

## Types sérologiques de *Pasteurella multocida* isolés chez le porc, en France

par P. PERREAU, A. VALLÉE et L. RENAULT.

avec la collaboration technique de M<sup>me</sup> D. BERGERON.

A notre connaissance, aucune enquête sérologique n'a été effectuée en France sur les souches porcines de *Pasteurella multocida* ; quelques-unes d'entre elles ont pu être envoyées pour sérotypie dans des laboratoires spécialisés, et nous pensons surtout au laboratoire de G. R. CARTER au Canada, mais il s'est agi toujours d'envois sporadiques ne permettant guère une étude d'ensemble.

Une étude bactériologique détaillée a été faite en 1957 par R. GOURDON, J. M. GOURDON, M. HENRY et C. QUINCHON (6) sur 30 souches porcines collectées par le Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires d'Alfort, mais cette étude ne nous a apporté aucun renseignement d'ordre sérologique ; les auteurs ont tiré de leur travail la conclusion qu'il existait chez le porc un type biochimique constant de *P. multocida*.

Nous disposons, bien sûr, de renseignements épidémiologiques généraux comme ceux publiés par ROBERTS (7) et Carter (2, 5) ; néanmoins nous avons pensé qu'il était intéressant d'effectuer ce sondage sérologique sur un nombre assez important de souches isolées en France, ne serait-ce que pour en tenir compte dans la production des vaccins destinés aux porcheries infectées. Il est en effet indispensable de préparer ces derniers avec des souches de type antigénique correspondant à ceux que l'on trouve chez les porcs atteints de pneumonie contagieuse.

### *Matériel et méthode :*

La méthode utilisée pour exécuter cette sérotypie fut celle de CARTER (1), que nous nous dispenserons d'exposer en détail ici tant elle est classique, pour n'en rappeler que le principe :

— Les types sérologiques A, B, C et D sont déterminés par l'existence d'antigènes spécifiques de nature lipopolyosidique, qu'il est possible d'adsorber sur des hématies de mammifère ; ces hématies

sensibilisées sont ensuite soumises à des immuns-sérums spécifiques, selon le procédé général de l'hémagglutination passive ou conditionnée.

Nous avons employé, comme le recommande CARTER, des hématies humaines de type 0 et n'avons apporté aucune modification ni à la technique ni au mode de lecture des réactions.

Cette méthode fut choisie en raison de sa facilité, de préférence à celle de ROBERTS qui est longue et exige l'emploi de lots importants de souris sans fournir cependant des résultats plus nets.

Les antigènes spécifiques ont été préparés de la façon suivante :

Chaque souche est repiquée sur milieu Tryptose-Agar Difco contenant 5 % de sérum de bœuf ; des colonies muqueuses ou iridescentes sont mises en bouillon au tryptose et cette subculture sert, au bout de 4 à 6 heures, à ensemercer deux boîtes de Roux contenant le même milieu tryptose-sérum.

Après une nuit d'incubation, la récolte est faite avec du sérum physiologique (25 ml par boîte) ; les suspensions bactériennes obtenues ont une opacité moyenne correspondant au tube n° 50 de BROWN. Le bon état antigénique des souches se trouve contrôlé, avec peu de risques d'erreur, par l'iridescence en nappe de la culture en boîte de Roux lorsqu'on éclaire le fond de celle-ci par un faisceau lumineux intense sous un angle d'incidence de 45°, par le lavage facile de la gélose et par l'absence de toute floculation dans les suspensions microbiennes récoltées.

Celles-ci sont chauffées à 58° pendant 30 minutes, puis centrifugées ; le surnageant limpide constitue l'antigène que l'on met en contact avec les globules rouges.

C'est avec de tels antigènes que, dans un premier temps, nous avons effectué les réactions d'hémagglutination ; devant le nombre important de souches s'avérant non typables en face de sérums anti-A et anti-D dont nous connaissions la valeur en toute certitude, nous avons traité les récoltes bactériennes par l'hyaluronidase avant d'en extraire l'antigène spécifique.

En effet, il est connu depuis longtemps déjà que les capsules des souches A et D sont riches en acide hyaluronique, dont l'abondance est d'ailleurs responsable du caractère muqueux des souches A ; CARTER (1, 3, 4) avait déjà montré le blocage de l'activité antigénique capsulaire par l'acide hyaluronique et suggéré l'emploi d'une hyaluronidase afin de « démasquer » l'antigène spécifique. D'ailleurs la hyaluronidase staphylococcique transforme, sur milieu gélosé, les colonies muqueuses de nos souches porcines en colonies iridescentes.

