

P7608

## PROTECTION CONFEREE AU PORC PAR UN NOUVEAU VACCIN HUILEUX A VIRUS INACTIVE CONTRE LA MALADIE D'AUIESZKY CONSEQUENCES PRATIQUES

*P. VANNIER (1), J.P. TILLON (1), B. TOMA (2),  
J.F. DELAGNEAU (3), R. LOQUERIE (3), P. PRUNET (3).*

*(1) Station de Pathologie Porcine - 22440 Ploufragan*

*(2) Ecole Nationale Vétérinaire - Laboratoire des Maladies Contagieuses - 94701 Maisons Alfort*

*(3) Laboratoire Roger Bellon, Centre de Recherches Vétérinaires - Villaines-les-Rochers - 37190 Azay-le-Rideau*

### INTRODUCTION

Dans une première étude (2), (4), le pouvoir immunogène d'un nouveau vaccin huileux, à virus inactivé a été comparé, sur le lapin et sur le porc, à celui d'un autre vaccin à virus inactivé, comprenant de l'hydroxyde d'aluminium et de la saponine comme adjuvants de l'immunité. Dans cet article, sont rapportés les résultats des essais de protection conférée au porc par le vaccin huileux (épreuve d'activité) et les observations réalisées dans plusieurs élevages de porcs après vaccination (épreuve d'innocuité).

### MATERIEL ET METHODES

#### 1/ Matériel :

##### a) Virus :

La souche de virus utilisée pour la production du vaccin a été isolée en France à partir d'un porcelet malade. Elle a été identifiée par seroneutralisation avec un sérum de référence. Le virus d'épreuve est une souche hongroise très virulente.

##### b) Animaux :

- Pour l'étude expérimentale, des truies de race croisée Large White - Landrace et leur portée provenant d'élevages indemnes de maladie d'Aujeszky et ne possédant pas d'anticorps sériques spécifiques ont été retenues.
- Les autres observations ont été réalisées dans des porcheries des Côtes-du-Nord où la maladie d'Aujeszky venait de faire son apparition.

##### c) Le vaccin :

Le virus est produit sur lignée continue IBR'S2 et inactivé par l'aldéhyde formique ou par l'aldéhyde glutarique. La suspension virale inactivée est alors mélangée à un volume identique d'adjuvant huileux à l'aide d'un émulsionneur (2).

#### 2/ Méthodes :

##### a) Titrage des anticorps :

La recherche des anticorps neutralisant le virus de la maladie d'Aujeszky est effectuée à virus constant et sérum variable, les titres sont déterminés par réduction du nombre de plages ou par titrage sur microplaques.

Le titre de chaque sérum est exprimé par le logarithme (base 10) de la dilution réduisant de 50 % le nombre de plages du témoin ou par le dénominateur de la dilution de sérum neutralisant 50 % de 30 à 10Q DCP<sub>50</sub>.

*b) Contrôle du pouvoir immunogène et de l'excrétion virale :*

- Le pouvoir immunogène a été évalué par titrage des anticorps sériques neutralisants des porcelets sevrés et des truies ayant reçu une ou deux injections intramusculaires du vaccin. Puis la résistance à l'épreuve virulente des porcs immunisés et des porcelets issus de mères vaccinées et ayant ingéré le colostrum a été appréciée.
- Une étude complémentaire sur l'éventuelle excrétion de virus par des porcelets porteurs d'anticorps et éprouvés a également été entreprise. Ces porcelets ont été mis en contact 3, 6 et 8 semaines après l'épreuve, avec des porcelets du même âge dépourvus d'anticorps contre la maladie d'Aujeszky.

*c) Essais en élevages :*

Une double vaccination a été pratiquée sur des cochettes et des truies après sevrage dans plusieurs exploitations récemment infectées de maladie d'Aujeszky.

## RESULTATS

### 1/ Immunité conférée aux porcs par la vaccination :

*a) Cinétique de la production des anticorps neutralisant le virus de la maladie d'Aujeszky chez les porcelets vaccinés :*

Après l'injection d'une dose de vaccin huileux (2 ml) par voie intra-musculaire, les anticorps neutralisants sont décelables dans le sérum de tous les porcelets dès le 15<sup>ème</sup> jour. La moyenne géométrique des taux d'anticorps de 10 animaux atteint la valeur maximale de 2,3 le 30<sup>ème</sup> jour après l'injection du vaccin (tableau 1).

