

Impact chez le porcelet d'une infection par un virus influenza A porcine sur la vaccination anti-SDRP à l'aide d'un vaccin vivant atténué

Patricia RENSON, Céline DEBLANC, Mireille LE DIMNA, Stéphane GORIN, Sophie MAHE, Nicolas BARBIER, Juliette BOUGON, Frédéric PABOEUF, Gaëlle SIMON, Olivier BOURRY

Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort / Université Bretagne Loire, Zoopôle, BP 53, 22440 Ploufragan, France

patricia.renson@anses.fr

Avec la collaboration technique de Gérald LE DIGUERHER, Jean-Philippe MOYSAN et Nadège MORIN

Impact chez le porcelet d'une infection par un virus influenza A porcine sur la vaccination anti-SDRP à l'aide d'un vaccin vivant atténué

Les vaccins vivants atténués (VVA) contre le virus du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcine (SDRPV) sont généralement administrés aux porcelets au moment du sevrage, période propice aux infections par les virus influenza porcins de type A (swIAV). Il a été montré que l'infection à swIAV induit une forte réponse antivirale à interféron alpha (IFNa) et que l'IFNa peut inhiber la réplication d'un VVA anti-SDRPV de type 2 et la réponse immunitaire normalement induite. Dans cette étude, nous avons évalué l'impact d'une infection par un swIAV sur la réplication d'un VVA anti-SDRPV de type 1 (VVA1), sur la réponse immunitaire post-vaccinale et sur la protection conférée vis-à-vis d'un challenge infectieux. Des groupes de six porcelets EOPS ont été, soit infectés par un swIAV, puis vaccinés 6h plus tard par un VVA1, soit vaccinés par un VVA1, soit non vaccinés. Les animaux ont été éprouvés 4 semaines plus tard par une souche sauvage de SDRPV1. Les charges virales et les réponses humorales et cellulaires vis-à-vis du SDRPV ont été comparées dans le sang et dans des lavages bronchoalvéolaires. L'infection à swIAV a retardé de 6 jours la virémie du VVA1 et de 4 jours la séroconversion anti-SDRPV. Au niveau pulmonaire, la détection du VVA1 n'a pas été modifiée mais les anticorps anti-SDRPV ont été détectés plus précocement. L'infection à swIAV a stimulé la réponse cellulaire anti-SDRPV post-challenge, mais l'efficacité vaccinale n'a pas été impactée. Ces résultats montrent qu'en conditions expérimentales, une infection concomitante par un swIAV peut avoir un impact sur la réplication et la réponse immunitaire d'un VVA1 anti-SDRPV, mais sans modifier la protection vaccinale induite. Des études complémentaires sont en cours afin de comprendre les mécanismes liés à cette interférence.

Impact of swine influenza A virus infection on PRRS MLV vaccination in piglets

Modified-live vaccines (MLV) against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) are usually administered to piglets at weaning, a frequent period for swine influenza A virus (swIAV) infections. SwIAV infection was previously shown to induce a strong antiviral interferon alpha (IFNa) response, and a recent study showed that IFNa could completely inhibit replication of PRRSV-2 MLV and the resulting immune response. In this study, we evaluated impacts of swIAV infection on replication of a PRRSV-1 MLV (MLV1) in piglets, the post-vaccinal immune response and the post-challenge vaccine efficacy. Groups of six SPF piglets were either infected with a swIAV and then vaccinated with a MLV1 6h later, or only vaccinated with a MLV1, or not vaccinated. Four weeks after vaccination, the piglets were challenged with a PRRSV-1 field strain. During both post-vaccinal and post-challenge periods, PRRSV genomic load, as well as specific humoral and cellular immune responses, were monitored in blood and bronchoalveolar lavages. At the systemic level, swIAV infection delayed MLV1 viremia by 6 days and anti-PRRSV seroconversion by 4 days. At the lung level, MLV1 detection was not modified, but antibodies against PRRSV were detected sooner. Post-PRRSV challenge, swIAV enhanced PRRSV-specific cellular immune response, but vaccine efficacy was not modified. These results showed that in experimental conditions, simultaneous infection with swIAV could impact the PRRSV-1 MLV replication and immune response, without modifying the vaccine protection. Further studies are currently underway to understand the mechanisms of this interference.

