

Estimation du potentiel infectieux en fonction du temps de porcs infectés par le virus du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP) :

Corrélation avec les charges génomiques virales dans le sang, dans le mucus nasal et la réponse immunitaire humorale

Céline CHARPIN (1), Sophie MAHE (1), André KERANFLEC'H (1), François MADEC (1), Catherine BELLOC (2), Roland CARIOLET (1), Marie-Frédérique LE POTIER (1), Nicolas ROSE (1)

(1) Anses, BP53, 22440 Ploufragan, France

(2) UMR BioEpAR, Oniris, INRA, LUNAM, BP 40706, 44307 Nantes Cedex 03, France

nicolas.rose@anses.fr

Avec la collaboration technique de Mireille LE DIMNA (1), Yann BAILLY (1), Evelyne HUTET (1)

Estimation du potentiel infectieux en fonction du temps de porcs infectés par le virus du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP) : corrélation avec les charges génomiques virales dans le sang, dans le mucus nasal et la réponse immunitaire humorale

Le taux de transmission en fonction du temps du virus du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP), et les corrélations entre cette infectiosité et les paramètres virologiques ainsi qu'avec la réponse immunitaire humorale ont été étudiés chez des porcs infectés expérimentalement. Sept expériences de transmission successives impliquant un total de 77 porcelets Exempts d'Organismes Pathogènes Spécifiques (EOPS) ont été menées de 7 à 63 jours post-inoculation (JPI). Une RT-PCR semi-quantitative a été développée pour décrire, chez les porcs inoculés et contacts, l'évolution de la charge génomique virale dans le sang et dans le mucus nasal au cours du temps. Le génome viral a été détecté de 7 à 77 JPI dans le sang et de 2 à 48 JPI dans le mucus nasal. L'infectiosité des porcs inoculés, déterminée à partir de l'incidence des infections dans un groupe d'animaux sensibles lors de chaque mise en contact avec les porcs inoculés, augmente de 7 à 14 JPI puis décroît lentement jusque 42 JPI (3, 7, 2, 1 et 0 porcs infectés à 7, 14, 21, 28 et 42 JPI, respectivement). A l'aide de ces données, l'infectiosité temps-dépendante a été modélisée par une fonction de type lognormal avec une latence de 1 jour et conduit à un taux de reproduction de base, R_0 de 2,6 [95% IC 1,8 - 3,3]. L'évolution de l'infectiosité est principalement corrélée à la charge génomique virale dans le sang alors que la phase décroissante de l'infectiosité est fortement corrélée à l'augmentation des anticorps totaux.

Estimation of time-dependent infectiousness of pigs infected by the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus (PRRSV): correlation with the viral genome load in blood, nasal swabs and the serological response.

The time-dependent transmission rate of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) and the correlation between infectiousness and virological parameters and antibody responses of the infected pigs were studied in experimental conditions. Seven successive transmission trials involving a total of 77 specific pathogen-free piglets were carried out from 7 to 63 days post inoculation (DPI). A semi-quantitative RT-PCR was developed to assess in inoculated and contact pigs, the evolution of the viral genome load in blood and from nasal swabs with time. Virus genome in blood was detectable in inoculated pigs from 7 to 77 DPI, whereas the viral shedding was detectable from nasal swabs from 2 to 48 DPI. The infectiousness of inoculated pigs, assessed from the frequency of occurrence of infected pigs in susceptible groups in each contact trial, increased from 7 to 14 DPI and then decreased slowly until 42 days post infection (3, 7, 2, 1 and 0 pigs infected at 7, 14, 21, 28 and 42 DPI, respectively). Using those data, the time-dependent infectiousness was modelled by a lognormal-like function with a latency period of 1 day and led to an estimated basic reproduction ratio, R_0 of 2.6 [1.8, 3.3]. The evolution of infectiousness was mainly correlated with the course of viral genome load in blood whereas the decreasing part of the infectiousness was strongly related to the rise of total antibodies.

INTRODUCTION

Le syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) est dû à une infection par un virus enveloppé à ARN simple brin du genre *Arterivirus* qui a une spécificité d'hôte très restreinte puisqu'il n'infecte que les suidés. La maladie est caractérisée par des problèmes de reproduction chez les truies et des troubles respiratoires chez les porcelets et les porcs en croissance (Done *et al.*, 1996) conduisant à des pertes économiques considérables (Neumann *et al.*, 2005) ainsi qu'à l'utilisation importante des antibiotiques en élevage en raison des complications bactériennes secondaires.

Le taux de reproduction de base ou R_0 (nombre moyen d'infections secondaires engendrées par un individu infectieux au cours de sa période infectieuse dans une population de grande taille et entièrement sensible) est un élément clé dans les modèles épidémiologiques car il permet de prédire le comportement d'une épidémie. La mise en place d'essais expérimentaux permet de suivre le processus infectieux au cours du temps dans un environnement entièrement contrôlé et d'estimer les paramètres d'un modèle épidémiologique sous-jacent. Après infection expérimentale, la charge génomique du virus du SDRP dans le sang est détectable environ 3 jours post-inoculation puis augmente rapidement jusqu'au 14^{ème} jour, après quoi elle diminue progressivement et peut persister pendant plusieurs semaines (Molina *et al.*, 2008). Cependant, la seule mise en évidence par RT-PCR quantitative d'une charge génomique non négligeable ne suffit pas à établir le statut infectieux de ces animaux. L'unique preuve de l'infectiosité d'un porc est sa capacité à infecter des porcs sensibles au cours d'une période de contact.

L'objectif de ces expérimentations est de quantifier et caractériser la transmission du virus du SDRP en conditions expérimentales puis de corréliser cette infectiosité avec l'évolution de la charge génomique virale dans le sang, excrétée dans le mucus nasal et la réponse humorale.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

77 porcs Exempts d'Organismes Pathogènes Spécifiques (EOPS) et indemnes du virus du SDRP (et sans anticorps maternels dirigés contre ce virus) ont été utilisés. Sept porcs ont été gardés en tant que témoins négatifs (inoculation avec 5 ml de PBS) dans l'animalerie 0. Chaque animalerie contenait 2 parcs de 4 porcs (3 pour le groupe 63 JPI) avec une séparation de polyéthylène entre eux (Figure 1). Les porcs de l'animalerie 8 (nommés porcs du groupe « IC » pour « Inoculés avec Contact ») et 8' (nommés « porcs du groupe ISC » pour « Inoculés Sans Contact ») ont été inoculés avec le virus du SDRP (5 ml d'une suspension virale de la souche espagnole 218 (lignage Européen) du virus du SDRP titrant 10^5 DCP₅₀/ml par voie intra-nasale) à l'âge de 5 semaines. Les porcs du groupe ISC ont été gardés comme témoins positifs.

Dans cette expérimentation, « l'infectiosité » d'un porc se définit comme son aptitude à infecter un autre porc sensible. Le principe de l'essai est la mise en contact successive de groupes d'animaux sensibles avec des animaux inoculés, à différents temps post-inoculation (JO). Sept groupes de 8 porcs EOPS sont ainsi mis en contact (pendant 2 jours, puis retirés) avec le groupe des 8 porcs inoculés IC, respectivement à 7, 14, 21, 28, 42, 56 et 63 jours post-inoculation (JPI) (Figure 1).

Le principe est de déterminer le nombre d'infections primaires (liées au contact avec les porcs inoculés) dans chacun des groupes pour estimer le potentiel infectieux des animaux inoculés en fonction du temps.

Des prises de sang (une fois par semaine) et des écouvillons nasaux (deux fois par semaine) ont été effectués sur tous les animaux pendant toute la durée de l'expérience.

Les animaux infectés initialement et les animaux contacts ont respectivement été euthanasiés et autopsiés 98 jours après leur inoculation et 28 jours après contact.

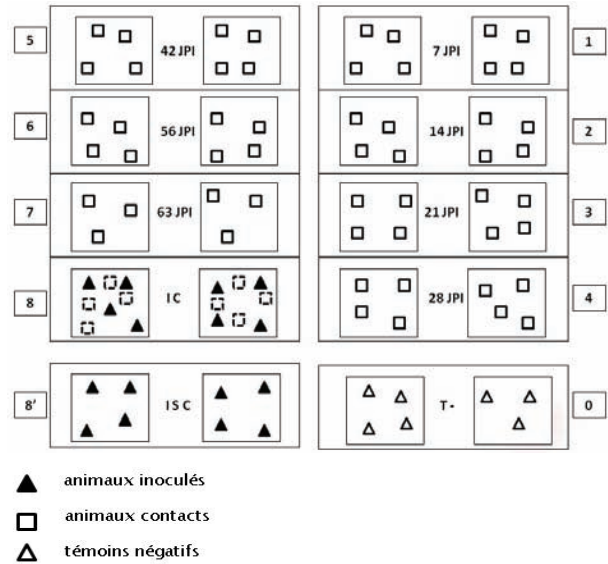


Figure 1 - Schéma du dispositif expérimental

1.2. Analyses de laboratoire

Les extractions de l'ARN viral contenu dans les échantillons sanguins et les écouvillons nasaux ont été réalisées avec le kit commercial d'extraction Viral DNA/RNA Isolation-NucleoSpin® 8 Virus de MACHEREY-NAGEL et Total RNA Isolation-NucleoSpin® 8 RNA de MACHEREY-NAGEL (Düren, Allemagne), respectivement.

