

# Réduction de la transmission du virus du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP) chez les porcs vaccinés en conditions expérimentales

Nicolas ROSE, Patricia RENSON, Mathieu ANDRAUD, Frédéric PABOEUF, Marie-Frédérique LE POTIER, Olivier BOURRY

Anses - Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, BP 53, 22440 Ploufragan

*nicolas.rose@anses.fr*

*Avec la collaboration de André KERANFLEC'H, Yann BAILLY, Nadège MORIN*

## **Réduction de la transmission du virus du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP) chez les porcs vaccinés en conditions expérimentales**

Des stratégies de vaccination permettent de réduire l'expression clinique du SDRP. Cependant, l'effet de la vaccination sur la transmission virale est encore mal connu, et fait l'objet de cette étude. Douze porcs exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS), vaccinés contre le virus du SDRP à 3 semaines d'âge (Porcilis PRRS ID<sup>®</sup>, MSD), ont été inoculés à 31 jours post-vaccination avec la souche Finistère (génogroupe 1.1), puis mis en contact avec douze porcs vaccinés sentinelles pendant 49 jours. Conjointement, cette expérimentation a été reproduite avec des porcs EOPS non vaccinés. Un suivi clinique quotidien et des prélèvements sanguins bihebdomadaires ont été effectués individuellement. Chez les animaux inoculés, la charge virale spécifique de la souche d'épreuve est réduite et la virémie écourtée chez les porcs vaccinés (28 jours *versus* 38 jours chez les porcs non vaccinés). Chez les porcs sentinelles, la souche Finistère est détectée uniquement chez un porc vacciné alors qu'elle est détectée chez la totalité des porcs non vaccinés. Pour les porcs vaccinés, le taux de transmission estimé est dix fois inférieur à celui calculé pour les porcs non vaccinés et la période d'infectiosité est réduite, induisant un taux de reproduction R significativement plus faible (0,28 [0,04-0,96] *versus* 4,97 [2,71-8,36] chez les porcs non vaccinés). Ainsi, dans nos conditions expérimentales, la vaccination permet de réduire efficacement la propagation du virus du SDRP. Une évaluation complémentaire dans les conditions de terrain permettrait l'identification de facteurs associés aux échecs de contrôle de l'infection qui peuvent être observés en élevage.

## **Reduction of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus (PRRSv) transmission in vaccinated pigs in experimental conditions**

Some vaccination strategies have shown good results in reducing the clinical outcomes of PRRS. However, the effect on viral transmission is not well known and is the objective of this study. Twelve Specific Pathogen Free (SPF) piglets, vaccinated against PRRSv at 3 weeks of age (Porcilis PRRS ID<sup>®</sup>, MSD), were inoculated at 31 days post-vaccination with the 'Finistère' strain (genogroup 1.1), and put in contact with 12 vaccinated piglets during 49 days. The same protocol was carried out simultaneously with SPF non-vaccinated piglets. Piglets were monitored individually for clinical symptoms on a daily basis and individual blood samples were taken twice a week. In inoculated piglets, the genome viral load specific to the inoculated strain was reduced and viraemia shortened in vaccinated piglets (28 days *versus* 38 days in non vaccinated piglets). In contact pigs, the 'Finistère' strain was only detected in one vaccinated piglet whereas it was detected in all contact non-vaccinated piglets. The estimated transmission rate was 10-times lower in vaccinated than in non-vaccinated piglets and the duration of infectiousness was reduced, leading to a reproduction ratio R significantly lower (0.28 [0.04-0.96] *versus* 4.97 [2.71-8.36]) in non vaccinated piglets. Hence, in our experimental conditions, vaccination was able to decrease considerably the PRRSv spread. A complementary evaluation in field conditions would be required to identify circumstances associated with infection control failures that can be observed in pig farms.

