

DÉVELOPPEMENT DE STRATÉGIES DE CONTRÔLE DE LA DIARRHÉE À ESCHERICHIA COLI CHEZ LE PORC

M. de Lagarde, G. Vanier, G. Desmarais, J. Arsenault, J. M. Fairbrother

Projet : IA116645

Durée : 05/2016 – 12/2019

FAITS SAILLANTS

- Nous avons identifié plusieurs clones potentiellement « à haut risque » qui circulent dans la population de ETEC: F4 causant de la diarrhée chez le porc.
- Le clone le plus important est représenté par des isolats majoritairement ETEC: F4 qui possèdent les gènes pour les toxines STa, STb et LT. Tous les isolats sont O149, du ST100 (dans la classification de Warwick), non susceptibles à l'enrofloxacin du fait de deux mutations chromosomiques, mais aussi multirésistant puisque résistant à l'ampicilline et à la tétracycline.
La présence de gènes de ESBL/AmpC (*bla_{CTX-M-1}* et *bla_{CMY-2}*) dans certains isolats de ce clone est particulièrement inquiétante du fait leur forte capacité à se disséminer au sein de la population porcine.
La présence de plusieurs plasmides épidémiques portés par ce clone le rend particulièrement efficace pour la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques.
Nous n'avons pas pu mettre en évidence de facteurs de risque de dissémination de ce clone même si certains facteurs tels que la taille de la ferme (le nombre de bâtiments) et le traitement avec de l'enrofloxacin en maternité approchait la significativité.
- Au moins un autre clone, représenté par des isolats ETEC: F4 possédant les gènes pour les toxines STa et STb semble prendre de l'importance depuis 2017. Ces isolats sont du sérotype O23 et du ST772. Ils sont tous multirésistants (puisque'ils présentent de la résistance à la tétracycline, aux aminoglycosides et au triméthoprime sulfamides) et de plus $\frac{3}{4}$ des isolats présentent de la non-susceptibilité aux phénicolés.

OBJECTIF ET MÉTHODOLOGIE

Objectifs : Développer des stratégies de contrôle de *E. coli* causant de la diarrhée chez les porcs en maternité et en pouponnière au Québec depuis 2014.

1/ Nous avons colligé et analysé les données cliniques d'*E. coli* entérotoxigénique (ETEC) reçues au laboratoire Ecl entre 2013 et 2016 dans l'espèce porcine. Puis nous avons examiné par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) environ 300 isolats ETEC : F4 afin de déterminer un lien phylogénétique entre les isolats. Ensuite, nous avons caractérisé 180 isolats qui faisaient partie des complexes clonaux d'intérêt grâce au séquençage du génome complet.

2/ Nous avons essayé de déterminer les facteurs de risques associés à la présence des isolats appartenant aux lignées clonales d'intérêt dans les élevages. Nous avons sélectionné 34 fermes sur lesquelles avaient été isolés des clones d'intérêt et 14 fermes contrôles, dans lesquelles nous avons isolé un ETEC :F4 n'appartenant pas au clone. Nous avons élaboré un questionnaire administré aux vétérinaires de ces fermes. Les données ont été analysées par régression logistique.

RETOMBÉES SIGNIFICATIVES POUR L'INDUSTRIE

D'après les données récoltées grâce à la base de données APZEC, le pathotype ETEC :F4 est largement prédominant tout au long notre période d'étude (2008-2016). En 2014 on a assisté à une augmentation importante du nombre de ETEC :F4 :LT :STa :STb par rapport aux ETEC :F4 :LT :STb.

La majorité des ETEC :F4 :LT :STa :STb sont non susceptibles à l'enrofloxacin, même si en 2016 près de la moitié des ETEC :F4 :LT :STb présentent aussi cette non-susceptibilité.

