

Amélioration des services de génomique en infectiologie animale et de la banque de données centralisées des séquences québécoises du virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (BCSQ)

Carl A. Gagnon, Christian Lalonde

No de projet : IA116547

Durée: 06/2016 – 08/2018

FAITS SAILLANTS

La maladie animale la plus importante au niveau mondial, en termes de pertes économiques, pour l'industrie porcine, est le syndrome reproducteur et respiratoire porcin SRRP dont les pertes économiques canadiennes sont estimées à 150 millions\$/année. Plusieurs types/génotypes du virus SRRP (VSRRP) existent et conséquemment, la virulence des souches est variable.

Dans les faits, le VSRRP est génétiquement très variable. Pour aider au contrôle du VSRRP, des outils épidémiologiques moléculaires ont été développés pour comprendre les liens épidémiologiques des souches virales du VSRRP telles que: l'origine d'une éclosion du VSRRP, sa proximité génétique avec les souches vaccinales pour en estimer leur efficacité, etc.

Ces outils sont abondamment utilisés par la filière porcine. L'un de ces outils est la Banque de données centralisées des séquences québécoises du VSRRP (BCSQ) dont le Service de diagnostic de la FMV est le dépositaire. La BCSQ contient toutes les séquences du gène ORF5 du VSRRP qui ont été obtenues au Québec depuis 2010 ($n > 4000$). Le gène ORF5 du VSRRP a été sélectionné pour le classement des souches car il est hypervariable et code pour une protéine (la GP5) qui induit la synthèse d'anticorps neutralisants.

Cependant, l'ORF5 est composé de 603 nucléotides et cela représente seulement 4% du génome viral. Par ailleurs, il a été démontré que la pathogénicité des souches virales de VSRRP est multigénique et par conséquent, elle est non seulement déterminée par l'ORF5, mais par d'autres régions du génome viral dont certaines sont plus variables que l'ORF5. De plus, deux souches virales du VSRRP peuvent échanger du matériel génétique (phénomène connu sous le nom de recombinaison) et former des virus génétiquement différents.

Le phénomène de recombinaison a été rapporté chez le VSRRP *in vitro* et *in vivo* et peu provoquer des erreurs des classifications des souches selon la méthode de génotypage ORF5, mais l'incidence réelle de ce phénomène est inconnue. Ainsi, la méthodologie génomique qui est présentement utilisée (c.-à-d. génotypage de l'ORF5) peut provoquer des erreurs de classification des souches virales du VSRRP et donc d'interventions. Nous croyons que ces déficiences peuvent être corrigées grâce à la technologie de séquençage à haut débit (SHD) et l'obtention du génome entier du VSRRP.

OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

1) Mise en place du nouveau Laboratoire de séquençage à haut débit vétérinaire (LSHDV) du Service de diagnostic de la FMV (initiative structurante qui n'est pas financée ce projet InnovAction). **2)** Améliorer la Banque de données centralisées des séquences québécoises du

VSRRP (BCSQ) avec l'ajout de séquences entières du génome viral du VSRRP. **3)** Classer les souches virales de VSRRP à partir de leur génome viral complet. **4)** Comparer les résultats de classification qui ont été obtenus avec le génome viral entier par rapport à ceux obtenus avec la méthode usuelle de génotypage du gène ORF5.

La technologie de SHD qui a été mise en place dans le LSHDV est celle de la compagnie Illumina (appareillage: MiSeq). L'efficacité de diverses méthodes de purification du génome viral du VSRRP à partir d'échantillons cliniques et de préparation des échantillons pour réaliser le SHD ont été testés. Les diverses analyses bio-informatiques ont été réalisées à l'aide du logiciel CLC Genomic Workbench (Qiagen).

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE

La charge virale du VSRRP peut être faible dans les échantillons cliniques. Ainsi, la méthode développée de séquençage à haut débit du génome entier du VSRRP à partir d'échantillons cliniques peut être utilisée de routine avec une bonne efficacité et ce, même à partir d'échantillons cliniques dont la charge virale de VSRRP est faible.

Les données de séquençage à haut débit (SHD) et leurs analyses bio-informatiques **améliorent, dans 12.5% des cas, les conclusions génomiques des cas cliniques de VSRRP** comparativement à la méthode traditionnelle de surveillance par génotypage du gène ORF5 du VSRRP. De manière plus précise, le SHD a permis de démontrer: **1)** que 5.56% des cas étaient infectés avec deux virus différents de VSRRP simultanément, **2)** que 6.98% des cas étaient infectés par des virus VSRRP recombinants et **3)** que ces virus recombinants pouvaient être classés comme étant des souches de type vaccinales alors que celles-ci sont en réalité très différentes des souches vaccinales. Cependant, il faut garder en mémoire que la réalisation du SHD demeure une méthode plus dispendieuse et significativement plus longue à réaliser comparativement à la méthode de génotypage du gène ORF5 du VSRRP.

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER

La mise en place du nouveau Laboratoire de séquençage à haut débit vétérinaire (LSHDV) du Service de diagnostic de la Faculté de médecine vétérinaire a un impact important dans le développement de nouveaux projets de recherche et la mise sur pied de nouvelles collaborations avec différentes institutions, incluant le MAPAQ, en plus de promouvoir la surveillance des maladies infectieuses animales et la santé animale au Québec.

Depuis sa mise sur pied, le LSHDV a été impliqué dans plusieurs projets comme par exemple: l'étude de la pathogenèse du virus de la laryngotrachéite infectieuse aviaire en collaboration avec un chercheur de l'Université de Calgary, développer des alternatives à l'usage des antibiotiques (bactériophages) avec un chercheur de l'INRS Institut-Armand Frappier, l'identification précise de certaines bactéries en collaboration avec les laboratoires de diagnostic de santé animale du MAPAQ, la mise en place d'une banque de données des souches virales québécoises des réovirus aviaires pour améliorer la surveillance de ce virus problématique pour l'industrie aviaire québécoise, etc.

Cependant, plus spécifiquement, ce projet a permis d'obtenir des données importantes sur les souches du VSRRP qui se retrouvent au Québec, a permis de donner des informations cruciales aux vétérinaires praticiens pour certains cas cliniques inhabituels du VSRRP, et a permis d'expliquer des échecs d'efficacité vaccinale et l'émergence de souches virales plus virulentes.

Nous allons poursuivre le séquençage des génomes entiers du VSRRP pour améliorer notre banque de données. Avec la consolidation de notre banque de données du VSRRP et la réalisation de nouvelles analyses de bio-informatique, nous prévoyons soumettre un manuscrit scientifique pour publication en 2019.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Nom du responsable du projet: Carl A. Gagnon
Téléphone: 450-773-8521 poste 8681
Courriel: carl.a.gagnon@umontreal.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce au soutien financier du Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre « Cultivons l'avenir » conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada.

De plus, la nouvelle infrastructure de Séquençage à haut débit a été mise en place grâce aux investissements qui ont été réalisés par le Laboratoire de diagnostic moléculaire du Service de diagnostic de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal