

Info CRIP

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

Sommaire :

- *Les Regroupements œuvrant sur les maladies infectieuses porcines au Québec : GREMIP, RCRBPP, SIDNet et CRIP.*
- *Le Laboratoire de référence pour Escherichia coli (Ecl)*

Les Regroupements œuvrant sur les maladies infectieuses porcines au Québec

Dans ce premier numéro d'« Info CRIP », nous vous présentons brièvement les regroupements qui travaillent (ou qui ont travaillé) sur les maladies infectieuses du porc au Québec. Il y a eu tout d'abord le Groupe de recherche sur les maladies infectieuses du porc (GREMIP), que vous connaissez certainement, puis le Réseau canadien de recherche sur les bactéries pathogènes du porc (RCRBPP) qui est devenu le « Swine Infectious Disease Network (SIDNet) » et plus récemment, le Centre de recherche en infectiologie porcine (CRIP).

GRUPE DE RECHERCHE
SUR LES MALADIES
INFECTIONEUSES DU PORC



Université
de Montréal

1. Le GREMIP (www.medvet.umontreal.ca/gremip) de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal existe depuis plus de vingt ans. Ses membres s'intéressent à la pathogénie des infections bactériennes et plus récemment, virales chez le porc et dans une moindre mesure chez d'autres espèces animales. À l'origine, il s'agissait d'un groupe pluridisciplinaire avec des expertises en médecine porcine, en bactériologie, en biochimie, en immunologie et en biologie moléculaire, cellulaire et génomique.

Au cours des dernières années, le GREMIP a recruté des experts en virologie porcine afin d'élargir sa thématique de recherche aux infections virales, qui ont pris de l'ampleur (comme celles dues au virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin, au circovirus porcin et au virus de l'influenza). Pour que les recherches fondamentales aient une application directe sur l'économie, des réseaux de communication entre les différents niveaux de la recherche ont été créés. Les expertises présentes au GREMIP sont tout à fait complémentaires et placent le groupe à l'avant-garde internationale dans la lutte contre les maladies porcines. Le financement des activités de recherche provient de divers organismes subventionnaires tels que le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG), le Programme des chaires de recherche du Canada, le Fonds de recherche sur la nature et les technologies (FQRNT), le Conseil des recherches en pêche et en agroalimentaire du Québec (CORPAQ), l'industrie ainsi que l'Université de Montréal.



2. Le RCRBPP (www.medvet.umontreal.ca/reseau) a fonctionné du 1^{er} mars 2000 au 30 septembre 2005 sous la direction du Dr Mario Jacques (Université de Montréal) et la codirection du Dr Carlton Gyles (University of Guelph). Le RCRBPP a été financièrement supporté par le CRSNG, les différents regroupements provinciaux de producteurs de porcs, Elanco Santé animale, Pfizer Santé animale, Gallant Custom Laboratories Inc. et l'Institut de biotechnologie vétérinaire et alimentaire

(IBVA) de l'Université de Montréal. Les objectifs du RCRBPP étaient d'augmenter la compétitivité de l'industrie porcine du Canada, par la mise en oeuvre d'une collaboration au niveau national, des chercheurs possédant diverses expertises et travaillant à un même objectif : le contrôle des infections bactériennes chez le porc. Le RCRBPP regroupait une trentaine de chercheurs spécialistes dans le domaine des maladies bactériennes porcines et provenant de 11 institutions de recherche à travers le Canada telles que l'« Atlantic Veterinary College », la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal, l'« Ontario Veterinary College » et le « Vaccine and Infectious Disease Organization (VIDO) ».