Une technique de RT-PCR semi-quantitative spécifique du virus du SDRP a été développée. La séquence de l'ORF-7, choisie comme cible de détection du virus a été amplifiée avec les primers ORF-7-f (AACGYTCCCTCTGCTTGC), ORF-7-r (CTCAACCTGAAACTGACCTTCC) et la sonde TaqMan ORF-7-FAM (CGATCCAGACGGCTTTAATCAAGGCG).

La béta-actine utilisée comme contrôle interne et gène normalisateur pour la quantification relative de la charge génomique virale a été amplifiée avec les primers β -act-f (CTCGATCATGAAGTGCGACGT), β -act-r (GTGATCTCTTCTGCATCCTGTC) et la sonde TaqMan β -act-TET (ATCAGGAAGGACTCTACGCCAACACGG). La RT-PCR a été réalisée à l'aide des réactifs du Superscript™ III Platinum® One-Step Quantitative RT-PCR System (Carlsbad CA, USA).

Pour chaque échantillon, le Ct (cycle seuil) obtenu pour le virus du SDRP a été normalisé par rapport au Ct de la Béta-actine de ce même échantillon, permettant ainsi d'obtenir le Ct normalisé du virus du SDRP pour un échantillon donné. Les quantités relatives d'ARN du virus du SDRP ont ensuite été calculées, pour chaque échantillon, par rapport à l'échantillon correspondant à la plus petite quantité de génome viral, dans le sang ou dans les écouvillons nasaux, en utilisant la méthode

des $\Delta\Delta Ct$ (Pfaffl, 2001). Les résultats ont ensuite été exprimés en Log base 2.

La détection des anticorps dirigés contre le virus du SDRP a été réalisée avec le Kit ELISA HerdChek* PRRS X3 IDEXX HerdChek (Liebefeld-Bern, Suisse), selon les instructions du producteur. Un échantillon est considéré comme positif lorsque le ratio S/P ≥ 0.4 . La quantification des anticorps neutralisants dirigés contre le virus du SDRP a été faite par une réaction de neutralisation virale sur cellules MARC-145. Le titre sérique a été estimé avec la méthode de Kärber (1931).

1.3. Estimation du paramètre de transmission temps dépendant $\beta(\tau)$

L'essai repose sur l'hypothèse d'un paramètre de transmission (β) non constant, variant en fonction du temps depuis inoculation. Soient τ et $\beta(\tau)$ respectivement le temps depuis l'inoculation et le potentiel infectieux des animaux inoculés en fonction du temps depuis inoculation. $\beta(\tau)$ est le nombre moyen d'animaux qui peuvent être infectés par un animal inoculé au temps τ après inoculation. Le taux de reproduction de base, R_0 , peut être calculé en intégrant $\beta(\tau)$ sur toute la période infectieuse. Le nombre de nouvelles infections durant cet intervalle suit une distribution binomiale avec les paramètres $S=8$ (nombre d'animaux susceptibles à chaque épreuve contact), p_i la probabilité que le porc sensible i soit infecté et $q_i=1-p_i$, la probabilité qu'il ne le soit pas. Le log de la vraisemblance de cette distribution binomiale est donné par l'expression :

où C_i est le nombre de cas ou infections primaires dans chaque épreuve contact. Le potentiel infectieux $\beta(\tau)$ est estimé en maximisant cette fonction. Ceci été effectué en adaptant l'algorithme réalisé par Andraud *et al.* (2009) pour une étude sur la transmission du PCV2 à nos données d'infections dans les différents groupes contacts.

1.4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été conduites à l'aide du logiciel SAS 9.1 (SAS Institute inc., 2002).

Les comparaisons des résultats entre les porcs inoculés IC, ISC et les porcs témoins concernant la charge virale génomique dans le sang, dans le mucus nasal et les quantités en anticorps totaux et neutralisants, ont été effectuées en considérant l'effet «temps» comme effet répété (modèle linéaire généralisé de type generalized estimating equations, Proc GENMOD).

Les comparaisons multiples ont été réalisées à l'aide du test de Tukey. Le seuil de significativité choisi est $p \leq 0,05$.

2. RESULTATS

2.1. Observations cliniques

Les porcs inoculés ont présenté les symptômes d'une infection par le virus du SDRP les jours suivant l'inoculation (toux, éternuements et hyperthermie). Les températures rectales moyennes des porcs inoculés sont significativement supérieures à celles des témoins négatifs ($P < 0,05$). Aucune différence significative n'a été observée entre les porcs du groupe IC et ceux du groupe ISC (données non montrées).

2.2. Paramètres virologiques et sérologiques des porcs inoculés

Aucune différence significative n'a été obtenue entre le groupe IC et ISC pour les paramètres virologiques et sérologiques étudiés.

Les animaux du groupe témoin négatif sont restés négatifs pendant toute la durée de l'essai pour les paramètres étudiés.

