



Evaluation des risques de transferts de contaminants vitaux liés à l'utilisation d'eau recyclée en abattoir pour le lavage des camions de transport de porcs

Mireille LE DIMNA (1), Gaetan PINSARD (1), Isabelle CORRÉGÉ (2), Alain LE ROUX (2), Lorena GIRRE (2), Charlie CADOR (3),
Marina BRICHET-PIQUET (4), Olivier BOURRY (1)

(1) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Virologie Immunologie Porcines, Zoopôle,
BP 53, 22440 Ploufragan, France

(2) Ifip institut du porc, boulevard du Trieux, 35740 Pacé, France

(3) Farmapro, 6A Parc d'activité du Carrefour de Penthievre, 22640 Plestan, France

(4) Groupe Bigard, Zone Industrielle de, All. de Kergostiou, 29300 Quimperlé, France

olivier.bourry@anses.fr

Assessing risks of viral contamination associated with using recycled water in slaughterhouses to wash pig transport lorries

Given environmental and financial challenges, slaughterhouses are having to use recycled water to clean animal transport lorries. Although the water is treated, could it be a source of viral contaminants for the pigs transported later? The aim of this study was to assess the presence of certain viral contaminants (HEV, Circovirus and PRRS) in recycled water from slaughterhouses, and then to assess the infectivity of any viruses detected in an *in vivo* assay. Recycled water was sampled three times per day on four dates at five slaughterhouses. Genome of predefined viral contaminants was detected by PCRs. The PCR results showed very frequent detection of the Porcine Circovirus 2 genome and occasional detection of the HEV genome. A volume of concentrated or unconcentrated water was administered oronasally to two groups of three SPF pigs. The animals were monitored for 41 days. The clinical data and various virological and serological analyses revealed no evidence of viral contamination of the pigs. This study showed that the genome of certain viruses can be detected in the recycled water of slaughterhouses used to wash lorries, but that this water does not appear to contain infectious viral particles that could contaminate pigs during transport.

INTRODUCTION

Compte tenu des enjeux environnementaux et financiers, certains abattoirs utilisent de l'eau recyclée pour le nettoyage des camions de transport d'animaux. Il est important de vérifier si cette eau, malgré un traitement de désinfection, peut être la source de contaminants vitaux pour les porcs transportés ensuite dans ces camions.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la présence de certains contaminants vitaux, notamment le virus de l'hépatite E (HEV), les circovirus porcins de type 2 et 3 (PCV2-3) et le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) dans l'eau recyclée de différents abattoirs puis d'apprécier, lors d'un essai *in vivo*, l'éventuelle infectiosité des virus détectés.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Analyses des eaux recyclées

Soixante prélèvements d'eau ont été réalisés sur l'aire de lavage dans cinq abattoirs français à quatre dates (entre fin septembre et début novembre) avec trois prélèvements chaque jour espacés entre eux par le lavage d'au moins deux camions.

Soixante-dix millilitres de chaque prélèvement d'eau ont été

déposés sur une colonne Centricon® plus -70 -10kD (Millipore) et centrifugés afin d'obtenir un volume concentré final d'environ 400 µl. Les acides nucléiques ont ensuite été extraits à partir de 200 µl d'eau concentrée avec le kit NucleoMag® RNA/DNA Water (Macherey Nagel). Le HEV (Barnaud *et al.*, 2012), les circovirus porcins de type 2 et 3 (Chen *et al.*, 2021) et le virus du SDRP (Adiagene) ont été recherchés par PCR.

1.2. Essai *in vivo*

Les eaux d'un des cinq abattoirs précédemment étudiés et présentant systématiquement du génome du PCV2 ont été de nouveau prélevées à la même période de l'année. Trois-cent cinquante millilitres d'eau ont été concentrés comme précédemment (facteur de concentration de 477). L'eau avant et après concentration a été analysée par PCR pour vérifier la présence du génome des PCV2-3 et celle éventuelle d'autres pathogènes porcins. La recherche bactériologique de différentes bactéries susceptibles d'infecter le porc a été réalisée afin de mettre en place une antibiothérapie visant à protéger les porcs de l'essai d'une éventuelle infection bactérienne.

L'étude *in vivo* a été évaluée par le comité d'éthique n°16 et autorisée par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche (APAFIS #41875-2023032111546058 v2).

Douze porcs exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS) ont été inoculés avec l'eau par voie oronasale pour étudier l'infectiosité des virus détectés par PCR. Trois porcs ont reçu 35 ml d'eau recyclée non concentrée, trois autres le volume d'eau concentrée correspondant à 350 ml d'eau recyclée (ajusté à 35 ml) et six animaux témoin ont été inoculés avec de l'eau stérile. Pendant 41 jours post-inoculation, un prélèvement sanguin et un écouvillon rectal (ER) ont été réalisés sur chaque animal de façon hebdomadaire. Des PCR permettant les détections de PCV2 et PCV3, de l'adenovirus porcin (PAdV) (Hundesa *et al.*, 2009), du teschovirus porcin (PTV) (Jones et Muehlhauser, 2015), et du HEV ont été mises en œuvre sur le sang et/ou les écouvillons et/ou les organes prélevés lors de l'autopsie (ganglions inguinaux, poumons et rate). Des tests sérologiques (ELISA) ont été réalisés avec des kits commerciaux pour mettre en évidence les anticorps dirigés contre le PCV2 (Synbiotics) et le PCV3 (Biostone).

