

Diffusion aérienne d'*Actinobacillus pleuropneumoniae* dans des conditions expérimentales et développement de pleuropneumonie chez les porcs

J.L. JOBERT, Chantal SAVOYE, R. CARIOLET, Marylène KOBISCH, F. MADEC

A.F.S.S.A. (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments)
B.P. 53, 22440 Ploufragan

Avec la collaboration technique de Annie Labbé et B. Beaurepaire

Diffusion aérienne d'*Actinobacillus pleuropneumoniae* dans des conditions expérimentales et développement de pleuropneumonie chez les porcs

La pleuropneumonie due à *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) constitue une préoccupation pour la filière de production porcine. Une expérimentation est conduite dans les installations protégées de l'AFSSA Ploufragan dans l'objectif de démontrer le transfert de la bactérie par la voie aérienne. Deux salles contiguës (animaleries) sont utilisées. L'une (salle B3) héberge 10 porcs EOPS (Exempts d'Organismes Pathogènes Spécifiques) de 10 semaines d'âge dont 6 inoculés à J0 par instillation nasale de 10^7 ou 10^8 bactéries (App biovar 1 serovar 9). Les 4 autres servent de «sentinelles». La seconde salle (B4) héberge 8 porcs EOPS de même âge. Une petite ouverture ($0,27 \text{ m}^2$) est mise en place entre les deux salles de sorte que l'animalerie B4 soit exclusivement alimentée en air via B3. La distance minimale entre les porcs de B3 et de B4 est de 3 mètres. Des manifestations aiguës de pleuropneumonie apparaissent en B3 tant sur les porcs inoculés que sur les sentinelles. De même, après un bref décalage (environ 24 heures), des signes cliniques apparaissent en B4. La mortalité est élevée (6 sur 10 en B3, 2 sur 8 en B4) et la séroconversion est générale. Le transfert d'App par voie aérienne sur une courte distance (quelques mètres) est confirmé.

Aerial transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in experimental facilities and development of acute pleuropneumonia in growing pigs

Pleuropneumonia due to *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) is a main cause of concern to the pig industry. A trial was carried out in totally controlled facilities in order to study the possible transfer of the bacteria via the air. Two adjacent rooms were used. One of them (B3) housed 10 SPF (Specific Pathogen Free) pigs ten weeks of age. Six of these were inoculated intranasally with 10^7 or 10^8 bacteria (App Biovar 1 Serovar 9); the remaining pigs were «sentinels». The second room (B4) housed 8 SPF pigs of the same age. A small window ($0,27 \text{ m}^2$) was opened between the rooms. From inoculation onwards, the ventilation system was such that this window was the exclusive air inlet to B4. The minimal distance between B3 and B4 pigs was 3 meters. Acute clinical signs of pleuropneumonia occurred in the pigs of B3 as well in inoculated pigs as in the sentinels. Six pigs died. One day after the first signs in B3, the disease appeared in B4. Two pigs died and one did not clinically react. In the sick pigs the lesions were typical of pleuropneumonia. App B1S9 was isolated in all the pigs except one, but all the pigs seroconverted. The transfer of App over a short distance (a few meters) was confirmed.

INTRODUCTION

La pleuropneumonie représente une préoccupation dans bon nombre d'élevages porcins. En règle générale, la maladie affecte le porc en croissance essentiellement durant la phase d'engraissement. Elle se traduit par des mortalités brutales associées à des lésions pulmonaires hémorragiques prononcées (SEBUNYA et SAUNDERS, 1983 ; TAYLOR, 1999). Si le recours rapide aux antibiotiques permet d'enrayer les mortalités, des conséquences sont néanmoins à redouter sur une partie des animaux : retard de croissance, saisies à l'abattoir. De plus, les animaux restent porteurs de la bactérie.

Un nombre restreint d'études a été consacré à la transmission de la bactérie responsable de la pleuropneumonie porcine : *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App). Des difficultés techniques ont en effet considérablement contrarié les travaux des épidémiologistes qui ne disposaient pas des outils de détection appropriés. Ils devaient par conséquent baser leurs investigations sur les manifestations cliniques ainsi que sur les isollements bactériens en cas de mortalité. La mise au point de tests sérologiques (RADACOVICI et al., 1994) et celle de tests PCR (SIROIS et al., 1991 ; OSAKI et al., 1997 ; GRAM et AHRENS, 1998 ; RIGOUT et CHEVALLIER, 1999 ; SAVOYE et al., 2000) constitue à cet égard une indéniable avancée. C'est ainsi que des cinétiques sérologiques ont pu être réalisées (GUZYLACK et al., 1997). En élevage, lorsqu'un épisode de pleuropneumonie éclate dans un compartiment, la question de la diffusion de la maladie dans les autres secteurs se pose. La diffusion aérienne des maladies virales épizootiques sur de longues distances est documentée (DONALSON et FERRIS, 1980 ; MADEC et al., 1982 ; CHRISTENSEN et al., 1990).

