2017. Journées Recherche Porcine, 49, 177-182.

Diagnostic de la maladie de l'œdème chez le porc en France : bilan des connaissances acquises depuis 2014 par la PCR de génotypage des *Escherichia coli*

Agnès JARDIN (1), Philippe LENEVEU (1), Marie-Hélène BAYON-AUBOYER (2), Hervé MORVAN (2), Pierre-Yves MOALIC (4), Jean LE GUENNEC (3), Paul CREACH (1), Verena GOTTER (4)

(1) IDT Biologika, Zoopôle, 17 rue du Sabot, 22440 Ploufragan, France
(2) LABOCEA, 7 Rue du Sabot, CS 30054, 22440 Ploufragan, France
(3) LABOFARM, 4 rue Theodore Botrel, BP 351, 22603 Loudéac, France
(4) IDT Biologika, Am Pharmapark, 06861 Dessau-Rosslau, Germany

agnes.jardin@idt-biologika.com

Diagnostic de la maladie de l'œdème chez le porc en France : bilan des connaissances acquises depuis 2014 par la PCR de génotypage des *Escherichia coli*

La maladie de l'œdème est une infection colibacillaire pénalisant les résultats économiques des élevages atteints, en raison notamment des mortalités et des mauvaises performances techniques générées. Elle est induite par des *Escherichia coli* produisant la shigatoxine (codée par le gène Stx2e). En complément des observations cliniques et nécropsiques, des analyses en laboratoire sont nécessaires au diagnostic de certitude. L'objectif de cette étude est de dresser un bilan des diagnostics en laboratoire effectués depuis 2014 au sein d'élevages avec suspicion d'œdème colibacillaire.

Trois cent quarante-cinq prélèvements (écouvillons rectaux ou de contenus digestifs, autopsies) ont été analysés en France. Dans les laboratoires destinataires (Labocéa ou Labofarm), des PCR multiplexes de génotypage sont réalisées sur l'ADN extrait des *E. coli* cultivés. Les gènes codant pour les facteurs d'attachement F18 et F4 et pour les toxines Stx2e, LT, Sta et Stb sont recherchés.

Le gène Stx2e a été trouvé dans 224 prélèvements (soit 65%). L'âge moyen des porcs prélevés est de 7 semaines. La maladie de l'œdème sur des porcs de 10 semaines d'âge et plus n'est pas rare (17% des résultats Stx2e positif). Elle est présente sur tout le territoire mais se concentre en Bretagne et de façon plus surprenante sur l'Ile de la Réunion, régions fournissant respectivement 73% et 18% des résultats Stx2e positif. Concernant les outils diagnostiques, le génotypage complète l'information imparfaite fournie par le sérotypage. En effet, un même sérotype peut parfois porter des facteurs de virulence variés et des *E. coli* non sérotypables peuvent être porteurs du gène Stx2e et donc être pathogènes. Cette étude est à notre connaissance la première en France combinant à la fois des informations cliniques et d'analyses en laboratoire.

Edema disease in French pig production : assessment of the knowledge acquired thanks to the genotyping of *Escherichia coli* since 2014

Edema disease is a disease of weaned pigs that is the cause of high economic losses, due to the high mortality rate and general bad technical performances of affected pigs. Edema disease is caused by shigatoxin producing *E. coli* (coded by Stx2e gene). To complete the information given by clinical signs and necropsies, laboratory analyses are needed to have a definitive diagnosis. The aim of this study is to summarize the laboratory analyses carried out since 2014 on samples from farms suspected to have edema disease.

Three hundred and forty five fecal samples or intestinal contents were considered in this study. In the two investigating diagnostic laboratories (Labocea and Labofarm), the genotyping by multiplex PCR was implemented on isolated *E. coli*. DNA from these *E. coli* was tested for the presence of two adhesins (F18 and F4) and several toxins (Stx2e, LT, Sta and Stb) genes.

The Stx2e gene was found in 224 samples (65%). The average age of the sampled piglets was 7 weeks. Edema Disease in older pigs (10 weeks and above) was not rare (17% of the Stx2e positive results). Edema disease is found in the whole of France but the highest number of Stx2e positive results comes from Brittany and Reunion island (respectively 73% and 18% of our Stx2e positive results). Concerning the diagnostic tool, the genotyping completes the imperfect information given by the serotyping. Indeed, the same serotype of *E. coli* can harbor different virulence factors. Moreover, non serotypable *E. coli* can harbor the Stx2e gene and thus be pathogenic. This study is the first one in France dedicated to collecting clinical as well as genotyping and serotyping data.

