



Dr Livio Heath

Expert en matière de peste porcine africaine
auprès de l'OMSA (Afrique)

Diagnostic et recherche sur la peste porcine africaine



**Cours de formation régional (Afrique)
Analyse des risques liés à l'importation de la peste
porcine africaine**

9 novembre - 14 décembre 2021



Organisation
Mondiale
de la Santé
Animale

World
Organisation
for Animal
Health

Organización
Mundial
de Sanidad
Animal

Le virus



- Les virions du virus de la peste porcine africaine ont une structure multicouche
- Plus de 50 protéines sont incluses dans le virion
- Les protéines à la surface de la particule virale sont des cibles pour la protection médiée par les anticorps
- La principale protéine de capsid est utilisée dans divers tests de diagnostic (VP72/73)

Génome

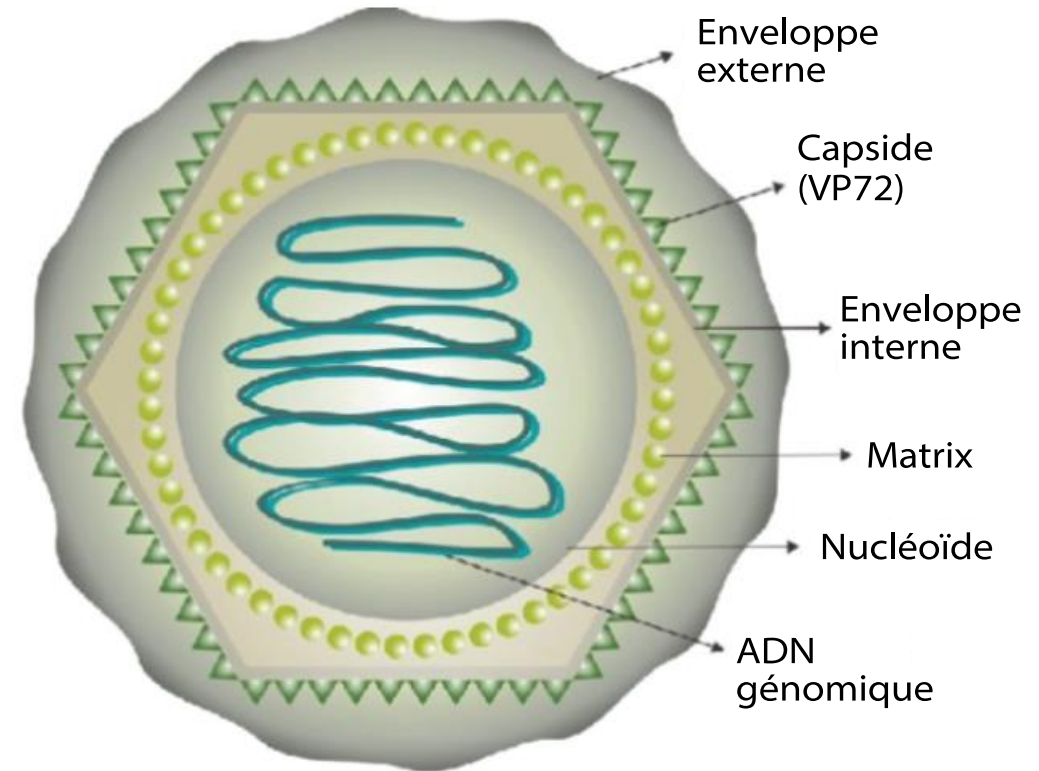
Gros virus à ADN double brin
Taille : 170 – 190Kbp selon la souche virale

Gènes

environ 151-167 gènes pour 113 protéines (fonction et structure)

Contrôle

Aucun vaccin homologué disponible



Source : Freitas; Tavarès 2016

La maladie



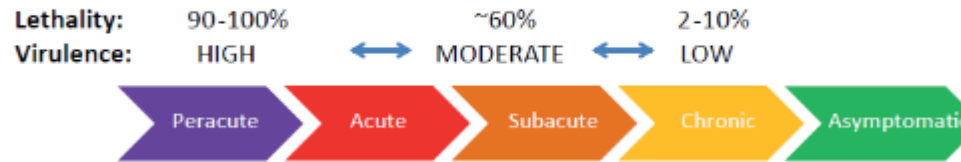
- Les cas aigus de peste porcine africaine peuvent entraîner une mortalité de 100 %

- Certains porcs développent des formes subaiguës ou chroniques de la maladie

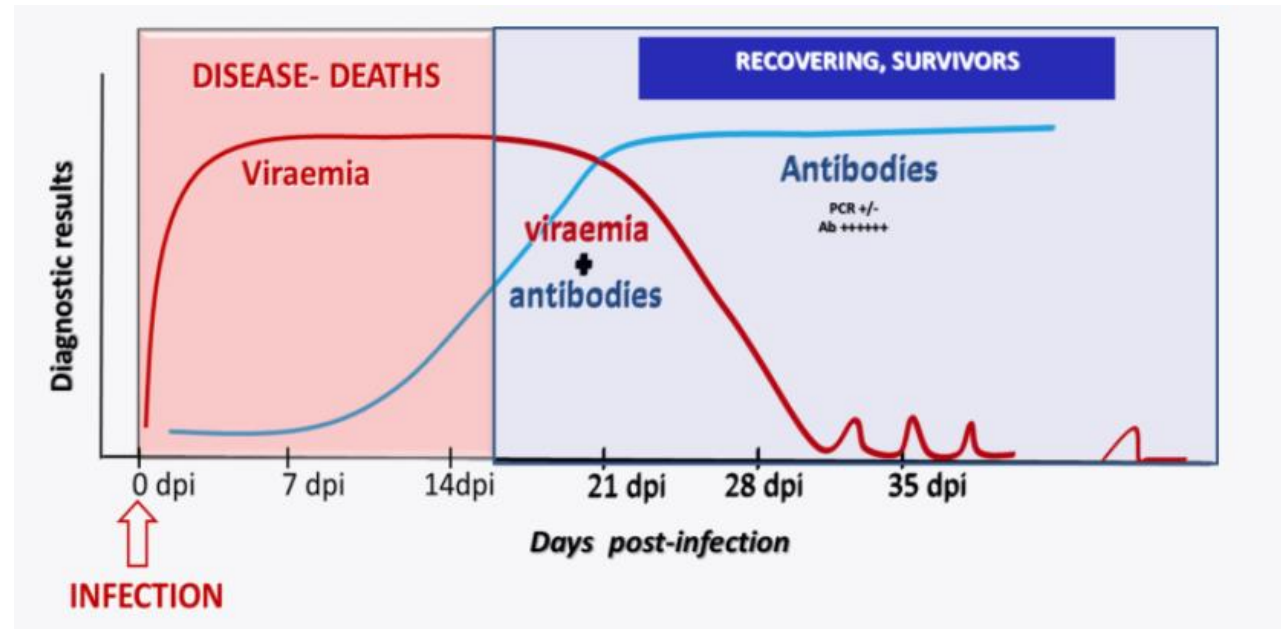
- La virémie se développe en 2-4 jours après infection

