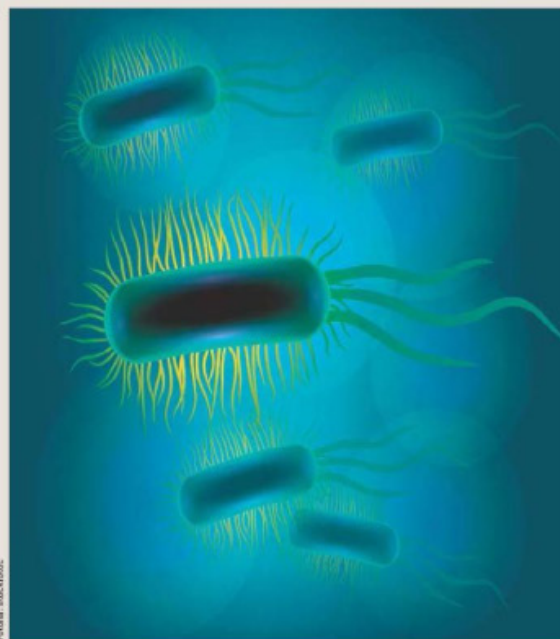


A la réunion Accoupage organisée par Chêne Vert Conseil

# Escherichia coli au centre de toutes les attentions...

La bactérie *E. coli* était l'invitée d'honneur début décembre de la réunion organisée par Chêne Vert Conseil à l'intention des professionnels de l'accoupage. Voies de contamination, nouvelles techniques d'identification, bilan des résultats d'essais concernant l'utilisation des autovaccins... L'occasion de se mettre à jour sur cette bactérie au génome très plastique ● E. Viénot



« Au regard des résultats déjà accumulés par le laboratoire, *E. coli* ressort comme le germe le plus identifié en routine (29%). Des chiffres néanmoins biaisés dans la mesure où le laboratoire effectue systématiquement un antibiogramme après avoir mis en évidence un *E. coli* lors du diagnostic (x2 l'effectif).

## POUR INFO

Le laboratoire Finalab travaille sur la standardisation de paramètres biochimiques hépatiques chez les reproducteurs, et plus précisément sur la relation entre taux de transaminases et stéatose hépatique, mycotoxines et hépatite virale.

*E. coli* est un pathogène bien connu en production de poulets de chair, en tant que principal responsable des salpingites et péritonites observées en reprod et aussi de la mortalité enregistrée au démarrage. Parmi les hypothèses formulées à son sujet, les cas de salpingite chronique représenteraient un risque potentiel de transmission verticale et augmenteraient de manière significative la mortalité à 7 jours.

Le Dr Louise Ladefoged Poulsen de l'Université de Copenhague (Danemark) a participé à une étude visant à étudier la transmission verticale d'*E. coli* au sein de la filière danoise. Plusieurs troupeaux de reproducteurs ont ainsi été suivis d'un point de vue bactériologique de la semaine 20 à 60, ainsi que leur production d'œufs à couvrir et la population de poussins au cours de la première semaine d'élevage. Soit au total 595 reprod morts, 2880 écouvillons cloacaux réalisés au couvoir et 426 poussins morts durant la période de l'essai. Les *E. coli* isolés ont fait l'objet d'un sérotypage par la technique de l'électrophorèse en champ pulsé (cf. encadré).

## Conclusion de l'étude

L'observation des résultats a mis en évidence une similitude entre les *E. coli* isolés sur les salpingites des reproducteurs et ceux isolés au couvoir et sur les poussins de chair en élevage, étayant l'hypothèse de la transmission verticale. Parallèlement, l'analyse des données a révélé une voie de contamination horizontale pendant la phase de l'éclosion. D'après les données de l'électrophorèse en champ pulsé et de la technique du multi-séquençage (MLST), il semblerait que certains sérotypes soient davantage associés au niveau des lésions sur les reproducteurs, et d'autres plutôt sur le poussin d'un jour. « Dans le cadre de notre étude, ce sont les sérotypes ST95 et ST131 qui étaient les plus impliqués du point de vue de la pathologie et de la transmission verticale », précise Louise Ladefoged Poulsen. Au regard des conclusions de cette étude, cette dernière s'interroge : « Est-il possible d'identifier »

les poules atteintes de salpingite chronique et de les éliminer afin d'éviter qu'elles ne transmettent les *E. coli* à leur progéniture ? Peut-on éviter la transmission horizontale d'*E. coli* dans l'écloserie ? Ou bien traiter les poussins d'un jour avec un probiotique ? »

## E. coli le plus identifié en routine

Depuis 2013, la spectrométrie de masse MALDI-ToF (cf. encadré) est utilisée par le laboratoire Bio Chêne Vert pour l'identification des micro-organismes (bactéries, levures et moisissures) à partir d'organes d'intérêt. Aujourd'hui, les 11 laboratoires de Finalab emploient cette méthode en routine vis-à-vis d'une trentaine de cibles MALDI, dont *E. coli*, soit plus de 3000 identifications effectuées par mois (150/jour).