INTRODUCTION

La maladie de l'œdème est une infection colibacillaire digestive bien particulière induisant de fortes pertes économiques. Décrite la première fois en 1938, elle touche tous les suidés, domestiques et sauvages.

Les symptômes associés classiquement à cette infection sont une mortalité plus ou moins forte associée à la présence de porcs malades non fébriles présentant des signes d'œdème notamment de la tête (paupières, front, oreilles), des signes nerveux (démarche chancelante, pédalages en décubitus latéral) et un cri caractéristique (lié à l'œdème du larynx) (Neumann *et al*., 2009 ; Tsukahara *et al.*, 2005 ; Fairbrother, 2012). Les porcs malades meurent rapidement ou, s'ils survivent, conservent souvent des séquelles neurologiques irréversibles. L'âge classique de survenue de la maladie se situe entre 5 et 7 semaines (2-3 semaines après le sevrage). Une partie des signes cliniques décrits ci-dessus peuvent cependant être absents et d'autres peuvent être présents, comme de la diarrhée ou de la fièvre en fonction du *Escherichia coli* (*E. coli*) impliqué ou des infections intercurrentes, ce qui complique le diagnostic.

Pour aider le praticien dans son diagnostic, les laboratoires d'analyses ont historiquement utilisé notamment le sérotypage des *E. coli*, qui est un relativement bon outil prédictif de la virulence d'une souche isolée. Cependant, c'est désormais vers l'identification des gènes codant pour les facteurs de virulence par PCR que les scientifiques et laboratoires se tournent. L'objectif est dans ce cas de rechercher dans le génome d'une souche de *E. coli* les gènes codant pour la synthèse d'une toxine ou d'un facteur d'attachement (fimbriae). Le génotype d'une souche est ainsi déterminé. En fonction de ce génotype et donc des combinaisons de facteurs de virulence mises en évidence, le pathotype auquel appartient le *E. coli*, c'est-à-dire son mode d'action pathogène, est établi.

Ainsi, les *E. coli* impliqués dans les cas de maladie de l'œdème sont porteurs à minima du gène Stx2e, permettant la synthèse de la shigatoxine (toxine responsable des signes cliniques décrits ci-dessus) et d'un facteur d'attachement (F18 classiquement). Ces *E. coli* appartiennent au pathotype appelé STEC (Shiga Toxine forming *E. coli*).

Les *E. coli* porteurs d'un facteur d'attachement comme F18 ou F4 et d'entérotoxines comme LT, Sta ou Stb sont responsables de diarrhées colibacillaires et appartiennent au pathotype ETEC (Entero Toxic *E. coli*). Si ces *E. coli* portent en plus le gène Stx2e, ils sont à la fois ETEC et STEC (Barth *et al*., 2007).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Recrutement des prélèvements analysés

Cette étude fait la synthèse des diagnostics effectués depuis 2014 dans deux laboratoires d'analyses (Labocéa Ploufragan et Labofarm) au sein d'élevages avec suspicion d'œdème colibacillaire.

La suspicion de maladie d'œdème est posée par le vétérinaire du fait de l'observation de signes cliniques (détaillés dans l'introduction) et/ou de signes nécropsiques évocateurs. Pour obtenir un diagnostic de certitude, le vétérinaire a la possibilité d'effectuer plusieurs types de prélèvements pour réaliser des analyses en laboratoire : écouvillons stériles recueillant les fèces ou le contenu intestinal de porcs autopsiés (recommandation : 15 écouvillons par élevage, conservés dans un milieu de transport destiné à prolonger la viabilité des micro-organismes pathogènes), portions d'intestin de porcs autopsiés ou encore animal entier malade ou mort. Pour accompagner ces prélèvements, une feuille de commémoratifs est remplie par le vétérinaire, précisant notamment l'âge ou le poids des animaux, la clinique observée et les traitements en place.

1.2. Analyses effectuées

1.2.1. *Isolement des* E. coli

Pour isoler les souches de *E. coli*, les écouvillons sont déchargés dans 5 ml d'eau physiologique avant d'être inoculés sur géloses au sang de mouton et BCP (bromocresol purple). Les fèces et les ganglions sont ensemencés, en individuel, sur les mêmes milieux. Les géloses sont incubées à 37°C pendant environ 18H. De 1 à 6 colonies caractéristiques d'*E. coli* sont sélectionnées, en priorisant les colonies hémolytiques : l'identification de ces colonies est réalisée par spectromètre de masse MALDI-Tof Biotyper® (Bruker Daltonics, Allemagne) (Labocéa) ou sur la base de caractères biochimiques (Labofarm). Les colonies confirmées de *E. coli* sont repiquées sur gélose au sang de mouton, incubées, puis conservées à +4°C.

