

Impact des anticorps maternels sur les réponses immunitaires humorale et cellulaire induites chez les porcelets vaccinés contre le syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP)

Christelle FABLET (1, 4), Patricia RENSON (1, 2, 4), Florent EONO (1, 4), Sophie MAHE (1, 4), Eric EVENO (1, 4), Mireille LE DIMNA (1, 4), Valérie NORMAND (3), Arnaud LEBRET (3), Nicolas ROSE (1, 4), Olivier BOURRY (1, 4)

(1) Anses, B.P. 53, 22440 Ploufragan, France

(2) Union des Groupements de Producteurs de Viande de Bretagne, 104 rue Eugène Pottier, 35065 Rennes, France

(3) Porc. Spective, Groupe Vétérinaire Chêne Vert Conseil, Z.A. du Gohéléve, 56920 Noyal-Pontivy, France

(4) Université Européenne de Bretagne, 5 Boulevard Laënnec, 35000 Rennes, France

christelle.fablet@anses.fr

Impact des anticorps maternels sur les réponses immunitaires humorale et cellulaire induites chez les porcelets vaccinés contre le syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP)

L'influence des anticorps maternels sur les réponses immunitaires humorale et cellulaire de porcelets vaccinés contre le SDRP a été étudiée dans un élevage qui vaccine les truies contre cette maladie mais dans lequel le virus du SDRP (SDRPV) ne circule pas. Trente porcelets ayant un niveau faible (A-) ou élevé (A+) d'anticorps maternels ont été vaccinés contre le SDRPV avec un vaccin vivant atténué à 3 semaines d'âge. Des prélèvements sanguins ont été réalisés avant vaccination puis 2, 4 et 8 semaines post-vaccination pour détecter la virémie vaccinale (RT-PCR) et quantifier les réponses humorale (ELISA et test de séroneutralisation virale) et cellulaire (ELISPOT IFN γ) post-vaccinales. Avant vaccination, le virus n'a été détecté chez aucun porc. A 2 et 4 semaines post-vaccination (PV), le virus vaccinal a été détecté chez 60% et 64% des porcelets A-, alors qu'aux mêmes dates il n'a été détecté chez aucun animal A+. Entre 2 et 4 semaines PV, 85% des animaux A- et 0% des animaux A+ ont montré une augmentation des taux d'anticorps en ELISA. Par ailleurs le nombre de cellules sécrétrices d'IFN γ était nettement plus élevé chez les porcelets A- à 2 et 4 semaines PV que chez les porcelets A+. Ces résultats montrent que les anticorps d'origine maternelle inhibent les réponses immunitaires post-vaccinales humorales et cellulaires des porcelets. Des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer l'effet de ces anticorps sur l'efficacité du vaccin ainsi que sur sa capacité à diminuer la transmission virale après challenge viral.

Impact of maternally-derived antibodies on the post-vaccination humoral and cellular immune responses in piglets vaccinated against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)

The influence of maternally-derived antibodies (MDA) on the post-vaccination humoral and cellular immune responses in piglets vaccinated against PRRS was studied in a herd without PRRS virus (PRRSV) circulation but with PRRS vaccination in the breeding herd. Thirty piglets with a low (A-) or high level (A+) of MDA were vaccinated with a modified live vaccine (MLV) at 3 weeks of age. Blood samples were taken before vaccination and then at 2, 4 and 8 weeks post-vaccination (PV). The samples were analyzed to detect the vaccine viremia (RT-PCR) and to quantify the post-vaccination humoral (ELISA and virus neutralization test) and cellular (ELISPOT IFN γ) immune responses. No PRRSV was detected by RT-PCR in any pig before vaccination. PRRSV vaccine was detected in 60% and 64% of A- vaccinated piglets at 2 and 4 weeks PV, respectively. No virus was detected in A+ piglets during the same period. 85% of A- piglets and 0% of A+ piglets seroconverted between 2 and 4 weeks PV. The number of PRRSV-specific IFN γ secreting cells was significantly higher in A- piglets at 2 and 4 weeks PV compared to A+ piglets. These results show that MDA can inhibit both post-vaccination humoral and cellular immune responses in piglets. Further studies are required to assess the impact of MDA on vaccine efficacy towards a PRRSV challenge and its ability to reduce viral transmission.

