

## **Etude cinétique de la présence d'anticorps anti-virus influenza porcine dans le sérum de porcs en élevages naisseurs-engraisseurs**

Gaëlle KUNTZ-SIMON (1), Christelle FABLET (2), Stéphane QUEGUINER (1), Stéphane GORIN (1), Jean-Pierre JOLLY (2), Virginie DORENLOR (2), Florent EONO (2), Eric EVENO (2), Marie-Frédérique LE POTIER (1), François MADEC (2)

(1) Unité Virologie Immunologie Porcines, (2) Unité Epidémiologie et Bien Etre Porcin, AFSSA-LERAP, Zoopôle Les Croix, BP53, 22 440 Ploufragan

*g.kuntz.simon@ploufragan.afssa.fr*

### **Etude cinétique de la présence d'anticorps anti-virus influenza porcine dans le sérum de porcs en élevages naisseurs-engraisseurs**

La réponse immunitaire développée par le porc suite à une infection par le virus influenza porcine inclut la production d'anticorps dirigés contre l'hémagglutinine (HA). La truie immune transmet ces anticorps aux porcelets. La plupart des connaissances sur l'évolution des titres et le maintien des anticorps au cours du temps ont été acquises lors d'expérimentations. Nous avons mené une étude longitudinale descriptive dans 5 élevages naisseurs-engraisseurs. Les anticorps ont été dosés par test d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) dans les sérums de 60 porcelets par élevage, toutes les 3 semaines depuis 48 h de vie jusqu'à la fin de l'engraissement, ainsi que dans le sérum des mères 10 jours après mise-bas. Les titres IHA chez le nouveau-né dépendent des taux chez la mère. Ils déclinent au cours du temps et se maintiennent jusqu'à la fin du post-sevrage lorsque les quantités transférées ont été importantes, notamment chez les porcelets issus de truies vaccinées. La séroconversion pendant la croissance a été observée dans 3 élevages à des périodes variables, et associée à la déclaration d'un syndrome grippal et à l'isolement d'une souche dans un élevage. Les passages viraux sont restés cliniquement inapparents dans les deux autres. Les titres IHA peuvent atteindre un maximum en 2-3 semaines, mais l'évolution est parfois plus lente. Le maintien des anticorps semble dépendre de la fréquence de porcs touchés et des titres. Selon le cas, ils peuvent décliner rapidement. Ainsi, des animaux sont séronégatifs à la fin de l'engraissement bien que déclarés séropositifs quelques semaines auparavant. Cette étude révèle la difficile interprétation des résultats des tests IHA.

### **Detection of antibodies against swine influenza virus in sera of grow-to-finish pigs: a longitudinal survey in 5 farrow-to-finish farms.**

The adaptive immune response to swine influenza virus (SIV) infection includes production of antibodies directed against the hemagglutinin (HA) protein. Maternally derived antibodies can also be detected in piglets. Most of knowledge about antibody titer increase and duration over time has been acquired through experimentation. We conducted a descriptive longitudinal survey in 5 farrow-to-finish pig farms differently affected by respiratory disorders. In every farm, 60 piglets belonging to one batch and randomly selected were submitted to blood samples every 3 weeks from 48 h of age until 22 weeks of age. Sows were sampled 10 days post-farrow. Antibodies in sera were measured in hemagglutination inhibition (HI) assays. Maternal SIV antibodies in newborn pigs were dependent on antibody levels in the dam and declined over time. Their duration varied. Pigs with high passive antibody levels, especially those from vaccinated sows, were still positive at the end of post-weaning period. Post infection HA-specific antibodies were detected in sera from 3 herds, at different periods. They were associated to flu symptoms and virus isolation in one herd, but viral infections remained clinically unapparent in the others. HI titers reached a peak by 2-3 weeks, but this took longer in some cases. Antibody titers remained high for several weeks, depending on positive pig frequency and on peak value. In some cases, they rapidly declined and animals were negative at the end of fattening, while founded positive some weeks before.

