

# Etude de 91 souches d'*Escherichia coli* responsables de la maladie de l'œdème du porcelet dans le sud du Viet Nam

° N.H. NGUYEN, ° M.C. TÔ, ° M. CARLES, ° A. TRIPODI et °° G. BODIN\*

° Université d'Agriculture et Forestière (Faculté de Médecine Vétérinaire et de Sciences Animales), Thu Duc, Ho Chi Minh Ville - Viet-Nam

°° École Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 Chemin des Capelles, F-31076 Toulouse Cedex 03.

\* Auteur assurant la correspondance.

## RÉSUMÉ

La maladie de l'œdème du porcelet est causée par différents sérotypes d'*E. coli* dont la répartition varie suivant les régions. A partir de 135 nœuds lymphatiques de porcelets atteints de la maladie de l'œdème, il a été isolé 91 souches d'*E. coli*. Parmi ces souches, seules 70 ont pu être sérotypées avec les anti-sérums fournis par le Laboratoire de Développement et d'Analyses de Ploufragan. Les sérotypes identifiés sont les suivants : O138 : K81, O139 : K82, O141 : K85ab, K88. Le sérotypage est toujours indispensable pour identifier les *E. coli* responsables de la maladie de l'œdème.

Les résultats des antibiogrammes standards effectués sur les souches isolées font apparaître d'importantes résistances envers plusieurs antibiotiques, sans doute dues à une mauvaise utilisation des antibiotiques au Viet Nam. Ainsi, 100 % des souches sont résistantes à la Ceftriaxone, au Bactrim et à la Céphalexine. 71,4 % des souches sont résistantes à la Colistine. Seuls, 7,7 % des souches sont encore sensibles à la Kanamycine et 84,6 % à la Gentamycine.

Le pouvoir hémolytique n'est pas un marqueur intéressant pour la recherche des *E. coli* responsables de la maladie de l'œdème du porcelet au Viet Nam.

**MOTS-CLÉS :** maladie de l'œdème - *Escherichia coli* - sérotypes - antibiotiques - résistances - Viet Nam - porcelet.

## SUMMARY

**Study of 91 strains of *Escherichia coli* bacteria causing edema disease in piglets in South Viet Nam.** By N.H. NGUYEN, M.C. TÔ, M. CARLES, A. TRIPODI and G. BODIN.

Edema disease is caused by different serotypes of *E. coli* the repartition of which varies according to region.

From 135 lymphatic nodes of piglets with edema disease, 91 *E. coli* bacteria were isolated.

Among these bacteria, only 70 could be serotyped with antisera given by Laboratoire de Développement et d'Analyses de Ploufragan (France).

Identified serotypes were : O138 : K81, O139 : K82, O141 : K85ab, K88.

The results of standard antibiograms showed strong resistance to several antibiotics, certainly due to widespread mis use of antibiotics in Viet Nam.

Thus, 100 % of these bacteria were resistant to Ceftriaxone, Bactrim and Cephalixin. 71.4 % were resistant to Colistin, 7.7 % responded to Kanamycin and 84.6 % to Gentamycin.

Haemolysis was not a good indicator for research for *E. coli* responsible for edema disease in piglets, in Viet Nam.

**KEY-WORDS :** edema disease - *Escherichia coli* - serotypes - antibiotics - resistance - Viet Nam - piglet.

## Introduction

Comme dans tous les pays du monde, les colibacilloses sont un problème important pour les éleveurs de porcs au Viet Nam.

La maladie de l'œdème est une infection fréquente chez le porcelet au moment du sevrage. Dans plusieurs provinces du Viet Nam, se rencontre, chez les porcelets au sevrage, un syndrome nerveux associé à un œdème des paupières.

Bien que *Escherichia coli* (*E. coli*) ait, depuis longtemps, été reconnu comme l'agent étiologique de ce syndrome, l'isolement et l'identification complète de cet agent a été difficile à obtenir au Viet Nam.

C'est pourquoi notre étude est consacrée à l'isolement des *E. coli* à partir des nœuds lymphatiques mésentériques des porcelets atteints de cette maladie, puis à leur identification complète, y compris le sérotypage, et enfin à l'étude de leur sensibilité vis-à-vis de quelques antibiotiques, fréquemment utilisés en thérapeutique porcine au Viet Nam.

## Brefs rappels sur la maladie de l'œdème

La maladie de l'œdème est une infection survenant chez le porcelet, généralement une à trois semaines après le sevrage, chez les plus beaux sujets de l'élevage.

Cette infection est due à la colonisation de l'intestin par des souches pathogènes d'*E. coli* capables de produire une verotoxine très active.

Elle est caractérisée cliniquement par des troubles nerveux d'évolution aiguë et des troubles vasculaires sous la forme de lésions congestives et oedémateuses du tube digestif et de territoires sous cutanés [31, 45].

Les synonymies les plus utilisées sont: syndrome entérotoxique colibacillaire, entérototoxicose du sevrage, entérotémie colibacillaire.

### ETIOLOGIE

Les souches d'*E. coli* qui provoquent la maladie de l'œdème appartiennent à la classe des *E. coli* verotoxinogènes ou VTEC [40, 49, 51, 52]. Les sérotypes isolés varient d'un pays à l'autre. Les plus courants sont les sérotypes: O138(K81), O139(K82), O141(K85). La plupart de ces souches sont hémolytiques mais des souches non hémolytiques sont également signalées [23, 38, 28, 35]. Elles possèdent toutes des facteurs d'attachement [41] qui leur permettent de coloniser la muqueuse intestinale. Le facteur 107 (F 107) est le plus commun, avec probablement différents variants antigéniques [3, 26, 29, 43]. Mais ce qui fait la particularité de ces VTEC, c'est leur capacité à produire une exotoxine dénommée: "Edema Disease Principle" (EDP), caractérisée chez le porc comme étant la "Shiga Like Toxin IIv" (SLT-IIv) [10] ou encore une verotoxine (VT). Elle provoque des lésions de l'endothélium des vaisseaux, modifie la perméabilité vasculaire et conduit à la formation des œdèmes [1, 4, 20, 29, 35, 42, 44, 47].

