

CARACTÉRISATION DES PARTICULES EXHALÉES PAR DES PORCS INFECTÉS PAR UN VIRUS INFLUENZA PORCIN

A. Boulbair^{*1}, L. Ait Ali Yahia¹, E. Robine², T.L Ha², E. Géhin¹, F. Paboeuf³, G. Simon³, S. Hervé³, C. Fablet³ et N. Rose³

¹Univ Paris-Est Creteil, CERTES, F-94010 Creteil, France

²Centre Scientifique et Technique du Bâtiment (CSTB), 77420, France

³Anses, laboratoire de Ploufragan-Plouzane-Niort, 22440 Ploufragan, France

*Courriel de l'orateur : amir.boulbair@u-pec.fr

TITLE

Characterization of particles exhaled by pigs infected with a swine influenza virus

ABSTRACT

The main objective of this experimental work is the physical and biological characterization of the exhalations of pigs infected by a swine influenza virus. These experiments are conducted at the ANSES site of Ploufragan-Plouzane-Niort in the experimental animal house of biosafety level A3. An experimental bench has been developed to isolate, collect and characterize respiratory emissions. The technical description of the bench, the experimental procedure used and preliminary results of physical characterization are presented.

RESUME

L'objectif principal de ce travail expérimental est la caractérisation physique et biologique des exhalaisons de modèles porcins infectés par un virus influenza porcine. Ces expérimentations sont conduites sur le site de Ploufragan-Plouzane-Niort de l'ANSES dans l'animalerie expérimentale de niveau de biosécurité A3. Un banc expérimental a été développé de manière à pouvoir isoler, collecter et caractériser les émissions respiratoires. La description technique du banc, la procédure expérimentale employée ainsi que des résultats préliminaires de caractérisation physique sont présentés.

KEYWORDS: Exhaled particles, Infected swine models swine influenza virus, Emission rate. / **MOTS-CLÉS :** Particules exhalées, modèles porcins infectés, Virus influenza porcine, taux d'émission.

1. INTRODUCTION

Cette présentation s'inscrit dans le cadre d'un programme de recherche sur le risque pandémique dans les environnements bâtis. Porté par un consortium pluridisciplinaire, Institut Pasteur, UPEC-CERTES, ANSES, CSTB, IUCP Québec, l'enjeu scientifique de ce programme est de mieux appréhender les mécanismes de transmission des aéropathogènes.

En France et à l'international, de nombreuses équipes ont œuvré pour modéliser le transport et l'exposition des occupants des environnements intérieurs à l'aérosol de Sars-Cov-2. Pour autant, quels que soient le niveau de raffinement et l'approche retenue, ces travaux manquent toujours cruellement de données expérimentales relatives au terme source pour affirmer leur projection et proposer, le cas échéant, une évaluation robuste du risque de transmission aéroportée.

La littérature montre l'existence d'un corpus de recherches sur les maladies humaines transmises par voie aérienne axé sur l'étude des événements "expiratoires". Il est démontré que les activités modérées (respiration normale, parole), violentes (toux, éternuement) ou intermédiaires (cri, chant, respiration forcée...), produisent, une quantité importante de particules dont le nombre, le volume et la proportion par taille sont variables (Bourouiba et al., 2014; Chao et al., 2009; Dhand & Li, 2020; Lindsley et al., 2013; Morawska et al., 2009; S. Yang et al., 2007). Ces particules peuvent héberger une variété d'agents pathogènes respiratoires, dont le virus de la rougeole (Liljeroos et al., 2011), les virus de la grippe (virus influenza) (Yan et al., 2018), ainsi que Mycobacterium tuberculosis (Fennelly et al., 2012).

Concernant la caractérisation des particules émises par les animaux, des travaux menés de manière expérimentale ou en conditions réelles montrent que le virus de la fièvre aphteuse, de la maladie d'Aujeszky ou de l'influenza porcine sont détectés dans différentes gammes de tailles de particules et que cette distribution varierait selon le temps post-infection (Alonso et al., 2015; A. Donaldson et al., 1983; A. I. Donaldson et al., 1987; Gloster et al., 2007). Cependant, il faut noter que les données disponibles sont peu nombreuses.

L'objectif principal de ce travail expérimental est la caractérisation physique et biologique des exhalaisons de porcs infectés par un virus influenza porcine. Ces expérimentations sont conduites sur le site de Ploufragan-Plouzane-Niort de l'ANSES dans l'animalerie expérimentale de niveau de biosécurité A3 (agrément E-22-745-1). Un banc expérimental a été développé de manière à pouvoir isoler, collecter et caractériser les émissions respiratoires. La description technique du banc, la procédure expérimentale employée ainsi que des résultats préliminaires de caractérisation physique sont présentés.

