

P8504

IMMUNISATION ORALE DE LA TRUIE CONTRE LA GASTROENTÉRITE TRANSMISSIBLE A L'AIDE DE LA SOUCHE 188-SG DU CORONAVIRUS G.E.T.

J.M. AYNAUD (1), E. BOTTREAU (1), A. BRUN (2), T.D. NGUYEN (3), S. BERNARD (1), P. BERNARDET (1), P. VANNIER (4), H. SALMON (1)

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

(2) Rhône Mérieux - Laboratoire IFFA, 254, rue Marcel Mérieux - 69342 LYON Cedex 07

(3) Institut National de Recherches Vétérinaires, Bach Mai, HANOÏ (Vietnam)

(4) Ministère de l'Agriculture - Station de Pathologie Porcine - 22440 PLOUFRAGAN

INTRODUCTION

La vaccination de la truie contre la gastroentérite transmissible (G.E.T.) ne bénéficie pas encore de solution satisfaisante, en dépit des efforts déployés par diverses équipes depuis de nombreuses années. Possédant des propriétés particulières lui assurant une meilleure stabilité dans l'environnement physicochimique du tractus digestif de l'animal adulte, la souche 188-SG du virus G.E.T. isolée récemment au Laboratoire (AYNAUD, 1984) s'est révélée être dépourvue de pouvoir pathogène pour le porcelet nouveau-né même à des doses élevées. Considérée dès lors comme un candidat possible pour un vaccin vivant oral, nous avons évalué dans les conditions expérimentales la capacité de cette souche à induire l'immunité lactogène chez la truie en vue de la protection passive du porcelet à la mamelle. Notre objectif est de mettre au point les paramètres de la vaccination de la truie (dose, rappel, calendrier...) et de l'épreuve virulente des porcelets (âge, dose...) de façon à connaître les conditions optimales de l'induction et de l'expression de l'immunité lactogène contre la G.E.T.

Dans ce rapport, nous présentons les résultats des premiers essais d'immunisation à partir d'un nombre limité de truies dans les conditions du laboratoire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les animaux

L'expérimentation a porté sur 17 truies gestantes puis allaitantes provenant d'élevages conventionnels indemnes de G.E.T. A titre de comparaison nous avons aussi rapporté les résultats

obtenus antérieurement à Ploufragan à partir de 6 truies séropositives issues d'élevages ayant fait l'objet d'une infection G.E.T. dans les conditions naturelles. Les animaux sont placés dans des cages individuelles disposées 2 par 2 dans des loges au sein de la porcherie expérimentale « étanche » de l'INRA dont l'ambiance climatique est contrôlée et dont les effluents sont stérilisés.

Le vaccin anti G.E.T.

A partir de la souche 188-SG dont les propriétés ont été présentées en 1984 aux Journées de la Recherche Porcine, nous avons préparé un stock de virus sur les cellules RP.D. Conservé à -70°C, ce stock, dont le titre était de $2 \times 10^6/0,3$ ml, a été utilisé pour l'immunisation (vaccination orale et rappel) des truies.

Immunsation des truies gestantes

L'abreuvement et l'alimentation sont supprimées 24 heures avant et 4 heures après la vaccination. Chaque truie reçoit par voie orale, à l'aide d'un pistolet doseur, 15 ml de suspension virale dilués dans 300 ml de Tampon Mac Ilvaine (0,1 M, pH = 4,0) additionné de NaCl (0,15 M). Pour le rappel, 15 ml de la même suspension virale sont injectés par voie intramusculaire. La vaccination et le rappel sont réalisés respectivement 6-7 semaines et 7-15 jours avant la mise-bas. Sauf pour 3 truies qui ont été vaccinées 15-25 jours avant la mise-bas et qui n'ont pas eu de rappel.

Évaluation de l'immunité post-vaccinale anti G.E.T.

- La **protection passive des porcelets** à la mamelle contre une infection virulente d'épreuve est évaluée de la façon suivante : 4 à 10 jours en moyenne après la mise-bas selon les truies (mais avec des écarts plus importants pour quelques truies compte-tenu des difficultés pour synchroniser les mises-bas) chaque porcelet reçoit par voie orale 1 ml d'une suspension de coronavirus G.E.T. sauvage pleinement virulent (souche GEP-II) contenant 1 000 doses mortelles. La morbidité et la mortalité sont enregistrées.
- L'**immunité humorale**. Des prélèvements de sang et de lait sont réalisés périodiquement et analysés en vue du titrage de l'activité neutralisante anti G.E.T. évaluée à l'aide d'une technique de microséroneutralisation en culture cellulaire (cellules S.T.) (TOMA, 1976).

