

p8407

## **GASTROENTÉRITE TRANSMISSIBLE :**

### **Essais de vaccination de la truie en milieu contaminé à l'aide du virus inactivé en émulsion huileuse**

J.M. AYNAUD (1), P. VANNIER (2), L. MARTAIN (3)(\*), R. CARIOLET (2)

(1) I.N.R.A. - Laboratoire de Pathologie Porcine - Nouzilly - 37380 MONNAIE

(2) Direction de la Qualité - Station de Pathologie Porcine - B.P. n° 9 - 22440 PLOUFRAGAN.

(3) Laboratoires COGLA - 23-25, avenue Morane-Saulnier - 92360 MEUDON-LA-FORÊT.

#### **INTRODUCTION**

L'administration parentérale du vibron du cholera inactivé chez les femmes ayant subi auparavant une infection naturelle, suscite chez ces dernières une réaction immunitaire de type secondaire entraînant, notamment au niveau du lait, une augmentation rapide des anticorps spécifiques appartenant aux immunoglobulines de la classe IgA (SVENNERHOLM *et al.*, 1977). Ce qui suggère qu'en milieu contaminé, la vaccination parentérale à l'aide d'un vaccin inactivé peut susciter une réaction immunitaire de type secondaire au niveau de la glande mammaire des mères séropositives.

Notre intention a donc été de vérifier sur le terrain s'il était possible de tirer profit de cette observation pour tenter de stimuler une « relance » de l'immunité lactogène chez la truie en milieu contaminé à l'aide d'un vaccin à virus inactivé administré par voie parentérale. A partir de 167 truies appartenant à deux troupeaux bretons ayant fait l'objet plus d'un an auparavant d'une infection par le virus G.E.T., nous avons donc étudié l'impact d'une telle vaccination, d'une part sur l'intensité de l'immunité lactogène, et d'autre part, sur le profil immunitaire du troupeau évalué par le niveau des anticorps neutralisants présents dans les sérums prélevés à différentes périodes.

#### **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

##### **1 - LE VACCIN A VIRUS INACTIVÉ EN ÉMULSION HUILEUSE**

Le stock de virus (Volume 2 100 ml) est produit à partir de la souche D-52 produite en culture de cellules de la lignée de rein de porc RP.TG. Le pouvoir infectieux du stock de virus est de  $1.10^6$  unités formant plages par ml.

(\*) Adresse actuelle : VEDA COGLA - 7, rue Émile Leconte - 45140 SAINT-JEAN-DE-LA-RUELLE.

**L'inactivation du pouvoir infectieux** du virus est réalisée par le formol à 1,5 p. 1 000 pendant 2 heures à 37 °C.

A partir de la suspension virale inactivée, une émulsion huileuse est préparée selon des conditions établies par les Laboratoires COGLA.

## 2 – LES ANIMAUX

### EXPÉRIMENTATIONS RÉALISÉES AU LABORATOIRE.

Les 53 porcelets de 20-25 kg proviennent d'un élevage qui n'a jamais été en contact avec le virus de la G.E.T. et, de ce fait, les animaux sont indemnes de réactions sérologiques spécifiques du virus de la G.E.T. Les 5 truies gestantes constituant les lots témoins proviennent de troupeaux séronégatifs du département des Côtes-du-Nord. Les trois truies gestantes séropositives qui ont servi à tester l'effet stimulant éventuel de la vaccination sur le niveau de l'immunité lactogène ont été choisies dans le troupeau de Monsieur L.P. (département des Côtes-du-Nord). Ce troupeau a été infecté par le virus de la G.E.T. depuis plus d'un an.

### EXPÉRIMENTATIONS RÉALISÉES SUR LE TERRAIN.

Les truies appartiennent à deux élevages (élevage D.L. : 84 truies, élevage L.P. : 83 truies), dont les animaux ont été infectés par le virus de la G.E.T. depuis plus d'un an. Le plan général des expérimentations est présenté dans la figure 2 et le tableau 2.

**TABLEAU 1**

**EXPÉRIENCE N° 1 : INFLUENCE DE LA VACCINATION DE LA TRUIE EN MILIEU CONTAMINÉ SUR LA PROTECTION PASSIVE CONFÉRÉE PAR L'IMMUNITÉ LACTOGÈNE AU PORCELET CONTRE L'INFECTION PAR LE VIRUS G.E.T.**

Vaccination (1) de la truie	Numéro de la truie	Nombre de procelets	Epreuve virulente (2) des porcelets			
			Morbidité malades/total, %		Mortalité morts/total, %	
+	356	12	12/12		4/12	
+	362	11	0/11	64 %	0/11	14 %
+	282	11	11/11		1/11	
-	231	8	8/8		0/8	
-	348	11	5/11	68 %	2/11	11 %
-	314 (3)	5	5/5	100 %	5/5	100 %

(1) vaccination et rappel respectivement 35 et 8 jours avant la mise-bas

(2) épreuve virulente 4 jours après la mise-bas

(3) témoin d'épreuve : truie choisie dans un élevage indemne de G.E.T.

## 3 – LES CONDITIONS DE LA VACCINATION

Réalisées dans les conditions du laboratoire, deux expériences préliminaires sur les porcelets de 20-25 kg ont eu pour objectif de tester l'innocuité de la préparation vaccinale et d'établir les conditions précises de son administration. Réalisée à partir de 20 porcelets, l'expérience présentée dans ce rapport a permis de préciser l'influence de la voie d'administration du vaccin et l'effet d'une injection de rappel sur le niveau de l'immunité. La voie sous-cutanée, la voie intramusculaire et la voie intra-péritonéale ont été comparées dans les mêmes conditions. Une autre expérience, que nous ne présentons pas dans ce rapport, a permis, à partir de 33 porcelets, de préciser l'influence de la concentration d'antigène et du volume de la dose vaccinale sur le niveau de l'immunité.

Au cours de l'expérimentation réalisée sur le terrain (troupeaux de truies) en milieu contaminé, le vaccin est administré par voie intramusculaire sous un volume de 2 ml et avec une dose d'antigène viral correspondant avant inactivation à  $10^6$  unités formant plages par ml. Une injection de rappel est réalisée dans les mêmes conditions un mois après la première injection.

#### **4 – LE CONTRÔLE DE L'IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE DE LA G.E.T.**

Le niveau de l'immunité anti-G.E.T. est évalué par deux méthodes différentes :

L'activité neutralisante des anticorps présents dans le sérum, le colostrum et le lait, recherchée à l'aide d'un test de microséroneutralisation (TOMA et BENET, 1976). Le titre de l'activité neutralisante est exprimé par l'inverse de la dilution de sérum capable de neutraliser 100 doses effet cytopathogène.

La protection passive vis-à-vis d'une infection virulente conférée au porcelet par le lait maternel (immunité lactogène) est évaluée dans les conditions suivantes : Le 4<sup>e</sup> jour après la naissance, les porcelets sont éprouvés par voie orale avec une souche virulente du virus G.E.T. (1,5 ml de la souche GEp II diluée au 1/3, soit 1 000 D.L. 50). Les porcelets éprouvés sous la mère restent en observation pendant 15 jours. Les taux de morbidité (diarrhée) et de mortalité sont évalués par comparaison avec des porcelets nés de truies non immunes et éprouvés dans les mêmes conditions. Toutes les infections virulentes sont réalisées dans les locaux prévus à cet effet à la Station de Pathologie Porcine de Ploufragan.

### **RÉSULTATS**

#### **1 – INNOCUITÉ ET EFFICACITÉ DE LA PRÉPARATION VACCINALE TESTÉE SUR DES PORCELETS DE 20-25 kg DANS LES CONDITIONS DU LABORATOIRE.**

##### **CONTRÔLE DE L'INNOCUITÉ**

Pendant les 8-22 semaines d'observation, les animaux n'ont pas présenté de réactions locales ou générales à la suite de chacune des quatre injections parentérales de vaccin huileux, quels que soient la dose, le volume ou la voie d'administration (voie IP, IM ou SC).

##### **CONTRÔLE DE L'EFFICACITÉ**

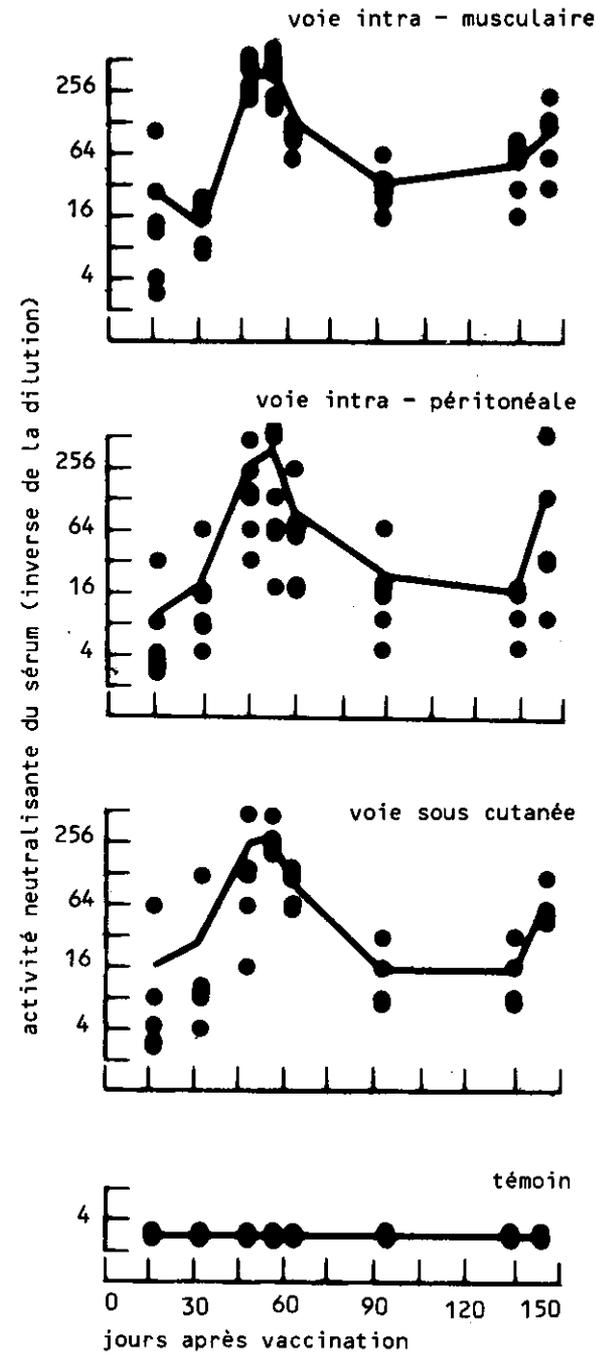
Présentés dans la figure n° 1, les résultats sont les suivants :

- quelle que soit la voie d'administration, tous les animaux ont produit des anticorps neutralisants à partir du 15<sup>e</sup> jour.
- le niveau maximum ( $\geq 1/512$ ) de l'activité neutralisante est observé 15 jours après la première injection de rappel. Ce niveau n'est pas stable et diminue rapidement, même après le second rappel. Une seule injection de rappel semble donc suffisante.
- enfin, la voie intramusculaire est la voie d'administration qui permet d'obtenir les réponses immunitaires les plus intenses et les plus homogènes

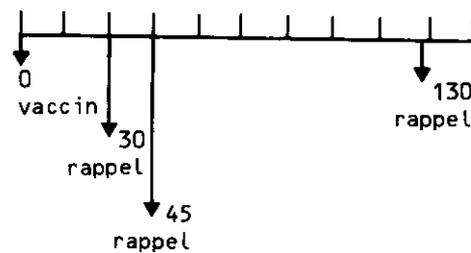
FIGURE 1

CINÉTIQUE D'APPARITION DES ANTICORPS NEUTRALISANT LE VIRUS G.E.T.

Dans le sérum de 17 porcelets immunisés à l'aide du vaccin à virus inactivé (voie intramusculaire : 6 porcelets, voie intrapéritonéale : 6 porcelets, voie sous-cutanée : 5 porcelets) et de 2 porcelets témoins.



protocole expérimental



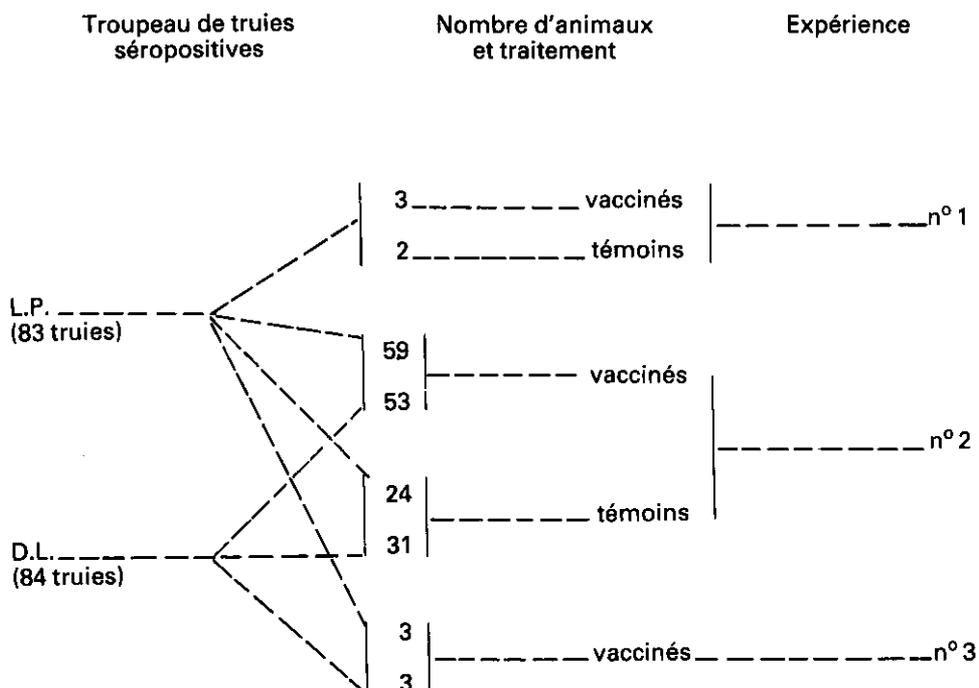
## 2 - ESSAIS DE VACCINATION RÉALISÉS SUR LE TERRAIN EN MILIEU CONTAMINÉ

Réalisé en 1979-1980, ce travail a comporté trois expériences portant sur plus de trois mois, gravitant autour de l'étude du profil sérologique de l'ensemble des truies.