La présence d'une deuxième toxine a été suggérée, il s'agirait d'une neurotoxine [17, 18, 24] qui serait responsable des troubles nerveux observés chez le porcelet. Mais les endotoxines bactériennes sont responsables du choc endotoxique et les troubles nerveux ne seraient que la conséquence de l'œdème cérébral. Toutefois, la preuve du rôle de l'œdème

dans la pathogénie des troubles du système nerveux central n'a jamais été apportée [11] (Tableau I).

Au cours de la maladie de l'œdème, les *E. coli* peuvent être isolés assez facilement des noeuds lymphatiques mésentériques mais généralement difficilement des autres organes [30].

Ces *E. coli* expriment leur pouvoir pathogène principalement au moment du sevrage des animaux [21, 22] car cette période comporte une accumulation de stress (changement d'alimentation, séparation d'avec la mère, transfert dans un autre local...), la fin de l'apport, par le lait, de substances qui, comme la lactoferrine confèrent au porcelet une protection non spécifique [3, 4, 5, 6, 7, 26, 28, 43, 47]. Ainsi, la sensibilité à la maladie de l'œdème est associée à la sensibilité des animaux au stress [3, 19, 26, 38].

### EPIDÉMIOLOGIE

La maladie de l'œdème est rencontrée partout dans le monde avec une incidence variable selon les régions et les conditions d'élevage. Elle a été décrite pour la première fois en 1938 [3, 30]. Cette maladie est toujours à l'origine de pertes économiques considérables [3, 26, 30]. C'est une infection sporadique, souvent enzootique qui survient généralement une à trois semaines après le sevrage, chez les plus beaux sujets de l'élevage. Elle n'évolue guère sur plus de deux semaines et disparaît de l'élevage aussi brutalement qu'elle est apparue. La morbidité, dans un troupeau, est extrêmement variable: bien qu'elle puisse parfois atteindre 80 % et plus, elle est souvent proche de 30 à 40 %. La mortalité se situe habituellement autour de 40 % mais atteint parfois 90 % [3, 26, 30]. L'évolution de la maladie dans un élevage est imprévisible. La prévalence des différents sérogroupes varie d'un pays à l'autre.

Au Viet Nam, la maladie de l'œdème existe, sans doute depuis longtemps [15, 33], mais aucune étude officielle ne permet de le savoir avec précision. Dans les années 1990, cette maladie s'est manifestée très gravement dans les provinces du Sud: Long An, Dong Nai, Ho Chi Minh Ville et dans le delta du Mékong..., mais malheureusement sans rapport officiel. Il semble cependant que les porcelets atteints présentaient des symptômes très caractéristiques: les porcelets étaient toujours les meilleurs de la portée, les paupières étaient enflées, des troubles nerveux étaient visibles, le cri

Séro-groupes	Principales toxines				Principales adhésines			
	TSa	TSb	TL	VT	K88	F107	F2134	F8813
O138	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+		+
O139	+/-	+/-		+	+/-	+		
O141	+/-	+/-		+	+/-	+	+	+

TABLEAU I. — Principaux sérotypes d'*E. coli* responsables de la maladie de l'œdème du porcelet et les facteurs de leur pouvoir pathogène [21].

des animaux était modifié et la mort survenait brutalement. A cette époque, des scientifiques vietnamiens proposaient plusieurs hypothèses: maladie d'Aujeszy, colibacillose... Les recherches des agents étiologiques (virus, *E. coli*) ont toutes échoués.

Selon DAO TRONG DAT (1986) [14], l'Institut Vétérinaire de Bach Mai, à Ha Noi a réussi à identifier des souches d'*E. coli* causant la maladie colibacillaire chez les porcelets dans quelques provinces du Nord. Les sérotypes identifiés sont les suivants :

- Hanoi : O141, O149, O147, O117, O8, O6
- Ha Son Binh : O141, O147, O138, O117, O8, O9
- Hai Hung : O141, O147, O117, O149, O139, O8
- Ha Bac : O141, O117, O78, O149, O139
- Hai Phong : O141, O147, O117, O115
- Thanh Hoa : O117, O141, O147, O138, O139
- Bac Thai : O147, O141, O117, O149
- Quang Ninh : O141, O138, O117, O149

Les sérotypes les plus souvent rencontrés sont : O149, O147, O141, O139, O138, O117.

Au moment où nous réalisons notre étude, il faut bien reconnaître que l'incidence de cette maladie est moindre qu'il y a quelques années.

## Matériel et méthodes

### ORIGINE DES ÉCHANTILLONS

Les prélèvements sont effectués sur des porcelets atteints de la maladie de l'œdème, vivants ou morts. Tous les animaux proviennent de deux régions du Sud du Viet Nam : Thu Duc (Ho Chi Minh Ville) et Bien Hoa (Dong Nai). Les prélèvements sont faits soit chez des éleveurs, soit à l'abattoir, soit chez des vétérinaires privés.

Les animaux de choix sont des porcelets en post-sevrage présentant, au moins, l'un des signes suivants: paupières gonflées, troubles nerveux, mort brutale.

Sur 135 animaux suspects, les noeuds lymphatiques sont prélevés. Une tranche épaisse d'une zone congestionnée de parenchyme est découpée et placée immédiatement dans un milieu de conservation et de transport (solution de glycérine à 30 %). Les prélèvements ainsi conditionnés sont placés dans un récipient thermo-isolant contenant de la glace. Dès leur arrivée au laboratoire, ces prélèvements sont placés au réfrigérateur à + 4°C, jusqu'au moment de l'ensemencement. La durée de la conservation au réfrigérateur ne doit pas excéder 24 heures.

### ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES *E. COLI*

A chaque étape de l'isolement, une recherche des bacilles à Gram négatif est effectuée.

\* **Isolement** [8, 27, 34] (figure 1)

Le protocole suivi est celui mis en oeuvre et proposé par l'Institut Pasteur de Ho Chi Minh Ville.

Un fragment de pulpe ganglionnaire est prélevé à la pipette Pasteur après cautérisation de la surface au fer rouge. Une goutte d'inoculum, ainsi obtenu, est déposée à la surface d'une boîte de Pétri contenant de la gélose à l'éosine-bleu de méthylène (gélose EMB). L'isolement est pratiqué selon la méthode classique des stries serrées et non chevauchantes. Les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Les *E. coli* donnent des colonies de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur violet sombre avec des reflets verdâtres dits en "dos de scarabée". Par transparence, ces colonies présentent un centre opaque occupant les 3/4 de leur surface. Cet aspect est très caractéristique et ne permet pas la confusion avec d'autres genres bactériens [2].