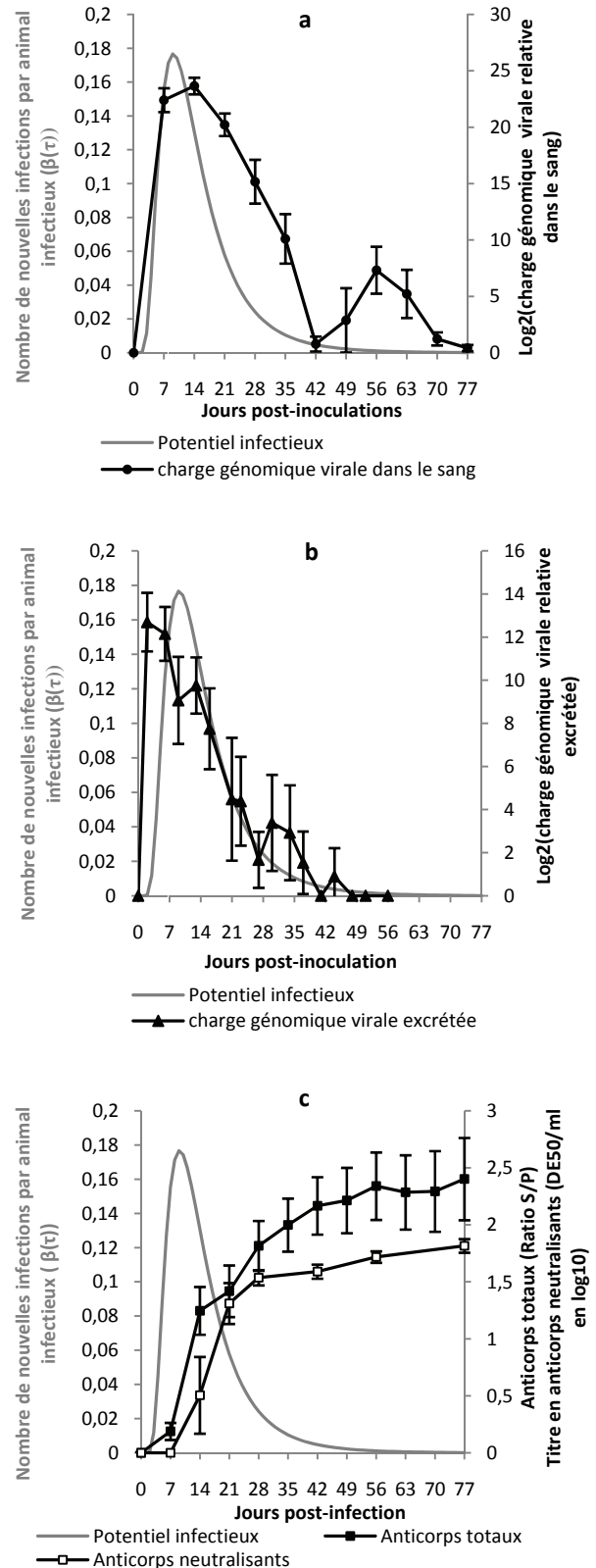


Figure 2 - Evolution du potentiel infectieux estimé et relation avec la charge génomique dans le sang (a), la charge génomique excrétée (b) et la quantité d'anticorps totaux et d'anticorps neutralisants (c) chez les 16 porcs inoculés

2.2.1. Charge génomique dans le sang et dans le mucus nasal mesurée par RT-PCR

Une efficacité similaire et proche de 100% pour chacun des gènes a été obtenue (efficacité de 107% pour l'ORF-7 et de 104% pour la bêta-actine).

L'ARN viral a été détecté dans le sang de tous les animaux inoculés dès le 7^{ème} JPI, sa quantité est maximale à 14JPI puis diminue et devient négligeable à partir de 77 JPI (Figure 2a). Les animaux inoculés ont excrété du génome viral dès 2 JPI.

A ce moment, l'excrétion est maximale puis décroît régulièrement et devient nulle à partir de 49 JPI (Figure 2b).

2.2.2. Sérologie

Les anticorps totaux sont détectés dès 7 JPI chez certains porcs inoculés et tous les animaux ont séroconverti la semaine suivante.

Leur quantité relative augmente ensuite jusqu'à 56 JPI où elle se stabilise jusqu'à la fin de l'essai à un ratio S/P=2,4 en moyenne (Figure 2c).

Les anticorps neutralisants sont détectés dès 14 JPI chez certains porcs inoculés et à partir de 21 JPI chez tous ces animaux sauf un qui n'en a pas présenté avant 28 JPI.

La quantité d'anticorps neutralisants augmente ensuite rapidement jusque 28 JPI puis plus progressivement à partir de cette date, jusqu'à 77 JPI où le titre atteint un log₁₀ de 1,8 DCP₅₀/ml (Figure 2c).