FIGURE 2

### SCHÉMA GÉNÉRAL DES TROIS EXPÉRIENCES RÉALISÉES

A partir des truies appartenant à deux troupeaux, infectés depuis plus d'un an auparavant par le virus de la G.E.T.



#### ÉTUDE DU PROFIL SÉROLOGIQUE DES DEUX TROUPEAUX AVANT LES ESSAIS DE VACCINATION.

Pour faciliter la présentation des résultats, et compte tenu de leur similitude, les deux troupeaux étudiés ont été réunis en un seul. Les résultats des analyses sérologiques sont présentés dans les parties A de la figure 4 : 92 % des truies sont séropositives. La distribution des sérums du premier prélèvement en fonction de leur titre en anticorps révèle que, sur les 167 truies, 129 ont des titres supérieurs ou égaux à 1/8, 88 ont des titres supérieurs ou égaux à 1/32, et seulement 13 sont séronégatives.

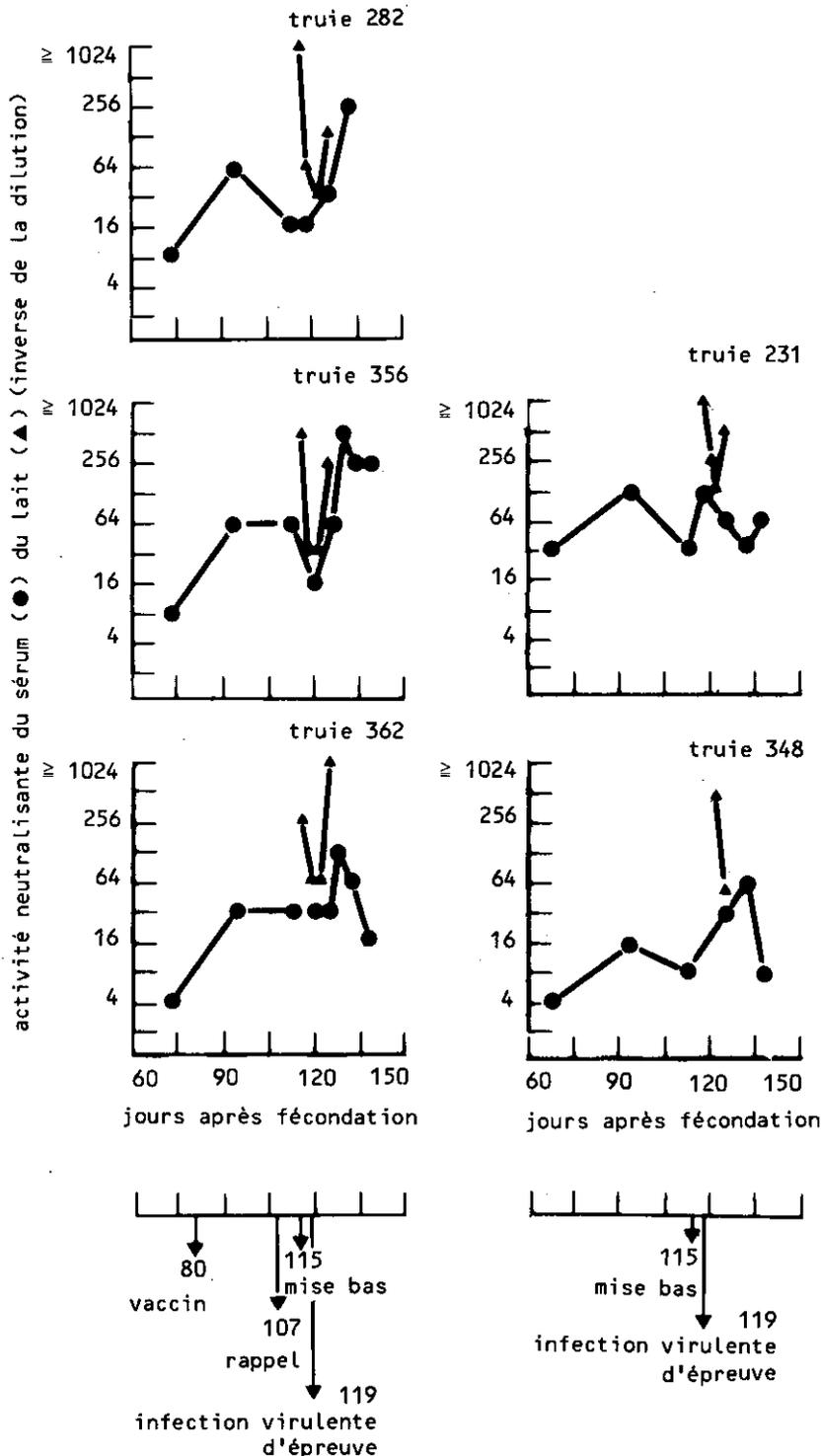
#### EXPÉRIENCE N° 1

L'objectif était de tester l'efficacité du vaccin dans les conditions rigoureuses d'épreuve virulente et de vérifier, avant la vaccination de l'ensemble d'un troupeau, l'innocuité du vaccin pour la truie gestante. Dans ce but, deux lots de truies gestantes sont constitués à partir de cinq truies choisies dans le troupeau L.P. en fonction du niveau des anticorps anti G.E.T. présents dans leur sérum. Amenées dans les locaux de la Station de Pathologie Porcine de Ploufragan, trois truies (n° 282, 356 et 362) font l'objet d'une vaccination et d'un rappel, respectivement 35 et 8 jours avant la mise-bas.

FIGURE 3

EXPÉRIENCE N° 1 :

Cinétique d'apparition des anticorps neutralisant le virus G.E.T. dans le sérum et dans les sécrétions mammaires de 3 truies (n° 282, 356 et 362) immunisées à l'aide du vaccin à virus inactivé en émulsion huileuse et de 2 truies (n° 231 et 348) témoins. Ces 5 truies séropositives sont issues d'un troupeau infecté par le virus G.E.T. depuis plus d'un an auparavant.