2. DESCRIPTION DU BANC ET PROCEDURE EXPERIMENTALE

Le banc expérimental développé pour cette étude a été dimensionné et caractérisé préalablement (Boulbair et al., à paraître). Il est composé d'une enceinte ventilée (volume 17 dm³) permettant la collecte et la caractérisation des émissions respiratoires du modèle animal étudié (Figure 1). Cette enceinte est fabriquée en PVC souple, antistatique et transparent (Société SECUROTEC). Elle est composée de deux cylindres reliés par un cône tronqué de 15 cm de hauteur. Le cylindre supérieur (21 cm de diamètre et 35 cm de hauteur) est composé d'une ouverture circulaire permettant l'introduction du groin de l'animal. Cette ouverture est associée avec un système de contention gonflable qui permet d'assurer l'étanchéité autour du groin. Le cylindre inférieur (9 cm de diamètre et 20 cm de hauteur) est connecté via un cône tronqué à un Aerosol Particle Sizer (APS TSI 3321), pour la caractérisation physique des exhalaisons (concentration et tailles des particules), un BioSampler et un impacteur multi-étages SIOUTAS, pour la caractérisation biologique dans celles-ci (détection du virus influenza porcine et domaines de tailles dans lesquels le virus est détecté). En complément de ces mesures, les composés organiques volatils (COVs) diffusés dans le banc sont adsorbés à l'aide d'un tube Tenax connecté à un système déprimogène (pompe BIOGUESS). Cette mesure a pour objet d'identifier d'éventuels marqueurs biochimiques de l'infection virale.

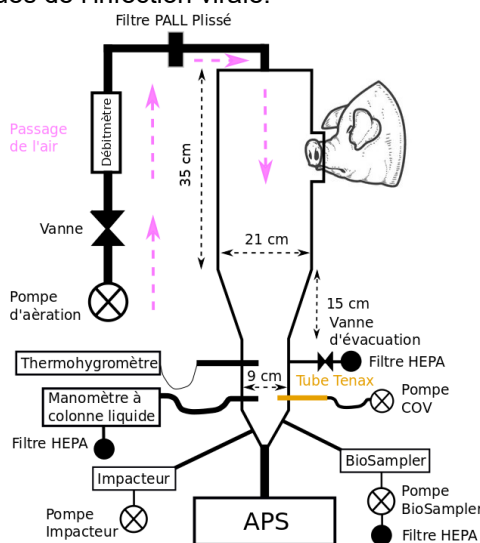


Figure 1. : Schéma descriptif du banc expérimental

La ventilation de l'enceinte est assurée par l'introduction d'un air filtré à l'amont du cylindre supérieur. L'air circule au travers d'un diffuseur placé au-dessus de la zone d'exhalaison animale. La température et l'humidité relative à l'intérieur de l'enceinte sont mesurées à l'aide d'un thermohygromètre et la variation de pression suivie à l'aide d'un manomètre à colonne liquide. Ce dernier est aussi utilisé pour estimer la fréquence respiratoire de l'animal.

Neuf porcs ont été suivis au cours d'une campagne de mesures réalisée en octobre 2022 : un lot de 3 animaux de référence non contaminé et 1 lot de 6 animaux infectés par un virus influenza porcine. Ce lot a été inoculé le 3 octobre 2022 et les exhalaisons collectées à J+1, J+3, J+10 et J+17 post-inoculation. Pour ces manipulations, nous avons confectionné deux bancs identiques : un à destination des animaux infectés et l'autre pour le lot de référence.

Concernant la procédure de collecte employée, les exhalaisons ont été étudiées pendant 10 minutes. Il s'agit d'une durée qui a été décidée à la suite d'une primo campagne de mesures permettant notamment de limiter le stress de l'animal.

Un exemple d'une procédure de caractérisation sur 1 lot est présenté en figure 2 avec la mesure en concentration de l'ensemble des particules de 0.5 à 20 µm au cours de l'expérimentation. La première plage de mesure concerne la vérification du blanc en termes particulaire et biologique avec la réalisation d'une première biocollecte. Ensuite, avant l'introduction du groin de l'animal, le banc est à nouveau ventilé et une nouvelle vérification du blanc particulaire réalisée. Puis sur trois plages de temps de 10 minutes, les exhalaisons biologiques des animaux sont collectées.

