2022. Journées Recherche Porcine, 54, 407-408.

Description du premier cas d'identification d'un nouveau circovirus porcin, le PCV3, en France

Maud CONTRANT (1), Cecilia BERNARD (1), Lionel BIGAULT (1), Christelle FABLET (2), Valérie NORMAND (3), Nicolas ROSE (2), Yannick BLANCHARD (1)

(1) ANSES, Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Génétique Virale et Biosécurité, B.P.53, 22440 Ploufragan, France.

(2) ANSES, Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Epidémiologie, Santé et Bien-Etre, B.P.53, 22440 Ploufragan, France.

(3) Porc.Spective, rue Montgolfier, 56920 Noyal Pontivy, France

maud.contrant@anses.fr

Avec la collaboration de Joaquim Ségalès Coma et Viviane Saporiti

Description of the identified case of a new porcine circovirus, PCV3, in France

Porcine circovirus 3 (PCV3) was first identified by meta-genomics in the United States in 2015 on a farm that had recorded an increase in the mortality rate, a decrease in sow reproduction and clinical signs compatible with nephropathy dermatitis syndrome. Epidemiologically, PCV3 has gradually spread to several countries, including some in Europe, and is currently widely distributed in pigs and wild boars throughout the world. In 2019, a PCV3 infection was identified for the first time in France during suspected atypical circovirosis on a farm with post-weaning growth retardation and withering at the beginning of fattening. Histological examinations performed on 3 animals with typical clinical signs showed lymphoid depletion, lympho-histiocytic infiltration and the presence of syncytial cells that are typical lesions of circovirosis. Immuno-histochemical examination with an anti-CAP PCV2 antibody was found to be positive, but detection of the PCV2 viral genome by qPCR was negative. Qualitative and quantitative PCR of the PCV3 genome carried out on samples from fattening pigs showing signs of atypical circovirosis were found to be positive. SANGER sequencing of PCR products confirmed the presence of the PCV3 viral genome in these pigs. These results show for the first time the detection of PCV3 in the French pig herd associated with clinical manifestations of circovirosis. Research is currently underway to evaluate the real involvement of PCV3 in the various syndromes associated with its presence.

INTRODUCTION

Le circovirus porcin de type 3 (PCV3) appartient à la famille des *circoviridae* et au genre des *circovirus*. Il s'agit du quatrième membre des circovirus capable d'infecter le porc, en plus du PCV1 (Tischer *et al*., 1974), considéré comme non pathogène pour le porc, du PCV2, associé à un ensemble de maladies porcines dont la maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP), avec un impact économique très important pour l'industrie porcine (Allan and Ellis, 2000), et enfin le PCV4, identifié en Chine en 2019 (Zhang *et* al., 2020).

Le PCV3, identifié en 2014 (Palinsky *et al*., 2017 ; Phan *et al*., 2016), est capable d'infecter les porcs de tous âges, certains animaux montrant même une infection persistante, et les signes cliniques associés sont très variés : troubles respiratoires, reproductifs, gastro-intestinaux et neurologiques, ainsi que le syndrome de dermatite et de néphropathie porcine (PDNS). Ce virus est également identifié chez des animaux en bonne santé (Opriessnig *et al*. 2020). Le PCV3 est donc associé à une variété de symptômes comparables à ceux du PCV2, un pathogène majeur du porc. Un premier cas d'infection au PCV3 a été identifié en France en 2019 lors d'une suspicion de circovirose atypique dans un élevage avec un contexte évocateur de la MAP montrant une faible croissance chez les porcs en post-sevrage et un dépérissement en début d'engraissement chez 5 à 10% des animaux suivant les bandes.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Description de l'élevage

L'élevage est de type naisseur-engraisseur avec 130 truies. Il est conduit en 5 bandes avec un intervalle de 4 semaines entre chaque bande et un sevrage des porcelets à 3 semaines de vie. Les reproducteurs sont vaccinés contre les virus influenza A (H3N2, H1N1, H1N2), le parvovirus, le virus du SDRP de génotype 1, *Erysipolathrix rhusiopathiae*, et *Actinobacillus pleuropneumoniae* (autovaccin, Biovar 1 serovars 2 et 7). En plus, les cochettes en quarantaine sont vaccinées contre le *PCV2 et M. hyopneumoniae.* Avant l'apparition des signes cliniques de circovirose atypique, les porcelets étaient vaccinés contre *M. hyopneumoniae* au sevrage et contre *Lawsonia intracellularis* à 7 semaines de vie. En 2019, les performances de croissance sont suboptimales et des signes de dépérissement sont observés sur certains porcs après sevrage. En engraissement, des porcs « blancs » sont notés et certains animaux souffrent de diarrhée.