2.3. Les infections dans les groupes contacts

Trois types d'infections dans les groupes contacts ont été définis, en s'appuyant sur les résultats de la charge génomique dans le sang, de l'excrétion virale, de la sérologie et des lésions macroscopiques observées lors des autopsies : les infections primaires qui se sont produites durant les 2 jours de contact avec les porcs inoculés, et les infections secondaires et tertiaires qui se sont produites après le retour des groupes contacts dans leurs parcs respectifs. L'excrétion virale est le paramètre biologique mesuré qui s'est avéré le plus efficace pour différencier les types d'infection (figure 3). Il a été supposé que les animaux qui n'excrètent pas de virus au 3^{ème} jour post-contact n'ont pas été infectés par les porcs inoculés et sont donc le résultat d'infections secondaires car :

- les porcs inoculés excrètent tous le virus dès le 2^{ème} jour post-inoculation
- le taux de contact entre les porcs inoculés et les porcs contacts peut raisonnablement être supposé uniforme.

Les infections primaires correspondent donc uniquement aux animaux excrétant le virus à leur 3^{ème} jour post-contact. Le nombre d'infectés primaires est ainsi de 3 porcs dans le groupe 7 JPI, il augmente ensuite pour le groupe 14 JPI (7 individus) puis diminue rapidement à 2 et 1 dans les groupes 21 JPI et 28 JPI respectivement. Les porcs des groupes 42 JPI, 56 JPI et 63 JPI n'ont montré aucun signe d'infection jusqu'à leur abattage indiquant que les porcs inoculés n'étaient plus infectieux au moins à partir de 42 JPI.

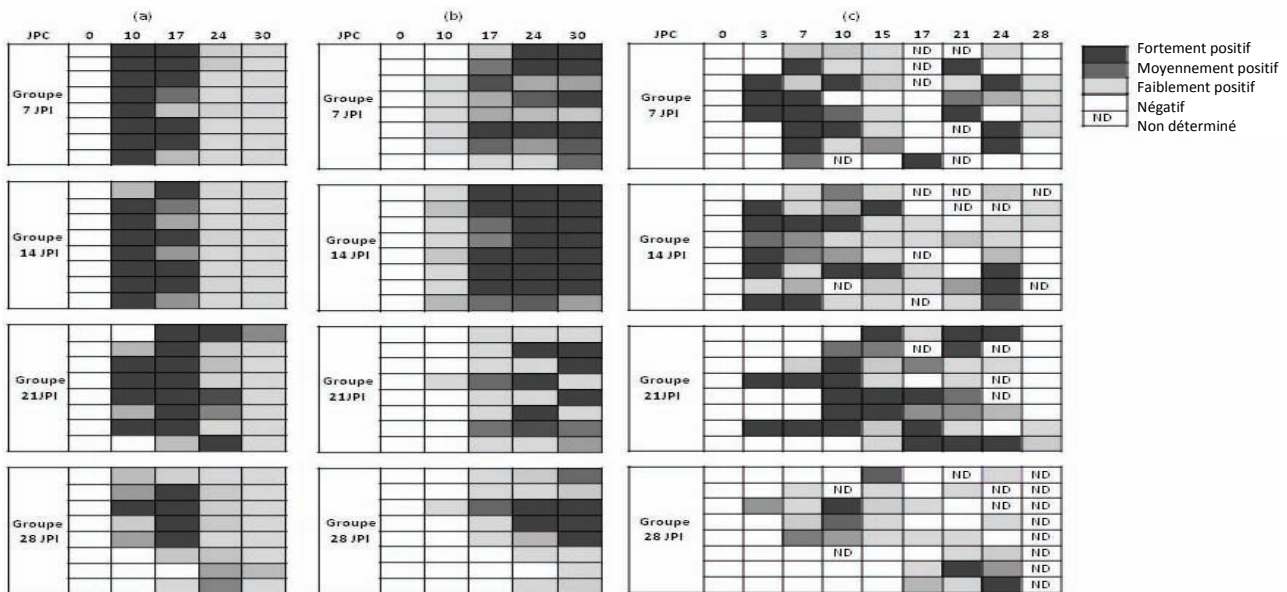


Figure 3 - Cinétique de l'infection chez les porcs contacts (groupes 7, 14, 21 et 28 JPI). (a) Charge génomique virale individuelle dans le sang (b) Sérologie individuelle (anticorps totaux) (c) Charge génomique virale excrétée individuelle. Les classifications faiblement, moyennement et fortement positif sont basées sur les valeurs des 33^{ème} et 66^{ème} percentiles de la distribution des charges génomiques relatives et du rapport S/P pour la sérologie.