- Les animaux gravement infectés meurent souvent avant de développer des anticorps

Clinical forms of African swine fever according to the virulence of the isolate involved



Source: FAO



Source : <https://asf-referencelab.info/>



Exemples de materiel biologique

- Rate, ganglions lymphatiques, reins
- Sérum
- Plasma
- Sang EDTA
- Jus de viande
- Le sang total

Contactez le laboratoire de référence de l'OIE pour obtenir de l'aide et la confirmation des résultats des tests

Diagnostic clinique

Signes cliniques
Lésions
Échantillonnage et expédition

Tests moléculaires

Réaction en chaîne par polymérase (PCR)
Séquençage
Analyse phylogénétique

Détection d'anticorps

ELISA compétitif
Test d'immunoblotting
Pen-side Test pour Détection AC



Diagnostic clinique



- Les porcs sont visiblement faibles avec de la fièvre et se blottissent pour rester au chaud
- Diarrhée sanginolante et zones hyperémiques sur la peau du cou, de la poitrine et des extrémités.
- Cyanose au bout des oreilles
- Lésions nécrotiques sur la peau de l'abdomen, du cou et des oreilles



Source : FAO

Diagnostic clinique



- Mousse dans la trachée due à un œdème pulmonaire sévère
- Ganglions lymphatiques gastro-hépatiques hémorragiques
- Rein hémorragique
- Pétéchies sur le cortex du rein
- Hypertrophie de la rate: splénomégalie

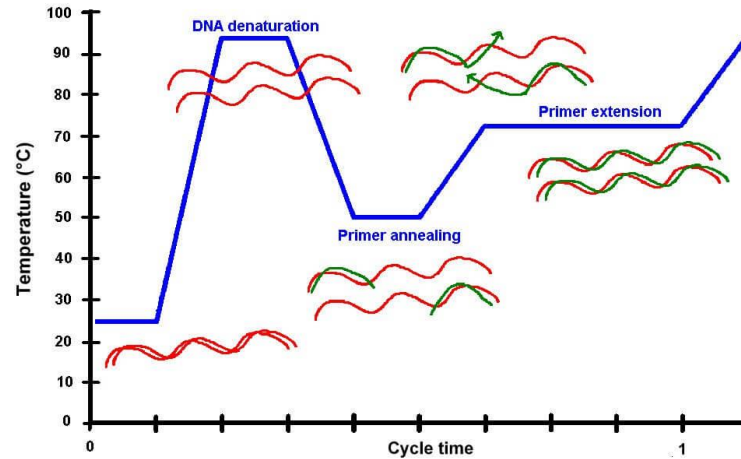


Source : FAO

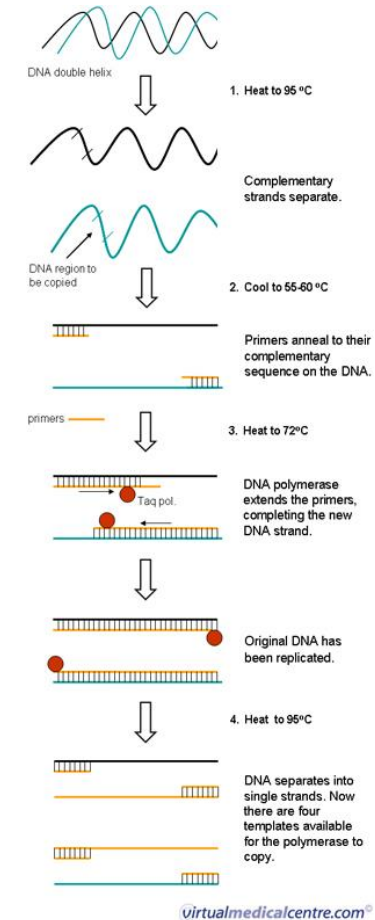
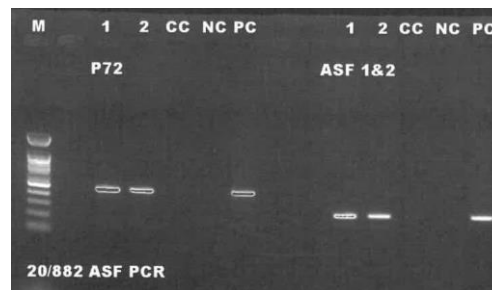


- La PCR est utilisée pour confirmer la suspicion de signes cliniques basés sur la PPA
- Les échantillons de tissus, de sang total et de sérum peuvent être testés par PCR
- Les PCR conventionnelles pour la peste porcine africaine ciblent une région conservée du gène P72
- Le séquençage est souvent utilisé pour confirmer les résultats ambigus obtenus par PCR conventionnelle.

PCR conventionnelle



PCR phylogénétique PCR diagnostique





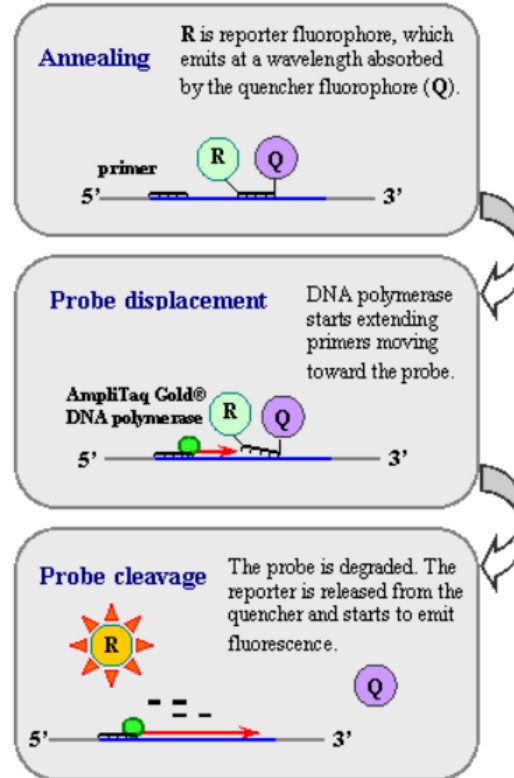
- La PCR en temps réel a largement remplacé la PCR conventionnelle comme méthode préférée pour le diagnostic de la PPA
- Plusieurs kits de test commerciaux, basés sur la technologie TaqMan®, sont disponibles
- La PCR en temps réel est plus sensible et spécifique que la PCR conventionnelle

