

À quand un vaccin efficace contre l'entérite nécrotique aviaire?

SARA HEIDARPANAH^{1,2}, ALEXANDRE THIBODEAU^{1, 2, 3}, VALERIA R. PARREIRA⁴, SYLVAIN QUESSY¹, MARIELA SEGURA^{2, 3}, MARCELO GOTTSCHALK^{2, 3}, ANNIE GAUDREAU^{2, 3}, TRISTAN JUETTE⁵ ET MARIE-LOU GAUCHER^{1, 2, 3*}

* Correspondance: marie-lou.gaucher@umontreal.ca

- (1) Chaire de Recherche en Salubrité des Viandes (CRSV), Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, QC J2S 2M2, Canada;
- (2) Centre de recherche en infectiologie porcine et avicole, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, QC J2S 2M2, Canada;
- (3) Groupe de recherche sur les maladies infectieuses en production animale, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, QC J2S 2M2, Canada
- (4) Canadian Research Institute for Food Safety (CRIFS), Food Science Department, University of Guelph, Guelph, ON N1G 2W1, Canada
- (5) Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, QC J2S 2M2, Canada
- (6)

Mots-clés : Poulets de chair, *Clostridium perfringens*, entérite nécrotique aviaire, antibiotiques, vaccin

Le phénomène grandissant de la résistance des bactéries aux antibiotiques a retenu l'attention scientifique, gouvernementale et politique au cours des dernières décennies (1). Plusieurs secteurs pour lesquels la mise en place d'initiatives visant à réduire l'usage de ces molécules ont été ciblés et la production animale intensive figure parmi les secteurs ayant subi les transformations les plus importantes (2). Au Canada plus spécifiquement, le gouvernement a procédé au lancement de ses cadre et plan d'action fédéraux en 2014 et 2015, initiatives visant toutes deux une utilisation plus judicieuse des antibiotiques chez les animaux (3, 4). Parallèlement, l'industrie avicole canadienne a été l'une des plus proactives pour la mise en action de stratégies visant à réduire l'usage des antibiotiques en production avicole, avec les Producteurs de poulet du Canada ayant amorcé dès 2014 l'implantation de leur stratégie de réduction de l'usage des antibiotiques à dosage de promotion de la croissance et de prévention des maladies chez le poulet de chair (5). Pour l'industrie avicole mondiale, ces initiatives visant à réduire, voire même éliminer dans certains cas l'usage des antibiotiques chez le poulet de chair, et généralement adoptées par les principaux pays producteurs de poulets, ne s'est toutefois pas faite sans conséquence, et la résurgence de l'entérite nécrotique aviaire (EN), une maladie digestive potentiellement mortelle causée par la bactérie *Clostridium perfringens*, en est une preuve tangible (6, 7).

Le contrôle de *C. perfringens* jusqu'ici assuré par les antibiotiques ajoutés à la ration des poulets de chair par l'industrie de l'alimentation est alors devenu une priorité de la communauté scientifique, dont bon nombre de chercheurs se sont mobilisés afin de mieux comprendre la pathogénie de l'EN, qui elle, passait inévitablement par une meilleure connaissance de son agent causal (18). La recherche effectuée au cours des dernières années a permis de mettre en évidence que malgré le fait que *Clostridium perfringens* soit un membre à part entière du microbiote digestif des poulets de chair, certaines souches de cette espèce bactérienne semblent porter un bagage génétique distinct leur permettant, sous l'influence de facteurs prédisposants, de prendre préséance sur les souches commensales de *C. perfringens* colonisant l'intestin des poulets de chair et de causer la maladie (9-16).

L'identification de marqueurs génétiques chez les souches de *C. perfringens* pouvant causer l'EN a eu pour effet de stimuler l'engouement pour le développement d'un vaccin qui permettrait d'assurer un contrôle de la maladie en l'absence des antibiotiques. Ces études se sont donc intéressées à diverses cibles telles que les cellules entières, toxines, enzymes, et plus récemment, adhésines de *C. perfringens* (17-21). Mais avec tous ces efforts déployés, quand pourrions-nous espérer un vaccin efficace contre l'EN?