INTRODUCTION

Depuis son émergence à la fin des années 80, le syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) est devenu enzootique dans la plupart des pays producteurs de porcs. La maladie se traduit par des troubles de la reproduction chez les truies et respiratoires chez les porcs en croissance. Le SDRPV est également un co-facteur du complexe respiratoire porcin (Fablet *et al.*, 2013), de la maladie d'amaigrissement du porcelet (Rose *et al.*, 2003) et est impliqué dans le développement d'infections zoonotiques (Beloil *et al.*, 2004; Beloil *et al.*, 2007; Salines *et al.*, 2015). Le SDRP a été classé parmi les trois maladies les plus préjudiciables en élevage porcin (Anses, 2012). En effet, l'infection par le SDRPV conduit à des pertes économiques considérables pour la filière porcine ainsi qu'à l'utilisation importante d'antibiotiques en élevage en raison des complications bactériennes secondaires (Neumann *et al.*, 2005). Le virus s'installe généralement de manière enzootique en élevage et l'assainissement d'élevages chroniquement infectés est complexe tout comme la prévention d'une ré-infection dans une zone infectée à forte densité porcine. La prophylaxie vaccinale constitue l'un des outils de maîtrise de la maladie le plus fréquemment utilisé en élevage. 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 la maladie (Martelli *et al.*, 2009). De plus, des travaux expérimentaux ont montré que les vaccins vivants atténués permettent de limiter significativement la propagation d'un virus hétérologue de même génogroupe que celui de la souche vaccinale (Pileri *et al.*, 2015; Rose *et al.*, 2015). Toutefois, sur le terrain la capacité du vaccin à contrôler la circulation virale semble plus limitée que celle observée en conditions expérimentales (Pileri *et al.*, 2015). Les facteurs associés à une diminution de l'efficacité vaccinale observée en conditions de terrain sont à ce jour mal connus. L'une des hypothèses tiendrait à la présence d'anticorps d'origine maternelle (AOM) fréquemment retrouvés chez le jeune porcelet né en élevage infecté et dont sont dépourvus les porcs Exempts d'Organismes Pathogènes Spécifiques (EOPS) utilisés en expérimentation. En effet, il a été décrit chez plusieurs espèces animales et pour différents agents infectieux que les AOM pouvaient interférer avec la vaccination de jeunes animaux (McCollum, 1976; Zygraich, 1982; Leemans *et al.*, 2013). Chez le porc, l'interférence de l'immunité passive acquise lors de la prise colostrale avec la vaccination a été décrite pour la maladie d'Aujeszky (vaccin inactivé et vivant atténué) (Tielen, 1981; Vannier, 1984), pour la peste porcine classique (vaccin vivant atténué) (Huang *et al.*, 2014) et pour l'Influenza (vaccin inactivé) (Kitikoon *et al.*, 2006). L'interférence des AOM avec la vaccination contre un virus de la même famille que celle du SDRPV a été mise en évidence chez le poulain (McCollum, 1976). Par ailleurs, des travaux récents montrent que les anticorps neutralisants spécifiques du SDRPV (AN SDRP), transmis de la mère aux porcelets par le colostrum, permettraient de retarder l'âge à l'infection (Geldhof *et al.*, 2013). Lopez *et al.* (2007) a également mis en évidence que le transfert passif à des porcelets d'AN dirigés contre le SDRPV permettait de prévenir l'infection ultérieure par le SDRPV. Toutefois, jusqu'ici aucune donnée n'est disponible sur l'interférence possible de l'immunité passive avec la vaccination SDRP à l'aide d'un vaccin vivant atténué chez le jeune porcelet. L'objectif de ce travail a donc été d'étudier, en conditions de terrain, l'impact des AOM sur les réponses immunitaires humorale et cellulaire de porcelets vaccinés contre le SDRP à l'aide d'un vaccin vivant atténué.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Schéma d'étude

L'étude a été menée dans un élevage naisseur-engraisseur infecté par le SDRPV. L'absence de circulation virale (sur la base de résultats d'analyses sérologiques régulières depuis 2010) a été confirmée avant le démarrage de l'étude par des tests ELISA (PRRS X3 Ab, Idexx, Eragny sur Oise, France), réalisés sur 50 porcs en fin d'engraissement. Une vaccination SDRP avec un vaccin vivant atténué (Porcilis PRRS®, MSD) est maintenue sur le troupeau de truies (vaccination de tout le troupeau, dite en 'blitz', tous les 4 mois).

Au sein d'une bande de truies, 6 individus avec des niveaux élevés d'AN SDRP (titre moyen= 140 ; écart-type [σ]=49) et 4 truies avec des niveaux faibles d'AN SDRP (titre moyen= 7,5 ; σ =2,5) ont été sélectionnés. Tous les porcelets de ces truies (n=176) ont été identifiés à la naissance. Ils ont fait l'objet d'une ponction sanguine à 1 semaine de vie. Les prélèvements ont été analysés par un test de séroneutralisation virale (SN) pour évaluer le niveau d'AN SDRP. Sur la base de ces résultats, un échantillon de 30 porcelets avec un faible niveau d'AN SDRP (titre de SN ≤ 15 ; A-) et un échantillon de 30 porcelets avec un niveau élevé d'AN SDRP (titre en SN ≥ 60 ; A+) ont été constitués. Puis, les 60 porcelets ont été vaccinés à trois semaines de vie avec le vaccin Porcilis PRRS ID® (MSD, Beaucozéz, France) par voie intradermique à l'aide de l'injecteur IDAL. Les porcelets ont été répartis dans 4 cases de post-sevrage lors du sevrage effectué à quatre semaines de vie (3 cases avec des A+ et A- et une case avec des A+).