Spécificité - 99,14%

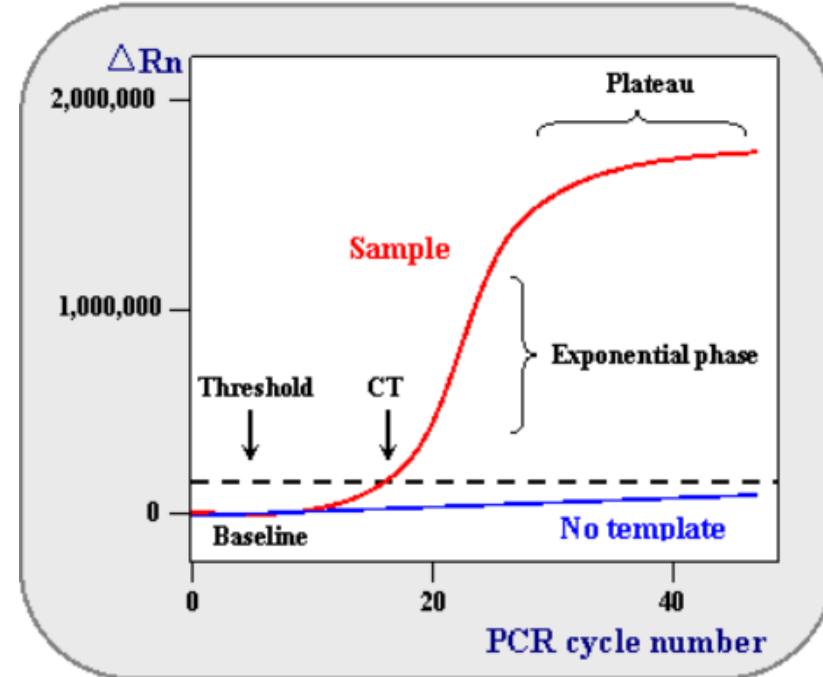
Sensibilité - 98,67%

PCR en temps réel

TaqMan® Applied Biosystems



Model of real time quantitative PCR plot



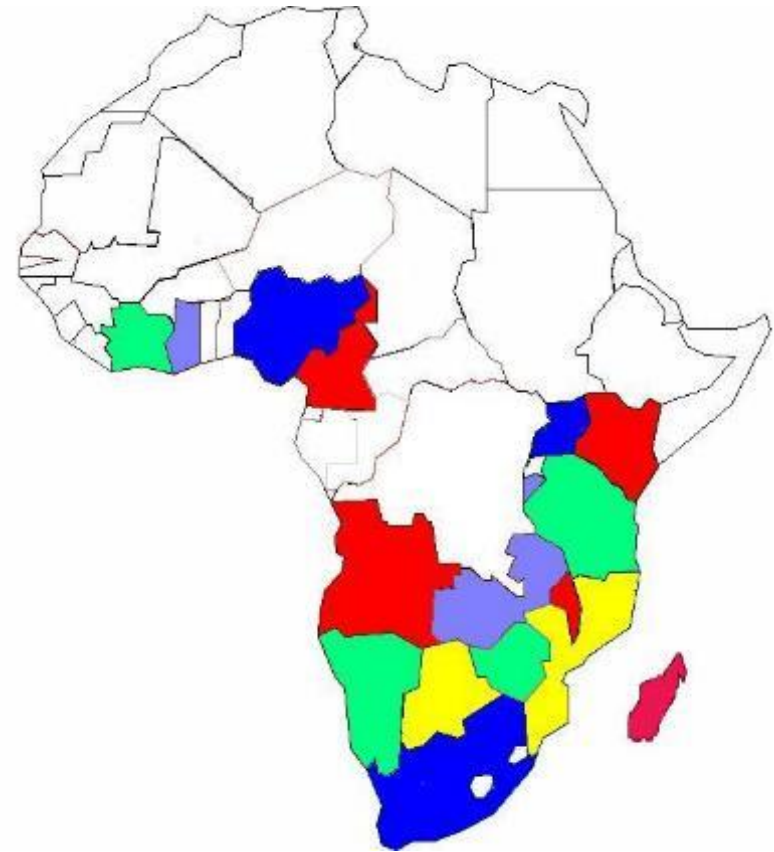
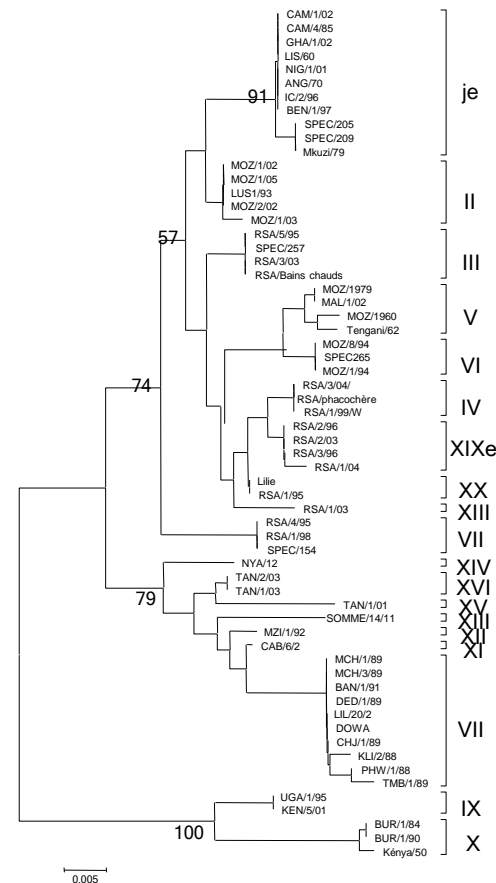
PCR en temps réel - Animation simple de base

<https://www.youtube.com/watch?v=EaGH1eKfvC0>



- Classe les virus en géotypes en fonction de la séquence du gène P72
- 24 géotypes ont été décrits
- L'analyse phylogénétique peut être utilisée pour retracer l'origine possible d'une épidémie et pour suivre la propagation
- L'analyse phylogénétique doit être interprétée avec les informations épidémiologiques

