

# Influence de l'ammoniac sur la fréquence de la toux induite par l'acide citrique chez le porc

B. MOREAUX, P. GUSTIN

Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Département de Pharmacologie-Pharmacothérapie et Toxicologie  
boulevard de Colonster B 41, 4000 Liège, Belgique.

Avec la collaboration technique de D. Beerens

## **Influence de l'ammoniac sur la fréquence de la toux induite par l'acide citrique chez le porc**

Afin d'étudier l'effet de l'ammoniac sur la fréquence de la toux induite par l'acide citrique chez le porc, des porcelets ont été exposés pendant quatre jours à une concentration de 30 ppm d'ammoniac dans une chambre d'inhalation. La toux a été induite par une nébulisation d'acide citrique à la concentration de 0.8 M. Les animaux ont été soumis à trois tests de provocation à deux jours d'intervalle. L'ammoniac a induit une diminution significative de la fréquence de la toux après une période de 48 heures d'exposition. Cette inhibition se maintient tout au long de la période d'exposition. Suite à cet effet, la récupération du réflexe de la toux a également été étudiée. Les animaux récupèrent leur réflexe cinq jours après la fin de la période d'exposition à l'ammoniac. En conclusion, l'ammoniac inhibe le réflexe de la toux induite par l'acide citrique chez le porcelet.

## **Effect of ammonia on the coughing reflex induced by citric acid in piglets**

The effect of ammonia on the coughing reflex induced by citric acid in piglets was assessed. The piglets were exposed during a period of four days to a concentration of 30 ppm ammonia in a closed chamber. Coughing was induced using a citric acid (0.8 M) spray. The animals underwent three citric acid tests at intervals of two days. There was a significant decrease in coughing frequency after 48 hours of exposure to ammonia. Inhibition of coughing persisted throughout the period of ammonia exposure. Recovery of the coughing reflex was observed five days after the end of the period of exposure to ammonia. We concluded that ammonia inhibits the cough reflex induced by citric acid in pigs.

## INTRODUCTION

L'ammoniac est un gaz produit à partir des fermentations de lisiers et, est fréquemment présent dans les porcheries. Dans les unités bien ventilées, les teneurs en ammoniac sont inférieures à 10 ppm. Une étude récente de BESKOW et al. (1998) montre en effet que les teneurs mesurées pendant six mois dans six exploitations bien gérées du point de vue hygiénique n'ont jamais excédé 12 ppm. En revanche, elles sont comprises entre 25 et 50 ppm et peuvent même atteindre des pics de 100 ppm dans les exploitations mal gérées. Les effets de l'ammoniac sur le système respiratoire du porc ont été documentés au cours des dernières années (DOIG et WILLOUGHBY, 1971; URBAIN et al., 1994 et 1996a). Brièvement, ce gaz provoque des lésions cellulaires, augmente la perméabilité de l'épithélium des voies aériennes, une infiltration de la muqueuse nasale par des cellules inflammatoires, une hyperplasie épithéliale et une destruction des cils vibratils.

Par ailleurs, lors de pathologies respiratoires, un des signes cliniques fréquemment relevé sur le terrain est la toux. A ce jour, aucune étude systématique ne renseigne l'effet de l'ammoniac sur la fréquence de la toux chez le porc. Ce gaz, pourtant classiquement décrit comme un facteur tussigène (DRUMMOND et al., 1980; STOMBAUGH et al., 1969), s'est avéré capable d'inhiber la toux chez le cobaye (observation personnelle). Dès lors, le but de ce travail est d'étudier l'effet d'une exposition à l'ammoniac à une concentration de 30 ppm pendant quatre jours sur la fréquence de la toux induite par l'acide citrique pendant et après la période d'exposition.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1. Animaux

Dix-sept porcelets Landrace Belge des deux sexes ont été sélectionnés pour cette étude. Les animaux, pesant en moyenne 12 kg, ont été préalablement introduits dans un local constitué d'un caillebotis surélevé par rapport au sol (40 cm), dépourvu de litière et où le lisier était éliminé quotidiennement. Les animaux ont été nourris exclusivement avec des pellets (Baby starter, Schyns, Battice, Belgium) et de l'eau ad libitum. Ces conditions d'hébergement particulières visaient à maintenir les concentrations en poussière et en ammoniac à un niveau minimal avant l'expérimentation.