Parallèlement, une goutte d'inoculum est placée dans un milieu lactose broth, placé pendant 24 heures à l'étuve à 37°C, pour réaliser un enrichissement du prélèvement. Si le premier isolement sur milieu EMB se révèle négatif après incubation, un second isolement est mis en oeuvre, sur gélose EMB, à partir du milieu lactose broth incubé.

Lorsque les colonies d'*E. coli* sont repérées sur la gélose EMB, l'une d'entre elles est prélevée à l'anse de platine et un isolement est effectué sur boîte de Pétri contenant de la gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (gélose BCP) pour être sûr que la colonie prélevée est bien en culture pure. Sur ce milieu, les *E. coli* donnent, après 24 heures à 37°C, des colonies, en général, de couleur jaune, entourées d'un halo jaune car ils sont fréquemment lactose + [36].

\* **Caractères biochimiques** [8, 9, 28, 34]

Une colonie jaune est reprise à l'anse de platine sur la gélose BCP et ensemencée sur gélose Kligler Iron Agar (gélose KIA) qui permet de mettre en évidence les bactéries qui fermentent le glucose et le lactose après 24 heures d'incubation à 37°C. Une colonie Glucose+ et Lactose+ est alors reprise et mise en suspension dans 3 ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension sert à ensemencer une galerie BIS 14 (aimablement fournies par l'Institut de Médecine de Ho Chi Minh Ville) qui est l'équivalent des galeries API 10E. Les caractères révélés par ce type de galerie sont: fermentation du glucose, réduction des nitrates, recherche d'une b galactosidase (ONPG), recherche d'une uréase, d'une phényl alanine désaminase, utilisation du citrate, hydrolyse de l'esculine, formation d'indole, présence d'H<sub>2</sub>S, réaction au rouge de méthyle (RM), réaction de Voges-Proskauer (VP), utilisation du malonate, recherche d'une lysine décarboxylase (LDC), mobilité. Cette galerie, ensemencée, est incubée pendant 24 heures à 37°C puis révélée à l'aide des réactifs classiques fournis avec les galeries.

Enfin, à partir de la suspension précédente, une gélose ordinaire dite Nutrient Agar (NA) est ensemencée puis incubée pour permettre d'avoir un nombre suffisant de colonies pour effectuer les autres études: sérotypage, recherche du pouvoir hémolytique, mise en oeuvre de l'antibiogramme standard sur chaque souche isolée.

\* **Sérotypage** [16, 25]

Il est effectué sur les souches isolées et identifiées par la réaction d'agglutination rapide sur lame à l'aide des sérums anti O138:K81, O139:K82, O141:K85ab, K88, fournis par le

Laboratoire de Développement et d'Analyses de Ploufragan : LDA22 (France). La technique est classique et ne mérite aucun commentaire. Lorsque la réaction est positive, il apparaît, en quelques secondes, de gros agglutinats bien visibles à l'oeil nu.

\* **Recherche du pouvoir hémolytique** [35]

Elle s'effectue sur gélose au sang de mouton aimablement fournie par l'Institut Pasteur de Ho Chi Minh Ville. L'ensemencement se fait en lignes, à la surface de la gélose, à l'aide de l'anse de platine. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures. Les bactéries possédant une hémolysine sont, après culture, entourées d'un halo très net d'hémolyse.

\* **Antibiogramme standard** [8, 12]

Un milieu de Mueller-Hinton classique est coulé en boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm. Les boîtes sont conservées, au maximum 3 jours, au réfrigérateur

entre +4°C et +10°C et remises à la température du laboratoire avant l'ensemencement.

Pour réaliser l'inoculum, il faut prélever une colonie sur gélose ordinaire, la mettre en suspension dans 2 ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension est ensuite ajustée à une densité égale à celle de l'étalon 0,5 de l'échelle de McFarland par comparaison visuelle sur un fond blanc à bandes noires. Dans ces conditions, l'inoculum contient, en général, 1 à 3 x 10<sup>8</sup> bactéries par ml.

L'ensemencement de la boîte de gélose Mueller-Hinton est réalisé à l'écouvillon. Un écouvillon stérile est plongé dans la suspension précédemment réalisée, il est essoré doucement sur les parois du tube puis frotté à la surface de la gélose. Il faut tourner la boîte trois fois, de 60 degrés et entrecroiser les stries de dépôt. La surface de la gélose est séchée à l'étuve puis les disques imprégnés d'antibiotiques sont déposés à la