Références

1. Tang, K.W.K., Millar, B.C. and Moore, J.E. 2023. Antimicrobial resistance (AMR). *Br. J. Biomed. Sci.* 80:11387. doi: 10.3389/bjbs.2023.11387.
2. Kasimanickam, V., Kasimanickam, M., Kasimanickam, R. 2021. Antibiotics use in food animal production: Escalation of antimicrobial resistance: Where are we now in combating AMR? *Med. Sci.*, 9, 14. doi.org/ 10.3390/medsci9010014.
3. Résistance et recours aux antimicrobiens au Canada : Cadre d'action fédéral. <https://www.canada.ca/content/dam/canada/health-canada/migration/healthy-canadians/alt/pdf/drugs-products-medicaments-produits/buying-using-achat-utilisation/antibiotic-resistance-antibiotique/antimicrobial-framework-cadre-antimicrobiens-fra.pdf>. Consulté Mars 2024.
4. Plan d'action fédéral sur la résistance et le recours aux antimicrobiens au Canada : Prolongement du cadre d'action fédéral. <https://www.canada.ca/content/dam/canada/health-canada/migration/healthy-canadians/alt/pdf/publications/drugs-products-medicaments-produits/antibiotic-resistance-antibiotique/action-plan-daction-fra.pdf>. Consulté Mars 2024.
5. Chicken Farmers of Canada. The antimicrobial use reduction strategy. Accessed March 2024. <https://www.chickenfarmers.ca/antimicrobial-strategy/>.
6. Gaucher, M. L., Quessy, S., Letellier, A., Arsenault, J. and Boulianne, M. 2015. Impact of a drug-free program on broiler chicken growth performances, gut health, *Clostridium perfringens* and *Campylobacter jejuni* occurrences at the farm level. *Poult Sci* 94:1791-1801. doi.org/10.3382/ps/pev142.
7. Timbermont, L., Haesebrouck, F., Ducatelle, R. and Van Immerseel, F. 2011. Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. *Avian Pathol.* 40(4):341-7. doi: 10.1080/03079457.2011.590967.
8. Prescott, J. F., Parreira, V. R., Mehdizadeh Gohari, I., Lepp, D. and Gong, J. 2016. The pathogenesis of necrotic enteritis in chickens: what we know and what we need to know: a review. *Avian Pathol.* 45(3):288-94. doi: 10.1080/03079457.2016.1139688.
9. Lepp, D., Gong, J., Songer, J. G., Boerlin, P., Parreira, V. R. and Prescott, J. F. 2013. Identification of accessory genome regions in poultry *Clostridium perfringens* isolates carrying the netB plasmid. *J Bacteriol* 195(6):1152-66. doi: 10.1128/JB.01032-12.
10. Lepp, D., Roxas, B., Parreira, V. R., Marri, P. R., Rosey, E. L., Gong, J., Songer, J. G., Vedantam, G. and Prescott, J. F. 2010. Identification of novel pathogenicity loci in *Clostridium perfringens* strains that cause avian necrotic enteritis. *PLoS ONE*, 24;5(5):e10795. doi: 10.1371/journal.pone.0010795.
11. Lepp, D., Zhou, Y., Ojha, S., Mehdizadeh Gohari, I., Carere, J., Yang, C., Prescott, J. F., and Gong, J. 2021. *Clostridium perfringens* produces an adhesive pilus required for the pathogenesis of necrotic enteritis in poultry. 2021. *J. Bacteriol.* 8;203(7):e00578-20. doi: 10.1128/JB.00578-20.
12. Parreira, V. R., Ojha, S., Lepp, D., M. Gohari, I., Zhou, H. Z., Susta, L., Gong, J. H. and Prescott, J. F. 2017. Necrotic enteritis locus 1 diguanylate cyclase and phosphodiesterase (cyclic-di-GMP) gene mutation attenuates virulence in an avian necrotic enteritis isolate of *Clostridium perfringens*. *Vet Microbiol* 208:69-73. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.07.012.
13. Parreira, V. R., Russell, K., Athanasiadou, S., and Prescott, J. F. 2016. Comparative transcriptome analysis by RNAseq of necrotic enteritis *Clostridium perfringens* during in vivo colonization and in vitro conditions. *BMC Microbiol.* 12;16(1):186. doi: 10.1186/s12866-016-0792-6.
14. Zhou, H., Lepp, D., Pei, Y., Liu, M., Yin, X., Ma, R., Prescott, J. F. and Gong, J. 2017. Influence of pCP1NetB ancillary genes on the virulence of *Clostridium perfringens* poultry necrotic enteritis strain CP1. *Gut Pathog.* 21;9:6. doi: 10.1186/s13099-016-0152-y.
15. Gaucher M-L, Perron GG, Arsenault J, Letellier A, Boulianne M and Quessy S. 2017. Recurring necrotic enteritis outbreaks in commercial broiler chicken flocks strongly influence toxin gene carriage and species richness in the resident *Clostridium perfringens* population. *Front. Microbiol.* 8:881. doi: 10.3389/fmicb.2017.00881.
16. Barbara, A. J., Trinh, H. T., Glock, R. D., and Songer, J.G. 2008. Necrotic enteritis-producing strains of *Clostridium perfringens* displace non-necrotic enteritis strains from the gut of chicks. *Vet. Microbiol.* 126, 377–382. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.07.019.
17. Wilde S, Jiang Y, Tafoya AM, Horsman J, Yousif M, Vazquez LA, et al. 2019. Salmonella-vectored vaccine delivering three *Clostridium perfringens* antigens protects poultry against necrotic enteritis. *PLoS ONE* 14(2): e0197721. doi.org/10.1371/journal.pone.0197721.