### 1.2. Méthode de provocation de la toux par l'acide citrique

Les porcelets sont introduits individuellement dans une chambre d'inhalation dont les caractéristiques ont été décrites précédemment (URBAIN et al, 1993, 1996b). Brièvement, les conditions de réalisation du test sont les suivantes (MOREAUX et al., 1998). La capacité de la chambre est de 1,9 m<sup>3</sup>. Les conditions climatiques et la charge en polluants sont contrôlées. La chambre est nettoyée quotidiennement afin d'éviter tout dégagement d'ammoniac par le lisier. L'air entrant et sortant est filtré. Un nébulisateur ultra-

sonic (DeVillbiss, ultra-neb 2000, Somerset, PA, USA) produisant des particules comprises entre 0,5 et 5 µm (indication du fabricant) est connecté à l'entrée d'air. La ventilation de la chambre est arrêtée pendant la période de nébulisation afin de permettre une répartition plus homogène des particules.

L'acide citrique (Merck réf. 1.00244, Germany) est dissout dans une solution saline (NaCl 0.9%) à la concentration de 0,8 M. L'absence d'effet tussigène de la solution saline a été vérifiée préalablement. Brièvement, le porcelet est soumis à une nébulisation d'acide citrique à la concentration de 0,8 M pendant quinze minutes. Après la période de nébulisation, la chambre d'inhalation est à nouveau ventilée pendant une période de quinze minutes pour extraire l'acide citrique encore présent. La toux est comptée par un observateur pendant les deux périodes de quinze minutes. La fréquence de la toux est exprimée en nombre de toux compté pendant trente minutes.

### 1.3. Méthode d'exposition à l'ammoniac

L'enrichissement de la chambre en ammoniac (NH<sub>3</sub>) a été réalisé en connectant une bonbonne contenant 15 % de ce gaz au circuit d'arrivée d'air. Le taux d'ammoniac est relevé quotidiennement au moyen de pipette colorimétrique 3L (Scantec, Antwerpen, Belgium).

### 1.4. Protocole expérimental

Les animaux du groupe contrôle (n=5), ont été placés pendant cinq jours dans la chambre d'inhalation. Durant cette période, ils ont subi trois tests de provocation de la toux à deux jours d'intervalle (J1, J3, J5). Le taux d'ammoniac relevé quotidiennement était inférieur à 1 ppm.

Les animaux d'un premier groupe test (n=6) ont été placés également dans la même chambre d'inhalation pendant cinq jours. Ils ont subi trois tests de provocation de la toux induite par l'acide citrique à deux jours d'intervalle (J1, J3, J5). Le premier test de provocation de la toux (J1) a servi de valeur contrôle. Ensuite, les animaux ont été immédiatement exposés à une concentration en ammoniac de 30 ppm, pendant quatre jours. La moyenne de la concentration en ammoniac relevée quotidiennement pendant les quatre jours a été de 29 ± 2 ppm. Les porcelets ont subi le test à l'acide citrique aux jours trois et cinq (J3 et J5) dans une autre chambre d'inhalation que celle utilisée pour l'exposition des animaux à l'ammoniac afin d'éviter une interaction de type acide-base entre l'acide citrique et le gaz. Cette deuxième chambre possède les mêmes caractéristiques que la première.

Un troisième groupe de porcelets (n=6) a été soumis au même protocole que le deuxième groupe. La moyenne du taux d'ammoniac pendant les quatre jours d'exposition a été 28 ± 1 ppm. Toutefois, après le troisième test de provocation de la toux, les animaux sont restés pendant sept jours supplémentaires dans la chambre d'inhalation dans une atmosphère dépourvue d'ammoniac (<1 ppm). Après deux jours de repos (J6 et J7), les porcelets ont subi trois tests de provo-

cation à deux jours d'intervalle (J8, J10, J12) pour étudier la récupération du réflexe de la toux suite à une exposition à l'ammoniac.

### 1.5. Analyse statistique

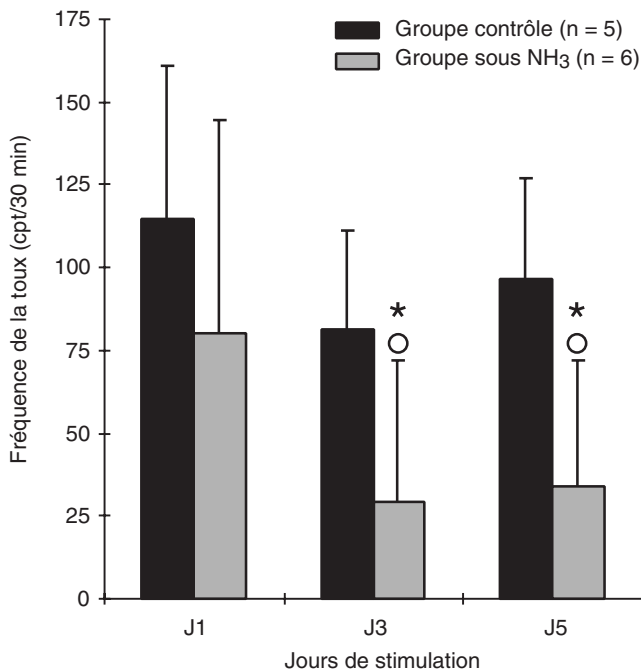
Les valeurs sont exprimées sous forme de moyennes  $\pm$  une déviation standard. Les résultats ont été soumis à un test d'analyse de variance (ANOVA). Quand l'anova était significative ( $p < 0,05$ ), les moyennes ont été comparées par un test de t de Student. Les différences sont significatives lorsque  $p < 0,05$ .

## 2. RÉSULTATS

### 2.1. Réponse clinique à l'exposition à l'ammoniac et au test de provocation de la toux

Aucun signe clinique n'a été observé pendant que les porcelets ont été exposés à une concentration de 30 ppm en ammoniac pendant quatre jours. Pendant le test de provocation de la toux, de la salivation a été observée chez 9 animaux sur dix-sept indépendamment de l'exposition à l'ammoniac.

**Figure 1** - Évolution de la moyenne du nombre de toux comptés au cours d'une période de 30 minutes pendant les trois tests de provocation de la toux (J 1, J 3, J 5) réalisés un jour sur deux.



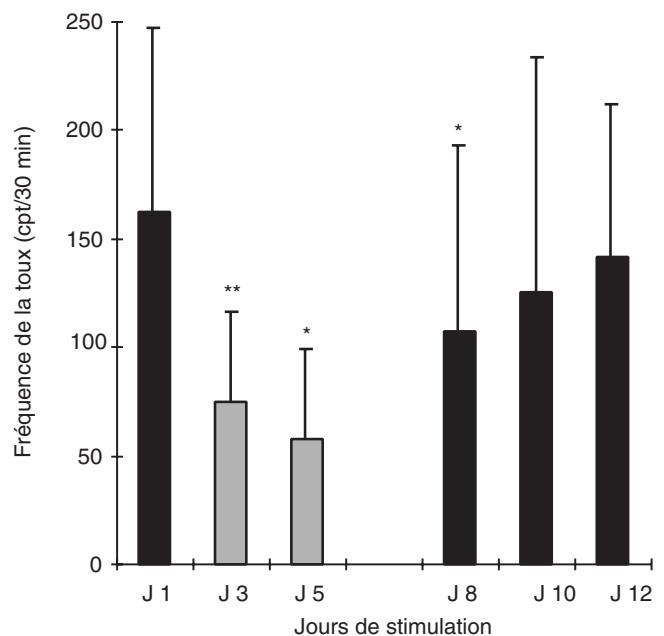
\* indique une différence significative par rapport à la valeur de base (J1).

° indique une différence significative entre le groupe contrôle et le groupe sous ammoniac pour les valeurs correspondantes au même jour de stimulation.

### 2.2. Effet de l'ammoniac sur la fréquence de la toux

La figure 1 montre l'effet de l'ammoniac sur la fréquence de la toux induite par l'acide citrique. Après une exposition à l'ammoniac de 48 heures, une inhibition de la fréquence de la toux a déjà été observée. Elle se maintient tout au long de la période d'exposition. La figure 2 montre la cinétique de la récupération du réflexe de la toux au cours de la période qui suit. Dès le dixième jour, soit 5 jours après la fin de la période d'exposition à l'ammoniac, une récupération du réflexe de la toux a été constatée.

**Figure 2** - Évolution de la moyenne du nombre de toux comptés au cours d'une période de 30 min. pendant et après la période d'exposition à l'ammoniac (n=6). Entre J 1 et J 5, les animaux ont été exposés à l'ammoniac (30 ppm).



\* indique une différence significative par rapport à la valeur de base (J1) (\*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ).

## 3. DISCUSSION

L'ammoniac est un gaz irritant pour les yeux mais surtout pour le système respiratoire. URBAIN et al. (1994 et 1996b) ont montré que l'ammoniac provoque des dommages cellulaires, une augmentation de la perméabilité des muqueuses respiratoires, une infiltration de la muqueuse nasale par des cellules inflammatoires, une hyperplasie épithéliale et une destruction des cils vibratiles.

