

7:45 Accueil

Production laitière et durabilité

8:00 Dairy cow longevity and animal welfare status: Insights on dairy farming sustainability

Gabriel M. Dallago and Elsa Vasseur.

8:25 Développement d'outils pour le monitoring de l'utilisation des antibiotiques en production laitière

Hélène Lardé, Ahmad Albaaj, Nikky Millar, David Francoz, Jean-Philippe Roy, Sébastien Buczinski, Cécile Aenishaenslin et Simon Dufour.

Bien-être et santé animale

8:50 Effet de l'enrichissement du milieu de vie des truies pendant la gestation sur la composition du colostrum et du lait: aspects nutritionnels et immunitaires

Merlot Elodie, Pastorelli Hélène, Peuteman Benoît, Prunier Armelle, Calvar Catherine, Meunier-Salaün Marie-Christine et Quesnel Hélène.

9:15 Remodeling of the bovine mammary epithelial cell transcriptome in response to *Staphylococcus aureus* extracellular vesicles

Brenda Silva Rosa da Luz, Aurélie Nicolas, Vasco Azevedo, Yves Le-Loir, Eric Guédon.

9:40 Pause

10:00 Differentially expressed exosomal microRNAs and circular RNAs in bovine milk infected with *Staphylococcus aureus*

Xin Zhao.

10:25 Les vésicules extracellulaires du lait: rôle dans le transfert de polluants de types nanoparticules métalliques de la mère au petit

Anne Burtey.

10:50 Antibioswitch: Un traitement ciblé contre *Staphylococcus aureus* en mammite bovine

Renaud Binette, Evelyne Lacasse, Guillaume Millette, Pierre-Luc Boudreault, Francis Beaudry, Daniel Rico et François Malouin.

11:15 Activité inhibitrice de la nisine, de la bactofencine A et de la reutéline contre des isolats cliniques de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactie* et *Streptococcus uberis* responsable de la mammite bovine

Laila Ben Said, Samantha Bennett, Simon Dufour, François Malouin, Pierre Lacasse, Ismail Fliss.

11:40 Discussion libre

12:00 Clôture



Résumés

Dairy cow longevity and animal welfare status: Insights on dairy farming sustainability

G. M. Dallago, E. Vasseur

Animal Science Department, McGill University, Sainte-Anne-de-Bellevue, Quebec, H9X 3V9, Canada

Promoting the sustainability of dairy farming is imperative not only to meet the projected increase in demand, but also because it plays an important role towards food security. Cow longevity and animal welfare are important factors associated with the sustainability of the dairy industry. Higher longevity, achieved by avoiding culling due to health issues such as mastitis and feet and legs problems as well as failure to reproduction (i.e., involuntary culling), could be associated with higher economic performance of farms, lower the environmental footprint of the milk industry, and better welfare status of the animals. However, cow longevity has decreased in most high milk-producing countries over the last decades and its relationship with milk yield is not straight forward. Herd longevity could be increased by strategic culling decisions aiming at keeping cows more likely to avoid involuntary culling, but current metrics of longevity are limited to either the length of time a cow remains in the herd or if she is still alive at a given time limiting strategic decision-making. Indicators such as calving ease, birth size, and twinning could be used to help carrying out such decisions since they are associated with a reduction in the longevity of the offspring. Longevity is ultimately dictated by the farmers' decision of when to cull a heifer/cow and identifying the best individuals to keep is still a challenging task. The occurrence of health events during weaning as well as failure to receive passive immune transfer, for example, does not seem to be considered by farmers to carry out culling decisions during the rearing period. Different animal welfare profiles were identified when investigating the link between herd longevity, economics, and outcome measures of welfare in Quebec herds, highlighting that management practices should be adjusted to improve animal outcomes in those with poorer welfare status. However, the set of solutions and innovations should be tailored according to the individual problems present at the farm. The pressing issues associated with climate change and competition for resources highlight the need to improve the efficiency of animal food production, but both farmers' and animals' interests should be aligned to meet the increasing demand while ensuring the sustainability of the activity.