## INTRODUCTION

La réponse immunitaire spécifique développée par le porc suite à l'infection par le virus influenza porcin (SIV) inclut la production d'anticorps (Ac) et la mise en place d'une immunité à médiation cellulaire (Olsen et al., 2006). Cette réponse spécifique est très efficace puisque le virus est totalement éliminé du tractus respiratoire une semaine post-infection (pi). Parmi les Ac produits, seuls ceux dirigés contre l'hémagglutinine (HA), une glycoprotéine enchâssée dans l'enveloppe virale, ont la capacité de neutraliser le pouvoir infectieux du virus en bloquant son attachement aux récepteurs de la cellule hôte. Ils peuvent être dosés dans le sérum par un test d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) (OIE, 2004) et sont détectés dans le sérum 7-10 jours post-infection (pi) (Heinen et al., 2000). D'après les résultats d'infections expérimentales, l'animal immun est protégé contre une nouvelle infection par une souche similaire pendant au moins 6-9 semaines (Heinen et al., 2001a ; Larsen et al., 2000), mais la durée exacte de la protection conférée après infection naturelle n'est pas connue. La glycoprotéine HA étant très exposée, les épitopes de cet antigène sont très variables, ce qui limite l'effet de la réponse humorale acquise lors d'une ré-infection par une souche antigéniquement différente. Actuellement, 3 sous-types viraux, A/H1N1, A/H3N2 et A/H1N2, circulent dans la population porcine en Europe. Une légère protection croisée entre les sous-types a été relevée après infections expérimentales (Van Reeth et al., 2003 ; Heinen et al., 2001b), probablement due au fait que les virus possèdent des gènes internes de même origine (van Reeth et al., 2004), mais elle est peu efficace, les molécules HA étant très différentes. La signification de ces données quant à l'existence éventuelle d'une protection croisée en élevage est inconnue. La protection après vaccination est également spécifique du sous-type (Van Reeth et al., 2003).

Des études expérimentales ont montré que les porcelets ayant reçu des Ac anti-SIV maternels, par le biais du colostrum, sont en partie protégés, capables de surmonter une infection sans développer la maladie, mais qu'ils restent excréteurs du virus (Labarque et al., 2004 ; Loeffen et al., 2003a). Lorsque le taux d'Ac maternels est élevé, les porcelets infectés ne développent aucune réponse immunitaire et restent susceptibles à une ré-infection. Une réponse faible et retardée a été observée chez des porcelets ayant un faible taux d'Ac maternels (Loeffen et al., 2003b). Les Ac maternels ne confèrent pas de protection croisée entre les sous-types (Choi et al., 2004 ; Labarque et al., 2004). Puisqu'ils réduisent l'induction de réponses immunitaires spécifiques, les Ac maternels seraient désavantageux au regard de la vaccination. Ils auraient même un impact négatif sur l'efficacité de la prise vaccinale (Kitikoon et al., 2006).

La plupart des connaissances sur l'immunité humorale anti-SIV ayant été acquises suite à infections expérimentales, l'objectif de notre étude a été de suivre l'évolution des titres en Ac anti-HA dans le sérum de porcs en croissance issus d'élevages de production afin d'apporter quelques éléments nouveaux (i) quant au transfert des Ac maternels et leur maintien chez le jeune, (ii) quant à l'apparition d'Ac suite à infection naturelle et leur maintien au cours du temps.

## 1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1.1. Schéma d'étude

Une étude longitudinale descriptive a été menée dans 5 élevages naisseurs-engraisseurs bretons, différemment affectés par des troubles respiratoires. Ces élevages ont été classés de niveaux 0 à 4 (N0 à N4) au regard (i) de la sévérité croissante cumulée des lésions de pneumonie, de pleurésie et de rhinite, et (ii) au regard des pathogènes viraux connus pour y circuler régulièrement (Fablet et al., 2006). Dans chacun, 60 porcelets issus de 12 truies d'une bande ont été sélectionnés par tirage au sort à 48 h de vie et ont constitué l'échantillon d'étude. Toutes les 3 semaines jusqu'à 22 semaines d'âge, chaque animal a fait l'objet d'un prélèvement sanguin sur tube sec en vue de la récupération du sérum. Les truies ont été prélevées 10 jours après mise bas. Aucun élevage ne vaccine les porcs en croissance contre la grippe. A chaque cycle de reproduction, les truies de l'élevage N<sub>1</sub> reçoivent un vaccin bivalent, composé de deux souches atténuées, les souches humaines A/New Jersey/8/76 (H1N1) et A/Port Chalmers/1/73 (H3N2). Certaines truies de l'élevage N0 ont précédemment été vaccinées par la même préparation, lors de leur 1<sup>er</sup> cycle de reproduction.