Analyse phylogénétique

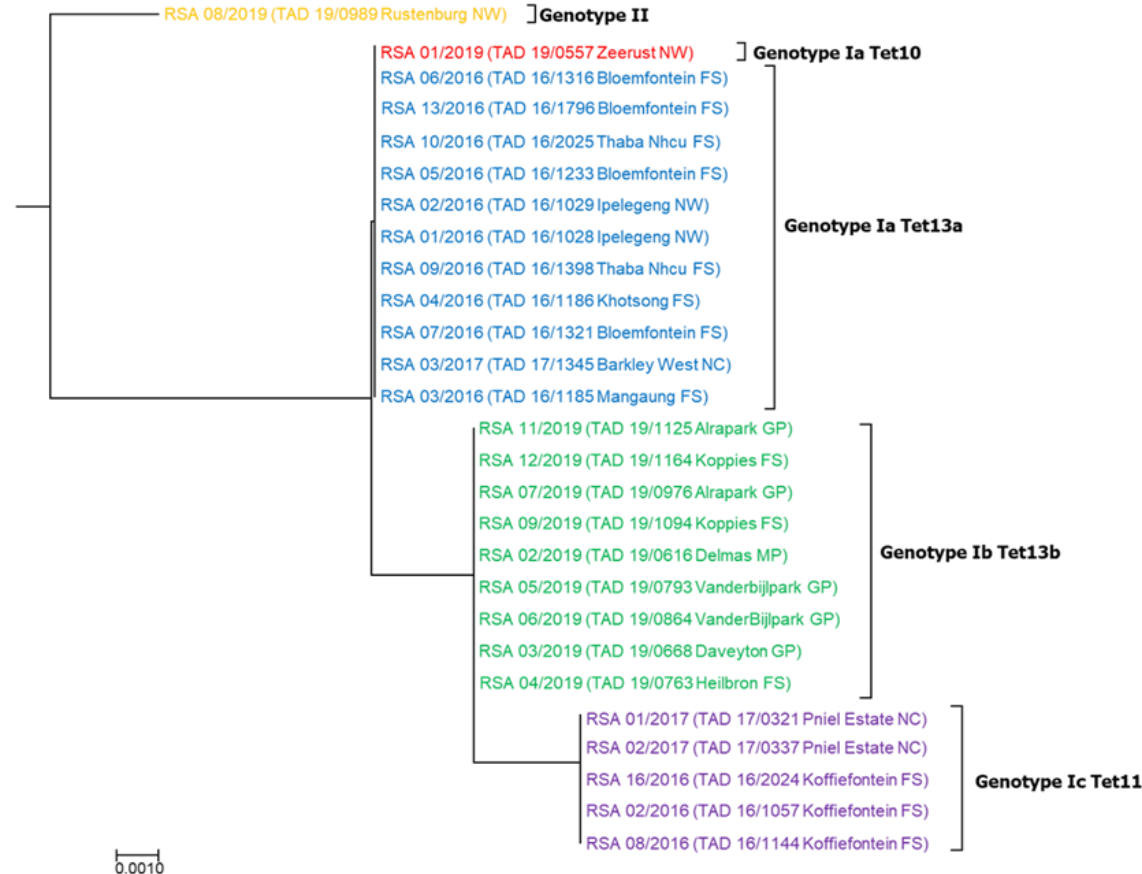




PPA en Afrique du Sud

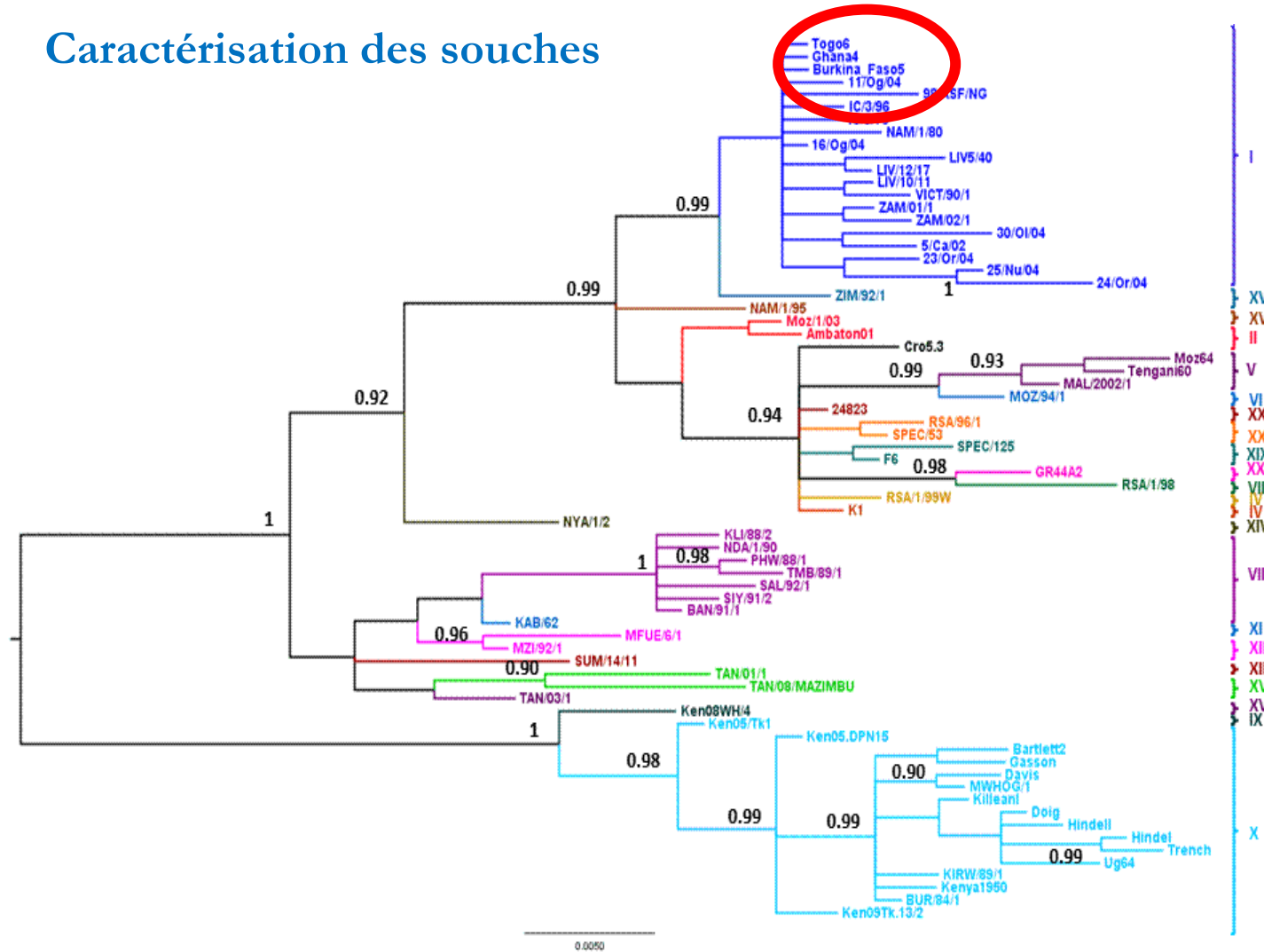
- Cinq souches génétiquement distinctes de la PPA ont été isolées à partir de cas cliniques de la maladie en dehors de la zone de contrôle depuis 2016.
- Cela suggère qu'il y a eu au moins 5 introductions indépendantes du virus.
- Les sources exactes des souches restent inconnues.