Développement d'outils pour le monitoring de l'utilisation des antimicrobiens en production laitière

*H. Lardé, A. Albaaj, N. Millar, D. Francoz, J.-P. Roy, S. Buczinski,
C. Aenishaenslin et S. Dufour*

Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal

Le monitoring de l'utilisation des antimicrobiens (UA) sur les fermes laitières est un élément essentiel afin de : 1) s'assurer d'une utilisation judicieuse, 2) comparer l'UA entre fermes, espèces animales, régions, ou dans le temps et 3) établir les liens potentiels avec le développement de bactéries résistantes aux antimicrobiens. Cette présentation permettra de mettre en lumière les progrès réalisés et nos projets en cours sur ce sujet de recherche.

Dans un premier temps, nous avons proposé des indices standardisés permettant de quantifier l'UA chez les bovins au Canada. Ces indices se devaient d'être développés puisque les médicaments vétérinaires homologués au Canada pour les bovins différaient de ceux disponibles en Europe et pour lesquels l'Agence européenne des médicaments avait défini des doses de traitement standardisé pour animaux (defined course dose for animals; DCD). Cet indice permet de décrire l'UA en nombre de traitements complets administrés à des animaux type et prend en compte les différences de puissance des différents antimicrobiens.

Par la suite, nous avons décrit l'UA dans un échantillon aléatoire de 101 fermes laitières québécoises à l'aide d'un audit à la ferme. Pendant un an, en 2017-2018, tous les contenants de médicaments vétérinaires utilisés à la ferme ont été comptabilisés. En moyenne, les troupeaux laitiers utilisaient 537 DCD/100 vaches adultes-an, mais une très large variation entre troupeaux était observée. Soixante-deux pourcents des traitements visaient le traitement des mammites cliniques ou le traitement au moment du tarissement. Très peu de traitements non-homologués étaient utilisés et les traitements dans l'alimentation étaient peu utilisés.

Nous avons ensuite validé une base de données électronique centralisée contenant les données de ventes vétérinaires comme outil pour faire le monitoring de l'UA dans les fermes laitières. Ces données concordaient étroitement avec les données récoltées à la ferme (coefficient de concordance de 0,83). Les légères différences entre les deux systèmes de collecte de données semblaient être expliquées par une supériorité des données électroniques de ventes vétérinaires pour certains types de produits (e.g., bolus oral, traitement intra-utérin).

Dans une étude subséquente, nous avons utilisé ces données de ventes vétérinaires afin de quantifier la réponse des producteurs laitiers à une nouvelle réglementation visant à réduire l'utilisation de certains antibiotiques de très haute importance pour la santé humaine. Cette base de données contenait les données de plus de 90% des troupeaux laitiers du Québec. Les données de 3337 des 4700 troupeaux québécois ont été analysées. Une réduction de 80% de l'UA des antibiotiques visés par la réglementation a été observée. La clinique vétérinaire desservant une ferme était un prédicteur important de la réduction obtenue sur cette ferme.

Nous travaillons maintenant à la mise en place d'outils de benchmarking qui permettront aux producteurs et vétérinaires de comparer leurs habitudes d'utilisation et de prescription des antimicrobiens, respectivement, à ceux de leurs pairs. Pour ce faire, une interface de visualisation des données de ventes vétérinaires est développée à l'aide du logiciel ShinyR. Finalement, nous comparons présentement les données d'UA à celles sur la résistance aux antimicrobiens de bactéries sentinelles récoltées sur les fermes laitières.

Effet de l'enrichissement du milieu de vie des truies pendant la gestation sur la composition du colostrum et du lait : aspects nutritionnels et immunitaires

Elodie Merlot¹, Hélène Pastorelli¹, Benoît Peuteman¹, Armelle Prunier¹, Catherine Calvar², Marie-Christine Meunier-Salaün¹ et Hélène Quesnel¹

¹PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590, Saint Gilles, France

²Chambre Régionale d'Agriculture de Bretagne (CRAB), CS 74223, 35042 Rennes Cedex, France

La composition du colostrum et du lait influence la survie, la santé et le développement des jeunes. Pourtant, le bénéfice d'une amélioration du bien-être des femelles gestantes sur la qualité des sécrétions lactées est encore mal évalué.