On distingue 10 clusters différents d'isolats en utilisant la technique phylogénétique très discriminante de « core genome MLST » à la suite du séquençage des génomes complets (Figure A). Le cluster rouge est composé de 78 isolats très proches sur le plan phylogénétique. Tous ces isolats sont du sérotype O149, du Séquence Type (ST) 100 (Warwick), majoritairement des ETEC :F4 :LT :ST :STb (même si certains sont des ETEC :F4 :LT :STb et d'autres des ETEC :F4 :STa :STb). Ils sont non susceptibles à l'enrofloxacin par l'acquisition des deux mutations des gènes *parC* S80I et *gyrA* S83L qui sont déjà décrites dans la littérature (les isolats appartenant aux autres clusters ne possèdent pas ces deux mutations). De plus, ces isolats sont majoritairement résistants à la tétracycline et à l'ampicilline (données non montrées dans l'arbre) par la possession des gènes *tetA* et *bla_{TEM-1B}* respectivement. Ces isolats ont été isolés récemment, à partir de 2013, et possèdent des plasmides épidémiques, en particulier des plasmides IncFII, portant probablement eux-mêmes des gènes de résistance aux antibiotiques.

Le cluster violet est composé de 6 isolats également très proches phylogénétiquement. Tous ces isolats sont du sérotype O23, du ST772, des ETEC :F4 :STa :STb, multirésistants (MDR), étant non susceptibles aux aminoglycosides, triméthoprim sulfamides et tétracycline. Ces isolats ont été isolés dans les années très récentes, à partir de 2016, et possèdent de plasmides épidémiques, tels que IncFIB, portant eux-mêmes, probablement, des gènes de résistance aux antibiotiques.

Grâce à cet arbre, nous avons donc clairement démontré que les isolats ETEC :F4 non susceptibles à l'enrofloxacin circulant dans la population porcine du Québec appartiennent tous à un clone (rouge). Cet arbre suggère fortement que l'acquisition des deux mutations *parC* et *gyrA* aurait conféré à un premier isolat un avantage évolutif par rapport aux autres et que celui-ci aurait pu se multiplier et se disséminer à travers la population de ETEC :F4 pathogènes dans l'espèce porcine au Québec dans les dernières années.

Si l'on se base sur les critères définis par Mathers en 2015, ce clone, bien que ne répondant pas à tous les critères pour être classé « à haut risque », en a déjà plusieurs caractéristiques. En effet, tous les isolats (sauf les deux plus anciens) appartenant au clone sont MDR, puisqu'ils sont au moins non susceptibles à la tétracycline et à l'ampicilline en plus de leur non-susceptibilité à l'enrofloxacin). De plus, ils se disséminent à travers la population porcine de manière efficace. En revanche, à notre connaissance, ils n'ont pas encore une distribution mondiale, et leur capacité à coloniser l'hôte pour une longue période n'est pas connue. D'autre part, les infections dont ils sont responsables ne sont pas récurrentes, bien que ce dernier critère concerne la médecine humaine et devrait peut-être être révisé dans un contexte vétérinaire puisqu'il n'est pas rare que les porcs atteints de maladie trop sévère ne soient pas traités pour des raisons économiques.

Nous avons également démontré qu'il existe potentiellement au moins un autre clone MDR circulant dans la population porcine pouvant représenter un défi en matière de traitement.

L'étude des facteurs de dissémination du clone n'a pas pu mettre en évidence de facteurs significatifs, même si certains facteurs tels que la taille de la ferme (le nombre de bâtiments) et le traitement avec de l'enrofloxacin en maternité approchait la significativité. Pour l'instant, nous ne sommes donc pas en mesure d'apporter des stratégies de lutte contre les clones en matière de biosécurité et de gestion des fermes.