18. Lepp, D., Ojha, S., Mehdizadeh Gohari, I., Chakravarty, B., Prescott, J. F. and Gong, J. 2019. Immunization with subunits of a novel pilus produced by virulent *Clostridium perfringens* strains confers partial protection against necrotic enteritis in chickens. *Vet. Microbiol.* 230:7-13. doi:10.1016/j.vetmic.2019.01.005.
19. Kulkarni, R. R., V. R. Parreira, S. Sharif, and J. F. Prescott. 2007. Immunization of broiler chickens against *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Clin. Vaccine Immunol.* 14(9):1070-7. doi:10.1128/CVI.00162-07.
20. Yuan, B.; Sun, Z.; Lu, M.; Lillehoj, H.; Lee, Y.; Liu, L.; Yan, X.; Yang, D.A.; Li, C. 2022. Immunization with pooled antigens for *Clostridium perfringens* conferred partial protection against experimental necrotic enteritis in broiler chickens. *Vaccines*, 10, 979. doi.org/10.3390/vaccines10060979.
21. Heidarpanah, S., Thibodeau, A., Parreira, V.R., Quessy, S., Segura, M., Gottschalk, M., Gaudreau, A., Juette, T., Gaucher, M.-L. 2023. Evaluation of the immunoprotective capacity of five vaccine candidate proteins against avian necrotic enteritis and impact on the caecal microbiota of vaccinated birds. *Animals*, 13, 3323. doi.org/10.3390/ani1321332.

CHAIRE DE RECHERCHE EN
SALUBRITÉ DES VIANDES
RESEARCH CHAIR IN
MEAT SAFETY



Université 
de Montréal



À quand un vaccin efficace contre l'entérite nécrotique aviaire?

Marie-Lou Gaucher, DVM, MSc, PhD

Chaire de recherche en salubrité des viandes

Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal

Collaborateurs: Sara Heidarpanah, Alexandre Thibodeau, Valeria R. Parreira,
Sylvain Quessy, Mariela Segura, Marcelo Gottschalk, Annie Gaudreau, Tristan Juette

Colloque scientifique en production porcine et avicole
Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec
9 avril 2024, Québec

La résistance aux antibiotiques liée à l'usage?



COVER-DATE JANUARY/FEBRUARY 2021
DOMAIN 11 ANTIBIOTIC MECHANISMS AND RESISTANCE
January/February 2021 Volume 9 Issue 2 eESP-0027-2020
<https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0027-2020>