Analyse phylogénétique



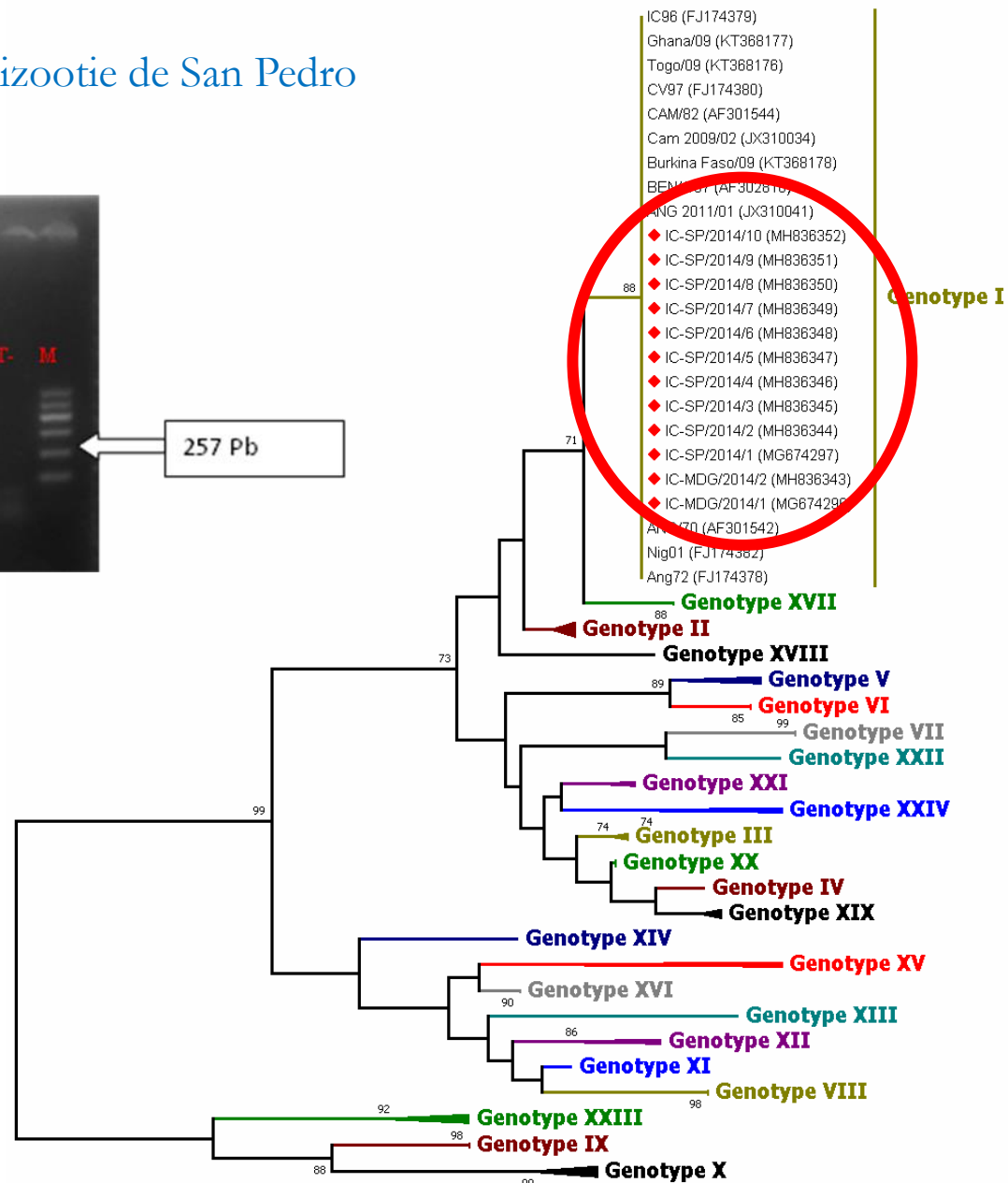
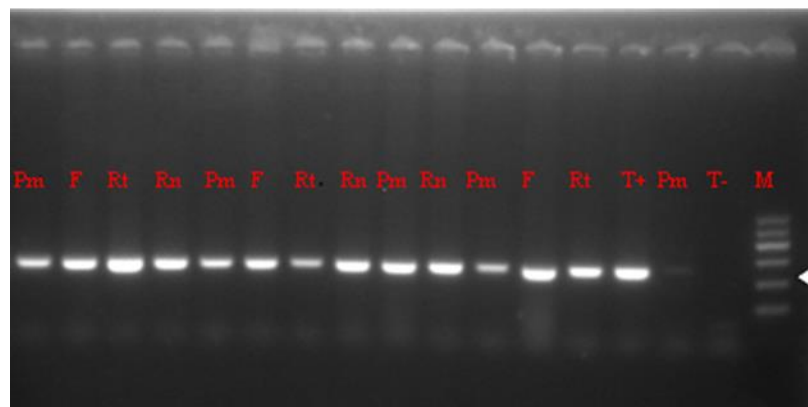
Analyse phylogénétique Côte-d'Ivoire

Caractérisation des souches



Souches
appartiennent au
génotype I,

Caractérisation des souches virales de l'épizootie de San Pedro

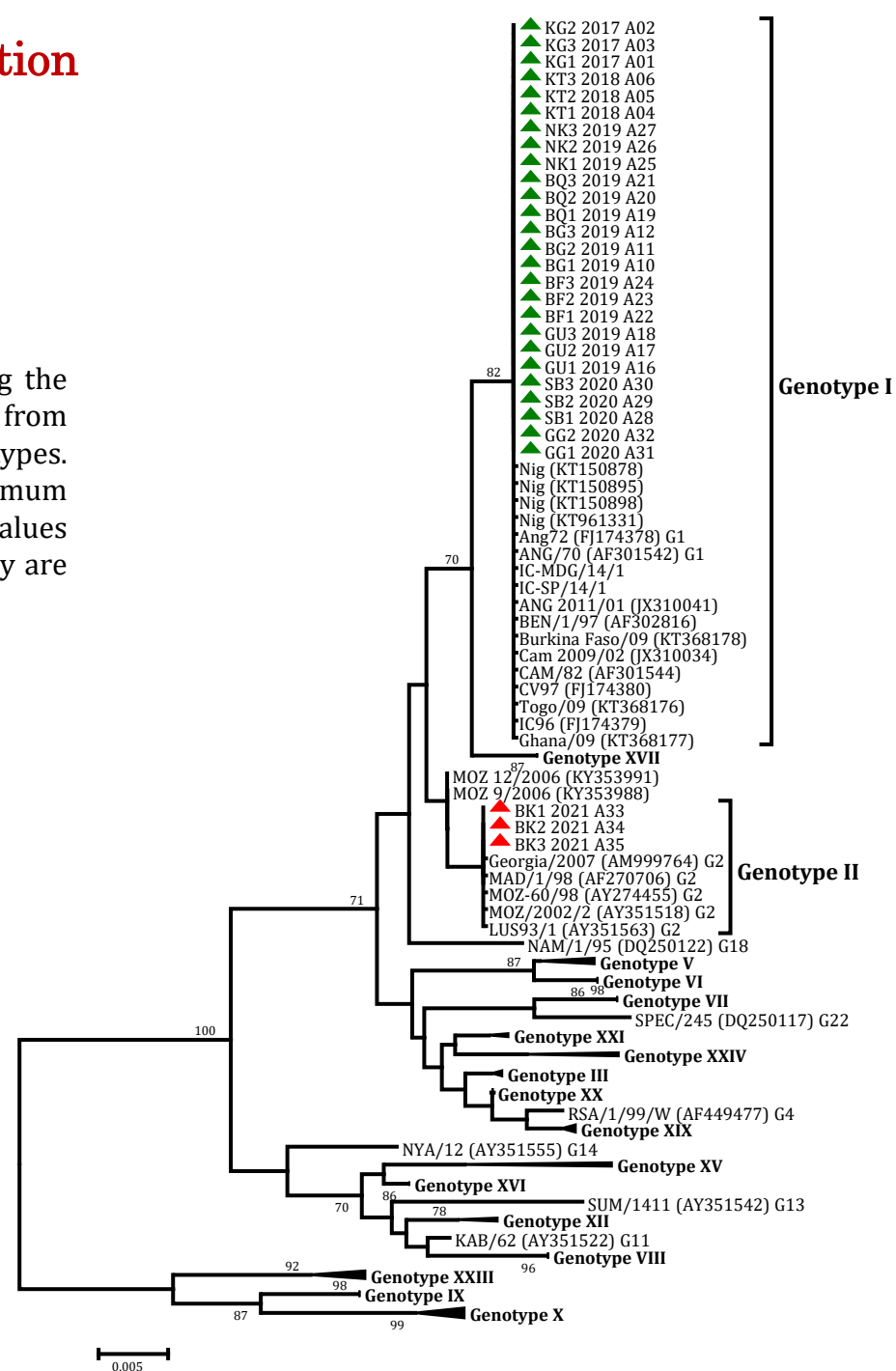


Arbre phylogénétique du gène B646L des isolats de la PPA de San Pedro. Les douze séquences produites au cours de cette étude (ICI-MG / 14/1, ICI-MG / 14/2 et ICI-SP / 14/1 à ICI-SP / 14/10) sont classées dans le génotype I.