Douze porcelets sentinelles (avec des niveaux faibles d'AN SDRP et non vaccinés) ont été placés en contact direct avec les animaux vaccinés A+ et A- (*i.e.* dans les 4 cases ; 3 porcs/case) pour évaluer la transmission du virus vaccinal en conditions naturelles. Des prélèvements sanguins ont été réalisés avant vaccination (S0) puis à 2, 4 et 8 semaines (S2, S4 et S8) post-vaccination (PV). Ils ont été effectués sur tubes secs pour l'ensemble des porcelets afin d'évaluer la virémie et la réponse immunitaire humorale et également sur tubes héparinés pour les porcelets vaccinés afin d'étudier la réponse immunitaire cellulaire. Un pansement a été appliqué au niveau de la zone de ponction sanguine le temps de la coagulation puis retiré afin de limiter les risques de contamination *via* le sang de porcelets virémiques.

1.2. Analyses de laboratoire

Le génome du virus du SDRP, extrait à l'aide du kit Nucleospin RNA Virus (Macherey-Nagel, Hoerd, France), a été recherché dans les sérums par RT-PCR en temps réel à l'aide du kit Adiavet™ PRRS Real-time (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France).

La réponse immunitaire humorale post-vaccinale a été évaluée par ELISA et SN. Les anticorps dirigés contre le virus du SDRP (IgG anti-protéine de la nucléocapside) ont été détectés dans le sérum avec le kit ELISA PRRS X3 Ab (Idexx, Eragny sur Oise, France) selon les instructions du fabricant. Un échantillon a été considéré positif pour un ratio E/P (échantillon/témoin positif) supérieur ou égal à 0,4.

Les AN SDRP ont été titrés dans les sérums des truies et des porcelets vaccinés par SN selon le protocole décrit par Charpin *et al.* (2012), adapté à l'utilisation de la souche du vaccin Porcilis PRRS et d'un mode de visualisation des cellules infectées par immunofluorescence indirecte à l'aide d'un sérum hyper-immun vis-à-vis du SDRPV.

La réponse immunitaire cellulaire des porcs vaccinés a été évaluée par ELISPOT IFN γ réalisé à partir des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) isolées du sang total (prélèvements sur tubes héparinés) par gradient de densité à l'aide des tubes LeucoSep (Greiner Bio One, Les Ulis, France). Parmi ces PBMC, les cellules sécrétrices d'interféron gamma (IFN γ) spécifiques du SDRP ont été recherchées d'après le protocole décrit par Gerner *et al.* (2006) et adaptés au SDRP en stimulant 4×10^5 PBMC pendant 16 heures (en triplicat) par une suspension virale de vaccin Porcilis à 0,2 MOI (multiplicity of infection : ratio nombre de virus/nombre de cellules). Des témoins négatif (milieu) et positif (10 μ g/ml de PHA (Eurobio, Les Ulis, France)) ont été ajoutés pour chaque échantillon. Le nombre de spots par puits a été dénombré à l'aide d'un lecteur ELRO4 XL (AID, Strassberg Allemagne) et rapporté par million de PBMC.

1.3. Analyses statistiques

Les titres en AN SDRP et les quantités de cellules sécrétrices d'IFN γ ont été comparés entre les groupes A+ et A- avec le test de Mann et Whitney ($P < 0,05$). La cinétique de séroconversion des animaux des trois groupes a été analysée selon la méthode de l'analyse de survie où l'évènement pour un animal considéré est le passage du statut séro-négatif au statut séro-positif. Le délai de séroconversion a été comparé selon les groupes (test du log-rank, $P < 0,05$). Les analyses statistiques ont été conduites à l'aide des logiciels SAS 9.1 (Sas, Inst. Inc. Cary, NC, 2002) et R (R Development Core Team, 2008).

2. RESULTATS

2.1. Mortalité

Au total, huit porcelets inclus dans l'échantillon d'étude sont morts au cours du suivi (6 A+, 1 A- et 1 sentinelle). La mortalité est principalement liée à la survenue d'un épisode d'œdème colibacillaire entre 6 et 7 semaines d'âge.

2.2. Virémie

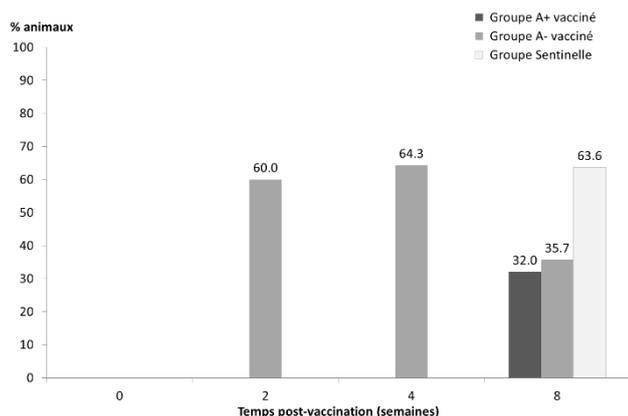


Figure 1 – Evolution de la fréquence de porcelets virémiques en fonction du temps post-vaccination SDRP chez les porcs avec un faible (A- ; 30 porcs) et un fort niveau (A+ ; 30 porcs) d'anticorps neutralisants spécifiques du SDRPV au moment de la vaccination et chez les sentinelles non vaccinées (12 porcs)

Avant vaccination (S0), le génome du SDRPV n'a été détecté dans le sérum d'aucun porc par RT-PCR. Une virémie vaccinale a été mise en évidence chez 60% et 64% des porcelets A- à 2 et 4 semaines PV respectivement, alors qu'aux mêmes dates le SDRPV n'a été détecté chez aucun animal A+ ou sentinelle (Figure 1).

Huit semaines après vaccination, 36% des porcelets A- étaient détectés positifs par RT-PCR. A cette date, 32% des porcelets vaccinés du groupe A+ et 64% des sentinelles non vaccinées étaient virémiques.

2.3. Réponse immunitaire humorale

2.3.1. Anticorps (IgG anti-protéine de la nucléocapside) dirigés contre le SDRPV

Au sein de l'échantillon des animaux A- vaccinés, 85,7% des porcelets ont séroconverti entre S0 et S4, dont 12,5% dans les deux semaines PV. Aucun animal du groupe A+ ni du groupe sentinelle n'a séroconverti entre S0 et S4.

Une séroconversion a été observée huit semaines PV pour 26,9% et 36,4% des porcelets des groupes A+ et sentinelles respectivement.

Les courbes de survie sont significativement différentes entre les groupes vaccinés A- et A+ et entre les animaux A- et sentinelles ($P < 0,01$, test du log rank) (Figure 2).

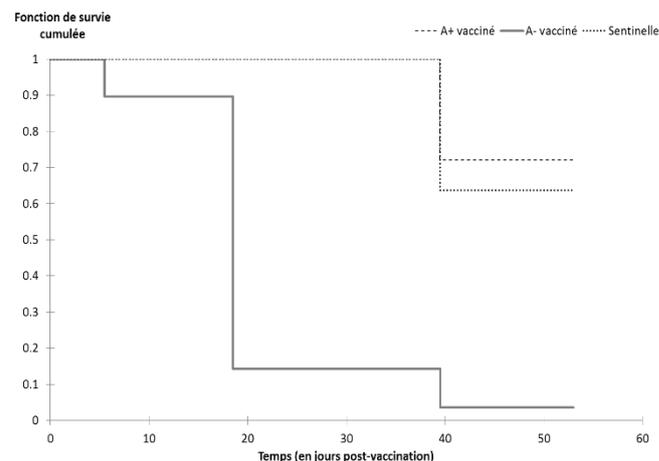


Figure 2 – Courbe de survie des porcs avec un faible (A- ; 30 porcs) et un fort niveau (A+ ; 30 porcs) d'anticorps neutralisants spécifiques au SDRP au moment de la vaccination et chez les sentinelles non vaccinées (12 porcs) (évènement : séroconversion SDRP évaluée par ELISA (IgG anti-protéine de nucléocapside))

2.3.2. Anticorps neutralisants spécifiques du SDRPV

Chez les animaux A- vaccinés, le niveau d'AN SDRP est très faible à S0 (titre moyen < 5) et est significativement plus bas que celui des animaux A+ (titre moyen=21 ; $\sigma=15$) ($P < 0,05$).

Le titre augmente progressivement à partir de S4 chez les porcelets A- pour atteindre un titre moyen égal à 15 ($\sigma=2$) 8 semaines PV et devient significativement plus élevé que celui des animaux A+ ($P < 0,05$).

Le niveau d'AN SDRP diminue chez les animaux du groupe A+ au cours du temps pour atteindre un titre moyen < 5 à S8 (Figure 3).

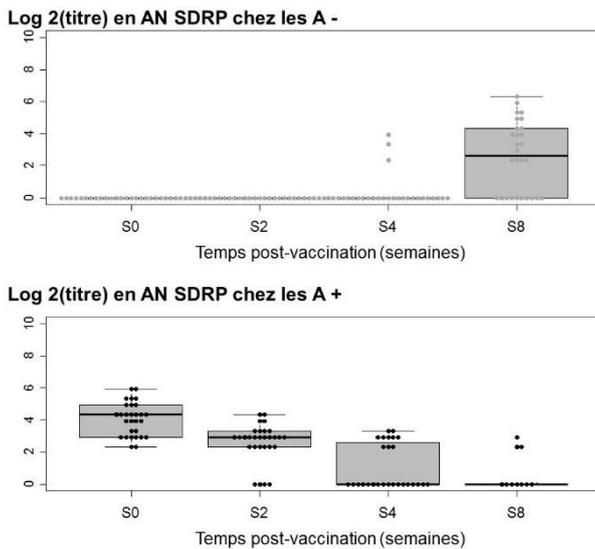
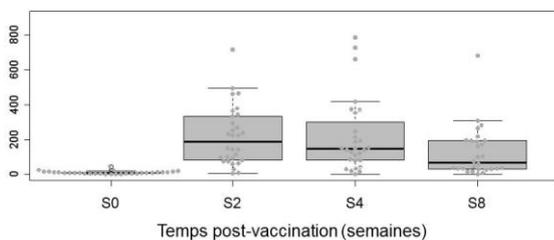


