

## • Résumé du projet

La paratuberculose est une maladie entérique contagieuse à développement insidieux causée par la bactérie intracellulaire *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP). Elle est difficile à contrôler et des pertes économiques importantes sont associées à l'infection dans un troupeau. Dans le cadre de cette étude, on vise (1) à faciliter l'identification des troupeaux atteints de la paratuberculose bovine en validant une méthode standardisée, et (2) à étudier le profil de marqueurs inflammatoires et génétiques associés à la paratuberculose bovine afin de mieux comprendre l'évolution de cette maladie incurable.

Pour le premier volet, des échantillons de l'environnement de 24 fermes, ainsi que des échantillons individuels (sérum (ELISA) et fèces (CFI)) de toutes les vaches adultes ont été prélevés en été et automne. Les deux sites le plus souvent identifiés comme positifs étaient les bottes (été 15 % et automne 12.5 %) et la fosse (été 9.5 % et automne 10.4 %). La combinaison des échantillons de la fosse, l'écurieur, le groupe de vaches malades et le groupe de vaches maigres, a identifié toutes (8/8) les fermes positives à l'ENV. Quand comparé avec la CFI, l'ENV a identifié correctement 72 % (IC 95 % : 43.4-90.3 %) des troupeaux positifs. Nos résultats suggèrent que l'ENV a eu une performance semblable à celle de la CFI et du test ELISA pour l'identification des troupeaux laitiers québécois à stabulation entravée infectés par MAP.

Pour le second volet, le profil inflammatoire des vaches infectées fut étudié. Bien que la réponse immunitaire cellulaire, dite  $T_{H1}$ , est efficace en bas-âge lors de la période d'infection silencieuse, ce type de défense contre les agents pathogènes intracellulaires s'atténue au cours du stade sous-clinique au fur et à mesure que la maladie évolue. MAP déjoue la vigilance immunologique de l'hôte chez certaines vaches, ce qui expliquerait un retard dans le développement d'anticorps contre celui-ci (sérum ELISA est malgré tout négatif). Les profils sont donc variés et ne cadrent pas toujours avec le théorème selon lequel les vaches présentent d'abord une réponse de type  $T_{H1}$  qui, au fur et à mesure que la maladie évolue, serait remplacée par une réponse de type humorale ( $T_{H2}$ ) se manifestant par un résultat positif à l'ELISA. Notre analyse a permis de caractériser l'état inflammatoire qui sévit chez les vaches atteintes de paratuberculose et d'identifier une incidence génétique associée à des variations dans le gène de l'ostéopontine, une cytokine à l'étude qui est associée aux maladies chroniques.

## • Objectifs et méthodologie

Pour (1) valider une technique standardisée de prélèvements de l'ENV, (2) décrire la distribution de MAP des troupeaux infectés et (3) trouver la meilleure stratégie d'échantillonnage pour détecter des troupeaux positifs, nous avons visité 24 troupeaux laitiers à statut connu (19 positifs et 5 négatifs) en été et automne. Nous avons prélevé des échantillons de l'ENV (la fosse, l'écurieur, le parc des veaux, les bottes du propriétaire) et de groupes de vaches malades et maigres. Des échantillons de sérum et de fèces des tous les animaux de plus de 24 mois ayant vêlés ont été prélevés.

Dans le cadre d'une étude, nous avons étudié le profil inflammatoire d'animaux déclarés positifs à la culture de matière fécale (CF) et/ou au dépistage d'anticorps (ELISA). Chez les

vaches positives aux deux tests provenant des 19 troupeaux sélectionnés, le profil sanguin des cytokines et de leur capacité à soutenir une réponse immunitaire fut comparé aux animaux négatifs provenant de troupeaux considérés non infectés par la paratuberculose. L'objectif était d'évaluer l'association entre la concentration des cytokines dans le sang, l'influence de la maladie sur la capacité des cellules immunitaires à soutenir une prolifération lymphocytaire et la présence de polymorphismes d'ADN dans le gène de l'ostéopontine.

## • Résultats et applications

Les deux sites le plus souvent identifiés (été-automne) comme positifs étaient les bottes (15 % et 12.5 %) et la fosse (9.5 % et 10.4 %). MAP a aussi été isolé de l'écurieur (7 %) en été et du groupe de vaches malades (16.7 %) en automne. La combinaison des échantillons « fosse », « écurieur », « groupe de vaches malades et maigres », semble la meilleure stratégie d'échantillonnage. Parmi les troupeaux positifs confirmés par

au moins un des tests (CFI, ENV ou ELISA), l'ENV a identifié correctement 53 % des troupeaux (IC : 27 % à 79 %). Comparé à la CFI, l'ENV a identifié correctement 72 % (IC : 43 % à 90 %) des troupeaux positifs. Ces résultats suggèrent que la technique de prélèvements de l'ENV a une performance semblable à celle des tests individuels pour identifier MAP. C'est un outil économique et non invasif.