« Un spectre de masse contient plus de 200 pics moléculaires qui correspondent à de petites protéines exprimées par la bactérie, son empreinte digitale en quelque sorte », explique Frédéric Bourgeon, directeur scientifique de Bio Chêne Vert. L'algorithme d'identification va comparer le spectre expérimental avec les spectres de référence de la



« Le Dr Louise Ladefoged Poulsen de l'Université de Copenhague (Danemark) : « Nous avons observé dans le cadre de notre étude une similitude entre les *E. coli* isolés sur les salpingites des reproducteurs et ceux isolés au couvoir et sur les poussins de chair en élevage, étayant l'hypothèse de la transmission verticale ».

## Explication théorique La méthode MALDI-TOF...

La méthode MALDI conduit à la formation d'un nuage de protéines chargées électriquement. L'analyseur appelé TOF (Time-Of-Flight, temps de vol) sépare ces protéines et mesure leur temps d'arrivée à un détecteur. L'analyse se découpe en plusieurs étapes :

1 • Tirs laser sur des bactéries produisant un nuage de protéines.

2 • Accélération des protéines chargées dans un champ électrique haute tension.

3 • Séparation des protéines selon leur temps de vol (masse dépendant).

4 • Détection du courant ionique.

5 • Création d'un spectre de masse, carte d'identité moléculaire de la bactérie d'intérêt.

6 • Comparaison du spectre expérimental avec une base de données de spectres de référence conduisant à l'identification du germe. Ainsi, une colonie bactérienne peut être identifiée en quelques secondes après comparaison de son empreinte moléculaire avec une base de données de germes de référence.

base de données. Cette dernière est composée de la base de données Bruker mise à jour tous les ans (2461 espèces recensées) à laquelle s'ajoute la base de données interne Bio Chêne Vert, également mise à jour régulièrement.

Au regard des résultats déjà accumulés, *E. coli* ressort comme le germe le plus identifié en routine (29%). Des

chiffres néanmoins biaisés dans la mesure où le laboratoire effectue systématiquement un antibiogramme après avoir mis en évidence un *E. coli* lors du diagnostic (x2 l'effectif).

Les spectres de masse obtenus sur *E. coli* contiennent pas moins de 250 pics moléculaires qui se ressemblent et dont la présence doit être vérifiée dans les »

**Hellmann Poultry GmbH & Co. KG**

**HELLMANN POULTRY EQUIPMENT**

- Volières PRO-10 pondéuses et PRO-A10 élevage poulettes
- Construction de structures et pondoirs spécifiques
- Hauteur volière limitée = contrôle et déplacement des postes plus faciles
- Plusieurs versions - adaptables à tous les biotemps
- Excellents résultats techniques

- Batteries à tapis pour pondéuses et poulettes

**Solution totale pour votre élevage**

Hellmann Poultry GmbH & Co. KG - Postfach 1231, D-49161 Necha, Allemagne  
Tél : + 49 4441 9259 0 - Fax : + 49 4441 9259 50  
E-mail : info@hellmannpoultry.de

www.hellmannpoultry.com

**ELEVAGE SERVICE**  
le sens de l'innovation

Le duo gagnant pour votre production d'œufs à la ferme !

**Le bâtiment déplaçable**

**Le pondoir manuel**

Avenue de l'Océan - 40500 Saint-Sever - Tél : 05 58 76 44 64  
www.elevageservice-sud.com

La piste des vaccins autogènes

## Réovirus et arthrite virale

Invité par **Chêne Vert Conseil**, **John El Attrache**, directeur des services scientifiques au sein du laboratoire **Ceva**, a fait un point de la situation concernant les réovirus, omniprésents dans la filière avicole. « Dindes, poulets et poules pondeuses sont sensibles aux réovirus, si les maladies cliniques sont rares, les infections sont fréquentes », déclare-t-il. Ils sont responsables d'arthrite virale (syndrome le plus connu), de malabsorption et d'immunosuppression. « Ce sont des virus faiblement immunogènes, voilà pourquoi il existe peu de vaccins les concernant », explique-t-il.

