

P2502

## INFLUENCE DE L'IMMUNITÉ PASSIVE SUR LA RÉPONSE DU PORCELET AUX INFECTIONS VIRALES. APPLICATION A LA PESTE PORCINE CLASSIQUE.

G. CORTHER

*I.N.R.A. Laboratoire de Pathologie Porcine \*  
78850 Thiverval-Grignon*

### INTRODUCTION

Alors que le placenta des femelles de certaines espèces de mammifères permet un passage des immunoglobulines de la mère au fœtus, celui de la truie empêche au contraire tout transfert de l'immunité in utero (1). Le porcelet acquiert pendant les 48 premières heures qui suivent sa naissance, par l'ingestion de colostrum, une protection passive humorale contre le pouvoir pathogène de divers agents infectieux à l'égard desquels la truie était immunisée (2, 3). L'intensité de cette protection va décroître au cours du temps en raison du catabolisme des immunoglobulines et de la croissance du porcelet (4, 5).

Pour maintenir chez l'animal une protection tout au long de sa carrière économique, contre diverses maladies infectieuses, il serait souhaitable de pratiquer une vaccination très précoce. L'immunisation active obtenue pourrait ainsi prendre le relai de l'immunité passive (6).

Si les travaux entrepris dans ce sens avec le virus suïpestique (7, 8, 9, 10) mettent en évidence un rôle inhibiteur de l'immunité colostrale dans le développement d'une immunité active, des expériences plus récentes réalisées avec un antigène inerte (6, 11) indiquent qu'il peut exister des conditions favorables à l'immunisation active en présence d'anticorps passifs.

Le but de ce travail a donc été d'étudier le développement de l'immunité active du porcelet contre les infections virales en présence d'une immunité humorale passive.

Compte tenu des travaux antérieurs du laboratoire nous avons choisi comme antigène le virus de la peste porcine. En nous basant sur des résultats obtenus en 1972 par PROVOST (12) qui, à l'aide d'un vaccin vivant administré par voie nasale, a réussi à immuniser activement contre la peste bovine des jeunes veaux encore sous le couvert de l'immunité passive d'origine maternelle, nous avons pensé qu'il serait intéressant de vérifier si une telle solution était applicable dans le cas de la Peste porcine chez le Porc.

Les deux paramètres proposés à l'étude, par la mesure de la cinétique d'apparition des anticorps neutralisants sériques et par la résistance à l'épreuve ont donc été :

- a) l'influence de l'intensité de l'immunité passive ;
- b) l'importance de la voie d'administration de l'antigène.

### MATERIEL ET METHODES :

#### 1/ Souches virales

L'antigène utilisé est un vaccin à virus vivant : la souche "Thiverval" du virus de la Peste porcine, souche mutante thermosensible, isolée au laboratoire (14). La souche d'épreuve "Alfort" tue en 15 jours environ, les animaux nés de truies non immunes (13). La dose injectée est égale à  $10^6$  U.F.P. (Unités Formant Plages). La production et le titrage du virus se font sur culture de cellules PK15 selon les techniques déjà décrites (14).

\* Travail réalisé en partie grâce au contrat I.N.R.A. - Communauté Economique Européenne.

## 2/ Etude de l'état immunitaire des porcs :

L'état immunitaire des porcs a été précisé de deux façons :

- a) Chaque semaine des échantillons de sang prélevés à la veine cave antérieure de chacun des animaux font l'objet d'un titrage d'anticorps neutralisants. L'activité anti-Peste porcine est caractérisée par l'index de neutralisation du sérum dilué au 1/20ème final (13).
- b) Au 125ème jour de l'expérience, tous les animaux sont soumis à une infection d'épreuve virulente pratiquée par voie intranasale avec la souche Alfort à la dose de  $10^6$  U.F.P.

## 3/ Protocole expérimental :

Au lieu de recourir à l'immunité maternelle acquise passivement par l'ingestion de colostrum et dont l'intensité est difficilement prévisible et contrôlable, nous avons préféré administrer par voie intrapéritonéale, à des porcelets de 6 à 8 semaines nés de truies non immunisées, des quantités contrôlées (0, 50, 200 et 400 mg) d'immunoglobulines G purifiées (DEAE cellulose) provenant de porc hyperimmunisé contre la Peste porcine. La pureté de la préparation a été contrôlée par immunoélectrophorèse. Chaque dose d'immunoglobulines anti-Peste porcine est complétée à 400 mg avec des immunoglobulines purifiées de porc non immunisé, afin d'éviter toute variation du catabolisme de ces immunoglobulines en fonction de la quantité injectée (15, 16, 17).

Trois jours après l'injection d'immunoglobulines les animaux, répartis en différents lots (tableau 3) reçoivent du virus vaccinal sous un volume de 2 ml par voie intramusculaire à la dose de  $10^4$  U.F.P., par instillation intranasale à la dose de  $10^5$  U.F.P., ou sont conservés comme témoins non vaccinés.

## RESULTATS :

### 1/ Influence de la voie d'administration du vaccin (porcelets ne possédant pas d'immunité passive).

En raison de sa grande efficacité, la vaccination par voie parentérale est traditionnellement utilisée dans la pratique. Dans notre cas, des travaux antérieurs (13) ont montré que la souche "Thival" administrée par voie intramusculaire à la dose de  $10^4$  U.F.P. permettait de protéger tous les animaux vaccinés contre l'infection virulente d'épreuve. L'utilisation d'une gamme de doses de cet ordre nous a permis de préciser la réceptivité des voies aériennes supérieures au virus vaccinal administré par instillation intranasale ou par injection intratrachéale à des porcelets ne possédant pas d'immunité passive:

Les résultats obtenus (tableau 1) montrent que pour être aussi efficaces que la voie intramusculaire, les voies intranasales et intratrachéales exigent l'utilisation de doses vaccinales dix fois plus élevées. Dans la suite des expériences présentées dans ce rapport, les doses de  $10^4$  et  $10^5$  U.F.P. seront donc respectivement utilisées pour l'administration du vaccin par voie parentérale et par voie locale (intranasale).

**TABEAU 1**  
INFLUENCE DE LA VOIE D'ADMINISTRATION SUR LE POUVOIR IMMUNIGENE  
ET LE POUVOIR PROTECTEUR DE LA SOUCHE THIVAL

