

Info CRIP

FACULTÉ DE MÉDECINE VÉTÉRAIRE, UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL
3200 RUE SICOTTE—SAINT-HYACINTHE—QUÉBEC—CANADA—J2S 2M2

Réalisations du CRIP

Sommaire :

- *Réalisations du CRIP*
- *Quelques découvertes marquantes des chercheurs du CRIP*

Le CRIP : pourquoi ?

Le Centre de recherche en infectiologie porcine (CRIP) a vu le jour en avril 2006, en tant que Regroupement stratégique du Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies (FQRNT). Les objectifs poursuivis par le CRIP sont les suivants : (1) développer un programme de recherche d'envergure dont les retombées économiques sont destinées en premier lieu à l'industrie porcine, secteur clé de l'économie du Québec et (2) conférer une plus-value aux efforts de recherche actuels sur les maladies infectieuses porcines, notamment par une consolidation et une capitalisation de l'expérience obtenue ces dernières années au niveau de divers regroupements (voir à ce sujet, et pour un descriptif du Centre, le [1^{er} numéro d'« Info CRIP »](http://www.crip.umontreal.ca/_ftbFiles/Info_CRIP_fra_09fév07.pdf) http://www.crip.umontreal.ca/_ftbFiles/Info_CRIP_fra_09fév07.pdf).

Quel programme de recherche ?

Le CRIP priorise une approche intégrée des maladies infectieuses porcines et met l'accent sur les interactions des systèmes de défenses de l'hôte avec les bactéries et les virus d'importance majeure pour l'industrie porcine et les risques zoonotiques associés. Ce programme s'articule autour de trois axes de recherche qui sont interconnectés : (1) l'étude de la pathogénèse bactérienne ou virale des agents infectieux importants (par exemple : *E. coli*, *S. suis*, *Pasteurellaceae*, *Salmonella*, le virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin et le circovirus), et les réactions immunitaires de l'hôte lors d'infections simples ou mixtes, (2) le diagnostic, l'épidémiologie moléculaire et l'antibiorésistance et (3) la prophylaxie anti-infectieuse, comme de nouveaux vaccins et autres alternatives aux antibiotiques.

Comment s'effectue la gestion du CRIP ?

- La gestion du CRIP s'articule autour d'un Comité directeur, dont le rôle est d'examiner et de statuer sur tous les aspects décisionnels du Regroupement. Les membres qui le constituent, outre le directeur, sont : (1) les responsables des axes de recherche, (2) deux membres de l'industrie porcine du Québec, (3) un représentant de l'industrie pharmaceutique vétérinaire, (4) un représentant de l'Association des Vétérinaires en Industrie Animale (AVIA) et (5) un représentant de l'établissement gestionnaire (Université de Montréal).
- Les affaires courantes sont administrées par le personnel du bureau de coordination, qui comprend la coordonnatrice et une technicienne en administration (bureaux 3919 et 3111 de la Faculté respectivement).
- Une politique d'attribution de bourses pour étudiants et de subventions pour des projets à risque (programme « Nouvelles initiatives »), menés en collaboration par plusieurs membres, a été élaborée et figure sur le site Web du CRIP : www.crip.umontreal.ca, qui est assorti d'un Intranet avec accès réservé aux membres.

Quelles sont les réalisations du CRIP ?

À ce jour, soulignons quelques-unes des réalisations à son actif :

- Dans un souci de diversifier et d'équilibrer les compétences au niveau du Regroupement, de nouveaux chercheurs ont été recrutés: **James W. Coulton** (microbiologie) de l'Université McGill; **Jérôme del Castillo** (pharmacologie et toxicologie vétérinaires) de l'Université de Montréal; **Mariela Segura** (immunologie) de l'Université de Montréal. À ces nouveaux venus, nous souhaitons la plus cordiale des bienvenues. Un virologue est également attendu au cours de 2008.
- Douze nouveaux projets de recherche émanant de collaborations entre divers membres du CRIP, dont six ont bénéficié du programme « Nouvelles initiatives »; de nouveaux étudiants ont été recrutés en conséquence.
- Quatorze bourses ont été attribuées à des étudiants pour présenter leurs résultats de recherche à des congrès d'envergure tels que l'ASM, la SCM, le CRWAD et le SLB/IEIIS. Le CRIP a aussi dépanné 10 étudiants en début ou en fin d'études de maîtrise ou de doctorat.
- Le 1^{er} symposium du CRIP (28 et 29 mai 2007) a couronné la recherche effectuée au cours de sa première année de fonctionnement, sous la forme de 34 présentations orales et 21 affiches présentées par les étudiants. Trois conférenciers y ont été invités : Nina Baltes de l'*University of Veterinary Medicine Hannover* (Allemagne), Michael Murtaugh de l'*University of Minnesota* (États-Unis) et Isabelle Oswald de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Toulouse (France).
- De nouvelles collaborations nationales et internationales ont été engagées par les chercheurs du CRIP (1) avec la Chine et le *Center for Disease Control and Prevention* à Pékin, pour un projet en collaboration (**Gottschalk, Segura, Brousseau et Harel**) sur *S. suis*; (2) avec le Vietnam, sous la forme d'un contrat avec l'Agence canadienne de développement international, auxquels participent entre autres les chercheurs **Quessy, Letellier et Fairbrother** et (3) avec divers laboratoires des pays membres de l'Office International des Épizooties, par l'entremise du laboratoire de référence de l'OIE pour *E. coli* (**Fairbrother**).
- Le CRIP vient d'initier la mise en place d'une banque d'outils immunologiques pour l'espèce porcine. La finalité de cette initiative est de mettre en commun une gestion adéquate de ces outils : ceux déjà existants (qu'il s'agisse de protocoles ou de réactifs) ou ceux qui seront développés notamment grâce à des fonds du CRIP. Une première démarche a déjà réuni une douzaine de participants.