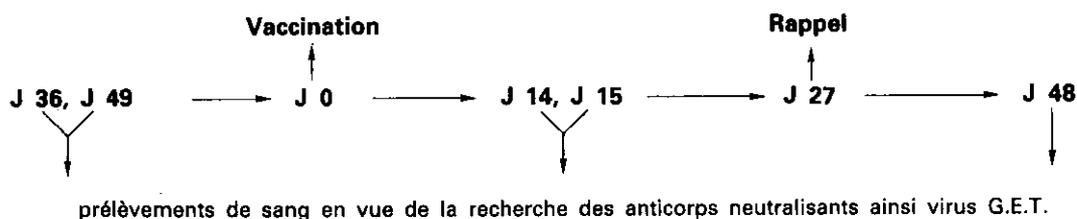
Aucune réaction locale ou générale n'a été observée. Deux truies (n° 231 et 348) non vaccinées constituent le lot témoin. Choisie dans un élevage indemne de G.E.T, une sixième truie est utilisée comme témoin d'épreuve.

Présentés dans le tableau 1, les résultats de l'épreuve virulente ne révèlent pas de différences significatives entre les porcelets du lot vacciné et ceux du lot non vacciné. Le taux moyen de mortalité est faible : 14 % (lot vacciné) et 11 % (lot non vacciné), ce qui indique que l'immunité lactogène consécutive à une infection naturelle est capable de protéger le porcelet contre l'infection mortelle pendant plus d'un an. Le taux moyen de morbidité est cependant important : 64 % (lot vacciné) et 68 % (lot non vacciné). Il faut remarquer l'absence totale de morbidité et de mortalité dans la portée de la truie vaccinée n° 362.

Présentés dans la figure 3, à nouveau les résultats ne montrent pas de différences dans les titres en anticorps sériques entre le lot vacciné et le lot non vacciné avant l'épreuve virulente. Sept à dix jours après cette dernière, on note chez les trois truies vaccinées une augmentation rapide et importante du titre d'anticorps, à la fois dans le sérum et dans le lait, suggérant une réponse de type secondaire consécutive à la multiplication du virus sauvage.

**TABLEAU 2**

**EXPÉRIENCE N° 2 : PROTOCOLE DES INTERVENTIONS RÉALISÉES SUR LE TERRAIN DANS LES DEUX TROUPEAUX DE TRUIES SÉROPOSITIVES**



**EXPÉRIENCE N° 2**

Entièrement réalisée sur le terrain, cette étude avait pour objectif de tester la réponse sérologique des truies vaccinées ou non dans des conditions proches de la pratique dans deux élevages séropositifs.