3. Le SIDNet (www.medvet.umontreal.ca/reseau) – À la fin de la période de financement du RCRBPP, et pour mieux répondre aux problèmes de l'industrie porcine, le programme du RCRBPP a été élargi. Subventionné via un projet pilote du CRSNG et par l'Université de Montréal, sous la direction administrative du Dr Mario Jacques et la direction scientifique du Dr Marcelo Gottschalk, le SIDNet a débuté le 1^{er} octobre 2005 et se terminera le 31 mars 2007. De nouveaux thèmes ont été abordés : virologie, étude de nouvelles bactéries (*Mycoplasma* et *Haemophilus parasuis*), réponse de l'hôte et immunité, santé publique (pathogènes d'origine alimentaire et résistance aux antibiotiques) et épidémiologie vétérinaire. Le but du SIDNet a été de maintenir les liens entre les différents participants du RCRBPP et d'ajouter d'autres chercheurs du Canada. En juin 2006, une rencontre scientifique a été organisée au cours de laquelle une centaine de personnes (étudiants, chercheurs, vétérinaires, producteurs et représentants de l'industrie) étaient présentes.



4. Le CRIP (www.crip.umontreal.ca) a vu le jour en avril 2006 pour une période initiale de 6 ans. Ce centre est subventionné par le FQRNT et son but rejoint celui du SIDNet, qu'il remplace, mais au niveau provincial. Ses objectifs sont encore une fois de participer à la lutte contre les maladies infectieuses porcines et de conférer une plus-value aux activités de recherche correspondantes, en misant sur des efforts de structuration

de cette recherche. Le CRIP vise une approche multidisciplinaire (bactériologie, virologie, immunologie, épidémiologie moléculaire, etc.) et intégrée (recherche fondamentale et recherche appliquée) qui en outre va tenir compte dans son programme de recherche, de la tendance actuelle quant à la nature mixte des infections porcines : infections concomitantes ou consécutives de différents pathogènes.

L'institution d'accueil du CRIP est l'Université de Montréal, campus de la Faculté de médecine vétérinaire, et son directeur est le Dr Marcelo Gottschalk. Toutefois, puisque d'autres laboratoires du Québec, sans liens directs entre eux, travaillent aussi sur cette problématique, le CRIP veut regrouper toutes ces compétences dans son programme de recherche. En intégrant les membres du GREMIP ainsi que l'aile québécoise du SIDNet, le CRIP regroupe une quarantaine de chercheurs (actuellement 21 membres réguliers, 8 associés et 11 collaborateurs) de diverses disciplines, provenant d'une dizaine d'universités ou d'institutions de recherche : l'Université de Montréal, l'Université Laval, l'Université du Québec à Montréal, l'Université du Québec à Trois-Rivières, l'Université McGill, l'Université de Sherbrooke, l'INRS-Institut Armand-Frappier, le Collège Macdonald de l'Université McGill, le Centre de recherche et de développement sur les aliments et le Centre de recherche et de développement sur le bovin laitier et le porc d'Agriculture et Agroalimentaire Canada ainsi que l'Institut de recherche en biotechnologie du CNRC.

En résumé, **deux regroupements majeurs sont actuellement actifs au Québec** : le **GREMIP** (Université de Montréal) et le **CRIP** (FQRNT), dont le GREMIP a été l'élément initiateur. Ces deux regroupements sont dirigés par le Dr Marcelo Gottschalk, qui a plus de 20 ans d'expérience en recherche, autant dans les secteurs les plus fondamentaux qu'avec ceux appliqués. Il est important de préciser que les budgets attribués au GREMIP et au CRIP sont destinés principalement à la structuration de la recherche et au maintien des liens et des collaborations entre les chercheurs. Chaque chercheur participant doit assumer ses frais de recherche à partir de son propre budget de fonctionnement. Il s'avère donc crucial que les diverses instances (gouvernementale provinciale et fédérale, associations de producteurs, compagnies génétiques et pharmaceutiques, etc.) collaborent activement au financement spécifiquement dédié à la survie de cette recherche.