TABLEAU 1

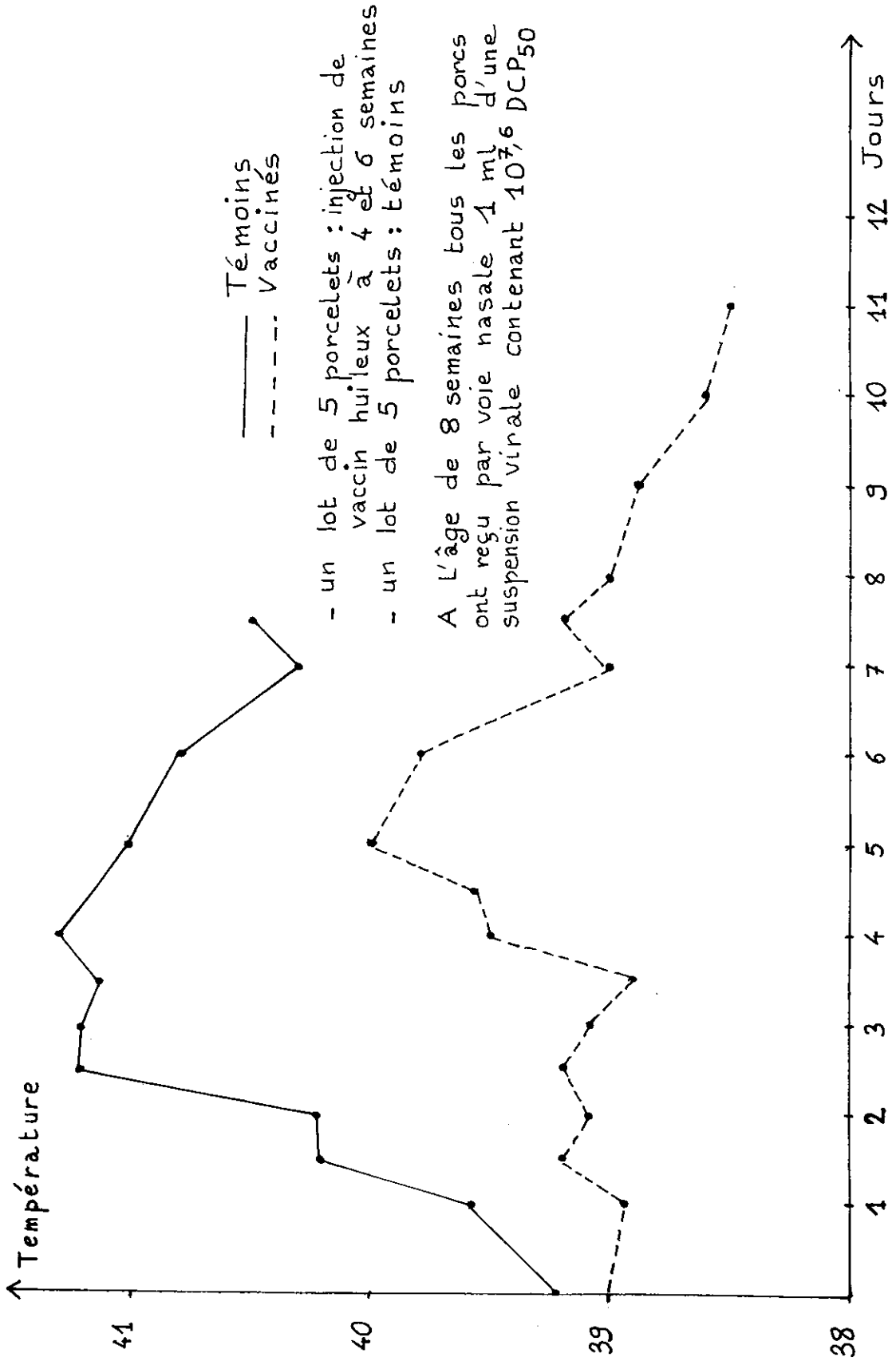
EVOLUTION DU TITRE DES ANTICORPS NEUTRALISANT LE VIRUS DE LA MALADIE D'AUJESZKY CHEZ LES PORCELETS DE SIX SEMAINES AYANT RECU UNE SEULE INJECTION DE VACCIN HUILEUX (J 0 : jour de l'injection ; J 15 : 15 jours après...).