Quelques découvertes marquantes des chercheurs du CRIP

Le rapport ci-après est destiné à illustrer le type de recherches et les résultats obtenus par quelques-uns des membres du CRIP. Ceux qui n'ont pas eu l'opportunité de rapporter leurs travaux cette fois-ci le feront lors d'un prochain numéro d'*Info CRIP*

AIDA-I : Un facteur de virulence retrouvé très fréquemment dans les souches d'*Escherichia coli* pathogènes isolées dans des cas cliniques de diarrhées post-sevrage ou néonatales chez le porc



Au cours de l'année 2007, des avancées importantes ont eu lieu dans le laboratoire de la Chaire de recherche du Canada sur les maladies animales d'origine bactérienne.

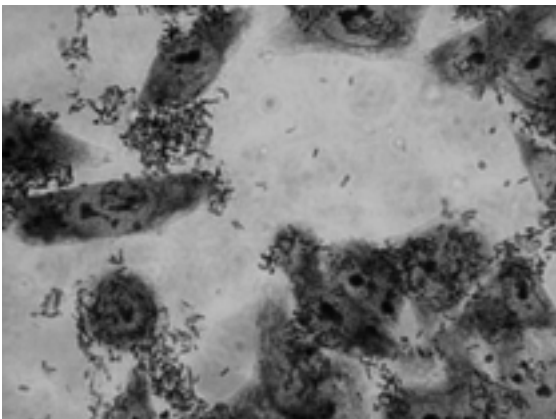


Photo ci-dessus :
Bactéries qui expriment AIDA et qui collent à des cellules épithéliales.

L'équipe du laboratoire de **Michaël Mourez** a en effet publié trois articles fondamentaux détaillant certains aspects de la biogenèse et des relations entre structure et fonction au sein de l'adhésine « auto-transporteur » impliquée dans l'adhérence diffuse (AIDA-I).

Des travaux publiés dans *Journal of Bacteriology* montrent que AIDA-I est un facteur de virulence plurifonctionnel, permettant notamment l'invasion des cellules épithéliales, l'agrégation des bactéries en amas et la formation de biofilm, en plus de son rôle d'adhésine précédemment mis en évidence. Cette diversité est en fait due à une organisation en domaine. Chaque fonctionnalité est apparemment portée par un domaine différent de la protéine, si bien qu'il est possible d'avoir des variants de ce facteur de virulence qui permettent, par exemple, une invasion plus ou moins importante sans pour autant affecter l'adhésion.

Concernant la biogenèse, des travaux publiés également dans *Journal of Bacteriology* ont montré que AIDA-I est une protéine glycosylée et que cette modification est importante pour permettre la stabilité de la protéine à la surface des bactéries. Une protéine non glycosylée ne peut causer ni l'adhésion ni l'invasion de cellules épithéliales, car sa conformation est anormale et sa stabilité altérée. L'enzyme responsable de cette modification pourrait ainsi représenter une cible thérapeutique intéressante.

Enfin, une troisième étude publiée dans *Research in Microbiology* a clarifié certains aspects de la mise en place de AIDA-I dans la membrane bactérienne. Comme le mécanisme de mise en place de AIDA-I dans la membrane est partagé par un très grand nombre de facteurs de virulence bactériens, cela représente une avancée importante pour la compréhension de la pathogenèse bactérienne en général.



Photo ci-dessus :
Un modèle
structural de
l'adhésine
AIDA-I.

Un projet subventionné par le programme de « Nouvelles initiatives » du CRIP a regroupé les laboratoires de **James W. Coulton** de l'Université McGill et de **Michaël Mourez** de l'Université de Montréal. L'objectif de cette initiative était de mieux connaître les récepteurs de l'adhésine AIDA-I. Pour la réaliser, les deux laboratoires ont mis en commun leur expertise biochimique et biophysique, notamment concernant une technique de pointe : la Résonance Plasmonique de Surface (RPS). La RPS permet de suivre et de mesurer les interactions entre macromolécules. Au cours de l'année 2007, de nombreuses expériences ont pu être menées en utilisant la RPS afin de caractériser les interactions engagées par AIDA-I. Les résultats ont ainsi pu montrer que AIDA-I interagit avec elle-même avec une forte affinité. Ce résultat n'est pas surprenant, étant donné que des bactéries exprimant AIDA-I sont capables de s'agréger, probablement grâce aux interactions entre molécules de AIDA-I.