INTRODUCTION

Le Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP), causé par un virus à ARN simple brin de polarité positive de la famille des *Arteriviridae*, induit des pertes économiques considérables pour la production porcine mondiale. D'un point de vue clinique, le SDRP s'exprime par des problèmes de reproduction chez les truies gestantes et des troubles respiratoires chez les animaux en croissance. Le contrôle de cette maladie fait appel à la vaccination, avec l'utilisation de vaccins vivants atténués (VVA). Il existe deux espèces de virus du SDRP (SDRPV) : de type 1 ou de type 2. En France, seules des souches de SDRPV de type 1 (SDRPV1) sont présentes en élevage. De ce fait, la vaccination y est uniquement pratiquée en utilisant des VVA de type 1 (VVA1). En conditions expérimentales, chez des animaux exempts d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS), ces vaccins empêchent presque totalement la transmission du SDRPV à des porcs sentinelles (Rose *et al.*, 2015), alors qu'ils montrent une efficacité limitée sur le terrain. Au cours d'une première étude de terrain, nous avons montré que 60 % des porcelets sans anticorps d'origine maternelle (AOM) étaient virémiques deux semaines après vaccination (Fablet *et al.*, 2016b). De façon surprenante, dans une étude récente utilisant également des animaux de terrain, une virémie vaccinale n'a été détectée que chez 12% des porcelets sans AOM vaccinés à 3 semaines de vie (Renson *et al.*, 2019). En comparant les données issues de ces deux études, il est apparu que le faible nombre d'animaux virémiques était associé à des niveaux sériques élevés d'interféron alpha (IFNa) (Renson *et al.*, 2019), cytokine antivirale à laquelle le SDRPV est sensible (Buddaert *et al.*, 1998 ; Luo *et al.*, 2011). En 2017, il a été montré que l'IFNa pouvait complètement inhiber la réplication d'une souche vaccinale SDRP de type 2 et l'induction de la réponse immunitaire post-vaccinale associée (Brockmeier *et al.*, 2017).

Chez les porcelets, la vaccination anti-SDRP est généralement pratiquée à 3 ou 4 semaines d'âge au moment du sevrage, période propice aux infections par les virus influenza porcins (IP) de type A (swine influenza A virus: swIAV), y compris en présence d'anticorps anti-swIAV d'origine maternelle (Deblanc *et al.*, 2018). Par ailleurs, il a été montré que l'infection de porcelets de 3 ou 9 semaines d'âge par des swIAVs de sous-type H1N1 induit une forte réponse IFNa aux niveaux pulmonaire et sérique (Barbe *et al.*, 2011 ; Deblanc *et al.*, 2016). Une forte production d'IFNa a également été observée au niveau sérique après une infection par un swIAV de sous-type H1N2 (Deblanc *et al.*, 2019). Enfin, on relèvera que les infections à SDRPV et à swIAV H1N2 ont été trouvées significativement associées dans des élevages de Bretagne, région de forte densité porcine où circulent préférentiellement ces deux virus (Fablet *et al.*, 2016a).

Cette étude avait pour objectifs d'évaluer chez le porcelet l'impact d'une infection par un swIAV H1N2 sur la réplication d'un VVA1 anti-SDRP, la réponse immunitaire post-vaccinale et l'efficacité de la vaccination anti-SDRP vis-à-vis d'un challenge avec une souche virulente de SDRPV.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Vingt-quatre porcelets EOPS de race Large White de 5 semaines d'âge, nés dans les installations protégées de l'Anses-Ploufragan, ont été randomisés selon leur sexe, leur

poids et leur origine parentale. Ils ont été répartis en quatre groupes de six animaux : IPVAC, VAC, NonVAC et Témoin (Tableau 1). A J0, les groupes IPVAC et VAC ont été vaccinés avec une dose de vaccin anti-SDRP Porcilis PRRS MLV® (VVA1) par voie intramusculaire (MSD, Beaucouzé, France) et le groupe UNVAC a reçu du diluant vaccinal. Six heures avant la vaccination, le groupe IPVAC a été infecté par un swIAV de sous-type H1N2 (souche A/Sw/Ille et Vilaine/0415/2011) en administrant 10^6 TCID₅₀ par porc par voie endotrachéale (5 ml) et les groupes VAC et NonVAC ont reçu du milieu de culture. A J28 post-vaccination (pv), les animaux des groupes IPVAC, VAC et NonVAC ont été challengés par la souche SDRPV Finistère (PRRS-FR-2005-29-24-1), en administrant 5.10^5 TCID₅₀ par porc par voie intranasale (2,5 ml/narine). Le groupe témoin n'a reçu que du milieu de culture. Un relevé des températures rectales a été assuré quotidiennement (les animaux ont été considérés en hyperthermie à partir de 40,1°C) ainsi qu'une évaluation du score clinique selon une grille adaptée de celle décrite précédemment (Deblanc *et al.*, 2019). Une pesée hebdomadaire a également été réalisée afin de calculer les gains moyens quotidiens (GMQ).

Tableau 1 – Groupes expérimentaux

Groupe (n=6)	Inoculation SwIAV	Vaccination SDRP VVA1	Challenge SDRPV
IPVAC	+	+	+
VAC	-	+	+
NonVAC	-	-	+
Témoin	-	-	-

Les animaux ont été soumis à une prise de sang sur tube sec pour collecter le sérum à J0, J1, J2, J4, J7, J10, J14, J21, J24, J31, J35, J38, J43, J45, J49, J56 et J63 pv, et sur tube hépariné à J0, J14, J24, J43 et J56 pv pour isoler les cellules mononucléées du sang périphérique (peripheral blood mononuclear cells : PBMC). Des lavages broncho-alvéolaires (bronchoalveolar lavages : BAL) ont été réalisés à J0, J1, J4, J7, J10, J14, J21 et J24, J43 et J56 pv en instillant deux fois 20 ml de PBS stérile sous anesthésie générale (10 mg/kg de Zoletil®, Virbac, Carros, France, administré par voie intramusculaire). Les cellules de BAL (BAL cells : BALC) ont ensuite été séparées du liquide de BAL (BAL fluid : BALF). Des écouvillonnages nasaux ont été effectués à J0, J1, J2, J4, J7 et J10 pv pour le groupe IPVAC. Les animaux ont été euthanasiés et autopsiés entre J70 et J73 pv. Le protocole a été autorisé par le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche sous le numéro APAFIS#14266-2018032615007483v3.

