Bulletin épidémiologique
Santé animale - alimentation

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

anses

Un clone hybride d'*Escherichia coli* shigatoxinogène et entérotoxinogène responsable de la maladie de l'œdème chez le sanglier sauvage (*Sus scrofa*)

Alexandre Perrat[1], Geoffrey Petit[2,3,4], Karine Chalvet-Monfray[3,4], Guy-Pierre Martineau[5], Fabrice Etienne[6], Sylvia Turci[7], Marie-Hélène Bayon-Auboyer[7], Vladimir Grosbois[2], Priscilla Branchu[1], Hubert Brugère[1], Eric Oswald[1,8], Anouk Decors[9], Frédéric Auvray[1]

Auteur correspondant : frederic.auvray@envt.fr

[1] IRSD, Université de Toulouse, INSERM, INRAE, ENVT, UPS, Toulouse
[2] CIRAD, UMR ASTRE, Montpellier.
[3] Université de Lyon, INRAE, VetAgro Sup, UMR EPIA, Marcy-l'Etoile
[4] Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR EPIA, Saint-Genès-Champanelle
[5] Université de Toulouse, ENVT, Toulouse
[6] Fédération départementale des chasseurs de l'Ardèche, Saint-Étienne-de-Boulogne.
[7] Labocea, Ploufragan
[8] CHU Toulouse, Hôpital Purpan, Service de Bactériologie-Hygiène, Toulouse.
[9] OFB, Direction de la recherche et de l'appui scientifique, Unité sanitaire de la faune, Orléans.

Résumé

La maladie de l'œdème affecte le porc domestique et se caractérise par une entéro-toxémie aiguë souvent fatale, causée par des souches de *Escherichia coli* productrices de shigatoxines (STEC). A partir de 2013, des épidémies de cette maladie sont apparues pour la première fois chez le sanglier sauvage en France, dans des conditions naturelles. Les investigations épidémiologiques suggèrent une forte saisonnalité pour cette maladie, probablement liée à la dynamique des mises-bas étant donné que les jeunes en cours de sevrage sont les plus sensibles à la maladie. L'étude du gène de l'alpha-1-fucosyltransferase (FUT1) a également permis de mettre en évidence la sensibilité des sangliers à la maladie de l'œdème. Enfin, le séquençage du génome des souches de STEC isolées des sangliers a montré qu'elles appartenaient au sérotype O139:K82:H1 et possédaient un prophage codant la shigatoxine Stx2e ainsi que deux plasmides, l'un codant des adhésines F18, l'autre des entérotoxines typiques des *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC). Les souches responsables de la maladie de l'œdème chez le sanglier correspondent ainsi à un pathotype

Abstract

Title: A hybrid clone of Shiga toxigenic and enterotoxigenic *Escherichia coli* responsible for edema disease outbreaks in wild boars (*Sus scrofa*)

Edema disease affects domestic pigs and is characterized by acute, often fatal, enterotoxaemia caused by strains of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). From 2013, outbreaks of this disease occured for the first time in wild boars, in France, under natural conditions. Epidemiological investigations suggest a strong seasonality for this disease, probably linked to the dynamics of farrowing, given that the young animals at the weaning period are the most susceptible to the disease. The study of the alpha-1-fucosyltransferase (FUT1) gene highlighted the susceptibility of wild boars to edema disease. Finally, the sequencing of the genomes of wild boar STEC strains showed that they belonged to serotype O139:K82:H1 and possessed a prophage encoding Shiga toxin Stx2e as well as two plasmids, one encoding F18 adhesins, the other enterotoxins typical of enterotoxigenic *E. coli* (ETEC). The strains responsible for edema disease in wild boar thus correspond to a STEC/ETEC

hybride STEC/ETEC O139:K82:H1 qui n'avait jamais été décrit chez le porc. Ces travaux apportent un éclairage sur la plasticité des génomes bactériens, et sur le rôle de la faune sauvage comme réservoir ou révélateur de la circulation d'agents infectieux encore non détectés chez le porc domestique.

Mots-clés

maladie de l'œdème, sangliers, porcs, *Escherichia coli*, STEC, ETEC

O139:K82:H1 hybrid pathotype which had never been described in pigs. This work sheds light on the plasticity of bacterial genomes, and on the role of wildlife as a reservoir or indicator of the spread of new pathogens not previously detected in domestic pigs.