Les résultats de l'analyse de la première série de prélèvements de sérum ont permis de constituer des lots vaccinés et des lots témoins homogènes du point de vue de la répartition des titres en anticorps sériques. Ces résultats sont présentés dans les figures 4 et 5.

Si, l'on considère la distribution des sérums en fonction de leur niveau d'anticorps (figure 4), on constate des différences significatives entre les truies vaccinées et les truies non vaccinées au niveau des prélèvements successifs de sérum. Entre le premier et le troisième prélèvement, le nombre de sérums négatifs dans le lot vacciné et dans le lot non vacciné passe respectivement de 10 à 0 et de 3 à 4. Inversement, le nombre de sérums dont le titre est supérieur ou égal à 1/32 passe respectivement de 51 à 70 et de 26 à 22. La vaccination a donc eu une influence évidente sur le profil immunitaire anti G.E.T., caractérisée par un déplacement de l'histogramme vers les titres anticorps élevés.

**FIGURE N° 4**  
**EXPÉRIENCE N° 2 :**

Influence de la vaccination à l'aide du vaccin à virus inactivé en émulsion huileuse sur le profil immunitaire anti G.E.T. d'un troupeau de 167 truies infectées par le virus G.E.T. depuis plus d'un an auparavant :

Distribution des sérums prélevés avant et après chacune des deux vaccinations en fonction du niveau de leur activité neutralisante

A = sérums prélevés 36-49 jours avant la première vaccination

B = sérums prélevés 14-15 jours après la première vaccination

C = sérums prélevés 21 jours après la deuxième vaccination.