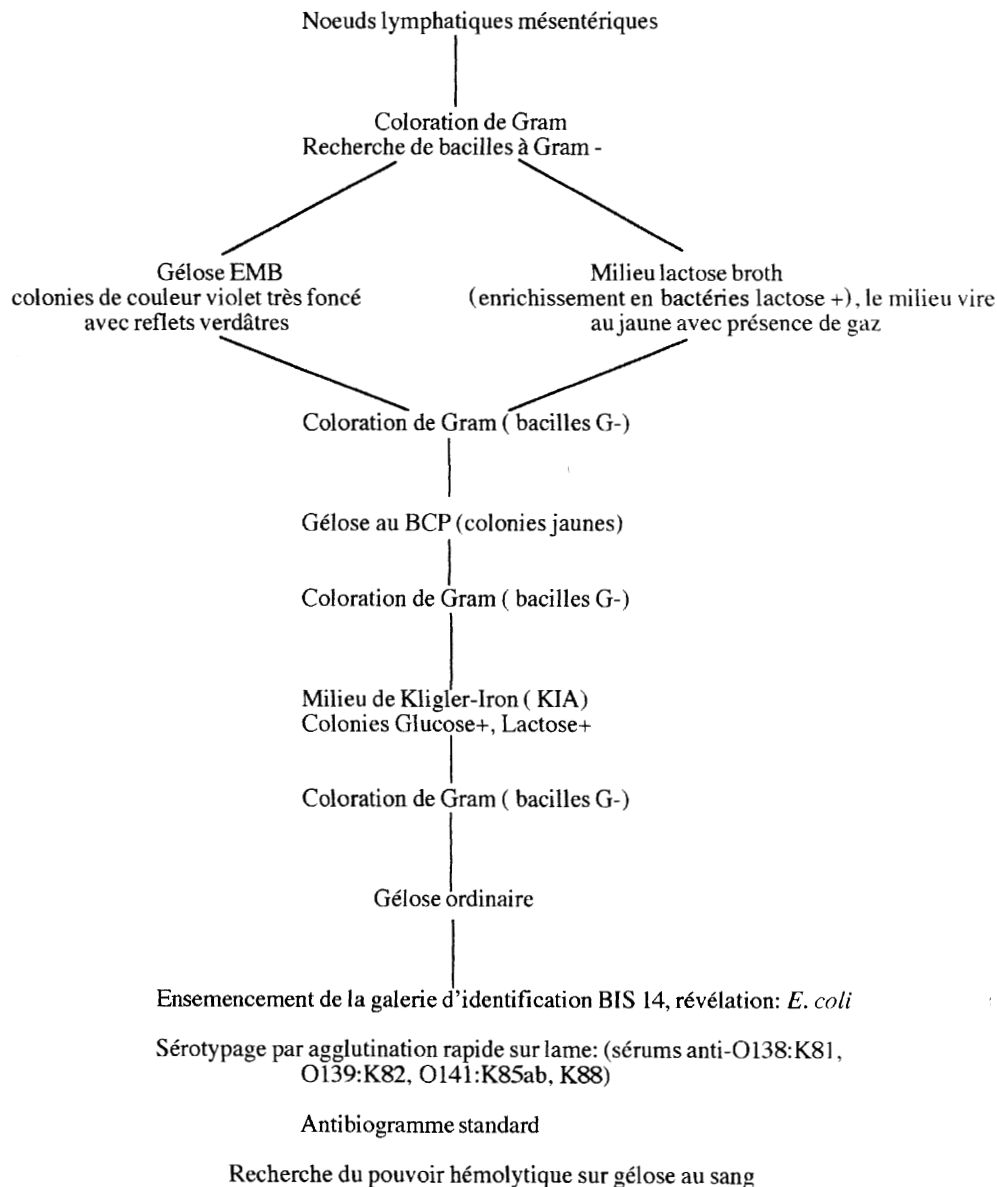


FIGURE 1. — Schéma résumé de l'isolement, de l'identification, du sérotypage et de l'antibiogramme standard mis en œuvre sur les *E. coli* à partir des nœuds lymphatiques. (Protocole proposé par l'Institut Pasteur et l'Institut de Médecine de Ho Chi Minh Ville).

surface de la gélose. Les disques d'antibiotiques utilisés sont aimablement fournis par le Département de Microbiologie de l'Institut de Médecine de Ho Chi Minh Ville qui les fabrique ainsi que les abaques de lecture. Les antibiotiques testés sont : Gentamycine, Céftriaxone, Bactrim, Céphalexine, Kanamycine, Colistine. Après 18 à 24 heures d'incubation à l'étuve à 37°C la lecture est faite de façon tout à fait classique, par mesure des diamètres d'inhibition de culture et comparaison avec les abaques fournis par le fabricant des disques d'antibiotiques.

## Résultats

Cette étude, réalisée à partir de 135 prélèvements de noeuds lymphatiques de porcelets malades ou morts de la maladie de l'œdème dans deux régions du Sud Viet Nam (Bien Hoa et Thu Duc), sur une période de trois mois, a permis d'isoler 91 souches d'*E. coli*, de les identifier sur le plan biochimique (tableaux II et III), de les sérotyper à l'aide d'anti-sérums habituellement utilisés en France (tableaux IV et V), d'établir leur profil de sensibilité et de résistance à six antibiotiques couramment employés au Viet Nam (tableaux VI et VII) et enfin de vérifier la présence ou l'absence d'hémolysines chez les bactéries isolées (tableaux VIII et IX).

Il ressort de cette étude que la maladie de l'œdème du porcelet, au Viet Nam, est bien due à certains sérotypes classiques d'*E. coli* mais il apparaît un nombre élevé de souches non sérotypables avec les sérums dont nous disposons ceci doit orienter les recherches vers le sérotypage de ces souches qui sont peut-être propres au continent asiatique. Une autre remarque doit être faite, à la suite de ces résultats : un grand nombre de souches d'*E. coli* responsables de la maladie de l'œdème ne sont pas hémolytiques, contrairement à ce qui est classiquement admis. Le dernier point important, le plus important sans doute, est la très grande fréquence des résistances aux antibiotiques qui est très inquiétante tant pour l'avenir des traitements des animaux aux antibiotiques que pour la santé de l'homme qui, inévitablement doit héberger ce type de souches et résister, à terme, aux thérapeutiques antibiotiques.

## Interprétation et discussion des résultats

— Dans les deux régions étudiées, 91 souches d'*E. coli* ont été identifiées avec les galeries Bis 14 (équivalentes des galeries API 10E) fournies par l'Institut de Médecine de Ho Chi Minh Ville, mais leur répartition varie selon le lieu de prélèvement :

\* à Bien Hoa, 43 souches d'*E. coli* ont été isolées à partir de 73 prélèvements ce qui représente 58,9 pour cent alors qu'à partir des 62 prélèvements de Thu Duc, 48 souches, soit 77,4 pour cent ont été isolées.

\* Cette différence dans les résultats peut relever de deux causes différentes difficiles à départager :

• la première, semble être la différence de qualification professionnelle des personnes qui ont choisi les échantillons et le moment où les prélèvements ont été faits : sur animal mort ou sur animal malade.

• la deuxième, semble justement être le moment du prélèvement; en effet, l'isolement d'*E. coli* a échoué très souvent à partir des prélèvements faits sur des porcelets vivants, présentant pourtant les signes caractéristiques de la maladie de l'œdème. Il faut donc privilégier, au Viet Nam, les prélèvements sur animal mort depuis peu et conservé au réfrigérateur jusqu'à l'autopsie.

— Pour ce qui concerne les caractères biochimiques des *E. coli* isolés, selon le Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, les *E. coli* sont mobiles [28], mais certains auteurs considèrent ce caractère comme variable selon les souches [34]. Dans notre étude, parmi 91 souches isolées, 11 sont immobiles, ce qui n'a, *a priori*, aucune conséquence sur leur pouvoir pathogène potentiel.