Keywords

edema disease, wild boars, pigs, *Escherichia coli*, STEC, ETEC

Introduction

La maladie de l'œdème (MO) qui affecte le porc domestique se caractérise par une entéro-toxémie aiguë souvent fatale, provoquée par un pathotype particulier de *Escherichia coli*. Ces *E. coli* pathogènes appartiennent principalement aux sérotypes[1] O138:K81:NM, O139:K82:H1 et O141:K85:H4. Ils prolifèrent dans l'intestin grêle et produisent une shigatoxine (Stx2e), responsable de lésions de l'endothélium vasculaire. Il en résulte des œdèmes généralisés et pas toujours visibles macroscopiquement, des morts subites et des signes neurologiques consécutifs à l'œdème cérébral (Fairbrother *et al.* 2019).

Les premiers cas de MO chez des suidés sauvages ont été diagnostiqués dans une population de sangliers en Ardèche en 2013 (Decors *et al.*, 2015). D'autres cas ont également été recensés les trois années suivantes dans ce même département, ainsi que deux nouveaux foyers en 2016 et 2019, dans les Pyrénées-Orientales (Decors *et al.*, 2017) et dans la Drôme, respectivement. Les tableaux lésionnels et cliniques de la MO chez le sanglier sont les mêmes que ceux observés chez le porc. Les principaux signes cliniques rapportés sur le terrain sont l'ataxie (démarche ébrieuse) et les convulsions. Les principales lésions macroscopiques observées sur les cadavres sont un œdème palpébral et du mésocolon, un épanchement thoracique, abdominal et péricardique, une colite (inflammation du colon) congestivo-hémorragique.

L'émergence et le maintien de la MO dans la population de sangliers dépendent très certainement de nombreux facteurs (stress alimentaire, densité de sangliers, facteurs de comorbidité, facteurs génétiques, caractéristiques de l'agent pathogène). Cet article décrit les principaux résultats obtenus à partir des investigations épidémiologiques et des analyses génétiques réalisées sur les sangliers et sur les souches d'*E. coli* responsables des cas de MO, en vue de fournir un nouvel éclairage sur les facteurs ayant conduit à l'émergence de cette maladie dans la faune sauvage.

Résultats

Forte saisonnalité des cas de maladies de l'œdème

En Ardèche, entre 2013 et 2016, 82 % des sangliers ardéchois suspects de MO (car présentant des signes cliniques et lésions évocateurs de cette maladie) étaient des individus âgés de moins d'un an, et 73 % présentaient un bon état corporel. Les mortalités étaient concentrées dans le centre de l'Ardèche, excepté une faible mortalité localisée dans le sud du département durant la dernière année d'étude. Le nombre de cas observés annuellement a diminué sur la période 2013-2016 (**Figure 1**). Pendant cette période d'étude, la date de démarrage et la durée de l'épizootie ont varié d'une année sur l'autre. Néanmoins, la concentration des cas du début de l'été jusqu'à la fin de l'automne suggère une forte saisonnalité de la maladie. Comme cela a été rapporté chez le porc domestique, les jeunes animaux semblent plus touchés, particulièrement durant la période de sevrage. Il est donc plausible que la saisonnalité marquée soit liée à la dynamique des mises-bas. Le démarrage de l'épisode de mortalité pourrait en effet coïncider avec la période de sevrage qui suit le pic de naissance.

[1] Les sérotypes d'*E coli* sont décrits par la combinaison d'antigènes somatiques (O), capsulaires (K) et flagellaires (H)

Susceptibilité génétique du sanglier vis-à-vis de la maladie de l'œdème

Le risque d'apparition et de maintien de la maladie dans une population dépend de nombreux facteurs, parmi lesquels le facteur génétique. L'adhésion des souches de *E. coli* responsables de la maladie de l'œdème à la muqueuse intestinale et leur multiplication dans l'intestin (conditions préalables au développement des signes cliniques), dépendent de la présence de récepteurs intestinaux reconnus par les adhésines de type F18 produites par les souches de *E. coli*. La production de ces récepteurs est régulée par le gène de l'alpha-1-fucosyltransferase (FUT1), lequel présente des variants alléliques. Selon l'allèle du gène FUT1 qu'ils possèdent dans leur patrimoine génétique, les animaux sont alors soit résistants, soit sensibles aux infections à *E. coli* F18+. L'analyse du polymorphisme du gène FUT1 a montré que tous les sangliers échantillonnés dans plusieurs départements du sud de la France possédaient l'allèle du gène FUT1 conférant une sensibilité aux *E. coli* F18+ (Petit *et al.*, 2020).