En cas de déclaration d'un syndrome d'allure grippale (fièvre, apathie, troubles respiratoires,...), des écouvillonnages nasaux (Virocult<sup>®</sup>, MW&E, Wiltshire, England) et des prises de sang ont été effectués sur des animaux présentant des signes cliniques, ces derniers prélèvements ayant été répétés 3 semaines plus tard.

### 1.2. Test d'inhibition de l'hémagglutination (test IHA)

#### 1.2.1. Préparation de suspensions d'hématies de poule

Du sang total de poules EOPS (exemptes d'organismes pathogènes spécifiés), récolté sur anticoagulant, est dilué vol/vol dans une solution d'Alsever et centrifugé 10 min à 1000 g, 4°C. Le culot d'hématies est repris dans du tampon phosphate (PBS) pH 7,2, puis centrifugé comme précédemment. Après un 2<sup>ème</sup> lavage au PBS, le volume du culot d'hématies est mesuré et dilué dans 1 volume équivalent de PBS afin d'obtenir une suspension à 50 %. Avant utilisation, les hématies sont dénombrées et la concentration ajustée à 40±2,5.10<sup>6</sup>/ml (suspension à 0,5 % environ).

#### 1.2.2. Traitement des sérums à analyser

Afin d'éliminer les inhibiteurs non spécifiques de l'activité hémagglutinante, ainsi que les agglutinines non spécifiques, présents naturellement dans le sérum de porc, les sérums sont traités par le RDE (*Vibrio Cholerae* Receptor Destroying Enzyme) puis soumis à une adsorption sur globules rouges. Brièvement, 4 volumes de RDE (Sigma, préparé selon les recommandations du fournisseur) sont ajoutés à 1 volume de sérum et incubés pendant 1 nuit au bain-marie à 37°C. Après addition de 5 volumes de citrate de sodium 1,5 %, pH 7,2, le mélange est chauffé à 56°C pendant 30 min pour inactiver le RDE résiduel. A 1 volume de sérum prétraité au

RDE, on ajoute 0,1 volume d'une suspension d'hématies de poule à 50 %. Le mélange est incubé 1 h à 4°C sous agitation, puis centrifugé 10 min à 1000 g. Le sérum adsorbé est récupéré et soumis au test IHA. Ce traitement entraîne une dilution du sérum au 1/10.

### 1.2.3. Antigènes viraux

Les virus utilisés sont les souches A/Sw/Finistere/2899/82 (H1N1), A/Sw/Gent/1/84 (H3N2) et A/Sw/Scotland/410440/94 (H1N2), fournies par K. van Reeth, Université de Gand (Belgique). Ils ont été amplifiés par multiplication sur oeufs embryonnés de poule (Cofrac Pr112/00/VA210/00). L'activité hémagglutinante présente dans les liquides allantoïdiens (LA) a été vérifiée et dosée par test d'hémagglutination (test HA, Cofrac Pr112/00/VA210/00). Les stocks viraux sont dilués dans du PBS afin d'obtenir des suspensions titrant 4 unités HA/25 µl. Un test HA de contrôle permet de vérifier ce titre et de l'ajuster si nécessaire.

### 1.2.4. Sérums de référence

Des sérums immuns et hyperimmuns ont été produits sur porcs EOPS, après inoculation des souches virales d'intérêt par voie oro-nasale, suivie 3 semaines plus tard d'un rappel d'immunisation par voie intra-musculaire en présence d'adjuvant de Freund. Des sérums négatifs de porcs EOPS et de porcs d'élevage ont également été introduits dans les tests. Ils permettent de les valider et de définir le seuil de signification des titres IHA pour chacune des souches virales utilisées.