La caractérisation de cette association a été faite et a signalé sa dépendance vis-à-vis des conditions salines, de pH ou en présence de détergent. En outre, il a été démontré que AIDA-I interagit avec une forte affinité avec des molécules contenues dans du sérum porcin ou humain et que ces molécules sont de haut poids moléculaire, ce qui nous incite à penser qu'il s'agit de complexes de glycoprotéines de la matrice extracellulaire. L'identification de ces molécules par spectrométrie de masse est en cours. La connaissance des molécules reconnues spécifiquement par AIDA-I chez le porc permettra non seulement de mieux comprendre la pathogénèse des souches d'*E. coli* qui portent ce facteur de virulence, mais aussi représentera une nouvelle cible thérapeutique pour prévenir les infections causées par ces dernières.

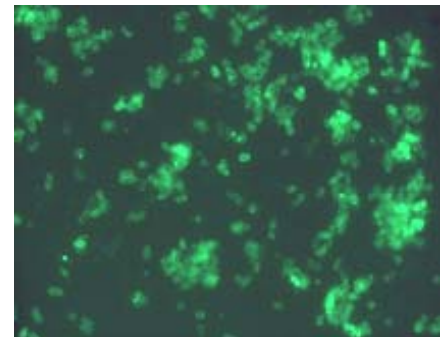


Photo ci-dessus :
Bactéries en paquets qui
expriment AIDA à leur
surface, comme le montrent
des anticorps fluorescents
dirigés contre AIDA-I.

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :
[Dr Michaël Mourez, m.mourez@umontreal.ca](mailto:m.mourez@umontreal.ca) et/ou [Dr James W. Coulton, james.coulton@mcgill.ca](mailto:james.coulton@mcgill.ca)



Les facteurs de virulence d'*Escherichia coli* : les transporteurs d'ions

Le laboratoire de **Charles Dozois** de l'INRS-Institut Armand-Frappier à Laval, en collaboration avec les laboratoires de M. Moulin-Schouleur de l'INRA, Tours, France et Roy Curtiss III de *BioDesign Institute, Arizona State University*, vient de faire paraître un article sur les transporteurs d'ions des *E. coli* pathogènes aviaires publié dans la revue *Infection & Immunity* intitulé : « Contribution of the SitABCD, MntH, and FeoB metal transporters to the virulence of an avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) O78 strain ». Les transporteurs Sit et MntH étant également produits par les souches d'*E. coli* extra-intestinales causant des infections systémiques chez les porcelets, ces transporteurs pourront jouer un rôle dans la capacité de ces souches à infecter l'espèce porcine.

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :
[Dr Charles Dozois, charles.dozois@iaf.inrs.ca](mailto:charles.dozois@iaf.inrs.ca)

La réponse inflammatoire dans un modèle de coculture de macrophages et de cellules endothéliales lors d'une stimulation par *Streptococcus suis*



Streptococcus suis, qui colonise précocement les voies respiratoires supérieures, est un pathogène majeur du porc, responsable de méningites et d'endocardites. Bien que de nombreuses études sur les facteurs de virulence potentiels aient été menées au cours des dix dernières années, les mécanismes exacts par lesquels cette bactérie envahit son hôte et migre à travers la barrière hémato-méningée sont encore imprécis. La réponse locale à *S. suis* et la libération subséquente de médiateurs de l'inflammation et de protéines sont de la plus grande importance dans la pathogénèse de la méningite. Les études antérieures de stimulation des cellules de l'hôte par *S. suis* ont fait appel à des lignées cellulaires individuelles. Les résultats émanant de ces études souffrent du fait qu'elles ne prennent pas en compte les interactions des divers types de cellules de l'hôte qui sont concernées dans une situation *in vivo* et qui peuvent être importantes durant le processus inflammatoire.

L'équipe du laboratoire de **Daniel Grenier** de la Faculté de médecine dentaire de l'Université Laval, a récemment développé un modèle *in vitro* de cocultures de macrophages et de cellules endothéliales pour étudier la réponse inflammatoire induite par *S. suis*. Des cocultures avec divers ratios de macrophages/cellules endothéliales ont été infectées avec *S. suis*. La microscopie électronique à balayage effectuée sur le modèle infecté a montré que les macrophages et les cellules endothéliales restent adhérentes et que les bactéries s'attachent plus particulièrement aux cellules endothéliales. La sécrétion de certains médiateurs de l'inflammation (Interleukine-6, prostaglandine E₂) est augmentée de manière synergique dans le modèle de cocultures, en comparaison de celle obtenue avec les lignées cellulaires prises individuellement. De plus, le ratio macrophages/cellules endothéliales influence d'une façon importante les niveaux des médiateurs de l'inflammation produits. Ces études fourniront une image plus pertinente et plus claire du processus inflammatoire qui a lieu *in vivo*.