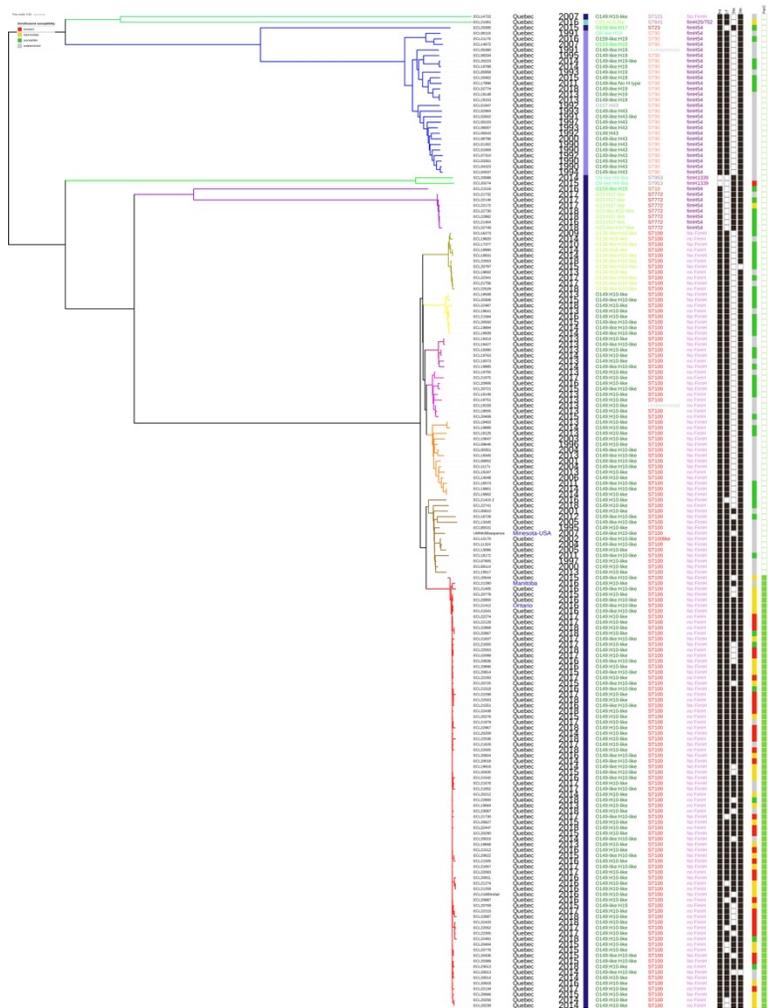


Figure A. Arbre phylogénétique basé sur le "core genome" MLST. La colonne bleue indique le phylogroupe (A = bleu foncé, C = bleu clair et D = vert). Les carrés noirs représentent la présence de gènes de virulence (dans l'ordre : F4, LT, STa, STb). La colonne verte, rouge et jaune représente la non-susceptibilité à l'enrofloxacin (rouge = résistant, jaune = intermédiaire, vert = sensible et gris = non testé), les carrés vert pomme représentent la présence des mutations des gènes parC et gyrA.

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET SUIVI À DONNER

Jefo Nutrition pourra procéder à des tests de terrain rapidement en ce qui concerne de nouveaux additifs alimentaires éventuels et leur impact potentiel sur la présence des deux clones détectés. L'efficacité des produits pourra être évaluée scientifiquement en matière de réduction de prévalence des clones d'*E. coli* pathogènes et d'impact sur la présence de gènes de virulence et de résistance aux différentes étapes de la production. Les produits sécuritaires et efficaces pourraient ensuite être commercialisés.

L'entreprise Prevtex Microbia, quant à elle, sera en mesure de développer des alternatives vaccinales aux antibiotiques, tels qu'elle l'a déjà fait avec le « Coliprotec ». Grâce à notre étude, elle pourra développer des vaccins ciblés contre les clones spécifiques de *E. coli* présent en

production porcine. De manière à conserver sa position de leader sur le marché, Prevtex recherche de nouvelles innovations continuellement. Grâce à leurs années d'expérience et leur place prédominante sur le marché de la filière porcine au niveau mondial, ils seront présents pour faciliter la maturation de nouvelles technologies qui pourraient émerger du projet.

POINT DE CONTACT

Nom du responsable du projet : John Morris Fairbrother
Téléphone : 450 772 8521 poste 8234
Courriel : john.morris.fairbrother@umontreal.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme Innov'Action agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir 2 conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, et Agriculture et Agroalimentaire Canada.