### 1.2.5. Réaction d'inhibition de l'hémagglutination

Les Ac anti-SIV ont la propriété d'inhiber la réaction normale d'agglutination d'hématies par un virus influenza de référence. La réaction IHA consiste donc à mettre en présence, le sérum à tester, dilué en série de raison 2 et l'antigène de référence (OIE, 2004). Après 35 min d'incubation à température ambiante, la suspension d'hématies est ajoutée au mélange sérum-virus et la réaction poursuivie pendant 35 min. L'inclinaison de la plaque permet alors de distinguer les cupules dans lesquelles le culot d'hématies forme, en coulant verticalement, une traînée fine. L'absence de sédimentation, donc une inhibition de l'hémagglutination, révèle

la présence d'Ac dans le sérum testé. Le titre IHA correspond à la dilution sérique la plus élevée entraînant une inhibition totale de l'hémagglutination (peut aller de 10 à 2560 ou plus). Les seuils de signification pour les souches H1N1, H3N2 et H1N2 utilisées dans cette étude sont respectivement de 20, 40 et 80 (les sérums ayant des titres IHA immédiatement inférieurs à ces seuils sont considérés négatifs).

## 1.3. Isolement viral et sous-typage moléculaire

Les virus présents dans les prélèvements nasaux sont isolés par ovoculture, détectés par test HA et identifiés par double RT-PCR multiplexe (Kuntz-Simon et al., 2005). L'ARN viral contenu dans les LA est extrait et soumis à deux réactions indépendantes d'amplification génomique. La 1<sup>ère</sup> PCR multiplexe, réalisée en 2 étapes (RT puis PCR) permet d'identifier le gène HA, *i.e.* H<sub>1</sub> ou H<sub>3</sub>. La 2<sup>ème</sup> PCR multiplexe, réalisée en 1 seule étape (RT et PCR en un seul tube) permet d'identifier le gène NA, *i.e.* N1 ou N2.

## 2. RESULTATS

### 2.1. Analyse sérologique chez les truies à la mise bas

Les résultats des tests IHA 3 valences pratiqués sur les sérums des truies 10 jours après la mise bas sont présentés dans le tableau 1.

La plupart des truies de l'élevage N1 possèdent des Ac contre les sous-types H1N1 et H3N2, et 1/3 d'entre-elles sont positives dans la valence H1N2. Les Ac anti-H3N2 reflètent certainement la réponse post-vaccinale, l'antigène porcin H3N2 utilisé dans le test IHA étant dérivé de la souche humaine utilisée dans la préparation vaccinale. Concernant les réponses H1N1 et H1N2, il n'est pas possible de dire ici si elles révèlent des Ac produits post-vaccination ou post-infection. Des truies de l'élevage N0 sont également positives pour les valences H1N1 et H3N2, mais contrairement à ce qui est observé dans l'élevage N1, ces séroconversions ne touchent pas 100 % de l'effectif. Les Ac anti-H3N2 reflèteraient la vaccination pratiquée antérieurement sur certaines truies. Dans cet élevage, 66 % des truies possèdent également des Ac anti-H1N2 à un titre parfois

**Tableau 1** - Nombre de truies séropositives lors de la visite en maternité (titre IHA minimum → titre IHA maximum)

Elevage	Valence H1N1	Valence H3N2	Valence H1N2
N0 (n=12)	7 (20 → 320)	4 (40 → 160)	8 (80 → 640)
N1 (n=12)	11 (80 → 640)	12 (80 → 320)	4 (80 → 1280)
N2 (n=12)	5 (20 → 40)	0	8 (80 → 160)
N3 (n=12)	7 (20 → 80)	0	7 (80 → 640)
N4 (n=12)	6 (20 → 40)	0	4 (80 → 160)

assez élevé. Dans les trois autres élevages où la vaccination n'est pas pratiquée, toutes les truies sont négatives pour la valence H3N2, mais environ 50 % des animaux possèdent des Ac anti-H1N1 et 60 % des Ac anti-H1N2.

## 2.2. Analyse sérologique chez les porcs en croissance

Les résultats des tests IHA 3 valences, effectués sur les sérums des porcs sélectionnés dans chaque élevage et prélevés toutes les 3 semaines, de 48 h de vie à la fin de l'engraissement, sont présentés à la figure 1.

Dans l'élevage N0, 60 % des porcelets suivis possèdent des Ac anti-H1N1, 18 % des Ac anti-H3N2 et 45 % des Ac anti-H1N2 au moment du sevrage. Ces fréquences reflètent les fréquences des truies positives de cet élevage. L'analyse au niveau individuel confirme la transmission des Ac maternels aux porcelets (données non montrées). Les titres IHA sont le plus souvent assez faibles, reflétant eux aussi les titres précédemment rapportés chez les truies. Tous ces Ac sont rapidement perdus, puisque seulement 6 % des animaux possèdent encore des Ac anti-H1N1 à 7 semaines de vie. Aucune séroconversion n'est observée au cours de la phase d'engraissement.