1.2.2. *Particularité du protocole Labofarm : la qPCR*

Dans le cas d'écouvillons, est fait à Labofarm en première étape une qPCR pour la recherche des gènes codant pour F18 et Stx2e à partir d'un mélange de 5 suspensions d'écouvillons (extraction d'ADN avec le kit QIAamp DNA mini kit (QIAGEN)). La mise en évidence des gènes F18 et Stx2e est réalisée en utilisant les amorces et sondes décrites par Stahl *et al*. (2011) et Verstraete *et al.* (2014) respectivement. La qPCR est réalisée sur un thermocycleur Stratagène MX 3500p. Cette première étape permet de sélectionner le pool de suspensions d'écouvillons présentant le plus grand nombre de copies de ces gènes d'intérêt et à partir desquelles la bactériologie sera lancée (même étapes que celles du protocole classique).

1.2.3. *Sérotypage des E. coli*

Le sérotypage est parfois réalisé sur demande du vétérinaire ou selon le laboratoire destinataire (sérotypage systématique à Labofarm). Les souches d'*E. coli* isolées sont sérotypées par agglutination rapide sur lame à l'aide des réactifs fabriqués à Labocéa. Les sérotypes classiquement recherchés sont F4, O45:KE65, O141:K85, 0138:K81, O64:KV142, O108:KV189, O139:K82, O17:KV17, O8:KP16, O10:KV50, O119:KV113, O115:KV165, O35:KV79, O9, K87, et O101.

1.2.4. *L'extraction d'ADN et la PCR*

De une à six souches de *E. coli* sont mises en suspension dans de l'eau nucléase free puis chauffée à 100°C pendant 10min. Après centrifugation (10min à 6000g), le surnageant appelé lysat bactérien est prélevé puis conservé à -20°C.

A Labocéa, une PCR multiplexe est réalisée. Elle permet de rechercher neuf cibles en une seule analyse : F18, F41, F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P), Stx2e, LT1, StaP et Stb. Les amorces utilisées sont celles décrites par Casey *et al*. (2009). La PCR est réalisée à partir de 5µl de lysat bactérien à l'aide des systèmes Chromo4 ou T100 (Biorad). Les produits d'amplifications sont mis en évidence par électrophorèse en gel d'agarose en présence de bromure d'éthidium (Labocéa).

A Labofarm, les gènes codant pour F18, F4, Sta, Stb, LT, Stx2e sont recherchés en utilisant une PCR classique. La révélation des produits amplifiés est réalisée par électrophorèse capillaire (Caliper Labchip GX).

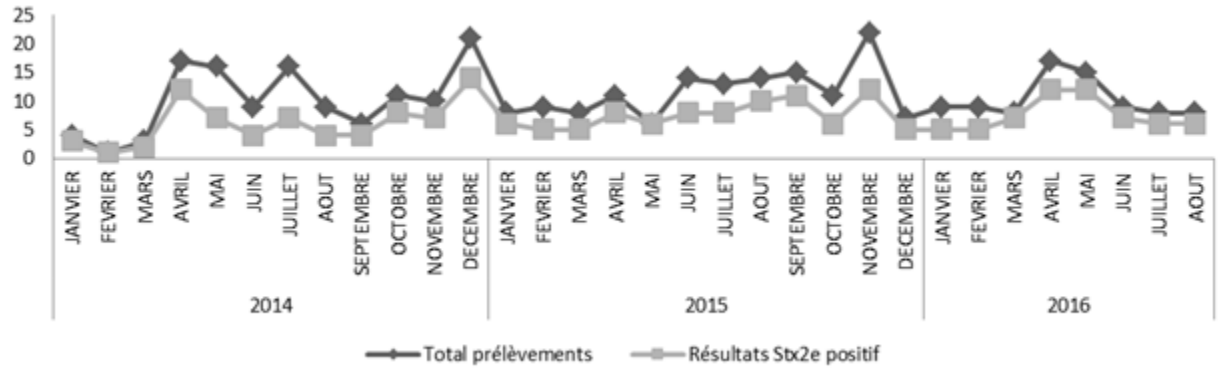

Figure 1 – Nombre de prélèvements analysés et de nombre de résultats Stx2e positif par mois et par année

2. RESULTATS

Concernant la terminologie employée, nous entendrons par « prélèvement » l'ensemble des échantillons recueillis le même jour dans un élevage. Nous parlerons de « résultat Stx2e positif » dans le cas de mise en évidence par la PCR de la présence du gène codant pour la Shigatoxine (Stx2e) dans le ou les *E. coli* issus de ce « prélèvement ». Enfin, nous parlerons de « résultat Stx2e négatif » en l'absence de mise en évidence de ce même gène.

