

Comparaison de la transmission horizontale d'une souche française InDel et d'une souche US non InDel de virus de la diarrhée épidémique porcine (PEDV)

Sarah GALLIEN (1,2), Mathieu ANDRAUD (1), Lionel BIGAULT (1), Angélique MORO (1), Nadège MORIN (1), Gérald LEDIGUERHER (1), Mustapha BERRI (2), Frédéric PABOEUF (1), Nicolas ROSE (1), Béatrice GRASLAND (1)

(1) ANSES, Laboratoire Ploufragan-Plouzané, Les Croix, 22440 Ploufragan, France

(2) INRA Centre Val de Loire, Site de Tours, 37380 Nouzilly, France

sarah.gallien@anses.fr

Comparison of the horizontal transmission of a French InDel strain and a US non-InDel strain of porcine epidemic diarrhea virus

Two types of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) strain currently exist: the InDel and the highly virulent non-InDel strains. This study aimed to compare the pathogenicity and the transmission capacity in a pig population of an InDel PEDV strain isolated in France in 2014 (FR/001/2014) to those of a non-InDel PEDV strain from the United States (USA/2014/IOWA). The study was carried out in facilities of the French Agency for Food, Environmental and Occupation Health & Safety (ANSES). Four rooms, each with 10 pigs (two contiguous pens with five pigs each, separated by 40 cm), were used. In each room, a pig from one of the two pens was inoculated orally with 5 mL of an inoculum of one of the two strains titrating 10^8 genomic copies/mL (two rooms/strain). Each inoculated pig remained in direct contact with four pigs and in indirect contact with the other five pigs. The viral genome was quantified by RT-qPCR in sera, feces and air samples. Seroconversion was assessed with an ELISA test. All pigs, both inoculated and contacts, showed clinical signs and shed virus, except for those in indirect contact for the InDel trial. All pigs seroconverted except some pigs of the non-InDel trial. The virus was detected in the air of all four rooms. Direct contact is the main transmission route for the InDel strain, while both direct contact and air are transmission routes for the non-InDel strain. Quantification of the transmission revealed a propagation rate higher for the non-InDel strain than for the InDel strain.

INTRODUCTION

La diarrhée épidémique porcine (DEP) a été décrite pour la première fois dans les années 1970 en Europe. La DEP est caractérisée par de fortes diarrhées aqueuses accompagnées de vomissements et de déshydratation. L'agent responsable de cette maladie, le PEDV, est un virus enveloppé à ARN simple brin de 28 kb appartenant à la famille des coronavirus. En 2010, des cas de DEP accompagnés d'une forte morbidité (100%) et mortalité (80 à 100%) sont apparus en Asie. Les souches virales isolées lors de ces épizooties étaient différentes des souches des années 1970-80 (insertion/délétion au niveau de la partie S1 du gène S) et entraînaient des cas cliniques plus sévères. En 2013, les Etats Unis, qui étaient indemnes de cette maladie, ont été frappés par la DEP. Au cours de cette épizootie, deux types de souches ont été identifiées (séparément ou parfois en co-circulation) dans les élevages touchés par la maladie : des souches dites non-InDel, proches des souches asiatiques isolées en 2010 et des souches dites InDel plus proches des souches européennes des années 1970-80 (Jung et Saif, 2015).

Cette étude vise à comparer les différences de pathogénicité et de transmission de ces deux types de souches. La souche InDel utilisée a été isolée en France en 2014 et la souche non-InDel a été isolée dans un élevage de l'Iowa en 2014.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et dispositif expérimental

Les expérimentations ont été mises en place dans la station expérimentale porcine de l'ANSES en accord avec les réglementations européennes et française sur le bien-être animal en vigueur. Vingt-trois porcs EOPS (Exempts d'Organismes Pathogènes Spécifiés) âgés de trois semaines ont été utilisés pour chaque souche. Le dispositif expérimental était le même pour les deux souches : deux salles (salles 1 et 2) composées de deux parcs de cinq porcs éloignés de 40 cm et séparés par une bâche ; une salle (salle 3) d'un parc de trois porcs témoins. Dans les salles 1 et 2, un porc d'un des deux parcs a été inoculé avec 5ml d'un inoculum d'une des deux souches titrant 10^8 copies/ml. Dans ces salles, quatre porcs étaient en contact direct (CD) et cinq porcs étaient en contact indirect (CID) avec le porc inoculé (I). Des mesures de biosécurité ont été mises en place pour prévenir le transfert mécanique du virus d'un parc à l'autre (ordre de passage, pédiluve). L'essai avec la souche InDel a duré 49 jours post-inoculation (JPI) et celle avec la souche non-InDel 72 JPI.