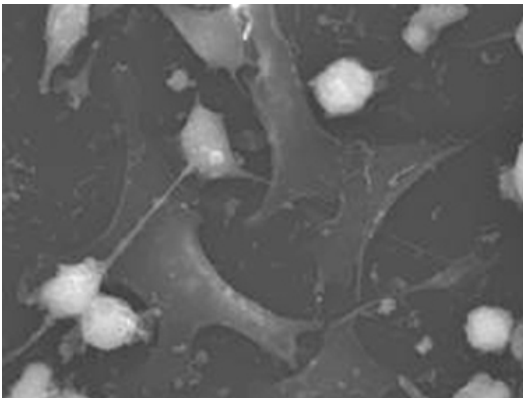


Photo ci-contre - Microscopie à balayage du modèle de coculture de macrophages et de cellules endothéliales (ratio 1:1) après infection avec *S. suis* S735 pendant 18 heures à une multiplicité d'infection (MOI) de 500. (Grossissement 1000 X).

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :
[Dr Daniel Grenier, daniel.grenier@greb.ulaval.ca](mailto:daniel.grenier@greb.ulaval.ca)



Le rôle du fimbriae Saf présent chez les souches humaines et porcines de *Salmonella* dans l'adhésion aux cellules épithéliales

L'étude sur le fimbriae Stg, en cours de réalisation par l'équipe de **France Daigle** du Département de microbiologie et immunologie de l'Université de Montréal, intervient à la suite d'une étude en 2005 qui a identifié 15 régions spécifiques au sérovar Typhi, une bactérie pathogène unique à l'homme, qui étaient absentes du sérovar Typhimurium. Une de ces régions code pour l'opéron fimbriaire Stg. Il a été montré que l'opéron Stg est fonctionnel et que sa présence augmente l'adhésion aux cellules épithéliales, mais diminue la phagocytose. L'étudiante Chantal Forest, qui a travaillé sur l'opéron Stg, a obtenu une bourse du CRIP pour initier une étude similaire sur le fimbriae Saf, dont elle vient de réaliser le clonage en vue de produire la protéine recombinante puis des anticorps spécifiques.

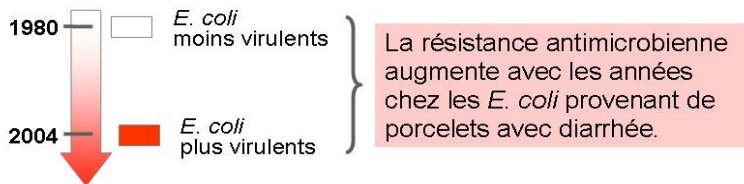
Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :
[Dre France Daigle, france.daigle@umontreal.ca](mailto:france.daigle@umontreal.ca) et/ou [Dr Charles Dozois, charles.dozois@iaf.inrs.ca](mailto:charles.dozois@iaf.inrs.ca)

La surveillance de l'antibiorésistance des souches d'*Escherichia coli* O45 (agent zoonotique) isolées à partir de porcs au Québec

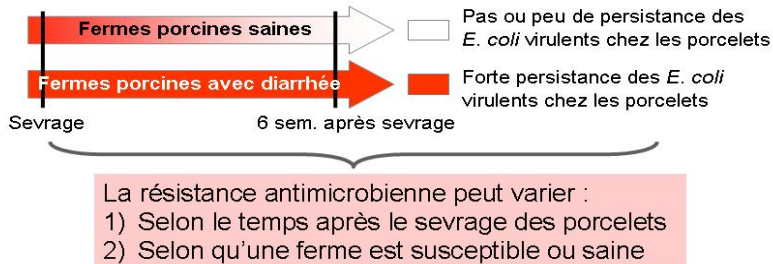


Les équipes de **John M. Fairbrother** (Directeur du Laboratoire de référence pour *Escherichia coli*, EcL), de **Josée Harel** (Directrice du Laboratoire de diagnostic moléculaire) et d'Éric Nadeau (Faculté de médecine vétérinaire) ont mené un projet de surveillance de l'antibiorésistance des souches d'*E. coli* O45 au Québec. Ce projet, échelonné sur deux années, a été réalisé dans le cadre du Programme de recherche technologique en bioalimentaire du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). Le premier objectif du projet était d'établir une distribution spatio-temporelle de gènes de virulence et d'antibiorésistance dans une collection de souches d'*E. coli* de sérotype O45 isolées à partir de porcelets diarrhéiques au cours de 25 années au Laboratoire EcL. Le second objectif consistait à valider une biopuce à ADN, développée par le Laboratoire de diagnostic moléculaire, en utilisant des souches provenant de la collection de souches du EcL. Le dernier objectif devait comparer l'évolution des facteurs de virulence, de l'antibiorésistance (concentration minimale inhibitrice) et des gènes pour l'antibiorésistance (hybridation sur colonie) chez les *E. coli* isolées de fermes avec des problèmes récurrents de diarrhée en période post-sevrage et de fermes sans historique de diarrhée à partir d'échantillons de fèces provenant de porcelets sélectionnés. Pour les deux premiers objectifs, l'analyse de la collection de 74 souches d'*E. coli* isolées de porcelets diarrhéiques entre 1980 et 2004 a démontré que l'antibiorésistance a augmenté avec les années pour la plupart des antibiotiques testés. De plus, la résistance aux antibiotiques récemment mis sur le marché est apparue rapidement. Finalement, la présence des gènes de virulence a évolué avec les années, un profil plus virulent étant prédominant dans les souches isolées plus récemment, soit en 2004. Pour le dernier objectif, dans les 5 fermes avec un historique de diarrhée post-sevrage récurrent, les *E. coli* possédant des gènes de virulence étaient présents dans les fèces des porcelets dès le sevrage et persistaient jusqu'à la fin de la période de pouponnière, soit vers 6 semaines post-sevrage. Par contre, ces mêmes *E. coli* ne persistaient pas ou peu chez les porcelets des 3 fermes sans historique de diarrhée. La résistance aux antibiotiques dont la mise en marché est plus récente a diminué avec le temps après le sevrage tandis que la résistance aux antibiotiques utilisés depuis plus longtemps est demeurée stable ou a augmenté tout au long de la période en pouponnière, suggérant une distribution plus importante des gènes de résistance associés aux antibiotiques utilisés depuis longtemps. La résistance des *E. coli* à certains antibiotiques a été plus élevée dans les fermes ayant un historique de diarrhée, tandis que le contraire a été observé pour d'autres des antibiotiques.