2.1. Bilan des prélèvements reçus et des résultats de génotypage

345 prélèvements ont été effectués et analysés entre janvier 2014 et aout 2016 (Figure 1). Ces prélèvements ont été effectués sur des porcs présentant des signes cliniques évocateurs de la maladie de l'œdème pour le vétérinaire (signes cliniques détaillés dans l'introduction). En moyenne, autour de 10 prélèvements ont été analysés par mois.
L'analyse de ces prélèvements a abouti à la mise en évidence du gène codant pour la shigatoxine (Stx2e) dans 224 cas (soit 65% des prélèvements). Ce taux de positivité est globalement stable au fil des mois et années. Des pics de soumissions de prélèvements sur certains mois, non répétables d'une année sur l'autre, sont notés. Le gène codant pour la shigatoxine est associé au facteur d'attachement F18 dans 94% des résultats Stx2e positif. Au sein d'un même prélèvement, les *E. coli* isolés peuvent présenter des génotypies diverses. Ainsi, dans 24% des prélèvements, des gènes codant pour des entérotoxines et pour la shigatoxine sont présents, ce qui laisse supposer la survenue simultanée à l'échelle du groupe de porcs à la fois de la maladie de l'œdème et des diarrhées colibacillaires. Cela a été d'ailleurs confirmé par les vétérinaires qui observent parfois simultanément en élevage les signes cliniques des deux infections.
Dans 13% des prélèvements, seuls des facteurs de virulence de *E. coli* ETEC sont présents (présence simultanée de F4 et/ou F18 et d'entérotoxines LT et/ou Sta et/ou Stb). Dans 14% des prélèvements, aucun facteur de virulence n'a été mis en évidence sur les *E. coli* étudiés.

2.2. Répartition des prélèvements et des résultats Stx2e positif

Les résultats Stx2e positif proviennent de divers départements, ce qui permet d'établir que la maladie de l'œdème est présente sur une grande partie du territoire français (Figure 2).

Légende :
Blanc : absence de prélèvements ou absence de résultat Stx2e positif
Gris clair : entre 1 et 10 résultats Stx2e positif
Gris medium : entre 11 et 30 résultats Stx2e positif
Gris foncé : entre 31 et 60 résultats Stx2e positif

Figure 2 – Répartition des résultats Stx2e positif par département

Deux zones se distinguent du fait du nombre élevé de résultats Stx2e positif, en relation directe avec le nombre important de prélèvements reçus : la Bretagne fournissant 73% des résultats Stx2e positif (et 69% des prélèvements) et l'île de la Réunion en fournissant 18% (et 16% des prélèvements). Le reste de la France a fourni 9% des résultats Stx2e positif et 12% des prélèvements.

2.3. Descriptif des animaux prélevés

2.3.1. *L'âge des porcs prélevés*

67% des prélèvements ayant donné un résultat Stx2e positif proviennent de porcs entre 5 et 7 semaines d'âge, ce qui est l'âge classique de survenue de la maladie de l'œdème (Figure 3). Cependant, il faut noter que les cas dits tardifs de la maladie de l'œdème ne sont pas rares. 17% des résultats Stx2e positif concernent des porcs de 10 semaines d'âge et plus. A contrario, un seul cas de maladie de l'œdème avant sevrage a été diagnostiqué.

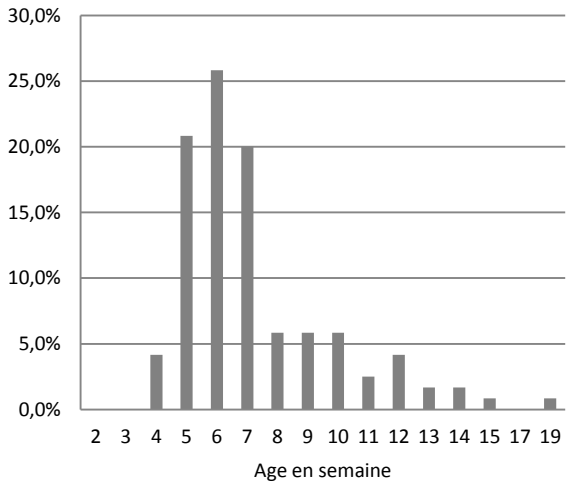

Figure 3 – Répartition de l'âge des porcs prélevés dans le cadre des résultats Stx2e positif (âge des porcs prélevés connu pour 120 résultats Stx2e positif)

2.3.2. *La description des symptômes*

Les vétérinaires ont la possibilité depuis mi-2015 de noter les signes cliniques observés sur le groupe d'animaux sur lequel les prélèvements ont été effectués. Ces informations ont été recueillies pour 91 prélèvements.