1.2. Analyses de laboratoire

L'IFNa a été dosé dans le sérum et le BALF par ELISA (Jamin *et al.*, 2006).

Les ARNs génomiques des virus SDRPV et swIAV ont été extraits à partir du sérum et du BALF à l'aide du kit NucleoSpin 8 virus (Macherey-Nagel, Düren, Allemagne) selon le protocole du fabricant. Les charges virales SDRPV ont été quantifiées sur la période pré-challenge dans chaque matrice à l'aide d'une gamme de virus vaccinal VVA1 de titre connu en utilisant une qRT-PCR détectant toutes les souches de SDRPV1 (Charpin *et al.*, 2012). Sur la période post-challenge, les charges virales de la souche SDRPV Finistère ont été quantifiées de la même façon à l'aide d'une qRT-PCR détectant spécifiquement cette souche (Rose *et al.*, 2015). Le génome viral swIAV a été quantifié dans le BALF et le surnageant d'écouvillon nasal par RT-qPCR ciblant le gène M (Cador *et al.*, 2016).

Les anticorps dirigés contre le SDRPV ont été détectés dans le sérum et le BALF avec le kit ELISA BioLISA PRRSV Ab (BioSella, Dardilly, France). Pour le BALF, le protocole a été adapté en diluant les échantillons au 1/2. Les anticorps dirigés contre le swIAV ont été détectés dans le sérum et le BALF à l'aide du kit ID Screen Influenza A Ab compétition multi-espèces (ID.Vet, Grabels, France). Pour le BALF, le protocole a été adapté en utilisant les échantillons non dilués.

La réponse immunitaire cellulaire spécifique de la souche SDRP vaccinale VVA1 ou de la souche SDRPV Finistère a été évaluée dans le sang et au niveau pulmonaire en quantifiant par ELISPOT les cellules sécrétrices d'interféron gamma (IFN γ) à partir des PBMC ou des BALC isolées (Renson *et al.*, 2019).

1.3. Analyses statistiques

Les aires sous la courbe (ASC) calculées et les variations mesurées pour un groupe ont été comparées soit à celles du groupe Témoin, soit à celles du groupe NonVAC, soit entre les groupes VAC et IPVAC (différences significatives représentées respectivement sur les figures par les lettres a, b et c), à l'aide du test de Kruskal-Wallis avec la correction de Holm. Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel R (version 3.4.4) avec une limite de significativité fixée à $P < 0,05$. Les données représentées sur les figures correspondent aux moyennes et écart-types de chaque groupe.

2. RESULTATS

2.1. Données cliniques

Dans le groupe VAC, seul un animal a montré une hyperthermie (40,2°C) à J3 pv alors que, dans le groupe IPVAC, quatre animaux sur six étaient en hyperthermie à J1 pv avec une moyenne du groupe à 40,4°C \pm 0,4 (Figure 1). A J3, le groupe IPVAC continuait à montrer une température rectale moyenne supérieure à celle du groupe Témoin. Une diminution du GMQ a été observée entre J2 et J16 pv pour le groupe IPVAC et entre J9 et J16 pv pour le groupe VAC (Figure 2).

Après le challenge avec la souche SDRPV Finistère, seuls les animaux du groupe NonVAC ont présenté des hyperthermies à J31 pv (J3 post-challenge) avec une température rectale moyenne de 40,3°C. Une baisse du GMQ a également été observée uniquement pour le groupe NonVAC entre J28 et J30 pv (J3 et J5 post-challenge).

Sur toute la période de suivi des animaux, aucune clinique respiratoire n'a été observée, de même qu'aucune lésion pulmonaire caractéristique lors des autopsies.

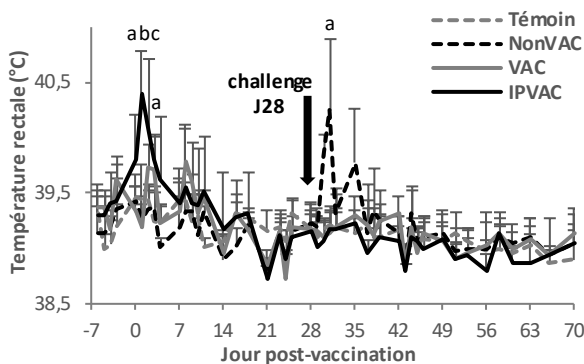


Figure 1 – Relevé des températures rectales

$P < 0,05$ versus groupe Témoin (a) ou NonVAC (b) ou entre VAC et IPVAC (c)