Avec le GREMIP et le CRIP, nous constituons un réseau intégré de recherche en maladies infectieuses porcines pour le Québec. Ces deux regroupements travaillent main dans la main pour soutenir la recherche en santé porcine au Québec. Ils se sont donné comme objectifs de maintenir un bon équilibre entre la recherche fondamentale et la recherche appliquée tout en rééquilibrant les forces de bactériologie et celles de virologie et d'immunologie afin de faire face aux infections porcines actuellement préoccupantes.

Le Laboratoire de référence pour *Escherichia coli*, son rôle au sein du CRIP et ses activités ciblant les maladies pathogènes du porc



Le Laboratoire d'*Escherichia coli* (ECL) a été fondé en 1981 par le Dr John Morris Fairbrother, professeur au Département de pathologie et microbiologie de la Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal. Le laboratoire s'est joint rapidement au GREMIP et au Service de diagnostic de la Faculté. En 2006, le ECL adhère au CRIP et le Dr Fairbrother en devient membre régulier. Depuis 25 ans, le ECL a acquis une expertise reconnue internationalement.

Le laboratoire compte actuellement sur une équipe permanente de 9 personnes, en plus de 3 étudiants à la maîtrise, un au doctorat et plusieurs stagiaires invités chaque année. Le ECL a été officiellement désigné **Laboratoire de référence de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) pour *Escherichia coli*** en mai 2006. La mission principale de l'OIE (www.oie.int) est de garantir la transparence de la situation des maladies animales dans le monde, incluant celles transmises à l'humain et la sécurité sanitaire des aliments, notamment en collectant, en analysant et en diffusant l'information scientifique vétérinaire, et en stimulant la solidarité internationale pour contrôler les maladies animales.

Les trois principaux mandats du ECL, soit sa nouvelle désignation de Laboratoire de référence, la recherche ainsi que le diagnostic, en font une entité globale et diversifiée pour la surveillance et le contrôle des maladies d'origine animale et l'identification des souches pathogènes d'*E. coli* émergentes.

Le Laboratoire de référence – Dans le cadre de ses nouvelles activités de laboratoire de référence, le ECL a comme principaux mandats de jouer le rôle de centre d'expertise et de standardisation pour les *E. coli*, de développer, de conserver et de distribuer aux laboratoires nationaux des produits de référence utiles au diagnostic et au contrôle des *E. coli*, de recueillir, d'analyser et de diffuser les données épizootiologiques sur les *E. coli*, et de mettre à la disposition de l'OIE des consultants experts. Plus précisément chez le porc, les priorités du ECL comme laboratoire de référence sont : 1) l'épidémiosurveillance et le contrôle des souches émergentes d'*E. coli* pathogènes et de l'ATBr chez les porcelets atteints de diarrhée; et 2) l'épidémiosurveillance, la caractérisation et le contrôle des *E. coli* zoonotiques (STEC) retrouvés dans les réservoirs d'origine animale, dont le porc, et l'identification des risques d'infection chez l'humain. Le ECL développera de plus une collection internationale de souches d'*E. coli* pathogènes et une base de données englobant les facteurs de virulence, les profils de résistance antimicrobienne, et le *pulsetyping* des *E. coli* permettant la surveillance et l'identification des pathogènes émergents et des tendances dans l'antibiorésistance (ATBr) à l'échelle mondiale.

Le site web du ECL (www.ecl-lab.ca), actuellement en restructuration, se veut un outil de référence toujours renouvelé pour les *E. coli* pathogènes au niveau international.

La recherche – La recherche est principalement orientée sur les aspects fondamentaux et appliqués de l'identification et du contrôle de maladies en production animale et en santé publique associées à *E. coli*. Le ECL cible particulièrement les maladies durant la période post-sevrage chez le porc. Cette période est associée à plusieurs maladies causées par *E. coli*, notamment la diarrhée post-sevrage (DPS) causée majoritairement par des *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) F4-positifs et des *E. coli* entéropathogènes (EPEC) causant des lésions de type attachant-effaçant.

