

# Caractérisation de souches de *Pasteurella multocida* isolées en élevage cynicole : relation entre l'expression clinique en élevage, le caractère ODC (ornithine décarboxylase) et la taille des colonies.

L. NOUVEL<sup>1</sup>, J.L. PINSARD<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CYBELVET, SANDERS OUEST, ZA du Piquet, 35370 Etrelles, France

<sup>2</sup>BIO CHENE VERT, FINALAB, ZI de Bellevue 2 BP 82101, 35221 Chateaubourg Cedex, France

**Résumé.** Selon certains auteurs, la présence d'une activité ornithine décarboxylase (ODC +) et /ou la taille des colonies de *Pasteurella multocida* sont corrélées positivement avec leur pouvoir pathogène. L'objectif de l'étude est d'estimer l'aide que peuvent apporter ces deux critères lors de la réalisation d'analyse, au praticien de terrain dans sa démarche diagnostique. Pour cela, 23 souches de *Pasteurella multocida* isolées dans des élevages cynicoles français présentant des signes cliniques ont été caractérisées vis-à-vis de leur caractère ODC +, de la taille des colonies, et de la sévérité de la clinique en élevage. Deux techniques de caractérisation de la présence d'ornithine décarboxylase utilisables en routine ont été comparées. Les résultats de cette étude confirment les précédentes. Ces deux critères s'avèrent intéressants pour approcher le caractère pathogène des souches de *Pasteurella multocida* isolées en portage.

**Abstract. Characterization of *Pasteurella multocida* strains isolated from rabbit farms; relation between clinical expression and some biochemical and growth specificities.** According to some authors, the presence of ornithine decarboxylase activity (ODC +) and/or size of the *Pasteurella multocida* colonies are positively correlated to their virulence. The objectives of this work are to evaluate the usefulness of these two analytical criterions for the practitioner in his diagnostic approach. For that 23 strains of *Pasteurella multocida*, which were isolated from various french rabbit farms presenting clinical cases, have been classified as function of the presence of ODC, of the colony size and of the seriousness of the clinical signs. Two methods have been used to evaluate routinely the presence of ODC and have been compared. The obtained results of this study confirm the previous reported data. Both criterions are important in order to evaluate the pathogenicity of *Pasteurella multocida* strains extracted from rabbit.

## Introduction

Bien que connue depuis de nombreuses années, la pasteurellose demeure l'une des maladies majeures dans nos élevages de lapins. Economiquement importante, elle intervient pour au moins 50% dans les principales causes de réformes sanitaires des femelles reproductrices (Rosell *et al.* 1992). Elle se caractérise le plus fréquemment par une atteinte de l'arbre respiratoire et par des infections purulentes de différents organes. Quasiment tous les lapins sont porteurs de *Pasteurella multocida* (Kpodékon *et al.* 1999) et le portage sain chez les reproducteurs constitue la principale source d'infection (Coudert *et al.* 1986). L'émergence de pasteurellose est souvent liée à un déséquilibre influencé par les conditions d'élevage, l'état des défenses de l'animal et la virulence des pasteurelles.

Des mesures prophylactiques peuvent être mises en place au moment de fragilité du cycle de la femelle ainsi que des traitements antibiotiques en cas d'épisode de pasteurellose clinique entraînant mortalité et baisse des performances zootechniques. Grâce à la réalisation d'analyse d'animaux de l'élevage, l'identification du germe, la détermination de son pouvoir pathogène et de sa sensibilité permettent au clinicien d'adapter sa conduite thérapeutique. Si lors d'isolement de pasteurelles dans des lésions, peu de questions se posent sur leur

implication (seules ou en association) dans l'épisode sanitaire, il n'en est pas de même lors de leur isolement en portage, notamment dans les sinus. Comment dans ce cas savoir l'importance à leur accorder dans l'écosystème de l'élevage?

S'il n'existe pas de relation évidente avec le sérotype ou le phénotype des colonies (Licois., 2009 ; Stahel. *et al.*, 2009), selon certains auteurs, la présence d'activité Ornithine Décarboxylase (ODC +) et /ou la taille des colonies de *Pasteurella multocida* sont corrélées positivement avec leur pouvoir pathogène (Rideaud *et al.*, 1992 ; Rideaud *et al.*, 1994 ; Cerrone, 2005).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'aide que peut apporter le laboratoire au clinicien, en ciblant les colonies de pasteurelles potentiellement pathogènes et/ou en déterminant l'éventuel pouvoir pathogène de pasteurelles isolées en portage.