1.2. Evaluation clinique et prélèvements biologiques

Les poids et la température des animaux ont été relevés avant le début des expérimentations puis de façon hebdomadaire

pour les poids et journalière pour les températures au cours de l'expérimentation. Les signes cliniques ont été observés quotidiennement (diarrhées, vomissement, déshydratation, anorexie...). Des prélèvements de fèces et d'air ont été réalisés avant le début de l'essai, puis l'après-midi suivant l'inoculation, deux fois/jours de 1 à 4 JPI, une fois/jours de 5 à 6 JPI et trois fois/semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation. Des prélèvements de sang ont été effectués : avant le début de l'expérimentation, une fois/semaines de 1 à 4 JPI, puis deux fois/semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation.

1.3. Analyse des prélèvements biologiques et statistiques

Les ARN ont été extraits des fèces, des sérums et des échantillons d'air avec le RNeasy Mini kit (Qiagen, Hilden, Allemagne). La présence de l'ARN du PEDV a été quantifiée par RT-qPCR.

La séroconversion des animaux a été évaluée par test ELISA (kit ID Screen® PEDV Indirect, ID Vet, Grabels, France).

1.4. Statistiques et modélisation

Les comparaisons des gains moyens quotidiens (GMQ) et des charges génomiques virales excrétées selon les statuts (I, CD ou CID) et les souches ont été réalisées avec une ANOVA ou un test de Kruskal-Wallis lorsque les conditions de normalité des données et d'homogénéité des variances n'étaient pas rencontrées. Les paramètres de transmission ont été estimés par modélisation. Un modèle épidémiologique SEIR a été appliqué et les paramètres de transmission (force d'infection λ , taux de transmission direct β , taux de transmission indirect β_b , période de latence δ , durée de l'excrétion σ et le taux de clairance μ) ont été calculés en utilisant une chaîne de Monte-Carlo Markov.

Tableau 1 – Moyenne de la charge génomique virale excrétée dans les fèces (copies/ml de fèces) et nombre de porcs excréteurs

Statut	Souche	JPI	-3	1	1.5	2	3	4.5	5	6	7	14	21	28	49	56	72	
I	InDel	PE ¹	0/2	0/2	0/2	1/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/2	1/2	0/0	0/0	nd ³	nd	
		MCVE ²	0	0	0	5,6×10 ⁸	3,2×10 ⁹	8,3×10 ⁹	7,4×10 ⁹	2,6×10 ⁹	9,1×10 ⁷	8,1×10 ⁴	2,4×10 ⁵	0	0	nd	nd	
	non-InDel	PE ¹	0/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	0/0	0/0	0/0	0/0
		MCVE ²	0	2,4×10 ¹⁰	7,7×10 ¹⁰	1,8×10 ¹¹	1,5×10 ¹¹	2,7×10 ¹⁰	4,5×10 ¹⁰	4,1×10 ¹⁰	1,3×10 ⁹	1,2×10 ⁸	3,9×10 ⁶	0	0	0	0	
CD	InDel	PE ¹	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	1/8	3/8	4/8	6/8	8/8	6/8	4/8	1/8	nd	nd	
		MCVE ²	0	0	0	0	0	9,2×10 ²	2,4×10 ⁷	4,0×10 ⁸	9,4×10 ⁷	8,0×10 ⁷	3,5×10 ⁷	2,0×10 ⁵	6,9×10 ⁴	nd	nd	
	non-InDel	PE ¹	0/8	1/8	3/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	6/8	4/8	2/8	1/8	0/8	0/8	
		MCVE ²	0	1,5×10 ⁶	2,0×10 ⁶	9,0×10 ¹⁰	1,0×10 ¹¹	9,4×10 ¹⁰	7,8×10 ¹⁰	3,2×10 ¹⁰	5,0×10 ⁹	1,2×10 ⁸	2,5×10 ⁷	6,6×10 ⁵	3,5×10 ⁴	0	0	
CID	InDel	PE ¹	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
		MCVE ²	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	non-InDel	PE ¹	0/10	0/10	0/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	7/10	5/10	4/10	1/10	0/10	0/10
		MCVE ²	0	0	0	3,2×10 ¹⁰	1,8×10 ¹¹	3,4×10 ¹⁰	5,0×10 ¹⁰	2,6×10 ¹⁰	6,5×10 ⁹	1,2×10 ⁸	3,5×10 ⁷	1,0×10 ⁷	1,7×10 ⁶	0	0	