Paradoxalement et bien que des rapports aient été publiés (STÄRK et al., 1992), la question de la diffusion des maladies à caractère enzootique par la voie aérienne reste ouverte. La présente communication se propose d'étudier la transmission d'App par voie aérienne sur une courte distance dans les conditions expérimentales protégées de l'AFSSA Ploufragan.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Le dispositif expérimental

Les conditions expérimentales sont détaillées dans l'étude de JOBERT et al. (2000). L'expérimentation s'est déroulée dans deux salles contiguës (salles B3 et B4). Pour les besoins de l'essai, les salles qui normalement sont totalement indépendantes, ont été modifiées pour permettre le passage d'air de l'une vers l'autre salle : de B3 (destinée à héberger les porcs EOPS (Exempts d'Organismes Pathogènes Spécifiques) inoculés par nos soins) vers B4 (recevant des animaux EOPS non inoculés). Pour ce faire, une ouverture rectangulaire de 0,27 m² a été réalisée sur la paroi mitoyenne et un différentiel de pression d'air a été mis en place à l'aide du dispositif de ventilation. Le débit d'air transitant par l'orifice est d'environ 19,3 m³ par minute. La vitesse de l'air au niveau des animaux reste très faible (de l'ordre de 0,02 m/s) et les conditions bioclimatiques sont considérées comme excellentes (température 22°C, teneur

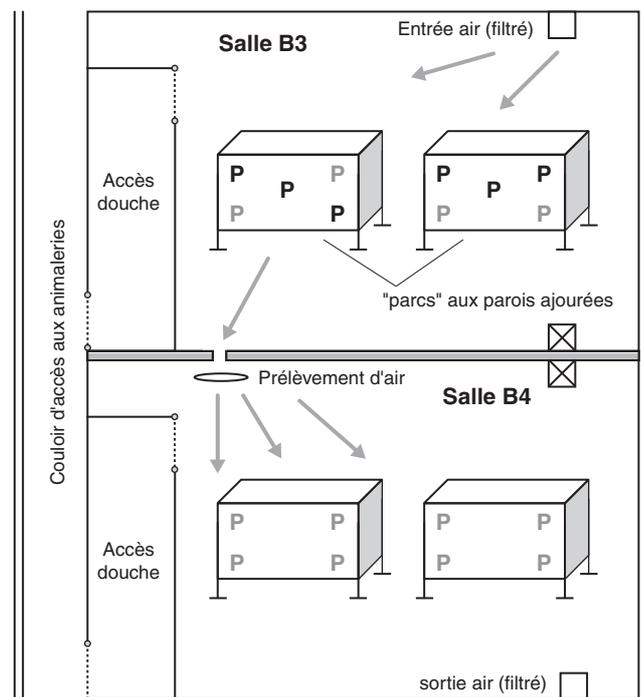
en NH₃ inférieure à 1 ppm, teneur en CO₂ inférieure à 0,05 %). Les précautions de biosécurité classiques en usage sont appliquées (stérilisation du matériel, circuit du personnel, douche, filtration de l'air à l'entrée dans B3 et à la sortie de B4...). Les porcs sont placés sur parc métallique. Les déjections sont évacuées quotidiennement. La distance entre les parcs d'une même salle est de 20 cm. La distance des angles des parcs les plus proches de B3 et de B4 est de 3 m. Le volume de chaque salle est 67 m³.

1.2. Les animaux

Dix-huit porcs EOPS âgés de 10 semaines et pesant 37 kg en moyenne sont utilisés dans l'essai. La figure 1 illustre le dispositif.

La salle B3 héberge 10 porcs logés sur 2 parcs. Six porcs sont inoculés par nos soins et 4 servent de «sentinelles». La salle B4 héberge 8 porcs non inoculés (4 par parc).

