

Identification de biomarqueurs de contamination des camions de transport de porcs



Mireille LE DIMNA (1), Isabelle CORRÉGÉ (2), Romain RICHARD (2), Charlie CADOR (3), Yannick BLANCHARD (4), Olivier BOURRY (1)

1) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Virologie Immunologie Porcines, Zoopôle, BP 53, 22440 Ploufragan, France
 (2) IFIP, boulevard du Trieux, 35740 Pacé, France
 (3) Cooperl Innovation SAS, 1 rue de la gare, 22640 Plestan, France
 (4) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Génétique Virale et Biosécurité, Zoopôle, BP 53, 22440 Ploufragan, France

POURQUOI ?

Les transports de porcs représentent un risque important d'introduction ou de propagation de maladies telles que la Peste Porcine Africaine sur notre territoire. En termes de sécurité sanitaire, le transport d'animaux est susceptible de jouer également un rôle dans la transmission d'agents zoonotiques alimentaires tels que le virus de l'hépatite E ou les salmonelles. L'objectif de cette étude est d'identifier des biomarqueurs omniprésents, bactériens et viraux, de contamination des camions de transport de porcs. La diminution ou la disparition de ces biomarqueurs pourrait permettre de vérifier l'efficacité du nettoyage et de la désinfection (N/D) des camions.

COMMENT ?

Cartographie des agents viraux et bactériens présents

100 camions non nettoyés après déchargement à l'abattoir, prélèvement par chiffonnette sur la rampe de déchargement



Analyse NGS (IonProton-Lifetechnologie) sur les pools de 10 prélèvements

Identification de bactéries et virus à tropisme digestif et respiratoire

PCR pour confirmer leur présence dans les pools de 10 chiffonnets puis dans les 100 prélèvements individuels

Les bactéries et virus omniprésents (détectés dans 100% des prélèvements) sont retenus

Vérification de l'abattement des agents sélectionnés après N/D

8 camions avant et après nettoyage désinfection (N/D) à l'abattoir, prélèvement par chiffonnette sur 3 sites de chaque camion



PCR avant et après N/D pour détecter les agents précédemment retenus

Agents retenus si détectés entre 30 et 95% après N/D permettant d'évaluer les progrès dans le processus de N/D

CARTOGRAPHIE DES AGENTS VIRAUX ET BACTÉRIENS PRÉSENTS

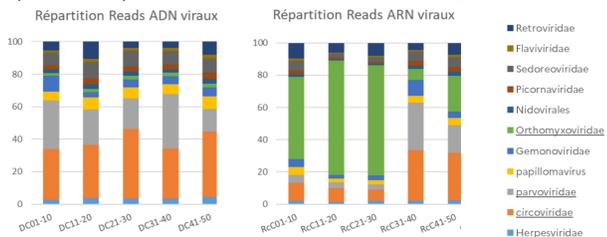
Résultats de NGS obtenus sur les 100 chiffonnets

❖ Pourcentage des séquences virales et bactériennes dans les pools de 10 chiffonnets (6 pools présentés)



- Résultats homogènes pour les 10 pools
- L'essentiel des Reads concerne les eucaryotes, 40% des bactéries
- Très faible proportion de virus (0,1%)

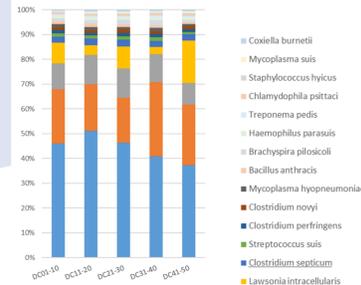
❖ Pourcentage des Reads viraux par famille de virus obtenus à partir des pools de 10 chiffonnets (5 pools présentés)



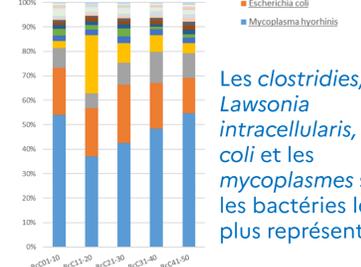
- Les *Circoviridae*, les *Parvoviridae* et les *Orthomyxoviridae* sont les familles de virus les plus représentées