1.2. Porc et prélèvements

Contexte de la suspicion de circovirose

Dans un premier temps, 3 porcs de 12 semaines de vie présentant des signes de dépérissement, de pâleur et de

diarrhée (pour le porc n°2) sont euthanasiés. Des prélèvements d'amygdale, d'iléon, de nœuds lymphatiques trachéo-bronchique, mésentérique, inguinal et rétropharygien sont prélevés pour la recherche de lésions histologiques. Pour les 3 porcs, l'analyse histologique révèle une déplétion lymphoïde au niveau des nœuds lymphatiques, des amygdales et des plaques de Peyer avec de rares cellules syncitiales. Ces lésions étant imputables au PCV2, les recherches de ce virus par un examen immunohistochimique (IHC) avec un anticorps anti-CAP PCV2 s'avèrent positives sur les nœuds lymphatiques testés de chaque porc, alors que les recherches du génome viral du PCV2 par qPCR à Labocea-Ploufragan puis au laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort s'avèrent négatives.

Choix des porcs et des prélèvements

Pour investiguer la raison de ce résultat non concordant entre la qPCR et l'IHC, 3 autres porcs présentant des signes cliniques compatibles avec une circovirose (pâleur, dépérissement) font l'objet de nouvelles investigations afin de vérifier la présence de lésions histologiques compatibles avec une circovirose, la présence du PCV2 (IHC et qPCR) et du PCV3 (qPCR) sur les amygdales, nœuds lymphatiques trachéobronchique, mésentérique, inguinal, rétropharyngien et iléon).

Aussi, des sérums de 60 porcs d'âges variés en ciblant des bandes ayant été malades (7; 11; 15 et 19 semaines, 15 porcs/gamme d'âge), de 30 porcelets en maternité et de 10 cochettes en quarantaine (à leur arrivée) ont été prélevés afin de réaliser un suivi de l'infection dans l'élevage par qPCR PCV3. Les animaux ayant de la clinique compatible avec une circovirose ont été privilégiés pour les prélèvements, sinon les porcs ont été sélectionnés sans critère spécifique.

1.3. Immunohistochimie (IHC) et Hybridation in situ (HIS)

Des anticorps polyclonal PCV2 (lapin) et anticorps secondaire anti-lapin et -souris ont été utilisées et le système Envision g|2 doublestain system, rabbit/mouse ® (DAKO) – Labocea Ploufragan a permis la révélation.

Les HIS PCV3 ont été réalisés grâce au système RNAscope® 2.5 HD Reagent Kit-RED (Advanced Cell Diagnostics, Newark, CA, USA), avec la sonde PCV3 (catalogue No. 491021).

1.4. Détection génomique du PCV3 et séquençage SANGER

Les prélèvements des 3 porcs ont été broyés et l'ADN extrait à l'aide de colonnes QiaAmp DNA mini kit, puis le génome ADN a servi de matrice pour une amplification de la région de la réplicase (500 nucléotides) et un séquençage SANFER (Franzo *et al.*, 2018). Un outil de diagnostic de type PCR quantitative ciblant une partie du gène de la REP avec des amorces modifiées d'après (Franzo *et al.*, 2018)), CGGCGGGAAATCTGACTGAA et TACCCAACCCCATCACCCC (sens et antisens), plus sensible que la PCR qualitative, a été mis en place à l'ANSES de Ploufragan–Plouzané–Niort (pente : 3.38, R2 : 0.994 et efficacité : 97.58%, seuil de détection à 10 copies).