Ancient Antibiotics, Ancient Resistance

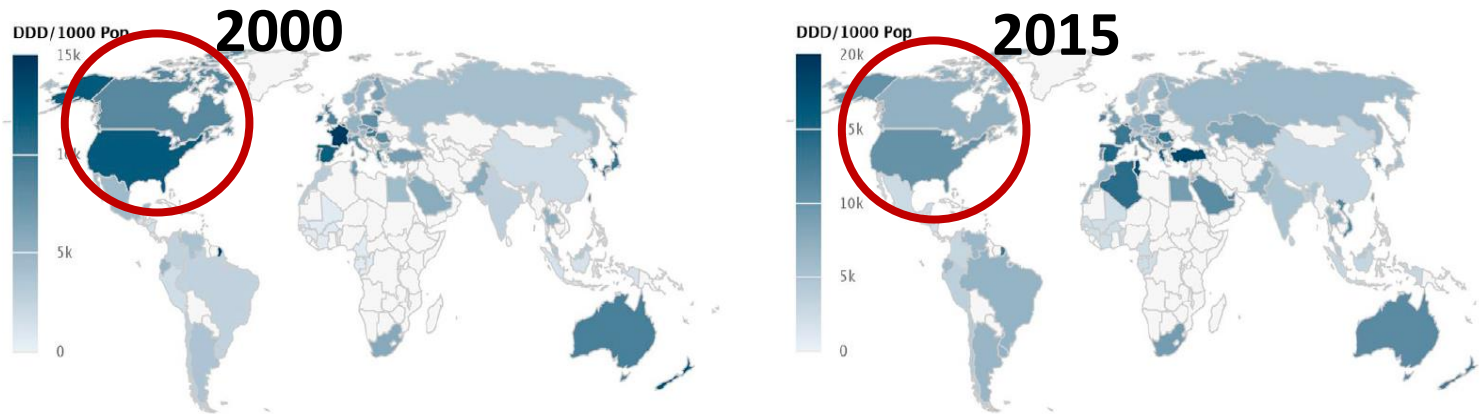
NICHOLAS WAGLECHNER, ELIZABETH J. CULP, GERARD D. WRIGHT 

M.G. DeGroote Institute for Infectious Disease Research, Department of Biochemistry and Biomedical Sciences,
David Braley Centre for Antibiotic Discovery, McMaster University, Hamilton, Ontario, L8S 4K1, Canada

- La résistance aux antibiotiques présente bien avant l'usage des antibiotiques par les humains
- Dans la nature, plusieurs fonctions des antibiotiques sur les bactéries selon la concentration:
 - remodelage des transcriptomes et protéomes bactériens
 - influencer le TGH et le taux de mutations
 - adaptation au stress, évolution
 - compétition pour nutriments
- Années '50 – *Golden era* des antibiotiques – Utilisation en élevage animal intensif
- Mauvaise ou surutilisation – Élément moteur important de RAM

Réduire l'usage des antibiotiques – Diverses initiatives

- Une prise de conscience pour certains grands utilisateurs



Canada: Surveillance, intendance, innovation

- L'industrie avicole parmi les plus proactives
- Suède (1986)
- Union européenne (2006)
- Mexique, Nouvelle-Zélande, Corée du Sud
- États-Unis, Australie, Japon, Canada – Bannissement partiel

Antimicrobiens en aviculture – Stratégie PPC

~~Catégorie I: Très Haute importance~~

~~ceftiofur, enrofloxacin,~~

2014

~~Catégorie II: Haute importance~~

~~virginiamycine apramycine, linecomycine, tylosine,
triméthoprim sulfadiazine, pénicillines)~~

2020

Catégorie III: Moyenne importance

bacitracine, sulphonamides, tétracyclines

Catégorie IV: Faible importance

ionophores (Coban™, Monteban™, Maxiban™, Sacox™), flavomycine, avilamycine

Réduire l'usage des antibiotiques – Que des impacts positifs?

- Résurgence de l'entérite nécrotique aviaire (EN) – *Clostridium perfringens*
 - Décrite en 1961 par Parish
 - Milliards de dollars en pertes annuellement
 - ↓ poids d'abattage, ↑ conversion alimentaire, jusqu'à 50% de mortalité, prévention et traitement
 - Alternatives aux ATB: multiples... mais efficaces?