PORCELETS	J 0	J 15	J 30	J 45
N° 82	0	1,5	2,2	2,3
N° 83	0	1	2,1	2
N° 84	0	1,9	2,4	2,1
N° 85	0	1,6	2,2	2
N° 86	0	1,7	1,7	2,4
N° 64	0	2,2	2,4	2,5
N° 72	0	2,1	2,2	2
N° 75	0	1	2,5	1,7
N° 77	0	2,3	2,7	2,6
N° 89	0	2,4	2,6	2,1
Moyenne		1,8	2,3	2,2

*b) Résistance des porcs vaccinés à l'épreuve virulente (figure 1) :*

Le contrôle d'activité du vaccin a été réalisé sur des porcelets sevrés (4). L'inoculation du virus d'épreuve a déclenché la maladie chez tous les porcs témoins dont la température moyenne s'est élevée au-dessus de 41°C, 2 jours après l'épreuve. Deux porcs sont morts le 6<sup>e</sup> jour, et les trois autres le 8<sup>e</sup> jour. Les porcelets vaccinés ont résisté à l'infection.

FIGURE 1  
REPRESENTATION DE L'EVOLUTION DE LA TEMPERATURE MOYENNE DE PORCS VACCINES  
OU TEMOINS APRES L'INOCULATION PAR LE VIRUS DE LA MALADIE D'ADJESZKY



## 2/ Immunité transmise par le colostrum :

Quatre truies ont été vaccinées au moment de la saillie et ont reçu une injection de rappel un mois avant la mise-bas. Les porcelets nés de ces truies et ayant ingéré le colostrum ont été éprouvés vers l'âge de 8 jours conformément au protocole décrit dans le tableau 2. Les porcelets témoins, issus de deux truies non vaccinées ont été éprouvés au même âge, mais une portée a reçu 0,5 ml dans chaque narine d'une suspension virale titrant  $10^3$  UFP/ml et l'autre portée est inoculée avec le même volume, mais titrant  $10^4$  UFP/ml.

**TABLEAU 2**  
PROTOCOLE DE L'EXPERIMENTATION

	PORCELETS TEMOINS		PORCELETS NES DE TRUIES IMMUNISEES			
	Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Lot n° 4
Nombre de porcelets . . . . .	7	11	11	11	11	9
Age à l'épreuve en jours. . . . .	9	6	8	7	8	6
Dose infectante par voie nasale . . . . .	$10^3$ U.F.P./ml	$10^4$ U.F.P./ml	$10^4$ U.F.P./ml	$10^4$ U.F.P./ml	$10^4$ U.F.P./ml	$10^4$ U.F.P./ml
Taux d'anticorps avant l'inoculation en Log. . . . .	—	—	2,96	3,42	3,22	3,12

### a) Protection conférée par le colostrum aux porcelets issus de mères vaccinées :

#### — Epreuve des porcelets témoins :

Trois jours après l'inoculation, les porcelets témoins ont une forte hyperthermie ( $40^{\circ} 8$  C). Elle précède de peu l'apparition de symptômes respiratoires et nerveux. La mortalité apparaît dès le 6e jour. Trois porcelets seulement sur 18 résistent à l'épreuve (tableau 3).

Les truies contractent la maladie. Elles restent couchées, ne mangent plus, présentent des tremblements et une hyperthermie pouvant atteindre  $40^{\circ} 2$  C.

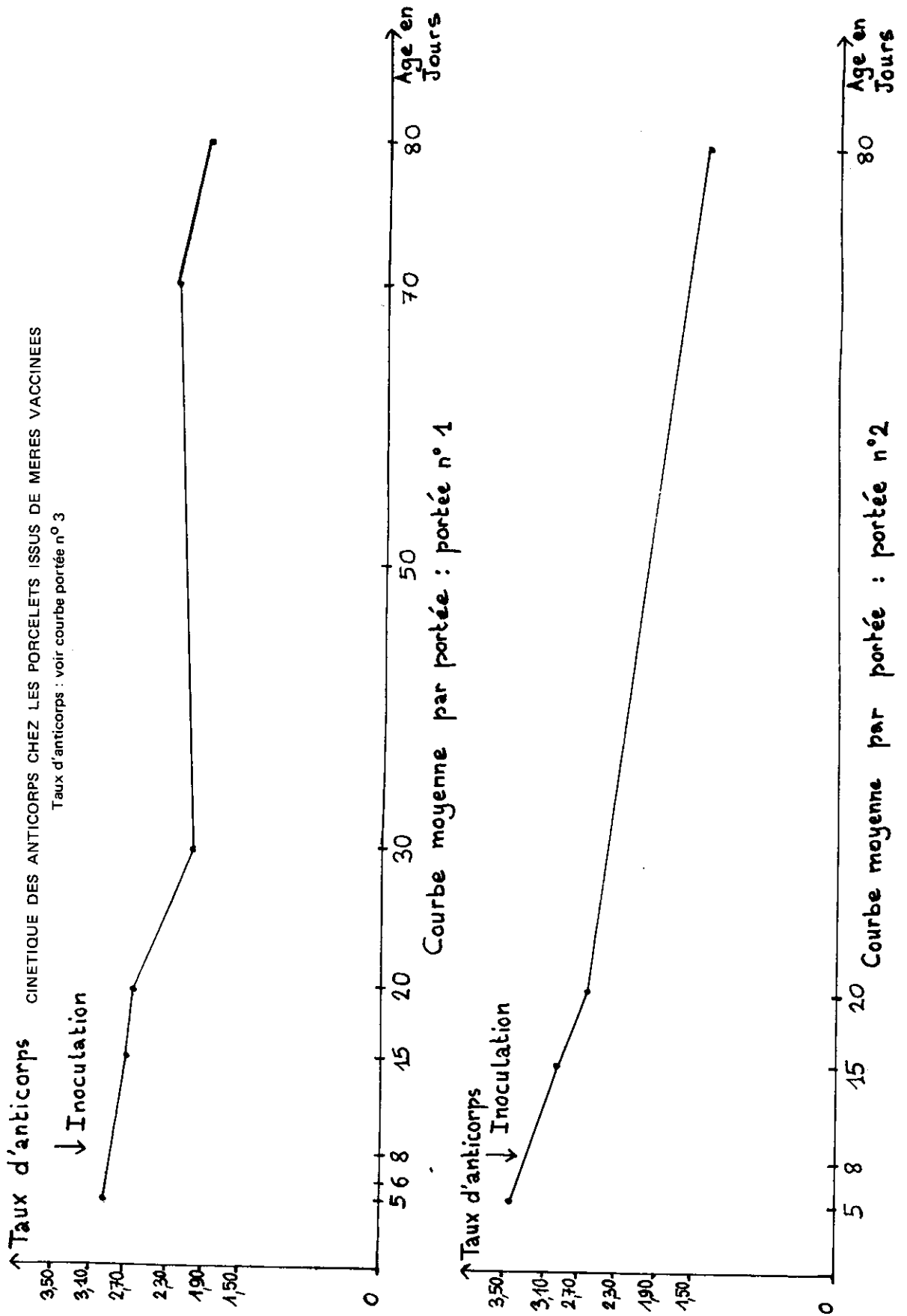
**TABLEAU 3**  
PROTECTION CONFERE E AUX PORCELETS PAR LE COLOSTRUM

PORTEES	NOMBRE DE SURVIVANTS	
Issues de mères vaccinées . . . . .	n° 1	10/11
	n° 2	11/11
	n° 3	11/11
	n° 4	8/9
Témoins . . . . .	n° 1 (dose = $10^3$ UFP/ml)	2/7
	n° 2 (dose = $10^4$ UFP/ml)	1/11

#### — Epreuve des porcelets issus de mères vaccinées :

L'épreuve virulente entraîne une hyperthermie décelable sur presque tous les porcelets dès le 4e jour et se prolonge jusqu'au 9e jour après l'infection. Des cris rauques sont émis par 13 porcelets et de nombreux animaux présentent des troubles respiratoires (dyspnée, polypnée, toux).