Par contre, l'impact de l'ammoniac sur le déclenchement de la toux chez le porc reste peu documenté. URBAIN et al. (1994 et 1996a), ont mentionné de la toux occasionnelle chez des animaux exposés à 100 ppm d'ammoniac pendant six jours. DRUMMOND et al. (1980) rapportent la même

observation à une concentration de 150 ppm pendant 28 jours de même que STOMBAUGH et al. (1969) pour des concentrations de 100 à 150 ppm pendant 35 jours. Chez le cheval et chez l'homme, des concentrations plus faibles (17 à 130 ppm) semblent provoquer la toux (BAUR et al., 1997; KATAYAMA et al., 1995). D'après notre expérience, des concentrations réalistes en ammoniac (0-30 ppm) ne se sont jamais avérées être un facteur tussigène important dans l'espèce porcine.

L'acide citrique déclenchant la toux chez le porc en provoquant, notamment, la dégranulation des fibres nerveuses de type C (MOREAUX et al., 1998) et l'ammoniac étant capable d'interférer avec la libération de la Substance P libérée par ces fibres (MATSUMOTO, 1989), l'hypothèse d'une interaction entre l'ammoniac et l'acide citrique était pertinente d'un point de vue scientifique. En outre, d'un point de vue pratique, la signification clinique de ce symptôme pourrait en être biaisée si la fréquence de la toux peut être effectivement modulée par l'ammoniac présent dans les por-

cheres. Les résultats de la figure 1 montrent que l'ammoniac à une concentration de 30 ppm peut inhiber fortement le réflexe. Le fait d'avoir réalisé les tests en dehors de l'enceinte utilisée pour exposer les animaux à l'ammoniac permet d'éliminer l'hypothèse d'une interaction chimique entre l'ammoniac et l'acide citrique. Cependant, une interaction au niveau des muqueuses respiratoires ne peut pas être a priori rejetée. Toutefois, le fait que la récupération du réflexe nécessite plusieurs jours après la fin de l'exposition à l'ammoniac, ne plaide pas en faveur de ce mécanisme. Des études complémentaires sont nécessaires pour vérifier l'impact de l'ammoniac sur la libération de la Substance P chez le porc. Quoiqu'il en soit, il sera important à l'avenir d'évaluer, en porcherie, l'influence de l'ammoniac sur la symptomatologie des pathologies respiratoires chez le porc.

## REMERCIEMENT

Ce travail est subsidié par le Ministère de l'Agriculture (DG VI).

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAUR X., MARCZYNSKI B., CZUPPON A.B., 1997. *Pneumologie*, déc, 51, 12, 1087-92.
- BESKOW P., NORQVIST M., WALLGREN P., 1998. *Acta vet. scand.*, 39, 49-60.
- DOIG D., WILLOUGHBY R., 1971. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 159, 1353.
- DRUMMOND J.G., CURTIS S.E., SIMON J., NORTON H.W., 1980. *J. Anim. Sci.*, 50, 1085.
- KATAYAMA Y., OIKAWA M., YOSHIHARA T., KUWANO A., HOBOS S., 1995. *Journal of Equine Science*, 6, 3, 99-104.
- MATSUMOTO S., 1989. *Respiratory Physiology*, 77, 301-308.
- MOREAUX B., BEERENS D., CAMBIER C., DESMECHT D., GUSTIN P., 1998. *Proceeding of WEAS, Canada*.
- MOREAUX B., BEERENS D., GUSTIN P., 1998. *J. Vet. Pharmacology and Therapeutics* (soumis pour publication).
- STOMBAUGH D.P., TEAGUA H.S., ROLLER W.L., 1969. *J. Anim. Sci.*, 28, 844.
- URBAIN B., GUSTIN P., PROUVOST J.F., MICHEL O., NICKS B., ANSAY M., 1993. *Vet. Res.*, 24, 503-514.
- URBAIN B., GUSTIN P., PROUVOST J.F., ANSAY M., 1994. *Am. J. Vet. Res.*, 55 (9), 1335-1340.
- URBAIN B., GUSTIN P., CHARLIER G., COIGNOUL F., LAMBOTTE J.L., et al., 1996 a. *Vet. Res. Com.*, 20, 381-399.
- URBAIN B., GUSTIN P., PROUVOST J.F., BEERENS D., MICHEL O., et al., 1996b. *Vet. Res.*, 27, 569-578.