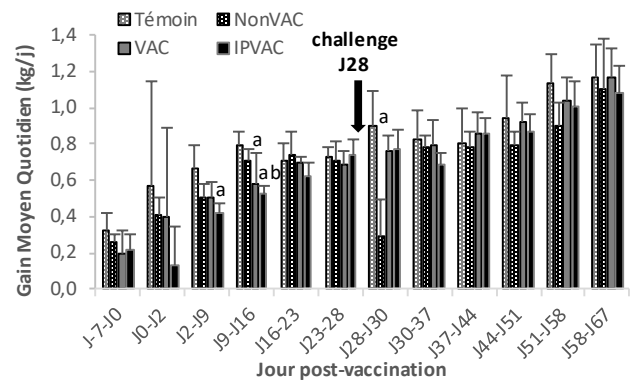


Figure 2 – Gains moyens quotidiens

$P < 0,05$ versus groupe Témoin (a) ou NonVAC (b) ou entre VAC et IPVAC (c)

2.2. Suivi de la réponse à l'infection swIAV

L'infection par le swIAV a été confirmée pour le groupe IPVAC par la détection du swIAV dans les surnageants d'écouillons nasaux à partir de J1 et jusqu'à J7 pv et par la détection des anticorps anti-swIAV à partir de J7 pv à la fois dans le sérum et le BALF (données non présentées).

Chez les animaux IPVAC, les dosages d'IFN α ont confirmé l'importante production de cette cytokine, à la fois dans le sérum durant les deux premiers jours et dans le BALF durant les quatre premiers jours après inoculation du swIAV (pics à J1 à 668 \pm 251 U/ml dans le sérum et à 484 \pm 360 U/ml dans le BALF) (Figure 3). Chez trois animaux du groupe VAC, l'IFN α a été détecté uniquement à de faibles taux dans le sérum à J4 pv (36 \pm 37 U/ml).

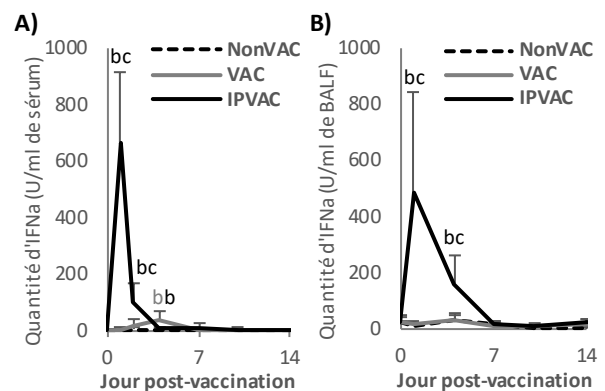


Figure 3 – Dosages d'IFN α dans le sérum (A) et le BALF (B) avant le challenge

$P < 0,05$ versus groupe NonVAC (b) ou entre VAC et IPVAC (c)

2.3. Suivi de la réponse à la vaccination VVA1

Mis à part deux animaux présentant de façon transitoire des charges virales non quantifiables à J1 pv, le VVA1 n'a été détecté dans le sérum des animaux du groupe IPVAC qu'à partir de J7 pv alors qu'il a été détecté dès J1 pv chez tous les porcelets du groupe VAC (Figure 4). Au pic de virémie (charge virale moyenne de 4,01 \pm 0,31 log $_{10}$ équivalent TCID $_{50}$ /ml de sérum pour le groupe VAC versus 3,02 \pm 0,40 pour le groupe IPVAC) et tout au long de la cinétique représentée par les aires sous les courbes, les charges virales vaccinales sériques sont apparues significativement réduites pour le groupe IPVAC ($p = 0,003$).

Pour l'ensemble des animaux du groupe IPVAC, la séroconversion anti-SDRPV est apparue à J14 pv avec un retard de quatre jours par rapport au groupe VAC (Figure 5). Dans le BALF des animaux IPVAC, le VVA1 a été détecté à partir de J10 pv de façon simultanée et sans différence quantitative significative avec le groupe VAC (Figure 6). Les anticorps anti-SDRPV sont apparus dans le BALF dès J14 pv chez trois animaux du groupe IPVAC (Figure 6). A J21 pv, les six animaux IPVAC ont été trouvés séropositifs alors que les anticorps anti-SDRPV n'ont été détectés que chez trois animaux du groupe VAC à cette date et chez seulement quatre d'entre eux à J24.

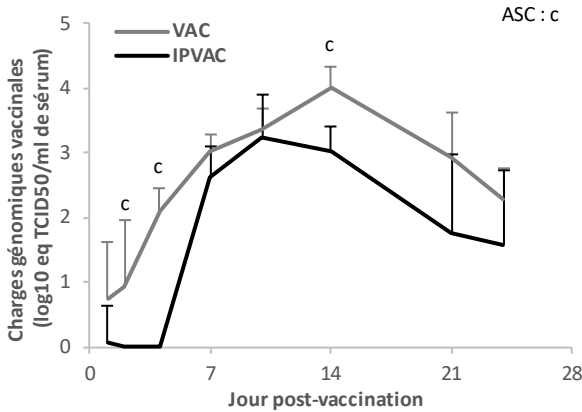


Figure 4 – Quantification du génome vaccinal SDRPV (VVA1) dans le sérum avant le challenge

P < 0,05 entre les groupes VAC et IPVAC (c) ; aires sous la courbe (ASC)