Figure 3 – Evolution du titre en anticorps neutralisants spécifiques du SDRPV (en log 2 ; boîtes à moustaches) en fonction du temps post-vaccination SDRP chez les porcs avec un faible (A- ; 30 porcs) et un fort niveau (A+ ; 30 porcs) d'anticorps neutralisants spécifiques du SDRPV au moment de la vaccination

2.4. Réponse immunitaire cellulaire

Les porcelets du groupe A+ présentent un nombre de cellules sécrétrices d'IFN γ spécifiques du SDRPV significativement plus élevé avant vaccination (moyenne=17,6 cellules/10⁶ PBMC ; σ =17,2) que les porcelets du groupe A- (moyenne= 8,2 cellules/10⁶ PBMC ; σ =9,2) ($P < 0,05$). Cependant, à partir de 2 semaines PV et jusque 8 semaines PV, le nombre moyen de cellules sécrétrices d'IFN γ augmente rapidement et est significativement plus élevé chez les porcelets vaccinés A- que chez les porcelets du groupe A+ (Figure 4) ($P < 0,05$).

Nbre de cellules sécrétrices IFN γ chez les A -



Nbre de cellules sécrétrices IFN γ chez les A +

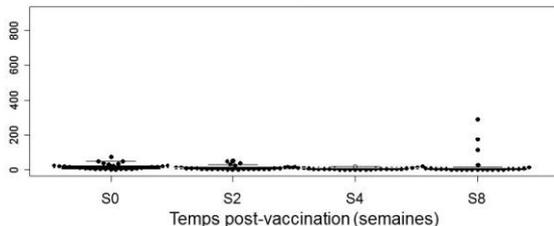


Figure 4 – Evolution de la réponse immunitaire cellulaire (nombre de cellules sécrétrices d'IFN γ spécifiques du SDRPV) (boîtes à moustaches) en fonction du temps post-vaccination SDRP chez les porcs avec un faible (A- ; 30 porcs) et un fort niveau (A+ ; 30 porcs) d'anticorps neutralisants spécifiques du SDRPV au moment de la vaccination

3. DISCUSSION

Le SDRP représente l'une des maladies infectieuses actuellement les plus préjudiciables pour la filière porcine.

La vaccination, associée à des mesures de conduite et des pratiques d'élevage adaptées, constitue un outil important pour la maîtrise et à terme l'élimination de cette maladie dans la population porcine. La prévalence élevée de l'infection par le SDRPV et la vaccination pratiquée chez les reproducteurs favorisent la présence d'AOM chez les jeunes porcelets. Les AOM, et plus largement l'immunité passive conférée de la mère au jeune, jouent un rôle primordial dans la protection des nouveau-nés contre des infections survenant dans les premières semaines de vie (Nechvatalova *et al.*, 2011). Dans le cas du SDRP, des travaux ont montré que le transfert de l'immunité passive de la mère au porcelet permettait de retarder l'âge à l'infection et la fréquence d'animaux virémiques (Geldhof *et al.*, 2013). Cependant, les AOM peuvent également inhiber l'activation de la réponse immunitaire du jeune suite à sa vaccination. Aucune donnée n'est actuellement disponible sur l'interférence des AOM et plus généralement de l'immunité passive sur la réponse immunitaire des porcelets suite à leur vaccination SDRP. Ce point apparaît important à étudier au regard des échecs de maîtrise de la maladie rencontrés sur le terrain avec les vaccins destinés aux jeunes porcelets et ce d'autant plus que les vaccins SDRP vivants atténués permettent de réduire efficacement la transmission virale chez des porcs dépourvus d'AOM infectés expérimentalement (Pileri *et al.*, 2015; Rose *et al.*, 2015). Dans cet objectif, le présent travail visait à évaluer de manière originale en conditions réelles d'élevage, la réponse immunitaire de porcelets avec et sans AOM contre le SDRPV suite à la vaccination avec un vaccin vivant atténué fréquemment utilisé en élevage. Il constitue une première étape visant *in fine* à étudier l'efficacité vaccinale selon le niveau d'immunité passive du porcelet au moment de la vaccination.