RÉSULTATS

Protection passive contre l'infection virulente

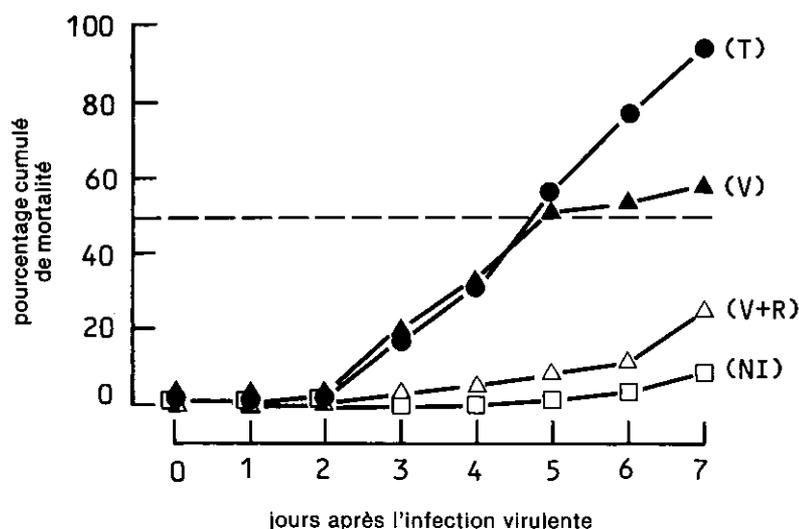
7 jours après l'épreuve virulente (figure 1), en pourcentage cumulé la mortalité est respectivement 58% et 25% chez les porcelets nés des truies vaccinées (V) et chez ceux nés des truies vaccinées et rappelées (VR). En revanche, chez les porcelets nés des truies témoins (T) et chez ceux nés des truies naturellement infectées (NI), la mortalité est respectivement 96% et 8%.

Difficile à quantifier, la morbidité est précoce et intense (diarrhée et vomissement) chez tous les porcelets des lots V et T. En revanche, elle est faible chez les porcelets des lots VR et NI.

FIGURE 1

VACCINATION DE LA TRUIE CONTRE LA G.E.T. :
Protection passive contre une infection virulente conférée à des porcelets par l'immunité lactogène :

Pourcentage cumulé de la mortalité en fonction du temps
(sur une période de 7 jours après l'infection virulente) et selon le lot d'animaux



- ● — 40 porcelets nés de 5 truies témoins non vaccinées
- ▲ — 45 porcelets nés de 6 truies vaccinées
- △ — 52 porcelets nés de 6 truies vaccinées + rappel
- □ — 64 porcelets nés de 6 truies naturellement infectées

Ces résultats sont encourageants car ils démontrent le bon niveau de protection passive conférée par le lait des truies vaccinées oralement et rappelées par voie intramusculaire. Néanmoins, ils devraient faire l'objet d'une amélioration dans nos prochaines expérimentations à la faveur de la maîtrise plus rigoureuse de certains paramètres tels que la date de la vaccination orale et le contrôle plus sévère des facteurs de stress après la mise-bas susceptibles d'induire une diminution de la sécrétion lactée. En effet, concernant ce dernier point, le pourcentage total de mortalité sur une période de 15 jours (tableau 1) est de 100% chez les porcelets T (soit une augmentation de 4% par rapport au 7^e jour). Il est respectivement de 78% (augmentation de 20%) et de 58% (augmentation de 33%) chez les porcelets V et les porcelets VR. En revanche, il n'est que de 17% (augmentation de 9%) chez les porcelets NI. Il est intéressant de noter que la mortalité continue à augmenter chez les porcelets VR qui devraient au contraire être les mieux protégés, ce qui suggère un défaut dans la protection passive conférée par le lait à partir du 7^e jour après l'épreuve.