Dans l'élevage N1, 98 % des porcelets sont positifs au sevrage pour les valences H1N1 et H3N2, en accord avec le fait que 100 % des mères l'étaient également à la mise bas. Les Ac disparaissent ensuite progressivement, mais sont encore détectables chez 5 % des animaux à 10 semaines d'âge. Quelques porcelets possèdent également des Ac anti-H1N2 au sevrage, mais à des titres faibles. Ce sont les porcelets issus des truies elles-mêmes positives dans cette valence. Comme dans le cas précédent, aucune séroconversion n'est détectée au cours de la phase d'engraissement.

Dans les élevages N2, N3 et N4, les profils en Ac des porcelets au sevrage correspondent ici aussi à ceux de leurs mères. Ainsi, aucun animal n'est positif dans la valence H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> au sevrage. Dans l'élevage N2, 20 % des nouveau-nés possèdent des Ac anti-H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> et 30 % des Ac anti-H1N2, mais les titres IHA restent le plus souvent assez faibles. Les Ac ne sont déjà plus détectés à 7 semaines de vie. Dans l'élevage N3 on observe sensiblement les mêmes fréquences d'animaux positifs et les mêmes gammes de titres en Ac. Dans l'élevage N4, les fréquences et titres sont très faibles. Ils sont en accord avec les données recueillies pour les truies, mais il se pourrait tout de même que le transfert passif ait été moins efficace dans cet élevage. Dans les élevages N2, N3 et N4, aucun porc ne produit d'Ac anti-H3N2 pendant les phases de post-sevrage et d'engraissement. Dans l'élevage N2, des animaux deviennent positifs pour la valence H1N2 en fin de post-sevrage. Le nombre d'animaux concernés, ainsi que les titres IHA augmentent progressivement jusqu'à atteindre une fréquence maximale de 70 % à 16 semaines. Les Ac disparaissent ensuite rapidement. A 22 semaines d'âge, les anticorps H1N2 ne sont plus détectés que chez 5 % des porcs à des titres IHA faibles (80). Parallèlement à la séroconversion dans la valence H1N2, des Ac anti-H1N1 sont détectés à partir de 13 semaines de vie. Les titres IHA des

quelques animaux positifs (5 % seulement) restent faibles mais cette détection est maintenue jusqu'à la 22<sup>ème</sup> semaine. Dans l'élevage de niveau 3, la séroconversion est mise en évidence pour les valences H1N1 et H1N2 à compter de la 19<sup>ème</sup> semaine, mais les fréquences restent faibles (18 et 5 % respectivement). Enfin, dans l'élevage de niveau 4, les porcelets possèdent des Ac anti-H1N2 pendant toute la période de post-sevrage. L'analyse à l'échelle individuelle tend à indiquer qu'il ne s'agit pas seulement d'Ac maternels à compter de la 7<sup>ème</sup> semaine (données non montrées). A l'entrée en engraissement, 80 % des porcs produisent des Ac anti-H1N2, à des taux élevés se maintenant jusqu'à la 19<sup>ème</sup> semaine d'âge. La fréquence diminue ensuite mais à 22 semaines on relève encore 60 % de porcs positifs. 30 % des porcs sont simultanément déclarés positifs pour la valence H1N1 à partir de la 19<sup>ème</sup> semaine d'âge, mais la fréquence et les titres diminuent rapidement.