¹PE : porcs excréteurs, ²MCVE : Moyenne Charge génomique Virale Excrétée, ³nd : non déterminé

2. RESULTATS

Tous les porcs ont présenté des signes cliniques à l'exception des CID InDel. L'infection par le PEDV a affecté significativement les GMQ des I, des CD InDel et de tous les porcs non-InDel. Un impact sur le GMQ significativement plus important de la souche non-InDel a été observé après inoculation. Une excrétion de PEDV dans les fèces a été notée pour tous les porcs sauf pour les CID InDel qui n'ont pas été infecté tout au long de l'essai. Cette excrétion a débuté plus tôt pour les I et CD non-InDel. Les quantités de virus excrété ont été plus élevées pour les porcs non-InDel que pour les porcs InDel. Une différence statistiquement significative est observée entre les CD InDel et non-InDel entre 1 et 7 JPI. La durée d'excrétion moyenne du PEDV pour les porcs était d'environ 26 jours pour les deux souches (Tableau 1, 2). Le taux de transmission (nombre de porcs nouvellement infectés par porc excréteur et par jour) était significativement plus élevé pour la souche non-InDel que pour la souche InDel (Tableau 2). Le virus a été détecté dans l'air des salles 1 et 2 pour les deux souches. Le nombre de copies génomiques détectée était compris entre 2,08×10¹ et 1,78×10⁴ copies/L d'air pour la souche InDel et entre 1,55×10¹ et 2,11×10⁵ copies/L d'air pour la souche non-InDel. La présence du virus dans l'air a été détectée plus tôt et plus longtemps avec la

souche non-InDel (entre 1 et 35 JPI avec une nouvelle détection à 65 JPI vs entre 2 et 35 JPI pour la souche InDel). La quantité de PEDV retrouvée dans l'air était plus importante avec la souche non-InDel jusqu'à 5 JPI. La présence du PEDV dans les sérums est transitoire et difficilement détectable. Tous les porcs ont présenté une séroconversion pour le PEDV sauf certains CD souche non-InDel.

Tableau 2 – Paramètres de transmission pour les deux souches

Paramètres	Souche InDel	Souche non-InDel
β	1,36(0,6; 5,6)	2,95(1,33; 5,23)
β_b	4E-4 (8E-7; 7E-3)	0,48 (0,11; 1,35)
1/ δ (jours)	2,0 (1,2; 3,6)	0,003 (0,001; 0,15)
σ (jours)	26 (21;32)	26 (21;32)

CONCLUSION

Les résultats montrent que la voie principale de transmission est le contact direct pour la souche InDel alors que la voie aérienne s'ajoute au contact direct pour la transmission du PEDV en cas de souche non-InDel. La quantification de la transmission souligne un taux de propagation plus élevé pour les souches non-InDel que pour les souches InDel. Ces paramètres de transmission permettront de modéliser la transmission des souches InDel et non-InDel à plus grande échelle.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Jung, K., Saif, L.J., 2015. Porcine epidemic diarrhea virus infection: Etiology, epidemiology, pathogenesis and immunoprophylaxis. Vet. J., 204, 134-143.