Fédération des producteurs de porcs du Québec

Fonds de recherche $$$

Article publié dans Porc Québec—Avril 2005

Recherche

LE CIRCOVIRUS PORCIN TYPE 2 (CVP2)

son impact sur la reproduction

Renée Larochelle, Ph. D., Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA), Laboratoire de Saint-Hyacinthe
Ronald Magar, vétérinaire, Ph. D., ACIA, Laboratoire de Saint-Hyacinthe
Andrzej Bielanski, vétérinaire, Ph. D., ACIA, Laboratoire d'Ottawa

Une étude sur l'association du circovirus porcin de type 2 (CVP2) avec les tissus reproducteurs de truies, les ovocytes et les embryons suggère une possibilité d'introduction du virus CVP2 dans un troupeau lors de l'utilisation des techniques de fertilisation in vitro et de transfert embryonnaire. Des mesures de prévention sont toutefois possibles.

L'infection au circovirus porcin de type 2 (CVP2) est largement répandue dans le cheptel porcin, que ce soit au Canada ou ailleurs dans le monde. Au Québec, une récente étude a démontré que 100 % des échantillons de sang, collectés à l'abattoir, contenaient des anticorps contre le CVP2. Ce virus a été identifié comme étant la cause du syndrome de dépérissement postsevrage (SDPS). Mais, il a également été identifié dans des animaux sains. Et maintenant, il est associé à un certain nombre d'autres conditions, dont des problèmes reproducteurs (avortements, porcelets mort-nés, lésions chez les foetus), ce qui suggère une transmission verticale possible du virus.

L'impact du SDPS, maladie «en émergence», sur le cheptel porcin semble varier selon les pays. Mais, l'infection par le CVP2 pourrait avoir une importance économique significative sur le cheptel porcin, car ce virus affecte le système immunitaire. Il pourrait donc prédisposer les porcs à d'autres infections, bactériennes ou virales.

De par le type de cellules que le CVP2 infecte, il est possible que ce virus puisse persister chez les porcs infectés.

En effet, l'étude a permis de détecter la présence de CVP2 chez un même porc pendant au moins huit semaines. Et lors d'une étude de troupeaux, le virus a été détecté dans 40 % des sérums collectés à l'âge de six mois. La possibilité que des truies soient infectées sans présenter de symptômes ne peut donc être écartée.

Avec l'utilisation croissante des technologies de transfert embryonnaire et de fertilisation *in vitro* chez les porcs, et compte tenu du statut très répandu de l'infection au CVP2 dans les troupeaux porcins, il est important d'évaluer l'applicabilité de ces techniques de reproduction en regard de l'infection au CVP2. Deux aspects ont été étudiés:

- la présence et la distribution du CVP2 dans les tissus reproducteurs de truies âgées de 5 à 8 mois;
- l'effet de l'exposition *in vitro* des ovocytes et des embryons au CVP2 et, consécutivement, l'efficacité de différents traitements enzymatiques à débarrasser ces ovocytes et embryons de ce virus.

DISTRIBUTION DU CVP2 DANS LES TISSUS REPRODUCTEURS

Les sérums et tissus reproducteurs de 55 truies (âgés de 5 à 8 mois) ont été collectés à l'abattoir. Les cinq types d'échantillons suivants ont été testés: le sérum, les cellules de l'utérus, les cellules de l'oviducte, le liquide folliculaire (aspiré de follicules ovariens) et les ovocytes.

Les sérums ont été testés pour la présence d'anticorps contre le CVP2. Tous les échantillons ont été testés pour la présence du virus par une épreuve de détection de l'acide nucléique du virus. Avant d'être testés, les ovocytes ont subi dix lavages consécutifs, tels que recommandés par l'International Embryo Transfer Society (IETS).

Les résultats obtenus sont les suivants:

- tous les sérums étaient positifs en anticorps contre le CVP2 et 84 % d'entre eux contenaient du virus CVP2, tel que révélé par la présence d'acide nucléique viral;
- de plus, 56 % des échantillons de cellules de l'oviducte, 36 % de ceux des cellules de l'utérus, 22 % des liquides folliculaires et 11 % des ovocytes étaient positifs au virus;
- le virus CVP2 a ainsi été détecté dans une portion ou l'autre du tractus reproducteur de 78 % des truies, alors que chez 13 % des truies le virus n'a pas été détecté dans les tissus reproducteurs mais a été détecté dans le sérum. Chez seulement 9 % des truies, le CVP2 n'a été détecté, ni dans le sérum, ni dans les tissus reproducteurs.