2.4. Estimation du taux de transmission temps dépendant

Des hypothèses ont été faites quant à la forme la plus probable de la courbe du potentiel infectieux selon le nombre de porcs infectés dans chaque groupe contact. La courbe a été supposée unimodale, avec un mode entre 7 et 14 jours post-inoculation. De plus, la fonction a été considérée comme dissymétrique à gauche, avec une limite supérieure mais imprécise puisque seulement un des huit porcs sensibles du

groupe 28 JPI a été infecté (primaire) et aucun du groupe 42 JPI ne l'a été. La limite supérieure se situe donc entre 28 et 42 JPI. Ces hypothèses ont permis de choisir trois types de fonctions à tester : gamma, lognormal et weibull de paramètres k et θ , correspondant respectivement aux paramètres de forme et de grandeur des distributions des fonctions gamma et weibull et à la moyenne et la variance de la distribution de la fonction lognormal. $\beta(\tau)$ est définie comme le produit du R₀ et de la densité de probabilité des fonctions gamma, lognormal ou weibull pour les temps supérieurs à la durée de latence.

La caractérisation de $\beta(\tau)$ nécessite donc l'estimation de trois paramètres : k , θ et R_0 .

Trois durées de latence ont été testées : 0, 1 et 2 jours. Après l'exécution du modèle, une analyse de sensibilité a été réalisée afin de déterminer la forme de $\beta(\tau)$ s'ajustant le mieux aux données de nombres d'infections observées dans chaque groupe contact. Un seul type de fonction semble être cohérent avec les infections observées pendant les différents contacts : la fonction de type lognormal ($k=2,5$; $\theta=0,34$) avec une latence de 1 jour. Le graphique de la fonction représentant le potentiel infectieux $\beta(\tau)$ (forme lognormal) est représenté à la figure 2, superposé aux résultats biologiques. Le mode de cette fonction est situé à 9 JPI. $\beta(\tau)$ est inférieur à 0,001 au-delà de 48 JPI, la probabilité de transmission du virus est donc négligeable au-delà de cette date. Le taux de reproduction de base, R_0 , pour une infection par le virus du SDRP a été estimé en intégrant $\beta(\tau)$ sur toute la période infectieuse : $R_0 = \int_0^{\infty} \beta(\tau) d\tau = 2.6 [1,8 - 3,3]$.

Le temps moyen de génération d'un nouvel individu infectieux par un individu infectieux peut aussi être calculé,

$$Tg = \int_0^{\infty} (\tau \beta(\tau) / \int_0^{\infty} \beta(s) ds) d\tau = 14.5 \text{ jours } [14,4 - 14,6].$$

Les corrélations entre l'évolution du potentiel infectieux et les paramètres virologiques et immunologiques ont été calculées sur toute la période infectieuse, sur la phase d'accroissement uniquement (≤ 9 jours) et sur la phase décroissante uniquement du potentiel infectieux (> 9 jours).

L'évolution de l'infectiosité est principalement corrélée à la charge génomique virale dans le sang et la phase décroissante du potentiel infectieux est fortement corrélée à l'augmentation de la quantité d'anticorps totaux.

3. DISCUSSION

3.1. Paramètres virologiques et sérologiques des porcs inoculés

La cinétique des charges génomiques virales dans le sang des porcs est cohérente avec les descriptions disponibles dans la littérature (Molina *et al.*, 2008). Après une augmentation rapide de la charge génomique, le pic est atteint deux semaines après l'infection puis une diminution progressive est observée jusqu'à 90 JPI environ. La charge génomique virale excrétée dans le mucus nasal augmente très rapidement conformément aux précédentes études (Ruiz *et al.*, 2009), elle est maximale à 2 JPI puis elle diminue progressivement jusqu'à 48 JPI où elle est nulle.

La séroconversion de certains porcs a été observée dès 7 JPI et une semaine plus tard tous les animaux ont séroconverti, ce qui est en accord avec les précédentes recherches conduites sur ce virus (Yoon *et al.*, 1995; Diaz *et al.*, 2005). La quantité d'anticorps augmente ensuite puis se stabilise à partir de 56 JPI. Contrairement, à d'autres études où les anticorps neutralisants apparaissent tardivement (Yoon *et al.*, 1995), ils sont détectés ici dès la 2^{ème} semaine après l'inoculation pour certains porcs puis pour tous, à 21 JPI sauf un qui n'en a pas présenté avant 28 JPI. Cette apparition plus précoce des anticorps neutralisants dans notre étude pourrait s'expliquer par une différence de sensibilité de la méthode de détection, des différences liées à la souche du virus et/ou à la voie d'inoculation employée, ainsi que la race et l'âge des animaux. Le titre en anticorps neutralisants reste néanmoins relativement bas (maximum du titre en \log_{10} de 1,8 à 77 JPI) conformément à la littérature (Darwich *et al.*, 2010).

Aucune différence significative n'a été obtenue entre le groupe IC et ISC pour les paramètres virologiques et sérologiques étudiés indiquant que le stress engendré par l'introduction de nouveaux animaux n'a pas eu d'influence sur les paramètres étudiés.