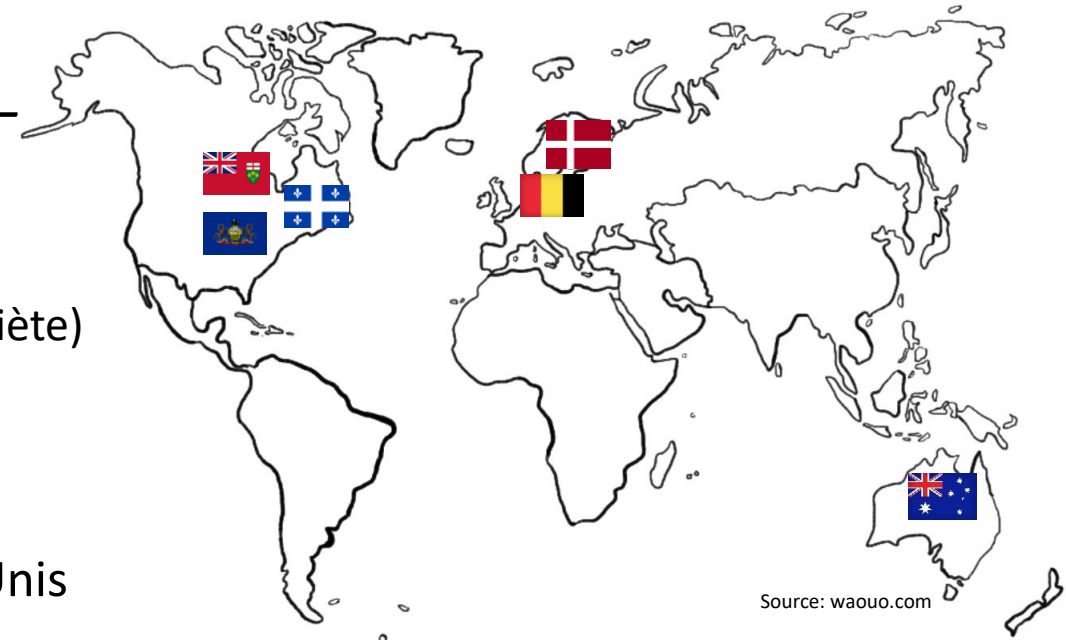
- Colonisation des poulets de chair par *C. perfringens* –

Ce qui était alors connu...

- bactérie ubiquitaire (sol, eau, environnement d'élevage)
- facteurs prédisposants requis (retrait des ATB, immunosuppression, diète)

- Mobilisation de la communauté scientifique

- Des équipes déjà en place: Belgique, Danemark, Australie, États-Unis
- De nouveaux joueurs: Canada (Ontario, Québec)

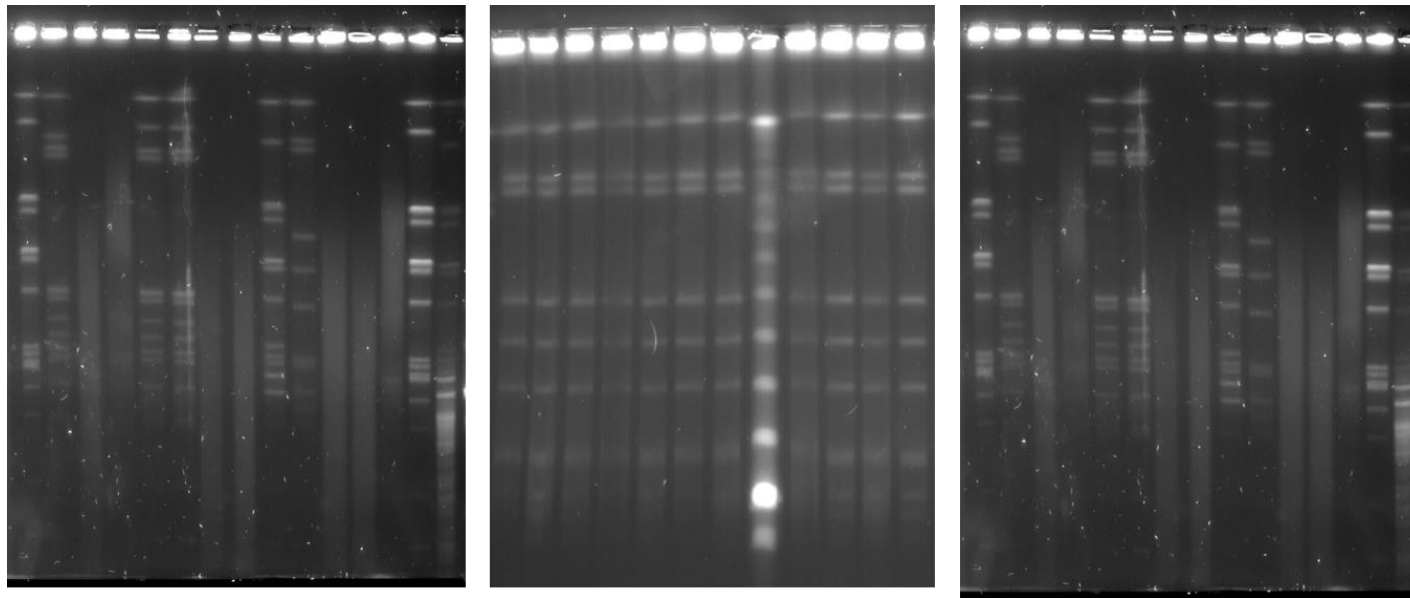


Source: waouo.com

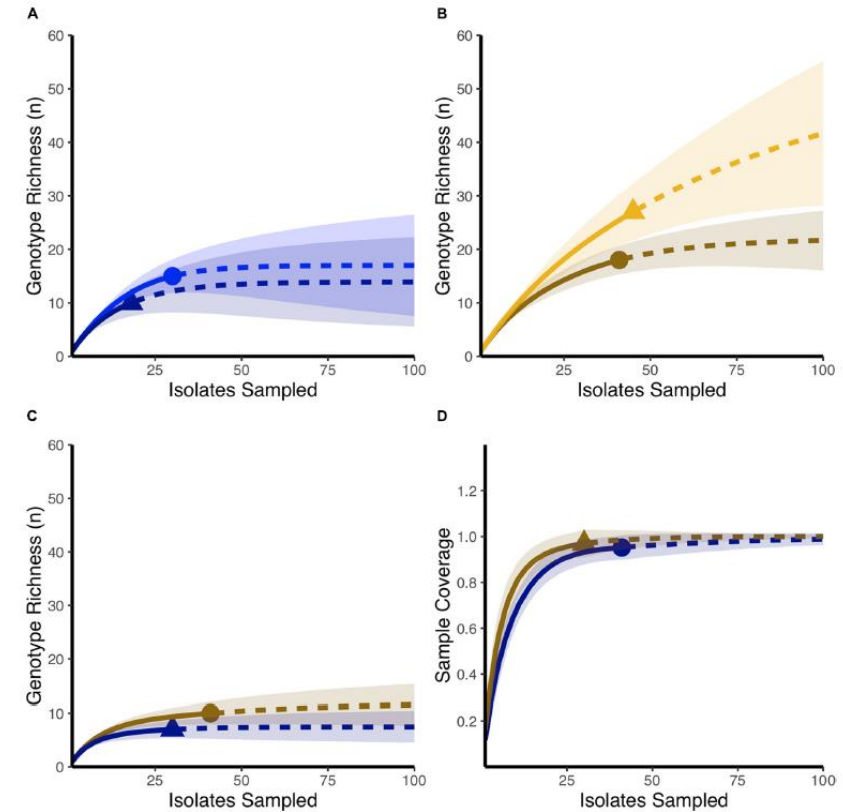
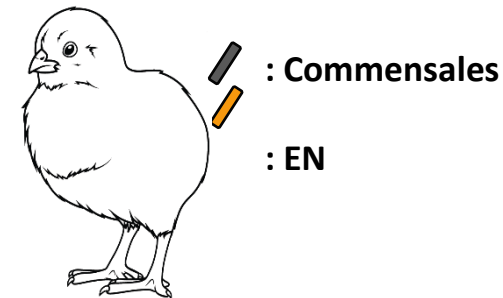
Un intérêt à mieux décrire la pathogénie de l'EN – Comment procéder?

L'étude de *C. perfringens* - Premiers balbutiements...

Diversité dans l'intestin - Certains clones prédominent lors d'EN



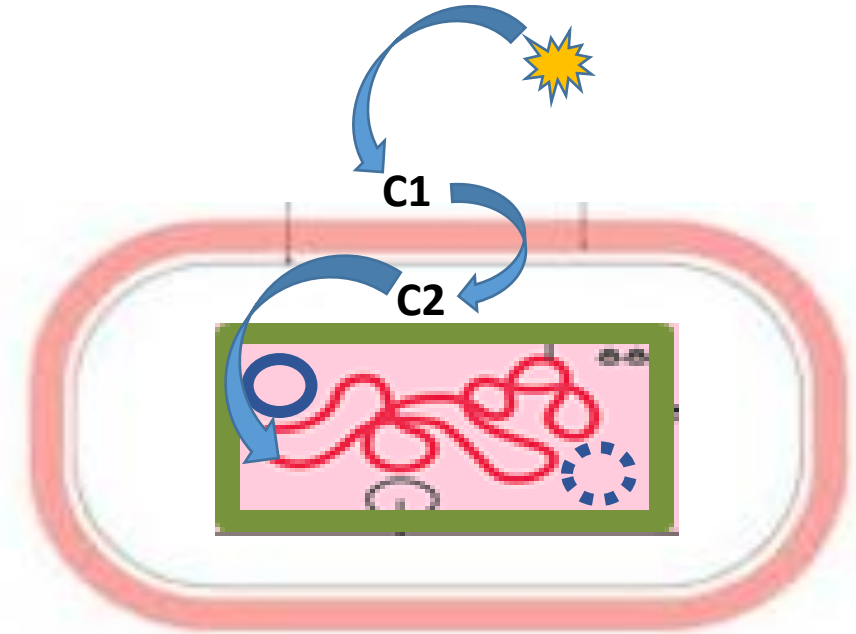
Rôle de bactériocines? Perfrin



Un intérêt à mieux décrire la pathogénie de l'EN – Comment procéder?