Il a donc été démontré qu'en plus d'avoir des anticorps contre le CVP2, la majorité des truies étaient infectées, ayant du virus dans leur sang. Il a également été démontré que le CVP2 peut se retrouver dans différents tissus du tractus reproducteur incluant une faible proportion des ovocytes de truies.

Les résultats ont donné des indications précieuses en regard de la contamination possible par le CVP2 lors de l'utilisation de techniques tels la fertilisation *in vitro* et le transfert embryonnaire. Le fait qu'un pourcentage, même faible, de liquides folliculaires et d'ovocytes soit CVP2-positif suggère une possibilité de produire des embryons contaminés lors de la fertilisation *in vitro*, technique qui utilise des pools de ces échantillons. De plus, les cellules de l'oviducte, lesquelles sont utilisées dans le milieu de culture pour favoriser le développement embryonnaire, sont également une source de contamination potentielle. Par conséquent, il y aurait une possibilité d'introduction du virus CVP2 dans un troupeau lors de l'utilisation des techniques de fertilisation *in vitro* et de transfert embryonnaire. Un milieu de culture sans cellules de l'oviducte devrait donc être recommandé pour la production d'embryons fertilisés *in vitro* comme mesure de prévention pour éviter la transmission du CVP2 lors du transfert embryonnaire.

EFFET DU CVP2 SUR LES OVOCYTES ET LES EMBRYONS

Pour la deuxième partie de l'étude, portant sur l'effet de l'exposition *in vitro* au CVP2 sur les ovocytes et les embryons et l'efficacité de différents traitements enzymatiques à débarrasser les ovocytes et les embryons de ce virus, des ovaires ont été prélevés de truies à l'abattoir et les ovocytes ont été collectés de ceux-ci. Les ovocytes lavés ont été exposés expérimentalement au CVP2. À la suite de l'exposition au virus, les ovocytes ont été traités avec différentes enzymes (trypsine, hyaluronidase, DNase/RNase, pronase) pour évaluer l'efficacité de ces enzymes à débarrasser les ovocytes du virus. À la fin des traitements enzymatiques, les ovocytes ont de plus été lavés selon les procédures recommandées par l'IETS avant d'être testés pour la présence du virus CVP2. Des embryons ont également été prélevés de truies, trois à cinq jours après l'insémination, et ces embryons ont été traités de la même façon que les ovocytes, c'est-à-dire exposés au virus, traités avec différentes enzymes puis lavés. Des groupes d'ovocytes et d'embryons non exposés au virus, ainsi que des groupes d'ovocytes et d'embryons exposés au virus et non traités avec les enzymes, ont servi respectivement de contrôles négatifs et positifs. Un total de 259 échantillons expérimentaux contenant des ovocytes ou des embryons ont été testés.

Les résultats obtenus sont les suivants:

- tous les ovocytes et les embryons qui ont été exposés expérimentalement au virus sont devenus infectés (positifs au CVP2) et tous les ovocytes et embryons n'ayant pas été exposés au virus sont demeurés non infectés (négatifs au virus);
- tous les ovocytes et embryons ayant été exposés au virus et ayant par la suite subi différents traitements enzymatiques ainsi que des lavages sont demeurés infectés par le CVP2.

Les résultats suggèrent donc que le CVP2 s'attache fermement tant aux ovocytes qu'aux embryons à la suite d'une infection *in vitro*, et que différentes procédures incluant l'application d'une variété d'enzymes et une série de lavages n'ont pas été efficaces pour détacher le virus et débarrasser les ovocytes et les embryons du virus. Ceci confirme que le CVP2 est un virus très résistant et que les protocoles habituels recommandés par l'IETS ne seraient potentiellement pas suffisants pour rendre les ovocytes et les embryons exempts de CVP2. Il semble donc possible d'introduire dans le système de fécondation *in vitro* une contamination virale, par l'intermédiaire d'ovocytes prélevés de porcs infectés, avec le risque potentiel de produire des embryons fécondés associés avec le CVP2.

Les résultats combinés de ces deux études soulignent l'importance de la vigilance à accorder au CVP2 en matière de fertilisation *in vitro* et de transfert embryonnaire. L'utilisation de systèmes de culture définis pour la production d'embryons *in vitro* est recommandée comme mesure préventive contre la transmission du CVP2 par transfert embryonnaire. Puisque les procédures standards de lavages, avec ou sans enzymes, n'ont pas été efficaces pour désinfecter les ovocytes et les embryons dans la présente étude, d'autres études sont requises pour trouver des procédures aptes à rendre les ovocytes et embryons exempts de CVP2.

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce projet de recherche a été rendue possible grâce à la participation financière de la Fédération des producteurs de porcs du Québec, du Centre d'insémination porcine du Québec inc., de La Coop fédérée et du Programme de partage des frais à l'investissement de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA).