

Importance des observations cliniques et nécropsiques dans la détection précoce d'un cas de peste porcine classique

Roland CARIOLET, Stéphanie BOUGEARD, Jean Claude RAULT, Bruno JAN,
André KERANFLEC'H, Gérald LE DIGUERHER, Françoise POL, Gaëlle KUNTZ-SIMON, Marie Frédérique LE POTIER

AFSSA-LERAPP, B.P. 53, 22440 PLOUFRAGAN

r.cariolet@ploufragan.afssa.fr

Can clinical symptoms and gross lesions observations be efficient tools for early Classical Swine Fever detection?

Six CSFV strains of two types of virulence (High or Low) were used to carry out experimental infection on specific pathogen free (SPF) pigs of 6 to 12 weeks of age. Data were collected from 214 pigs, 159 being previously infected and 55 kept as controls. Based on statistical analysis, it was concluded that the clinical score related to the consumption could be an interesting predictive factor, as the loss of appetite was always registered before the others clinical symptoms. At post-mortem examination, the "general healthy state" of the infected pigs compared to controls was worst when the delay between infection and culling was longer. However, that was only the case for pigs that had been infected with Low virulent strain. Lesions were more constantly observed on tonsils and spleen whatever the strain, but nearly never on kidneys. This observation led us to recommend to the clinicians to look at the tonsils of suspect live pigs even before carrying out culling.

INTRODUCTION

L'absence de peste porcine classique (PPC) chez des suidés de rente depuis plusieurs années en France peut conduire à une baisse de vigilance quant à la détection précoce de nouveaux cas. Les principaux symptômes sont connus depuis de nombreuses décennies et rappelés par Mesplède et Albina (1997). Cependant l'apparition de souches moins virulentes telles que celle à l'origine de l'épizootie qui a atteint les Pays Bas en 1997 rend la détection de la maladie beaucoup moins aisée tant les symptômes sont parfois discrets. Les travaux de Davila et al. (2003) sur l'étude de la virulence des souches et utilisant la grille de Mittelholzer (2000) montrent une nette différence en terme de score clinique mais ne précisent pas les critères cliniques qui peuvent être prédictifs quant à la détection d'un foyer. L'objet de ce travail est d'identifier à partir de données cliniques et nécropsiques issues de porcs inoculés expérimentalement, d'éventuels indicateurs précoces en termes clinique et lésionnel.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODE

1.1. Conditions d'observation

L'observation porte sur 214 porcs exempts d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS) issus d'essais d'infection expérimentale par le virus PPC, menées depuis 2001. Les données analysées sont issues de porcs infectés expérimentalement (n = 159) ainsi que des porcs témoins non inoculés (n = 55). Les animaux dont le statut EOPS est précisé par Cariolet et al. (2004), avaient entre 6 et 12 semaines d'âge au moment des inoculations. Six souches différentes ont été utilisées pour les infections, correspondant à deux types de virulence : deux souches sont qualifiées d'hypervirulentes «HYPER»

(n = 78 porcs) et 4 d'hypovirulentes «HYPO» (n = 81 porcs) selon les conditions expérimentales décrites par Davila et al. (2003). Sur le critère appétit, la grille de Mittelholzer a dû être adaptée à nos conditions expérimentales dans la mesure où l'aliment distribué à volonté et consommé au niveau du groupe ne permettait pas de préciser les consommations individuelles. En effet, par défaut de consommation au niveau du groupe par rapport aux témoins, nous avons calculé le critère appétit sur la base de la croissance individuelle entre deux pesées (animaux pesés 1 à 2 fois par semaine) permettant de définir le gain moyen quotidien (GMQ). La notation par rapport aux porcs témoins contemporains est la suivante :

- croissance comprise entre 70 % et 100% et plus : notation 0
- croissance comprise entre 31 et 69 % : notation 1
- croissance comprise entre 0 et 30 % : notation 2
- perte de poids : notation 3.