Figure 1 - Dispositif expérimental utilisé. Inoculation de 6 porcs de la salle B3 (P). Salle B4 alimentée en air à partir de B3 grâce à une petite ouverture (0,27 m²) faite en paroi. Distance entre parcs les plus proches via l'ouverture : 3 mètres



1.3. Inoculations

Dans la salle B3, trois porcs par parc sont inoculés par voie intra-nasale. La souche d'App (N°4915) appartient au biovar 1, serovar 9 (B1S9). L'inoculum est une culture de 6 heures en milieu PLO supplémenté en nicotinamide adénine dinucléotide (β -NAD, 10 μ g/ml), glucose (1 mg/l) et sérum de cheval (5%). L'inoculation se fait par voie nasale (0,5 ml/narine). Trois porcs de l'un des parcs reçoivent 10⁷ bactéries ; trois porcs de l'autre parc reçoivent 10⁸ bactéries.

1.4. Prélèvements et mesures réalisés

Des ponctions sanguines sont réalisées. Elles ont lieu avant l'inoculation (J-5) puis une fois par semaine (J6, J13, J20) et enfin au moment de l'abattage (J22 pour les porcs en B3 et J27 pour les porcs en B4). Les anticorps sériques dirigés contre les lipopolysaccharides à longue chaîne du séro-groupe 1-9-11 d'App sont recherchés par Elisa (RADACOVICI et al., 1994).

Les porcs mourant en cours d'essai sont autopsiés et la bactérie est recherchée, par culture, à partir des poumons et des amygdales. Le milieu de culture utilisé est une gélose au sang supplémentée en lincomycine (1,13 µg/ml) et bacitracine (64 µg/ml). En fin d'essai, tous les porcs sont euthanasiés et soumis à autopsie ainsi qu'aux examens bactériologiques.

Tout au long de l'essai, les animaux font l'objet d'un examen clinique. La température rectale est relevée quotidiennement (deux fois par jour de J1 à J4).

Un examen bactériologique est réalisé sur l'air admis en B4 à l'aide d'un aérobiocollecteur (SAS, Bioblock Sci.

Illkirch, France). La prise d'échantillon dure 5 minutes et correspond à l'aspiration d'environ 900 litres d'air.

2. RÉSULTATS

2.1. Signes cliniques et mortalités

Les résultats concernant la salle B3 sont présentés dans le tableau 1. Des manifestations sévères sont apparues tant chez les animaux inoculés que chez les porcs sentinelles placés à leur contact. Quatre porcs sur les 6 inoculés sont morts le lendemain de l'inoculation. Les manifestations sont apparues de façon différée chez les porcs sentinelles.

Les animaux EOPS placés en salle B4 réagissent également rapidement. Seize heures après l'inoculation des porcs de la salle B3, les premiers signes apparaissent en B4. Au cours de la période qui suit et jusqu'à J3 inclus, un abattement, des troubles respiratoires (tachypnée, dyspnée) et une hyperthermie sont constatés sur 7 des 8 animaux. Dans le parc le plus proche de la fenêtre, quelques vomissements sont observés et deux porcs meurent, l'un à J2, l'autre à J3. Il est à noter qu'un animal (N°5964) n'exprime pas les signes morbides. Les résultats sont récapitulés dans le tableau 2.

Tableau 1 - Symptômes et devenir des animaux présents en salle B3, pour la période J0-J22 (porcs inoculés et sentinelles)

N° porc	Statut	Signes cliniques						Situation à J22
		Abattement	T° rectale > 40,5 °C	Tachypnée	Dyspnée	Toux	Cyanose	
5956	infecté 10 ⁷	++	oui	++	++	0	+	mort à J1
5992	infecté 10 ⁷	++	oui	0	0	+	0	mort à J1
5995	infecté 10 ⁷	++	oui	0	0	0	0	mort à J1
5963	sentinelle	+++	oui	++	++	++	0	vivant
5988	sentinelle	++	oui	0	0	0	0	vivant
5969	infecté 10 ⁸	+++	oui	++	0	0	0	mort à J1
5982	infecté 10 ⁸	++	oui	+	0	0	0	vivant
5983	infecté 10 ⁸	+++	oui	0	++	0	++	vivant
5958	sentinelle	+++	oui	++	++	0	0	mort à J3
5978	sentinelle	+++	oui	++	++	+	0	mort à J4

Tableau 2 - Symptômes et devenir des animaux de la salle B4, pour la période J0-J27 (Porcs non inoculés, salle recevant de l'air exclusivement via B3 où des porcs ont été inoculés)

N° porc	Abattement	Signes cliniques					Situation à J27
		T° rectale > 40,5 °C	Tachypnée	Dyspnée	Toux	Cyanose	
5941	++	oui	0	++	0	0	vivant
5951	++	oui	+	++	++	0	vivant
5986	++	oui	++	++	0	0	mort à J3
5991	++	oui	0	++	0	0	mort à J2
5942	+++	oui	++	++	0	0	vivant
5953	+++	oui	++	++	++	0	vivant
5964	±	non	0	0	0	0	vivant
5973	+++	oui	++	0	0	0	vivant

2.2. Résultats de l'examen nécropsique

Chez les porcs morts en phase aiguë de la maladie (qu'ils aient été inoculés ou non), des lésions prononcées de pleuropneumonie hémorragique dominant le tableau lésionnel. Une pleurésie fibrineuse est toujours présente.