## INTRODUCTION

Le syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) est l'une des maladies infectieuses les plus préjudiciables pour la filière porcine. A l'origine de pertes économiques considérables, elle conduit également à l'utilisation d'antibiotiques en élevage, en raison des complications bactériennes secondaires (Neumann *et al.*, 2005). En France, la prévalence du virus en élevage est très importante dans des régions de forte densité porcine comme la Bretagne (Fablet *et al.*, 2012). Le syndrome a été classé parmi les trois maladies les plus préjudiciables en élevage (Anses, 2012). Le virus du SDRP est également un co-facteur majeur du complexe respiratoire porcin (Fablet *et al.*, 2012) et d'autres syndromes comme la maladie de l'amaigrissement du porcelet (Rose *et al.*, 2003). Le virus du SDRP s'installe de manière enzootique en élevage porcin et l'assainissement d'élevages chroniquement infectés est tout aussi complexe que prévenir une ré-infection en zone de forte densité porcine. La mise en place de protocoles de vaccination chez les porcs en croissance, faisant appel à des vaccins vivants atténués permet de limiter les conséquences cliniques de l'infection (Martelli *et al.*, 2009). Cependant, la valence épidémiologique, c'est-à-dire l'aptitude du vaccin à limiter significativement la propagation du virus, est mal connue. La propagation du virus du SDRP a jusqu'ici essentiellement été étudiée chez des porcs non vaccinés en conditions d'élevage (Nodelijk *et al.*, 2000) ou expérimentale (Charpin *et al.*, 2012). L'effet de la vaccination a été évalué dans une étude mais sans obtenir de résultats probants compte-tenu d'une propagation anormalement faible du virus d'épreuve (Mondaca-Fernandez *et al.*, 2007). La seule étude comparant la transmission du virus chez des porcs vaccinés et non-vaccinés avec un taux de reproduction de base (R0) chez les non vaccinés conforme aux différentes données publiées, a évalué l'efficacité d'un vaccin atténué de génotype 2 sur une souche d'épreuve de génotype 1. Aucune, réduction significative de la transmission chez les porcs vaccinés n'a été mise en évidence malgré l'observation d'une diminution significative de la virémie chez les porcelets vaccinés (Nodelijk *et al.*, 2001; Velthuis *et al.*, 2002).

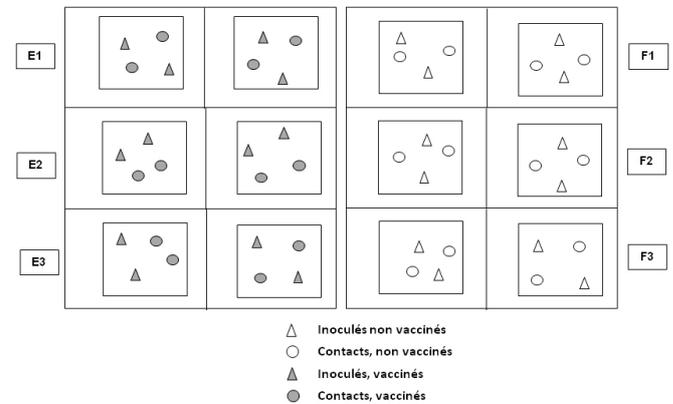
L'objectif de ce travail a donc été d'évaluer, en conditions expérimentales, l'efficacité de la vaccination à l'aide d'un vaccin atténué de génotype 1, sous type 1, sur la transmission d'une souche d'épreuve hétérologue mais de génogroupe 1.1 également.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Dispositif expérimental

L'expérimentation a été conduite au sein des animaleries sous air filtré et de niveau de biosécurité 3 de l'Anses de Ploufragan. Les 56 porcelets Exempts d'Organismes Pathogènes Spécifiques (EOPS) ont été répartis aléatoirement en stratifiant sur le poids et le sexe dans 6 animaleries (figure 1) plus une animalerie pour les porcs témoins (n=8). Les animaleries E1, E2 et E3 regroupent des porcs vaccinés et les animaleries F1, F2, F3 des porcelets non vaccinés. Dans chaque animalerie, les deux parcs sont conduits indépendamment à l'aide d'une cloison pleine et chaque parc héberge 2 porcelets inoculés et 2 porcelets contacts. Le dispositif comporte donc 6 répétitions de contacts 2x2 pour les groupes vaccinés et non vaccinés, respectivement.

Les porcelets vaccinés ont reçu 31 jours avant le challenge (J-31) 0,2 ml/porc du vaccin Porcilis PRRS ID® (MSD) par voie intradermique à l'aide de l'injecteur IDAL®. A J0, soit 31 jours après la vaccination, 2 porcs par parc ont été inoculés par voie intranasale avec un inoculum de la souche dite 'FINISTERE', PRRS/FR/29/24/1/2005 de génogroupe 1.1 titrant à  $5.10^5$  DCP<sub>50</sub> sous un volume de 2,5 ml par narine.



**Figure 1** – schéma du dispositif expérimental

La souche d'épreuve présente 92,7% et 95,1% d'homologie avec la souche vaccinale sur l'ORF5 et ORF7, respectivement.

Les porcelets à inoculer ont été regroupés dans un parc pour l'inoculation puis mis en contact 24h après l'inoculation avec les animaux sentinelles.

Un suivi clinique quotidien a été mis en place ainsi que des prises de sang, deux fois par semaine pour le suivi de la charge génomique virale dans le sang jusqu'à l'abattage des animaux, soit 49 jours après l'inoculation (JPI). Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique agréé sous le n°16 par le Ministère de la Recherche.

### 1.2. Quantification de la charge génomique virale SDRP (souche d'épreuve) dans le sérum

Afin de détecter exclusivement la souche d'épreuve et non la souche vaccinale également, une qRT-PCR spécifique a été développée. Les charges virales spécifiques de la souche ont été quantifiées dans le sérum par qRT-PCR à l'aide d'une gamme de virus de titre connu. L'ARN a été extrait, selon le protocole du fabricant, à partir de 100 µl de sérum avec le kit NucleoSpin RNA 8 virus ou à partir de 150 µl de surnageant de broyat d'amygdales (20 µg de tissu broyés dans 400 µl de PBS) avec le kit NucleoSpin RNA virus (Macherey-Nagel, Düren, Allemagne). Le génome du virus du SDRP a ensuite été amplifié en utilisant le mélange réactionnel Superscript III Platinum One step Quantitative RT-PCR (Life Technologie, Carlsbad, CA, États-Unis) supplémentés en sondes et amorces spécifiques du gène cible (ORF5 de la souche Finistere : amorce sens TATGCGAGCTGAATGGGACC, amorce anti-sens AGGATATGAGTGGCAACCGG, sonde 6FAM-TGGGCAGTTGAGACTTTCGTGCT-TAM) et du gène de référence (béta-actine porcine : amorce sens CTCGATCATGAAGTGCACGT, amorce anti-sens GTGATCTCCTCTGCATCCTGTC, sonde TET-ATCAGGAAGGACCTCTACCCAACACGG-BHQ1). Les réactions de RT-PCR ont été effectuées dans un thermocycleur temps réel de type Chromo4 (Bio-Rad, Hercules, CA, États-Unis) selon le programme : 30 min à 50°C suivies de 45 cycles de 2 min à 94°C et 30 sec à 60°C. Les résultats sont exprimés en équivalent (eq) DCP<sub>50</sub>/ml de sérum.

### 1.3. Analyse statistique

Les paramètres de transmission ont été estimés chez les porcs vaccinés et non vaccinés à partir des résultats d'incidence d'infection des porcs contacts par la souche d'épreuve entre deux dates de prélèvement (intervalle  $D_i=[t_i, t_{i+1}]$  de durée  $d_i$ ). Au cours de cet intervalle, la probabilité d'infection est définie par  $P_i = 1 - \exp(-d_i \cdot \beta \cdot \pi_i)$ ,  $\beta$  étant le taux de transmission ou le nombre de porcs infectés par un porc virémique par jour et  $\pi_i$  la proportion de porcs virémiques au cours de l'intervalle  $D_i$ . Les paramètres sont estimés par inférence bayésienne à partir de l'écriture de la vraisemblance du modèle. La durée de la période infectieuse a été modélisée par une distribution de type gamma de paramètres de forme A et d'intensité B estimés par maximum de vraisemblance et dont les intervalles de confiance ont été déterminés par bootstrap non paramétrique. Le logiciel R (Ihaka, Gentleman, 1996) a été utilisé pour la programmation du modèle et l'estimation des paramètres. Les données de charge génomique virale ont été comparées chez les porcelets vaccinés et non vaccinés à l'aide d'un modèle de régression linéaire mixte en prenant en compte les mesures répétées dans le temps et séparément pour la partie croissante et décroissante de la courbe de virémie (SAS Institute Inc., 2011).

## 2. RESULTATS

### 2.1. Données cliniques

Après vaccination, aucune élévation de température significative n'est observée chez les porcs vaccinés par rapport aux autres groupes non vaccinés (figure 2).

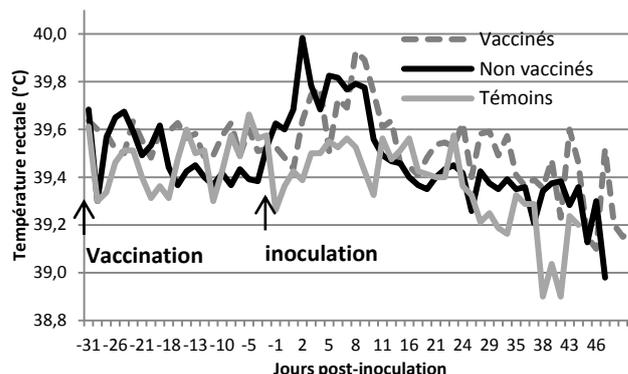


Figure 2 – Evolution de la température rectale moyenne chez les porcs inoculés et témoins

Une élévation de température dès 2 JPI et persistant quelques jours est en revanche visible après inoculation chez les porcs non vaccinés et vaccinés avec un léger décalage dans le temps pour ces derniers.