Un seul et même clone d'*E. coli* O139:K82:H1 responsable des épizooties

Les génomes des souches de *E. coli* isolées des sangliers ont été séquencés et comparés à ceux de souches retrouvées chez le porc domestique. L'analyse phylogénétique de 28 souches de *E. coli* O139:K82:H1 isolées de sangliers suspects de MO (21 provenant de l'Ardèche entre 2013 et 2016, et 7 de la Drôme en 2019) et de 30 souches de *E. coli* O139:K82:H1 isolées de porcs élevés dans différentes régions ou départements français (13 en Bretagne, 2 dans les Hautes-Alpes et 1 en Dordogne) ou à l'étranger a montré que les souches de sangliers étaient regroupées au sein d'un seul groupe (ou clade, nommé « WB1 »), distinct des groupes formés par les souches porcines (**Figure 2**) (Perrat *et al.* 2021). Les souches de sangliers sont extrêmement proches d'un point de vue génomique, avec un nombre de SNP (Single Nucleotide Polymorphism) très faible (inférieur à 10), suggérant l'existence d'un seul et même clone se propageant lentement à partir du foyer primaire de 2013. On notera que les souches isolées dans la Drôme en 2019 sont regroupées dans un sous-groupe au sein du clade WB1, suggérant une augmentation de la variabilité génétique de ce clone dans le temps et/ou dans l'espace.

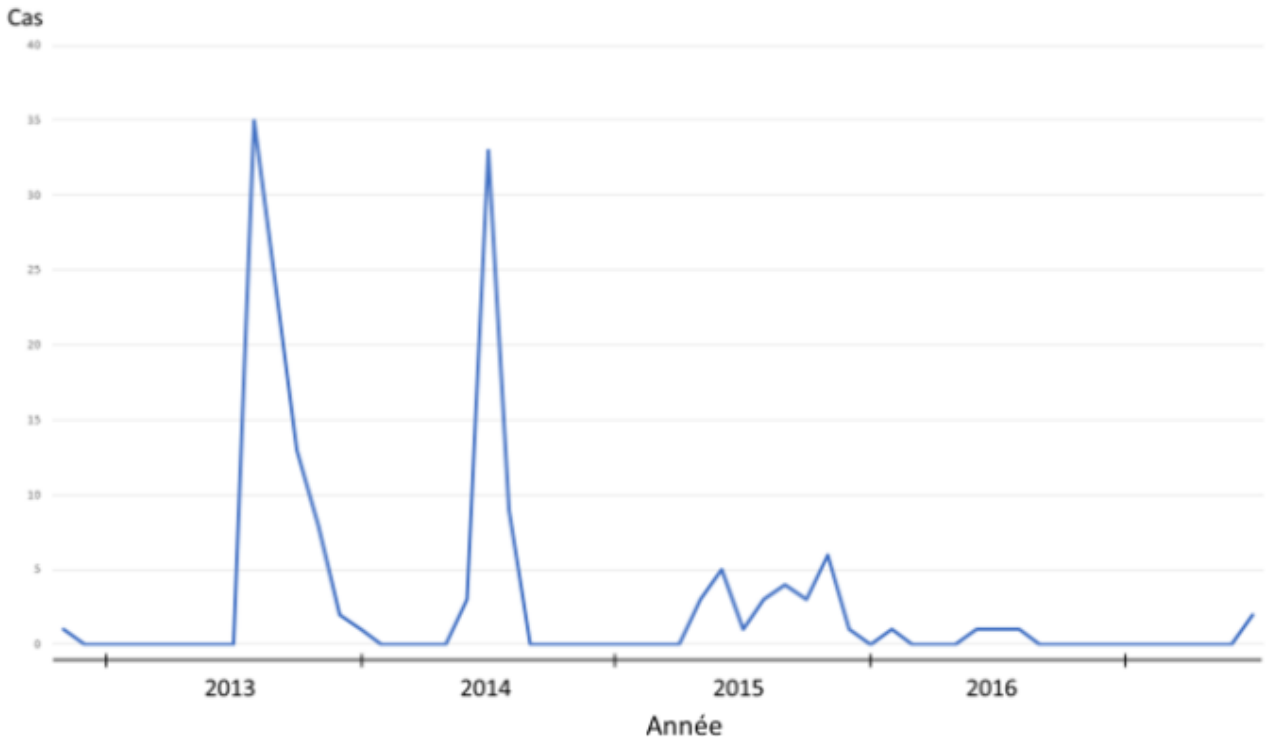

Figure 1. Evolution de la mortalité observée liée à la MO en Ardèche de 2013 à 2016.