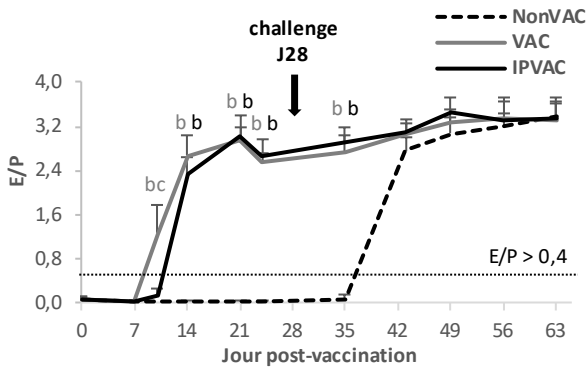


Figure 5 – Détection des anticorps anti-SDRPV dans le sérum

P < 0,05 versus groupe NonVAC (b) ou entre VAC et IPVAC (c)

	BALF	J1	J4	J7	J10	J14	J21	J24	pv
VAC	6957						A	A	
	6973								
	6987							A	A
	6963								A
	6975								
	6986							A	A
IPVAC	6964	+	+	+	+	A	A	A	
	6977	+	+	+		A	A	A	
	6988	+	+	+			A	A	
	6960	+	+	+	+	A	A	A	
	6980	+	+	+			A	A	
	6984	+	+	+			A		

■ Détection VVA1 quantifiable □ Détection VVA1 non quantifiable
 + Détection du génome swiAV A Détection des anticorps anti-SDRPV

Figure 6 – Détection du génome vaccinal SDRPV (VVA1), du génome swiAV et des anticorps anti-SDRPV dans le BALF avant le challenge

Dans le sang, une réponse immunitaire cellulaire spécifique du VVA1 a été détectée à partir de J14 pv pour les groupes VAC et IPVAC (Figure 7). Malgré un niveau de réponse plus élevé pour le groupe IPVAC à J24 pv (respectivement 124±74 et 44±25 cellules sécrétrices d'IFNγ par million de PBMC pour la moyenne des groupes IPVAC et VAC), la différence entre les deux groupes n'est pas significative (*P* = 0,093). Dans le BAL, une réponse cellulaire spécifique du VVA1 a seulement été détectée chez des animaux du groupe IPVAC, 3/6 à J14 pv et 1/6 à J24 pv.

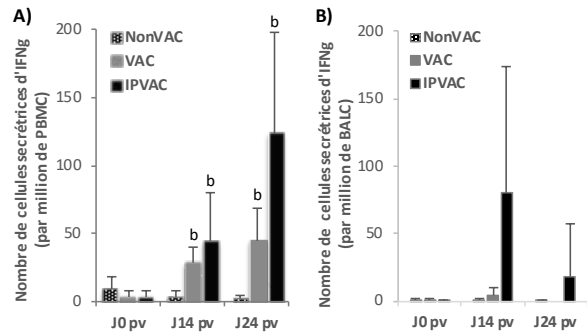


Figure 7 – Réponse immunitaire cellulaire avant le challenge quantifiée par ELISPOT IFNγ dans les PBMC (A) et les BALC (B) en réponse à une stimulation avec la souche vaccinale VVA1

P < 0,05 versus groupe NonVAC (b) ou entre VAC et IPVAC (c)

2.4. Suivi de la réponse au challenge SDRPV

Pour les groupes vaccinés VVA1 (VAC et IPVAC), la virémie de la souche SDRPV Finistère quantifiée après le challenge a été significativement réduite par rapport au groupe non vacciné (NonVAC) de J31 à J45 pv (J3 à J17 post-challenge) (Figure 8). Les charges virales moyennes au pic de virémie à J35 pv (J7 post-challenge) ont respectivement été quantifiées à 2,45±0,38 et 2,46±0,45 pour les groupes VAC et IPVAC contre 3,70±0,39 log₁₀ équivalent TCID₅₀/ml pour le groupe NonVAC. Aucune différence n'a été observée entre les groupes VAC et IPVAC. De la même façon, les quantifications de la souche Finistère réalisées dans le BALF à J43 et J56 pv (J15 et J28 post-challenge) ont confirmé la réduction des charges virales chez les animaux vaccinés sans montrer de différence entre les groupes vaccinés VAC et IPVAC (données non présentées).

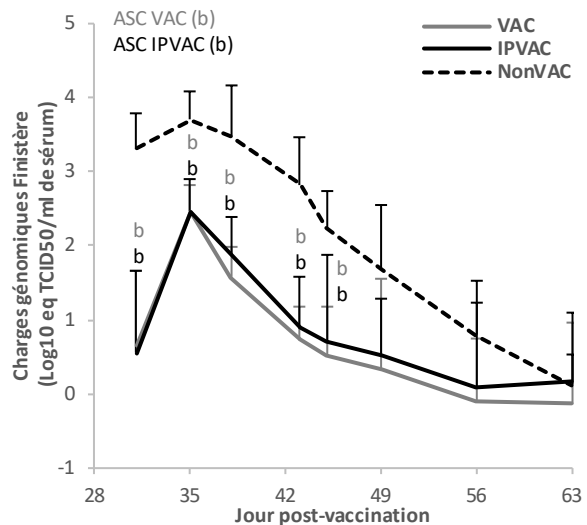


Figure 8 – Quantification du génome de la souche SDRPV Finistère dans le sérum sur la période post-challenge

Challenge des animaux à J28 post-vaccination. P < 0,05 versus groupe NonVAC (b) ou entre les groupes VAC et IPVAC (c); Aires sous la courbe (ASC)

Post-challenge, une même cinétique d'anticorps anti-SDRPV a été observée pour les groupes IPVAC et VAC (Figure 5). A partir de J43 pv (J15 post-challenge), aucune différence de niveau d'anticorps n'est mise en évidence ni dans le sérum, ni dans le BALF (données non présentées) pour les deux groupes vaccinés par rapport au groupe NonVAC.

