



# Effets d'un vaccin *Escherichia coli* non entérotoxigène et de la supplémentation en mannane oligosaccharides contre les diarrhées en post-sevrage

Hrvoje VALPOTIC (1), Davor SVOBODA (2), Danijel SPOLJARIC (1), Denis LEINER (1), Branimira SPOLJARIC (1), Nada VIJTIUK (3), Boris HABRUN (4), Hrvoje CAPAK (1), Zeljko VIDAS (5), Silvijo VINCE (1), Nino MACESIC (1), Marko SAMARDZIJA (1), Maja POPOVIC (1), Ana KOVSCA JANJATOVIC (6), Gordana LACKOVIC (1), Ivica VALPOTIC (1), Martina DURIC JARIC (1), Franjo MARKOVIC (1)

(1) Faculté de médecine vétérinaire de l'université de Zagreb, Zagreb, Croatie

(2) Ministère croate de l'agriculture, de la pêche et du développement rural, Zagreb, Croatie

(3) Faculté d'éducation des enseignants, Zagreb, Croatie

(4) Institut vétérinaire croate, Zagreb, Croatie

(5) Département d'urologie de la faculté de médecine, Osijek, Croatie

(6) Université des sciences de la santé appliquées, Zagreb, Croatie

raphael.ariaux@alltech.com

## Impact of a non-enterotoxigenic *Escherichia coli* (non-ETEC) vaccine and supplementation with dietary mannan oligosaccharides (MOS) against post weaning diarrhoea (PWD) in weaned pigs

Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains expressing F4 and F18 fimbriae are the most common causative agents of post-weaning diarrhoea in pigs. The growing global restriction on the use of antibiotics in food animals has encouraged research into the development of nutritional and feeding strategies as well as vaccination against PWD. The aim of this study was to evaluate the efficacy of a live oral F4ac+ F18ac+ non-ETEC vaccine candidate (VAC) to stimulate gut and systemic cellular immunity in 4-week-old pigs over 5 weeks following immunization. Treatment with vaccine candidate combined with a supplementation in MOS (VAC+MOS) tend to show a lower incidence and severity of diarrhoea and mortality. The total bacterial load in the ileum tends to be much lower in the pigs from all three principal groups (MOS, VAC, and VAC+MOS) than in the control group on day 35. Pigs from the principal groups had significantly higher percentages of tested immune cells ( $P < 0,05$ ) on days 28 and 35. To conclude, active mucosal immunity is needed to protect pigs against PWD. Hence, oral vaccination of pigs against both F4 and F18 ETEC, in combination with prebiotic supplementation represents an effective approach to improve pigs immunity. The body weight of the MOS group at J35 was significantly higher than the VAC and VAC+MOS group, which shows that the usage of MOS alone can be an alternative to improve the immunity of the pig without harming the performance. Further studies need to be done to significantly assess the role of the combination of oral vaccination and supplementation of MOS against PWD.

## INTRODUCTION

Les souches d'*Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC) exprimant les fimbriae F4 et F18 sont les agents les plus couramment responsables de la diarrhée en post-sevrage chez les porcs (Zhang *et al.*, 2014). La restriction mondiale croissante de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux d'élevage a stimulé la recherche sur l'élaboration de stratégies nutritionnelles et alimentaires ainsi que sur la vaccination contre la diarrhée post-sevrage (Luise *et al.*, 2019).

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité d'un vaccin expérimental (VAC) oral vivant F4ac+ F18ac+ non-EETEC et de son association avec un supplément prébiotique de type mannane oligosaccharide (MOS) dans la prévention de la colonisation de l'intestin grêle par ETEC chez des porcs sevrés.

## 1. MATERIEL ET METHODES

Un total de 64 porcs (Swedish Landrace X Large White X Pietrain belge) sevrés à 28 jours à un poids moyen de 8,4 kg, ont été utilisés dans cette étude.

Les porcelets âgés de 28 jours (J0 de l'étude) ont été répartis aléatoirement en quatre groupes de 16 porcelets pour une durée de 35 jours : (1) TEM : Groupe témoin avec vaccination Placebo (60ml de bouillon trypticase soja administré par voie intra-gastrique) ; (2) MOS : Groupe avec supplémentation Bio-Mos (2 g/Kg) ; (3) VAC : Groupe vacciné avec le vaccin non-EETEC ; (4) VAC + MOS : Groupe vacciné le vaccin non-EETEC + Bio-Mos (2 g/Kg). Le vaccin a été administré par voie intra-gastrique à J0 à un dosage de  $10^{10}$  Unité Formant Colonie (UFC) /ml.

Les diarrhées ont été contrôlées de façon visuelle quotidiennement avec une mesure de l'incidence et de la sévérité des symptômes selon un système de notation de 0 (féces normal) à 3 (diarrhée très liquide). Des scores de 2 et 3 entraînaient un diagnostic de diarrhée.

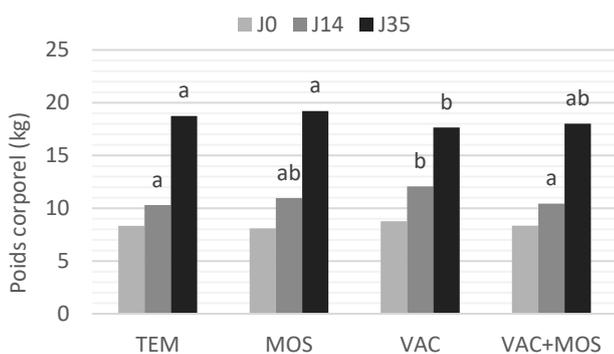
A compter de J0, une pesée des porcelets et des prélèvements biologiques (sang, contenu intestinal) ont été effectués tous les 7 jours. Les sous-groupes de lymphocytes dans le sang ont été quantifiés avec une analyse de cytométrie en flux en utilisant un cytomètre de flux Coulter EPICS-XL.