TABLEAU 1

VACCINATION DE LA TRUIE CONTRE LA G.E.T. :
Influence du rappel par voie
intramusculaire sur le niveau de protection passive contre une infection
virulente conférée à des porcelets par l'immunité lactogène
sur une période moyenne d'observation de 15 jours

Truies		Traitements		Résultats de l'infection virulente des porcelets	
lot	nombre	vaccin oral	rappel intra-musculaire	morts/total	pourcentage
T	5	-	-	40/40 ⁽²⁾	100 %
V	6	+ (66-101) ¹	-	35/45	78 %
V.R.	6	+ (63-78)	+ (94-108)	30/52	58 %
I.N.	6	Infection naturelle 5-17 mois avant la mise-bas		11/64	17 %

(1) : Période (jours après la fécondation) à laquelle est réalisée l'immunisation

(2) : Nombre de porcelets morts/nombre total de porcelets inoculés

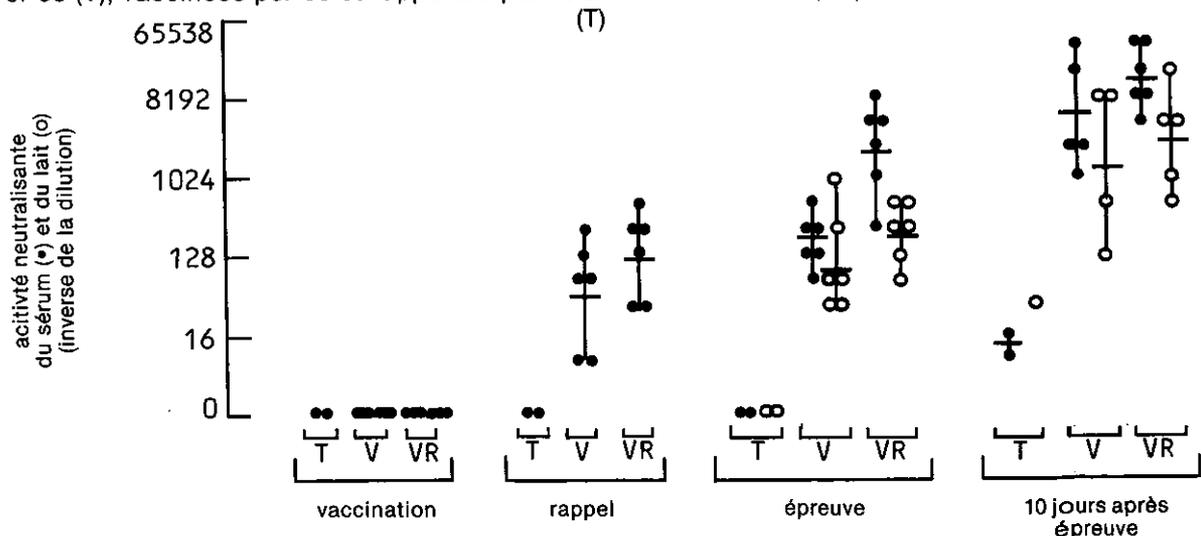
En effet, les deux observations suivantes sont à souligner :

a) chez les truies VR, déjà élevé ($m = 1/228$) au moment de l'épreuve, le niveau des anticorps du lait augmente en moyenne d'un facteur 11 ($m = 1/2580$) 10 jours plus tard (tableau 2). Ce qui devrait entraîner une meilleure protection clinique. Or c'est malheureusement l'inverse qui est observé.

b) enfin nous avons observé à partir du 5^e jour après l'épreuve chez des truies primipares et quelques truies multipares, une diminution du volume des glandes mammaires accompagnée d'une baisse de la sécrétion lactée (peu de lait à la traite manuelle et absence de lait dans l'estomac des porcelets à l'autopsie). Ce phénomène peut être lié aux perturbations causées par le stress répété à la faveur des fréquentes interventions après l'épreuve (contention, prélèvement de sang et de lait, injections parentérales d'ocytocine).

FIGURE 2

VACCINATION DE LA TRUIE CONTRE LA G.E.T. :
Influence du rappel par voie intramusculaire
sur la réponse immunitaire humorale. Évolution du niveau
des anticorps neutralisants dans le sérum (S) et dans le lait (L) à différents
moments après la vaccination chez les truies vaccinées
Per os (V), vaccinées per os et rappelées par voie intra-musculaire (VR) et chez les truies témoins



Réponse immunitaire humorale

La vaccination a induit la production d'anticorps neutralisants dans le sérum et le lait de toutes les truies immunisées. Les résultats globaux sont présentés dans la figure 2.

Dans la figure 3 nous avons présenté pour quelques truies jugées représentatives, la cinétique d'apparition des anticorps neutralisants dans le sérum et dans le lait. Une intense réponse de type secondaire est clairement observée après l'épreuve virulente chez les truies V pour lesquelles l'activité anticorps du sérum augmente d'un facteur 30 (tableau 2). De même, chez les truies VR, l'injection de rappel provoque une réponse de type secondaire au niveau du sérum dont l'activité anticorps s'accroît d'un facteur 16 (tableau 2).