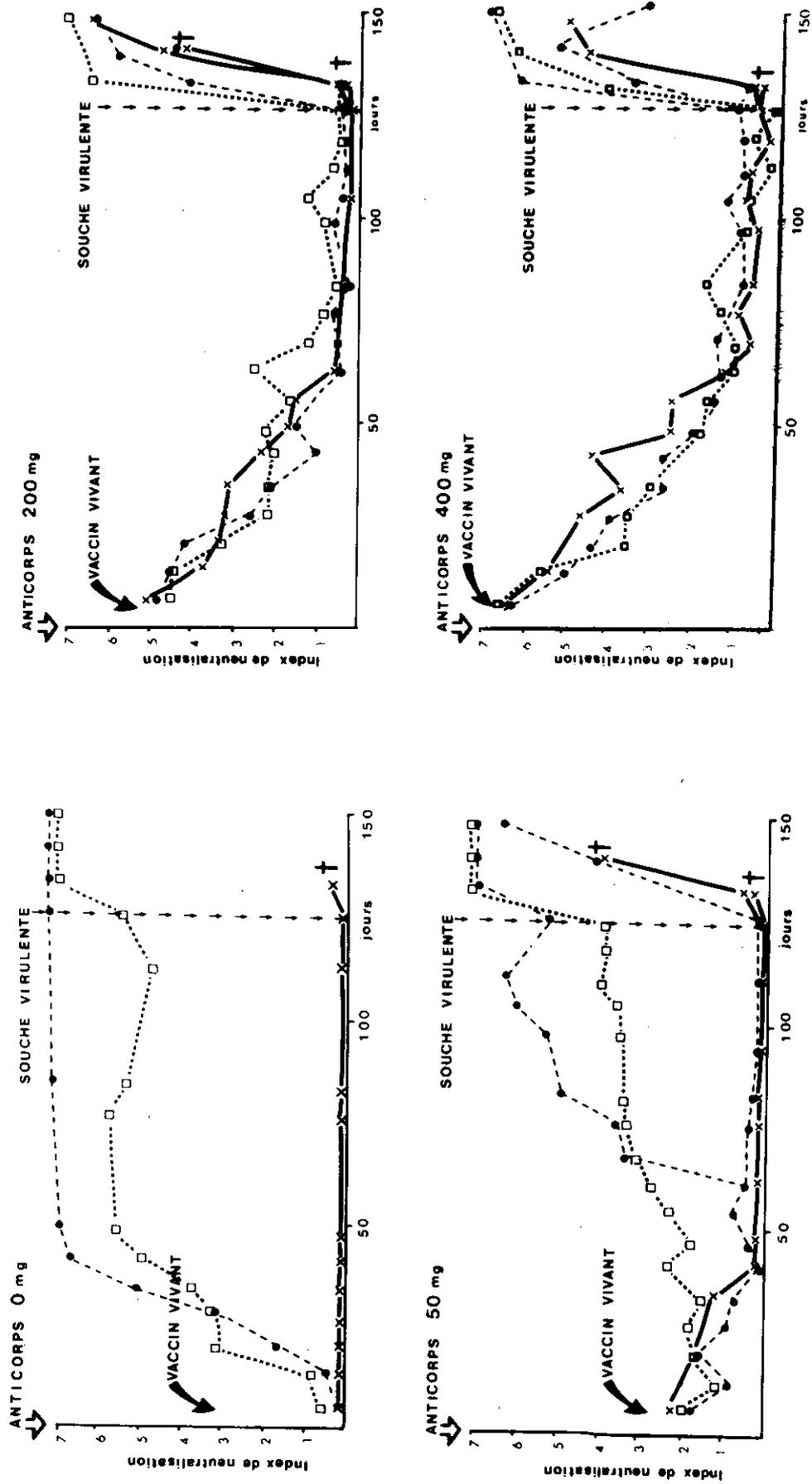
VACCINATION VOIE D'ADMINISTRATION	DOSE DE VACCIN					
	10 <sup>2</sup> UFP	10 <sup>3</sup> UFP	10 <sup>4</sup> UFP		10 <sup>5</sup> UFP	
	an <sup>x</sup> immunisés (1)	an <sup>x</sup> immunisés (1)	IDN moyen (5) des an <sup>x</sup> immunisés	Résistance à l'épreuve	IDN moyen (5) des an <sup>x</sup> immunisés	Résistance à l'épreuve
Intramusculaire	2/3	3/3	4,6	8/8	ND	ND
Intranasale	2/5	2/5	5,8 (2)	2/6	5,3 (4)	5/6
Intratrachéale	1/5	4/5	5 (3)	4/6	5 (4)	5/6

IDN = Index de neutralisation ; UFP = Unités Formant Plages ; ND = non déterminé.

- (1) Les porcelets dont l'IDN des sérums, prélevés 30 jours après la vaccination, est supérieur à un, sont considérés comme immunisés. Valeur moyenne des index observés : 4,9.
- (2) 4 sérums ont été exclus du calcul car l'IDN était inférieur à 0,1
- (3) 2 sérums ont été exclus du calcul car l'IDN était inférieur à 0,1
- (4) 1 sérum a été exclu du calcul car l'IDN était inférieur à 0,1.
- (5) Les prises de sang ont été effectuées avant l'épreuve pratiquée 40 jours après la vaccination.

FIGURE 1

CINETIQUE D'APPARITION DES ANTICORPS NEUTRALISANTS  
 APRES VACCINATION, EN PRESENCE D'UNE IMMUNITE PASSIVE D'INTENSITE VARIABLE



Chaque point représente la moyenne des index de neutralisation du lot.

L'étude détaillée (figure 1) de la cinétique d'apparition des anticorps neutralisants sériques confirme également que les porcelets ne possédant pas d'immunité passive s'immunisent quelle que soit la voie d'administration du vaccin. La production d'anticorps neutralisants sériques est précoce, intense et durable (index de neutralisation moyen supérieur à cinq, cinquante jours après la vaccination). Tous les animaux vaccinés résistent parfaitement à l'épreuve tandis que les témoins non vaccinés meurent dans les délais habituels après avoir présenté les signes cliniques caractéristiques (figure 1 et tableau 3).