2. RESULTATS

Pour les 3 porcs, l'analyse histologique révèle une déplétion lymphoïde au niveau des nœuds lymphatiques, des amygdales et des plaques de Peyer avec de rares cellules syncitiales. Ces lésions étant imputables au PCV2, les recherches de ce virus par un examen immunohistochimique (IHC) avec un anticorps anti-CAP PCV2 s'avèrent positives sur les ganglions testés de chaque porc. Cependant, les recherches du génome viral du PCV2 par qPCR à Labocea-Ploufragan puis dans le laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort s'avèrent négatives sur tous les organes testés (en dessous du seuil de détection).

Les tests PCR qualitative PCV3 se sont avérés positifs dans tous les prélèvements testés chez 2 des 3 porcs. Un séquençage SANGER de la région de la REP a ensuite été réalisé afin de confirmer la présence du génome viral du PCV3 chez les deux porcs positifs. Tous les différents prélèvements ont été testés avec la technique de PCR quantitative et montrent une infection au PCV3 (de 2,20E+05 à 6,62E+08 nombre de copies de génome viral/g d'organe). Les nœuds lymphatiques inguinaux et rétropharygiens s'avèrent être les prélèvements avec une charge virale la plus importante. Afin d'approfondir la caractérisation de l'infection au PCV3 des tests d'hybridation in situ (HIS) anti-CAP PCV3 ont été réalisés par le Dr. Joaquim Ségalès sur les prélèvements des 2 porcs positifs au PCV3 par PCR. Les HIS se sont révélées positives sur de nombreux organes dans 3 des 6 prélèvements de chacun des deux porcs.

Les échantillons de sérum prélevés sur 100 animaux ont montré la présence de génome viral chez 7/60 porcs en croissance (de 7,50E+03 à 4,93E+04 copies de génome/mL). La présence du génome viral n'a pas été détectée sur les 10 cochettes et les 30 porcelets en maternité.

CONCLUSION

Ces résultats montrent pour la première fois la détection du PCV3 dans un élevage de porcs Français avec une clinique évocatrice de la MAP. Seulement 2 des 3 porcs sont positifs vis-à-vis du PCV3 malgré les signes cliniques observés. Des animaux sans signe clinique sont également infectés, avec des charges virales faibles dans le sérum. Une surveillance évènementielle du PCV3 à la faveur de suspicions de circovirose, en complément des recherches PCV2 a été initiée. Un test ELISA est en cours de développement afin de pouvoir effectuer des analyses rétrospectives d'infection vis-à-vis du PCV3 dans nos sérothèques ; le PCV3 a été détecté aux USA dans des échantillons datant de 1990 (Franzo *et al.*, 2018).

REMERCIEMENT

Nous remercions Joaquim Ségalès Coma et Viviane Saporiti pour la réalisation des HIS anti-CAP PCV3.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Tischer I., R. Rasch, Tochtermann G., 1974. Characterization of papovavirus-and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell line, Zentralbl. Bakteriol. Orig. A 226, 153-167
- Allan G.M., Ellis J.A., 2000. Porcine circoviruses: a review. J.Vet.Diagn.Invest, 12, 3–14
- Zhang H.H., Hu W.Q., Li J.Y., Liu T.N., Zhou J.Y., Opriessnig T., Xiao C.T., 2020. Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as Porcine circovirus 4, Hunan province China. Transbound Emerg Dis. 67,1057-1061
- Palinski R., Pineyro P., Shang P., Yuan F., Guo R., Fang Y., Byers E., Hause B.M., 2017. A Novel Porcine Circovirus Distantly Related to Known Circoviruses Is Associated with Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome and Reproductive Failure J. Virol. 91,e01879
- Phan T.G., Giannitti F., Rossow S., Marthaler D., Knutson T.P., Li L., Deng X., Resende T., Vannucci F., Delwart E., 2016. Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation Virol. J., 13, 184
- Opriessnig T., Karuppannan A.K., Castro A.M.M.G., Xiao C-T., 2020. Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges, Virus Res., 286, 198044,
- Franzo G., Legnardi M., Centelleghe C., Tucciarone C.M., Cecchinato M., Cortey M., Segalés J., Drigo M., 2018. Development and validation of direct PCR and quantitative PCR assays for the rapid, sensitive, and economical detection of porcine circovirus 3. J Vet Diagn Invest., 30, 538-544