Dans l'exemple présenté, la concentration particulaire au cours du temps prend des allures différentes selon l'activité de l'animal avec des pics de concentrations maximales enregistrées de : $6,7 \cdot 10^2$, $8,6 \cdot 10^2$ et $1,15 \cdot 10^3$ particules.cm⁻³.

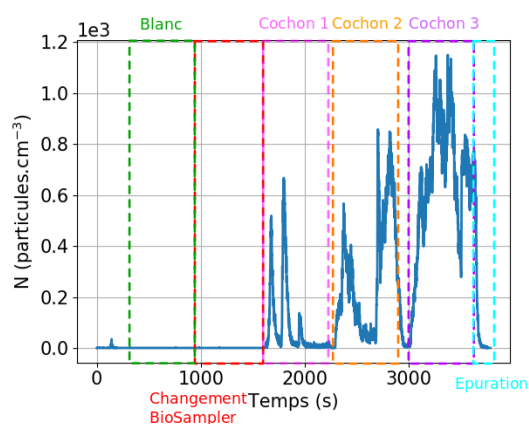


Figure 2. Exemple de l'évolution de la concentration en particules pour un lot de 3 animaux, comportement calme du porc 1, porc 2 agité pendant les 5 dernières minutes, porc 3 agité avec grognement sur l'ensemble des 10 minutes de mesures.

3. RÉFÉRENCES ET REMERCIEMENTS

- Alonso, C., Raynor, P. C., Davies, P. R., & Torremorell, M. (2015). Concentration, Size Distribution, and Infectivity of Airborne Particles Carrying Swine Viruses. *PLOS ONE*, *10*(8), e0135675. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135675>
- Blachere, F. M., Lindsley, W. G., Pearce, T. A., Anderson, S. E., Fisher, M., Khakoo, R., Meade, B. J., Lander, O., Davis, S., Thewlis, R. E., Celik, I., Chen, B. T., & Beezhold, D. H. (2009). Measurement of Airborne Influenza Virus in a Hospital Emergency Department. *Clinical Infectious Diseases*, *48*(4), 438–440. <https://doi.org/10.1086/596478>
- Bourouiba, L., Dehandschoewercker, E., & Bush, J. W. M. (2014). Violent expiratory events: On coughing and sneezing. *Journal of Fluid Mechanics*, *745*, 537–563. <https://doi.org/10.1017/jfm.2014.88>
- Chao, C. Y. H., Wan, M. P., Morawska, L., Johnson, G. R., Ristovski, Z. D., Hargreaves, M., Mengersen, K., Corbett, S., Li, Y., Xie, X., & Katoshevski, D. (2009). Characterization of expiration air jets and droplet size distributions immediately at the mouth opening. *Journal of Aerosol Science*, *40*(2), 122–133. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2008.10.003>
- Dhand, R., & Li, J. (2020). Coughs and Sneezes: Their Role in Transmission of Respiratory Viral Infections, Including SARS-CoV-2. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *202*(5), 651–659. <https://doi.org/10.1164/rccm.202004-1263PP>
- Donaldson, A. I., Gibson, C. F., Oliver, R., Hamblin, C., & Kitching, R. P. (1987). Infection of cattle by airborne foot-and-mouth disease virus: Minimal doses with O1 and sat 2 strains. *Research in Veterinary Science*, *43*(3), 339–346. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)30804-X](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)30804-X)
- Donaldson, A., Wardley, R., Martin, S., & Ferris, N. (1983). Experimental Aujeszky's disease in pigs: Excretion, survival and transmission of the virus. *Veterinary Record*, *113*(21), 490–494. <https://doi.org/10.1136/vr.113.21.490>
- Fabian, P., McDevitt, J. J., DeHaan, W. H., Fung, R. O. P., Cowling, B. J., Chan, K. H., Leung, G. M., & Milton, D. K. (2008). Influenza virus in human exhaled breath: An observational study. *PLoS One*, *3*(7), Art. 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002691>
- Fennelly, K. P., Jones-López, E. C., Ayakaka, I., Kim, S., Menyha, H., Kirenga, B., Muchwa, C., Joloba, M., Dryden-Peterson, S., Reilly, N., Okwera, A., Elliott, A. M., Smith, P. G., Mugerwa, R. D., Eisenach, K. D., & Ellner, J. J. (2012). Variability of Infectious Aerosols Produced during Coughing by Patients with Pulmonary Tuberculosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *186*(5), 450–457. <https://doi.org/10.1164/rccm.201203-0444OC>
- Gloster, J., Williams, P., Doel, C., Esteves, I., Coe, H., & Valarcher, J.-F. (2007). Foot-and-mouth disease – Quantification and size distribution of airborne particles emitted by healthy and infected pigs. *The Veterinary Journal*, *174*(1), 42–53. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.05.020>
- Liljeroos, L., Huiskonen, J. T., Ora, A., Susi, P., & Butcher, S. J. (2011). Electron cryotomography of measles virus reveals how matrix protein coats the ribonucleocapsid within intact virions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(44), 18085–18090. <https://doi.org/10.1073/pnas.1105770108>
- Lindsley, W. G., Blachere, F. M., Davis, K. A., Pearce, T. A., Fisher, M. A., Khakoo, R., Davis, S. M., Rogers, M. E., Thewlis, R. E., Posada, J. A., Redrow, J. B., Celik, I. B., Chen, B. T., & Beezhold, D. H. (2010). Distribution of Airborne Influenza Virus and Respiratory Syncytial Virus in an Urgent Care Medical Clinic. *Clinical Infectious Diseases*, *50*(12), 1205–1209. <https://doi.org/10.1086/650457>
- Lindsley, W. G., Reynolds, J. S., Szalajda, J. V., Noti, J. D., & Beezhold, D. H. (2013). A Cough Aerosol Simulator for the Study of Disease Transmission by Human Cough-Generated Aerosols. *Aerosol Science and Technology: The Journal of the American Association for Aerosol Research*, *47*(8), Art. 8. <https://doi.org/10.1080/02786826.2013.803019>
- Mahjoub Mohammed Merghani, K., Sagot, B., Gehin, E., Da, G., & Motzkus, C. (2021). A review on the applied techniques of exhaled airflow and droplets characterization. *Indoor Air*, *31*(1), Art. 1. <https://doi.org/10.1111/ina.12770>
- Milton, D. K., Fabian, M. P., Cowling, B. J., Grantham, M. L., & McDevitt, J. J. (2013). Influenza Virus Aerosols in Human Exhaled Breath: Particle Size, Culturability, and Effect of Surgical Masks. *PLoS Pathogens*, *9*(3), e1003205. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003205>