3.2. Le potentiel infectieux estimé à partir des porcs contacts

Le nombre d'animaux infectés primaires a tout d'abord augmenté jusqu'à atteindre 87,5 % d'animaux sensibles infectés à 14 JPI puis il diminue rapidement et aucun animal n'a été infecté lors du contact à 42 JPI. Etant donné qu'une seule infection primaire est recensée à 28 JPI, un contact une semaine plus tard à 35 JPI aurait été informatif. Il aurait probablement permis d'affiner la date où les porcs n'excrètent plus de particules infectieuses en quantité suffisante pour infecter des individus sensibles, d'autant plus qu'ils excrètent du génome virale jusqu'à 48 JPI. Différentes données ont été analysées afin de différencier les infections primaires des secondaires voire tertiaires : les résultats de sérologie, de l'excrétion virale, de la charge génomique virale dans le sang et les lésions macroscopiques observées en autopsies. Cependant, les résultats les plus informatifs proviennent des écouvillons nasaux prélevés tous les 3 jours et donnant ainsi la date à partir de laquelle les porcs commencent à excréter le virus. Tous les animaux inoculés ont excrété du génome viral dès 2 JPI et le taux de contact entre les porcs inoculés et les porcs contacts peut raisonnablement être considéré comme uniforme. Il a donc été supposé que les animaux infectés primaires étaient ceux qui excrétaient du génome viral dès 3 JPC. Chaque animalerie contenait deux parcs de quatre porcs avec une séparation de polyéthylène entre eux. Cependant, le groupe 28 JPI n'a fait l'objet que d'une seule infection primaire (dans un seul parc) et les porcs qui n'étaient pas situés dans le même parc ont tout de même fini par être infectés. Ceci suggère une contamination d'un parc à l'autre avec une possibilité de transport par voie aérienne sur une courte distance sans qu'il soit possible de l'attester.

L'adaptation de l'algorithme utilisé par Andraud *et al.* (2009) à nos données de nombres d'infections primaires dans chaque groupe contact nous a permis d'estimer le potentiel infectieux d'animaux infectés par le virus du SDRP en fonction du temps depuis infection. La distribution du potentiel infectieux conduit à une durée moyenne d'infectiosité de 14,8 jours, un pic d'infectiosité à 9 JPI et un arrêt au-delà de 48 JPI. Ces résultats suggèrent une durée moyenne de la période infectieuse plus courte que les résultats obtenus par d'autres auteurs qui ont décrit une excrétion virale allant au moins jusqu'à 56 JPI (Terpstra *et al.*, 1992) voire 156 JPI (Wills *et al.*, 1997). Les différences majeures par rapport aux études citées précédemment reposent sur une caractérisation fine de l'évolution de ce potentiel infectieux en fonction du temps, qui ne peut résolument être considéré comme constant et qui n'est pas strictement superposé à la virémie et à l'excrétion par voie nasale. Ces estimations valent pour la souche que nous avons utilisée (lignage Européen), des différences importantes pouvant être attendues avec des souches de lignage Nord-Américain par exemple.

L'augmentation rapide du potentiel infectieux de 1 à 9 JPI se superpose avec l'accroissement de la charge génomique virale dans le sang, dans une moindre mesure avec la charge virale excrétée dans le mucus nasal qui débute plus précocement. La corrélation entre le potentiel infectieux et la charge génomique virale dans le sang est à ce titre meilleure sur toute

la période de l'essai qu'avec la charge génomique excrétée (coefficient de corrélation=0,82 versus 0,59, respectivement). Plusieurs hypothèses peuvent être émises quant au fait que l'excrétion est plus précoce que le potentiel infectieux. Tout d'abord, il est possible que les animaux infectés excrètent précocement des virus défectifs interférants (génération spontanée de virus mutants dans lesquels une partie essentielle du génome du virus a été supprimée ce qui le rend non fonctionnel) (Xiao *et al.*, 2010). Une autre hypothèse serait que les particules virales excrétées n'ont pas la même infectiosité au cours du temps et sont plus infectieuses à 9 JPI que celles excrétées à 2 JPI. Il est également possible qu'au moment du pic d'infectiosité, le virus soit majoritairement excrété par d'autres voies que les sécrétions nasales comme les fèces, la salive ou encore l'urine (Wills *et al.*, 1997a). La décroissance du potentiel infectieux à partir de 9 JPI correspond au moment où les quantités d'anticorps totaux et d'anticorps neutralisants augmentent fortement.