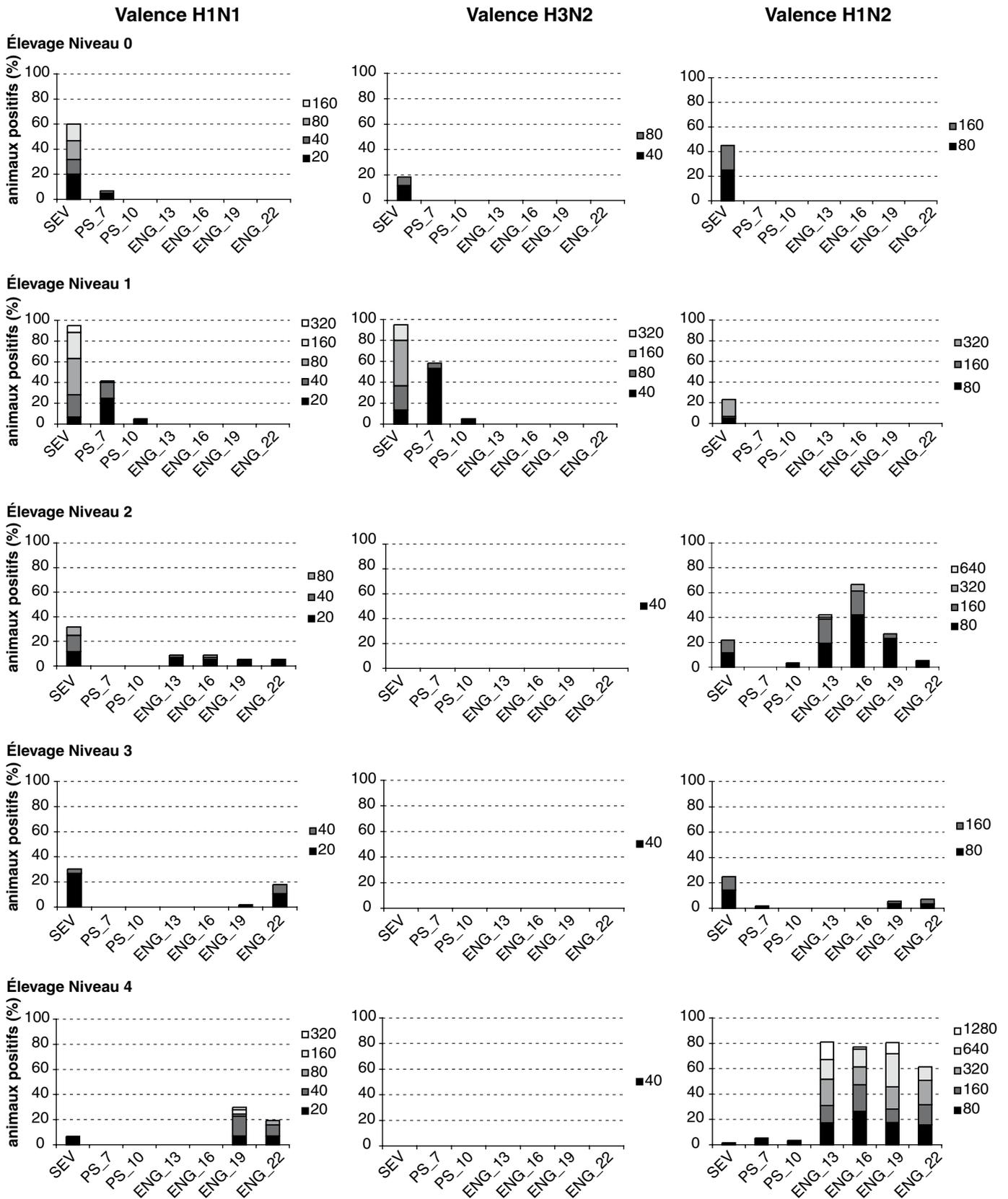
## 1.2. Signes cliniques et isolements viraux

Au cours de l'étude, un épisode de type «syndrome grippal» concernant les porcs suivis a été signalé dans l'élevage N4 au cours de leur 20<sup>ème</sup> semaine de vie. Un agent hémagglutinant a été isolé et identifié comme étant un virus influenza de sous-type H1N2. Deux des 3 animaux prélevés possédaient déjà des Ac anti-H1N2 au moment du syndrome, signifiant que la phase aiguë de l'infection était déjà passée, ou qu'ils avaient été préalablement infectés par une souche similaire. 3 semaines après le syndrome, le porc négatif à la 1<sup>ère</sup> visite avait un titre IHA H1N2 4 fois supérieur, indiquant la séroconversion après infection naturelle.