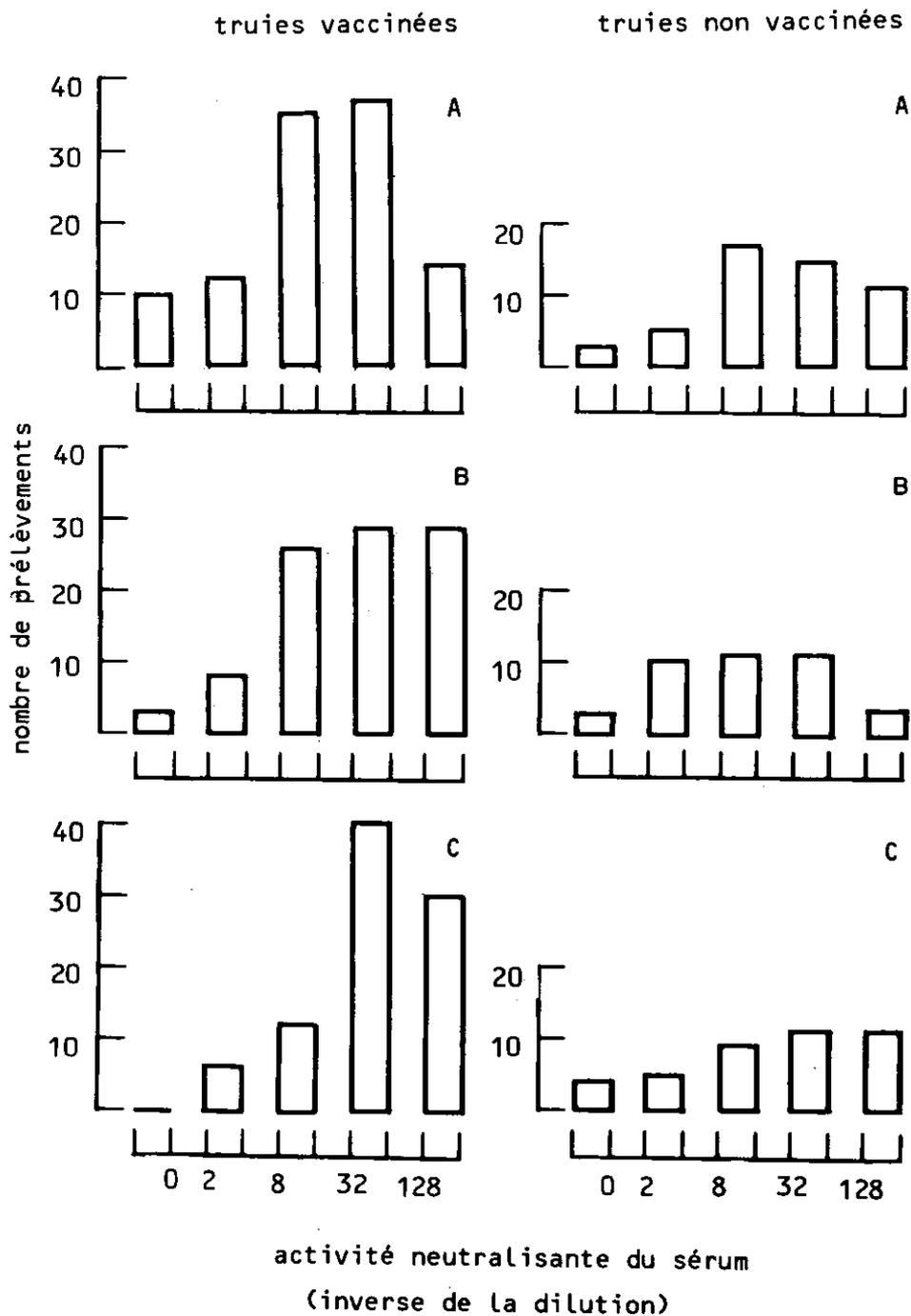
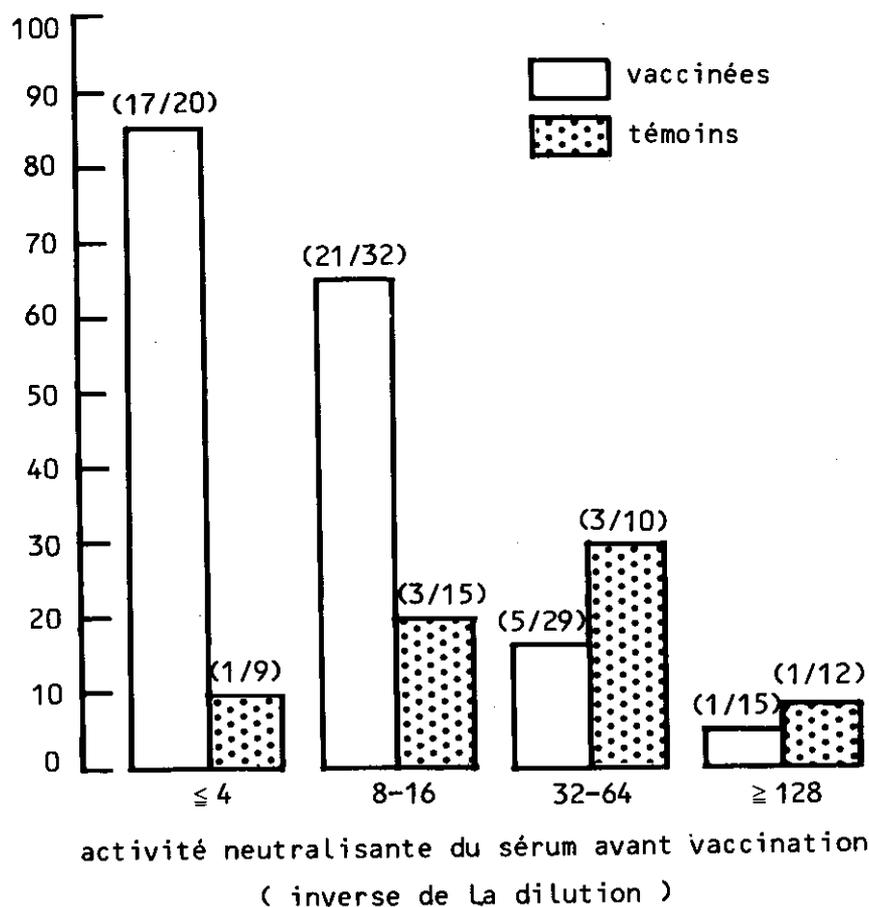


FIGURE N° 5

## EXPÉRIENCE N° 2 :

Mise en évidence de l'effet stimulant de la vaccination sur le titre des anticorps neutralisants dans le sérum de 96 truies issues d'un troupeau infecté depuis plus d'un an auparavant : Influence du niveau de l'activité neutralisante des sérums prélevés avant la première vaccination sur la réponse immunitaire post-vaccinale évaluée par le pourcentage de truies dont le sérum fait l'objet d'une augmentation significative (de deux dilutions au moins) de l'activité neutralisante entre le premier et le troisième prélèvement de sang.

pourcentage de truies faisant l'objet d'une augmentation ( $\geq 2$  dilutions) de l'activité neutralisante du sérum entre le 1<sup>o</sup> et le 3<sup>o</sup> prélèvement de sang



Par ailleurs, l'évaluation du pourcentage de truies vaccinées faisant l'objet d'une augmentation marquée (deux dilutions au moins) du titre anticorps entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>e</sup> prélèvement, révèle l'influence défavorable des anticorps sériques sur l'activité du vaccin (figure 3). En d'autres termes, l'effet stimulant de la vaccination sur le titre des anticorps sériques (3<sup>e</sup> prélèvement) est d'autant plus marqué que le niveau de ces derniers (1<sup>er</sup> prélèvement) est bas au moment de l'administration du vaccin.