La capacité d'hydrolyser l'esculine est, elle aussi, variable [28]. Dans notre étude, seules 7 souches sont positives vis-à-vis de ce caractère.

Certains auteurs considèrent que *E. coli* est toujours LDC+ [1], d'autres considèrent ce caractère comme variable [34]. Parmi les souches isolées dans notre étude, 3 souches sont LDC-, ce caractère doit donc être considéré comme variable.

Nombre d'échantillons étudiés	Nombre d'échantillons donnant des colonies sur EMB évoquant <i>E. coli</i>	Bactéries Glu +/- Lac+ sur KIA	Nombre de bactéries ayant les caractères biochimiques de <i>E. coli</i> sur galerie BIS 14
Nombre total: 135	108	100	91
Pourcentage	80	74,07	67,40
Bien Hoa 73	55	47	43
Thu Duc 62	53	53	48

A partir de 135 noeuds lymphatiques mésentériques prélevés, ont été isolées 91 souches bactériennes présentant les caractères biochimiques de *E. coli*.

Les prélèvements originaires de Bien Hoa ont été réalisés par un vétérinaire peu expérimenté. Par contre, les prélèvements originaires de Thu Duc ont été effectués par un vétérinaire très expérimenté qui travaille depuis plusieurs années.

TABLEAU II. — Résultats des isollements des *E. coli* à partir des noeuds lymphatiques mésentériques.

N°	Caractères biochimiques	Bien Hoa		Thu Duc		Total	
		+	-	+	-	+	-
1	Fermentation du lactose	43	0	48	0	91	0
2	Fermentation du glucose	43	0	48	0	91	0
3	Réduction des nitrates	43	0	48	0	91	0
4	$\beta$ galactosidase ( ONPG )	43	0	48	0	91	0
5	uréase	43	0	48	0	91	0
6	Phénylalanine désaminase	0	43	0	48	0	91
7	Utilisation du citrate	0	43	0	48	0	91
8	Hydrolyse de l'esculine	4	39	3	45	7	84
9	Production d'indol	43	0	48	0	91	0
10	Production d'H <sub>2</sub> S	0	43	0	48	0	91
11	RM	43	0	48	0	91	0
12	VP	0	43	0	48	0	91
13	Utilisation du malonate	0	43	0	48	0	91
14	Lysine décarboxylase (LDC)	40	3	48	0	88	3
15	Mobilité	40	3	40	8	80	11

Les caractères biochimiques des souches d'*E. coli* sont tout à fait classiques.

TABLEAU III. — Caractères biochimiques des souches isolées.

Total	O138:K81	O139:K82	O141:K85ab	K88	Non sérotypables
91	2	11	39	13	21
p. 100	2,23	12,08	42,85	14,28	23,07

Le sérotype dominant est : O141:K85ab, il représente 39 souches sur 91 soit : 42,85 % de l'ensemble. Il faut noter également le nombre élevé de souches non typables avec les anti-sérums mis à notre disposition.

TABLEAU IV. — Sérotypes des souches isolées.

Sérotypes	O138:K81	O139:K82	O141:K85ab	K88	Non sérotypables
Bien Hoa 43	2	10	0	11	20
p. 100	4,6	23,2	0	25,6	47,0
Thu Duc 48	0	1	39	2	1
p. 100	0	2,1	81,2	4,2	2,1

A Bien Hoa, les sérotypes dominants sont : K88 et O139:K82. A Thu Duc, c'est le sérotype O141:K85ab qui prédomine. Les sérotypes absents sont : O141:K85ab à Bien Hoa et O138 : K81 à Thu Duc.

TABLEAU V. — Répartition des sérotypes des souches d'E. coli en fonction des régions de prélèvement.

Antibiotiques	Bien Hoa ( 43 )		Thu Duc ( 48 )		Total ( 91 )	
	S	R	S	R	S	R
Gentamycine	38	5	39	9	77 (84,6 p.100)	14 (15,4 p.100)
Céftriaxone	0	43	0	48	0	91 (100 p.100)
Bactrim	0	43	0	48	0	91 (100 p.100)
Céphalexine	0	43	0	48	0	91 (100 p.100)
Kanamycine	3	40	4	44	7 (7,7 p.100)	84 (92,3 p.100)
Colistine	21	22	5	43	26 (28,6 p.100)	65 (71,4 p.100)

S : bactéries sensibles - R : bactéries résistantes.

La plupart des souches isolées sont sensibles à la Gentamycine (84,6 %).  
100 % des souches sont résistantes à la Céftriaxone, au Bactrim et à la Céphalexine.

TABLEAU VI. — Résultats des antibiogrammes standard réalisés sur les 91 souches d'E. coli isolées.

Sérotypes	O138:K81		O139:K82		O141:K85ab		K88		Non sérotypables	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
Gen	1/2	1/2	10/11	1/11	39/39	0/39	10/13	3/13	17/21	4/21
Cx	0/2	2/2	0/11	11/11	0/39	39/39	0/13	13/13	0/21	21/21
Bac	0/2	2/2	0/11	11/11	0/39	39/39	0/13	13/13	0/21	21/21
Cep	0/2	2/2	0/11	11/11	0/39	39/39	0/13	13/13	0/21	21/21
Ka	0/2	2/2	1/11	10/11	2/39	37/39	3/13	10/13	1/21	20/21
Co	2/2	0/2	3/11	8/11	2/39	37/39	8/13	5/13	9/21	12/21

S : bactéries sensibles - R : bactéries résistantes.

Gen : Gentamycine ; Cx : Céftriaxone ; Bac : Bactrim ; Cep : Céphalexine ; Ka : Kanamycine ;  
Co : Colistine.

Les sérotypes dominants à Bien Hoa (O141:K85ab) et à Thu Duc (O139:K82;K88) sont sensibles à la Gentamycine (59/63).

TABLEAU VII. — Sensibilité et résistance des différents sérotypes aux antibiotiques.

Total	Souches hémolytiques			Souches non hémolytiques		
	BH	TD	p. 100	BH	TD	p. 100
91	13	8	21 ( 23 )	30	40	70 ( 77 )

La majorité des souches d'*E. coli* isolées sont non hémolytiques.