## 3. DISCUSSION - CONCLUSION

Comme décrit dans la littérature, il apparaît que les titres sériques en Ac chez le porcelet nouveau-né dépendent des taux chez la mère (Olsen et al., 2006). Ils déclinent au cours du temps, leur durée de vie variant de 4 à 14 semaines (Loeffen et al., 2003a). Le maintien jusqu'à la fin du post-sevrage est observé lorsque les quantités transférées sont importantes, notamment chez les porcelets issus de truies vaccinées. A noter que la présence d'Ac anti-H1N2 chez les truies vaccinées reflète certainement le passage d'une souche de ce sous-type (Van Reeth et al., 2004).

Cette étude longitudinale de la dynamique de séroconversion chez les porcs en croissance suggère qu'il existe une relation étroite entre le nombre d'animaux positifs et le titre IHA moyen observé dans la population touchée. Dans les 3 élevages suivis où la séroconversion suggère des passages viraux (N2, N3 et N4), il apparaît que l'infection peut tout aussi bien avoir lieu pendant le post-sevrage (N4), en fin de post-sevrage/début d'engraissement (N2) ou en fin d'engraissement (N3). La réponse humorale suite à infection pendant la phase de post-sevrage (N4) est probablement réduite du fait de la présence d'Ac maternels résiduels, en accord avec les résultats obtenus suite à infections expérimentales (Loeffen et al., 2003a). Ainsi, dans l'élevage N4, la fréquence de porcs positifs dans la valence H1N2 à 7 semaines est supérieure à celle observée au sevrage, laissant supposer une infection avant la 7<sup>ème</sup> semaine,



**Figure 1** - Évolution de la présence d'anticorps anti-influenza dans le sérum de porcs (n=60), du sevrage à 22 semaines de vie, dans 5 élevages naisseurs-engraisseurs classés de niveaux 0 à 4 en fonction de la sévérité cumulée des lésions de pneumonie, de pleurésie et de rhinite atrophique. Les anticorps sont dosés par test IHA 3 valences (H1N1, H3N2, H1N2). Les fréquences d'animaux positifs (%) pour chaque valence, dans chaque élevage, sont données au cours du temps (prélèvements toutes les 3 semaines). SEV : sevrage ; PS : post-sevrage ; ENG : engraissement. Le nombre de semaines de vie des animaux est indiqué pour chacune des visites. La répartition des animaux séropositifs en fonction de leur titre IHA (20 → 1280) est également indiquée.

mais stagne jusqu'entre la 10<sup>ème</sup> et la 13<sup>ème</sup> semaine, avant d'augmenter franchement. Suite à infection expérimentale, il est décrit que les titres en Ac peuvent atteindre un maximum 2-3 semaines pi (Heinen et al., 2000). D'après notre étude, il apparaît que l'évolution peut être bien plus lente après infection naturelle (N2 et N3). Le maintien au cours du temps des Ac varie ensuite selon les élevages (N2 versus N4) et semble dépendre de la fréquence de porcs touchés et des titres en Ac. On retiendra qu'à la fin de l'engraissement, des animaux sont ainsi trouvés séronégatifs bien qu'ayant été infectés et déclarés séropositifs quelques semaines plus tôt.

Les résultats des tests IHA dépendent étroitement de la bonne adéquation entre les antigènes utilisés et les souches en circulation. La réponse faible en Ac dans l'élevage N3 par exemple, pourrait résulter d'une mauvaise adéquation entre les Ac anti-HA produits et les souches utilisées dans le test. L'analyse des sérums prélevés à des dates ultérieures aurait peut-être permis de révéler plus nettement la séroconversion dans l'une des deux valences H1N1 ou H1N2. A noter également que la séroconversion au regard de la valence H1N1 dans les élevages N2 et N4 résulte sans doute d'une réaction croisée dans le test IHA entre les Ac anti-H1N2, présents

en grande quantité dans les sérums, et l'antigène H1N1. En effet, la majorité des animaux déclarés positifs en H1N1 sont aussi ceux dont les titres IHA sont très forts dans la valence H1N2 (données non montrées).

Enfin, cette étude montre que si la séroconversion a pu être associée à la déclaration d'un syndrome grippal et à l'isolement d'une souche dans un élevage (N4), les passages viraux peuvent rester cliniquement inapparents (N2 et N3). Des travaux mettant en oeuvre une analyse multivariée associant les séroconversions anti-SIV aux investigations menées par ailleurs sur les co-infections bactériennes et virales devraient apporter des éléments d'explication au phénomène. Il demeure que le diagnostic sérologique des infections grippales reste souvent délicat dans la pratique. Un effort de recherche soutenu est nécessaire.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les éleveurs pour leur collaboration. L'étude a été financée par la Région Bretagne, le Comité Régional Porcin et les industriels de la pharmacie vétérinaire «Santé animale» (Boehringer Ingelheim, Fort-Dodge, Intervet, Pfizer et Schering-Plough).