## 2/ Influence de l'immunité passive sur la réponse immunitaire.

### ● Relation entre la dose d'immunoglobulines injectée et l'index de neutralisation :

L'intensité de l'immunité passive du porcelet après injection d'immunoglobuline anti-virus suipestique peut être estimée par l'index de neutralisation moyen des sérums de porcs six jours après l'injection (tableau 2).

Cet index permet de comparer les résultats obtenus à ceux observés dans les conditions de la pratique (18).

TABLEAU 2

RELATION ENTRE LA QUANTITE D'IMMUNOGLOBULINES ANTI-PESTE PORCINE ADMINISTREE PASSIVEMENT ET L'ACTIVITE NEUTRALISANTE DU SERUM 6 JOURS APRES L'INJECTION

QUANTITE D'IMMUNOGLOBULINES ANTI-PESTE PORCINE INJECTEE (en mg)	VALEUR MOYENNE DE L'ACTIVITE NEUTRALISANTE 6 JOURS APRES L'INJECTION (index de neutralisation)
0	< 0,1
50	2
200	4,8
400	6,7

### ● Influence d'une faible immunité passive :

L'influence d'une faible immunité passive (index de neutralisation moyen égal à 2) se traduit principalement, après vaccination, par une modification de la cinétique d'apparition de l'activité neutralisante (figure 1). La production des anticorps est retardée et de faible intensité (index de neutralisation égal à 4 cent jours après la vaccination) pour les animaux vaccinés ; elle est même inexistante chez l'un des deux porcs vaccinés par voie intranasale. Tous les animaux vaccinés résistent cependant à l'épreuve virulente (tableau 3 et figure 1).

## 3/ Influence d'une forte immunité passive :

Les décroissances, en fonction du temps, des activités neutralisantes des sérums des lots de porcs ayant une immunité passive intense (index de neutralisation moyen égal à 4,8 et 6,7) sont les mêmes que les animaux soient vaccinés ou non. Après la vaccination, la synthèse primaire d'anticorps semble donc inhibée par l'immunité passive.

On observe cependant, après l'épreuve virulente, une réponse immunitaire caractérisée dans la plupart des cas par une cinétique d'apparition des anticorps neutralisants plus précoce chez les animaux vaccinés que chez les témoins : l'index de neutralisation des porcs vaccinés et résistants est supérieur à 2,5 sept jours après l'épreuve, tandis qu'à cette date celui des animaux témoins reste inférieur à 0,5.

## DISCUSSION

Notre discussion portera sur les points suivants :

### 1/ Influence de l'immunité passive sur l'immunisation active ;

- 2/ Importance de la voie d'administration du vaccin ;  
 3/ Analogies entre immunité passive "artificielle" et immunité colostrale ;  
 4/ Analogies avec les expériences du terrain.

TABLEAU 3

## PROTOCOLE EXPERIMENTAL ET RESULTATS GLOBAUX

Jour : 0	Jour : 3	Jour : 125	RESULTATS
INJECTION d'Ig ANTI-PESTE PORCINE	VACCINATION (SOUCHE THIVERVAL)	EPREUVE VIRULENTE (souche Alfort)	$\frac{\text{NOMBRE DE PORCS IMMUNISES (1)}}{\text{NOMBRE TOTAL DE PORCS}}$
0 mg	I. Musculaire	●	5/5
	I. Nasale	●	3/3
	Témoin	●	0/4
50 mg	I. Musculaire	●	3/3
	I. Nasale	●	1/2
	Témoin	●	0/3
200 mg	I. Musculaire	●	3/4
	I. Nasale	●	3/4
	Témoin	●	0/4
400 mg	I. Musculaire	●	2/2
	I. Nasale	●	2/3
	Témoin	●	0/4

- (1) Sont considérés comme immunisés les porcs ayant résisté à l'épreuve virulente, sans virémie ou hyperthermie, et donc l'activité anticorps 7 jours après l'épreuve est plus élevée (index  $\geq 2,5$ ) que celle des témoins non vaccinés (index  $\leq 0,5$ ).