TABLEAU VIII. — Pouvoir hémolytique des souches d'*E. coli* isolées.

Total	Souches hémolytiques			Souches non hémolytiques		
	BH	TD	p. 100	BH	TD	p. 100
91	13	8	21 ( 23 )	30	40	70 ( 77 )

Les souches d'*E. coli*, reconnues comme responsables de la maladie de l'œdème sont habituellement hémolytiques. Dans cette étude, seulement 14 souches sur 57, soit 24,6 %, le sont et 7 souches sur 34, soit 20,6 %, considérées comme non habituellement responsables de la maladie de l'œdème possèdent également une hémolysine.

TABLEAU IX. — Pouvoir hémolytique des souches isolées, selon le sérotype.

Notre étude confirme qu'il n'existe pas, hélas pour les pays aux laboratoires encore mal équipés, de caractères biochimiques spécifiques permettant de faire le diagnostic de l'agent responsable de la maladie de l'œdème [13]. Il est absolument indispensable de pratiquer le sérotypage, ce qui est simple à faire à condition de disposer des anti-sérums spécifiques qui sont des réactifs fragiles et coûteux.

Enfin, un autre moyen est représenté par l'inoculation expérimentale des souches suspectes ou de leurs toxines, à des porcelets. Cette technique, fort intéressante au plan de la recherche est impossible à mettre en oeuvre dans la pratique courante.

— Le Laboratoire de Développement et d'Analyses de Ploufragan (LDA 22) nous a fourni les réactifs de coagglutination *E. coli* pour agglutination sur lame pour sérotyper nos souches, sérums dirigés contre les antigènes suivants: facteur d'attachement K88, O141:K85ab, O138:K81, O139:K82. Grâce à ces réactifs, nous avons réussi à sérotyper 76,93 % des souches isolées. Les sérotypes identifiés sont assez variables et le sérotype prédominant est O141:K85ab qui représente 41,85 % des souches isolées. Mais 21 souches, soit 23,07 %, n'ont pas pu être sérotypées ce qui tend à prouver que si tous les sérotypes trouvés en Europe existent aussi au Viet Nam, il est fort probable qu'il y a en Asie des sérotypes différents et peut-être spécifiques. Pour le savoir, il faudra obligatoirement, un jour ou l'autre, fabriquer des anti-sérums dirigés contre les spécificités antigéniques portées par ces souches non sérotypables isolées à Bien Hoa, à Thu Duc et dans d'autres régions. Ainsi, de nouvelles valences, plus spécifiques des élevages porcins du Viet Nam pourront être rajoutées dans les vaccins.

• Il existe une différence nette dans les sérotypes isolés selon la région de provenance des prélèvements: en effet, ainsi que le montre le tableau V, à Bien Hoa, les sérotypes dominants sont : K88 et O139:K82 et le sérotype O141:K85ab n'a pas été mis en évidence. A Thu Duc, c'est le sérotype O141:K85ab qui domine et le sérotype O138:K81 est absent. Cette observation est très importante pour le choix des souches qui doivent être incorporées dans les vaccins destinés aux élevages de porcs du Viet Nam.

— Pour ce qui concerne la sensibilité et la résistance des *E. coli* isolés aux antibiotiques les plus fréquemment employés en thérapeutique au Viet Nam, les résultats obtenus sont particulièrement intéressants car ils font apparaître de très nombreuses résistances. L'étude bibliographique [7, 32, 50] montre que, en général, 100 % des souches de colibacilles étudiées sont sensibles à la Colistine, 94,2 % sont sensibles à la Gentamycine, 75 % à la Kanamycine et 61,4 % au Bactrim. Les auteurs concluent donc que les Céphalosporines de troisième génération et les fluoroquinolones sont les plus intéressantes dans le traitement des infections colibacillaires.

Les résultats des tableaux VI et VII montrent de très nombreuses résistances:

\* 100 % des souches isolées, au cours de cette étude, sont résistantes à la Céftriaxone, au Bactrim et à la Céphalexine. Seuls, 7,7 % des souches sont encore sensibles à la Kanamycine. La Colistine, considérée comme l'un des antibiotiques les plus efficaces pour traiter les infections à *E. coli*, ne présente plus beaucoup d'efficacité vis-à-vis des souches que nous avons isolées. En effet, 71,4 % des souches isolées sont résistantes à la Colistine : en particulier, 43 souches sur 48 ( 89,6 %) isolées à partir des prélèvements effectués à Thu



Duc sont résistantes. A Bien Hoa, par contre, 21 souches sur 43 (48,8 %) sont encore sensibles à la Colistine. Cette différence de sensibilité des souches d'E. coli isolées dans les deux régions peut être expliquée par la façon différente dont les antibiotiques sont utilisés pour traiter les maladies du porc chez les éleveurs de ces deux régions. En effet, si il existe, dans la quasi totalité des élevages, un non respect des règles classiques de l'antibiothérapie, ce non respect est plus marqué dans les élevages de Thu Duc étudiés que dans ceux de Bien Hoa.

Il n'y a que la Gentamycine qui montre une efficacité, 84,6 % des souches étudiées sont encore sensibles, en particulier le sérotype O141:K85ab qui représente 42,85 % des souches isolées.

Ces résultats, inquiétants, doivent être l'occasion de sensibiliser les vétérinaires vietnamiens et d'autres pays au respect absolu des règles de l'antibioprophylaxie et de l'antibiothérapie pour limiter, voire supprimer, le plus rapidement possible, l'apparition de nouvelles résistances chez les bactéries susceptibles de contaminer les animaux mais aussi l'homme.

Enfin, la bibliographie montre que les souches d'E. coli qui possèdent le pouvoir hémolytique sont souvent considérées comme pathogènes et susceptibles de provoquer la maladie de l'œdème [4, 5]. Notre étude montre que ce pouvoir hémolytique n'existe que chez 21 des souches, soit 23 % du total des souches isolées et que la totalité des E. coli O138 et une majorité des souches O139 et O141 (soit 43 souches sur 57) ne possèdent pas ce pouvoir hémolytique. Ainsi, il apparaît que le pouvoir hémolytique n'est pas un caractère spécifique des souches d'E. coli causant la maladie de l'œdème chez les porcelets après sevrage.