Par la suite, l'évolution de la température est similaire chez les témoins et les animaux inoculés qu'ils soient vaccinés ou non (figure 2).

Sur le plan clinique, un porcelet du groupe inoculé non vacciné a présenté des symptômes cutanés (cyanose des oreilles) au cours de la phase d'hyperthermie.

		PORCS NON VACCINES												Amygdales			
		2 JPI	4 JPI	7 JPI	10 JPI	14 JPI	17 JPI	21 JPI	24 JPI	28 JPI	32 JPI	35 JPI	38 JPI		49 JPI		
CONTACTS	Porc#1		1.17E+04	4.48E+03	6.21E+03	4.31E+03	1.44E+01		2.42E+00							nd	
	Porc#2			1.96E+02	4.10E+03	5.53E+03	1.45E+04	1.33E+04	8.52E+02							nd	
	Porc#3								1.35E+04	5.95E+02						nd	
	Porc#4										1.24E+04	1.55E+03				nd	
	Porc#5		3.64E+04	6.29E+03	6.14E+03	3.89E+02	7.93E+03	3.23E+02	1.42E+01				7.34E+02	1.30E+03	8.14E+01	6.79E+02	nd
	Porc#6				1.09E+04	3.55E+03	8.94E+03	5.42E+03	2.46E+02	1.35E+02	2.46E-01						nd
	Porc#7				2.46E+05	5.61E+04	7.33E+05	2.34E+05	1.87E+04	4.69E+02	2.52E+00						nd
	Porc#8				7.54E+02	8.12E+02			1.16E+03	7.80E+00							nd
	Porc#9			6.33E+02	1.67E+03	3.36E+04	5.18E+03	9.28E+01									nd
	Porc#10				4.36E+03	5.72E+03	9.67E+03	9.14E+03	1.90E+02	2.83E+02							nd
	Porc#11				2.37E+04	2.81E+05	1.62E+05	2.01E+03						1.22E-01			nd
	Porc#12				4.62E+03	2.68E+03	7.36E+03	4.69E+02	1.99E+00	1.04E+02							nd
INOCULES	Porc#1	3.81E+03	5.78E+03	1.13E+04	1.62E+03	5.46E+02	1.00E+02									nd	
	Porc#2	8.12E+02	2.41E+03	1.04E+04	4.15E+03	1.09E+03	1.50E+02	5.15E+02	4.82E+01							nd	
	Porc#3	5.68E+03	1.14E+04	1.61E+04	4.11E+04	2.55E+03	8.24E-01									nd	
	Porc#4	3.20E+03	1.03E+04	6.80E+03	1.50E+04	8.95E+02	2.32E+03	3.85E+03	2.41E+02	1.45E-01						nd	
	Porc#5	4.60E+03	3.80E+03	3.41E+04	9.17E+04	3.89E+03	2.49E+03	5.32E+01		4.65E-02						nd	
	Porc#6	1.06E+03	1.57E+03	3.81E+03	2.22E+03	3.94E+03	3.10E+02		2.71E+01	5.14E-02						nd	
	Porc#7	6.16E+03	7.77E+03	4.91E+04	1.12E+05	2.61E+04	2.17E+02	6.22E+01	5.94E+02			5.47E-02	4.92E-02			nd	
	Porc#8	1.51E+03	2.27E+03	4.46E+03	3.73E+03	4.90E+02										nd	
	Porc#9	2.94E+03	4.91E+03	1.87E+04	5.18E+04	1.18E+04	1.18E+04	3.83E-02								nd	
	Porc#10	2.52E+03	1.23E+04	5.55E+03	4.06E+04	1.29E+03	2.33E+02				7.14E-01		6.44E+01			nd	
	Porc#11	2.26E+03	1.59E+03	4.34E+03	3.19E+04	7.65E+03	3.95E+03				2.81E+01					nd	
	Porc#12	7.57E+02	1.48E+03	5.51E+03	2.84E+03	1.25E+03	1.32E+02		3.64E+01							nd	
CONTACTS	Porc#1																
	Porc#2																
	Porc#3																
	Porc#4																
	Porc#5																
	Porc#6																
	Porc#7																
	Porc#8																
	Porc#9																
	Porc#10																
	Porc#11																
	Porc#12					4.21E+02	7.70E+02										
INOCULES	Porc#1		1.48E+01	2.79E+03	5.84E+02											nd	
	Porc#2		4.44E+03	1.86E+03	1.87E+03	1.90E+03	6.93E+02	4.53E+02	1.20E+01							nd	
	Porc#3		1.45E+02	5.19E+03	6.18E+02											nd	
	Porc#4															nd	
	Porc#5	3.49E+02	2.57E+03	2.34E+04	8.99E+01											nd	
	Porc#6	1.00E+00	3.83E+02	6.62E+02	1.44E+02											nd	
	Porc#7	7.31E+03	8.86E+02	3.27E+03	5.05E+01											nd	
	Porc#8	1.31E+03	9.69E+02	3.11E+03	1.22E+03	6.51E+02	2.16E+02									nd	
	Porc#9		1.43E+03	4.09E+04	7.06E+02	3.80E+01										nd	
	Porc#10		1.76E+03	5.39E+03	8.65E+02	6.20E+01										nd	
	Porc#11	6.90E+01	1.49E+04	1.91E+04	3.07E+01	4.21E+03	1.32E+02									nd	
	Porc#12	6.21E+03	7.47E+03	5.48E+04	3.98E+03	7.67E-01										nd	