Les suspensions microbiennes ont donc reçu, dès leur récolte, de l'hyaluronidase testiculaire de taureau à raison de 100 unités (v. r. u.) par 50 ml de suspension à l'opacité n° 50 de BROWN et ont séjourné 4 heures à l'étuve à 37° avant d'être traitées par la chaleur.

Les résultats, indiqués plus loin, ont été si favorables que nous avons adopté cette technique de façon systématique lorsque nous avons eu affaire à une souche muqueuse ou lorsqu'une souche d'aspect non muqueux s'est révélée non typable.

Les sérums utilisés étaient de trois types : anti-A, anti-B et anti-D. Nous n'avons pu en effet disposer d'un sérum valable de type C, les souches C CARTER ou III ROBERTS que nous possédons s'étant révélées au stade R et sans valeur immunigène.

Cette absence d'épreuve par un sérum anti-C n'a pas eu cependant d'influence sur la valeur de nos résultats étant donné que nos souches se sont toutes distribuées dans les types A et D ; par ailleurs, le type C n'a jamais été trouvé chez le porc à notre connaissance et il reste encore peu connu.

Les 32 souches étudiées, isolées récemment ou ayant subi peu de subcultures pouvaient être réparties, en ce qui concerne leur stade de dissociation, de la façon suivante :

18 étaient muqueuses (M)

13 étaient au stade d'iridescence (S)

1 présentait un nombre important de colonies bleues granuleuses (Sr)

#### *Résultats :*

Les résultats de notre enquête sont consignés dans le tableau 1.

On y voit que, sur 32 souches, 20 appartiennent au type A, 12 au type D ; aucune ne s'est montrée non typable,

Les souches A et D semblent avoir un pouvoir pathogène identique pour le porc ; l'un et l'autre type peuvent provoquer, soit des accidents aigus de type septicémique, soit des infections localisées à évolution relativement lente comme des pneumonies, des arthrites ou des abcès pasteurelliques. Rien, dans le syndrome clinique ou les lésions, ne peut faire soupçonner la présence du type A plutôt que celle du type D.

Sur les 20 souches de type A, dont un bon nombre d'entre elles étaient fortement muqueuses, 14 se sont révélées non typables ou très faiblement positives par l'emploi de l'antigène brut préparé selon la méthode classique ; avec l'antigène extrait des suspensions

TABLEAU I

*Souches porcines de « Pasteurella multocida » isolées en France*

N° des souches	Forme clinique observée	Département d'origine	Sérotypie		
			Sérum anti A	Sérum anti B	Sérum anti D
B 1381	—	Haute-Marne	—	—	+
B 1618	Broncho-pneumonie	Loire-Atlantique	+	—	—
C 66	Septicémie-abcès	Marne	+	—	—
C 248	Pneumonie	Sarthe	+	—	—
C 274	Septicémie	Nord	+	—	—
C 376	Septicémie	Eure	—	—	+
C 706	Complications de peste	Eure	—	—	+
C 799	—	Eure	+	—	—
C 835	Septicémie	Aisne	—	—	+
C 840	Broncho-pneumonie	Marne	—	—	+
C 972	Septicémie	Oise	+	—	—
C 974	Septicémie	Seine-Maritime	—	—	+
C 1050	Pneumonie	Nord	—	—	+
C 1096	Complications de peste	Oise	+	—	—
C 1211	Pneumonie-arthrite	Marne	+	—	—
C 1282	Pneumonie	Mayenne	+	—	—
C 1300	Broncho-pneumonie	Oise	+	—	—
C 1449	Pneumonie	Seine-Maritime	—	—	+
C 1564	Complications de peste	Saône-et-Loire	+	—	—
C 1569	—	Marne	+	—	—
C 1592	—	—	+	—	—
C 1641	Complications de peste	Loiret	—	—	+
C 1692	Broncho-pneumonie	Puy-de-Dôme	+	—	—
C 1813	Septicémie	Somme	+	—	—
C 1994	Pneumonie	Seine-Maritime	+	—	—
C 2065	Complications de peste	Aisne	+	—	—
C 2107	Broncho-pneumonie	Meurthe-et-Moselle	—	—	+
C 2152	Pneumonie	Orne	+	—	—
C 2441	—	Ain	—	—	+
C 2451	Broncho-pneumonie	Allier	+	—	—
C 2478	Septicémie	Aube	+	—	—
D 33	Pneumonie	Basses-Pyrénées	—	—	+
		Totaux .....	20	0	12

microbiennes préalablement soumises à l'action de l'hyaluronidase, les résultats sont devenus très nettement positifs et le tableau 2 montre avec une grande évidence le « démasquage » de l'antigène spécifique.