Dans une première étude, deux systèmes de logement des truies gestantes en groupe sont comparés : un système conventionnel sur caillebotis (C) et un système sur litière accumulée de paille et offrant plus d'espace par truie (L). Le système conventionnel est plus stressant pour les truies gestantes et est associé à une mortalité précoce accrue des porcelets (naissance - 3 jours), alors que toutes les truies sont relogées dans les mêmes conditions peu avant la mise-bas. Dans une seconde étude, un troisième système est créé en fournissant aux truies du système conventionnel des objets manipulables en bois et des granulés de paille pendant la gestation (lot CE). Cet enrichissement du milieu et de l'alimentation des truies réduit leur niveau de stress et réduit la mortalité très précoce des porcelets, qui atteint alors un niveau proche de celui du système litière.

Nous observons que l'enrichissement du milieu de vie pour favoriser le bien-être des truies gestantes n'a pas d'effet stable d'une étude à l'autre sur la composition nutritionnelle du colostrum et du lait ni sur leur teneur en immunoglobulines G et A. L'enrichissement semble seulement accroître de façon modérée mais récurrente la proportion de polynucléaires neutrophiles et de macrophages dans les sécrétions lactées très précoces (colostrum et lait de transition), et les implications éventuelles de ce phénomène pour la santé des nouveau-nés ne sont pas connues.

Remodeling of the bovine mammary epithelial cell transcriptome in response to *Staphylococcus aureus* extracellular vesicles

B. S. R. Luz, A. Nicolas, V. Azevedo, Y. Le-loir, E. Guédon

Institut Agro, INRAe, UMR 1253 STLO, 35000, Rennes

Staphylococcus aureus is an important etiological agent of mastitis, an inflammation of the mammary gland that affects animal health of dairy herds. It is the most prevalent production disease in milk production leading to great economic losses worldwide. Although *S. aureus* is extensively studied, treatment against this bacterium is still ineffective, and the mechanisms involved in its pathogenicity are not yet fully understood. Secretory factors are important components in bacterial pathogenesis, and the role of extracellular vesicles (EVs) in infections is an emerging field of research. EVs are nano-sized particles that are actively secreted into the surrounding environment by any living cell. They play a crucial role in intercellular communication, affecting the metabolism and physiology of target cells, and contributing to immunomodulation and pathogenesis. Over the past decade, various virulence factors have been identified in *S. aureus* EVs. Additionally, EVs secreted by *S. aureus* Newbould 305 strain, a bovine mastitis isolate, were shown to promote cytokine production *in vitro*, and tissue inflammation and deterioration *in vivo*, suggesting a role of EVs in mastitis pathogenesis.

Here, we extend the investigation of the molecular mechanisms involved in EV-host interactions from *S. aureus* Newbould 305. RNA-seq approach was used to assess eukaryotic genes and signaling pathways modulated by Newbould 305 EVs *in vitro*. Bovine mammary epithelial cells (or bMECs) were exposed to Newbould 305 EVs during 3 h, 4 h, 8 h and 24 h. As positive control, bMECs were exposed to live bacteria during 3 h. We observed that the number of bMECs differentially expressed (DE) genes modulated by Newbould 305 EVs increased over time. Interestingly, 161 genes were modulated by EVs at all conditions, including those linked to inflammatory pathways and important cytokines (eg. ICAM-1, NF- κ B, IL-6, IL-8, IL-1 α , IL-1 β). Moreover, common genes modulated by both EVs and live *S. aureus* after 3 h comprised those with similar and different expression levels, depending on the source of stimulation. Remarkably, Newbould 305 EVs exclusively modulated 125 genes at 3 h, some of which are involved in apoptosis (eg. APOL-3, CD83, GPR84). Interestingly, regarding the 3123 genes modulated by EVs at 24 h, approximately half of them ($n = 1560$) are also modulated by *S. aureus* at 3 h, suggesting that EVs stimulation is slower in comparison to live bacteria. These preliminary results suggest that *S. aureus* Newbould 305 EVs may modulate the host immune response with different intensities, exposure times, and by different routes of those of bacteria. Our results will soon be validated in mammary gland tissues by RT-qPCR to confirm the mechanisms of action of Newbould 305 EVs. Our study uncovers new EV mechanisms of action and their potentially functional roles, providing brand-new knowledge on the role of EVs in host-pathogen interactions and staphylococcal pathogenesis.