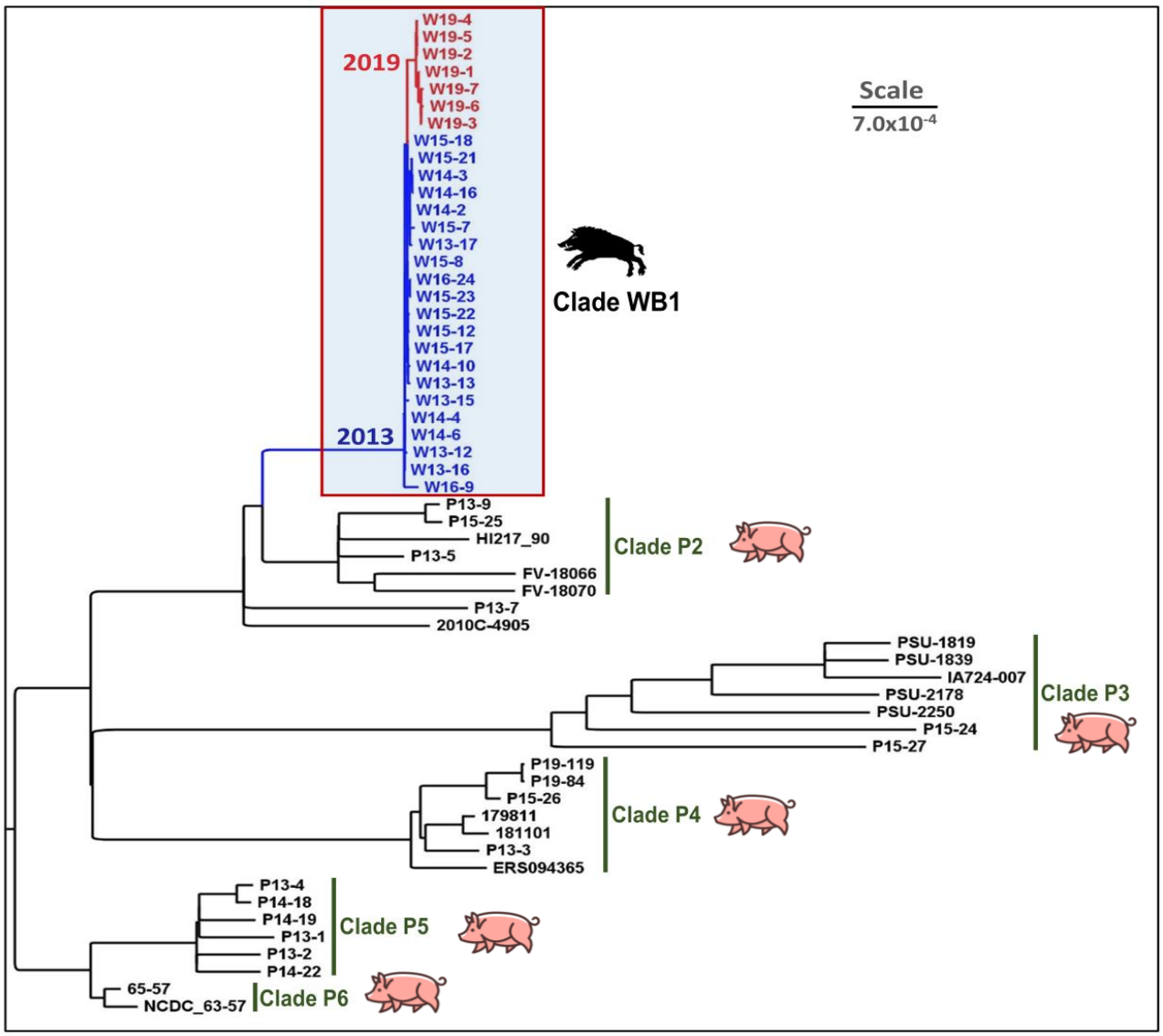

Figure 2. Arbre phylogénétique basé sur le génome cœur de souches de *E. coli* O139:K82:H1 provenant d'animaux atteints ou suspects de maladie de l'œdème. Cet arbre comprend 63 isolats, dont 28 issus de sangliers français et 30 de porcs domestiques d'origines française (n=16) ou étrangère (n=14). Le clade des souches de sangliers (WB1) est encadré et représenté dans la partie supérieure de l'arbre ; les souches de ce clade sont colorées selon l'origine et l'année d'isolement (bleu : Ardèche, 2013-2016 ; rouge : Drôme, 2019). Les clades de souches porcines sont numérotés de P2 à P6.

Un pathotype d'E. coli hybride shigatoxinogène et entérotoxinogène

L'analyse du génome des souches de *E. coli* isolées de sangliers a également permis d'identifier sur le chromosome la présence d'un prophage contenant les gènes codant la shigatoxine Stx2e, conférant ainsi à ces souches le pathotype STEC (Shiga toxin-producing *E. coli*) (**Figure 3**) (Perrat *et al.* 2021). Cette analyse a également révélé l'existence de deux plasmides (**Figure 3**). Le premier plasmide est classiquement retrouvé chez les souches de *E. coli* O139:K82:H1 porcines, et code les fimbriae (facteur d'attachement) de type F18ab impliqués dans la colonisation intestinale. Caractéristique originale, le second plasmide est rarement retrouvé chez les souches O139:K82:H1 porcines, et contient des gènes codant les entérotoxines Sta1 et Stb qui sont typiques de souches de *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC), du sérogroupe O138 ou O141 notamment, à l'origine de colibacilloses chez le porc (Fairbrother et al. 2005 ; Jardin et al. 2017). Les souches de sanglier possèdent donc un statut hybride STEC/ETEC leur conférant une virulence particulière. Par ailleurs, aucun gène de résistance aux antibiotiques n'a été détecté dans le génome de ces souches, dont la sensibilité aux antibiotiques a été confirmée à l'aide d'antibiogrammes.