FIGURE 2  
CINETIQUE DES ANTICORPS CHEZ LES PORCELETS ISSUS DE MERES VACCINEES



Cependant aucun symptôme nerveux n'est observé pendant toute la durée de l'expérimentation. Seuls, 2 porcelets sur 42 sont morts respectivement 5 et 10 jours après l'inoculation, après avoir présenté des troubles respiratoires, mais pas de symptômes nerveux (tableau 3).

### *b) Contrôles sérologiques :*

Le sérum et le colostrum des 4 truies sont prélevés dans les heures qui suivent la mise-bas. Les résultats portés dans le tableau 4 montrent que les anticorps sériques, dont le taux est assez élevé, sont concentrés dans le colostrum.

**TABLEAU 4**

TAUX D'ANTICORPS CHEZ LES TRUIES VACCINEES  
(log. de la dilution du sérum protégeant 50 % des cupules inoculées avec 30 DCP<sub>50</sub>)

TRUIES	SERUM	COLOSTRUM
N° 193 (portée 1)	2,47	> 3,8
N° 38 (portée 2)	3,03	> 4,15
N° 134 (portée 3)	2,89	> 4,15
N° 133 (portée 4)	2,82	> 3,8

Les figures 2 et 3 représentent la cinétique du taux des anticorps sériques (moyenne géométrique) de chaque portée de porcelets.

Il existe une corrélation entre les quantités d'anticorps anti maladie d'Aujeszky présents dans le colostrum et dans le sérum des porcelets. En effet, les porcelets des portées 2 et 3, issus des truies 38 et 134 dont le colostrum présentait un taux important en anticorps ont dans leur sérum un taux atteignant 3,42 et 3,22.

Des taux importants d'anticorps (1,42) sont retrouvés dans le sérum des porcelets plus de 3 mois après la naissance.

Ces anticorps peuvent être d'origine colostrale, mais ils ont pu être produits activement par les porcelets éprouvés bien qu'il n'y ait pas eu de montée d'anticorps 15 à 21 jours après l'épreuve.

### *c) Etude de l'excrétion virale, après l'épreuve, des porcelets porteurs d'anticorps contre le virus de la maladie d'Aujeszky :*

1/ Le virus de la maladie d'Aujeszky a été isolé de la rate d'un porcelet sur les 10 sacrifiés trois semaines après l'épreuve et de la rate d'un autre porcelet sur les 5 sacrifiés six semaines après l'épreuve. Tous les autres prélèvements effectués sur ces porcelets (amygdales, cornets nasaux, rein, foie, moelle épinière et encéphale) ont fourni des résultats négatifs.

Par ailleurs, le virus a été isolé de la rate d'un porc mis en contact trois semaines après l'épreuve virulente.

2/ Aucun des porcelets mis en contact avec les porcelets ayant résisté à l'épreuve virulente, n'a présenté de signes cliniques de maladie. Leur sérum ne contenait pas d'anticorps contre la maladie d'Aujeszky au terme des 30 jours de contact.