## • Résultats et applications (suite...)

Les cytokines IL-4, IL-10, IL-17, IFN- $\gamma$  et l'ostéopontine associées aux différents types de réponse immunitaire ( $T_{h1}$ ,  $T_{h2}$ ,  $T_{h17}$ ) furent dosées. Les vaches positives à l'ELISA et excrétrices de MAP dans les fèces affichaient des concentrations plasmatiques similaires aux vaches saines sauf pour IFN- $\gamma$ , IL-17 et d'ostéopontine. Ces observations révèlent la présence d'une réponse de type  $T_{h17}$  qui indique que ces vaches au stade sous-clinique présentent des marqueurs associés aux maladies inflammatoires chroniques. L'infection de macrophages bovins confirme que MAP module l'expression génique vers ce type de réponse inflammatoire en favorisant le développement des lymphocytes T auxiliaires de

type 17 associés aux maladies chroniques. Pour déterminer l'influence systémique du sérum de vaches infectées par MAP sur les fonctions des cellules immunitaires, nous avons aussi réalisé des essais de prolifération lymphocytaire qui démontrent que ce sérum réduit la prolifération de 15 % et suggèrent que la capacité des vaches infectées à maintenir une réponse immunitaire protectrice est affaiblie. On observe donc une nouvelle réponse immunitaire  $T_{h17}$  associée à un niveau élevé d'ostéopontine. De plus, une association génétique entre la prédisposition à l'infection causée par MAP et l'ostéopontine serait possible.

## • Formation d'une main-d'œuvre hautement qualifiée

**Doctorat (1):** Juan Carlos Arango Sabogal, Université de Montréal

**Maîtrise (3):** Pier-Luc Dudemaine, Olivier Ariel et David Fock-Chow-Tho, Université de Sherbrooke

## • Retombées

En utilisant la technique standardisée et les sites de l'ENV suggérés pour évaluer le statut d'un troupeau, les médecins vétérinaires et les producteurs pourront bénéficier à court terme d'un outil supplémentaire, économique et non invasif dans la lutte contre cette maladie. Ils pourront mettre en place de mesures pour réduire la transmission de la maladie à l'intérieur du troupeau et pourront également minimiser l'impact de la maladie sur la production laitière passe par l'optimisation du diagnostic de cette maladie et l'application stricte de mesures préventives pour en diminuer la prévalence.

Une meilleure compréhension de l'inflammation chronique pourrait aider à développer des outils diagnostiques complémentaires. Nos résultats suggèrent une dérégulation de la réponse immunitaire qui sévit déjà au stade sous-clinique. Une investigation plus poussée des facteurs pouvant servir de marqueurs diagnostiques serait nécessaire. De plus, la présence de variations génétiques associées à la maladie suggère que certaines formes du gène de l'ostéopontine prédisposeraient à l'infection causée par MAP.

## • Transfert des résultats

Rencontre d'information, auprès de médecins vétérinaires participants au projet ainsi qu'à l'AMVPQ. Résultats sous presse pour la revue Journal of Dairy Science et présentés lors de congrès internationaux et nationaux, lors de conférences nationales et seront présentés lors du 12<sup>ième</sup> congrès international sur la paratuberculose.

## • Partenaires financiers

Entente de collaboration pour l'innovation en production et transformation laitières (ECI2008-2014) :

- Agriculture et Agroalimentaire Canada
- Fonds de recherche du Québec – Nature et technologies
- Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec
- Novalait inc.

**Budget total : 250 000 \$**

## • Point de contact

### RESPONSABLES DU PROJET :

#### Gilles Fecteau

Faculté de médecine vétérinaire  
Université de Montréal  
3200, rue Sicotte  
St-Hyacinthe (Québec) J2S 2M2  
Téléphone : (450) 773-852, poste 18337  
Courriel : gilles.fecteau@umontreal.ca

#### Nathalie Bissonnette

Centre de recherche et de développement sur le bovin laitier et le porc (CRDBLP)  
Agriculture Agroalimentaire Canada  
2000 rue du college  
Sherbrooke (Québec) J1M 0C8  
Téléphone : (819) 780-7253  
Courriel : nathalie.bissonnette@agr.gc.ca

### COLLABORATEURS :

**Jean-Philippe Roy, Sébastien Buczinski et Vincent Wellemans**, Université de Montréal

**Julie Paré**, Agence canadienne d'inspection des aliments, Saint-Hyacinthe

**Olivia Labrecque**, Laboratoire d'épidémiologie animale du Québec, MAPAQ



2750, rue Einstein, bureau 220, Québec (Québec) G1P 4R1  
Tél. : 418-527-7947 • Téléc. : 419-527-5957  
novalait@novalait.ca • www.novalait.ca