

OPTIMISATION ET BONIFICATION DES MÉTHODES DE DÉTECTION DES VIRUS SRRP ET INFLUENZA À LA FERME

Christian Klopfenstein, DMV, Ph. D

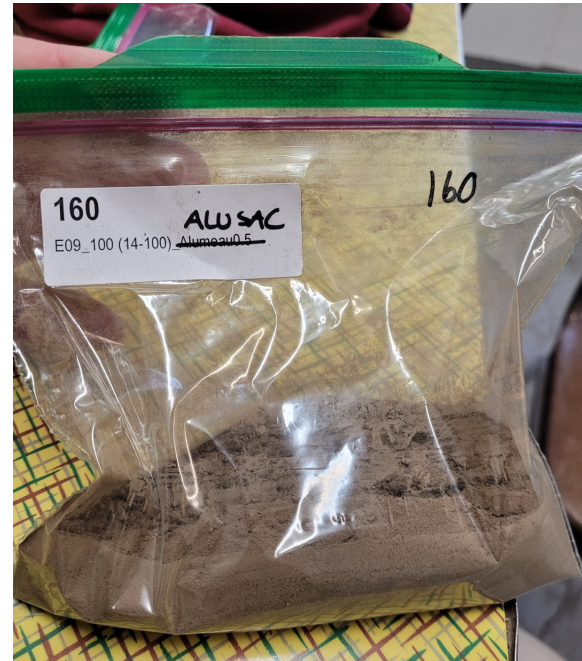
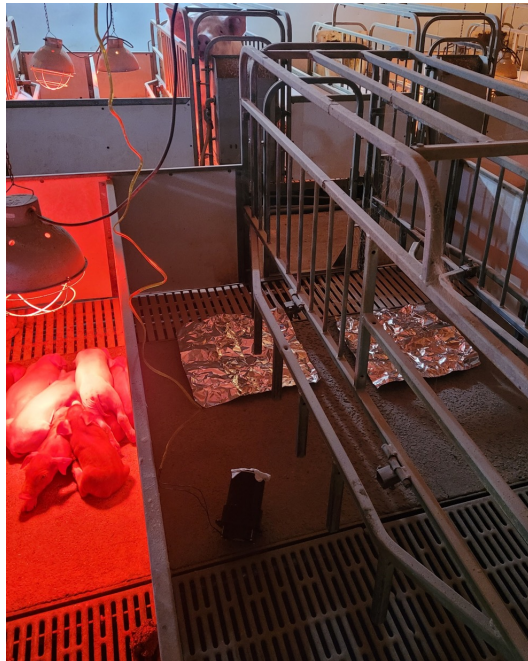
Claudia Coulombe, TSA

Marie-Claude Poulin, DMV, consultante

27 septembre 2023

Objectif du projet

Valider les fonctionnalités de méthodes de collectes d'échantillons alternatives (poussières, langues...) dans un contexte de ferme commerciale.



Principales conclusions du projet 2018-2020

- Le virus PRRS était facile à trouver dans les échantillons de poussières (aérosols) avec les outils ALU et XFAN.
- Ces méthodes pourraient probablement être utilisées comme outils de diagnostic pour identifier la présence de virus (SRRP, Influenza, etc.) chez les porcs des élevages commerciaux.

Biais important : collecte au pic de la phase épidémique (J14)

Collecte d'aérosols et de poussières dans un parc distant des animaux (5-8 m)



CDPO

Le projet 2021-2023, une collaboration RSB, CSRN, CDPQ et EPQ

Objectif du projet

- Valider les fonctionnalités de méthodes de collectes d'échantillons alternatives dans un contexte de ferme commerciale.

Projet dans les fermes commerciales (Juin 2021 - Décembre 2022)

- Réalisation dans 59 lieux de production (Beauce, Lanaudière et Mauricie)
 - ✓ Réseau Santé Beauce (RSB) avec Stéphane Laberge et Shanon Simard
 - ✓ CLÉ-Santé Rive-Nord (CSRN) avec Geneviève Parent et Hélène Fecteau

Deux virus, SRRP + Influenza

- Fermes avec des animaux présumés positifs
- Échantillonnage de convenance: Quand ça adonne (convenance)

Le projet 2021-2023, une collaboration RSB, CSRN, CDPQ et EPQ

Réalisation : plusieurs lieux et producteurs

- 19 maternités (jour 3 et jour 21)
- 15 pouponnières (jour 14 et jour 56)
- 25 engraissements (jour 14, jour 56 et jour 100)