- Morawska, L., Johnson, G. R., Ristovski, Z. D., Hargreaves, M., Mengersen, K., Corbett, S., Chao, C. Y. H., Li, Y., & Katoshevski, D. (2009). Size distribution and sites of origin of droplets expelled from the human respiratory tract during expiratory activities. *Journal of Aerosol Science*, *40*(3), 256–269. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2008.11.002>
- Sharma, P. K., Mondal, A., Jaiswal, S., Saha, M., Nandi, S., De, T., & Saha, S. (2020). IndoAirSense: A framework for indoor air quality estimation and forecasting. *Atmospheric Pollution Research*. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2020.07.027>
- Yan, J., Grantham, M., Pantelic, J., Bueno de Mesquita, P. J., Albert, B., Liu, F., Ehrman, S., Milton, D. K., EMIT Consortium, Adamson, W., Beato-Arribas, B., Bischoff, W., Booth, W., Cauchemez, S., Ehrman, S., Enstone, J., Ferguson, N., Forni, J., Gilbert, A., ... Tellier, R. (2018). Infectious virus in exhaled breath of symptomatic seasonal influenza cases from a college community. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(5), 1081–1086. <https://doi.org/10.1073/pnas.1716561115>
- Yang, S., Lee, G. W. M., Chen, C.-M., Wu, C.-C., & Yu, K.-P. (2007). The Size and Concentration of Droplets Generated by Coughing in Human Subjects. *Journal of Aerosol Medicine*, *20*(4), Art. 4. <https://doi.org/10.1089/jam.2007.0610>
- Yang, W., Elankumaran, S., & Marr, L. C. (2011). Concentrations and size distributions of airborne influenza A viruses measured indoors at a health centre, a day-care centre and on aeroplanes. *Journal of The Royal Society Interface*, *8*(61), 1176–1184. <https://doi.org/10.1098/rsif.2010.0686>

Remerciements pour l'appui technique et expérimental des équipes de l'Anses : Jean Marie Guionnet (SPPAE) Céline Deblanc, Nicolas Barbier et Roselyne Fonseca (UVIP), Véronique Tocqueville (UMBA).