### **3/ Etude des réactions post-vaccinales chez les truies :**

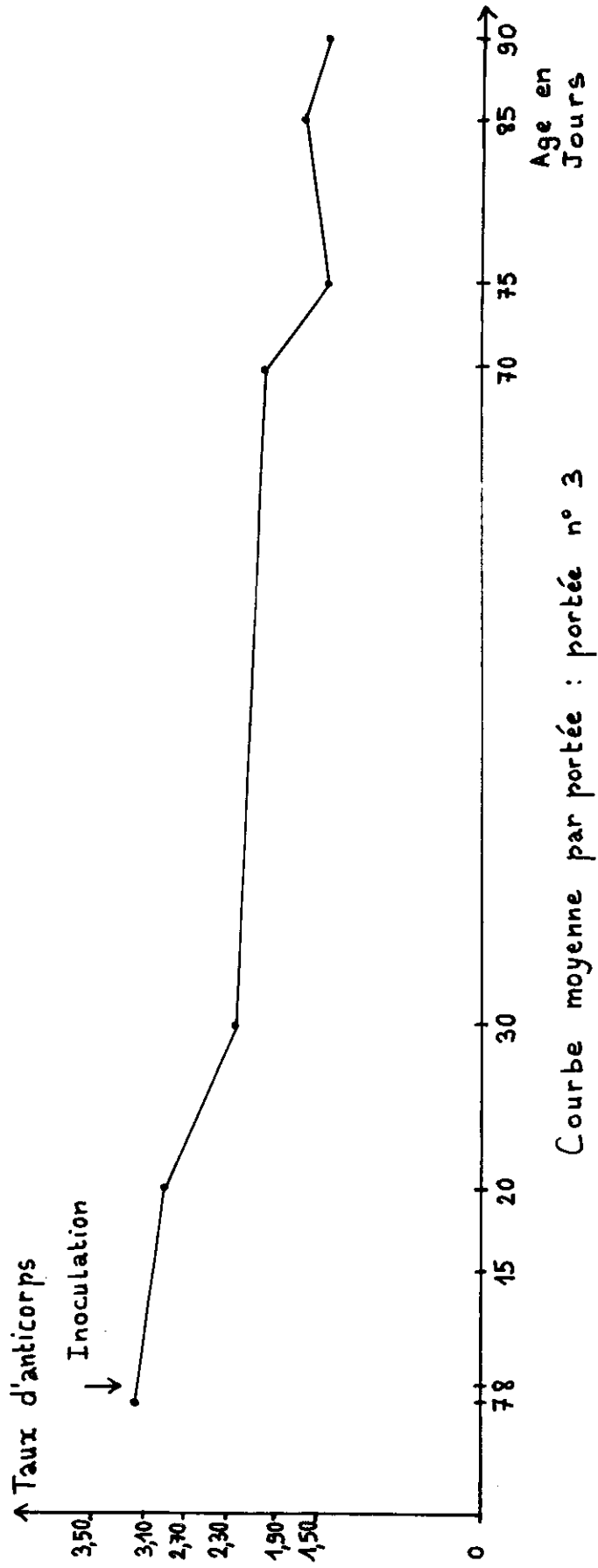
A la suite de la première injection de vaccin, les truies n'ont manifesté aucune réaction particulière. En revanche, dans les heures suivant l'injection de rappel, certaines truies ont présenté de l'anorexie, de l'hyperthermie et de la polypnée : l'hyperthermie a persisté pendant 48 heures. Après deux jours leur comportement est redevenu normal.

FIGURE 3

CINETIQUE DES ANTICORPS CHEZ LES PORCELETS ISSUS DE MERES VACCINEES

Taux d'anticorps : logarithme de la dilution protégeant 50 % des cupules inoculées à l'aide de 30 à 100 DCP<sub>50</sub> de virus.

100 DCP<sub>50</sub> de virus.



Plusieurs truies ayant reçu une injection de rappel en fin de gestation ont mis-bas des porcelets momifiés ou mort-nés.

*a) Mise en évidence du pouvoir allergène du virus de la maladie d'Aujeszky :*

Afin de préciser la nature de l'élément responsable de la réaction des truies, plusieurs contrôles ont été entrepris qui ont permis de suspecter le pouvoir allergène du virus de la maladie d'Aujeszky antérieurement évoqué par Haralambiev et Yotov (3). Pour en établir la preuve formelle, le virus de la maladie d'Aujeszky a été concentré et purifié par ultra centrifugation en gradient de saccharose, puis inactivé. Deux dialyses successives ont permis d'éliminer toute trace d'agent d'inactivation, susceptible d'irriter localement les tissus après injection.

Des tests cutanés ont ensuite été entrepris sur une dizaine d'animaux, vaccinés au préalable, qui ont reçu par voie intra-dermique 0,1 ml d'antigène purifié et 0,1 ml de sérum de veau en un deuxième point. L'injection de sérum de veau devait permettre de tester l'hypothèse d'une sensibilisation aux protéines sériques, celles-ci étant toujours présentes à l'état de traces dans les vaccins issus de cultures cellulaires.

Au point d'injection de l'antigène purifié, une papule de taille variable est apparue dans tous les cas, alors qu'aucune réaction locale n'était observée au point d'injection du sérum.

