

LES BACTÉRIOCINES : DE NOUVELLES ARMES POUR LE CONTRÔLE DES INFECTIONS À *STREPTOCOCCUS SUIS* CHEZ LE PORC

Daniel Grenier, Michel Frenette et Marcelo Gottschalk

No de projet : 811326

Durée : 04/2012 – 03/2016

FAITS SAILLANTS

Lors de ce projet, des expertises complémentaires en médecine vétérinaire, microbiologie et biologie moléculaire ont été mises en commun en vue d'explorer une nouvelle alternative thérapeutique basée sur les peptides antimicrobiens (bactériocines) et leurs souches bactériennes productrices afin de réduire l'utilisation des antibiotiques classiques pour les infections à *Streptococcus suis* (*S. suis*) en élevage porcin. Trois bactériocines différentes, non connues à ce jour, produites par des souches non pathogènes ou isolées de porcs porteurs sains ont été identifiées et purifiées. Les bactériocines ont été entièrement caractérisées tant d'un point de vue biochimique que génétique. Les bactériocines se sont avérées hautement efficaces pour tuer les souches virulentes de *S. suis* de même que d'autres bactéries pathogènes du porc. De plus, les bactériocines ont démontré une capacité à agir en synergie avec les antibiotiques actuellement utilisés dans l'industrie porcine. La suite logique du projet visera à évaluer dans un modèle animal la capacité des bactériocines, ou des souches productrices, à assurer une protection contre l'infection à *S. suis*. À long terme, le projet permettra de limiter la sélection et le transfert d'antibiorésistance à d'autres bactéries pathogènes affectant l'humain et l'animal.

OBJECTIFS ET APERÇU DE LA MÉTHODOLOGIE

Les objectifs initiaux du projet étaient : 1) Optimiser les conditions de production et purifier des bactériocines sécrétées par *S. suis*, 2) Déterminer les propriétés, le mode d'action et le spectre d'activité des bactériocines, 3) Identifier les gènes codant pour la production des bactériocines, et 4) Évaluer le potentiel d'utilisation des bactériocines ou des souches productrices pour le contrôle des infections à *S. suis* chez le porc. Quoique le projet initialement proposé avait été reconnu comme ambitieux, les trois premiers objectifs ont pu être atteints. Le quatrième objectif n'a pu être complété et l'équipe de chercheurs est actuellement à la recherche de financement pour la continuité du projet. Une demande a été soumise au programme « Projet de recherche en équipe » du Fonds de recherche du Québec - Nature et Technologie. Aperçu de la méthodologie : L'activité bactériocine a été détectée par une méthode de diffusion en milieu gélosé. Un criblage a été réalisé sur plus de 60 souches de *S. suis* et trois souches productrices de bactériocines ont été mises en évidence. Différents paramètres (sources de carbone et azote, pH, température, etc.) ont été évalués en vue d'identifier les conditions optimales pour la production de bactériocines. Celles-ci ont été purifiées par chromatographie en phase inverse sur HPLC. La séquence en acides aminés des bactériocines purifiées a été déterminée par la dégradation d'Edman. L'analyse des gènes associés

à la production des bactériocines s'est faite par amplification PCR et séquençage des fragments d'ADN.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE OU LA DISCIPLINE

À notre connaissance, notre équipe serait la seule, tant en Amérique du Nord qu'en Europe, à s'intéresser au potentiel des bactériocines comme molécules alternatives aux antibiotiques pour la prévention/thérapie des infections à *S. suis* dans les élevages porcins. Les travaux réalisés dans le cadre de ce projet ont permis de générer des résultats originaux qui ouvrent la porte sur d'autres études. Parmi les résultats obtenus, mentionnons entre autres :

- Plus de 60 souches de *S. suis* ont été testées pour leur capacité à produire une bactériocine. Trois souches productrices de bactériocines totalement différentes ont été identifiées. De ces souches, une provenait d'un porc porteur sain et deux étaient reconnues comme non pathogènes dans un modèle animal. Ces résultats suggèrent que ces isolats pourraient s'avérer sécuritaires pour une utilisation chez le porc.
- Les trois bactériocines (nommées suicine 65, suicine 3908 et suicine 90-1330) qui ont été purifiées appartiennent à la famille des antibiotiques, lesquelles comportent des acides aminés modifiés. L'analyse génétique a révélé que la production des bactériocines était sous le contrôle d'un locus contenant entre 9 et 11 gènes impliqués notamment dans la biosynthèse, la modification, la régulation, le transport et l'immunité.
- La totalité des souches virulentes de *S. suis* qui ont été testées se sont avérées être hautement sensibles à l'action des bactériocines ou aux souches productrices elles-mêmes. D'autres bactéries pathogènes du porc, incluant *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus hyicus*, ont également été inhibées par les bactériocines.
- Les trois bactériocines ont montré une masse moléculaire < 4 000 daltons, et une très forte résistance à la chaleur, aux pH extrêmes et aux traitements enzymatiques.
- Des effets synergiques entre les bactériocines et les antibiotiques classiques (amoxicilline, pénicilline G) ont été démontrés.

Il est permis de supposer que les bactériocines purifiées ou les souches productrices puissent un jour être utilisées comme agent thérapeutique/préventif pour les infections à *S. suis* chez le porc. Nos travaux auront à ce moment un impact significatif au plan économique pour tous les producteurs de porcs. De plus, une réduction de l'utilisation d'antibiotiques, qui favorise l'émergence de résistances pouvant ultérieurement se transmettre à des bactéries pathogènes ou opportunistes chez l'humain, constituera un aspect très positif en regard de la santé publique. Dans un esprit de développement durable, notre projet qui pourrait mener à un élevage sans antibiotique est un plus pour la sécurité de la production agroalimentaire.

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

D'une part, les bactériocines mises en évidence dans le présent projet pourraient être ajoutées (sous une forme semi-purifiée) à l'eau ou la nourriture des porcs en vue de réduire l'incidence des infections à *S. suis* au sein des troupeaux.

D'autre part, puisque les trois souches productrices de nos bactériocines se sont avérées soit non pathogènes dans un modèle animal ou isolées de porcs porteurs sains, ces souches pourraient offrir un potentiel en vue d'une thérapie de remplacement. Ainsi, l'implantation de ces souches antagonistes chez les truies ou les jeunes porcelets pourrait permettre d'assurer une protection à long terme à un très faible coût.

Pour les deux applications proposées ci-dessus, des études s'avèrent nécessaires pour supporter ces hypothèses.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Responsable du projet : Daniel Grenier

Téléphone : 418 656-7341

Télécopieur : 418 656-2861

Courriel : daniel.grenier@greb.ulaval.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme de soutien à l'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 du Québec, et Agriculture et Agroalimentaire Canada.