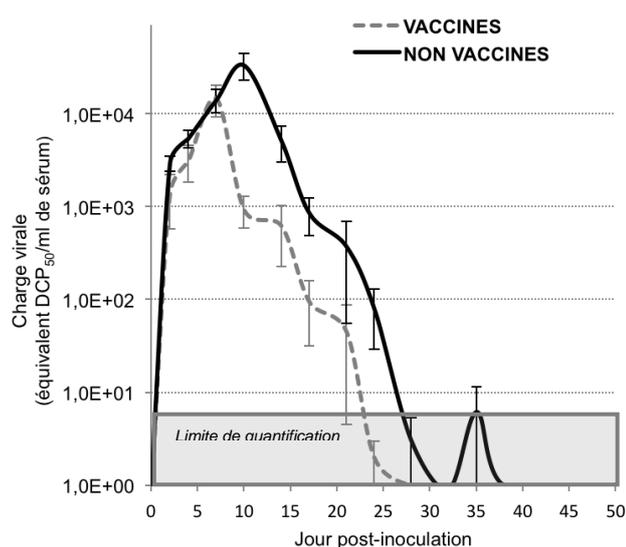
Figure 3 – Données virologiques individuelles : charge virale spécifique de la souche d'épreuve (équivalent DCP<sub>50</sub>/ml de sérum) chez les porcs vaccinés et non vaccinés, inoculés et contacts. Les zones en noir correspondent aux résultats PCR positifs, nd=non déterminé.

Aucune différence significative n'est observée entre les groupes sur les paramètres de croissance (données non montrées). Deux porcs sont morts au cours de l'essai, sans lien avec l'infection SDRP (complication lors de la ponction sanguine pour l'un et euthanasie compassionnelle liée à un prolapsus rectal pour l'autre).

## 2.2. Données virologiques

Les résultats virologiques individuels sont présentés à la figure 3. Une virémie précoce, dès 2 JPI est observée chez tous les porcelets inoculés non vaccinés et sur 6 des 11 porcelets vaccinés et inoculés. Ces derniers sont cependant tous virémiques dès 4 JPI. Certains porcelets non vaccinés et inoculés sont virémiques jusqu'à 35 JPI alors que la virémie la plus longue chez un porcelet vacciné est de 20 jours. Tous les porcs contacts non vaccinés s'infectent avec cependant une certaine hétérogénéité, certains porcs s'infectant très tardivement alors que les porcs inoculés en contact avec ces animaux sentinelles sont en fin de virémie. Chez les porcs contacts vaccinés, seul un porcelet est détecté virémique sur deux dates consécutives uniquement. L'analyse des amygdales à l'autopsie de tous les porcelets contacts vaccinés montre qu'un porcelet supplémentaire s'est infecté également, sans virémie détectable par la qRT-PCR spécifique de la souche d'épreuve.

L'évolution de la charge virale génomique moyenne chez les animaux inoculés vaccinés et non vaccinés met en évidence un pic de virémie plus bas pour les porcs vaccinés et une décroissance plus rapide de la charge virale que chez les porcs non vaccinés. Ainsi, sur la partie décroissante de la courbe, une différence significative de charge génomique virale moyenne entre porcs vaccinés et non vaccinés est mise en évidence ( $p < 0,0001$ ) (figure 4).