L'étude a été menée dans un élevage sans circulation virale sauvage sur les porcs en croissance et qui maintenait une vaccination SDRP des truies. La vaccination des truies avec un vaccin vivant atténué devait garantir l'obtention de porcelets avec des niveaux élevés en AOM dirigés contre le SDRPV. Le statut négatif de la population de porcs en croissance devait permettre de suivre la réaction immunitaire des porcelets A+ et A- suite à la vaccination, sans interférence avec une infection naturelle par une souche de SDRPV, situation probable en élevage infecté. Au-delà des analyses régulières pratiquées sur l'élevage pour s'assurer du maintien du statut SDRP-négatif en engraissement, l'absence de circulation d'une souche sauvage de SDRPV a par ailleurs été confirmée sur la bande incluse dans l'étude.

La distinction des groupes de porcelets avec et sans AOM a été établie sur la base des résultats de SN à trois semaines de vie, *i.e.* sur le niveau d'AN SDRP, et non selon les résultats ELISA indiquant la réponse en anticorps anti-protéine de la nucléocapside du SDRPV. Les AN SDRP ont en effet été choisis comme paramètre discriminant pour former les groupes en raison de leur capacité à neutraliser le SDRPV et donc potentiellement le virus vaccinal (Lopez et Osorio, 2004). Bien qu'apparaissant rapidement après l'infection, les anticorps détectés par ELISA (IgG anti-protéine de la nucléocapside) ne protègent pas de l'infection et constituent uniquement des marqueurs de l'infection par le SDRPV (Lopez et Osorio, 2004; Lopez *et al.*, 2007). Au sein du groupe A-, une sous population de porcelets positifs par ELISA existait donc dans notre échantillon d'étude (données non montrées). La réponse immunitaire tant cellulaire qu'humorale suite à la vaccination de cette sous population a été identique à celle des porcelets A- et séronégatifs par ELISA, et différente de celle des porcelets A+

et séropositifs par ELISA, validant ainsi le choix du critère de différenciation des groupes selon le niveau d'AN SDRP.

Suite à la vaccination, les porcelets sans AN SDRP d'origine maternelle (A-), ont développé une virémie vaccinale et une réponse immunitaire humorale et cellulaire conformes à celles décrites précédemment (Martelli *et al.*, 2007; Zuckermann *et al.*, 2007). Le virus a été détecté dans le sang de la majorité des animaux A- dès 2 semaines post-vaccination. Les anticorps totaux dirigés contre le SDRPV ont également été détectés à cette période pour une fraction des animaux, l'ensemble des porcelets de ce groupe (à l'exception d'un individu) ayant séroconverti sous un délai de huit semaines post-vaccination. La réponse immunitaire cellulaire évaluée au travers du nombre de cellules sécrétrices d'IFN γ spécifiques du SDRPV, apparaît également rapidement. Les AN SDRP sont détectés plus tardivement, quatre semaines après l'exposition au virus vaccinal en accord avec les résultats de travaux antérieurs (Lopez et Osorio, 2004; Pileri *et al.*, 2015).

A la différence de ce groupe A-, chez les animaux ayant reçu un niveau plus élevé d'AN SDRP de leurs mères (A+), aucune virémie ni aucune réponse immunitaire humorale ou cellulaire en lien avec la vaccination SDRP n'ont été mises en évidence dans les quatre semaines suivant la vaccination. Lopez *et al.* (2007) ayant montré que les AN pouvaient prévenir la virémie chez des porcelets ayant un titre en AN SDRP supérieur à 8 au moment de l'infection, nous pouvons supposer que le niveau d'AN SDRP présents chez les porcelets du groupe A+ au moment de la vaccination a été suffisant pour neutraliser la réplication virale sur cette période et ainsi bloquer la réponse immunitaire afférente. Au moment de la vaccination, les animaux A+ se distinguent également des porcelets A- en termes de niveau d'immunité cellulaire acquise *via* la mère biologique : un rôle complémentaire de ces cellules spécifiques du SDRP à celui joué par les AN ne peut pas être totalement exclu.

Cependant, les résultats de notre étude montrent qu'une virémie tardive a été détectée huit semaines après vaccination chez une fraction des porcelets ayant un niveau élevé d'AOM au moment de la vaccination. Une augmentation du nombre de cellules sécrétrices d'IFN γ a de plus été mise en évidence chez ces animaux à cette période indiquant la mise en place d'une réaction immunitaire cellulaire spécifique du virus vaccinal. Conjointement à cette observation, une fréquence élevée d'animaux sentinelles, en contact direct avec les animaux vaccinés, présentaient une virémie. Les résultats de séquençage ORF5 d'animaux A+ vaccinés et sentinelles montrent une homologie de 100% avec la souche vaccinale (données non montrées) et confirment donc que la virémie observée 8 semaines post-vaccination est bien vaccinale. Les hypothèses d'explication de cette virémie vaccinale retardée dans le groupe A+ par rapport au groupe A- s'orientent dans deux directions. Une première hypothèse repose sur la capacité du virus à persister de manière prolongée et silencieuse dans l'organisme. Plusieurs travaux ont montré que des animaux infectés ou vaccinés pouvaient héberger le virus dans des organes tels que les amygdales en l'absence de virémie (Allende *et al.*, 2000; Lopez *et al.*, 2007; Rose *et al.*, 2015). Au regard de ces données, le virus vaccinal aurait pu persister après vaccination dans les tissus d'animaux A+. Puis, il aurait commencé à se répliquer à la faveur de la diminution du taux en AN SDRP.