### 1/ Influence de l'immunité passive sur l'immunisation active.

● L'intensité de la réponse immunitaire du porcelet, après la première injection de l'antigène, dépend de la présence d'une activité neutralisante anti-Peste porcine, au moment de la vaccination :

- Pour un index de neutralisation faible (égal à 2) une réponse immunitaire est observée, bien que d'intensité peu élevée.

– Pour des index de neutralisation importants (égaux à 4,8 et 6,7) cette réponse n'est pas décelable par les méthodes que nous avons employées.

Nos résultats confirment ceux obtenus, dans des conditions analogues avec un antigène inerte le lysozyme (6,11).

● La caractérisation d'une stimulation efficace du système immunitaire en présence d'une immunité passive intense n'a pas été possible par la simple comparaison de la résistance à l'épreuve des porcs vaccinés ou non. En effet certains animaux, ayant reçu au jour zéro une forte quantité d'immunoglobulines, mais n'ayant pas été vaccinés, ont survécu à l'épreuve pratiquée au 125<sup>ème</sup> jour.

Un défaut de virulence de la souche Alfort ou une propagation d'un animal à l'autre de la souche utilisée comme vaccin, ne peuvent être invoqués pour justifier cette résistance. En effet, les porcs non vaccinés, n'ayant pas reçu d'immunoglobulines ou une faible quantité (50 mg), succombent tous les 15 à 20 jours après l'épreuve virulente. La résistance à la maladie chez les porcs non vaccinés est vraisemblablement due à un reliquat d'immunité passive assurant la protection. La cinétique d'apparition des anticorps anti virus pestique, après l'épreuve virulente permet de distinguer les animaux reconnaissant l'antigène pour la première fois de ceux ayant déjà enregistré la stimulation antigénique lors d'une précédente injection : dans le premier cas la cinétique sera plus lente (réponse primaire) que dans le second cas (réponse secondaire). C'est ce que nous observons : 7 jours après l'épreuve l'index de neutralisation est plus élevé (supérieur à 2,5) pour les animaux vaccinés, que pour les témoins (inférieur ou égal à 0,5) non vaccinés. Seuls les animaux développant une réponse immunitaire de type secondaire sont systématiquement protégés.

En conclusion : il a été possible dans nos conditions d'induire une immunité active (protection et réponse immunitaire de type secondaire après l'épreuve virulente) chez des porcelets ayant une immunité passive sérique intense ; bien qu'avant l'épreuve virulente aucune différence ne soit décelable entre les activités neutralisantes des sérums de porcs vaccinés et celles des animaux conservés comme témoins.

## **2/ Importance de la voie d'administration du vaccin.**

L'immunisation active consécutive à une vaccination par voie intranasale semble moins importante (augmentation plus lente de l'activité anticorps dans le sérum après l'épreuve) que par voie intramusculaire. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par PROVOST avec la Peste bovine : l'injection intranasale de virus atténué permet l'immunisation de veaux sous couvert d'une immunité colostrale maternelle. Dans l'espèce porcine, l'échec de la vaccination par voie intranasale en présence d'immunité passive (confirmé par les expériences (18) de LAUNAI sur le terrain) pourrait être dû :

- à une technique d'administration du vaccin insuffisamment adaptée au porc ;
- à des différences entre les systèmes immunitaires des espèces porcines et bovines ;
- à un faible tropisme du virus pestique pour les voies respiratoires.

## **3/ Analogies entre l'immunité passive "artificielle" et l'immunité colostrale.**

L'immunité passive sérique transmise aux porcelets au moyen d'une injection d'immunoglobulines purifiées est analogue à celle normalement conférée par la mère :

- les immunoglobulines d'origine colostrale sont identique à celles du sérum ;
- le catabolisme de ces immunoglobulines est le même dans les deux cas. La demi-vie, quel que soit le procédé d'immunisation passive, est d'environ quatorze jours (4, 6).

Par contre les anticorps que nous avons injectés n'assurent pas la protection locale du tube digestif comme le fait normalement le lait de la truie par les IgA qu'il contient (19, 20). Compte-tenu, cependant, du caractère septicémique de la multiplication du virus pestique dans l'organisme, il est vraisemblable que cette immunité locale n'a que peu d'influence sur la vaccination. L'immunité passive "artificielle" présente en outre l'avantage, sur l'immunité colostrale, d'une intensité plus aisément contrôlable.