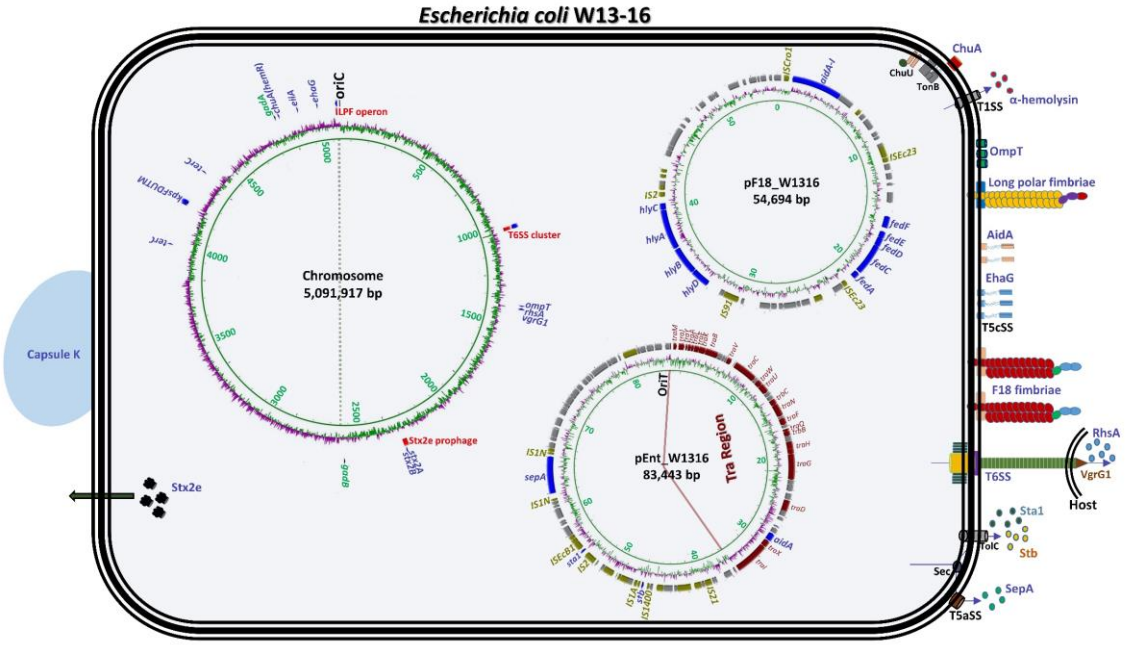

Figure 3. Résumé des principaux facteurs de virulence de la souche W13-16, représentative des souches de E. coli O139:K82:H1 responsables des épidémies de maladie de l'œdème chez les sangliers. Les facteurs de virulence sont représentés schématiquement et leurs gènes sont indiqués sur les cartes circulaires du chromosome et des deux plasmides identifiés. Les séquences d'insertion (IS) et les gènes impliqués dans le transfert conjugatif (région tra) sont également indiqués sur les cartes plasmidiques. La toxine Stx2e est codée par un phage intégré dans le chromosome, l'adhésine F18 (FedA) par le plasmide pF18_W1316 et les entérotoxines (Sta1 et Stb) par le plasmide pENT_W1316.

DISCUSSION - CONCLUSION

L'apparition et le maintien de la maladie dans les populations de sangliers est très certainement multifactorielle (Petit et al. 2020).

Cette étude a tout d'abord montré que les sangliers présents dans le sud de la France sont prédisposés génétiquement à la MO car ils possèdent l'allèle du gène FUT1 conférant une sensibilité aux *E. coli* porteurs des facteurs d'adhésion F18. Il est alors possible de voir apparaitre en France de nouveaux foyers de cette maladie chez le sanglier. On ne peut exclure cependant à ce stade que d'autres facteurs génétiques interviennent dans la sensibilité à cette maladie.

Cette étude a également permis de mettre en évidence qu'un clone hybride STEC/ETEC O139:K82:H1 était à l'origine des différentes épizooties de MO chez le sanglier en Ardèche et dans la Drôme. Ce clone n'avait jamais été décrit chez le porc et se distingue des souches STEC O139:K82:H1 porcines par la présence d'un plasmide codant des entérotoxines probablement acquis par transfert génétique horizontal. De plus, l'absence de gènes de résistance aux antibiotiques suggère que ce clone n'a été soumis à aucune pression de sélection (généralement observée lors de l'utilisation d'antibiotiques). Ainsi ces éléments suggèrent que l'apparition des cas de MO chez les sangliers n'est pas due à une contamination de ces derniers par des élevages de porcs.