Chez les porcs euthanasiés en fin d'essai, des pleurites chroniques avec fortes adhérences sont observées ; elles sont parfois associées à des foyers de nécrose pulmonaire.

En salle B4, chez les 6 porcs restés en vie, seuls deux animaux (5964 et 5951) ne présentent aucune lésion pulmonaire à J27.

2.3. Résultats bactériologiques

En salle B3, *Actinobacillus pleuropneumoniae* (B1S9) est isolé chez 9 des 10 animaux à partir des poumons et/ou des amygdales. Un animal N°5988, non inoculé, est négatif à J22 au moment de l'autopsie.

En salle B4, App (B1S9) est isolé chez cinq des six porcs. Pour trois d'entre eux, l'isolement se fait à partir du poumon et des amygdales.

Au cours de la période post-inoculation, 18 boîtes contact ont été réalisées sur des échantillons d'air à l'entrée dans la salle B4. App n'a pu être isolé qu'une seule fois (à J3).

2.4. Résultats sérologiques

En salle B3, les animaux inoculés qui survivent à l'épreuve montrent une séroconversion rapide (en une semaine). Les porcs sentinelles sont séropositifs à J13.

En salle B4, les animaux survivants sont tous séropositifs entre J6 et J13. Le porc N°5964, qui ne manifeste aucun signe clinique, séroconvertit à l'image de ses congénères.

3. DISCUSSION

Dans notre essai, l'inoculation intra nasale de 10^7 et 10^8 bactéries (App) par porc reproduit des manifestations typées de pleuropneumonie. Celles-ci sont comparables à celles observées lors d'épisodes aigus spontanés survenant en élevage (FENWICK et HENRY, 1994 ; HAESBROUCK et al., 1997 ; TAYLOR, 1999)

L'essai a également montré que l'infection se transmet facilement à des porcs non inoculés mis au contact d'animaux infectés. Le délai de latence est ici relativement bref, de l'ordre de la journée, ce qui est conforme à d'autres investigations (LECHTENBERG et al., 1994).

Le rôle de l'air dans la dissémination des agents infectieux est bien établi mais ce sont surtout les contaminants viraux associés aux maladies épizootiques qui ont fait l'objet des travaux. Toutefois Outre-Atlantique, TORREMORELL et al.,

(1997) ont démontré la diffusion aérienne d'App sur une courte distance (1 mètre) en utilisant un dispositif spécifique. Celui-ci consiste en des caissons reliés par un conduit cylindrique, système très éloigné du mode de logement habituel des porcs en élevage. A cet égard, le dispositif mis en œuvre dans la présente étude à Ploufragan n'est pas, lui non plus, identique aux conditions d'habitat usuelles rencontrées en élevage. Toutefois, il s'en approche davantage (dimension des salles, débits d'air en jeu...). Dans les élevages, des échanges aériens sont souvent possibles entre salles adjacentes ou plus généralement distantes de quelques mètres. Dans ces conditions, il est désormais clairement établi qu'un transfert de contaminants bactériens par la voie aéroportée est possible. Ce transfert peut même être massif si la pression d'infection est forte, ce qui est le cas dans les salles d'engraissement peuplées de plusieurs dizaines d'animaux (WATHES 1987 ; COX 1989).

Le porc reste le principal vecteur de contamination par App, notamment dans le cadre de transferts d'animaux d'une salle à une autre ou d'un élevage à un autre. La mise en évidence d'App dans les amygdales d'un porc séropositif mais n'ayant à aucun moment exprimé la maladie, est ici à mentionner. De tels animaux, «porteurs asymptomatiques», constituent à l'évidence un risque majeur de diffusion des agents infectieux.