TABLEAU 2

VACCINATION DE LA TRUIE CONTRE LA G.E.T. :
Influence du rappel par voie intramusculaire sur le rapport des moyennes géométriques des titres en anticorps neutralisants du sérum et du lait des truies entre 2 périodes déterminées

Lots de Truies	Rapport des moyennes des titres en anticorps G.E.T. entre deux périodes déterminées		
	Sérum		Lait
	Rap./Epr.	Epr./Epr. + 10 j.	Epr./Epr. + 10 j.
— témoins	1	3	8
— vaccinées per os	4	30	11
— vaccinées per os et rappelées I.M.	16	6	11

Au niveau du lait, une réponse de type secondaire est également clairement observée après l'épreuve (figures 2 et 3). Mais quel que soit le lot de truies (V ou VR), l'activité anticorps du lait augmente d'un facteur 11 (tableau 2). Cette absence de différence pour le niveau anticorps du lait entre les truies V et VR suggère 2 choses :

a) la réponse immunitaire de la mamelle est indépendante de celle du sérum

b) compte-tenu de la meilleure protection passive conférée par le lait des truies VR pendant les 7 premiers jours après l'épreuve et de la faible différence entre le lait des truies V et celui des truies VR pour le niveau moyen des anticorps, il est probable qu'une autre composante immunitaire doit intervenir, en particulier la classe d'immunoglobuline (IgA) qui supporte l'activité anticorps.

DISCUSSION

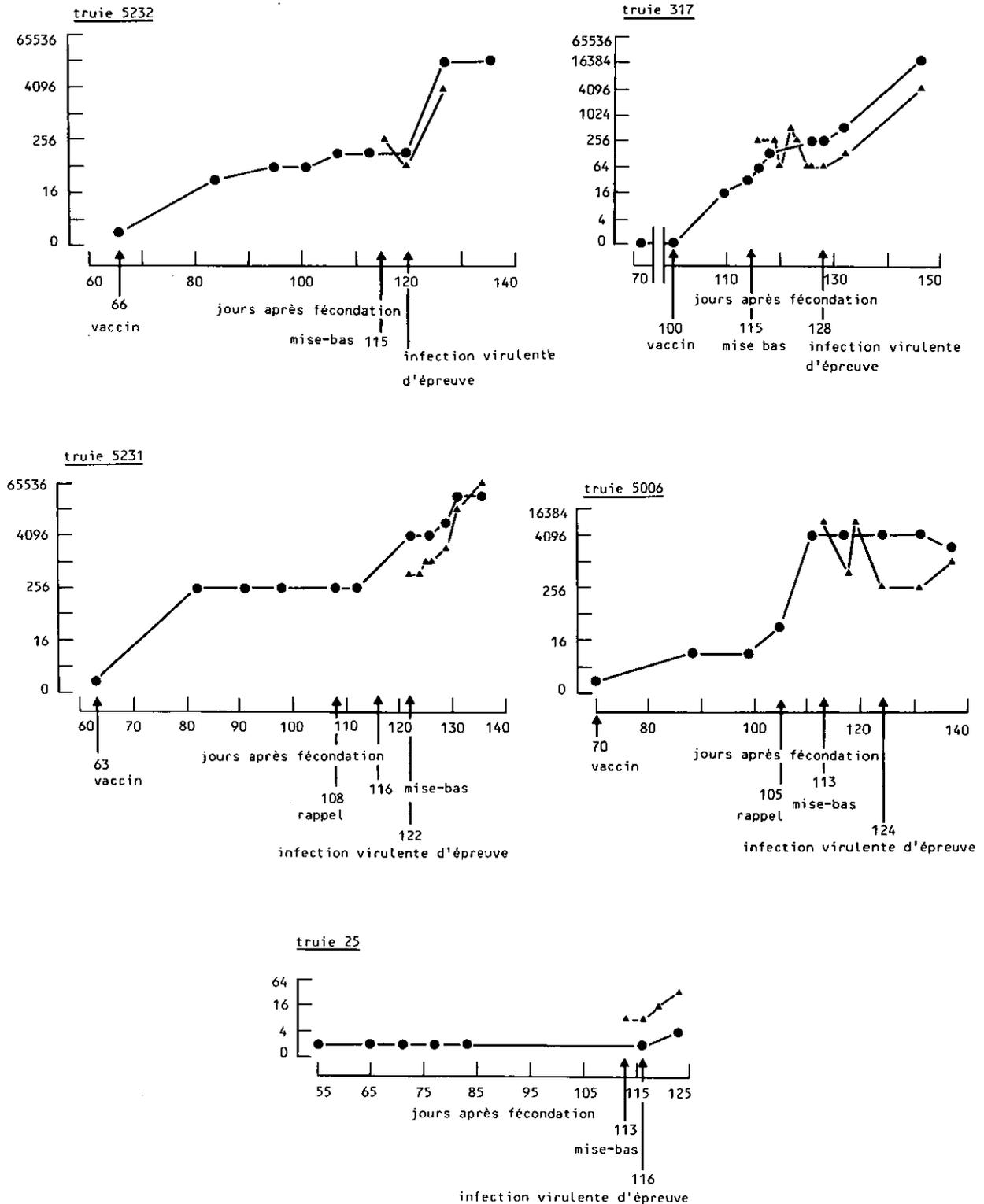
Portant sur un nombre limité de truies, cette première expérimentation est l'aboutissement d'un ensemble de travaux poursuivis depuis 5 ans en collaboration. Nous avons porté les efforts de recherches sur les 4 points suivants :