En conclusion, cette étude, très modeste, représente la première de ce type réalisée au Viet Nam. Il serait utile de poursuivre cette étude à partir de prélèvements effectués dans d'autres régions du Viet Nam. Ainsi apparaîtrait, plus nettement, la répartition des sérotypes des E. coli causant la maladie de l'œdème dans notre pays. Pour atteindre ce but, il est indispensable d'envisager, assez rapidement, de fabriquer, au Viet Nam, des anti-sérums dirigés contre les spécificités antigéniques portées par les souches non sérotypables avec les sérums classiques d'origine européenne ou américaine. Cette connaissance permettrait de mettre en place des stratégies tant en ce qui concerne l'antibiothérapie que la production de vaccins [37, 46] tout à fait spécifiques de nos propres sérotypes.

## Bibliographie

1. — AARESTRUP F.M., JORSAL S.E., AHRENS P., WIUFF C. et SCHEUTZ F. : Oedema disease caused by O-rough *Escherichia coli*. *Vet. Rec.*, 1996, **139**, 15, 373.
2. — ATLAS R.M. et PARKS L.C. : *Handbook of Microbiological Media*. CRC Press, London, Tokyo, 1993.
3. — BERTSCHINGER H.U. et NIELSEN N.O. : Edema disease. In TAYLOR D.J. *Les maladies du porc*. Traduit par Cl. LAPEIRE, Maisons Alfort, Editions du Point Vétérinaire, 1981, 175 pages.
4. — BERTSCHINGER H.U. et POHLENZ J. : Bacterial colonization and morphology of the intestine in experimental oedema disease. In : NIELSEN N.C., HOGH P., BIBLE N. Proceedings of International Pig Veterinary Society, Copenhagen, June 30, July 3, 1980, p. 139.
5. — BERTSCHINGER H.U. et POHLENZ J. : Bacterial colonization and morphology of the intestine in porcine *Escherichia coli* enterotoxemia (Edema disease). *Vet. Pathol.*, 1983, **20**, 99-110.
6. — BERTSCHINGER H.U., STAMM M. et VOGELI P. : Inheritance of resistance to oedema disease in the pig : experiments with an *Escherichia coli* strain expressing fimbriae 107. *Vet. Microbiol.*, 1993, **35**, 1-2, 79-89.
7. — BERTSCHINGER H.U. : Enteric disease caused by *Escherichia coli*. *Pigs Misset*, 1996, May, 14-16.
8. — BODIN G., PELLERIN J.L. et EUZEBY J. : Travaux pratiques de Microbiologie E.N.V.Nantes, 1987, 152 p.
9. — BODIN G., EUZEBY J. et PELLERIN J.L. : Bactériologie spéciale. Travaux pratiques. E.N.V. Nantes, 1987, 123 p.
10. — BOSWORTH B.T., SAMUEL J.E., MOON H.W., O'BRIEN A.D., GORDON V.M. et WHIP, S.C. : Vaccination with genetically modified Shiga-like toxin II<sup>e</sup> prevents edema disease in swine. *Inf. Immun.*, 1996, **64**, 55-60.
11. — CLUGSTON R.E., NIELSEN N.O. et SMITH D.L.T. : Experimental edema disease of swine (*E. coli* enterotoxemia). III : Pathology and pathogenesis. *Can. J. Comp. Med.*, Jan. 1874, **38**, 34-43.
12. — COMITE de l'ANTIBIOGRAMME de la SOCIETE FRANCAISE de MICROBIOLOGIE : Recommandations n° 1, n° 2, n° 3. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 1993, **8**, 3, 156-166.
13. — CRICHTON P.B. et OLD D.C. : Biotyping of *Escherichia coli* : Methods and applications. In : *The virulence of Escherichia coli*. Special Publications of the Society of General Microbiology N° 13, London : Academic Press, 1985, chap. 11, 315-332.
14. — DAO TRONG DAT et PHAN THANH PHUONG : Benh gia suc non tap II. *Nha Xuat Ban Nong Nghiep*, 1986, 30-36.
15. — DECROUEN A.M. : Étude bibliographique des zoonoses infectieuses au Cambodge, Laos, Vietnam et Thaïlande. 169 p. Thèse Méd. Vét. Toulouse, 1997, 97-TOU 3-4084.
16. — DIAGNOSTICS PASTEUR MANUAL : 3<sup>ème</sup> ed., Paris 1987, Chap. 4, 128-130.
17. — DOBRESCU L. et VAN WIJNENDAELE F. : Immunological studies in mice with swine edema disease principle (neurotoxin). *Zbl. Vet. Med.B.*, 1979, **26**, 239-246.
18. — DOBRESCU L. : New biological effect of edema disease principle (*Escherichia coli* neurotoxin) and its use as an *in vitro* assay for this toxin. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, **1**, 44, 1, 31-34.
19. — DOUCET R. et RIAUCOURT A. : Pathologie digestive des porcelets et des porcs charcutiers. Abord pratique des principales entités actuellement observées dans les élevages hors-sol bretons. *L'Action Vétérinaire* n° 1050-1051 du 3-6-1988, 6-18.
20. — DOYLE M.P., PADHYE V.V. et DOYLE M.P. : *Foodborne bacterial pathogens*. New York, Marcel Dekker Inc., 1989.
21. — ERSKINE R.G., SOJKA J. et LLOYD M.K. : The experimental reproduction of a syndrome indistinguishable from oedema disease. *Vet. Rec.*, 1957, **69**, n° 9, 301-303.
22. — FAIRBROTHER J.M. : Enteric colibacillosis. In : LEMAN A.D., STRAW B.E., MENGELING W.L., d'ALLAIRE S., TAYLOR D.J. *Disease of swine*. 7<sup>ème</sup> ed., London : Wolfe Publishing Ltd., 1992, chap. 39, 489-497.
23. — GARABAL J.I., VAZQUEZ F., BLANCO J., BLANCO M. et GONZALEZ E.A. : Colonization antigens of enterogenic *Escherichia coli* strains isolated from piglets in Spain. *Vet. Microbiol.*, 1997, **54**, 3-4, 321-328.
24. — GREGORY D.W. : The (oedema disease) neuro-oedema toxin of haemolytic *Escherichia coli*. *Vet. Rec.*, 1960, **72**, 51, 1208-1209.
25. — GROSS R.J. et ROWE B. : Serotyping of *Escherichia coli*. In : *The virulence of Escherichia coli*. Special Publications of the Society of General Microbiology. N° 13, London, Academic Press, 1985, chap. 14, 345-359.
26. — GUILMOTO H. : Entérites porcines : prévention et traitement. *Lettre Hebdo du Vétérinaire*, 1987, spécial production porcine, supplt. au N° 109, p. 15 à 21.
27. — HOLMGREN J. : Toxins affecting intestinal transport processes. In : *The virulence of Escherichia coli*. Special Publications of the Society of General Microbiology. N° 13, London, Academic Press, 1985, chap. 6, 177-191.
28. — HOLT J.G., KRIEG N.R., SNEATH P.H.A., STALE, J.T. et WILLIAMS S.T. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. - 9<sup>e</sup> ed. - Baltimore : Williams and Wilkins, 1994, 179-234.
29. — HORST H.S. : Untersuchungen zur Atiologie der Odemkrankheit des Schweines. 79 p, Thèse Med. Vet., Berlin, 1970.
30. — IMBERECHTS H., DEPREZ P., LINTERMANS P. et BROES A. : Maladie de l'œdème du porcelet. *Rec. Med. Vet.*, N° spécial pathologie digestive du porc, 1993, **169**, 8-9, 665-672.