Coordination et supervision

- Claudia Coulombe et Marie-Claude Poulin

Vétérinaires impliqués

- Vétérinaires impliqués dans le RSB et du RSRN
- Vétérinaires des fermes participantes

Évaluation ponctuelle (ÉP, 5) et évaluation sur une longue période (LP, 3)

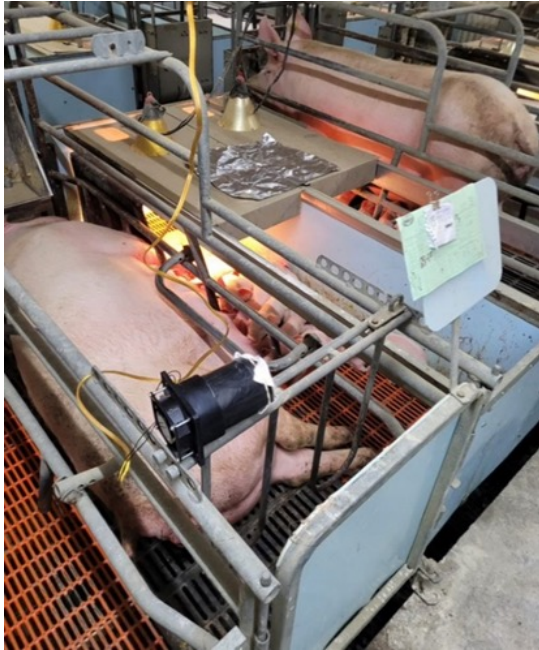
Aérosols (poussières)

- Collecte de la poussière qui tombe sur une feuille d'aluminium (0,25 m²) durant deux heures (ÉP).
- Collecte de la poussière accumulée par le filtre d'un échantillonneur d'air (XFAN) qui fonctionne durant deux heures (ÉP).
- Collecte de la poussière qui tombe sur une feuille d'aluminium sur une longue période (LP, 18 - 86 jours).
- Ramassage de la poussière accumulée sur les surfaces durant la période de séjour des porcs dans le local (LP, 21 - 100 jours).

Fluides corporels

- Collecte de fluides oraux (FO) avec des cordes accessibles aux porcs durant environ 30 minutes (ÉP).
- Collecte des fluides testiculaires obtenus lors de la castration (ÉP).
- Collecte de FO des porcelets par le passage d'une lingette sur les glandes mammaires (ÉP).
- Collecte des fluides obtenus de morceaux de langues des porcs qui sont morts durant la période de séjour des porcs dans le local (LP).

EXEMPLE D'UNE ÉVALUATION PONCTUELLE (ÉP)



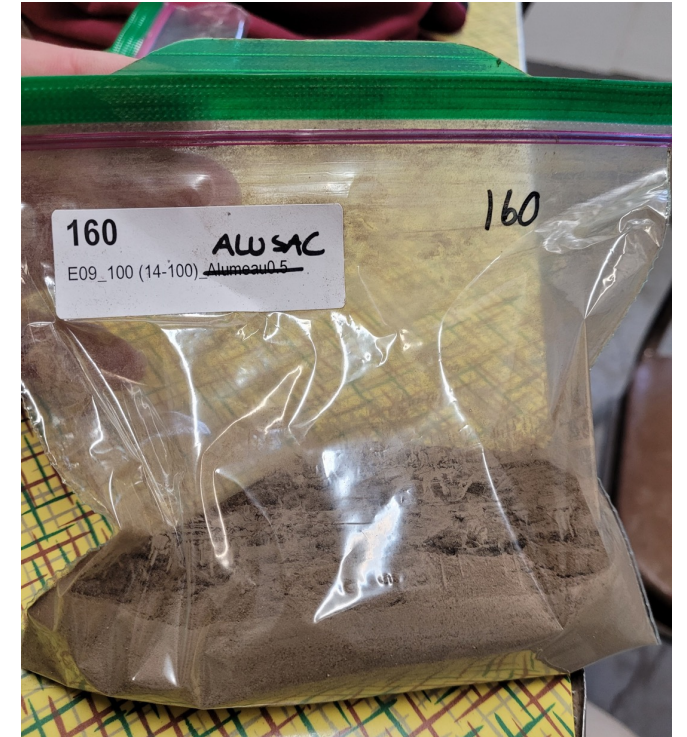
EXEMPLE D'UNE ÉVALUATION SUR UNE LONGUE PÉRIODE (LP)