Objectifs 1 et 2



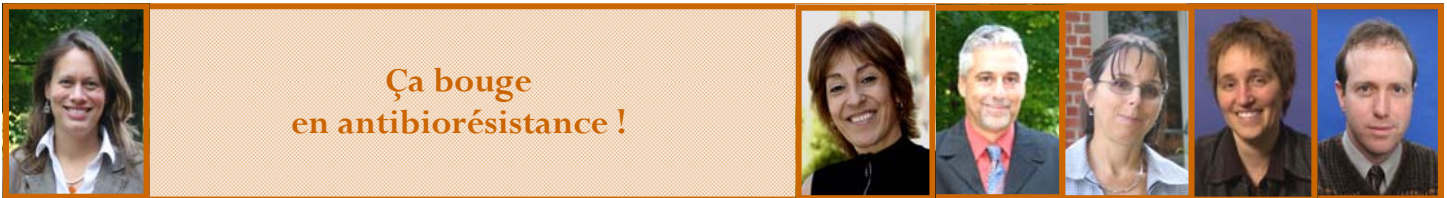
Objectif 3



Les résultats de cette importante étude, illustrés succinctement ci-contre, pourront éventuellement être utilisés afin de faciliter la mise en place de stratégies de gestion de production dans le but de diminuer l'antibiorésistance des bactéries et d'améliorer le statut de santé des fermes en production porcine au Québec.

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :

[Dr John M. Fairbrother,](mailto:john.morris.fairbrother@umontreal.ca)
john.morris.fairbrother@umontreal.ca
 et/ou [Dre Josée Harel,](mailto:josee.harel@umontreal.ca)
josee.harel@umontreal.ca



De nouveaux gènes de résistance envers la bacitracine chez la bactérie *Clostridium perfringens* ont été récemment découverts au laboratoire d'antibiorésistance de **Marie Archambault** en collaboration avec d'autres chercheurs : Drs **Harel, Letellier** et **Quessy**. L'étudiant à la maîtrise, Louis-Alexandre Jalbert, termine présentement la caractérisation de ces nouveaux gènes sous la rubrique *bcr*. La localisation plasmidique a été récemment déterminée au laboratoire et l'équipe suspecte une organisation de gènes sous forme d'opéron. La publication scientifique est en route...

L'antibiorésistance des entérocoques porcins et aviaires du Québec est également un sujet d'étude au laboratoire en collaboration avec les Drs **Harel, Letellier** et **Quessy**. C'est une étudiante au doctorat, Cindy-Love Tremblay, qui travaille sur ce sujet. Elle présentait récemment ses résultats préliminaires au congrès du CRWAD. Une bonne nouvelle pour les producteurs de porc, l'étude ne démontre aucune résistance des entérocoques à la vancomycine au Québec. Les analyses démontrent deux patrons prédominants de multirésistance et leur caractérisation génotypique est en cours.

Finalement, un nouveau thème de recherche a récemment débuté au laboratoire en collaboration avec les Drs **Batista, Gagnon, Gottschalk**, et des collaborateurs de la France (AFSSA), les Dres Kobisch et Marois; l'équipe étudie la diversité génétique des souches québécoises de *Mycoplasma hyopneumoniae* en infection simple ou mixte et caractérise leur résistance aux antibiotiques. Audrey Charlebois, étudiante à la maîtrise, travaille sur ce thème et nous sortirons bientôt des résultats... qui bougent !

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :
[Dre Marie Archambault, marie.archambault@umontreal.ca](mailto:marie.archambault@umontreal.ca)

Les alternatives à l'utilisation des antibiotiques : les probiotiques



Des travaux menés au Centre de recherche et de développement sur le bovin laitier et le porc, Agriculture et Agroalimentaire Canada, à Lennoxville, en collaboration avec l'Université de Montréal et l'Université Laval, visent à évaluer les effets de deux probiotiques : *Pediococcus acidilactici* (Pa) et *Saccharomyces cerevisiae boulardii* (Scb) sur les performances et la santé intestinale des porcelets. Les résultats ont démontré que Pa et Scb affectent différemment la flore intestinale. Chez les porcelets traités avec Pa, la diversité microbienne après le sevrage était réduite comparativement à celle avant sevrage, alors qu'elle était légèrement augmentée chez les groupes Scb et témoin. Suite à une infection à *E. coli* après le sevrage, le passage de bactéries intestinales vers les ganglions mésentériques est diminué chez les porcs traités avec Pa, Scb ou un aliment médicamenté. L'ingestion de Pa a aussi le potentiel de moduler l'établissement des lymphocytes T et la sécrétion d'anticorps dans l'intestin. D'autres travaux sont en cours pour étudier les interactions au niveau intestinal entre les probiotiques, la flore intestinale et le système immunitaire.