Differentially expressed exosomal microRNAs and circular RNAs in bovine milk infected with *Staphylococcus aureus*

X. Zhao

*Department of Animal Science, McGill University, 21,111 Lakeshore,
Ste-Anne-De-Bellevue, Quebec, Canada H9X 3V9*

Staphylococcus aureus is an important opportunistic pathogen for dairy cows, and it produces extracellular vesicles (EVs) that contain many biologically important molecules, including non-coding RNAs. In this study, we isolated total RNA from milk EVs collected from healthy cows (n = 3, the control group) and *S. aureus* infected cows (n = 6, the SA group) and focused on two non-coding RNAs: microRNAs (miRNAs) and circular RNAs (circRNAs). EVs from the milk samples were first isolated and characterized. miRNAs and circRNAs in EVs were identified and compared between the control group and the SA group. The potential targeted genes for differentially expressed (DE) miRNAs and circRNAs were predicted. Expression of two miRNAs (bta-miR-378 and bta-miR-185) with high read counts and log₂ fold changes (> 3.5) was significantly higher in the SA group. Their target genes (VAT1L for bta-miR-378 and five target genes (DYRK1B, MLLT3, HP1BP3, NPR2 and PGM1) for bta-miR-185) were validated. In addition, the pathways for these target genes were also projected. Target genes for the DE miRNAs were significantly enriched in intracellular protein transport, endoplasmic reticulum and identical protein binding, while target genes for the DE circRNAs were enriched in immune functions. Moreover, we demonstrated that circRNAs were selectively packaged into EVs. In summary, our findings offer an insight into the packaging mechanism of non-coding RNAs into EVs and underscore the potential by which hosts may use the EV non-coding RNAs in response to pathogenic bacterial infections.

Les vésicules extracellulaires du lait: rôle dans le transfert de polluants de types nanoparticules métalliques de la mère au petit

Anne Burtey

Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350, Jouy-en-Josas

Antibioswitch: Un traitement ciblé contre *Staphylococcus aureus* en mammite bovine

**R. Binette¹, E. Lacasse², G. Millette², P.-L. Boudreault¹, F. Beaudry³,
D. Rico⁴, et F. Malouin²**

1- Institut de pharmacologie, Sciences, U. de Sherbrooke, Sherbrooke (QC), Canada;

2- Biologie, Sciences, U. de Sherbrooke, Sherbrooke (QC), Canada;

3-Département de biomédecine vétérinaire, U. de Montréal, Montréal (QC), Canada;

4-Centre de recherche en sciences animales de Deschambault, Deschambault (QC), Canada;

5-Institut de pharmacologie, FMSS, U. de Sherbrooke, Sherbrooke (QC), Canada

Staphylococcus aureus est un des responsables les plus communs des infections intramammaires (IIM) menant à la mammite bovine. Les mammites causent des pertes importantes de revenus pour les producteurs laitiers. Les traitements aux antibiotiques sont peu efficaces et sont limités par la résistance et le choix des traitements disponibles en médecine vétérinaire. De plus, les antibiotiques présentement utilisés ont un spectre étendu et peuvent affecter le microbiote du lait avec des effets possibles en transformation laitière. De nouvelles alternatives sont nécessaires pour traiter les mammites à staphylocoque.