Jour 14-100



Jour 56-100



Dispositif expérimental

Type de projet de recherche

- Étude terrain basée sur la participation volontaire

Plan d'échantillonnage (Prévisions)

- 59 locaux avec des animaux présumés positifs pour le SRRP et/ou Influenza
- Nombre d'échantillons par local = 6 à 9 échantillons
- **Nombre de tests = 4-6 tests par virus (Influenza et SRRP)**

Statut des animaux d'un local (Réalité)

- Présumé positif si au moins 1 échantillon est suspect ou positif (PCR)
- Présumé négatif si tous les échantillons étaient négatifs
 - ✓ Le virus n'était pas présent chez les prélèvements et les animaux du local... pour le site ?
 - ✓ Le virus était présent dans l'échantillon mais le test est négatif (faux négatif, méthode de labo.)
 - ✓ Les 4 à 6 échantillons testés ne contenaient pas de virus (labo OK) mais le virus était présent dans le local (faux négatif...)
 - ✓ Le virus était absent des prélèvements, des animaux du local mais présent ailleurs dans l'élevage (faux négatif...)

Résultats pour le SRRP

Performances opérationnelles de deux catégories de prélèvement pour trouver le virus du SRRP

| Local | Sites ¹ | Fluides corporels ² | Poussières ³ | Fluides + Poussières ⁴ |
|---------------|--------------------|--------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| Maternité | 10/19 (53%) | 6/9 (67%) | 5/10 (50%) | 8/10 (80%) |
| Pouponnière | 12/15 (80%) | 9/12 (75%) | 10/12 (83%) | 12/12 (100%) |
| Engraissement | 23/25 (92%) | 23/23 (100%) | 9/23 (39%) | 23/23 (100%) |
| Total | 45/59 (76%) | 38/44 (86%) | 24/45 (53%) | 43/45 (96%) |

¹ Au moins un échantillon suspect ou positif pour le virus du SRRP (Ct < 35).

² Fluides oraux (cordes ou lingettes mammaires), fluides testiculaires ou ceux qui sont obtenus de morceaux de langues.

³ Poussières (aérosols) collectées sur un papier d'aluminium (> 15 jours) ou sur les surfaces.

⁴ Combinaison de deux échantillons pour trouver le virus sur un même lieu.

Résultats pour l'Influenza A

Performances opérationnelles de deux catégories de prélèvement pour trouver le virus influenza

| Local | Sites ¹ | Fluides corporels ² | Poussières ³ | Fluides + Poussières ⁴ |
|---------------|--------------------|--------------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| Maternité | 11/19 (58%) | 2/7 (29%) | 10/11 (91%) | 11/11 (100%) |
| Pouponnière | 11/15 (73%) | 5/11 (45%) | 11/11 (100%) | 11/11 (100%) |
| Engraissement | 17/25 (68%) | 8/17 (47%) | 11/17 (65%) | 14/17 (82%) |
| Total | 39/59 (66%) | 15/35 (43%) | 32/39 (82%) | 36/39 (92%) |

¹ Au moins un échantillon suspect ou positif pour le virus de l'Influenza (Ct < 40).

² Fluides oraux (cordes ou lingettes mammaires), fluides testiculaires ou ceux qui sont obtenus de morceaux de langues.

³ Poussières (aérosols) collectées sur un papier d'aluminium (> 15 jours) ou sur les surfaces.

⁴ Combinaison de deux échantillons pour trouver le virus sur un même lieu.

Résultats – Comparaison de 2 méthodes de collectes de poussières

- La collecte de poussières sur un papier d'aluminium \approx la collecte de poussière sur des surfaces sur de longues durées (> 15 jours)
 - ✓ Méthode interchangeable
- Toutefois, détérioration ou disparition de certaines feuilles de papier d'aluminium (> 40 Jours).

