA State University Press. 1021 p.
- SCHEIDT A.B., MAYROSE V.B., HILL M.A., CLARK L.K., CLINE T.R., KNOX K.E., RUNNELS L.J., FRANTZ S., EINSTEIN M.E., 1990. *JAVMA*, 196 (6) 881 - 884.
- VAN TIL L.D., DOHOO I.R., MORLEY R.S., 1991. *Can. J. Vet. Res.* 55, 347-351.
- YAGIHASHI T., NUNOYA T., MITUI T., TASIMA M., 1984. *Jpn. J. Vet. Sci.* 46 (5), 705 - 713.