

## Développement d'un vaccin génétique contre les mammites causées par *Staphylococcus aureus*

Durée : 08/1999 – 08/2002

### RÉSUMÉ

En dépit d'efforts majeurs pour éliminer la mammite en utilisant des antibiotiques, la thérapeutique antimicrobienne et l'amélioration des conditions environnementales, cette maladie cause encore des pertes économiques considérables chez les producteurs laitiers. Bien que de nombreux pathogènes soient impliqués dans cette maladie, *Staphylococcus aureus* est devenu, depuis le début des années 80, le pathogène mammaire le plus fréquent, étant présent dans plus de 90 % des troupeaux laitiers. La vaccination, basée sur les conjuguées de protéines et de polysaccharides bactériens, n'a pas été très efficace jusqu'à maintenant, car les vaccins ne protègent pas contre toutes les souches de *S. aureus* qui sont retrouvées présentement dans les troupeaux. Une meilleure compréhension du système immunitaire bovin combinée à la nouvelle technologie des vaccins à ADN est très prometteuse pour surmonter plusieurs des problèmes des vaccins classiques. En effet, le vaccin à ADN est stable, peut être maintenu à la température ambiante et adapté à plusieurs souches différentes de bactéries. Le concept essentiel de ce type de vaccin est d'injecter un petit fragment d'ADN, le matériel génétique des bactéries, pour favoriser une cascade d'événements immunitaires qui confèrent une protection contre le pathogène. Cette technologie nous a servi à développer avec succès un vaccin contre la diarrhée virale bovine. La stratégie la plus prometteuse contre *S. aureus* est d'empêcher l'infection initiale et d'éviter que les bactéries atteignent leurs diverses phases de croissance. Ces deux objectifs peuvent être atteints en induisant une réponse immunitaire contre les protéines que les bactéries emploient pour coloniser la glande mammaire et aussi contre les facteurs que les bactéries emploient pour réguler leur croissance. Déjà, nous avons trouvé qu'un vaccin contre le Facteur d'agglutination A, une adhésine de *S. aureus*, induit une réponse immunitaire impressionnante et une protection partielle chez la souris. Chez la vache, nos résultats indiquent que ce type de vaccin induit les réponses immunitaires humorale et cellulaire. De plus, les anticorps contre l'antigène sont présents dans le lait de l'animal. Ces résultats sont extrêmement encourageants et une demande de brevet a été déposée (Talbot, Brouillette et Lacasse, 2001). Cependant, beaucoup de travail reste à faire avant d'avoir un vaccin induisant une protection complète chez la vache.

### OBJECTIFS ET MÉTHODOLOGIE

Les objectifs spécifiques sont :

- 1) D'identifier les gènes de *S. aureus* qui sont les plus prometteurs pour les vaccins à ADN;
- 2) D'insérer ces gènes dans des vecteurs d'expression qui vont produire la protéine bactérienne et ainsi stimuler le système immunitaire;
- 3) D'évaluer la capacité de ces vecteurs à stimuler une réponse immunitaire chez la souris;
- 4) De caractériser l'effet de la réponse immunitaire sur la virulence de *S. aureus* chez la souris;
- 5) De mettre au point le modèle de mammite à *Staphylococcus aureus* chez la souris;
- 6) De comparer la mammite chez les souris avec la mammite bovine;

- 7) De vacciner des vaches et mettre au point des conditions procurant la meilleure réponse immunitaire et la meilleure protection contre l'infection.

Les premières étapes du projet se déroulent en laboratoire. Il s'agit d'incorporer des gènes codant pour des protéines essentielles de *Staphylococcus aureus* dans un plasmide (vecteur d'expression). Nous vérifions ensuite chez les souris la capacité du vecteur à induire des anticorps qui reconnaissent les protéines bactériennes. Pour les premiers tests de protection contre l'infection, nous utilisons un modèle d'infection mammaire chez la souris. Ce modèle nous permettra de vérifier l'efficacité de nos traitements à moindre coût. Afin d'améliorer nos prévisions selon l'efficacité de nos vaccins, nous étudions la progression de l'infection mammaire chez la souris, mais les dernières étapes d'évaluation se dérouleront chez la vache.

### RÉSULTATS ET APPLICATIONS

**Développement du vaccin :** Nous avons démontré qu'un vaccin à ADN peut induire une bonne réponse immunitaire contre les protéines d'adhésion de *S. aureus* et que la production d'anticorps influence la capacité des bactéries de coloniser la glande mammaire. Cependant, la réponse contre une seule protéine bactérienne n'est pas suffisante pour protéger efficacement contre l'infection. En conséquence, nous avons construit quatre vaccins additionnels qui protégeront contre toutes les étapes de

la croissance des bactéries. Les résultats préliminaires confirment notre hypothèse et démontrent une bonne réponse immunitaire chez les souris. Présentement, nous effectuons des essais chez les souris pour déterminer avec plus de précision le degré de protection contre l'infection qui est conféré par le vaccin.

**Compréhension de la mammite :** Nous avons déterminé, en utilisant le modèle de souris, qu'un nombre restreint de ➤

bactéries infecte non seulement la glande mammaire, mais également les cellules épithéliales et le tissu conjonctif qui soutient la structure. Ce phénomène peut expliquer la présence de mammites chroniques qui ont été observées dans les troupeaux de vaches. Ces résultats nous ont aidés à choisir une stratégie d'immunisation qui cible non seulement les bactéries libres, mais aussi les bactéries intracellulaires.

Études d'immunisation des vaches : Nous avons effectué une série d'expériences pour déterminer le meilleur emplacement pour immuniser les animaux avec des vaccins à ADN. Nous avons déterminé que l'immunisation dans le muscle est aussi efficace que l'immunisation dans la glande mammaire ou dans un ganglion lymphatique, en détectant la présence d'anticorps dans

le sérum et dans le lait. D'autres études seront effectuées chez la vache en vue de mesurer l'efficacité protectrice du vaccin.

Les résultats obtenus dans le modèle de souris ont démontré un très fort potentiel pour un vaccin à ADN contre *S. aureus*. Cependant, ces résultats doivent être reproduits chez le bétail, ainsi qu'avec différentes souches de bactéries, avant qu'ils puissent être appliqués et profiter aux producteurs. En outre, un effort sera fait afin d'améliorer l'efficacité globale des vaccins et de réduire les coûts. Ces études incluront le développement des adjuvants et d'un système de transport pour le vaccin qui devrait réduire par au moins dix fois la quantité de vaccins par immunisation.

## TRANSFERT DES RÉSULTATS

Dans un premier temps, nous avons effectué une demande provisoire de brevet afin de protéger la propriété intellectuelle des résultats. Le transfert des connaissances acquises a été fait

via la publication des résultats dans la revue scientifique « Vaccine » et la présentation d'une conférence lors du Symposium sur les bovins laitiers 2001.

## PARTENAIRES FINANCIERS

Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies

Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec

Novalait inc.

BUDGET TOTAL : 324 500 \$

## POINT DE CONTACT

Responsable du projet :

Brian G. Talbot, Ph. D.

Université de Sherbrooke

Faculté des sciences

Département de biologie

2500, boul. Université

Sherbrooke (Québec) J1K 2R1

Téléphone : (819) 821-8000, poste 2065

Courriel : btalbot@courrier.usherb.ca

Collaborateurs :

Éric Brouillette, M. Sc., Elaine Déschênes, B.Sc. et

Lulzim Shkreta, Ph. D., Université de Sherbrooke,

Département de biologie

Pierre Lacasse, Ph. D., Moussa S. Diarra, Ph. D., Agriculture

et Agroalimentaire Canada, Centre de recherche et de

développement sur le bovin laitier et le porc