Par contre, à J43 pv (J15 post-challenge), les analyses de la réponse immunitaire cellulaire dans le sang ont montré un nombre de cellules sécrétrices d'IFN γ significativement supérieur pour le groupe IPVAC par rapport au groupe VAC avec en moyenne 281±315 cellules sécrétrices d'IFN γ par million de PBMC pour le groupe IPVAC contre 131±151 pour le groupe VAC (Figure 9). Dans le BALF, quel que soit le groupe, aucune réponse cellulaire n'a pu être détectée chez les animaux sur la période post-challenge (données non présentées).

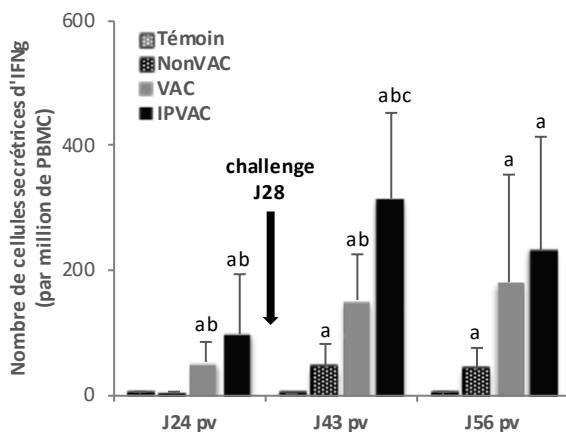


Figure 9 – Réponse immunitaire cellulaire post-challenge quantifiée par ELISPOT IFN γ dans les PBMC en réponse à une stimulation avec la souche SDRPV Finistère

$P < 0,05$ versus groupe Témoin (a) ou NonVAC (b) ou entre VAC et IPVAC (c)

3. DISCUSSION

Cette étude montre que, chez le porcelet, une infection concomitante par un virus swIAV peut interférer avec la vaccination anti-SDRPV utilisant un VVA1, en retardant d'une semaine la virémie vaccinale et en réduisant de dix fois la charge vaccinale au pic de virémie. Chez les animaux infectés par le swIAV, la séroconversion post-vaccinale VVA1 est également retardée de quelques jours par rapport aux animaux uniquement vaccinés, probablement à cause du délai de production des antigènes de SDRPV issus du VVA1. En 2017, Brockmeier *et al.* ont montré que lors d'une vaccination anti-SDRPV à l'aide d'un VVA2, une administration d'IFN α (au moyen d'un vecteur adénoviral Ad5-pIFN α) pouvait complètement inhiber la réplication de la souche vaccinale et la réponse immunitaire associée durant les 28 jours de suivi (Brockmeier *et al.*, 2017). Même si, dans notre étude, la réplication de la souche vaccinale n'a été que temporairement inhibée, d'importantes quantités d'IFN α ont été induites très précocement lors de l'infection swIAV, suggérant que cette cytokine antivirale pourrait être responsable de l'inhibition de la réplication du VVA1. Les modes différents de dosage ne permettant pas de comparer les quantités d'IFN α obtenues dans notre étude avec celles de Brockmeier *et al.* (2017), nous ne pouvons pas présumer d'une production d'IFN α plus faible lors de l'infection swIAV par rapport à l'Ad5-pIFN α . Néanmoins les périodes de détection de l'IFN α sont comparables entre les deux études. Les doses vaccinales administrées étant

également assez similaires, il est possible que les six heures de décalage entre l'infection swIAV et la vaccination VVA1 soient à l'origine de l'interférence partielle observée dans notre étude. Cependant, lors d'une infection à l'aide d'une souche sauvage de SDRPV2, un retard de 3 jours de la virémie et une réduction des charges virales ont été observés de façon similaire lorsque l'Ad5-pIFN α est administré simultanément à l'infection, ou bien un jour plus tôt (Brockmeier *et al.*, 2009 ; Brockmeier *et al.*, 2012), suggérant que le délai entre l'induction de l'IFN α et l'infection par le SDRPV n'est pas déterminant. Malgré une phase d'inhibition de la réplication de la souche vaccinale au niveau sanguin, l'infection à swIAV n'a sans doute pas empêché celle-ci de subsister dans des tissus comme les amygdales ou les ganglions qui sont des lieux de persistance du virus chez les animaux non virémiques (Rowland *et al.*, 2003). L'apparition de la virémie vaccinale à J7 pv coïncide avec l'élimination de l'IFN α produit, mais également avec la fin de l'excrétion du swIAV.