Toutefois, les souches porcines domestiques utilisées comme référence provenait majoritairement du nord-ouest. On ne peut donc exclure complètement une transmission de ce clone à partir d'élevages porcins locaux dont la présence a été rapportée (67 élevages répertoriés en 2012, la majorité en plein air) ou de porcs vietnamiens féralisés, c'est à dire des animaux domestiques de compagnie retournés à l'état sauvage. Leur présence a également été rapportée à de nombreuses reprises, notamment en 2013 au milieu de la zone géographique touchée par la MO.

Si des élevages porcins ou des porcs de compagnie retournés à l'état sauvage auraient pu constituer une source du clone STEC/ETEC O139:K82:H1, ce dernier n'a été retrouvé à l'heure actuelle que chez les sangliers qui semblent donc constituer son unique hôte. Les caractéristiques génomiques particulières de ce clone (notamment son répertoire de gènes de virulence, son génome accessoire et son appartenance à un clade phylogénétique à part) pourraient lui conférer une adaptation particulière au sanglier ainsi qu'une certaine virulence, à l'origine de l'émergence de la MO au sein de la population de sangliers. Ce clone pourrait constituer une menace pour les élevages porcins en plein-air si les règles de biosécurité pour

protéger les animaux des contacts avec la faune sauvage (qu'ils soient directs ou indirects via les matières fécales) ne sont pas respectées.

En conclusion, ces travaux ont permis d'apporter un nouvel éclairage sur la flexibilité des génomes bactériens, et sur le rôle de la faune sauvage comme réservoir ou révélateur de circulation de nouveaux pathogènes. Ils illustrent également l'importance du respect des mesures de biosécurité dans les élevages de suidés, et mettent en lumière la nécessité de développer des programmes de surveillance de la faune sauvage mais aussi des compartiments domestiques (animaux de compagnie).

