

Infection grippale en post-sevrage : impact de l'âge et interférence de l'immunité passive du porcelet sur les paramètres cliniques, virologiques et sérologiques après challenge par un virus H1N1

Séverine HERVE (1), Céline DEBLANC (1), Stéphane GORIN (1), Charlie CADOR (2), Mathieu ANDRAUD (2), Stéphane QUEGUINER (1), Nicolas BARBIER (1), Frédéric PABOEUF (3), Nicolas ROSE (2), Gaëlle SIMON (1)

(1) Anses, Unité Virologie Immunologie Porcines, B.P. 53, 22 440 Ploufragan, France

(2) Anses, Unité Epidémiologie et Bien-Etre du Porc, B.P. 53, 22 440 Ploufragan, France

(3) Anses, Service de Production de Porcs Assainis et d'Expérimentation, B.P. 53, 22 440 Ploufragan, France

severine.herve@anses.fr

Avec la collaboration de Emilie BONIN (1), André KERANFLECH (3), Jean-Marie GUIONNET (3), Nadège MORIN (3), Angélique MORO (3), Yann BAILLY (3) et Gérald LE DIGUERHER (3)

Infection grippale en post-sevrage : impact de l'âge et interférence de l'immunité passive du porcelet sur les paramètres cliniques, virologiques et sérologiques après challenge par un virus H1N1

Les infections grippales sont fréquentes chez les porcelets de 5 à 8 semaines d'âge, qu'ils soient issus de truies vaccinées ou non. Afin d'évaluer l'impact des anticorps d'origine maternelle (AOM) sur l'infection et les réponses immunitaires post-infectieuses, des porcs exempts d'organismes pathogènes spécifiés avec immunité passive (AOM+) ou sans (AOM-) ont été infectés par un virus H1N1 à 5, 7 ou 11 semaines d'âge, puis ré-inoculés pour certains 4 semaines plus tard. L'excrétion et l'infectiosité du virus ont été quantifiées par RT-qPCR et titrage sur cellules, respectivement. Les réponses immunitaires humorales ont été étudiées par ELISA anti-NP/M, test IHA et neutralisation virale, et la réponse cellulaire par test de lympho-prolifération. Tous les porcs AOM- infectés ont présenté des signes cliniques, excrété le virus et développé des réponses immunitaires post-infectieuses, mais avec des différences selon l'âge à l'infection : signes cliniques moindres pour les porcs de 7 semaines et excrétion virale retardée et plus faible que pour les porcs de 5 semaines. Chez les porcs AOM+, plus les taux d'AOM étaient importants, plus la protection clinique conférée était efficace. Chez les animaux AOM+ les plus jeunes, les particules virales excrétées se sont par ailleurs révélées être moins infectieuses, tandis que la réponse cellulaire a été retardée et la réponse humorale inhibée. Néanmoins, les animaux AOM+ ont tous été protégés contre une seconde infection, comme les AOM-, ce qui démontre qu'individuellement, le porc AOM+ ne participe pas à la persistance du virus au sein de l'élevage, pendant au moins 4 semaines après l'infection.

Flu infection during post-weaning: effect of age and interference of a piglet's passive immunity on clinical, virological and serological parameters after H1N1 virus challenge

Flu infections are frequent in piglets of 5-8 weeks of age, whether born to vaccinated or unvaccinated sows. To evaluate the interference of maternally-derived antibodies (MDA) on infection and post-infectious immune responses, specific pathogen free piglets with passive immunity (MDA+) or not (MDA-) were infected with H1N1 at 5, 7 or 11 weeks of age, and some of them were infected a second time 4 weeks later. Viral excretion and infectivity were quantified by RT-qPCR and virus titration, respectively. Immune responses were studied by anti-NP/M ELISA, HI assay and neutralization test, and cellular response by T-cell proliferation assay. MDA- pigs showed clinical signs, shed the virus, and developed specific immune responses despite some age-dependent differences: 7-week-old pigs were less affected clinically, showed a delayed excretion peak and excreted less virus than younger pigs. In MDA+ animals, the more the MDA rates were important, the more the conferred clinical protection was effective. In the youngest MDA+ animals, excreted viral particles appeared less infectious, whereas the cellular immune response was delayed and the humoral answer inhibited. Nevertheless, all MDA+ animals were protected from a second infection, like MDA-, that demonstrates each MDA+ animal individually does not participate in the persistence of the virus within the breeding, at least for 4 weeks after the infection.

INTRODUCTION

Les infections à virus influenza A provoquent chez le porc des problèmes respiratoires engendrant des coûts financiers importants en raison des retards de croissance, de la prophylaxie et des traitements qui en découlent. La grippe est d'autant plus redoutée quand elle est associée au complexe respiratoire porcine (Opriessnig *et al.*, 2011) ou quand elle persiste dans l'élevage sous forme récurrente (Rose *et al.*, 2013 ; Hervé *et al.*, 2014).