À retenir : Collecte de poussières sur surface car + simple

| Méthode | NEG | POS/SUS | Total* |
|---|-----|---------|--------|
| Détection du virus du SRRP (PCR) | | | |
| Aluminium | 35 | 15 | 50 |
| Surface | 35 | 15 | 50 |
| Détection du virus Influenza porcin (PCR) | | | |
| Aluminium | 20 | 30 | 50 |
| Surface | 23 | 27 | 50 |
| *Même jour et même local avec les deux procédures | | | |

Autres méthodes alternatives testées

Langues

Technique : collecte et l'accumulation de morceaux de langues de porcs morts

- Bon potentiel pour faire la recherche du virus du SRRP
- Pas de congélateur pour conserver ce type de matériel
- Peu d'intérêt par le personnel à réaliser la procédure
- Trop peu d'échantillon pour conclure

Lingettes mammaires

Technique : collecte de fluides oraux de porcelets par le passage d'une gaze sur les mamelles de la truie

- Bon potentiel pour faire la recherche pour le SRRP et influenza
- Trop peu d'échantillon pour conclure

XFAN, trop compliqué et moins performants que les alternatives

Idées à retenir pour la gestion de...

- **du SRRP** : les résultats de ce projet suggèrent qu'il faudrait faire une recherche de virus sur deux types d'échantillons (fluides corporels et poussières) pour préciser le statut SRRP des animaux d'un local.
- **de l'influenza** : les excellentes performances des tests réalisés sur les poussières étaient totalement inattendues et constituent une trouvaille qui sera très utile pour le processus de diagnostic de la présence du virus de l'influenza dans les élevages porcins. Il est important de mentionner que les quantités de virus trouvées dans les poussières étaient suffisantes pour faire un diagnostic, mais qu'elles sont globalement insuffisantes pour réaliser un séquençage.
- **des deux virus** : considérer l'option de faire des tests sur deux types d'échantillons (fluides corporels + poussières) pour le diagnostic

Idées à retenir pour la recherche de virus sur les poussières...

Aspect technique (laboratoire)

- Le personnel du laboratoire de la faculté de médecine vétérinaire a dû développer et optimiser ses processus pour être en mesure de détecter la présence du virus dans les poussières. Bref, avant d'adopter des tests de diagnostic basés sur la collecte la poussière il est important de vérifier si le laboratoire a la capacité de gérer ce type d'échantillon.
- La poussière d'élevage c'est BEAUCOUP de poussière d'aliments (farine).
 - ✓ La farine + eau = colle

Utilité sur le terrain

- **Méthode diagnostique (présent absent)**
 - ✓ Les résultats de ce projet montrent que c'est des processus à envisager
- **Culture et séquençage**
 - ✓ Les résultats de ce projet montrent que c'est des processus à envisager
 - ✓ Peu de virus (CT > 30) et beaucoup de contaminants dans la poussière

Conclusions

La collecte et l'analyse des aérosols (poussières) est un processus simple à réaliser

- efficace pour faire le diagnostic de la présence du virus du SRRP
- processus très prometteur pour faire le diagnostic de la présence du virus de l'influenza
- pas bon pour le séquençage 😞

La combinaison de deux tests (fluides corporels + poussières) devrait être considérée

Vérifier si le laboratoire a la capacité de gérer ce type d'échantillon.

Équipe de réalisation

| | |
|-------------------------------|---|
| Répondant | Christian Klopfenstein, Ph. D. (CDPQ) |
| Direction scientifique | Christian Klopfenstein, Ph. D. (CDPQ) |
| Chargées de projet | Claudia Coulombe, TSA (CDPQ) Marie-Claude Poulin, DMV (Consultante) |
| Collaborateurs | Stéphane Laberge, agr. (Réseau Santé Beauce) Shanon Simard (Réseau Santé Beauce) Hélène Fecteau (CLÉ Santé Rive-Nord) Geneviève Parent (CLÉ Santé Rive-Nord) Carl Gagnon, DMV, Ph. D. (Faculté de Médecine vétérinaire) Chantale Provost, Ph. D. (Faculté de Médecine vétérinaire) |
| Rédaction | Christian Klopfenstein, Ph. D. (CDPQ) Claudia Coulombe, TSA (CDPQ) Marie-Claude Poulin, DMV (Consultante) Valérie Dufour, M. Sc., CDPQ |

Merci à nos partenaires financiers !

 PARTENARIAT
CANADIEN pour
l'AGRICULTURE

Canada  Québec  
 

Financement par le Programme de développement
sectoriel (PDS)

Les Éleveurs
de porcs du Québec 

CENTRE DE DIAGNOSTIC VÉTÉRINAIRE
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL



Université 
de Montréal

Clé Santé
Rive-Nord

RÉSEAU
Santé **Beauce**