La transmission se fait principalement par voie verticale (de la poule au poussin via l'œuf), et par voie respiratoire. Il existe beaucoup de souches de réovirus, d'antigènes et de pathotypes mais la plupart sont non pathogènes.



Les réovirus sont souvent associés à l'entérite (litière dégradée, animaux sales, entassés, chétifs, ébouriffés, croissance ralentie) et à la ténosynovite, également appelée arthrite virale, en recrudescence depuis 2013. « Cela commence par les joints de pattes pour remonter aux tendons fléchisseurs avec des contusions, des plaies, des œdèmes sévères », précise-t-il.

« Aux États-Unis, parallèlement à l'intensification de la production, une augmentation des fientes de réovirus a été observée dans les années

2010-2011 jusqu'en 2013 où l'arrivée d'un vaccin Ceva (deux injections en élevage) a permis de limiter la contamination », mentionne-t-il. Le fait est que de nouvelles souches de réovirus (génotypes Sigma C) ont été identifiées, mettant en échec les vaccins conventionnels (vivants ou inactivés). En revanche, l'utilisation de vaccins autogènes permet d'éviter la transmission verticale et confère une protection à la descendance via les anticorps maternels. « Une actualisation des souches terrain est cependant nécessaire pour la fabrication des vaccins autogènes d'autant que les dernières analyses témoignent d'une plus grande hétérogénéité des souches », rapporte-t-il.

Par ailleurs, les réovirus associés à l'arthrite virale continuent d'évoluer mais restent cantonnés à trois catégories sérologiques.



« Frédéric Bourgeon, directeur scientifique de Bio Chêne Vert : « Afin de pouvoir comparer les bactéries E. coli entre elles et dans le temps, il a fallu au préalable normaliser au maximum la culture, la préparation de l'échantillon, les acquisitions MALDI-TOF et la recherche de biomarqueurs ».

souches présentent en revanche une forte homologie concernant les 250 pics moléculaires (95 %). « Le Maldi-typage différencie des souches hétérologues et donne des résultats très encourageants dans l'aide à la sélection des souches autovaccinales », signale Frédéric Bourgeon.

Le laboratoire dispose aujourd'hui de 1000 souches d'E. coli Maldi-typées et de 300 biomarqueurs mais se limite volontairement à 250 biomarqueurs, sachant que pour une souche distincte, il existe plus de marqueurs différentiels que de pics moléculaires. Le génome de la bactérie E. coli fait en effet preuve d'une grande plasticité, il comprend en moyenne 4700 gènes dont seulement 2000 sont communs aux différents E. coli. En tout, 10000 gènes différents ont été identifiés.

Le laboratoire a testé de nombreuses autres espèces bactériennes via la technique Maldi-Tof (*Mycoplasma Synoviae*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella* sp., *ORT*, *Staphylococcus aureus*...). « L'analyse phyloprotéomique ne permet pas toujours de différencier les souches », précise-t-il.

### Efficacité des autovaccins contre E. coli

Après cette mise à jour des techniques d'identification, le Dr Éric Thibault (Biovac) a fait un bilan des connaissances acquises sur la pathogénicité de la bactérie E. coli et des résultats/conclusions d'essais portant sur l'utilisation des autovaccins E. coli fabriqués par le laboratoire Biovac. « La virulence d'une souche E. coli n'est pas liée au sérotype et la virulence d'une souche E. coli pathogène est liée à la dose infectante », rappelle-t-il.

Par ailleurs, une étude réalisée en 2011 a montré que « l'autovaccin confère au poussin issu d'une poule vaccinée d'excellentes protections homologues et hétérologues intra-sérotype, l'intensité de la protection étant proportionnelle à l'intensité de l'épreuve ». En revanche, pas de protection avérée lorsque la souche d'épreuve et la souche vaccinale sont de sérotypes différents, ce qui a été confirmé par la suite.

Des essais réalisés courant 2013 ont mis en évidence que la protection des poussins éclos en fin de ponte est identique à celle des poussins éclos en début de ponte.