Clostridium perfringens – Un producteur de toxines redoutable...

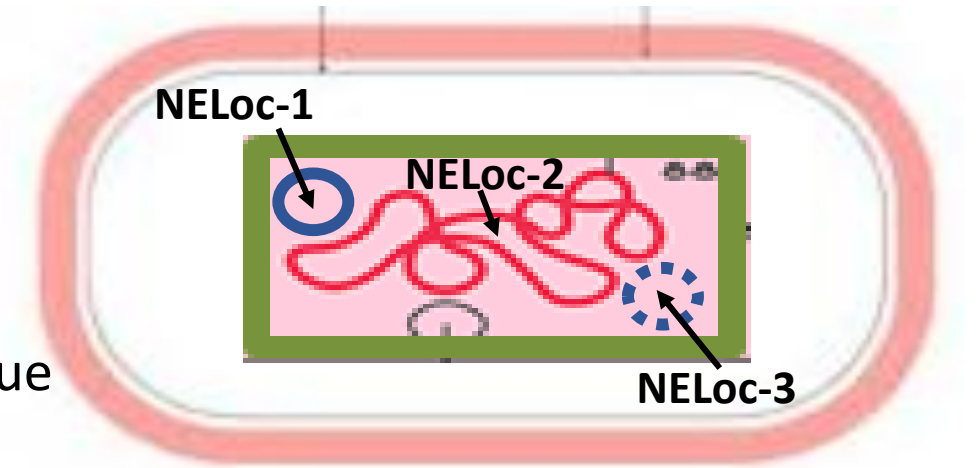
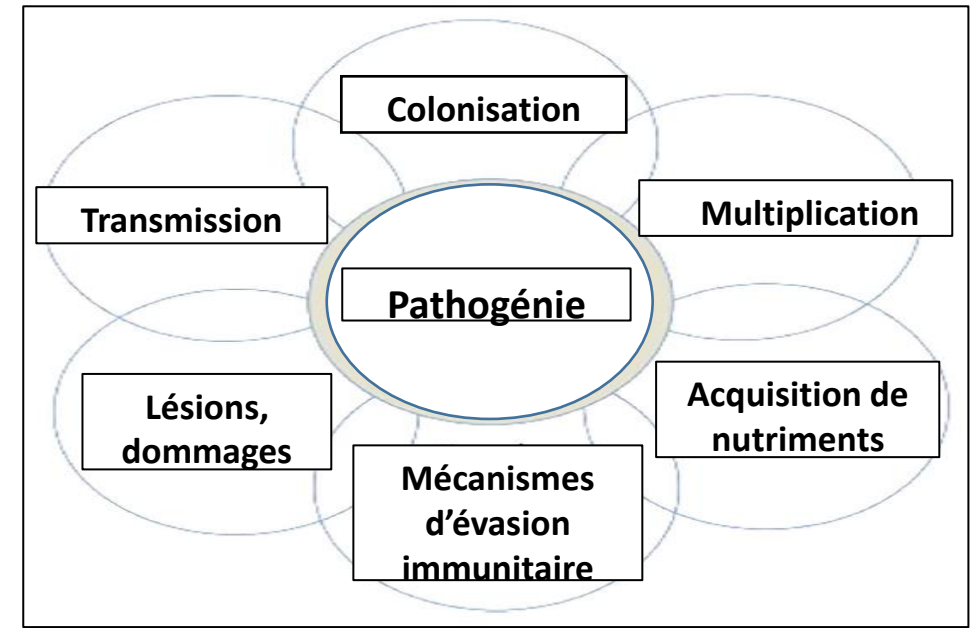
- Le rôle de la toxine alpha dans la virulence de *C. perfringens* – Souches mutantes
- Le rôle de toxines accessoires – Cpb2, TpeL
- Mise en évidence de systèmes de régulation (VirS/VirR, Agr-like) dans la production de toxines... et d'adhésines
- La découverte de la toxine NetB – Une percée majeure... remise en question tout récemment



Un intérêt à mieux décrire la pathogénie de l'EN – Comment procéder?