31. — KURTZ H.J., BERGELAND M.E. et BARNES D.M. : Pathologic changes in edema disease of swine. *Am. J. Vet. Res.*, 1969, **30**, 5, 791-806.
32. — KYRIAKIS S.C., TSILOYIANNIS V.K., VLEMMAS J., LEKKAS S., PETRIDOU E. et SARRIS K. : The efficacy of enrofloxacin in-feed medication by applying different programmes for the control of post weaning oedema disease in weaned piglets. *Zentralbl Veterinarmed (B)*, 1997, **44**, 9, 523-528.
33. — LE HUY NGO : Day manh qua trinh san xuat hang hoa nong san, nang cao kha nang canh tranh va hieu qua nong san xuan khai. (1998 - 2000 - 2010), *Tap Chi Thu Y*, 1998, **1**, 3-4.
34. — LE MINOR L. : *Escherichia coli*. In : LE MINOR L., VERON M., *Bactériologie médicale*, 2<sup>e</sup> ed., Paris, Médecine-Sciences, Flammarion, 1989, 395-406.
35. — MACKMAN N. et WILLIAMS P.H. : Detection of a hemolysin production by clinical isolates of *Escherichia coli*. In : *The virulence of Escherichia coli*. Special Publications of the Society of General Microbiology, N° 13, London, Academic Press, 1985, chap. 23, 425-427.
36. — MARCHAL N., BOURDON J.L. et RICHARD C.L. : *Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries*. Paris, Doin Editeurs, 1982, 225-226.
37. — MARIE-NELY F. : *Le point sur la vaccination anticolibacillaire du porc*. 64 p., Thèse Med. Vet. Alfort, 1996, N° 104.
38. — MARTINEAU G.P. : La maladie de l'œdème. In : *Maladies d'élevage des porcs*. Paris, Editions France Agricole, 1997, 130-133.
39. — MORRIS J.A. et SOJKA W.J. : *Escherichia coli* as a pathogen in animal. In : *The virulence of Escherichia coli*. Special Publications of the Society of General Microbiology, N° 13, London, Academic Press, 1985, chap. 3, 47-77.
40. — NATARO J.P. et KAPER J.B. : Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1998, **11**, N° 1, 142-201.
41. — PARR, S.H. et ROOKE D.M. : Adhesins and colonisation factors of *Escherichia coli*. In : *The virulence of Escherichia coli*. Special Publications of the Society of General Microbiology, N° 13, London, Academic Press, 1985, chap. 4, 79-155.
42. — POPOFF M.R. : Entérotoxines bactériennes : structure, mode d'action et approche vaccinale. *Rev. Med. Vet.*, 1996, **147**, 6, 425-438.
43. — PORTER P., KENWORTHY R., NOAKES D.E. et ALLEN W.D. : Intestinal antibody secretion in the young pig in response to oral immunisation with *Escherichia coli*. *Immunology*, 1974, **27**, 841-853.
44. — Production porcine. : *Prospective : Lettre d'information vétérinaire*. Laboratoire Pharmacia and Upjohn, 1996, N° 5, p. 5.
45. — RADOSTITS O.M., BLOOD D.C. et GAY, C.C. : *Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 8<sup>e</sup> ed., London, Bailliere Tindall, 1994, chap. 18, 724-726.
46. — RENAULT L. : Succès et échecs en matière de vaccination contre les colibacilloses. In : *Les vaccins : du concept à l'application*. Association Française de Médecine Vétérinaire Porcine. Maisons-Alfort, 18 Mai 1989, p. 59-62.
47. — SARRAZIN E. et BERTSCHINGER H.U. : Role of fimbriae F18 for actively acquired immunity against porcine enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol.*, 1997, **54**, 2, 133-144.
48. — SOJKA W.J., ERSKINE R.G. et LLOYD M.K. : Haemolytic *Escherichia coli* and "oedema disease" of pigs. *Vet. Rec.*, 1957, **69**, 9, 293-301.
49. — SUSSMAN M. : *Escherichia coli* in man and animal disease. In : *The virulence of Escherichia coli*. Special Publications of the Society of General Microbiology, N° 13, London, Academic Press, 1985, chap. 2, 7-45.
50. — TAYLOR D.J. : Les entérites colibacillaires. In : *Les infections microbiennes intestinales chez le porc*. Association Française de Médecine Vétérinaire Porcine, Maisons-Alfort, 26 Juin 1991, p. 33-41.
51. — VERNOZY-ROZAND C. et RAY-GUENIOT S. : *Escherichia coli* O157:H7 et *Escherichia coli* vérotoxique : particularités physiologiques, biochimiques, méthodes d'isolement et détection dans les aliments. *Rev. Med. Vet.*, 1997, **148**, 3, 169-178.
52. — WADDELL T.E. et GYLES C.L. : Sodium desoxycholate facilitates systemic absorption of verotoxin 2<sup>e</sup> from pig intestine. *Infect. Immun.*, 1995, **63**, 12, 4953-4956.