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :

[Dr Martin Lessard, lessardm@agr.gc.ca](mailto:lessardm@agr.gc.ca) et/ou

[Dr John M. Fairbrother, john.morris.fairbrother@umontreal.ca](mailto:john.morris.fairbrother@umontreal.ca)



De nouveaux tests moléculaires pour quantifier l'expression de cytokines et caractériser les populations bactériennes intestinales

Dans le cadre de travaux de recherche visant à évaluer le potentiel de bactéries probiotiques à prévenir des infections entériques et à améliorer la santé intestinale, des essais de PCR en temps réel ont été développés pour quantifier les niveaux d'expression de différents facteurs impliqués dans la régulation de la réponse immunitaire. Les tests PCR en temps réel qui ont été développés jusqu'à maintenant permettent de mesurer l'expression des cytokines suivantes : interleukine (IL)-1bêta, IL-2, IL-6, interféron-gamma, tumor-necrosis factor, défensine-2 et cyclooxygénase-2. D'autres tests sont en cours de développement pour doser IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, IL-12p35, IL-12p40, IL-17, IL-18, transforming growth factor-bêta, et les récepteurs toll-like. De plus, un test moléculaire permettant de détecter des polymorphismes de restriction (RFLP), le terminal-RFLP, est en développement. Cette technique permet l'analyse simultanée des populations microbiennes présentes dans un échantillon. Suite à l'isolement de l'ADN génomique microbien, des amorces PCR ciblant une région polymorphique du gène de l'ARN 16S sont utilisées pour amplifier les gènes de tous les microorganismes de l'échantillon. Une des deux amorces étant marquée avec un fluorochrome, il est possible, suite à une digestion enzymatique, d'analyser le profil microbien à l'aide d'un séquenceur à ADN. Ce test sera utilisé pour analyser les différentes communautés bactériennes dans le tractus gastrointestinal du porc et permettra de déterminer si les principales communautés bactériennes intestinales sont influencées par l'ingestion de probiotiques chez le porcelet.

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :

[Dr Martin Lessard, lessardm@agr.gc.ca](mailto:lessardm@agr.gc.ca)

L'association d'un adjuvant adéquat à un antigène protecteur est un incontournable pour le développement d'un vaccin efficace contre *Streptococcus suis*



Streptococcus suis est un pathogène important chez le porc, responsable de méningites, septicémies, arthrites, endocardites, pneumonies et de pertes économiques substantielles pour l'industrie porcine à travers le monde. C'est aussi un agent important de zoonoses pour les humains qui sont en contact avec les porcs malades ou de leurs produits, générant des maladies qui mettent la vie en danger. Divers types de vaccins sont à l'étude. À l'heure actuelle, des bactérines (commerciales ou autogènes) sont utilisées dans le champ, mais les résultats sont variables. De plus, l'absence de données sur leur innocuité a des implications au niveau de la responsabilité inhérente à leur utilisation. Des chercheurs du CRIP (**Josée Harel** et **Marcelo Gottschalk**) ont récemment identifié une protéine de surface (Sao) qui est bien conservée à travers les diverses souches de *S. suis*. De hauts titres d'anticorps sériques contre cette protéine sont retrouvés chez les porcs convalescents, suggérant que Sao est un immunogène efficace et qui est exprimé durant l'infection à *S. suis*. Ces résultats ont fait de Sao un candidat pour un vaccin sous-unitaire. Néanmoins, lors d'un premier essai d'immunisation de porcelets avec la protéine Sao recombinante combinée à l'adjuvant « huile-dans-eau » Emulsigen®, ce sont surtout des immunoglobulines G du type 1 (IgG1) qui ont été produites. Elles se sont révélées dépourvues de fonction opsono-phagocytaire (opsonisation, phagocytose et destruction bactérienne) et n'ont pas conféré de protection, même face à la souche homologue.

Par contre, dans une étude plus récente, la réponse contre la protéine Sao recombinante, mais en association avec un autre adjuvant, le Quil-A, a été évaluée. Dans ce cas précis, l'immunisation intramusculaire avec Sao provoque aussi une réponse humorale significative mais avec une production des deux sous-classes IgG1 et IgG2 d'anticorps, avec prédominance des IgG2. Dans un essai *in vitro*, ces anticorps favorisent l'activité opsono-phagocytaire létale des neutrophiles porcins à l'encontre de *S. suis*. Une infection défi avec une souche très virulente de *S. suis* donnée en aérosol, en dose suffisante pour provoquer les signes cliniques caractéristiques de l'infection par *S. suis* dans le groupe de porcs « contrôle » a été réalisée. Par rapport à ce groupe « contrôle », le groupe vacciné a montré une meilleure survie, un score inférieur de signes cliniques, et une charge bactérienne significativement moins élevée dans les échantillons de tissus prélevés post-mortem. De plus, bien que diverses souches de *S. suis* expriment des protéines Sao de tailles variables, la protéine Sao recombinante, lorsqu'elle est formulée avec un adjuvant approprié, déclenche une forte réponse d'anticorps opsonisants, qui confèrent une immunité efficace contre un « challenge » avec des souches de *S. suis* de sérotype 2 hétérologues. En conclusion, Sao est un candidat vaccinal très prometteur pour contrôler les infections causées par *S. suis*.