**Figure 4** – Evolution de la charge virale génomique moyenne (équivalent DCP<sub>50</sub>/ml de sérum) spécifique de la souche d'épreuve chez les porcs inoculés, vaccinés et non vaccinés

## 2.3. Paramètres de transmission

L'estimation des paramètres de dynamique d'infection conduit à des résultats comparables en termes de durée de latence (nombre de jours entre l'infection et la détection d'une charge génomique virale dans le sérum) chez les porcs vaccinés et non

vaccinés. En revanche, le taux de transmission est 10 fois plus faible chez les animaux vaccinés et la durée d'infectiosité également de 10 jours inférieure à celle estimée chez les porcs non vaccinés (tableau 1). La réduction de ces deux paramètres chez les porcs vaccinés conduit à une estimation de taux de reproduction (R) significativement inférieure à 1 chez les porcs vaccinés contre une estimation proche de 5 chez les porcs non vaccinés.

**Tableau 1** – Estimation des paramètres de transmission

	Porcs non vaccinés	Porcs vaccinés
Durée de la période latente (jours)	1,5 (1,3; 1,6)*	1,8 (1,3; 2,4)
Taux de transmission, $\beta$ (jour <sup>-1</sup> )	0,22 (0,12; 0,37)	0,023 (0,003; 0,080)
Durée de la période infectieuse (jours)	22,6 (20,3; 25,0)	12,0 (9,8; 14,5)
Taux de reproduction (R)	4,97 (2,71; 8,36)	0,28 (0,04; 0,96)

\*intervalle de crédibilité à 95%

En prenant en compte le statut final des porcs contacts et notamment les résultats des qRT-PCR sur amygdales, 1 porc contact vacciné supplémentaire est détecté infecté. L'estimation du taux de reproduction avec prise en compte de cet état final conduit à un  $R=0,4$  (0,04; 1,7) qui reste significativement inférieur à celui estimé chez les porcs non vaccinés.

## 3. DISCUSSION

La valence épidémiologique d'un vaccin, c'est-à-dire son aptitude à limiter la propagation d'un agent pathogène, est une caractéristique essentielle pour évaluer l'intérêt de la mise en place d'une prophylaxie vaccinale dans la perspective de la maîtrise d'une maladie infectieuse dans une population animale. L'évaluation quantitative de l'efficacité d'un vaccin sur la réduction de la transmission d'un agent pathogène est souvent étudiée en conditions expérimentales, au travers d'expériences de transmission comme par exemple pour le virus de la maladie d'Aujeszky (De Jong, Kimman, 1994), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Velthuis *et al.*, 2003) ou le virus du SDRP (Nodelijk *et al.*, 2001; Velthuis *et al.*, 2002). Dans ces deux dernières études les auteurs ont utilisé un vaccin vivant atténué impliquant une souche de génotype 2 confronté à une souche d'épreuve de génotype 1 (le virus de référence Lelystad). Ces expérimentations ont aussi consisté en plusieurs répétitions de contacts de type 1x1, un porc infecté étant mis au contact d'un porc sensible. L'estimation des paramètres est soit basée sur le principe de l'état final (Nodelijk *et al.*, 2001) ou par l'utilisation d'un autre algorithme dit de l'état transitoire (transient state) et qui prend en compte l'évolution du processus infectieux dans le temps (Velthuis *et al.*, 2002). En utilisant l'algorithme basé sur l'état final, les auteurs n'ont pu conclure à un effet significatif du vaccin. Tous les animaux vaccinés s'infectant en fin d'expérience, le vaccin ne permettait pas d'abaisser le taux de reproduction en dessous de 1. Il est cependant possible que le R soit inférieur à celui des non vaccinés sans possibilité de le montrer avec cet algorithme. Avec l'autre méthode d'analyse, Velthuis *et al.* (2002) concluent que la vaccination a un effet jusqu'à 10 JPI puis aucun effet au-delà, ce qui semble artificiel dans la mesure où ils segmentent l'expérimentation à

différents temps en faisant l'hypothèse qu'elle s'est arrêtée à 7, 10, 14 ou 17 JPI. L'expérimentation réalisée ici est à notre connaissance la première décrivant l'efficacité d'un vaccin vivant atténué de génogroupe 1.1 sur la réduction de la transmission d'une souche de génogroupe 1.1 hétérologue mais par ailleurs représentative de la variabilité de souches rencontrée en élevage en Bretagne. Les animaux ont été suivis individuellement de manière détaillée (prélèvement tous les 3 jours) et sur une période prolongée, ce qui est essentiel dans la mesure où la virémie est prolongée pour ce virus avec une possibilité de transmission à des porcs contacts au moins jusqu'à 28 JPI (Charpin *et al.*, 2012).