Cette classification permet de comparer les différentes situations expérimentales sur le score clinique (SC), mais également sur le critère score appétit (SA).

1.2. Conditions d'abattage des animaux et observations nécropsiques

Selon les protocoles, les examens nécropsiques ont été réalisés à différents temps post inoculation (P.I.), permettant ainsi de comparer la précocité d'apparition des lésions et leur intensité selon la virulence de la souche. Cinq critères ont été retenus pour qualifier l'abattage des animaux :

1. la mortalité naturelle,
2. l'abattage pour des raisons éthiques,
3. l'abattage par anticipation de porcs qui présentaient des symptômes importants mais dont l'issue fatale n'était pas cer-

taine, l'objectif de ces abattages étant de réaliser des autopsies de bonne qualité,

4. l'abattage séquentiel de 16 heures à 14 jours PI.. Compte tenu de l'objectif des études, les abattages ont été plus précoces après l'infection pour les souches hypervirulentes,
5. l'abattage en fin d'essai suivant les conditions définies par les protocoles.

Pour chaque porc, un examen du cadavre a été réalisé, déterminant ainsi son état physique et la présence ou non de cyanose. Une note de 0 à 2 a été attribuée pour chacun de ces deux critères pour aboutir à un paramètre «Etat général», compris entre 0 et 4. A l'autopsie, 6 organes cibles (amygdales, rate, rein, vessie, ganglions rétropharyngiens, ganglions iléo-cæcaux) ont été notés de 0 à 2 suivant le degré de sévérité des lésions pour donner un paramètre «Score lésionnel» compris entre 0 et 12.

1.3. Traitements des données

Les traitements statistiques comprenaient une analyse de variance pour les données cliniques, le test de Chi 2 pour les données nécropsiques et le test de Pearson pour les études de corrélation.

2. RÉSULTATS

2.1. Données cliniques

Les moyennes des températures rectales des trois groupes de porcs (HYPER, HYPO, Témoin) pour les 25 premiers jours PI., sont rapportées dans la figure 1. Sur les dix premiers jours, les températures enregistrées pour les souches HYPO sont intermédiaires entre celles des témoins et des souches HYPER, les trois populations étant différentes entre elles dès le troisième jour PI. ($p < 0,001$). Par la suite et par défaut d'effectif pour les souches HYPER, seules les souches HYPO restent significativement plus élevées que les témoins ($p < 0,001$).

Les scores cliniques SC et les scores appétit SA sont rapportés sur la figure 2, à l'exception des données des porcs témoins

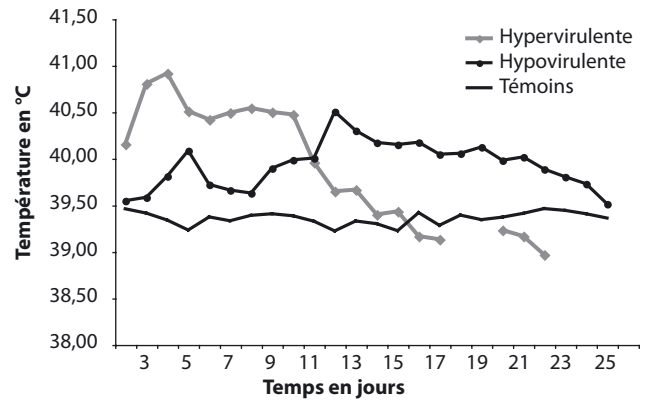


Figure 1 - Représentation des températures suivant la virulence de la souche

(absence de symptômes). L'intensité des symptômes SC (échelle de notation de 0 à 27) est plus marquée pour les souches HYPER vs souches HYPO ($p < 0,001$). Il en est de même pour les SA (échelle de notation de 0 à 3) entre les deux types de souches ($p < 0,001$). L'étude du coefficient de corrélation entre le SC et le SA est de 0,82 ($p < 0,001$) sur l'ensemble des porcs infectés et il