2. RESULTATS

2.1. Analyses des eaux recyclées

Les résultats de PCR montrent une détection très fréquente (74 % des prélèvements) du génome de PCV2 et occasionnelle des génomes du HEV (24 %) et du PCV3 (18%) (Tableau 1). Le génome du SDRP n'a été détecté dans aucun prélèvement.

Tableau 1 – Détection des virus par PCR dans les prélèvements d'eau recyclée

Virus ¹ recherchés par PCR	Nombre de prélèvements positifs (n=60)
PCV2	44 (74 %)
PCV3	11 (18 %)
HEV	14 (24 %)
SDRPV	0 (0 %)

¹ PCV : *circovirus porcin*, HEV : *virus de l'hépatite E*, SDRPV : *virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin*

2.2. Résultats de l'essai *in vivo*

Les analyses PCR ont permis de détecter dans l'eau (concentrée) le génome de PCV2 (Cycle threshold (Ct) : 33), PCV3 (Ct : 35), PAdV (Ct : 36), PTV (Ct : 38) et HEV (Ct : 38). Les tests *in vitro* à partir des prélèvements d'eaux n'ont pas permis d'isoler des souches de PCV2 et HEV. L'administration des eaux à des porcs

EOPS, modèles plus sensibles que les modèles *in vitro*, a pour objectif d'évaluer la possibilité qu'un porc puisse s'infecter par un des virus détectés en PCR lors de son transport, avec des résidus d'eau recyclée utilisée pour le nettoyage du camion.

Suite à l'inoculation d'eau recyclée concentrée ou non, les données cliniques n'ont révélé aucun signe clinique d'infection (absence de fièvre, de toux ou de diarrhée, gains de poids équivalent à ceux des animaux contrôles, *etc.*). Le suivi virologique et sérologique post-inoculation n'a permis de mettre en évidence aucune contamination virale vis-à-vis des virus testés, que ce soit au niveau virologique ou sérologique (Tableau 2).

Tableau 2 – Résultats du suivi virologique et sérologique des six porcs inoculés avec de l'eau recyclée

Virus ¹	Nombre de prélèvements positifs
	détectés par PCR
PCV2	0 (P ² = 7 / M ³ : sérum + 3 tissus)
PCV3	0 (P = 7 / M: sérum + 3 tissus)
HEV	0 (P = 7 / M: ER ⁴)
PAdV	0 (P = 7 / M: ER)
PTV	0 (P = 7 / M: ER)
En anticorps anti-	détectés par ELISA
PCV2	0 (P=7)
PCV3	0 (P=7)

¹ PCV : *circovirus porcin*, HEV : *virus de l'hépatite E*, PAdV : *adenovirus porcin*, PTV : *teschovirus porcin*, ²P : nombre de point de prélèvement, ³M : matrice, ⁴ER : *écouvillon rectal*

CONCLUSION

Cette étude montre qu'il est possible de détecter le génome de certains virus dans l'eau recyclée utilisée en abattoir pour le lavage des camions de porcs. Néanmoins ces eaux ne semblent pas contenir de particules virales infectieuses pouvant contaminer les porcs lors des transports suivants.

Les auteurs remercient la région Bretagne pour le financement de cette étude, les entreprises (Cooperl, Socopa, Eureden) qui ont participé à l'étude et le personnel du Service de Production de porcs Assainis et d'Expérimentation du Laboratoire Anses de Ploufragan-Plouzané-Niort pour la mise en œuvre de l'étude in vivo.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barnaud E., Rogee S., Garry P., Rose N., Pavio N., 2012. Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Appl Environ Microbiol*, 78, 5153-5159.
- Chen N., Xiao Y., Li X., Li S., Xie N., Yan X., Li X., Zhu J., 2021. Development and application of a quadruplex real-time PCR assay for differential detection of porcine circoviruses (PCV1 to PCV4) in Jiangsu province of China from 2016 to 2020. *Transbound Emerg Dis*, 68, 1615-1624.
- Hundesa A., Maluquer de Motes C., Albinana-Gimenez N., Rodriguez-Manzano J., Bofill-Mas S., Sunen E., Rosina Girones R., 2009. Development of a qPCR assay for the quantification of porcine adenoviruses as an MST tool for swine fecal contamination in the environment. *J Virol. Methods*, 158, 130-135.
- Jones T.H., Muehlhauser V., 2015. Survival of Porcine teschovirus as a surrogate virus on pork chops during storage at 2 degrees C. *Int. J. Food Microbiol.*, 194, 21-24.