Une stratégie pour prévenir la maladie est la vaccination des truies à chaque cycle de reproduction (Vincent *et al.*, 2008 ; Hervé *et al.*, 2014). Elle permet à la fois de réduire la pression d'infection sur les reproducteurs et de transférer des anticorps maternels à la descendance via le colostrum. Le vaccin commercialisé en France est un vaccin trivalent composé d'antigènes inactivés représentatifs des trois sous-types H1_{av}N1, H1_{hu}N2 et H3N2. Bien que les anticorps d'origine maternelle (AOM) diminuent la sensibilité des porcelets à l'infection par le virus influenza porcine, ils n'empêchent pas l'excrétion ni la diffusion du virus au sein des bandes d'animaux (Cador *et al.*, 2016a). Egalement, les AOM interfèrent avec l'établissement des réponses immunitaires post-infectieuses chez les porcelets (Loeffen *et al.*, 2003 ; Kitikoon *et al.*, 2006 ; Rose *et al.*, 2013), ce qui soulève des questions quant à l'acquisition d'une protection en cas d'infection en présence d'anticorps maternels.

Afin d'évaluer l'impact des AOM sur les réponses cliniques, virologiques et immunitaires des porcelets au stade du post-sevrage, des animaux issus de truies vaccinées ou non vaccinées ont été infectés par un virus « avian-like swine H1N1 » (H1_{av}N1) à 5, 7 ou 11 semaines d'âge. Certains animaux ont été ré-inoculés

4 semaines plus tard afin d'évaluer la protection acquise vis-à-vis d'une seconde infection homologe.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Deux essais expérimentaux (E1 et E2) ont été menés dans les animaleries de niveau de biosécurité 3 de l'Anses à Ploufragan, incluant 66 animaux exempts d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS) dont la moitié était issue de truies vaccinées (Respiorc Flu®3, IDT Biologika GmbH, Dessau-Rosslau, Allemagne) (Tableau 1). Ces essais ont été approuvés par le comité d'éthique Anses/ENVA/UPEC pour l'expérimentation animale et autorisés par le ministère de la Recherche (avis n°11/03/14-17 et 08/12/15-6, respectivement).

Dans le dispositif E1, six porcelets âgés de 5 semaines, avec et sans AOM, ont été inoculés par voie trachéale avec le virus H1_{av}N1 A/Sw/Cotes d'Armor/0388/09 (5 mL d'inoculum titrant à 10⁵TCID₅₀) puis ré-inoculés 4 semaines plus tard (lots 5/9 AOM+ et 5/9 AOM-).

Dans le dispositif E2, et pour chacun des deux statuts immunitaires, trois lots de sept animaux âgés de 7 semaines au début de l'étude ont été constitués : un lot avec deux inoculations virales à 4 semaines d'intervalle, soit à 7 et 11 semaines d'âge (7/11 AOM+ et 7/11 AOM-), un autre avec une seule inoculation virale à 7 semaines (7 AOM+ et 7 AOM-) et un dernier lot inoculé à 11 semaines d'âge (11 AOM+ et 11 AOM-). Pour chaque essai, trois animaux témoins ont reçu, aux dates d'inoculation, du milieu essentiel minimum de Eagle (MEM) (Témoin AOM+ et Témoin AOM-).

Tableau 1 – Dispositif expérimental

Essai	Lot	Issu de truie vaccinée	Effectif / lot	Première inoculation		Seconde inoculation		Age (semaines) à l'autopsie
				Age (semaines)	Inoculum	Age (semaines)	Inoculum	
E1	5/9 AOM+	oui	6	5	H1 _{av} N1	9	H1 _{av} N1	11
	Témoin AOM+	oui	3	5	MEM	9	MEM	11
	5/9 AOM-	non	6	5	H1 _{av} N1	9	H1 _{av} N1	11
	Témoin AOM-	non	3	5	MEM	9	MEM	11
E2	7/11 AOM+	oui	7	7	H1 _{av} N1	11	H1 _{av} N1	14
	7 AOM+	oui	7	7	H1 _{av} N1	11	MEM	14
	11 AOM+	oui	7	7	MEM	11	H1 _{av} N1	14
	Témoin AOM+	oui	3	7	MEM	11	MEM	14
	7/11 AOM-	non	7	7	H1 _{av} N1	11	H1 _{av} N1	14
	7 AOM-	non	7	7	H1 _{av} N1	11	MEM	14
	11 AOM-	non	7	7	MEM	11	H1 _{av} N1	14
	Témoin AOM-	non	3	7	MEM	11	MEM	14

1.2. Observations, prélèvements et analyses

Les paramètres zootechniques et les signes cliniques ont été relevés quotidiennement (température rectale, poids corporel et syndrome respiratoire).