Analyse phylogénétique – Evolution Côte-d'Ivoire - 2021

p72

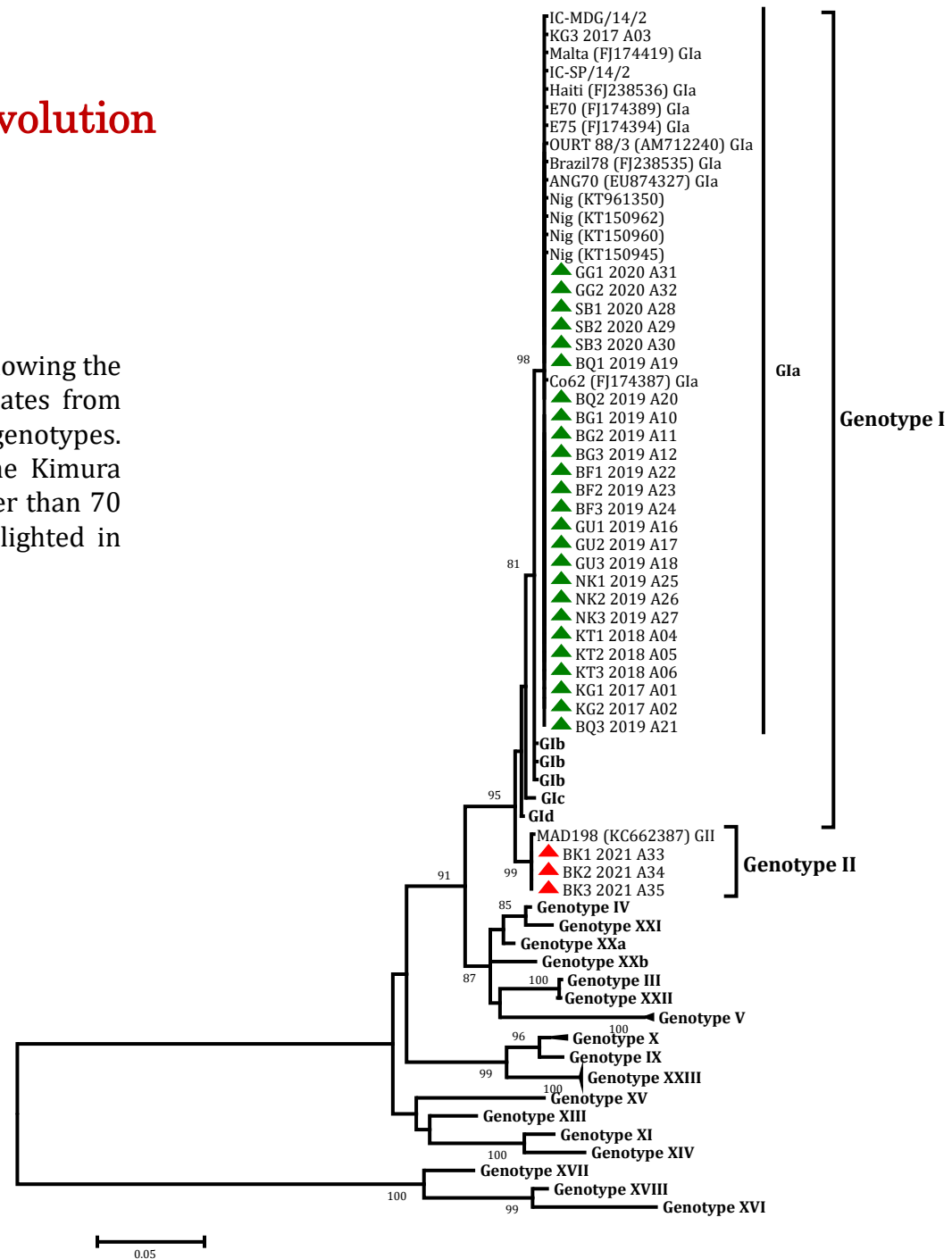
Neighbour-joining tree, of the partial p72 gene, showing the genetic relationships between the ASF outbreak isolates from Ivory coast and representatives of the known ASFV genotypes. The evolutionary distances were computed using the Maximum Composite Likelihood method. Only the bootstrap values greater than 70 % are shown. The isolates from this study are highlighted in green (GI) or red (GII) triangles.



Analyse phylogénétique – Evolution Côte-d'Ivoire - 2021

p54

Minimum Evolution tree, based on the full p54 gene, showing the genetic relationships between the ASF outbreak isolates from Ivory coast and representatives of the known ASFV genotypes. The evolutionary distances were computed using the Kimura 2-parameter method. Only the bootstrap values greater than 70 % are shown. The isolates from this study are highlighted in green (GI) or red (GII) triangles.