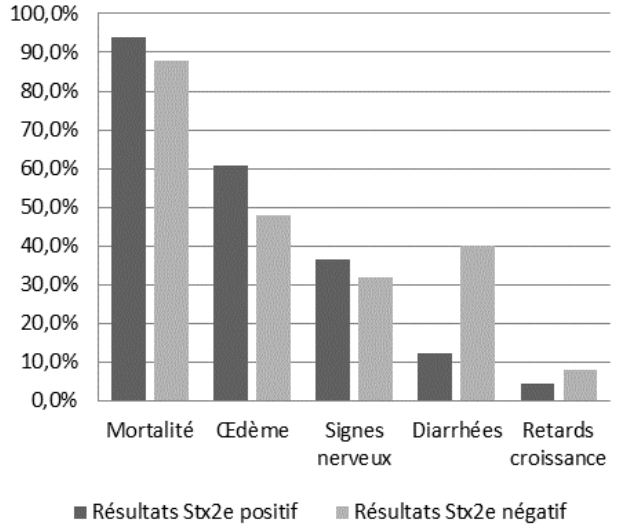

Figure 4 – Symptômes notés sur la fiche de commémoratifs accompagnant les prélèvements (symptômes recueillis pour 91 prélèvements)

La Figure 4 présente les signes cliniques notifiés sur la fiche de commémoratifs accompagnant les prélèvements en fonction du résultat de l'analyse (résultat Stx2e positif ou négatif). Entre ces deux groupes, les observations cliniques sont assez comparables pour ce qui est de la mortalité (principal symptôme notifié tout groupe confondu), des troubles nerveux et des retards de croissance. A contrario, des différences sont relevées pour ce qui est des signes d'œdème (60% versus 48%) et des diarrhées (12% versus 40%).

Les symptômes d'œdème qui sont généralement considérés comme caractéristiques de la maladie d'œdème ne sont pas observés dans 40% des résultats Stx2e positif.

2.4. Relation entre sérotype et génotype

Le sérotypage et le génotypage est connu pour 100 souches d'*E. coli* isolées dans le cadre de ces diagnostics.

Le tableau 1 présente les différentes combinaisons de facteurs de virulence portées selon le sérotype considéré.

Tableau 1 – Relation sérotype et génotype (100 souches étudiées)

Sérotype	Nombre de souches	F18+ Stx2e	F18 + Stx2e + LT/Sta/Stb	Stx2e sans F	F18 + LT/Sta /Stb	F4 + LT/Sta /Stb
O139:K82	42	93%	0%	7%	0%	0%
O138:K81	3	33%	67%	0%	0%	0%
O141:K85	23	48%	26%	9%	9%	0%
F4	13	0%	0%	0%	0%	100%
E coli NT	19	11%	5%	11%	11%	0%

S'il existe des souches d'*E. coli* quasi exclusivement associées à certains facteurs de virulence et donc à certains pathotypes (ex. : O139:K82 = STEC), d'autres montrent une variété dans les facteurs de virulence portés et donc dans le pathotype exprimé. Ainsi, les souches O141:K85 peuvent être STEC « purs » (Stx2e uniquement avec ou sans F18), ETEC « purs » (F18 et entérotoxines sans Stx2e) ou à la fois STEC et ETEC (F18 + Stx2e + entérotoxines).

Au sein des *E. coli* portant le gène Stx2e, les sérotypes identifiés sont par ordre d'importance le O139:K82 (61% des souches) puis O141:K85 (27%) et enfin le O138:K81 (5%). 7% des *E. coli* portant le gène Stx2e ne sont pas sérotypables via les réactifs utilisés au sein des deux laboratoires.

La prévalence des sérotypes porteurs du gène Stx2e et donc impliqués dans la maladie de l'œdème en France a évolué au fil des années (Figure 5). Ainsi, le sérotype O141:K85 est en net recul quand le O139:K82 progresse fortement pour devenir largement dominant depuis 2015.