Cette expérience a été également réalisée entièrement sur le terrain à partir de 6 truies de réforme choisies dans le lot des animaux non vaccinés. Son objectif était de tester le pouvoir immunogène d'un vaccin préparé dans les mêmes conditions mais contenant 10 fois plus de matériel viral antigénique. Deux truies séronégatives, choisies dans un élevage indemne, sont vaccinées dans les mêmes conditions. Présentées dans la figure 6, les résultats sont les suivants :

- la concentration d'antigène viral dans le vaccin ne semble pas avoir une influence significative dans les conditions où nous avons travaillé.

- le vaccin a entraîné une augmentation du titre des anticorps chez deux seulement des six truies séropositives. Les deux truies indemnes de G.E.T. ont présenté toutes les deux une réponse sérologique positive.

- enfin, chez les truies de réforme infectées naturellement, il est intéressant de noter que le titre des anticorps sériques se maintient à un niveau élevé tout au long de la période des 24 mois d'observation.

## DISCUSSION

- Les différentes expériences réalisées au cours de ce travail n'ont pas permis de répondre positivement à la question posée concernant les possibilités de relance de l'immunité lactogène en milieu contaminé. Il n'a pas été possible, à l'aide des tests de protection, de mettre en évidence une différence significative entre les portées des trois truies vaccinées et celles des deux truies témoins. De plus, les résultats obtenus montrent clairement que l'immunité anti G.E.T. se maintient à un niveau élevé beaucoup plus longtemps qu'on ne le pensait auparavant. Des travaux poursuivis parallèlement confirment cette observation (VANNIER *et al.*, 1982 ; VALENCÁK *et al.*, 1982). Dans ces conditions, la protection passive conférée aux porcelets d'une portée par l'immunité lactogène consécutive à l'infection naturelle, pourrait durer pendant toute la vie économique de la truie et donc protéger chacune des portées successives. Par voie de conséquence, on peut postuler que la disparition de l'immunité anti G.E.T. après 2-3 ans dans un troupeau infecté naturellement serait essentiellement liée au taux élevé de renouvellement (40-50 %) des truies chaque année (VANNIER *et al.*, 1982). Vouloir tenter une relance de l'immunité lactogène en milieu contaminé à l'aide du vaccin à virus inactivé s'avère donc inutile. Dans une perspective de réduction des pertes en porcelets, il faudrait plutôt porter les efforts sur l'immunisation des truies séronégatives à l'aide d'un vaccin efficace avec les deux objectifs suivants :

- développer l'immunité lactogène chez les troupeaux indemnes menacés,
- empêcher l'immunité lactogène de disparaître dans les troupeaux « à risque » infectés depuis plus d'un an, en s'attachant essentiellement à vacciner régulièrement avant la première mise-bas, d'une part toutes les truies appartenant aux nouvelles générations, et d'autre part, les jeunes truies achetées à l'extérieur dans des troupeaux indemnes.

Ce travail a montré néanmoins que la vaccination avait eu un impact sur le profil sérologique du troupeau. La vaccination a en effet entraîné :

- l'élimination des réactions sérologiques négatives,
- l'enrichissement en réactions sérologiques hautement positives,
- une meilleure homogénéité dans la distribution des réactions sérologiques.

Les différences observées entre les résultats des tests de protection et ceux des analyses sérologiques confirment à nouveau l'absence de corrélation entre l'activité anticorps du sérum et la protection passive conférée par le lait, fait déjà établi par d'autres (BOHL, 1972) à la suite d'essais de vaccination de truies séronégatives indemnes de G.E.T..

**BIBLIOGRAPHIE**

- BOHL E.H., GUPTA R.K.P., McCLOSKEY L.W., SAIF L.J., 1972. Immunology of transmissible gastroenteritis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **160**, 543-549.
- SVENNERHOLM A.M., HOLMGREN J., HANSON L.A., LINDBLAD B.S., QUERESHI F., RAHIMTOOLA R.J., 1977. *Scand. J. Immunol.*, **6**, 1345-1349.
- TOMA B., BENET J.J., 1976. *Rec. Méd. Vét.*, **152**, 565-568.
- VALENCAK Z., GROM J., ZELEZNIK Z., 1982. Persistence of antibodies against transmissible gastroenteritis (T.G.E.) after an outbreak on a large pig farm. *Proc. 7th Int. Symp. World Assoc. Vet. Microbiol. Immunol. and specialists of Inf. dis., Barcelone, 21-22 octobre.*
- VANNIER Ph., TOMA B., MADEC F., AYNAUD J.M., 1982. Variation of duration of T.G.E. virus spread among sows of two infected herds by means of a serological survey of antibody persistence. *Int. Pig Vet. Soc. Congres, Mexico, 26-31 juillet 1982.*