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :

[Dr Josée Harel, josee.harel@umontreal.ca](mailto:josee.harel@umontreal.ca) et/ou

[Dr Marcelo Gottschalk, marcelo.gottschalk@umontreal.ca](mailto:marcelo.gottschalk@umontreal.ca)

Une nouvelle méthode de production du virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (VSRRP)



Voici une découverte importante au Laboratoire des maladies infectieuses virales vétérinaires dirigé par **Carl A. Gagnon** : une nouvelle lignée cellulaire permissive pour la réplication du VSRRP (photo ci-dessous). Cette découverte, qui est le fruit de la collaboration de deux chercheurs de la Faculté de médecine vétérinaire, **Carl A. Gagnon** et **Mario Jacques**, peut paraître banale, mais il faut savoir que jusqu'à présent, une seule lignée cellulaire continue et brevetée (MA-104 et ses dérivées telles que les MARC-145) était reconnue pour permettre la réplication virale du VSRRP. Cette découverte, qui va permettre à court terme la mise en marché de nouveaux vaccins atténués et tués contre le VSRRP, fait présentement l'objet d'une demande de brevet et la commercialisation de celle-ci est réalisée en collaboration avec Gestion Univalor.

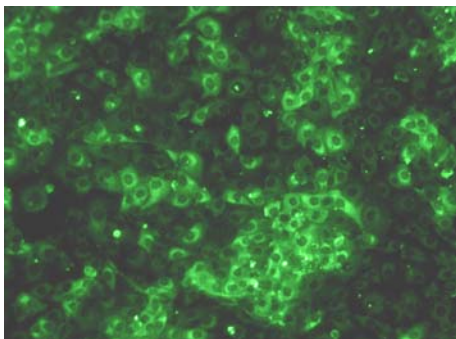


Photo ci-contre :

Détection par immunofluorescence indirecte de la protéine de la nucléo-capside du VSRRP dans la nouvelle lignée cellulaire infectée par le VSRRP à 72 heures post-infection.

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :

[Dr Carl A. Gagnon](mailto:carl.a.gagnon@umontreal.ca), carl.a.gagnon@umontreal.ca et/ou [Dr Mario Jacques](mailto:mario.jacques@umontreal.ca), mario.jacques@umontreal.ca



Un nouveau test de diagnostic et résultats épidémiologiques du circovirus porcin de type 2 (PCV-2)

Suite à la découverte d'un nouveau génotype du PCV-2 par le Dr **Carl A. Gagnon** (nommé PCV-2b) qui semble être associé à la recrudescence importante du syndrome du dépérissement post-sevrage (SDPS), il devenait important de mettre au point un test de diagnostic capable de différencier les génotypes (PCV-2a et PCV-2b). En collaboration avec **Josée Harel** (Laboratoire de diagnostic moléculaire de la FMV), un nouveau test PCR multiplex en temps réel a été mis sur pied et est maintenant offert par le Service de diagnostic pour identifier les génotypes et de plus quantifier les particules virales de PCV-2 dans les échantillons cliniques. Également, à l'aide de ce nouveau test de diagnostic, une étude épidémiologique rétrospective a été réalisée en collaboration avec le Dr **Jérôme del Castillo** (Laboratoire de pharmacologie vétérinaire de la FMV). Il a ainsi été découvert que 4.13 % des cas soumis au Laboratoire de diagnostic étaient porteurs de deux virus soit PCV-2a et PCV-2b et que 92% des cas soumis étaient uniquement infectés par le PCV-2b. De plus, les résultats indiquent que les chances d'isoler des bactéries pathogènes importantes des voies respiratoires telles que *A. pleuropneumoniae* et *S. suis* (sérotypes 1/2, 1, 2, 3, 4 et 7) sont significativement augmentées avec la charge virale de PCV-2. De plus, l'analyse des cas de SDPS soumis au Laboratoire de diagnostic a mis en évidence une différence significative quant à la sévérité des lésions macroscopiques et histologiques caractéristiques du SDPS induits par la PCV-2b comparativement au PCV-2a : les lésions étant plus fréquentes et sévères pour les cas infectés par le PCV-2b (Carman et coll., 2008, article sous presse).