Présentement, nos recherches se divisent en trois volets : 1) l'interaction hôte-pathogène (intestin-*E. coli*), notamment l'étude de l'immunité intestinale, des mécanismes de virulence influençant les réponses de l'hôte et le développement de modèles expérimentaux appropriés; 2) l'étude de l'impact de l'antibiothérapie sur l'évolution de la diversité des *E. coli* et de l'ATBr en période post-sevrage; et 3) le développement et l'évaluation de méthodes préventives et alternatives pour prévenir les maladies animales et zoonotiques associées aux *E. coli*.

Cinq projets spécifiques associés à la production porcine sont présentement en cours au EcL. Le premier porte sur la mise au point d'un vaccin sous-unitaire oral composé de fimbriae F4 purifiés, d'adjuvant et d'un système de livraison pour le contrôle de la diarrhée post-sevrage associée à *E. coli* chez le porc et l'évaluation de la réponse immunitaire (collaborateur : Dr Alexandru Mateescu, UQAM). Un nouveau projet évaluera l'impact des probiotiques sur l'intégrité du système immunitaire intestinal du porc, sur la prévention de maladies infectieuses, dont *E. coli*, et sur l'efficacité des vaccins mucosaux (collaborateur : Dr Martin Lessard, Agriculture et Agroalimentaire Canada; fonds FPPQ). Deux autres projets ont comme but principal d'étudier les interactions hôte-pathogène lors d'infection AEEC chez le porc, le développement de la diarrhée associée aux AEEC étant étroitement lié au statut immunitaire du porc (fonds CRSNG stratégique). Ces projets ont permis le développement de multiples méthodes immunologiques et moléculaires et des modèles cellulaires et de culture d'organe porcin (IVOC) pour caractériser les diverses réponses immunitaires du porc.

De plus, un modèle IVOC porcin développé au EcL est maintenant utilisé pour étudier la pathogénie de souches AEEC provenant de bovins et de porcs (collaborateur : Dr François Malouin, Université de Sherbrooke). Le dernier projet a comme objectif d'évaluer l'impact de l'antibiothérapie sur l'évolution des *E. coli* et de l'ATBr au cours de la pouponnière porcine. Une méthode de CMI (concentration minimale inhibitrice) en microplaque a été développée pour évaluer l'ATBr à 14 agents antimicrobiens (fonds CORPAQ).



Collaborations avec les autres chercheurs du CRIP

- Hamelin K, G Bruant, A El-Shaarawi, S Hill, TA Edge, JM Fairbrother, J Harel, C Maynard, L Masson and R Brousseau. 2006. Occurrence of virulence and antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* from different aquatic ecosystems within the St. Clair River and Detroit River areas. *Applied and Environmental Microbiology*. Article accepté.
- Leclerc S, P Boerlin, C Gyles, JD Dubreuil, M Mourez, JM Fairbrother and J Harel. Paa, originally identified in attaching and effacing *E. coli*, is also associated with enterotoxigenic *E. coli*. *Research in Microbiology*. Article accepté.
- Hamelin K, G Bruant, A El-Shaarawi, S Hill, TA Edge, S Bekal, JM Fairbrother, J Harel, C Maynard, L Masson and R Brousseau. 2006. A virulence and antimicrobial resistance DNA microarray detects a high frequency of virulence genes in *Escherichia coli* from Great Lakes recreational waters. *Applied and Environmental Microbiology*. Article accepté.
- Cardinal, F, S D'Allaire and JM Fairbrother. 2006. Feed composition in herds with or without postweaning *Escherichia coli* diarrhea in early-weaned piglets. *Journal of Swine Health and Production* 14:10-17.
- Girard F, I Batisson, G Martinez, C Breton, J Harel and JM Fairbrother. 2006. Use of virulence factor-specific egg yolk-derived immunoglobulins as a promising alternative to antibiotics for prevention of attaching and effacing *Escherichia coli* infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 46: 340-350.