Au niveau pulmonaire, contrairement à une souche SDRPV sauvage qui peut être détectée dans le BALF dès J2 post-infection (pi) (Renson *et al.*, 2017), l'installation du VVA1 est tardive et n'est pas impactée par l'infection swIAV. En effet, à J10 pv où le VVA1 apparaît, il n'y a plus d'IFN α dans le BALF et le swIAV n'y est presque plus détecté. A l'inverse, la réponse anticorps anti-SDRPV apparaît plus précocement (1 semaine) avec l'infection swIAV qui semble avoir favorisé l'induction d'une réponse immunitaire post-vaccinale dans le poumon. De plus, malgré la grande variabilité individuelle, les résultats tendent à montrer une meilleure stimulation de la réponse immunitaire cellulaire post-vaccinale avec l'infection swIAV au niveau pulmonaire, mais aussi au niveau sanguin. Cet effet se confirme sur la période post-challenge avec l'induction d'une réponse cellulaire spécifique du SDRPV significativement plus élevée à J43 pv chez les animaux du groupe IPVAC par rapport au groupe VAC. Au-delà de son effet antiviral, l'IFN α peut en effet activer la réponse adaptative en stimulant les cellules dendritiques qui déclenchent ensuite une prolifération des lymphocytes T spécifiques d'un antigène. Ainsi, une corrélation a été montrée entre les réponses IFN α et IFN γ lors d'une co-administration d'un plasmide codant pour l'IFN α et d'un MLV2 anti-SDRPV (Royae *et al.*, 2004). De même, avec une souche virulente de SDRPV, Brockmeier *et al.* ont observé une augmentation du nombre de cellules sécrétrices d'IFN γ lorsque l'Ad5-pIFN α est administré simultanément (Brockmeier *et al.*, 2012). L'augmentation de la réponse cellulaire anti-SDRPV induite post-challenge chez les animaux du groupe IPVAC n'a pas permis d'améliorer l'efficacité vaccinale (par la réduction des charges virales de la souche d'épreuve) mais pourrait avoir compensé le retard d'induction de la réponse humorale systémique post-vaccinale lui-même lié à l'inhibition transitoire de la virémie vaccinale.

Sensibles aux IFN de type I, les SDRPV ont développé des mécanismes de protection en inhibant l'induction d'IFN α /b à différentes étapes de leurs voies de signalisation (Yoo *et al.*, 2010). Ainsi, des stratégies de lutte contre le SDRPV permettant un apport exogène d'IFN α sont à l'étude (Nan *et al.*, 2017). Cependant, nos travaux et ceux de Brockmeier suggèrent que ces stratégies ne sont pas adaptées pour être couplées à une vaccination à l'aide des VVA actuellement commercialisés qui restent des SDRPV répliquatifs sensibles à l'IFN α . Néanmoins, un VVA synthétique anti-SDRPV, capable d'induire une production significative d'IFN α tout en conservant sa capacité répliquative, apparaît être une stratégie prometteuse pour améliorer la réponse immunitaire et l'efficacité vaccinale (Sun *et al.*, 2018)

Dans notre modèle d'interférence entre swIAV et VVA1 anti-SDRP, d'autres cytokines pourraient intervenir en dehors de l'IFNa. Ainsi l'induction d'IL6 a précédemment été observée à la fois dans le sérum et le BALF lors d'une infection avec le même swIAV de sous-type H1N2 utilisé (Deblanc *et al.*, 2019). Dans cette étude, une réponse ELISPOT IFNg anti-swIAV était détectée dans le sang à partir de J7 pi et nous avons montré que les anticorps anti-swIAV apparaissaient à partir de J7 dans le sérum et le BALF. Ainsi, le contexte inflammatoire induit par l'infection swIAV, associé à la mise en place d'une réponse immunitaire spécifique anti-swIAV plus précoce que la réponse anti-SDRPV a pu favoriser l'induction de la réponse cellulaire anti-SDRPV via un recrutement de cellules immunitaires et ceci notamment dans le poumon où les deux virus sont co-localisés.