La seconde hypothèse s'oriente vers une élimination du virus vaccinal de l'organisme des animaux A+ suite à l'action des AN SDRP. Ces animaux, hébergés en contact direct avec les animaux A-, se seraient ensuite contaminés *via* les porcs A- excréant toujours du virus vaccinal au moment où la protection immunitaire passive des A+ déclinait. Les animaux sentinelles (non-vaccinés en contact direct avec les animaux vaccinés) devenant virémiques au même moment que les porcelets du groupe A+, la seconde hypothèse semblerait à privilégier.

D'un point de vue pratique, les résultats de cette étude, réalisée en conditions de terrain, montrent qu'une fraction des porcelets vaccinés avec un vaccin vivant atténué à 3 semaines d'âge contre le SDRP ont une réponse immunitaire déficiente après vaccination en présence d'immunité passive. Afin d'évaluer la proportion d'animaux qui pourraient être touchés par ce phénomène, il serait intéressant d'évaluer la répartition des taux d'AN SDRP au sein d'une cohorte importante de porcelets.

Au regard des résultats de cette étude, les AOM spécifiques du SDRPV influencent la réponse immunitaire suite à la vaccination SDRP avec un vaccin vivant atténué. Afin de tenter de surmonter cette interférence, plusieurs approches peuvent être envisagées. Une approche consisterait à évaluer le niveau d'immunité passive des porcelets avant vaccination. Cependant les AN SDRP qui semblent être des acteurs clés de cette interférence, ne peuvent, pour le moment, être détectés que par un test de SN. Ce test n'étant pas couramment utilisé en laboratoire de diagnostic, il apparaît important de disposer d'un test rapide, fiable et facile à mettre en œuvre, comme l'ELISA, pour détecter les AN SDRP. La seconde approche consisterait à retarder la vaccination des porcelets à un moment où le niveau en AN serait suffisamment faible pour limiter toute interférence au moment de la vaccination. Cependant, en cas de circulation précoce du virus SDRP en post-sevrage, les animaux pourraient ne pas être immunisés correctement au moment où ils rencontreraient le SDRPV.

CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent pour la première fois pour le SDRP que les AOM peuvent inhiber la réponse immunitaire à la fois cellulaire et humorale chez les porcelets vaccinés à trois semaines de vie contre le SDRP à l'aide d'un vaccin vivant atténué. A l'avenir, des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer si cet effet des AOM dirigés contre le SDRPV se traduit par une altération de l'efficacité vaccinale suite à une épreuve infectieuse en termes de paramètres cliniques, virologiques mais aussi de transmission virale, point essentiel au niveau épidémiologique pour mettre en place des mesures de maîtrise et de lutte contre le SDRP plus efficaces.