#### 4/ Analogies avec les expériences du terrain (18).

Nous observons une concordance de nos résultats avec ceux d'une expérience sur le terrain utilisant des porcelets issus de mères vaccinées depuis un an :

- Une immunité passive caractérisée par un index de neutralisation égal à 2 (ce qui correspond environ aux porcelets âgés de 3 mois), n'inhibe pas, au Laboratoire comme dans les conditions de la pratique, le développement d'une immunité active, de faible intensité, capable cependant de protéger les porcelets de l'injection virulente d'épreuve.
- Les expériences de LAUNAI, présentées lors de ces journées, indiquent qu'on peut déterminer en présence d'une immunité colostrale intense un seuil de "sensibilité à la vaccination" à partir duquel elle devient possible. Ce seuil se situerait entre le 28ème et le 46ème jour après la naissance.

Ces résultats sont compatibles avec nos expériences : nous avons pu induire chez des porcelets une immunisation active au virus pestique en présence de fortes intensités d'immunité passive (index de neutralisation égal à 4,8 et 6,7) qui correspondrait, dans l'expérience faite sur le terrain, à celle des porcelets ayant moins de 2 mois d'âge.

#### CONCLUSION

La réponse primaire après vaccination de porcs ayant une immunité passive "artificielle" (injection par voie intrapéritonéale d'immunoglobulines anti-virus pestique) présente les caractères suivants :

- a) synthèse d'anticorps de faible intensité en présence d'une faible immunité passive (index de neutralisation égal à 2) ;
- b) réponse primaire inapparente en présence d'une immunité passive de forte intensité (index égal à 4,8 et égal à 6,7).

Mais ces animaux ont néanmoins enregistré, dans une large proportion, le stimulus antigénique ; ce qui se caractérise par :

- a) la résistance à l'épreuve virulente ;
- b) des différences importantes, après l'épreuve virulente, dans la cinétique d'apparition des anticorps neutralisants sériques chez les animaux vaccinés et chez les témoins.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 - SOLOMON J.B., - Elsevier New-York 1971.
- 2 - PORTER P. - Immunology 1969, **17**, 617.
- 3 - AYNAUD J.M., CORTIER G., LAUDE H., - Ann. Rech. Vét. 1973, **4**, 359.
- 4 - CURTIS J., BOURNE F. - Biochem. Biophys. Acta 1971, **236**, 319.
- 5 - PORTER P., HILL I. - Immunology 1970, **18**, 563.
- 6 - ROUZE P. - Journées Rech. Porcine en France 1974, **17**.
- 7 - COGGINS L. - Am. J. Vet. Res. 1964, **25**, 613.
- 8 - AIKEN J., BLORE I. - Am. J. Vet. Res. 1964, **25**, 1134.
- 9 - SASAHARA J., KUMAGAI I., SHIMIZU Y., FURUUCHI S. - Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. 1969, **9**, 83.

- 10 – LIN T.C., SHICH C.M., CHEN Y.C., CHEN C.C., LEE C.S., LAI S.S. - Taiwan. Prov. Res. Inst. Anim. Hlth. 1969, 6, 11.
- 11 – ROUZE P., HOUDAYER H. - Journées Rech. Porcine en France, 1975.
- 12 – PROVOST - Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop. 1972, 25, 141.
- 13 – LAUNAI S M., AYNAUD J.M., CORTHER G., - Revue Méd. Vétér. 1972, 123, 1537.
- 14 – AYNAUD J.M. - Rech. Vétér. 1968, 1, 25.
- 15 – FAHEY J.L., ROBINSON A.G. - J. Exptl. Med. 1963, 118, 845.
- 16 – HUMPHREY J.H., FAHEY J.L. - J. Clin. Invest. 1961, 40, 1696.
- 17 – OLHAGEN B., BOIKE G., PLANTIN L.O., AHLINDER S. - Protides Biol. Fluids Proc. Colloq. 1963, 11.
- 18 – LAUNAI S M. - Journées Rech. Porcine en France, 1975.
- 19 – PORTER P., NOAKES D.E., ALLEN W.D. - Immunology 1970, 18, 245.
- 20 – BOURNE F.J., CURTIS J. - 1973 Immunology 24, 157.