Chez les porcs EOPS non vaccinés, les données cliniques et virologiques sont proches de celles obtenues précédemment avec une autre souche de génogroupe 1.1 et mettent en évidence une hyperthermie dès 2 JPI persistant 7 à 10 jours et une évolution de la virémie comparable (Charpin *et al.*, 2012). La durée apparemment plus courte de la virémie avec la souche utilisée dans notre expérience est potentiellement liée à une sensibilité légèrement inférieure de la qRT-PCR spécifique de souche permettant de ne pas détecter la souche vaccinale. L'utilisation d'une PCR moins spécifique mais détectant aussi le virus vaccinal montre des résultats positifs s'étendant parfois au-delà du dernier résultat trouvé positif avec la PCR spécifique de la souche d'épreuve (données non montrées). L'utilisation d'une telle PCR différentielle est néanmoins indispensable pour cette problématique d'évaluation d'un vaccin vivant atténué et est la seule approche nous garantissant la détection de la souche d'épreuve seule, sans risque de faire reposer les estimations des paramètres de dynamique d'infection sur des résultats PCR positifs liés à la détection du génome de la souche vaccinale.

Chez les porcs non vaccinés, la durée estimée de la latence et de l'infectiosité sont comparables à ce qui a été estimé précédemment dans un essai impliquant une autre souche de génogroupe 1.1 (Charpin *et al.*, 2012). Néanmoins dans cette étude, le  $R_0$  était plus faible (2,6) que celui estimé dans la présente expérience de transmission (4,9). Outre la souche qui diffère, le modèle d'estimation était basé sur un taux de transmission qui varie en fonction du temps depuis inoculation. Le taux de transmission estimé ici est une constante et la valeur moyenne est utilisée dans l'estimation du  $R_0$ , ce qui a pu conduire à une légère surestimation de sa valeur. Ces estimations restent cependant comparables à celles disponibles dans la littérature : 3,0 (1,5 ; 6,0) estimé par Nodelijk *et al.* (2000) à partir de données terrain ou 4,5 (1,6 ; 19,3) estimé à partir de données expérimentales publiées par Wills *et al.* (1997).

Dans notre expérimentation, la durée d'infectiosité est significativement réduite chez les porcs vaccinés : 12 jours *versus* 22 jours pour les porcs non vaccinés. L'impact de la vaccination sur la réduction de la charge virale excrétée et de la durée de la virémie a également été montrée par Nodelijk *et al.* (2001) alors que ces mêmes auteurs ont estimé un  $R$  qui n'est pas significativement diminué et qui reste supérieur à 4,9 dans cette même étude. Ces résultats sont contradictoires avec ce que nous observons dans notre expérimentation, où la vaccination entraîne simultanément une baisse de la durée d'excrétion mais aussi du taux de transmission qui est estimé 10 fois inférieur à celui des porcs non vaccinés. La réduction drastique de ces deux paramètres conduit à une baisse très importante du taux de reproduction  $R$  qui chute en dessous de 1. La prise en compte des résultats sur amygdales sur les porcs autopsiés montre

qu'un porc vacciné n'a pas été détecté en virémie et conduit à une estimation légèrement supérieure du  $R$  (l'intervalle de confiance comprend dans ce cas la valeur 1). La présence du virus au niveau des amygdales au moment de l'abattage est la preuve que cet animal s'est bien infecté, l'absence de virémie détectable pouvant être liée à la sensibilité inférieure de la qRT-PCR spécifique utilisée. En effet, ces mêmes prélèvements de sérums testés avec une RT-PCR commerciale SDRP non spécifique (détecte également la souche vaccinale) montrent des résultats faiblement positifs pour certaines dates éloignées de la date de vaccination et donc compatibles avec une virémie transitoire très faible (données non montrées). Il ressort néanmoins que, dans ces conditions expérimentales, le vaccin permettrait de prévenir totalement l'infection chez une fraction importante d'animaux vaccinés exposés à des animaux également vaccinés mais excréteurs. Le taux de transmission qui est estimé ici représente ainsi un effet cumulé de la vaccination sur la réduction de sensibilité à l'infection et sur l'aptitude à transmettre le virus à des animaux contacts. C'est en effet la situation la plus proche des conditions d'utilisation recommandées du vaccin sur le terrain, où les porcs en croissance sont tous vaccinés jeunes et simultanément puis exposés au virus.

En abaissant le taux de reproduction de l'infection en deçà de 1, un tel outil vaccinal devrait théoriquement permettre de contrôler la propagation du virus dans la population et obtenir à terme l'assainissement d'un élevage chroniquement infecté. Or, malgré l'utilisation très large de cet outil vaccinal dans les élevages, associée parfois à des protocoles très lourds de vaccination répétée de tout le cheptel simultanément, force est de constater que l'assainissement est difficile à atteindre. Ces observations, confrontées aux différents échecs rencontrés par les praticiens dans certains élevages, posent des questions face aux résultats expérimentaux très tranchés que nous avons obtenus. Ces données montrent que le vaccin possède une efficacité potentielle théorique très importante mais que d'autres conditions d'élevage, de statut des animaux au moment de la vaccination (*vis-à-vis* du SDRP et/ou d'autres infections) ou de protocole vaccinal (fraction de la population vaccinée) sont autant de limites potentielles à l'obtention de résultats comparables en conditions réelles.