- une meilleure connaissance des propriétés du coronavirus G.E.T. (LAUDE *et al.*, 1981; AYNAUD *et al.*, 1984) nous a permis de sélectionner une souche vaccinale appropriée présentant une moins grande fragilité dans l'environnement physicochimique du tractus digestif du porc adulte tout en étant atténuée pour le nouveau-né.

FIGURE 3

VACCINATION DE LA TRUIE CONTRE LA G.E.T.

Cinétique d'apparition des anticorps neutralisants anti G.E.T. dans le sérum et dans le lait de deux truies vaccinées par voie orale (n° 5232, n° 317), de deux truies vaccinées par voie orale et rappelées par voie intramusculaire (n° 5231, n° 5006) et d'une truie témoin (n° 25)



activité neutralisante du sérum (•) du lait (▲) (inverse de la dilution)

- la mise au point d'une méthode plus efficace d'administration de la dose vaccinale par voie orale permettant au coronavirus d'atteindre rapidement, et dans les meilleures conditions, les sites sensibles de l'intestin grêle de la truie où s'opère la stimulation antigénique (AYNAUD *et al.*, résultats non publiés).
- la mise au point d'un protocole standardisé d'infection virulente d'épreuve des porcelets à la mamelle permettant d'évaluer avec rigueur la protection passive conférée par le lait des truies vaccinées par rapport à des truies non vaccinées dont tous les porcelets meurent dans les délais habituels (AYNAUD *et al.*, résultats non publiés).
- enfin, le progrès de nos connaissances dans la physiologie immunitaire de l'intestin et de la mamelle (SALMON *et al.*, 1982; BERNARD *et al.*, 1983) et en particulier le rôle des différentes sous populations de lymphocytes (SALMON, 1979, 1982, 1984) a permis une meilleure compréhension des mécanismes de l'induction de l'immunité lactogène. Ce qui a favorisé la mise au point d'un calendrier de vaccination approprié.

Les résultats obtenus sont encourageants et démontrent l'efficacité de notre protocole d'immunisation et en particulier le rôle bénéfique du rappel par voie intramusculaire en fin de gestation.

Les expérimentations programmées pour 1985 permettront :

- de déterminer qu'elle est la classe d'immunoglobulines au niveau du lait qui supporte l'activité anticorps
- d'améliorer le niveau de protection passive conférée par le lait des truies VR d'une part en réduisant les facteurs de stress pour la mère après l'épreuve virulente et d'autre part en vaccinant oralement plus précocement au cours de la gestation
- d'adapter notre protocole d'immunisation aux conditions de la pratique.

BIBLIOGRAPHIE

- Aynaud J.M., *et al.*, 1984. Journées Rech. Porcine en France, **16**, 241-246
- Bernard S., *et al.*, 1983. Journées Rech. Porcine en France, **15**, 401-412
- Laude H., *et al.*, 1981. Am. J. Vet. Res., **42**, 447-449
- Salmon H., 1979. Int. Archs. Allergy appl. Immun., **60**, 262-274
- Salmon H., *al.*, 1982. Ann. Rech. Vét., **13**, 41-49
- Salmon H., 1984. Reprod. Nutr. Develop., **24**, 197-206
- Toma B., *et al.*, 1976. Rec. Med. Vet., **152**, 565-568