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Choi Y.K., Goyal S.M., Joo H.S., 2004. Evaluation of transmission of swine influenza type A subtype H1N2 virus in seropositive pigs. *Am. J. Vet. Res.*, 65, 303-306.
- Fablet C., Marois C., Rose N., Jolly J.P., Eono F., Le Devendec L., Kobisch M., Madec F., 2006. Bacteriological and serological profiles of 12 farrow-to-finish pig farms related to the severity of respiratory disorders. *Proceedings of the 19<sup>th</sup> IPVS Congress, Copenhagen, Denmark*, 2, 292.
- Heinen P.P., van Nieuwstadt A.P., Pol J.M., de Boer-Luijze E.A., van Oirschot J.T., Bianchi A.T., 2000. Systemic and humoral isotype-specific antibody responses in pigs to experimental influenza virus infection. *Viral Immunol.*, 13, 237-247.
- Heinen P.P., de Boer-Luijze E.A., Bianchi A.T., 2001a. Respiratory and systemic humoral and cellular immune responses of pigs to a hetero-subtypic influenza A virus infection. *J. Gen. Virol.*, 82, 2697-707.
- Heinen P.P., van Nieuwstadt A.P., de Boer-Luijze E.A., Bianchi A.T., 2001b. Analysis of the quality of protection induced by a porcine influenza A vaccine to challenge with an H3N2 virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 82, 39-56.
- 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.*, 15, 117-28.
- Kuntz-Simon G., Quéguiner S., Baudouard M.-A., Fablet C., Buffereau J.-P., Madec F., Le Potier M.-F., 2005. Evaluation of multiplex reverse transcriptase PCR assays for detection and subtyping of swine influenza H1N1, H1N2 and H3N2 viruses in French clinical samples. *Proceedings of IABS International Congress "New Diagnostic Technology: Applications in Animal Health & Biologics Controls"*, Saint-Malo, France, 97.
- Labarque G., Barbé F., Pensaert M., Van Reeth K., 2004. Maternal immunity to H1N1 and H3N2 swine influenza viruses fails to protect against the novel H<sub>1</sub>N<sub>2</sub> subtype. *Proceedings of the 18<sup>th</sup> IPVS Congress, Hamburg, Germany*, 1, 83.
- Larsen D.L., Karasin A., Zuckermann F., Olsen C.W., 2000. Systemic and mucosal immune responses to H1N1 influenza virus infection in pigs. *Vet. Microbiol.*, 74, 117-131.
- Loeffen W.L.A., Heinen P.P., Bianchi A.T., Hunneman W.A., 2003a. Effect of maternally derived antibodies on the clinical signs and immune response in pigs after primary and secondary infection with an influenza H1N1 virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 92, 23-35.
- Loeffen W.L.A., Nodelijk G., Heinen P.P., van Leengoed L.A.M.G., Hunneman W.A., Verheijden J.H.M., 2003b. Estimating the incidence of influenza-virus infections in Dutch weaned piglets using blood samples from a cross-sectional study. *Vet. Microbiol.*, 91, 295-308.
- OIE, Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres, 2004. Swine influenza, Chapter 2.10.11.
- Olsen C.W., Brown I.H., Easterday B.C., Van Reeth K., 2006. Swine Influenza, in *Diseases of Swine 9<sup>th</sup> edition*, edited by Straw B.E., Zimmerman J.J., D'Allaire S. and Taylor D.J. Chapter 28, 469-482.
- Van Reeth K., Brown I., Essen S., Pensaert M., 2004. Genetic relationships, serological cross-reaction and cross-protection between H1N2 and other influenza A virus subtypes endemic in European pigs. *Virus Res.*, 103, 115-124.
- Van Reeth K., Van Gucht S., Pensaert M., 2003. Investigations of the efficacy of European H1N1- and H3N2-based swine influenza vaccines against the novel H1N2 subtype. *Vet. Rec.*, 153, 9-13.