## CONCLUSION

Ces travaux expérimentaux montrent que la vaccination de porcelets EOPS dépourvus d'anticorps maternels à l'aide d'un vaccin vivant atténué contre un virus SDRP de génogroupe 1.1 protège efficacement, diminue la réplication virale et permet de réduire significativement la transmission d'un virus hétérologue de même génogroupe. D'autres travaux sont nécessaires pour comprendre les facteurs associés à une diminution de l'efficacité observée dans ces conditions expérimentales par rapport aux conditions de terrain. Ces travaux requièrent la mise en place d'études observationnelles permettant d'évaluer l'impact de la vaccination sur la dynamique d'infection en population réelle.

## REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été soutenus financièrement par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) dans le cadre du programme 'MIHMES' (ANR-10-BINF-07) ainsi que par le FEDER Pays de la Loire et par le Conseil Général des Côtes d'Armor.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anses, 2012. Hiérarchisation de 103 maladies animales présentes dans les filières ruminants, équidés, porcs, volailles et lapins en France métropolitaine - Avis de l'Anses, rapport d'expertise collective.
- Charpin C., Mahé S., Keranflec'h A., Belloc C., Cariolet R., Le Potier M., Rose N., 2012. Infectiousness of pigs infected by the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus (PRRSv) is time-dependent. *Veterinary Research*, 43, art n°69.
- De Jong M.C., Kimman T.G., 1994. Experimental quantification of vaccine-induced reduction in virus transmission. *Vaccine*, 12, 761-766.
- Fablet C., Marois-Créhan C., Simon G., Grasland B., Jestin A., Kobisch M., Madec F., Rose N., 2012. Infectious agents associated with respiratory diseases in 125 farrow-to-finish pig herds: A cross-sectional study. *Veterinary Microbiology*, 157, 152-163.
- Ihaka R., Gentleman R., 1996. R: a language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 5, 299-314.
- Martelli P., Gozio S., Ferrari L., Rosina S., De Angelis E., Quintavalla C., Bottarelli E., Borghetti P., 2009. Efficacy of a modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in pigs naturally exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain: Clinical protection and cell-mediated immunity. *Vaccine*, 27, 3788-3799.
- Mondaca-Fernandez E., Meyns T., Munoz-Zanzi C., Trincado C., Morrison R.B., 2007. Experimental quantification of the transmission of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can J Vet Res*, 71, 157-160.
- 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. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 227, 385-392.
- Nodelijk G., De Jong M.C.M., Van Nes A., Vernooy J.C.M., Van Leengoed L.A.M.G., Pol J.M.A., Verheijden J.H.M., 2000. Introduction, persistence and fade-out of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a Dutch breeding herd: A mathematical analysis. *Epidemiology and Infection*, 124, 173-182.
- Nodelijk G., De Jong M.C.M., Van Leengoed L.A.M.G., Wensvoort G., Pol J.M.A., Steverink P.J.G.M., Verheijden J.H.M., 2001. A quantitative assessment of the effectiveness of PRRSV vaccination in pigs under experimental conditions. *Vaccine*, 19, 3636-3644.
- Rose N., Larour G., Le Diguerher G., Eveno E., Jolly J.P., Blanchard P., Oger A., Le Dimna M., Jestin A., Madec F., 2003. Risk factors for porcine post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in 149 French farrow-to-finish herds. *Prev Vet Med*, 61, 209-225.
- SAS Institute Inc., 2011. SAS/STAT User's Guide. Eds, SAS Institute, Cary, NC. USA, p.
- Velthuis A.G., De Jong M.C., Kamp E.M., Stockhofe N., Verheijden J.H., 2003. Design and analysis of an *Actinobacillus pleuropneumoniae* transmission experiment. *Prev Vet Med*, 60, 53-68.
- Velthuis A.G.J., De Jong M.C.M., De Bree J., Nodelijk G., Van Boven M., 2002. Quantification of transmission in one-to-one experiments. *Epidemiology and Infection*, 128, 193-204.
- Wills R.W., Zimmerman J.J., Swenson S.L., Yoon K.-J., Hill H.T., Bundy D.S., McGinley M.J., 1997. Transmission of PRRSV by direct, close, or indirect contact. *Journal of Swine Health and Production*, 5, 213-218.