

Evaluation du prélèvement de fluide oral pour la détection de l'infection par le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) chez les porcs en engraissement

Christelle FABLET (1,2), Françoise POL (1,2), Virginie DORENLOR (1,2), Florent EONO (1,2), Eric EVENO (1,2),
Sophie MAHE (1,2), François-Xavier PEUROIS (1,2), Olivier BOURRY (1,2), Nicolas ROSE (1,2)

(1) Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (Anses), B.P. 53, F-22440 Ploufragan

(2) Université Européenne de Bretagne, France

christelle.fablet@anses.fr

Assessment of oral fluid samples for the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in finishing pigs

The aims of the study were 1/to assess the feasibility of oral fluid (OF) sampling at both individual and group levels as an alternative technique to blood sample in finishing pigs and 2/to estimate the diagnostic performances of an OF-ELISA and a serum-ELISA to detect antibodies to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). The study was carried out in ten herds infected by PRRSV. In each herd, biological samples were taken from two batches of pigs of 16 and at least 22 weeks of age. In each batch, three pens were selected at random. Individual OF and blood samples were taken from every pig in the selected pens. Pen-based OF samples were collected from a chewing device provided for 45 minutes. Sampling time and chewing time/pig were recorded for the individual and pen-based samples respectively. Biological samples were tested by commercial ELISA specific to each specimen. A Bayesian approach was used to analyze ELISA results of the individual sampling technique (OF-ELISA and serum-ELISA) to estimate the sensitivity and specificity of each technique. On average, individual OF sample took 2 minutes 18 seconds per pig (one investigator) while blood sample took 1min 5s (two investigators required). For the pen-based OF sampling, on average 80.6% of the pigs chewed the device. The mean total chewing time per pig was 13min 51s. Although ELISA used on individual OF showed good diagnostic performances (mean sensitivity [Se] 96% and mean specificity [Sp] 92%), those of serum-ELISA were higher (Se=97% and Sp=96%). When applied to pen-based OF, OF-ELISA was found to be as efficient as serum-ELISA. OF sampling appears to be a more friendly technique than blood sampling and is a promising tool for increasing the efficiency and cost effectiveness of infections surveillance in swine herds.

INTRODUCTION

Depuis son émergence à la fin des années 80, le syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) est devenu enzootique dans les zones à forte densité porcine. Compte tenu des conséquences de cette maladie en termes de santé animale, de santé publique vétérinaire et des impacts financiers pour la filière porcine, plusieurs régions dans le monde réfléchissent à la mise en œuvre de programmes collectifs de surveillance, de contrôle ou d'élimination de l'infection par le virus du SDRP. La réalisation de programmes efficaces repose sur la disponibilité de techniques de prélèvement et de laboratoire qui soient rapides, faciles et simples à mettre en œuvre par les gestionnaires de la santé en élevage. Ces techniques doivent également être sensibles et fiables. La prise de sang constitue la méthode de prélèvement sur animal vigile la plus fréquemment utilisée à des fins de diagnostic. Cependant, cette méthode est coûteuse en moyens humains et représente une source de stress pour les animaux. Une alternative prometteuse aux prélèvements sanguins réside dans la collecte de fluide oral (FO) (Prickett et Zimmerman, 2010).

Les objectifs de cette étude sont 1/d'évaluer la faisabilité du prélèvement de FO à l'échelle individuelle et collective chez les porcs en élevage et 2/d'estimer les performances d'un test ELISA, réalisé sur FO ou sérum, pour détecter les anticorps dirigés contre le virus du SDRP.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Echantillonnage et analyses de laboratoire