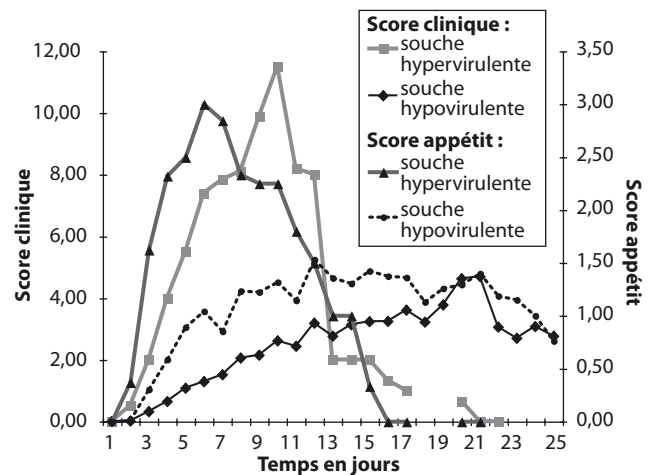


Figure 2 - Représentation du score clinique et du score appétit selon le type de souche hyper ou hypovirulente

Tableau 1 - Bilan lésionnel en fonction des causes de mortalité

Cause de la mort	N	Délai mort	Aspect cadavre	Cyanose peau	Etat Général	Amygdales	Rate	Rein	Vessie	Ganglions Rétropharyngiens	Ganglions Ileo-caecaux	Score lésionnel	GMQ
Mortalité et abattage éthique	7	16,2	1,00	0,86	1,86	1,14	1,29	0,57	0,29	0,86	0,71	4,86	-0,267
Abattage anticipé	14	20,4	0,86	0,79	1,64	0,57	0,57	0,14	0,29	0,93	0,57	3,07	0,110
Animaux morts ou malades	21	19,0	0,90 a	0,81 a	1,71 a	0,76 a	0,81 a	0,29 a	0,29 a	0,90 a	0,62 a	3,67 a	-0,016
Abattage séquentiel	113	3,5	0,11 b	0,04 b	0,14 b	0,23 b	0,33 b	0,13 a	0,04 b	0,17 b	0,20 b	1,11 b	0,208
Abattage fin d'essai	25	39,4	0,00 b	0,12 b	0,12 b	0,08 b	0,36 b	0,12 a	0,04 b	0,16 b	0,12 b	0,88 b	0,548
Témoins	55	26,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,720

a ≠ b ($p < 0,01$)

ne diffère pas selon la virulence des souches. Les températures rectales sont par ailleurs corrélées au SC, (coefficient de corrélation=0,57 $p < 0,001$) et au SA, (coefficient de corrélation= 0,65 $p < 0,001$).

2.2. Données nécropsiques

Tous les animaux témoins présentent un excellent état général (note 0/4) et aucune lésion (score 0) au terme des autopsies.

Sur les 159 porcs inoculés, la note moyenne d'état général est de 0,34/4. Seuls 37 individus présentent un état général dégradé (note moyenne de 1,51). La note moyenne d'état général est de 0,29 pour les animaux inoculés par la souche HYPER et de 0,39 pour les animaux inoculés par la souche HYPO. Par ailleurs, pour les porcs inoculés par une des 4 souches HYPO, nous avons constaté le développement de croûtes localisées sur le ventre et les oreilles consécutivement à des éruptions cutanées.

Le score lésionnel moyen des 159 porcs infectés est de 1,41/12. Soixante-quatorze porcs sont dépourvus de lésions, 27 ont un score de 1, 18 un score de 2, 20 un score de 3, 10 un score de 4, 3 un score de 5, 4 un score de 6, et 3 un score de 7. Le score lésionnel est de 1,61 pour les porcs inoculés avec une souche HYPER et de 1,21 pour les souches HYPO. Les lésions sévères caractéristiques de PPC (note de 2 sur le même organe) sont enregistrées sur les amygdales ($n = 6$), la rate ($n = 9$), les ganglions ($n = 3$) ainsi que sur la vessie d'un individu, 15 porcs au total (9 HYPER et 6 HYPO) étant concernés par ces lésions.

Le tableau 1 rapporte le bilan lésionnel par cause de mortalité. Compte tenu du faible effectif, les rubriques mortalité ($n = 4$) et abattage pour cause éthique ($n = 3$) ont été rassemblées dans une même classe. La comparaison entre le groupe mortalité/abattage éthique et le groupe abattage anticipé ne diffère que sur l'amygdale et le rein ($p < 0,05$). Les organes les plus touchés sur les 21 porcs très affectés (ligne grisée) sont par ordre décrois-

sant les ganglions rétro pharyngiens (congestion, hémorragies), la rate (infarctissements, congestion), les amygdales (congestion), les ganglions iléocaecaux (congestion hémorragies) puis à un degré moindre les reins et la vessie (pétéchies). La comparaison de ce groupe, dont le score clinique moyen est de 11 le jour de l'abattage ou la veille de la mortalité, avec les autres animaux infectés met en évidence des différences statistiques sur la majorité des organes. D'autres lésions ont été observées en particulier des lésions de pneumonie pour les porcs infectés par l'une des deux souches hypervirulentes. Le GMQ des animaux, en marge des résultats lésionnels, atteste du niveau de sévérité des troubles sur leur période d'observation.

La comparaison de la présence de cyanose et de l'état général des animaux au moment de l'autopsie par rapport au score lésionnel met en évidence des coefficients de corrélation respectifs de 0,88 ($p < 0,001$) et de 0,57 ($p < 0,001$).

Le tableau 2 rapporte le bilan lésionnel selon la virulence des souches en fonction des classes de délai d'abattage. L'analyse statistique réalisée relie, selon la virulence des souches utilisées, le délai post-infection nécessaire à l'observation d'une modification de l'état général et à l'apparition de lésions. Le premier constat concerne la rapidité dans l'installation des lésions sur les porcs infectés par les souches HYPER par rapport aux souches HYPO. Par ailleurs les amygdales et la rate sont les organes les premiers touchés, quelle que soit la souche. Le GMQ moyen des animaux va de paire avec le niveau de sévérité du score lésionnel qui est plus marqué chez les porcs inoculés par les souches HYPER abattus au-delà de 4 jours PI.

Une exploration de la liaison entre les différents organes touchés montre que sur l'effectif des animaux qui présentent au moins 1 point au score lésionnel ($n = 86$) seuls l'amygdale et la rate sont très liées ($p < 0,001$). En revanche, les liaisons sont très marquées entre les amygdales, les deux ganglions et l'état général à l'autopsie ($p < 0,001$).

Tableau 2 - Bilan lésionnel selon le type de souche et en fonction des classes de délai de mortalité

Type de souche	Classe en jours	N	Délai mortalité	Aspect cadavre	Cyanose peau	Etat Général	Amygdales	Rate	Rein	Vessie	Ganglions Rétropharyngiens	Ganglions Iléo- caecaux	Score lésionnel	GMQ
Souches hypervirulentes	0,6 - 1	17	0,8	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,06 ^a	0,06 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,06 ^a	0,18 ^a	0,169
	2	18	2,0	0,00 ^a	0,06 ^a	0,06 ^a	0,06 ^a	0,06 ^a	0,17 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,06 ^a	0,33 ^a	0,125
	3	15	3,0	0,07 ^a	0,00 ^a	0,07 ^a	0,47 ^b	0,60 ^{b*}	0,27 ^a	0,00 ^a	0,33 ^b	0,07 ^a	1,73 ^b	0,060
	4	15	4,0	0,33 ^b	0,00 ^a	0,33 ^b	0,67 ^b	0,80 ^b	0,07 ^a	0,20 ^a	0,33 ^b	0,47 ^b	2,53 ^b	-0,065
	> 5	13	12,0	0,62 ^b	0,62 ^b	1,23 ^b	0,77 ^b	1,15 ^b	0,46 ^b	0,08 ^a	0,69 ^b	0,92 ^b	4,08 ^b	-0,204
Souches hypovirulentes	1 - 3	19	2,3	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,11 ^a	0,16 ^a	0,26 ^a	0,442
	4 - 5	15	4,3	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,13 ^a	0,13 ^a	0,07 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,07 ^a	0,40 ^a	0,573
	7 - 18	15	13,2	0,53 ^b	0,33 ^a	0,87 ^{b*}	0,60 ^b	0,60 ^b	0,27 ^{b*}	0,33 ^a	0,60 ^a	0,53 ^{b*}	2,93 ^{b*}	0,260
	19 - 29	14	25,7	0,64 ^b	0,71 ^b	1,36 ^b	0,36 ^b	0,57 ^b	0,14 ^a	0,14 ^a	0,57 ^b	0,36 ^a	2,14 ^b	0,147
	30 et +	18	44,7	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,33 ^b	0,11 ^a	0,06 ^a	0,22 ^a	0,00 ^a	0,72 ^a	0,638

$a \neq b$ ($p < 0,01$)

$a \neq b^*$ ($p < 0,05$)

3. DISCUSSION

Les résultats issus de l'exploitation des données cliniques et nécropsiques sur l'ensemble des animaux infectés dans les animaleries protégées de l'AFSSA sont assez éloignés du cliché affichant de franches lésions d'infarctissements sur la rate ou des pétéchies sur les reins. Même si certaines de ces lésions ont été observées sur quelques animaux, cela ne s'est vu qu'au terme de l'évolution de la maladie et pour les souches les plus virulentes. Toutefois, il est important de rappeler que les observations ont été réalisées sur porcs EOPS et que le statut sanitaire des animaux peut jouer un rôle dans l'intensité de la maladie. Ce virus est en effet immunodépresseur et les symptômes en élevage peuvent être exacerbés par d'autres infections concomitantes. Malgré cette réserve, notre étude montre tout d'abord l'énorme différence entre les souches hyper et hypovirulentes et rejoint les observations de Mittelholzer (2000) sur les différents niveaux de température rectale ainsi que l'intensité du score clinique. Le score appétit que nous avons apprécié au niveau du groupe, nous est apparu comme l'indicateur le plus précoce dans la mesure où sur les premiers jours post infection, il contribue le plus souvent à lui seul à la note globale du score clinique. De plus, pour les infections par les souches hypovirulentes, la note moyenne de 1 sur le score appétit signifie que les animaux consomment en moyenne la moitié moins d'aliment sur les trois semaines post infection que les animaux témoins contemporains. De même la présence de cyanose contribue à confirmer le diagnostic. Toutefois, ces symptômes peuvent être rencontrés à un degré moindre dans d'autres maladies virales porcines telles que le Syndrome Dysgénésique Respiratoire Porcin et la Maladie de l'Amaigrissement du Porcelet, ce qui peut justifier soit des prélèvements sanguins sur animaux, soit des autopsies en vue de la confirmation du diagnostic.

Les autopsies sur animaux présentant des symptômes avérés de PPC permettent d'identifier beaucoup plus facilement les lésions typiques de la maladie. Le score clinique moyen des animaux morts ou abattus pour cause éthique était de 14 et celui des animaux abattus par anticipation de 9 la veille de l'abattage. Les lésions bien que caractéristiques de la maladie ne sont pas systématiques, ce qui rejoint les données de Elbers et al. (2003). La comparaison des souches au regard des classes d'abattage en partie déterminées par les abattages séquentiels

montre la différence de précocité dans l'apparition des lésions, l'amygdale étant l'organe qui est lésé en premier, quel que soit le type de souches. Cette observation est en adéquation avec le fait que cet organe lymphoïde constitue le site d'entrée du virus dans l'organisme, mais également son premier site de réplication (Jamin et al., sous presse). En conséquence, il peut être suggéré aux cliniciens (munis de quelques équipements) d'observer l'amygdale sur les animaux vivants afin d'établir un pré-diagnostic à peu de frais avant d'entamer d'éventuelles autopsies d'animaux. Le bilan des organes touchés à l'autopsie montre que les amygdales et la rate ainsi que les ganglions sont les meilleurs indicateurs et que l'ensemble des organes est à considérer, les lésions sur les reins n'étant pas significatives d'une infection précoce.