Dans ce travail des souches de *Pasteurella multocida* isolées en élevage cynicole sont caractérisées, notamment vis-à-vis de ces deux critères et deux techniques de caractérisation de la présence d'ornithine décarboxylase sont testées.

## 1 Matériel et méthode

### 1-1 Souches de *P. multocida*

Les souches ont été isolées sur les organes de lapins élevés dans différents élevages cynicole du Nord

Ouest de la France. Ces analyses soit faisaient suite à des signes cliniques en élevages, soit étaient des analyses de suivi dont l'objectif était de valider les programmes prophylactiques de l'élevage. Les souches ont donc été majoritairement isolées d'animaux qui n'étaient pas malades, mais étaient issues d'élevages ayant eu des épisodes cliniques de pasteurelloses plus ou moins sévères.

Les souches isolées ont été conservées au surgélateur à -70°C, dans un milieu de conservation contenant du glycérol.

#### 1-2 Culture des bactéries

Après décongélation à température ambiante, et un premier repiquage, les souches sont ensemencées sur gélose au sang et incubées à 37°C sous atmosphère normale. Le diamètre des colonies est mesuré après 24h de culture.

#### 1-3 Mise en évidence de la présence d'ODC

Deux techniques, permettant de mettre en évidence l'ornithine décarboxylase des *Pasteurella* sont comparées : un test rapide Diatabs™ en comprimé comprenant des substrats chromogènes et la méthode de la galerie API 20E.

#### 1-4 Classification des élevages

Les élevages sont catégorisés en fonction de l'importance des manifestations cliniques et lésions imputables à des pasteurelloses dans l'élevage, de 1 : pasteurellose peu sévère (pas de mortalité, peu de symptômes) à 3 pasteurellose très sévère (mortalité élevée, nombreux symptômes).

Pour les classifier, les critères retenus sont la mortalité des femelles, la mortalité des lapereaux, l'expression des symptômes respiratoires en élevages, les abcès, les otites, les oreilles croûteuses, la fréquence des traitements respiratoires sur la période, nuancés par la tenue et la conduite de l'élevage. Les élevages catégorisés 2 sont des élevages avec de la clinique sévère, pouvant s'expliquer par des facteurs extrinsèques : pas de conduite tout vide/tout plein, mauvaise ventilation, etc...

## 2 Résultats

#### 2-1 Caractéristiques des différentes souches

Les résultats pour les différentes souches sont classifiés et présentés dans le tableau 1

#### 2-2 Relation entre la présence d'ODC et la clinique en élevage

**Tableau 2 : Relation entre la présence d'ODC et l'expression clinique en élevage, Diatabs™**

Clinique	ODC+	ODC-
1	2	4
2	6	3
3	7	2

**Tableau 3 : Relation entre la présence d'ODC et l'expression clinique en élevage, galerie API 20 E**

Clinique	ODC+	ODC-
1	0	6
2	1	8
3	1	8

#### 2-3 Relation entre le diamètre des souches et la clinique en élevage

**Tableau 4 : Relation entre le diamètre des souches et l'expression clinique en élevage**

Clinique	Moyennes du diamètre (en mm)
1	1,23
2	1,62
3	2,57

## 3 Discussion

Nos résultats confirment les études précédentes. Bien que le nombre de souches ne permette pas de conclure de manière statistique, la tendance est une corrélation entre le diamètre des souches et la présence de l'ODC avec la clinique en élevage. Nos travaux sont conformes à ceux de Rideau *et al*, (1 992), qui avaient montré que la mesure du diamètre des colonies permettait de distinguer au moins deux groupes de *P.multocida* avec un diamètre seuil à 2mm pour les souches très pathogènes. A la différence de Rideau *et al*, 1994, la technique de caractérisation de la présence de l'ODC avec la galerie API20E ne semble pas pertinente. Par contre le test Diatabs™ s'avère discriminant. Il est intéressant de noter que toutes les souches de *Pasteurella multocida* isolées dans des poumons d'élevages où la clinique était sévère sont ODC+ (Diatabs™). L'un des biais de l'étude est la classification des souches de pasteurelloses qui, bien que basée sur des éléments factuels, était subjective et influencée par les facteurs d'élevage. Il n'y pas eu d'essai de reproduction de la maladie. Mais cette classification correspond à celle qu'aurait suivie un clinicien de terrain.