Tests sérologiques

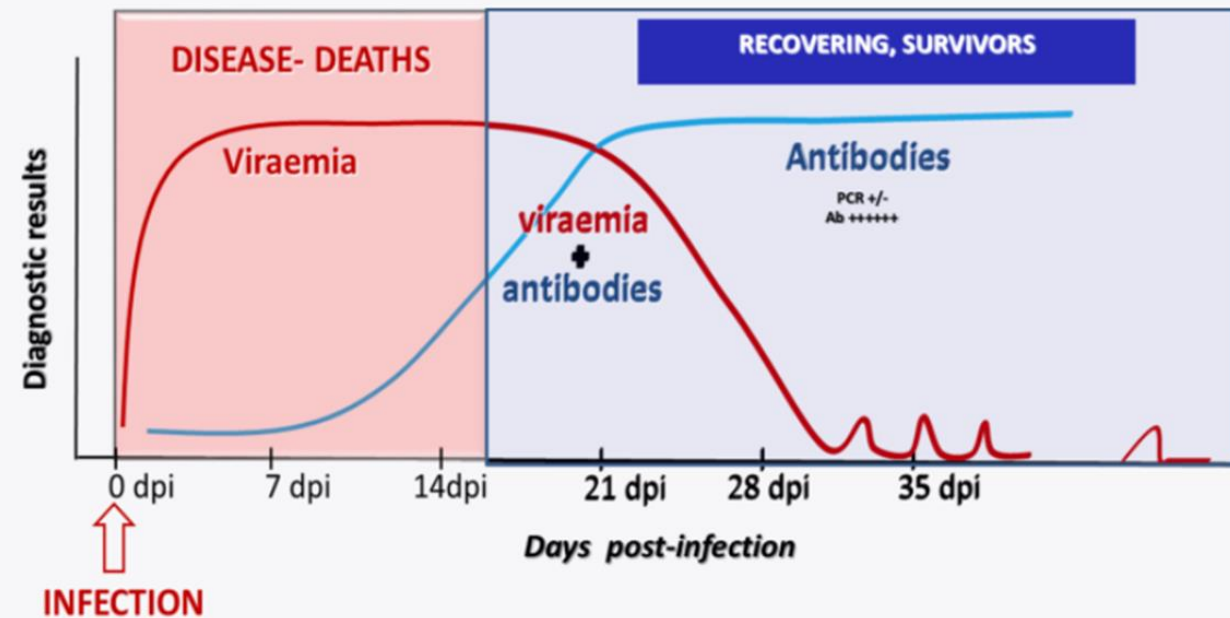


- La sérologie est utilisée pour la surveillance à grande échelle en raison de sa simplicité et de son coût relativement faible.
- Les anticorps de la PPA apparaissent à partir de J10 à J14 jours après l'infection et persistent pendant plusieurs années.

Puisqu'il n'existe pas de vaccin contre la peste porcine africaine, la présence d'anticorps contre la PPA est toujours révélatrice d'une infection.

Dans les infections suraiguës et aiguës, les porcs meurent souvent avant que les anticorps ne deviennent détectables.

Dynamics of African swine fever virus Infection

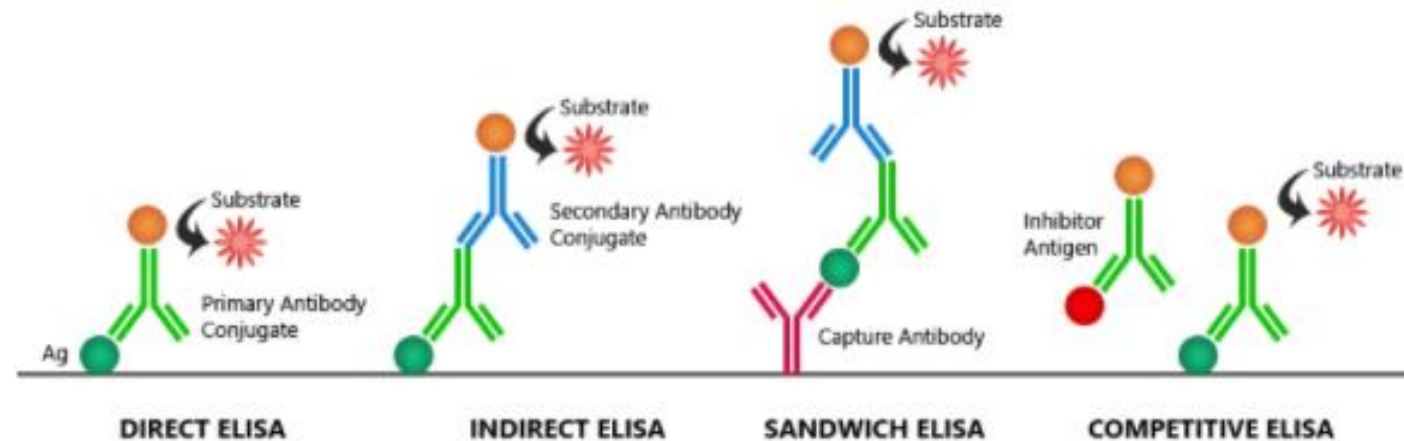


Source: <https://asf-referencelab.info/>



- La sérologie est utilisée pour la surveillance à grande échelle en raison de sa simplicité et de son coût relativement faible.
- Les anticorps PPA apparaissent à partir de J10 à J14 jours après l'infection et persistent pendant plusieurs années
- Puisqu'il n'existe pas de vaccin contre la peste porcine africaine, la présence d'anticorps contre la PPA est toujours révélatrice d'une infection
- Dans les infections perçues et aiguës, les porcs meurent souvent avant que les anticorps ne deviennent détectables.

Dosages immuno-enzymatiques (ELISA)



Tests sérologiques



- Plusieurs kits ELISA commerciaux sont disponibles
- L'ELISA compétitif peut être utilisé pour plusieurs espèces, y compris les phacochères



INgezim PPA COMPAC

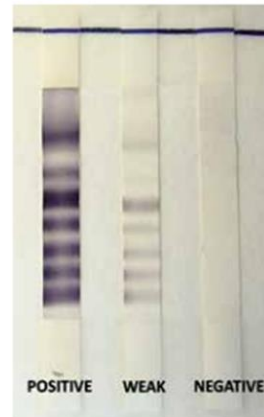
<https://www.youtube.com/watch?v=LbdRBf1imKo>

Sensibilité - 88%

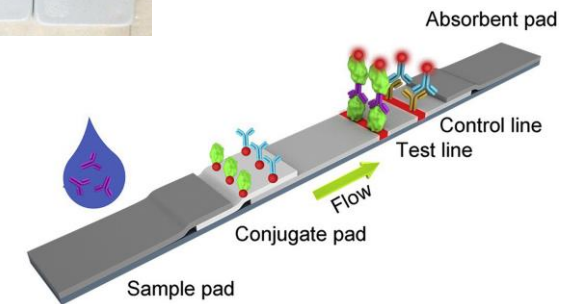
Spécificité - 97%

- Le sérum positif doit être confirmé par immuno-blotting
- Des tests Pen-side (Test rapide) basés sur la technologie du flux latéral sont disponibles, mais leur utilisation en Afrique du Sud n'a pas été entièrement validée.

ASF antibody detection by immunoblotting (IB)



Test côté stylo pour la détection des anticorps de la peste porcine africaine



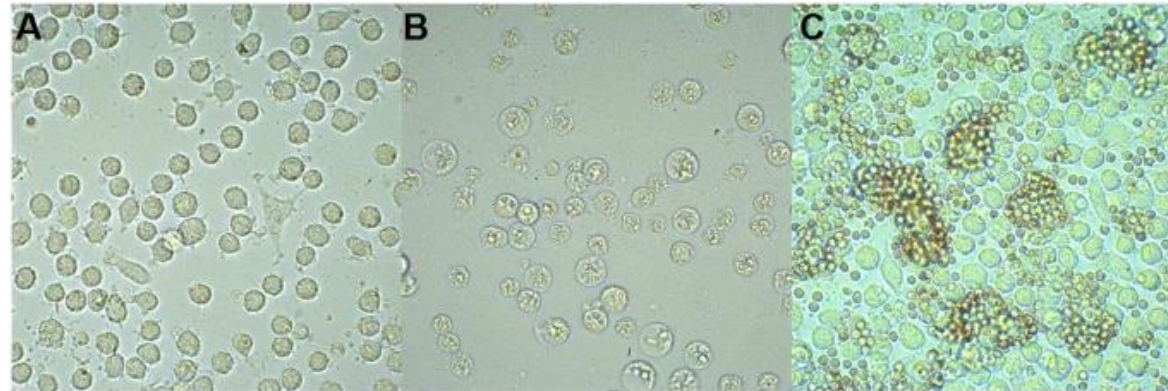
Source: Li et al., Talanta, Volume 219, 2020