Remerciements

Les auteurs remercient les fédérations départementales des chasseurs de l'Ardèche et de la Drôme, ainsi que les vétérinaires praticiens, les laboratoires vétérinaires départementaux et les agents de l'office biodiversité pour leur participation à cette étude.

Références bibliographiques

Decors, A., Morvan, H., Galivel, J., Agnes, C. & Lemberger, K. 2017. Brève. Nouveau foyer de maladie de l'œdème chez le Sanglier, massif des Albères, Pyrénées-Orientales. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* n°78 : 12. https://be.anses.fr/sites/default/files/M-85_2017-05-19_MalOedeme.pdf

Decors, A., Richomme, C., Morvan, H., Botteron, C., Nicolier, A., Rambaud, F., Berny, P., Gault, G., Belli, P. & Le Potier, M.-F. 2015. Diagnostiquer un problème de santé dans la faune sauvage : exemple de la maladie de l'œdème chez le sanglier sauvage (*Sus scrofa*) en Ardèche. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* n°69 : 2-7. https://be.anses.fr/sites/default/files/BEP-mg-BE69.pdf

Fairbrother JM, Nadeau É. Colibacillosis. In: Diseases of swine. 11th edition. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell; 2019. p. 807–34.

Fairbrother JM, Nadeau E, Gyles CL. *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. Anim Health Res Rev. 2005;6:17–39. https://doi.org/10.1079/AHR2005105

Jardin A, Leneveu P, Bayon-Auboyer M-H, Morvan H, Moalic P-Y, Le Guennec J, et al. Diagnostic de la maladie de l'oedème chez le porc en France: bilan des connaissances acquises depuis 2014 par la PCR de génotypage des *Escherichia coli*. Journées de la Recherche Porcine en France. 2017;49:177–82 [cited 2021 Jul 2]. http://www.journeesrecherche-porcine.com/texte/2017/santeanimale/S01.pdf

Perrat, A., Branchu, P., Decors, A., Turci, S., Bayon-Auboyer, M.-H., Petit, G., Grosbois, V., Brugère, H., Auvray, F., Oswald, E. Wild boars as reservoir of highly virulent clone of hybrid Shiga toxigenic and enterotoxigenic *Escherichia coli* responsible for edema disease, France. Emerging Infectious Diseases 28:382-393. https://doi.org/10.3201/eid2802.211491

Petit, G., Grosbois, V., Chalvet-Monfray, K., Ducos, A., Desmecht, D., Martineau, G.-P. & Decors, A. 2020. Polymorphism of the Alpha-1-Fucosyltransferase (FUT1) Gene in Several Wild Boar (*Sus Scrofa*) populations in France and Link to Edema Disease ». *Research in Veterinary Science* 131: 78-86. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.03.025

Pour citer cet article :

Perrat A., Petit G., Chalvet-Monfray K., Martineau G-P., Etienne F., Turci S., Bayon-Auboyer M-H., Grosbois V., Branchu P., Brugère H., Oswald E., Decors A., Auvray F. 2022. « Un clone hybride d'*Escherichia coli* shigatoxinogène et entérotoxinogène responsable de la maladie de l'œdème chez le sanglier sauvage (*Sus scrofa*) » Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 95 (7) : 1-6

Le Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation est une publication conjointe de la Direction générale de l'alimentation et de l'Anses.

Directeur de publication : Roger Genet
Directeur associé : Maud Faipoux
Directrice de rédaction : Emilie Gay
Rédacteur en chef : Julien Cauchard
Rédacteurs adjoints : Hélène Amar, Jean-Philippe Amat, Céline Dupuy, Viviane Hénaux, Renaud Lailler

Comité de rédaction : Anne Brisabois, Benoit Durand, Françoise Gauchard, Guillaume Gerbier, Pauline Kooh, Marion Laurent, Sophie Le Bouquin Leneveu, Elisabeth Repérant, Céline Richomme, Jackie Tapprest, Sylvain Traynard
Secrétaire de rédaction : Isabelle Stubljar

Responsable d'édition :
Fabrice Coutureau Vicaire
Anses - www.anses.fr
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
Courriel : bulletin.epidemio@anses.fr
Dépôt légal : parution/ISSN 1769-7166