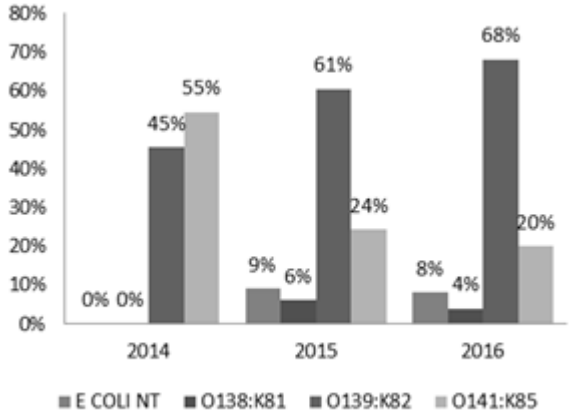

Figure 5 – Evolution de la prévalence des sérotypes impliqués dans la maladie de l'œdème au cours des années (69 souches Stx2e positif étudiées)

3. DISCUSSION

3.1. Au sujet de l'échantillonnage

Cette étude n'est pas une étude de prévalence de la maladie de l'œdème en France puisque les prélèvements ont été uniquement réalisés dans des élevages où une suspicion de maladie de l'œdème était préalablement posée par le vétérinaire. Le risque de mettre en évidence un simple portage digestif de *E. coli* possédant le gène Stx2e est de ce fait faible.

L'analyse en laboratoire pour étayer l'hypothèse de maladie de l'œdème est plus ou moins facile à mettre en œuvre selon la situation géographique de l'élevage (absence de laboratoire d'analyse ou de vétérinaire de proximité dans certaines zones à faible densité porcine). Les zones à maillage sanitaire dense ont

donc un risque de surreprésentation : en l'occurrence, 69% des prélèvements viennent Bretagne. Cependant, l'usage des écouvillons rectaux avec milieu de conservation, permettant un envoi postal, pallie grandement à ce problème (cas des prélèvements venant de l'Ile de la Réunion) et atténue ce biais.

3.2. Au sujet des résultats de génotypage

La proportion de résultats Stx2e positif est plutôt élevée (près de 65% des prélèvements) et reste relativement stable depuis 2014.

Le nombre de prélèvements soumis pour analyse est également globalement stable (autour de 10 par mois). Cela signe la survenue régulière de nouveaux cas, nécessitant un diagnostic. Cette information est d'ailleurs confirmée par les praticiens qui observent parfois de nouveaux cas en série, d'où des augmentations des demandes d'analyses d'un mois sur l'autre. Les explications à cela sont difficiles à trouver, notamment car il n'y a pas de répétabilité d'une année sur l'autre.

La présence du gène Stx2e est fortement liée à la présence du facteur d'attachement F18 mais pas exclusivement, ce que des études antérieures ont déjà démontré (Imberechts H. *et al*., 1993 ; Barth *et al*., 2007). Pour ces souches de *E. coli* porteuses du gène Stx2e mais sans F18, l'hypothèse d'un facteur d'attachement inconnu est envisagée par ces auteurs.

L'absence de facteurs de virulence mis en évidence sur les *E. coli* étudiés dans 14% des prélèvements peut s'expliquer de différentes façons. Les signes cliniques observés ayant conduit à la réalisation de prélèvements peuvent être imputables à d'autres infections. Ainsi, la confusion clinique entre méningites à streptocoques et maladie de l'œdème peut être aisée. D'autre part, des traitements antimicrobiens ont pu être administrés aux porcs prélevés et rendent difficile l'isolement du *E. coli* pathogène impliqué.

3.3. La répartition géographique de la maladie de l'œdème en question

Comme montré par cette étude, partout où il y a des porcs, il peut y avoir de la maladie de l'œdème.

Les deux territoires français fournissant le plus grand nombre de prélèvements et le plus grand nombre de résultats Stx2e positif sont très différents. La Bretagne représente autour de 60% de la production porcine française et a pourtant fourni près de 75% des résultats Stx2e positifs. La forte densité porcine et tout ce que cela implique en termes de pression sanitaire et de transmission facilitée des pathogènes est peut-être une explication à ce constat.

L'île de la Réunion, qui a fourni 18% des résultats Stx2e positif représente seulement 0.5% de la production porcine française. La densité d'élevages y est globalement faible. Les premiers résultats Stx2e positif datent de juin 2014 et avant cette date, les dernières observations cliniques documentées de maladie de l'œdème remontaient aux années 80 (communication personnelle de Paul André, praticien spécialisé en production porcine sur l'île de la Réunion).

Suite aux premiers résultats Stx2e positif de 2014, de multiples cas ont été diagnostiqués dans les élevages de l'île, ce qui fait qu'à l'heure actuelle, plus de 50% des porcs sont vaccinés contre la maladie de l'œdème. Cette flambée de cas de maladie de l'œdème reste pour l'instant inexpliquée. Des investigations complémentaires (sérotypage des STEC, étude épidémiologique) sont donc à entreprendre pour mieux comprendre l'apparition de ces multiples cas en deux ans. La diffusion de *E. coli* pathogènes est possible via un animal excréteur ou via un véhicule souillé par de la matière fécale. Les *E. coli* peuvent donc être retrouvés dans le sol, l'eau ou la nourriture des porcs, suite à une contamination fécale. En outre, *E. coli* est résistant dans le milieu extérieur. Dans un environnement favorable (humide et frais), *E. coli* peut persister jusqu'à 5 semaines dans du lisier (Munch *et al*., 1987). Ces caractéristiques remarquables ont certainement contribué à l'expansion de la maladie de l'œdème en Bretagne ou sur l'île de la Réunion récemment.