En 2015-2016, le laboratoire Biovac a cherché dans le cadre de ses études à augmenter le nombre de sérotypes détectés et à évaluer plus largement la protection croisée entre souches de même sérotype. Le laboratoire a par ailleurs

## INFLUENZA AVIAIRE

### "Témoignages"



« François Landais, vétérinaire dans le Sud-Ouest, a relaté les événements marquants de la première épizootie d'Influenza aviaire H5N1 HP alors même que l'épizootie H5N8 HP venait de démarrer. Il a insisté sur l'importance des prélèvements, de la réactivité et de l'homogénéité des mesures pour éviter la diffusion du virus.

« Mohammed Salek, vétérinaire au Maroc, a évoqué la rapidité à laquelle le virus H9N2 FP s'est déployé dans son pays à partir de fin 2015 et vis-à-vis duquel il a été décidé de recourir à la vaccination dès février 2016 (poules reproductrices, poulets de chair et poules pondeuses).



testé de nouveaux prototypes d'autovaccins, en l'occurrence les nouvelles formulations F320 et F350. Ces travaux ont montré l'importance du choix des souches vaccinales et de la formulation de l'autovaccin pour maximiser la protection homologue et hétérologue intra-sérotype. Ainsi, « les souches doivent être isolées en culture pure d'organes lésés voire de moelle osseuse, elles doivent appartenir aux sérotypes cibles,

être choisies parmi les Maldi-types dominants et posséder des gènes d'intré, c'est à dire codant pour des structures antigéniques », détaille-t-il.

Au regard des résultats d'essais, la protection passive du poussin de chair (souche standard) est améliorée avec la formulation F350 comparée à la version classique F123, et a priori également avec la formulation F320. Cette dernière a par ailleurs permis d'amé-

liorer la réponse sérologique des reproducteurs de filière œufs de consommation. « Nous allons maintenant poursuivre les investigations sur les nouvelles formulations F320 et F350 et nous intéresser plus particulièrement à la durée de la protection passive du poussin », a annoncé Éric Thibault.

E. coli n'a décidément pas fini d'intéresser vétérinaires et chercheurs... ●

DOL 53 : la nouveauté pour la gestion d'ambiance

## C'est désormais possible : la mesure permanente de l'ammoniac dans le bâtiment

Les données précises de mesure de l'ammoniac permettent d'adapter parfaitement la gestion d'ambiance, l'évacuation des fientes et la gestion de l'alimentation

Équipement à résistance durable convenant aux conditions à l'intérieur du bâtiment

Intégration facile dans des bâtiments existants

Sortie analogique universelle de 0 à 10 V



www.bigdutchman.fr

souches d'intérêt. « Pour aller plus loin dans la caractérisation des souches d'E. coli, nous avons mis en place une stratégie phyloprotéomique permettant de rechercher les pics moléculaires différentiels », indique-t-il. Le laboratoire s'est ainsi focalisé sur la présence de biomarqueurs différentiels et la construction de dendrogrammes de classification à partir des données de distribution des pics moléculaires.

Mais « afin de pouvoir comparer les bactéries E. coli entre elles (groupes et sous-groupes) et dans le temps, il a fallu au préalable normaliser au maximum la culture (gélose, durée, température), la préparation de l'échantillon (quantité de matériel biologique, extraction liquide), les acquisitions Maldi-Tof (méthode d'acquisition, calibration, nombre de dépôts et d'acquisitions par dépôt, contrôle de la qualité des spectres), la recherche de biomarqueurs (logiciel expert, alignement des spectres,

comparaison avec les souches de référence) », détaille-t-il. De cette façon, on obtient des spectres de masse très répétables, très reproductibles.

Cette méthode est moins sensible que les méthodes type PFGE et MLST dont la sensibilité est de cinq daltons mais elle permet de repérer une différence entre deux pics de l'ordre de 27 daltons, ce qui correspond à la permutation d'un nucléotide.

### Un génome d'une grande plasticité

Utilisée dans le cadre d'une étude menée sur 568 souches d'E. coli, cette méthode a permis de mettre en évidence différents Maldi-types (plus d'une dizaine). Arrivent en tête le O2K1 (269) suivi de O78K80 (139). A noter la grande diversité de Maldi-types parmi les E. coli non typables. Au sein d'un même Maldi-type, les



« Le Dr Éric Thibault (Biovac) : « Le choix des souches vaccinales et de la formulation de l'autovaccin sont importants pour maximiser la protection homologue et hétérologue intra-sérotype ».