Nous développons de nouvelles molécules analogues au ligand naturel des riborégulateurs à la guanine de *S. aureus*. En se liant au riborégulateur, nos composés bloquent l'expression du gène essentiel *guaA*, causant la mort bactérienne par déprivation de GMP. Cette activité antibiotique est strictement limitée aux staphylocoques. Notre candidat initial, PC1 (2,5,6-triaminopyrimidin-4-one) se lie bien à cette cible et a démontré son activité lors d'infections expérimentales chez la vache. Cependant PC1 est instable et se dimérise en présence d'eau et d'oxygène. Il perd donc rapidement son efficacité en absence d'antioxydants, ce qui complique son développement pharmaceutique. Nos nouveaux dérivés de PC1 conservent la même cible, tout en étant stables et même plus actifs. L'efficacité *in vitro* contre *S. aureus* a été confirmée en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI), alors que les espèces non-cibles testées (*Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis*) ne sont pas ou peu affectées. Un dérivé, GRL-481, a été évalué dans les modèles murins d'IIM et d'infection des tissus mous, où son efficacité *in vivo* a été démontrée.

Cette nouvelle classe d'antibiotiques (« antibioswitch ») n'a pas de résistance connue à ce jour et la spécificité envers les staphylocoques limiterait les conséquences sur le microbiote. Dans ce projet, nous étudierons quelques autres dérivés, déterminerons certains paramètres de pharmacocinétique chez la vache et démontrerons leur innocuité. Ces nouvelles molécules pourraient s'avérer très prometteuses pour le traitement des IIM à *S. aureus*.

Activité inhibitrice de la nisine, de la bactofencine A et de la reutérine contre des isolats cliniques de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* et *Streptococcus uberis* responsable de la mammite bovine

L. Ben Said¹, S. Bennett^{2,3}, S. Dufour⁴, F. Malouin³, P. Lacasse², I. Fliss¹

1- Institut sur la Nutrition et les Aliments fonctionnels, Université Laval, Québec, QC, Canada

2- Centre de recherche et de développement de Sherbrooke, Sherbrooke, QC, Canada

3- Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, QC, Canada

4- Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, QC, Canada

L'utilisation des antibiotiques en production laitière est la stratégie la plus efficace pour le traitement et la prévention de la mammite bovine. Cependant, l'émergence et la dissémination des bactéries multi-résistantes (BMR) ne cesse de s'accroître et de causer un risque majeur pour la santé humaine. Par conséquent, la recherche d'approches alternatives de contrôle des infections mammaires est devenue une urgence.

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité antimicrobienne des bactériocines et de la reutérine contre les BMR isolées de mammite bovine clinique. Une collection bactérienne incluant des *S. aureus* (n=19), des *Strep. dysgalactiae* (n=18) et des *Strep. uberis* (n=19) a été étudiée. Les profils de résistance aux antibiotiques ont été déterminés par la méthode CLSI de diffusion sur disque. De plus, la sensibilité de ces mêmes souches aux bactériocines et à la reutérine a été déterminée par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB). Un total de 21 souches (37.5%) étaient des BMR. Les CMI des bactériocines variaient entre $\leq 1,0$ $\mu\text{g/ml}$ et ≥ 100 $\mu\text{g/ml}$ pour la nisine, de 2,0 à ≥ 250 $\mu\text{g/ml}$ pour la bactofencine. Toutes les souches ont été inhibées par la reutérine à des CMI qui variaient entre 70 à 560 $\mu\text{g/ml}$. De plus, 62% des BMR ont été inhibés par la nisine à des concentrations ≤ 100 $\mu\text{g/ml}$ et 95% inhibés par la bactofencine à des concentrations ≤ 250 $\mu\text{g/ml}$. Ces résultats suggèrent un fort potentiel d'utilisation des bactériocines et de la reutérine comme alternative pour le traitement et la prévention de la mammite bovine.