L'étude a été réalisée dans 10 élevages bretons infectés par le virus du SDRP et dont les porcs en croissance n'étaient pas vaccinés vis-à-vis du SDRP. Dans chaque élevage, deux bandes de porcs âgés de 16 et au moins 22 semaines et élevés sur caillebotis intégral ont fait l'objet de prélèvements. Pour chaque bande de porcs, trois cases d'une même salle ont été tirées au sort. Des prélèvements appariés de FO individuel et de sang ont été réalisés sur tous les porcs des cases sélectionnées. Le FO a été collecté individuellement en présentant au porc un support à mâcher (Sodibox, Nevez, France) à l'aide d'une pince. Le temps de prélèvement a été chronométré. En outre, un dispositif collectif à mâcher en coton (Calipro, Lamballe, France) a été disposé (contre une paroi de la case ou attaché à une potence) dans chaque case à raison d'un support pour 15 porcs. La phase de présentation du support a duré 45 minutes. Pour chaque porc de la case, le temps mis pour venir mâcher le support et le temps passé à le mâcher ont été mesurés. Les supports ont ensuite été essorés manuellement afin de recueillir le FO dans un tube. Chaque prélèvement a été identifié et transporté au laboratoire sous froid positif. Les anticorps dirigés contre le virus du SDRP ont été recherchés dans les sérums et dans les FO par des tests ELISA adaptés à chaque matrice (PRRS X3 et PRRS Oral Fluid, respectivement, IDEXX, Eragny sur Oise, France).

1.2. Estimation des performances de diagnostic

Le statut infectieux des animaux étant inconnu et aucun test parfait (« gold standard ») n'étant disponible, la sensibilité et la spécificité de l'ELISA-FO individuel et de l'ELISA-sérum ont été évaluées en utilisant une approche Bayésienne (Branscum *et al.*, 2005). Les distributions des paramètres *a priori* ont été déterminées sur la base de données externes antérieures à l'étude (Prickett *et al.*, 2008 ; Kittawornrat *et al.*, 2012 ; Kittawornrat *et al.*, 2013 ; Idexx, données du fabricant). L'influence du choix des distributions *a priori* sur les résultats a été évaluée en comparant trois modèles, allant d'un modèle avec des *a priori* peu informatifs (M1) à un modèle comportant des *a priori* plus informatifs (M3). La convergence des modèles a été évaluée par les tests de Raftery et Lewis et la technique de diagnostic de Gelman-Rubin. Les analyses ont été conduites avec le logiciel WinBUGS exécuté depuis le logiciel R.

2. RESULTATS

Au total 834 porcs issus de 10 élevages et répartis dans 59 cases ont été prélevés. Ainsi, 834 prélèvements individuels de FO ont été réalisés et appariés à 834 prélèvements sanguins. 64 échantillons de FO collectifs ont été recueillis. Le temps moyen passé par une personne pour réaliser un prélèvement de FO individuel (approche du porc+mastication du support) a été enregistré pour 602 porcs. Il était de 2 minutes et 18 secondes ($\sigma=1\text{min }40\text{sec}$). Les prélèvements ont été réalisés en moins de 3 minutes pour 80% des porcs. Du FO a pu être obtenu par essorage du support pour tous les prélèvements. En moyenne 3,5 ml de FO ont été récupérés ($\sigma=1,5\text{ml}$). Les prélèvements sanguins (approche du porc, contention et ponction sanguine) ont duré en moyenne 1 min 05 sec ($\sigma=47\text{ sec}$; 791 données) à deux opérateurs. Au cours des 45 min de prélèvement de FO collectif, 80,6% (intervalle de confiance à 95% [IC_{95%}] : [75,8 ; 84,7%]) des porcs sont venus au moins une fois mâcher le support. Pour 84,7% des cases, plus de 60% des animaux sont venus mâcher le support. 81,2% des porcs qui ont mâché au moins un support sont venus dans les 10 premières minutes de prélèvement. Les animaux ont mâché le support pendant en moyenne 13min 51sec ($\sigma=8\text{ min }05\text{sec}$; 669 porcs).

Les anticorps dirigés contre le virus du SDRP ont été recherchés à partir des prélèvements individuels (sérum et FO) de 441 porcs issus de 6 élevages et à partir des 36 prélèvements collectifs correspondant aux 29 cases contenant ces animaux. A l'échelle du porc, 75,9% (IC_{95%}[71,9 ; 80,0%]) des prélèvements sanguins sont considérés positifs vis-à-vis du SDRP à partir de l'ELISA-sérum et 76,2% (IC_{95%} [72,1 ; 80,2%]) des porcs sont trouvés positifs à partir du test ELISA associé au FO individuel. Quel que soit le modèle (M1, M2, M3), le niveau de sensibilité du test ELISA-FO est proche de celui obtenu pour l'ELISA-sérum. La spécificité moyenne de l'ELISA sur FO individuel est inférieure à celle de l'ELISA-sérum même si les intervalles de crédibilité à 95% se recoupent (Tableau 1).