*b) Importance de la réaction de sensibilisation dans les conditions de la pratique :*

Pour préciser la proportion des animaux présentant une réaction de nature allergique au moment du rappel et l'intensité des réactions observées, 220 truies ont reçu deux injections vaccinales et ont été observées sur le plan clinique pendant les 24 heures suivant le rappel.

Chez 30 % des truies adultes et 45 % des cochettes la température a dépassé 40°C le lendemain du rappel. L'injection de la première dose de vaccin dans les exploitations infectées entraîne le même type de réaction.

## DISCUSSION

Les résultats des études effectuées sur ce vaccin sont encourageants, en dépit des réactions vaccinales observées dans certains cas. Il ne faut pas oublier en effet qu'un acte vaccinal n'est jamais anodin et qu'il doit être réalisé dans des conditions bien définies (animaux sains dans un milieu sain). C'est le respect de ces conditions d'utilisation qui permet le mieux de pallier les conséquences des réactions vaccinales éventuelles.

Dans une exploitation apparemment indemne de maladie d'Aujeszky, on peut envisager la vaccination de tous les reproducteurs, de préférence en dehors de la gestation, les rappels intervenant obligatoirement sur des truies vides entre le servage et la saillie. Les rappels se succéderont tous les six mois.

Chez les porcs à l'engrais, une seule vaccination à l'entrée en porcherie d'engraissement est suffisante.

Pour les futurs reproducteurs, deux vaccinations sont à envisager la première année : après le servage et avant la saillie.

Dans les exploitations où la maladie vient d'apparaître sous forme clinique, on peut vacciner l'ensemble des animaux, à partir du servage. Le rappel ayant lieu 30 jours après la première injection, les rappels ultérieurs se pratiquent comme dans les exploitations saines.

## CONCLUSIONS

Le vaccin huileux à virus inactivé confère une bonne immunité contre la maladie d'Aujeszky. Si son utilisation n'est pas dénuée d'effets secondaires dont il convient de poursuivre l'étude afin de les prévenir,



il fournit en revanche un moyen de lutte contre cette affection dont l'extension est préoccupante (5), (6). Il ne semble plus possible d'éliminer aujourd'hui la maladie d'Aujeszky par des mesures exclusivement sanitaires, en particulier dans les nombreux départements où elle s'est manifestée sur le plan clinique. A cette fin, le vaccin huileux à virus inactivé que nous avons expérimenté peut apparaître comme un moyen de réduire les pertes économiques dans les exploitations infectées ou menacées.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement le Docteur Vétérinaire KOJNOK qui a eu l'amabilité de nous envoyer le sérum de référence et la souche d'épreuve.

## BIBLIOGRAPHIE

1. A. BASKERVILLE, J.B. Mc FERRAN, C. DOW. Aujeszky's disease in pigs. Vet. Bull. 1973, **43**, 465-480.
2. J.F. DELAGNEAU, B. TOMA, P. VANNIER, R. LOQUERIE, P. PRUNET, J.P. TILLON. Immunisation contre la Maladie d'Aujeszky à l'aide d'un vaccin huileux. Rec. Méd. Vét., 1975, **151**, sous presse.
3. H. HARALAMBIEV & M. YOTOV. On allergy in the Aujeszky disease on swine. C. R. Ac. Bvlg. Sc, 1967, **20**, 853.
4. B. TOMA, J.F. DELAGNEAU, R. LOQUERIE, P. PRUNET. Etude d'un nouveau vaccin à virus inactivé et adjuvé contre la maladie d'Aujeszky. Bull. Off. Int. Epiz. 1975, sous presse.
5. B. TOMA, P. GORET. La maladie d'Aujeszky en France. Cah. Méd. Vét. 1974, **43**, 225-236.
6. B. TOMA, Y. LETURDU, P. GORET. Epidémiologie de la maladie d'Aujeszky en France. Bull. Off. Int. Epiz, 1975, sous presse.
7. G. WITTMANN, G. BARTENBACH & J. JAKUBIK. L'immunité conférée à la cellule dans l'infection par le virus d'Aujeszky chez le porc. Bull. Off. Int. Epiz. 1975, sous presse.