CONCLUSION

Cette étude montre qu'une infection par un swIAV, induisant une forte production d'IFNa, peut interférer avec la vaccination anti-SDRP à l'aide d'un VVA1, en retardant et en diminuant la virémie vaccinale. L'immunité cellulaire spécifique du VVA1 est cependant mieux stimulée dans ces conditions expérimentales et au final l'infection à swIAV ne semble pas avoir d'impact sur la protection vaccinale. Un autre impact aurait pu être obtenu dans des conditions différentes en terme de délai entre l'infection à swIAV et la vaccination VVA1, de sous-type du swIAV utilisé, d'âge ou de statut sanitaire des porcelets. Des études complémentaires sont en cours afin de mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent ces interférences, tant au niveau viral qu'au niveau immunitaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barbe F., Atanasova K., Van Reeth K., 2011. Cytokines and acute phase proteins associated with acute swine influenza infection in pigs. *Vet J*, 187, 48-53.
- Brockmeier S.L., Loving C.L., Nelson E.A., Miller L.C., Nicholson T.L., Register K.B., Grubman M.J., Brough D.E., Kehrl M.E., Jr., 2012. The presence of alpha interferon at the time of infection alters the innate and adaptive immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Clin Vaccine Immunol*, 19, 508-514.
- Brockmeier S.L., Loving C.L., Eberle K.C., Hau S.J., Buckley A., Van Geelen A., Montiel N.A., Nicholson T., Lager K.M., 2017. Interferon alpha inhibits replication of a live-attenuated porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine preventing development of an adaptive immune response in swine. *Vet Microbiol*, 212, 48-51.
- Brockmeier S.L., Lager K.M., Grubman M.J., Brough D.E., ETTYREDDY D., SACCO R.E., GAUGER P.C., LOVING C.L., VORWALD A.C., KEHRLI M.E., JR., LEHMKUHL H.D., 2009. Adenovirus-mediated expression of interferon-alpha delays viral replication and reduces disease signs in swine challenged with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Viral Immunol*, 22, 173-180.
- Buddaert W., Van Reeth K., Pensaert M., 1998. In vivo and in vitro interferon (IFN) studies with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Adv Exp Med Biol*, 440, 461-467.
- Cador C., Herve S., Andraud M., Gorin S., Paboeuf F., Barbier N., Queguiner S., Deblanc C., Simon G., Rose N., 2016. Maternally-derived antibodies do not prevent transmission of swine influenza A virus between pigs. *Vet Res*, 47, 86.
- Charpin C., Mahe 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.
- Deblanc C., Quéguiner S., Gorin S., Paboeuf F., Simon G., 2019. Etude des réponses du porc à l'infection par un nouveau variant de virus influenza porcine H1N2 et évaluation de la protection vaccinale. *Journées de la Recherche Porcine*, 51, 259-264.
- Deblanc C., Delgado-Ortega M., Gorin S., Berri M., Paboeuf F., Berthon P., Herrler G., Meurens F., Simon G., 2016. Mycoplasma hyopneumoniae does not affect the interferon-related anti-viral response but predisposes the pig to a higher level of inflammation following swine influenza virus infection. *J Gen Virol*, 97, 2501-2515.
- Deblanc C., Herve S., Gorin S., Cador C., Andraud M., Queguiner S., Barbier N., Paboeuf F., Rose N., Simon G., 2018. Maternally-derived antibodies do not inhibit swine influenza virus replication in piglets but decrease excreted virus infectivity and impair post-infectious immune responses. *Vet Microbiol*, 216, 142-152.
- Fablet C., Marois-Crehan C., Grasland B., Simon G., Rose N., 2016a. Factors associated with herd-level PRRSV infection and age-time to seroconversion in farrow-to-finish herds. *Vet Microbiol*, 192, 10-20.
- Fablet C., Renson P., Eono F., Mahe S., Eveno E., Le Dimna M., Normand V., Lebret A., Rose N., Bourry O., 2016b. Maternally-derived antibodies (MDAs) impair piglets' humoral and cellular immune responses to vaccination against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Vet Microbiol*, 192, 175-180.
- Jamin A., Gorin S., Le Potier M.F., Kuntz-Simon G., Hoffmann A., Foetisch K., May S., Aulepp H., Hausteine D., Vieths S., 2006. Characterization of conventional and plasmacytoid dendritic cells in swine secondary lymphoid organs and blood. *Vet Immunol Immunopathol*, 114, 224-237.
- Luo R., Fang L., Jin H., Jiang Y., Wang D., Chen H., Xiao S., 2011. Antiviral activity of type I and type III interferons against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Antiviral Res*, 91, 99-101.
- Nan Y., Wu C., Gu G., Sun W., Zhang Y.J., Zhou E.M., 2017. Improved Vaccine against PRRSV: Current Progress and Future Perspective. *Front Microbiol*, 8, 1635.
- Renson P., Fablet C., Andraud M., Normand V., Lebret A., Paboeuf F., Rose N., Bourry O., 2019. Maternally-derived neutralizing antibodies reduce vaccine efficacy against porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vaccine*, 37, 4318-4324.
- Renson P., Rose N., Le Dimna M., Mahe S., Keranflec'h A., Paboeuf F., Belloc C., Le Potier M.F., Bourry O., 2017. Dynamic changes in bronchoalveolar macrophages and cytokines during infection of pigs with a highly or low pathogenic genotype 1 PRRSV strain. *Vet Res*, 48, 15.
- Rose N., Renson P., Andraud M., Paboeuf F., Le Potier M.F., Bourry O., 2015. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) modified-live vaccine reduces virus transmission in experimental conditions. *Vaccine*, 33, 2493-2499.
- Rowland R.R., Lawson S., Rossow K., Benfield D.A., 2003. Lymphoid tissue tropism of porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication during persistent infection of pigs originally exposed to virus in utero. *Vet Microbiol*, 96, 219-235.
- Royae A.R., Husmann R.J., Dawson H.D., Calzada-Nova G., Schnitzlein W.M., Zuckermann F.A., Lunney J.K., 2004. Deciphering the involvement of innate immune factors in the development of the host response to PRRSV vaccination. *Vet Immunol Immunopathol*, 102, 199-216.
- Sun H., Workman A., Osorio F.A., Steffen D., Vu H.L.X., 2018. Development of a broadly protective modified-live virus vaccine candidate against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vaccine*, 36, 66-73.
- Yoo D., Song C., Sun Y., Du Y., Kim O., Liu H.C., 2010. Modulation of host cell responses and evasion strategies for porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Res*, 154, 48-60.