Des avancées importantes...

- *C. perfringens* peut lier des molécules de la MEC (collagène)
– Protéines de surface
- *C. perfringens* causant l'EN porteraient entre 2 et 5 plasmides conjugatifs
- *C. perfringens* causant l'EN contiennent 3 loci (régions) de pathogénicité (NELoc-1 (*netB*), NELoc-2, NELoc-3)
- *C. perfringens* causant l'EN possèdent une signature génétique similaire (régions accessoires du chromosome)



Exploiter ces connaissances au profit du développement d'une stratégie vaccinale
Sur le plan expérimental

- Vaccination des oiseaux reproducteurs (immunité)

-toxines alpha et NetB: toxoïdes ou recombinaison

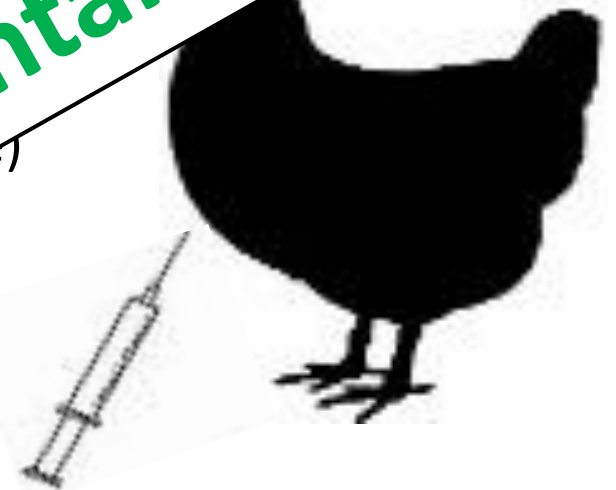
- Vaccination des poulets de chair

Vaccins vivants atténués

- cellules entières
-vaccins à b

Vaccins à base

- sévérité**
- vaccins atténués ou recombinants: injections, per os (vaccins vecteurs – *S. Typhimurium*)
 - protéines de surface: FimA, FimB, CnaA, fructose 1,6-biphosphate aldolase, protéine hypothétique, factor d'élongation G, perle de Naglu and phosphoglyceromutase
 - surveillance de cultures de *C. perfringens*: injection
 - adhésines (FimA, FimB, CnaA) et protéines de surface prédites (vaccinologie inverse)



lan experimental

on des oiseaux reproducteurs (immunité)

nes alpha et NetB: toxoïdes ou recombina

on des poulets de chair

s atténués

ules entières

ins à b

Protection partielle et / ou
sévérité de l'infection expérimentale

non à la formaline

des ou recombinantes: injections, per os (vaccins vecteurs)

OR, fructose 1,6-biphosphate aldolase, protéine hypothétique, f

Maglu and phosphoglyceromutase

de cultures de *C. perfringens*: injection

Un vaccin contre l'EN: quels sont les défis?

- Identifier des candidats vaccinaux: le plus grand défi!
- Stimulation d'une immunité protectrice – Anticorps $\neq$ toujours protection
- Sévérité de l'infection expérimentale vs Infection en conditions d'élevage
- Véhicule de livraison
 - Immunité maternelle vs âge des poulets de chair
 - Complexité d'administration chez les poulets de chair
 - eau, aliment, doses vs en continu, vecteur?

→ Offrir une stratégie abordable, efficace et facile d'utilisation aux éleveurs

Université 
de Montréal

POUR la santé du
monde

Faculté de médecine vétérinaire
Université de Montréal

dcl 
nutrition +
santé animale

Agriculture, Pêcheries
et Alimentation

Québec 

CHAIRE DE RECHERCHE EN
SALUBRITÉ DES VIANDES
RESEARCH CHAIR IN
MEAT SAFETY



Université 
de Montréal

Mitacs
20 YEARS • ANS

Centre de Recherche en
Infectiologie Porcine et Avicole

Swine and Poultry Infectious
Diseases Research Center



Université 
de Montréal



Merci pour votre attention!

Merci tout spécialement à:

DCL Nutrition et Santé animale

MAPAQ et Mitacs

Ilhem Meniaï et Sara Heidarpanah

Membres de la CRSV

CRAAQ