REMERCIEMENTS

Nous remercions l'éleveur qui a participé à ce travail, Adrien Le Bailly pour son appui technique et le laboratoire TIPIV du CEA pour la lecture des plaques ELISPOT. Cette étude a bénéficié du soutien financier de la Région Bretagne, de l'UGPVB et de l'European PRRS Research Award 2014.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Allende R., Laegreid W.W., Kutish G.F., Galeota J.A., Wills R.W., Osorio F.A., 2000. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: Description of persistence in individual pigs upon experimental infection. *J. Virol.*, 74, 10834-10837.
- 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. <http://www.anses.fr/Documents/SANT2010sa0280Ra.pdf> p.
- Beloëil P.A., Chauvin C., Proux K., Fablet C., Madec F., Alioum A., 2007. Risk factors for Salmonella seroconversion of fattening pigs in farrow-to-finish herds. *Vet. Res.*, 38, 835-848.
- Beloëil P.A., Fravallo P., Fablet C., Jolly J.P., Eveno E., Hascoët Y., Chauvin C., Salvat G., Madec F., 2004. Risk factors for Salmonella enterica subsp. enterica shedding by market-age pigs in French farrow-to-finish herds. *Prev. Vet. Med.*, 63, 103-120.
- Charpin C., Mahé S., Keranflec'h A., Belloc C., Cariolet R., Le Potier M.F., Rose N., 2012. Infectiousness of pigs infected by the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus (PRRSV) is time-dependent. *Vet. Res.*, 43, 69.
- Fablet C., Marois-Créhan C., Simon G., Grasland B., Jestin A., Kobisch M., Madec F., Rose N., 2013. Agents infectieux associés à la pneumonie et à la pleurésie : une enquête transversale dans 125 élevages naisseurs-engraisseurs du Grand Ouest de la France. *Journées de la Recherche Porcine*, 45, 267-268.
- Geldhof M.F., Van Breedam W., De Jong E., Lopez Rodriguez A., Karniychuk U.U., Vanhee M., Van Doorselaere J., Maes D., Nauwynck H.J., 2013. Antibody response and maternal immunity upon boosting PRRSV-immune sows with experimental farm-specific and commercial PRRSV vaccines. *Vet. Microbiol.*, 167, 260-271.
- Gerner W., Denyer M.S., Takamatsu H.H., Wileman T.E., Wiesmuller K.H., Pfaff E., Saalmuller A., 2006. Identification of novel foot-and-mouth disease virus specific T-cell epitopes in c/c and d/d haplotype miniature swine. *Virus Res.*, 121, 223-228.
- Huang Y.-L., Deng M.-C., Wang F.-I., Huang C.-C., Chang C.-Y., 2014. The challenges of classical swine fever control: Modified live and E2 subunit vaccines. *Virus Res.*, 179, 1-11.
- Kitikoon P., Nilubol D., Erickson B.J., Janke B.H., Hoover T.C., Sornsen S.A., Thacker E.L., 2006. The immune response and maternal antibody interference to a heterologous H1N1 swine influenza virus infection following vaccination. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 112, 117-128.
- Leemans J., Hamers C., Chery R., Bibard A., Besancon L., Duboeuf M., Hudelet P., Goutebroze S., Kirschvink N., 2013. Interference of colostral antibodies with response to a Bluetongue serotype 8 inactivated vaccine in lambs born from hyperimmune ewes. *Vaccine*, 31, 1975-1980.
- Lopez O.J., Osorio F.A., 2004. Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 102, 155-163.
- Lopez O.J., Oliveira M.F., Garcia E.A., Kwon B.J., Doster A., Osorio F.A., 2007. Protection against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection through passive transfer of PRRSV-neutralizing antibodies is dose dependent. *Clin. Vaccine Immunol.*, 14, 269-275.
- Martelli P., Cordioli P., Alborali L.G., Gozio S., De Angelis E., Ferrari L., Lombardi G., Borghetti P., 2007. Protection and immune response in pigs intradermally vaccinated against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) and subsequently exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain. *Vaccine*, 25, 3400-3408.
- 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.
- McCollum W.H., 1976. Studies of passive immunity in foals to equine viral arteritis. *Vet. Microbiol.*, 1, 45-54.
- Nechvatalova K., Kudlackova H., Leva L., Babickova K., Faldyna M., 2011. Transfer of humoral and cell-mediated immunity via colostrum in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 142, 95-100.
- 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.
- Pileri E., Gibert E., Soldevila F., Garcia-Saenz A., Pujols J., Diaz I., Darwich L., Casal J., Martin M., Mateu E., 2015. Vaccination with a genotype 1 modified live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome virus significantly reduces viremia, viral shedding and transmission of the virus in a quasi-natural experimental model. *Vet. Microbiol.*, 175, 7-16.
- Rose N., Le Diguierher G., Eveno E., Jolly J.P., Larour G., L'Hostis A., Blanchard P., Oger A., Le Dimna M., Jestin A., Madec F., 2003. Facteurs de risque de l'expression de la maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP) dans les élevages de type naisseur-engraisseur en France. *Journées de la Recherche Porcine*, 35, 383-392.
- Rose N., Renson P., Andraud M., Paboeuf F., Le Potier M.F., Bourry O., 2015. Réduction de la transmission du virus du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP) chez les porcs vaccinés en conditions expérimentales. *Journées de la Recherche Porcine*, 47, 271-276.
- Salines M., Andraud M., Barnaud E., Eono F., Renson P., Bourry O., Pavo N., Rose N., 2015. L'excrétion et la transmission du virus de l'hépatite E (VHE) sont augmentées lors d'une co-infection par le virus du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP). *Journées de la Recherche Porcine*, 47, 37-42.
- Tielen M.J., et al., 1981. [Aujeszky's disease: serological responsiveness after vaccination of 6-10-week-old piglets with maternal antibody (author's transl)]. *Tijdschr Diergeneeskd*, 106, 739-747.
- Vannier P., 1984. Efficacité de deux vaccins contre la maladie d'Aujeszky: influence des conditions de vaccination et de l'immunité passive résiduelle sur la protection de porcs à l'engrais. *Journées de la Recherche Porcine*, 16, 205-214.
- Zuckermann F.A., Garcia E.A., Luque I.D., Christopher-Hennings J., Doster A., Brito M., Osorio F., 2007. Assessment of the efficacy of commercial porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccines based on measurement of serologic response, frequency of gamma-IFN-producing cells and virological parameters of protection upon challenge. *Vet. Microbiol.*, 123, 69-85.
- Zygraich N., 1982. Vaccination against RS virus: A five year experience with Risposal. XII World congress on Diseases of Cattle, 189-195.