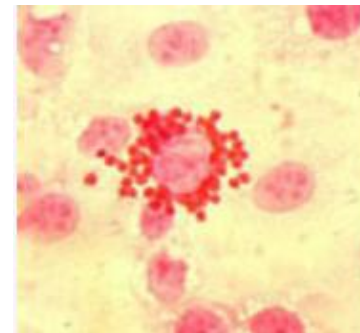
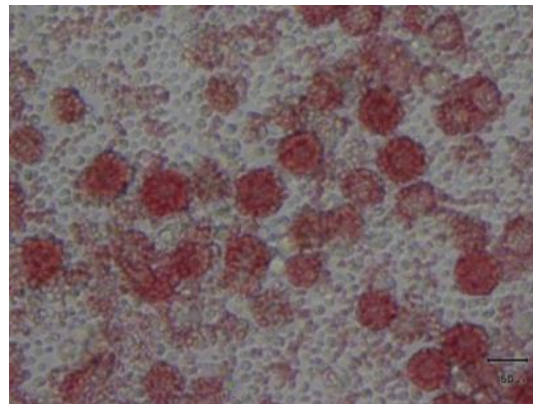
- Le virus de la PPA est isolé à l'aide de cultures de cellules primaires sensibles d'origine porcine
- Le virus de la PPA produit une réaction d'hémadsorption (HAD) due à l'adsorption des globules rouges, formant des "rosettes"
- Toutes les souches virales de la PPA ne provoquent pas d'hémoabsorption, ce qui nécessite que les résultats de l'isolement du virus soient confirmés à l'aide de tests moléculaires

Hémadsorption

(A) Cellules faussement infectées (B) Effet cytopathique (C) Hémadsorption

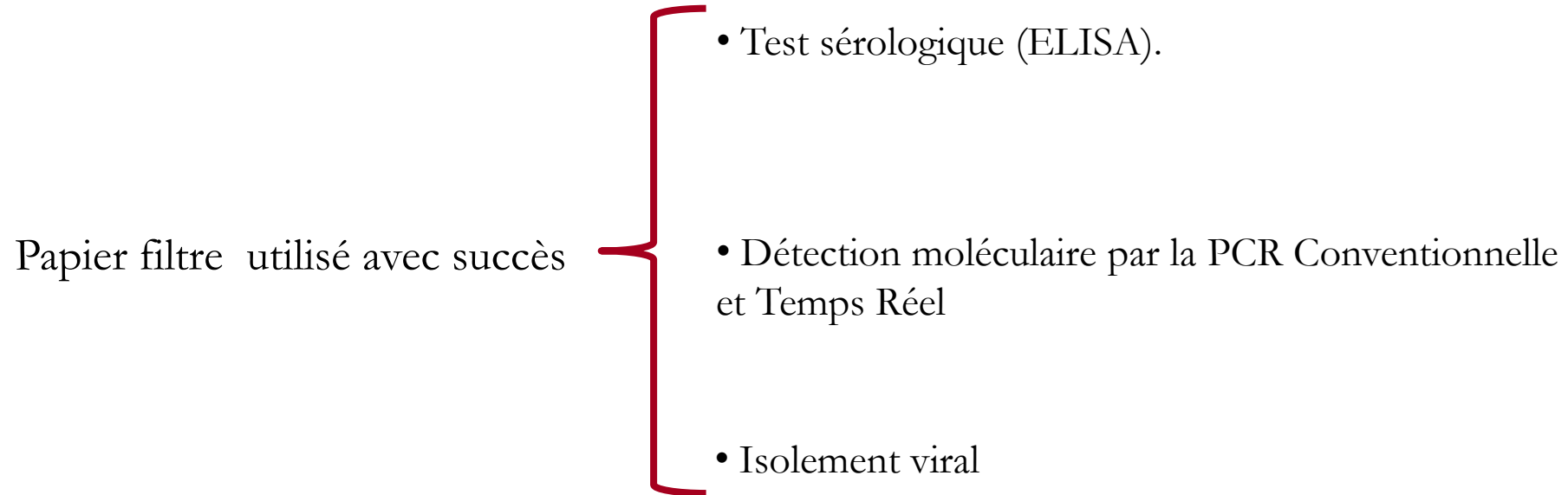


Source : Mazur-Panasiuk et al. *Représentant Sci.* 14 mars 2019;9(1):4556.



source : <https://asf-referencelab.info/>

Performance du papier filtre Whatman 3MM pour le diagnostic de la PPA.



- L'originalité de cette étude, la détection d'anticorps spécifiques de la PPA utilisant un kit ELISA commercial conçu à l'origine pour le sérum
- PCR directe sans l'étape d'extraction

Diagnostic de la PPA en un coup d'œil



ASSAY FOR VIRUS DETECTION	TIME	SENSITIVITY	SPECIFICITY	SAMPLE TYPE	COST	COMMENTS
Polymerase Chain Reaction (PCR)*	5-6 hours	XXX	XX	Tissues, blood, ticks or cell cultures	\$\$	Most common method Susceptible to contamination Detects live or dead virus
Haemadsorption Test (HA)	7-21 days	XX	XXX	Porcine macrophage cells	\$\$\$\$	GOLD STANDARD Only used in a few reference laboratories
Direct Fluorescence Antibody test (FAT)	75 min	XXX (for early detection)	XXX	Cryostat sections. Impression smears. Cell culture of macerates	\$\$\$	Recommended when PCR is unavailable or lack of experience Needs a fluorescent microscope Lack of sensitivity after the first week post-infection
Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	3 hours	X (for early detection)	XX	Serum, macerates	\$	Not routinely used Lack of sensitivity after the 1 st week post-infection
ASSAY FOR ANTIBODY DETECTION	TIME	SENSITIVITY	SPECIFICITY	SAMPLE	COST	COMMENTS
Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*	3 hours	X	X	Serum	\$	Screening test In-house and commercial kits available
Immunoblotting	3 hours	X	X	Serum	\$\$\$\$	Confirmatory test No commercial kits
Indirect Fluorescent Antibody (IFA) test	4 hours	XXX	XX	Tissue exudates, serum or plasma	\$\$\$	Confirmatory test No commercially available reagents Needs a fluorescent microscope

(*): most commonly used



GF-TADs

GLOBAL FRAMEWORK FOR THE
PROGRESSIVE CONTROL OF
TRANSBOUNDARY ANIMAL DISEASES



Food and Agriculture
Organization of the
United Nations

Oie

WORLD ORGANISATION
FOR ANIMAL HEALTH

Thank you for your attention!



www.oie.int

Oie

Organisation
Mondiale
de la Santé
Animale

World
Organisation
for Animal
Health

Organización
Mundial
de Sanidad
Animal