Sans doute aurait-on pu repiquer ces souches muqueuses un certain nombre de fois en surveillant le processus de dissociation, puis isoler au moment optimum des colonies iridescentes S à par-

TABLEAU II

Comparaison des résultats obtenus avec les deux modalités de préparation des antigènes spécifiques

N° des souches	sérum anti A + hématies sensibilisées par :	
	1/l'antigène brut extrait par la chaleur	2/l'antigène soumis à l'action de l'hyaluronidase
C 66	Hémagglutination négative	Hémagglutination positive au 1/5120
C 248	—	— au 1/2560
C 799	— positive au 1/20	— au 1/1280
C 972	— négative	— au 1/2560
C 1096	—	— au 1/2560
C 1211	— positive au 1/10	— au 1/1280
C 1282	— négative	— au 1/2560
C 1300	—	— au 1/1280
C 1564	—	— au 1/5120
C 1569	—	— au 1/5120
C 1618	—	— au 1/5120
C 1994	— positive au 1/20	— au 1/2560
C 2451	— au 1/40	— au 1/1280
C 2478	—	—

tir desquelles l'antigène aurait été préparé ; mais un tel travail aurait demandé du temps et comporté des risques.

Aussi croyons-nous qu'il est intéressant de traiter d'emblée les souches muqueuses par l'hyaluronidase, afin d'en extraire un antigène actif pour le test d'hémagglutination.

Les résultats très démonstratifs du tableau 2 concernent les souches de type A, mais ils s'observent aussi, quoique de façon moins éclatante, pour les souches de type D.

Enfin, à propos de la méthode de sérotypie par hémagglutination préconisée par CARTER, une remarque s'impose et vient à notre avis en confirmer la valeur : lorsque les souches de *Pasteurella* ne sont pas dégradées antigéniquement soit par des repiquages inopportuns, soit par des procédés de conservation défectueux, le nombre des souches non typables doit pratiquement s'annuler.

#### CONCLUSIONS

Une enquête sérologique effectuée sur 32 souches porcines de *Pasteurella multocida* isolées en France montre que 20 d'entre elles appartiennent au type A et 12 au type D.

Aucune relation ne semble exister entre le type sérologique et les modalités cliniques de l'infection.

Le traitement des suspensions microbiennes par l'hyaluronidase testiculaire de taureau permet d'obtenir d'emblée un antigène très actif à partir des souches muqueuses et constitue une amélioration avantageuse de la technique de sérotypie par hémagglutination passive.

*Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux.  
Institut Pasteur. Laboratoire de diagnostic Société Sanders.*

---

#### BIBLIOGRAPHIE

1. CARTER (G. R.). — Studies on *Pastereulla multocida*. I. A hemagglutination test for the identification of serological types. *Amer. J. vet. Res.*, 1955, 16 : 481-4.
  2. CARTER (G. R.). — Studies on *Pasteurella multocida*. III. A serological survey of bovine and porcine strains from various parts of the world. *Amer. J. vet. Res.*, 1957, 18 : 437-40.
  3. CARTER (G. R.). — Some characteristics of type A strains of *Pasteurella multocida*. *Brit. vet. J.*, 1958, 114 (9) : 356-7.
  4. CARTER (G. R.) et ANNAU (E.). — Isolation of capsular polysaccharides from colonial variants of *Pasteurella multocida*. *Amer. J. vet. Res.*, 1953, 14 : 475-8.
  5. CARTER (G. R.) et BAIN (R. V. S.). — Pasteurellosis (*Pasteurella multocida*) A review stressing recent developments. *Vet. Rev. Annot.*, 1960, 6 : 105-28.
  6. GOURDON (R.), GOURDON (J. M.), HENRY (M.) et QUINCHON (C.). — Recherches sur *Pasteurella septica*. I. Etude bactériologique de souches isolées d'animaux des espèces porcine et ovine. *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, 93 : 251-6.
  7. ROBERTS (R. S.). — An immunological study of *Pasteurella septica*. *J. comp. Path.*, 1947, 57 : 261-78.
-