Tableau 1 – Sensibilité (se) et spécificité (sp) moyennes et intervalle de crédibilité à 95% de l'ELISA-SDRP-sérum et de l'ELISA-SDRP-fluide oral (FO) selon trois modèles utilisant différents *a priori* (441 porcs)

| Modèle* | Sensibilité | | Spécificité | |
|---------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | FO | Sérum | FO | Sérum |
| M1 | 0,97 (0,92-1,00) | 0,97 (0,93-1,00) | 0,93 (0,84-1,00) | 0,96 (0,89-1,00) |
| M2 | 0,96 (0,91-0,99) | 0,97 (0,92-1,00) | 0,92 (0,84-0,98) | 0,96 (0,89-1,00) |
| M3 | 0,96 (0,92-0,98) | 0,97 (0,93-1,00) | 0,94 (0,90-0,97) | 0,97 (0,91-1,00) |

** : M1: *a priori* vague sur se et sp FO, M2: *a priori* légèrement informatif sur se et sp FO, M3: *a priori* informatif sur se et sp FO

Sur les 36 prélèvements collectifs analysés par ELISA, les résultats de 33 échantillons concordent avec ceux obtenus à partir des FO individuels des animaux des cases concernées et les résultats de 35 prélèvements collectifs concordent avec ceux obtenus à partir des sérums. Une case considérée négative à partir du FO collectif comporte un porc positif par l'ELISA-FO individuel mais négatif par l'ELISA-sérum. Un second prélèvement collectif négatif correspond à une case contenant un porc positif à partir de l'analyse des deux types de prélèvements individuels. La troisième discordance est relative à un prélèvement de FO collectif positif pour lequel un porc est trouvé positif à partir du sérum mais négatif dans le FO individuel. Les porcs pour lesquels des discordances sont notées entre les prélèvements individuels et collectifs ont néanmoins mâché le dispositif collectif pendant plusieurs minutes.

CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent que le prélèvement de FO, qu'il soit individuel ou collectif, est facilement réalisable en routine chez les porcs en engraissement dans les conditions d'élevage, qu'il est plus respectueux du bien-être de l'animal et moins contraignant en moyens humains que le prélèvement sanguin. Cette étude confirme que la prise d'échantillon de FO constitue une méthode alternative intéressante pour diagnostiquer des infections dans des populations porcines (Prickett et Zimmerman, 2010). Associé à un test ELISA, le prélèvement de FO individuel offre de bonnes performances en termes de sensibilité et spécificité pour détecter l'infection par le virus du SDRP. Même si l'ELISA-FO individuel semble présenter une spécificité légèrement inférieure à celle de l'ELISA-sérum, l'ELISA-FO collectif fournit des performances de diagnostic comparables à celle obtenues par l'ELISA-sérum.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les vétérinaires et les éleveurs qui ont participé à l'étude. Les travaux ont été co-financés par Inaporc, Idexx et Sodibox.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Branscum A.J., Gardner I.A., Johnson W.O., 2005. Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling. *Prev. Vet. Med.*, 68, 145-163.
- Kittawornrat A., Prickett J., Wang C., Olsen C., Irwin C., Panyasing Y., Ballagi A., Rice A., Main R., Johnson J., Rademacher C., Hoogland M., Rowland R., Zimmerman J., 2012. Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antibodies in oral fluid specimens using a commercial PRRSV serum antibody enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 24, 262-269.
- Kittawornrat A., Engle M., Panyasing Y., Olsen C., Schwartz K., Rice A., Lizano S., Wang C., Zimmerman J., 2013. Kinetics of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) humoral immune response in swine serum and oral fluids collected from individual boars. *BMC Vet. Res.*, 9, doi:10.1186/1746-6148-1189-1161.
- Prickett J., Simer R., Christopher-Hennings J., Yoon K.-J., Evans R.B., Zimmerman J.J., 2008. Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in porcine oral fluid samples: A longitudinal study under experimental conditions. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 20, 156-163.
- Prickett J.R., Zimmerman J.J., 2010. The development of oral fluid-based diagnostics and applications in veterinary medicine. *Anim. Health Res. Rev.*, 11, 207-216.