Différentes sources de contamination par App ont été suggérées (DESROSIERS et MOORE, 1998). Il faut notamment souligner le rôle possible de l'éleveur lui-même dans la diffusion d'App lorsque la situation l'amène à pénétrer dans les cases d'animaux malades (pour y réaliser des injections par exemple) puis de rentrer sans précaution dans les autres compartiments de l'élevage. Dans notre essai, les règles de biosécurité en usage à Ploufragan (CARIOLET, 1986) ont été strictement respectées : changement complet de vêtements entre salles, douche, matériel stérile affecté à chaque salle en début d'essai, entrée d'air unique, étanchéité des installations...

Une discussion peut s'engager sur l'origine des particules infectieuses transférées dans notre essai de la salle B3 vers la salle B4. Il est probable que la source principale d'App soit des aérosols provenant de l'air expiré par les animaux infectés et notamment par les sujets malades. En effet, les poussières, issues de l'assèchement de fèces ou d'aliment et souvent incriminées comme vecteurs, sont présentes en très faible concentration dans nos installations (grande propreté des porcs placés sur sol totalement ajouré, évacuation quotidienne de l'intégralité des déjections, alimentation granulée *ad libitum* en nourrisseur).

Enfin, si le présent essai démontre le transfert de bactéries pathogènes spécifiques sur une courte distance (quelques mètres), l'étude de CARIOLET et al. (2000), montre qu'un tel transfert n'a pas lieu sur des distances plus longues (de l'ordre de 50 mètres). En fait, la preuve d'un transfert «naturel» sur de plus longues distances (1 kilomètre ou davantage) est difficile à établir tant il est illusoire de sérieusement contrôler les autres sources concurrentes de contamination.

REMERCIEMENTS

Ce travail a pu être réalisé dans le cadre du 11^{ème} contrat de plan État-Région grâce à l'appui de l'OFIVAL, de la Région Bretagne et de l'ARIP Bretagne.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CARIOLET R., 1986. Journées Rech. Porcine en France, 18, 321-330.
- CARIOLET R., CALLAREC J., DUTERTRE C., et al., 2000. Journées Rech. Porcine en France, 32, 25-32.
- COX C.S., 1989. Sci. Prog. 73, 469-499.
- CHRISTENSEN L.S., MOUSING J., MORTENSEN S. et al., 1990. Vet. Rec. 127, 471-474.
- DESROSIERS R., MOORE C., 1998. Swine Health and Production, 6, 263-265.
- DONALSON A.I., FERRIS N.P., 1980. Res. Vet. Sci, 29, 315-319.
- FENWICK B., HENRY S., 1994. J. Am. Vet. Med. Assoc. 204, 1334-1340.
- GRAM T., AHRENS P., 1998. J. Clin. Microbiol., 36, 443-448.
- GUZYLACK S., MORVAN P., PABOEUF F., et al. 1997. Journées Rech. Porcine en France, 29, 31-38.
- JOBERT J.L., SAVOYE C., CARIOLET R., et al., 2000. Can. J. Vet. Res., 64, 21-26.
- HAESEBROUCK F., CHIERS K., Van OVERBEKE I., DUCATELLE R., 1997. Vet. Microbiol., 58, 239-249.
- LECHTENBERG K.F., SCHRYOK T.R., MOORE G., 1994. Am. J. Vet. Res., 55, 1703-1709.
- MADEC F., GOURREAU J.M., KAISER C., 1982. Epidemiol. Santé Anim., 2, 56-64.
- OSAKI M., SATO Y., TOMURA H., et al., 1997. J. Vet. Med. Sci., 59, 213-215.
- RADACOVICI S., GOTTSCHALK M., DUBREUIL J.D., 1994. Vet. Microbiol. 39, 219-230.
- RIGOUT S., CHEVALLIER B., 1999. Journées Rech. Porcine en France, 31, 365-370.
- SAVOYE C., JOBERT J.L., BERTHELOT-HÉRAULT F., et al., 2000. Vet. Microbiol., 73, 337-347.
- SEBUNYA T.N, SAUNDERS J.R., 1983. J. Am. Vet. Med. Assoc., 182, 1331-1337.
- SIROIS M., LEMIRE E.G., LEVESQUE R.C., 1991. J. Clin. Microbiol., 29, 1183-1187.
- STÄRK K.D.C., KELLER H., EGGENBERGER E., 1992. Vet. Rec. 131, 532-535.
- TAYLOR D.J., 1999. In : Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J.(Eds) Diseases of swine, 8th ed., 343-354.
- TORREMORELL M., PIJOAN C., JANNI K., et al., 1997. Am. J. Vet. Res., 58, 828-832.
- WATHES C.M., 1987. Report of European Commission, N°10820, 57-71.