Le diagnostic – Le EcL développe et maintient un service de diagnostic pour l'identification, la caractérisation et la surveillance des *E. coli* d'origine animale depuis plus de 20 années. Différentes approches classiques et moléculaires sont utilisées pour l'identification rapide des souches causatives des cas cliniques et pour l'identification de souches émergentes au Québec, notamment en production porcine, bovine et aviaire. Vous trouverez à la page suivante un bref aperçu du nombre de souches testées et des virotypes d'*E. coli* identifiés chez le porc en 2006 au Laboratoire EcL (Tableaux 1 et 2).

Tableau 1. Nombre de cas et de tests de virotypage effectués au Laboratoire EcL chez le porc en 2006

Source de l'échantillon	Nombre (% selon la source de l'échantillon)			Nombre (% des souches <i>E. coli</i> isolées)		
	Cas cliniques	Tissus ou animal	<i>E. coli</i> isolées	Souches virotypées par sondes* ¹	Souches virotypées par PCR* ²	Souches conservées
Intestins et fèces	307 (90)	469 (93)	970 (95)	460 (47)	510 (53)	170 (18)
Extraintestinal	13 (4)	14 (3)	20 (2)	8 (40)	12 (60)	8 (40)
Inconnu (souche pré-isolée)	20 (6)	20 (4)	34 (3)	7 (21)	27 (79)	7 (21)
Total	340	503	1024	475 (46)	549 (54)	185 (18)

*1 : Testées par sondes génétiques pour 20 facteurs de virulence : F4, F18, F5, F6, F17, F41, Eae, fimbriae P, Paa, AFA, AIDA, LT, STa, STb, Stx1, Stx2, CNF, EAST1, Aero, Tsh

*2 : Testées par PCR pour l'un ou l'autre ou une combinaison des facteurs de virulence suivants : F4, STa, STb, LT, Eae, Stx1, Stx2, CNF, P, AIDA

Tableau 2. Virotypes détectés pour les *E. coli* isolés à partir des bouillons d'enrichissement d'échantillons intestinaux positifs pour F4, STa, STb, LT, Eae, Stx1, Stx2, CNF, et/ou P

Virotypes	Nombre de souches* ¹ (% des virotypes intestinaux)
Total F4-positifs* ²	195 (45)
Total F18-positifs* ³	31 (7)
Total Eae-positifs* ⁴	63 (15)
F4:STb:LT:EAST1:Paa	104 (24)
F4:STb:LT:EAST1	50 (11)
STb:LT:AIDA	44 (10)
Eae:EAST1:AERO:Tsh:Paa	30 (7)
STa:STb	29 (7)
F4:STa:STb:LT:EAST1:Paa	25 (6)
F18:STa:STb:LT	12 (3)
F5:STa:Paa	12 (3)
Eae (avec ou sans EAST1, AIDA, AERO ou P)	12 (3)
STb:LT:EAST1:Paa (avec ou sans AERO)	11 (3)
Eae:Paa (avec ou sans EAST1)	11 (3)
Total	432

*1 : Seulement les virotypes ayant été isolés plus de 10 fois sont présentés dans le tableau. Les virotypes isolés moins de 10 fois sont inclus dans le total

*2 : Virotypes F4-positifs observés à moins de 10 fois : F4:STb:LT:Paa (7), F4:STb:LT (4), F4:STa:STb:LT:EAST1 (3), F4:STa:STb (2)

*3 : Virotypes F18-positifs observés à moins de 10 fois : F18:Paa:E1 (5), F18:STa:STb (avec ou sans AERO);3), F18:AIDA:STa:STb:Stx2:EAST1 (3), F18:AIDA (3), F18:AIDA:Stx2 (2), F18:Paa:AIDA:Stx2 (2), F18:AIDA:Stx1 (1)

*4 : Virotypes Eae-positifs observés à moins de 10 fois : Eae:EAST1:AERO:Tsh (4), Eae (3), Eae:AERO: Tsh (3)