La corrélation entre la décroissance du potentiel infectieux et la quantité d'anticorps neutralisants est légèrement inférieure à celle de la décroissance du potentiel infectieux et la quantité d'anticorps totaux (corr= -0,47 versus -0,53 respectivement). Cependant, il est possible que ceci soit un artefact causé par le plus petit nombre de dates où les anticorps neutralisants ont été titrés. Le rôle des anticorps neutralisants dans la protection contre le virus du SDRP est controversé. En effet, même si Murtaugh *et al.* (2002) suggèrent une corrélation entre le développement des anticorps neutralisants et la clairance virale, la plupart des études montrent que la

protection assurée par les anticorps neutralisants après une infection expérimentale est très faible et irrégulière avec une grande variabilité individuelle (Diaz *et al.*, 2005). Les résultats de notre étude suggèrent la contribution des anticorps neutralisants dans le contrôle de la propagation de l'infection virale malgré une persistance d'une charge génomique virale dans le sang non négligeable en présence des anticorps.

Le R_0 estimé dans cette étude est un paramètre théorique, indiquant la manière dont le virus se propagerait dans une population entièrement sensible et de grande taille. Le taux de reproduction de base du virus du SDRP a été estimé à 2,6 dans cette étude ce qui suggère une propagation progressive du virus dans une population mais aussi une capacité de persistance car le R_0 est supérieur à 1. Compte-tenu de la structure réelle des élevages porcins, les résultats obtenus nécessiteraient d'être mis en application dans une représentation de la population plus détaillée et plus proche de la réalité (variabilité entre les individus, structures de contacts, réformes et renouvellement des animaux).

REMERCIEMENTS

Cette étude a été partiellement financée par le projet "SANCRE", (Santé animale, sécurité des aliments et Compétitivité des filières animales Régionales), de l'appel à projet « Pour et Sur le Développement Régional dans le Grand-Ouest, 2008 » ainsi que par le Conseil Général des Côtes d'Armor.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andraud M., Grasland B., Durand B., Cariolet R., Jestin A., Madec F., Pierre J.S., Rose N., 2009. Modelling the time-dependent transmission rate for porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs using data from serial transmission experiments. *J. R. Soc. Interface*, 6, 39-50.
- Darwich L., Diaz I., Mateu E., 2010. Certainties, doubts and hypotheses in porcine reproductive and respiratory syndrome virus immunobiology. *Virus Res.*, 154, 123-132.
- Diaz I., Darwich L., Pappaterra G., Pujols J., Mateu E., 2005. Immune responses of pigs after experimental infection with a European strain of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Gen. Virol.*, 86, 1943-1951.
- Done S.H., Paton D.J., White M.E.C., 1996. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): A review, with emphasis on pathological, virological and diagnostic aspects. *Br. Vet. J.*, 152, 153-174.
- Kärber G. (1931). Contribution to the collective treatment of pharmacological serial experiments. *Arch. Exp. Path. Pharmacol.* 162, 480-483.
- Molina R.M., Cha S.H., Chittick W., Lawson S., Murtaugh M.P., Nelson E.A., Christopher-Hennings J., Yoon K.J., Evans R., Rowland R.R., Zimmerman J.J., 2008. Immune response against porcine reproductive and respiratory syndrome virus during acute and chronic infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 126, 283-292.
- Murtaugh M.P., Xiao Z., Zuckermann F., 2002. Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Viral Immunol.*, 15, 533-547.
- Neumann E.J., Kliebenstein J.B., Johnson C.D., Mabry J.W., Bush E.J., Seitzinger A.H., Green A.L., Zimmerman J.J., 2005. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 227, 385-392.
- Pfaffl M.W., 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.*, 29, e45.
- Ruiz A., Neira V., Ramirez E., Garcia A., Lecocq C., Quezada M., 2009. Excretion and transmission study of the Chilean porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate by means of RT-nPCR and ELISA in experimentally inoculated animals and sentinels in contact. *Arch. Med. Vet.*, 41, 221-228.
- Terpstra C., Wensvoort G., Van Leengoed L.A.M.G., 1992. Persistence of Lelystad virus in herds affected by porcine epidemic abortion and respiratory syndrome. In: 12th International Pig Veterinary Society Congress, The Hague, The Netherlands, p. 118.
- Wills R.W., Zimmerman J.J., Swenson S.L., Yoon K.-J., Hill H.T., Bundy D.S., McGinley M.J., 1997a, Transmission of PRRSV by direct, close, or indirect contact. *J. Swine Health Prod.*, 5, 213-218.
- Xiao C.-T., Liu Z.-H., Yu X.-L., Ge M., Li R.-C., Xiao B.-R., Zhou H.-R., Identification of new defective interfering RNA species associated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Virus Res.*, 158, 33-36.
- Wills R.W., Zimmerman J.J., Yoon K.-J., Swenson S.L., McGinley M.J., Hill H.T., Platt K.B., Christopher-Hennings J., Nelson, E.A., 1997. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: A persistent infection. *Vet. Microbiol.*, 55, 231-240.
- Yoon K.J., Zimmerman J.J., Swenson S.L., McGinley M.J., Eernisse K.A., Brevik A., Rhinehart L.L., Frey M.L., Hill H.T., Platt K.B., 1995. Characterization of the humoral immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 7, 305-312.