❖ Pourcentage des Reads bactériens obtenus à partir des pools de 10 chiffonnets (5 pools présentés)

Répartition Reads ADN bactériens



Répartition Reads ARN bactériens



- Les *clostridies*, *Lawsonia intracellulairis*, *E. coli* et les *mycoplasmes* sont les bactéries les plus représentées

Résultats des PCR de confirmation des résultats de NGS

❖ Sur les pools de 10 prélèvements

Agents biologiques recherchés par PCR dans les pools de 10	Pourcentage de détection
Circovirus (PCV 1 à 3)	100
Rotavirus	30
Influenza A porcine	10
Influenza C	0
Hépatite E	80
Virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcine (SDRP)	0
Adénovirus porcine (PApV)	100
Teschovirus porcine (PTV)	100
Parvovirus	90
<i>E. coli</i>	100
<i>Lawsonia intracellulairis</i>	100
<i>Mycoplasma spp.</i>	100
<i>Clostridium spp.</i>	100

➢ 3 virus et 4 bactéries détectés dans les 100 prélèvements sont des biomarqueurs potentiels :

- Les *Circovirus*, les *Adénovirus porcins* (PApV) et les *Teschovirus porcins* (PTV).
- *E. coli*, *Lawsonia intracellulairis*, *Mycoplasma spp.* et *Clostridium spp.*

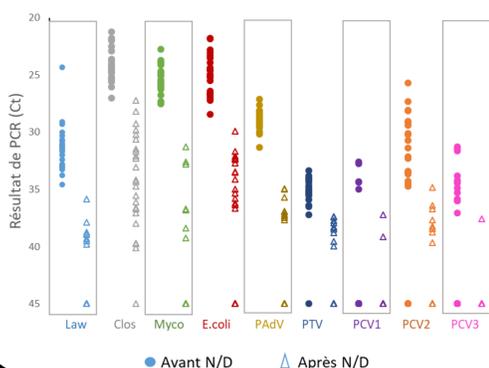
❖ Sur les 100 prélèvements

Agents biologiques recherchés par PCR dans les 100 chiffonnets	Pourcentage de détection
Circovirus (PCV 1 à 3)	100
Adénovirus porcine (PApV)	100
Teschovirus porcine (PTV)	100
<i>E. coli</i>	100
<i>Lawsonia intracellulairis</i>	100
<i>Mycoplasma spp.</i>	100
<i>Clostridium spp.</i>	100

VÉRIFICATION DE L'ABATTEMENT DES AGENTS SÉLECTIONNÉS

Résultats des PCR avant et après N/D

Site de prélèvement sur le camion	Moment	Pourcentage de détection								
		<i>Lawsonia intracellulairis</i> (Law)	<i>Clostridium spp.</i> (Clos)	<i>Mycoplasma spp.</i> (Myco)	<i>E. coli</i>	PApV	PTV	PCV1	PCV2	PCV3
Cloison	avant N/D	100	100	100	100	100	88	25	75	13
	après N/D	38	100	63	75	50	38	25	50	0
Rampe	avant N/D	100	100	100	100	100	100	25	63	88
	après N/D	13	88	13	63	50	63	0	38	13
Sol	avant N/D	100	100	100	100	100	100	13	100	63
	après N/D	50	100	13	63	13	25	0	13	0



- 5 agents biologiques répondent aux 2 critères :
 - Etre détecté à 100% avant N/D
 - Etre détecté entre 30 et 95% après N/D
- 4 bactéries :
 - *E. coli*,
 - *Lawsonia intracellulairis*,
 - *Mycoplasma spp.*,
 - *Clostridium spp.*
- 1 virus :
 - Les *Adénovirus porcins* (PApV)

CONCLUSION

Les *Adénovirus porcins* (PApV), *L. intracellulairis*, les *mycoplasmes*, les *clostridies* et *E. coli* ont été détectés systématiquement avant et entre 30 et 95% des échantillons après N/D.

Cette omniprésence et le taux d'abattement qu'ils présentent après le N/D des camions font de ces pathogènes de potentiels biomarqueurs pour valider le N/D des camions après le transport de porcs.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la région Bretagne pour le financement de cette étude ainsi que les entreprises (Cooperl, Socopa, Eureden) qui ont participé à l'étude.