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :

[Dr Carl A. Gagnon](mailto:carl.a.gagnon@umontreal.ca), carl.a.gagnon@umontreal.ca et/ou [Dre Josée Harel](mailto:josee.harel@umontreal.ca), josee.harel@umontreal.ca et/ou [Dr Jérôme del Castillo](mailto:jerome.del.castillo@umontreal.ca), jerome.del.castillo@umontreal.ca

La découverte des propriétés anti-inflammatoires des exopolysaccharides (EPS) de souches bactériennes utilisés dans les produits alimentaires ouvre la voie à une nouvelle application de ces bactéries dans des maladies gastrointestinales inflammatoires de plusieurs espèces animales



Plusieurs espèces bactériennes sécrètent des exopolysaccharides (EPS) leur conférant des propriétés rhéologiques particulières intéressant l'industrie alimentaire. Ainsi, plusieurs souches de lactobacilles et de streptocoques produisent des EPS qui diffèrent entre eux par leur composition et la structure de leur unité répétitive.

Récemment, les équipes des Dres **Lucie Lamontagne** et de **Marie-Rose Van Calsteren** ont montré que les EPS pouvaient moduler la production de cytokines par les macrophages et ainsi jouer un rôle dans le contrôle des réactions inflammatoires. L'équipe de Dre **Van Calsteren** d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, Saint-Hyacinthe, a obtenu des EPS de deux souches de *Streptococcus thermophilus* MR-1C et MTC360, et a produit, isolé et purifié les EPS de *Lactobacillus casei* type V et de *S. thermophilus* RD534. Leur structure primaire a été déterminée par des méthodes chimiques (hydrolyse, solvolysse, dérivation, modification chimique), chromatographiques (GC, HPLC, TLC) et spectroscopiques (RMN du ¹H et du ¹³C, MS). Tous les EPS ont été purifiés par filtration sur gel pour les études immunologiques.

Les membres du laboratoire de Dre **Lamontagne** de l'Université du Québec à Montréal ont alors déterminé la capacité de ces EPS à induire des cytokines proinflammatoires (TNF- α , IL-6, IL-12) ou anti-inflammatoires (IL-10) par des macrophages péritonéaux. Cette collaboration a permis de montrer que les EPS de *L. casei* type V et de *S. thermophilus* RD534 se sont avérés d'excellents activateurs de la production de TNF- α et d'IL-6 par des macrophages péritonéaux non stimulés, au contraire des EPS de *S. thermophilus* MR-1C et MTC360. Par contre, tous les EPS, et particulièrement celui de *L. casei* type V, induisaient la production d'IL-10, mais pas celle de l'IL-12 chez des macrophages non activés. Chez les macrophages activés par le lipopolysaccharide de *E. coli* (LPS), tous les EPS, et plus particulièrement ceux des souches de *S. thermophilus* MR-1C et RD534, induisaient une synergie avec le LPS dans la production d'IL-10 alors qu'ils inhibaient la production d'IL-12 par les macrophages activés. Les recherches se poursuivent maintenant avec le modèle porcin afin d'identifier le mécanisme d'action de ces EPS et des effets potentiels sur les tissus intestinaux porcins et ce, en collaboration avec le Dr Éric Nadeau de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

Si des informations supplémentaires vous intéressent, vous pouvez communiquer avec :

[Dre Lucie Lamontagne, lamontagne.lucie@uqam.ca](mailto:lamontagne.lucie@uqam.ca) et/ou

[Dre Marie-Rose Van Calsteren, vancalsteren@agr.gc.ca](mailto:vancalsteren@agr.gc.ca)



La biosécurité en regard du virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (SRRP) : que font les producteurs ?

Une vaste enquête a été entreprise par l'équipe de **Sylvie D'Allaire** afin de mieux comprendre l'épidémiologie du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (SRRP). La biosécurité constituant un élément important pour limiter l'introduction d'agents pathogènes dans les troupeaux, il était essentiel de recueillir de l'information sur les différentes mesures adoptées par les producteurs. Au total, 255 sites de production porcine dans deux régions du Québec, soit la Montérégie et l'Estrie, ont été impliqués dans le cadre de cette étude. Pour chacun des sites, plus de 45 variables concernant la biosécurité ont été évaluées. Ainsi on a appris que le livreur d'aliments pour bétail ou de semence a accès à l'intérieur des bâtiments sur respectivement 15 % et 12 % des sites; une barrière pour limiter l'accès aux bâtiments en tout temps est utilisée sur moins de 1 % des sites; et une entrée danoise ou une douche où des règles strictes sont respectées est présente sur 19 % des sites. Dans la majorité des troupeaux porcins, plusieurs autres mesures de biosécurité sont en place, telles l'accès limité aux oiseaux et autres animaux domestiques ou sauvages, et le port de bottes et de salopettes différentes dans des bâtiments distincts. Des différences ont été notées selon le type de production, c'est-à-dire selon que l'on soit naisseur ou finisseur. La connaissance des règles de biosécurité actuellement en place est essentielle pour le développement de programmes de contrôle régionaux du SRRP.

Si des informations supplémentaires vous intéressent,
vous pouvez communiquer avec :
[Dre Sylvie D'Allaire, sylvie.dallaire@umontreal.ca](mailto:sylvie.dallaire@umontreal.ca)

Visiter notre site Web au :
www.crip.umontreal.ca

On vous attend au 2^e Symposium du CRIP
organisé avec le
4^e Colloque international francophone
de microbiologie animale
du 22 au 24 septembre 2008
<http://www.microanimale.com>