## Conclusion

Cette étude a permis aux auteurs de déterminer une démarche diagnostique lors d'isolement de pasteurelloses. Dans le cas d'isolement dans des organes profonds poumons ou des lésions (abcès...) en culture pure, les souches sont considérées comme devant retenir l'attention du clinicien et nécessiter la mise en place d'un traitement. Lors d'isolement de *Pasteurella multocida* dans les voies respiratoires hautes (sinus...), le laborantin repère les souches à diamètre le plus élevé puis réalise un test ODC à l'aide du test Diatabs™ en comprimé. La connaissance du pouvoir pathogène des souches permet au thérapeute d'adapter son protocole de traitement ou de prophylaxie, ainsi que d'orienter ses conseils zootechniques.

**Tableau 1 : Synthèses des caractéristiques des différentes souches**

Organe d'origine	Pouvoir pathogène	ODC		Profil API																			
		API 20 E	ODC Diatabs™		ONPG	ADH	LDC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
sin 6	2	-	-	44524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 1	1	-	-	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 1	3	-	-	44524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 4	2	-	+	40124	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
sin 3	1	-	-	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 1	3	-	+	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 4	2	-	-	44524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 3	3	-	+	44524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 2	1	-	-	44524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 1	3	-	+	44524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+
Sin 1	3	-	+	44524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 1	2	-	+	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 4	2	-	+	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 1	1	-	+	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 2	2	+	+	140524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
sin 1	3	-	+	54124	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+
sin 4	1	-	+	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
organe inconnu	2	-	+	40124	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
Pou 6	3	-	+	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
Pou 6	3	-	+	40525	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+
pou 4	1	-	-	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
Glande mammaire 3	2	-	-	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
abcès	3	-	-	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
Témoin positif	3	+	+	40524	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+

Il serait intéressant dans une prochaine étude de valider ces résultats sur un plus grand nombre de souches.

### Références

- CERRONE A., BADIOLA-SAIZ J.L., PEREZ DE ROZAS A.M., GONZALEZ J., PERUGINI A.G., FENIZIA D., CAPUANO F., BARTOLI M.: Caractérisation biochimique et moléculaire des souches de *Pasteurella multocida* isolées dans des élevages de lapins en Italie. Etudes descriptives, 11<sup>ème</sup> Journées de la Recherche Cunicole, Paris, 2005, 231-236
- COUDERT P., RIDEAUD P., BALENCON M : Pasteurellose non respiratoire en élevage intensif : l'otite moyenne des lapines reproductrices. Cuni-science, 1986, 3, 1-6
- KPODEKON M., RIDEAU P. et COUDERT P. : Pasteurellose du lapin : revue. Revue Méd.Vét.,1999, 150, 3, 221-232
- LICOIS D. : Pathologie d'origine bactérienne et parasitaire chez le lapin : Apports de la dernière décennie. 20090, 13<sup>ème</sup> journée de la recherche cunicole, 35-49
- RIDEAUD P., COUDERT P. : Identification des souches de *Pasteurella multocida* pathogènes pour le lapin. 5<sup>ème</sup> Journée de la Recherche Cunicole, La Rochelle, 1994, Vol 1,113-120
- RIDEAU P., COUDERT P., MERCIER P., HERVOUET P., acomparative study of the virulence of *Pasteurella multocida* from rabbits (*O.cuniculus*). J Appl. Rabbit Res, 1992, 15, 1389-1400.
- ROSEL J.M., BADIOLA J.I., DE LA FUENTEL.F., CARMENES P. ET BADIOLA J.J. : Rhinitis of the domestic rabbit. An epidemiological survey during the period 1986-1991. I. Influence of the year, season, and the type of rabbitry. The journal of Applied Rabbit research, 1992a, 15, 1375-1381.
- ROSEL J.M., BADIOLA J.I., DE LA FUENTEL.F., CARMENES P. ET BADIOLA J.J. : Rhinitis of the domestic rabbit. An epidemiological survey during the period 1986-1991. II. Influence of sex, number of kidling and phase of lactation., and the type of rabbitry. The journal of Applied Rabbit research, 1992b, 15, 1382-1388.
- STAHEL A.B.J., HOOP R.K., KUHNERT P., KORCZAK B.M.: Phenotypic and genetic characterization of *Pasteurella multocida* and related isolates from rabbits in Switzerland. J Vet Diagn Invest, 2009, 21, 793-802.