3.4. Des signes cliniques attendus et inattendus

Si la maladie de l'œdème reste plutôt une maladie de post-sevrage, elle n'est pas rare au-delà de 9 semaines d'âge, notamment dans les jours suivant l'entrée en engraissement. Des cas tardifs ont été régulièrement décrits (Pittman J.S., 2010). Les cas avant 21 jours d'âge sont exceptionnels. Les porcelets de cet âge sont en effet peu sensibles à la maladie de l'œdème, du fait de la quasi absence de récepteurs intestinaux au facteur d'attachement F18 (Nagy *et al.,* 1992 ; Martineau *et al*., 2012). Si la survenue de la maladie de l'œdème dans un élevage se produit souvent à un même âge ou à un intervalle de temps constant par rapport à un évènement (sevrage, transfert en engraissement…), les vétérinaires rapportent régulièrement des cas différents. Ainsi, un même lot de porcs peut être atteint plusieurs fois de maladie de l'œdème au cours de son élevage. Plusieurs lots de porcs d'âge différents peuvent également être malades simultanément dans l'élevage. Enfin, l'âge de survenue de la maladie de l'œdème peut changer au fil du temps : la maladie de l'œdème observée d'abord en engraissement s'observe ensuite en post-sevrage et vice-versa.

Les signes cliniques classiques de l'œdème colibacillaire sont effectivement ceux notifiés principalement par les vétérinaires : la mortalité, les signes d'œdème (surtout des paupières, des oreilles et du front) et les signes nerveux. La présence de diarrhées, non typiques de la maladie de l'œdème, n'exclue pour autant pas celle-ci. Comme constaté dans cette étude, certains *E. coli* peuvent porter différentes combinaisons de toxines et donc induire à la fois la maladie de l'œdème et des diarrhées. Un groupe de porcs peut également être affecté à la fois par des ETEC et des STEC, ce qui trouble l'image clinique. A contrario, l'absence de signes d'œdème ne permet pas d'exclure la maladie de l'œdème. Les lésions d'œdème disparaissent en effet rapidement après la mort ce qui rend difficile l'observation de celles-ci.

Les lésions d'œdème qui sont notifiés dans 48% des résultats Stx2e négatif ne doivent pas être associées à la seule maladie de l'œdème. Elles peuvent être consécutives par exemple à des traumatismes (exemple : tuméfaction des paupières suite au décubitus prolongé d'un porcelet atteint d'une septicémie à *Streptococcus suis*) ou à d'autres infections entraînant une disfonctionnement des fonctions pulmonaires ou circulatoires (exemple: pleuropneumonie à *Actinobacillus pleuropneumoniae*…).

Les motifs cliniques déclenchant les analyses évoluent : des situations de retards de croissance ou de cannibalisme sont investigués désormais. Trop peu de résultats sont disponibles pour conclure mais cela questionne sur les impacts possibles de la shigatoxine.

3.5. Intérêt complémentaire du sérotypage et du génotypage

A notre connaissance, cette étude est la première en France centrée sur les *E. coli* isolés de porcs suspectés d'être atteints

de maladie de l'œdème. Une étude antérieure et une étude contemporaine ont été publiées sur la situation française mais elles s'intéressaient à la prévalence des facteurs de virulence de souches de *E. coli* responsables de diarrhées (Moalic et Le Guennec, 2000 ; Luppi *et al*., 2016).

Si les sérogroupes ou sérotypes de *E coli* porteurs du gène Stx2e sont globalement toujours les mêmes chez le porc, leur prévalence semble varier selon la période de temps considérée. Dans notre étude, en 2016, au sein des *E. coli* portant le gène Stx2e, les sérotypes identifiés sont par ordre d'importance le O139:K82 puis O141:K85, puis les *E. coli* non typables et enfin le O138:K81. Cet ordre était différent en 2014. Cette évolution de prévalence des souches STEC a été également constaté de longue date en France (Le Guennec J., Morvan H., données internes). Les résultats de cette étude montrent l'intérêt du génotypage vis-à-vis de certains sérotypes porteurs de facteurs d'attachement divers (ex. : O141:K85).

Une variabilité de génotypie au sein d'un même sérotype avait été également démontrée dans l'étude menée par Moalic et Le Guennec mais elle concernait surtout le sérotype O138:K81. Le génotypage est également particulièrement informatif pour les souches de *E. coli* non sérotypables.