A J0 et J35, deux porcelets par groupe ont été euthanasiés afin d'analyser la composition bactérienne et les proportions phénotypiques des cellules immunitaires dans l'iléon.

L'analyse statistiques des données a été effectuée en utilisant le programme SAS 9.4. La procédure GLIMMIX avec les méthodologies linéaires généralisées de distribution binomiale et de modèle logit a été utilisée pour analyser les variables lymphocytes et leucocytes. Le modèle statistique a inclus les effets fixes de groupe et de période. L'effet aléatoire de chaque animal sur les mesures répétées a été inclus dans le modèle avec une structure de symétrie composée. L'analyse de la variance (PROC GLM) a été utilisée pour analyser le poids brut et le modèle statistique, en incluant les effets fixes de groupe et de période. Un test de comparaison multiple des moyennes des moindres carrés avec correction de Tukey a été effectué à l'aide de l'option SLICE pour comparer le poids et les cellules immunitaires des différents groupes au cours de la période. Les différences significatives sont définies avec une  $P$ -value  $\leq 0,05$ .

## 2. RESULTATS

Les porcs MOS et VAC avaient un poids plus élevé au jour 14 ( $P < 0,05$ ) que les porcs du groupe TEM, tandis que les porcs MOS avaient un poids significativement plus élevé au jour 35 que les porcs des groupes VAC et VAC+MOS ( $P < 0,05$ ; Figure 1).



**Figure 1** – Evolution du poids vif à J0, J14 et J35 par groupe de traitement.

Les lettres a, b et ab pour les colonnes de la même couleur indiquent une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les traitements.

Le traitement VAC+MOS a entraîné une réduction de l'incidence et de la gravité de la diarrhée, ainsi que de la mortalité, sans que les différences ne soient significatives.

La charge bactérienne totale dans l'iléon était plus faible chez les porcs des trois groupes MOS, VAC et VAC + MOS que dans le groupe TEM ( $19 \times 10^7$ ,  $17 \times 10^7$  et  $12 \times 10^7$  vs  $23 \times 10^8$  UFC/mL, respectivement) au jour 35. Le nombre de porcs testés par groupe ne permet cependant pas une conclusion statistiquement significative.

Les porcs des groupes MOS, VAC et VAC + MOS avaient des proportions plus élevées de cellules immunitaires (CD45+, CD4+, CD8+, CD21+) par rapport au groupe TEM à partir de J28 ( $P < 0,05$ ; Tableau 1). Cela démontre que les MOS ont un potentiel immunomodulateur, qui a été exacerbé par une utilisation combinée avec un vaccin pour les sous-groupes de lymphocytes CD45+, CD4+ et CD8+.

**Tableau 1** – Evolution de la proportion de cellules immunitaires selon les groupes entre J0, J28 et J35

Rations	Sous-groupe de lymphocytes	Proportions de sous-ensembles de lymphocytes du sang périphérique, %		
		J0	J28	J35
TEM	CD45+	50,46	61,01 <sup>a</sup>	61,7 <sup>a</sup>
	CD4+	17,57	21,36 <sup>a</sup>	21,36 <sup>a</sup>
	CD8+	11,1	12,17 <sup>a</sup>	12,37 <sup>a</sup>
	CD21+	20,3	24,08 <sup>a</sup>	23,87 <sup>a</sup>
MOS	CD45+	50,11	69,24 <sup>b</sup>	69,55 <sup>b</sup>
	CD4+	17,14	24,23 <sup>b</sup>	24,2 <sup>b</sup>
	CD8+	10,11	13,85 <sup>b</sup>	13,77 <sup>b</sup>
	CD21+	20,53	27,69 <sup>b</sup>	27,66 <sup>b</sup>
VAC	CD45+	50,62	72,07 <sup>c</sup>	72,12 <sup>c</sup>
	CD4+	17,85	27,42 <sup>c</sup>	27,22 <sup>c</sup>
	CD8+	10	14,81 <sup>c</sup>	14,62 <sup>c</sup>
	CD21+	20,2	29,19 <sup>c</sup>	29,22 <sup>c</sup>
VAC+MOS	CD45+	50,46	72,96 <sup>c</sup>	72,91 <sup>c</sup>
	CD4+	17,57	27,5 <sup>c</sup>	27,42 <sup>c</sup>
	CD8+	9,71	15,41 <sup>c</sup>	15,44 <sup>c</sup>
	CD21+	20,3	26,51 <sup>d</sup>	26,54 <sup>d</sup>

Les lettres a, b, c et d indiquent une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les traitements.

## CONCLUSION

La vaccination orale des porcs par un vaccin non-EPEC contre les EPEC F4 et F18, en combinaison avec une supplémentation en prébiotiques peut être une approche efficace pour améliorer l'immunité des porcs, mais elle impacte les performances de croissance. Des études approfondies doivent encore être menées pour évaluer le potentiel de cette combinaison sur la diminution de la charge bactérienne iléale et la lutte contre la diarrhée post-sevrage. En outre, une supplémentation uniquement en MOS représente une approche efficace pour améliorer l'immunité des porcelets tout en maintenant les performances de croissance.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Zhang W., 2014. Progrès et challenges dans la mise au point d'un vaccin contre la diarrhée porcine post-sevrage associée à l'*Escherichia coli* entérotoxigène (EPEC). J. Vet. Med. Res. 1, 1006.
- Luise D., Lauridsen C., Bosi P., Trevisi P., 2019. Méthodologie et application des modèles d'infection codant pour *Escherichia coli* F4 et F18 chez les porcs post-sevrage. J. Anim. Sci. Biotechnol. 10, 53.