En cas de suspicion, des prélèvements doivent être dirigés vers le laboratoire, les dernières techniques de détection montrant que le génome viral peut être identifié très rapidement post infection et que les organes cibles observés à l'autopsie permettent une identification rapide du virus (Le Dimna et al., 2006).

CONCLUSION

L'absence actuelle de peste porcine classique en France ne garantit en rien l'avenir vis-à-vis de cette maladie réglementée. En effet les populations de sangliers sauvages de l'Est de la France ne sont pas indemnes de la maladie (Pol et al., 2007) et peuvent relancer des foyers sur porcs domestiques. Par ailleurs, la situation mondiale à l'égard de cette infection est hétérogène, le virus étant particulièrement actif dans certaines régions comme l'Asie. Les nombreux échanges commerciaux internationaux, dont les matières premières alimentaires accroissent les risques de transfert des micro-organismes pathogènes. Pour la PPC, comme pour d'autres maladies, plus que jamais la vigilance doit être de mise en regard de la biosécurité.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient A. Mesplède, S. Davila, A. Jamin, P. Renson, C. Mérand, R. Vrancken, G. Bénévent et B. Beaurepaire pour leur participation aux relevés lésionnels lors des autopsies, F. Madec pour sa lecture critique du manuscrit, et Kristell Michel et Ludovic Houard pour leur contribution à ce travail.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Cariolet R., Le Diguierher G., Ecobichon P., Julou P., Jolly J.P., Madec F., 2004. Production of long term, low cost specific pathogen free pigs. Proceedings In-between congress of the International Society for Animal Hygiene, Saint-Malo, 11-13/10/2004, 149.
- Davila S., Cariolet R., Le Potier M.F., 2003. Etude de l'influence de la virulence des souches de peste porcine classique sur l'immunopathogénicité du virus chez les suidés et sur la propagation de la maladie en zone de forte densité porcine. Journées Rech. Porcine, 35, 375-382.
- Elbers A.R.W., Vos J.H., Bouma A., van Exsel A.C.A., Stegeman A., 2003. Assessment of the use of gross lesions at post-mortem to detect outbreaks of classical swine fever. *Veterinary Microbiology*, 96, 345-356.
- Jamin A., Gorin S., Cariolet R., Le Potier M.-F., Kuntz-Simon G., 2007. Classical Swine Fever Virus induces activation of plasmacytoid and conventional dendritic cells in tonsil, blood and spleen of infected pigs. *Veterinary Research*, in press.
- Le Dimna M., Kuntz-Simon G., Louguet Y., Bougeard S., Le Potier M.-F., 2006. Validation de nouveaux tests de détection par RT-PCR en temps réel du génome du virus de la peste porcine classique. Journées Rech. Porcine, 38, 365-370.
- Mesplède A., Albina E., 1997. Le point sur la peste porcine classique: épidémiologie et contrôle. *Le Point Vétérinaire*, 28, 25-35.
- Mittelholzer C., Moser C., Tratschin J.D., Hofmann M.A., 2000. Analysis of classical swine fever virus replication kinetics allows differentiation of highly virulent from avirulent strains. *Veterinary Microbiology*, 74, 293-308.
- Pol F., Mesplède A., Rossi S., Kuntz-Simon G., Le Devendec L., Hervé G., Le Potier M.-F., 2007. Évolution comparée des foyers de peste porcine classique déclarés en France chez les sangliers sauvages entre 2002 et 2004. Journées Rech. Porcine, 39, 401-406.