En effet, 27% des souches non sérotypables étudiées ici se sont révélées porteuses de diverses combinaisons de facteurs de virulence, en faisant des germes clairement pathogènes.

CONCLUSION

Cette étude a permis de collecter un grand nombre d'informations sur la maladie de l'œdème en France. L'œdème colibacillaire est présent sur une grande partie du territoire français. La majorité des prélèvements et des résultats Stx2e positif provient du Grand Ouest et de l'Ile de la Réunion. La compilation des données issues des fiches de commémoratifs montre la variabilité clinique que peut prendre la maladie de l'œdème. Concernant les outils diagnostiques, le génotypage complète l'information imparfaite fournie par le sérotypage et permet d'identifier clairement le type d'infections colibacillaires auquel les porcs ont été exposés.

REMERCIEMENTS

Nous remercions les éleveurs, les vétérinaires et les personnels des laboratoires d'analyses ayant contribué à cette étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barth S., Tscholchiew A., Menge C., Weiss R., Baljer G., Bauerfeind R., 2007. Virulence and fitness gene patterns of shigatoxin-encoding *Escherichia coli* isolated from pigs with edema disease or diarrhea in Germany. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 120, 307-316.
- Casey T.A.,Bosworth B.T., 2009. Design and evaluation of a multiplex polymerase chain reaction assay for the simultaneous identification of genes for nine different virulence factors associated with *Escherichia coli* that cause diarrhea and edema disease in swine. J. Vet. Diagn. Invest., 21, 25–30.
- Fairbrother J.M. 2012. In : Zimmerman J.J., Karriker L. A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W., Diseases of swine 10th, Wiley-Blackwell publishing, 723-750.
- Imberechts H., Deprez P., Lintermans P., Broes A., 1993. La maladie de l'œdème du porcelet. Rec. Méd. Vét., 169, 665-674.
- Luppi A., Gibellini M., Gin T., Vangroenweghe F., Vandenbroucke V., Bauerfeind R., Bonilauri P., Labarque G., Hidalgo A., 2016. Prevalence of virulence factors in enterotoxigenic Escherichia coli isolated from pigs with post-weaning diarrhea in Europe. Porcine Health Management, 2, 20.
- Martineau G.P., Amenna-Bernard N., Waret-Szkuta A., 2013. Enfermedad de los edemas, cuadro clinic y lesional y fisiopatologia. Suis, 97, 22-33.
- Moalic P.Y., Le Guennec J., 2000. Prévalence des facteurs de virulence de souches de *Escherichia coli* responsables de diarrhées chez le porc en France. Revue Méd. Vét., 151, 6, 523-526.
- Munch B., Larsen H.E., Aalbaek B., 1987. Experimental studies on the survival of pathogenic and indicator bacteria in aerated and non-aerated cattle and pig slurry. Biological Wastes, 22, 49-65.
- Nagy B., Casey T.A., Whipp S.C., Moon H.W., 1992. Susceptibility of porcine intestine to pilus-mediated adhesion by some isolates of piliated enterotoxigenic Escherichia coli increases with age. Infect. Immun., 60, 1285–1294.
- Pittman J.S., 2010. Enteritis in grower-finisher pigs caused by F18-positive Escherichia coli. J. Swine Health, 18, 81–86.
- Stahl M., Kokotovic B., Hjulsager C.K., Breum S.Ø., Angen Ø., 2011. The use of quantitative PCR for identification and quantification of *Brachyspira pilosicoli*, *Lawsonia intracellularis* and *Escherichia coli* fimbrial types F4 and F18 in pig feces. Vet. Microbiol., 151, 307-314.
- Neumann E.J., Ramirez A., Schwartz K.J., 2009. Edema disease. In: Neumann E.J., Ramirez A., Schwartz K.J., Swine disease manual 4th , 19-20. American Association of Swine Veterinarians, Iowa, USA.
- Tsukahara T., Nakanishi N., Nakayama K., Matsubara N., Ushida K., 2005. Experimental infection of enterotoxigenic Escherichia coli associated with porcine edema disease and its pathological characteristics in the intestine. J. Vet. Med. Sci., 67, 1167–1171.
- Verstraete K., Van Coillie E., Werbrouck H., Van Weyenberg S., Herman L., Del-Favero J., De Rijk P., De Zutter L., Joris M.-A., Heyndrickx M., DeReu K., 2014. A qPCR Assay to Detect and Quantify Shiga Toxin-Producing *E. coli* (STEC) in Cattle and on Farms: A Potential Predictive Tool for STEC Culture-Positive Farms. Toxins, *6*, 1201-1221.