1.2.1. Prélèvements

Des écouvillonnages nasaux (écouvillons MW951 sent, Virocult®) ont été réalisés chaque jour lors de la première semaine (E2) ou pendant 2 semaines (E1) après l'inoculation,

puis tous les 2 jours, afin de quantifier l'excrétion virale. Des prélèvements sanguins ont été réalisés 2 à 3 fois par semaine tout au long des 2 essais pour mettre en évidence la présence d'anticorps spécifiques dans les sérums et pour réaliser des tests de lympho-prolifération à partir de sang sur héparine.

Enfin, un échantillon de lobe cardiaque gauche a été prélevé sur chaque porc au moment des autopsies pour la recherche du génome viral au niveau des éventuelles lésions macroscopiques (scores lésionnels sur 28).

1.2.2. Analyses de laboratoire

Pour détecter le génome viral, les surnageants d'écouvillons nasaux et fragments de poumons ont été testés par RT-PCR en temps réel ciblant l'amplification du gène M selon les méthodes précédemment décrites (Pol *et al.*, 2011 ; Cador *et al.*, 2016a). La quantification du génome est exprimée en nombre de copies du gène M rapporté à 10^4 copies du gène de la β -actine. Pour chaque individu, la quantité totale de virus excrété au cours du temps a été estimée par mesure de l'aire sous la courbe (AUC) à l'aide du logiciel R (version 3.1.3).

Le potentiel infectieux du virus présent dans les échantillons prélevés aux pics d'excrétion a été mesuré par titrage en dilution limite et observation d'effet cytopathogène (ECP) sur cellules MDCK (OIE, 2012). Le titre viral est exprimé en TCID₅₀/mL, normalisé sous 10^4 copies du gène de la β -actine puis transformé en log₁₀.

La réponse cellulaire a été évaluée par test de lymphoprolifération des cellules mononuclées sanguines marquées au CFSE (Loeffen *et al.*, 2003). Après stimulation *in vitro* par le virus H1_{av}N1, les lymphocytes T (CD3⁺) spécifiques du virus qui ont proliféré sont quantifiés par cytométrie en flux.

Les réponses immunitaires ont été étudiées sur sérums a) par ELISA indirect visant les anticorps anti-nucléoprotéine (NP) et anti-protéine de matrice (M) (LSIVet™ Porcine Influenza Serum, Life Technologies, Courtaboeuf, France) et b) par ELISA de compétition anti-NP (ID Screen® Antibody Influenza A Competition Multi Species, IDVet, Montpellier, France), selon les instructions des fabricants. Les titres en anticorps sont exprimés en % IRPC (Relative Index Percent) pour le premier test et en % de compétition pour le second. Un test d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) a été mis en œuvre pour détecter les anticorps anti-HA, notamment ceux spécifiques du virus H1_{av}N1 (OIE, 2012). Le titre IHA est exprimé par l'inverse de la dernière dilution présentant une inhibition de l'hémagglutination, et transformé en log₂. Enfin, un test de neutralisation virale a été réalisé pour doser les anticorps neutralisants (Gauger et Vincent, 2014). Le titre obtenu est déterminé par l'inverse de la dernière dilution du sérum qui empêche l'infection des cellules (absence d'ECP) et transformé en log₂.

1.2.3. Tests statistiques

Les comparaisons des différents paramètres entre les groupes ont été réalisées à l'aide du test non paramétrique de Kruskal-Wallis avec la correction de Holm pour les comparaisons deux à deux post-hoc. La corrélation du titre infectieux et de la quantité de génome viral a été établie avec le test de Spearman sur les rangs. Ces analyses ont été réalisées avec le logiciel R (version 3.1.3). Les différences ont été considérées comme significatives au risque alpha de 0,05.

2. RESULTATS

2.1. Signes cliniques et lésions pulmonaires à l'autopsie

Une légère hyperthermie 24 h post-inoculation ainsi qu'une perte de poids durant 2 jours ont été observées chez 100% des animaux AOM- âgés de 5 semaines (Tableau 2). En revanche, les

animaux infectés à 5 semaines en présence d'AOM n'ont pas été affectés, aucun d'entre eux n'ayant présenté de signes cliniques suite à la primo-infection. A l'âge de 7 semaines, les différences entre les statuts immunitaires n'ont pas été observées, 29 et 36% des animaux ayant présenté de l'hyperthermie le lendemain de l'inoculation chez les AOM- et AOM+ respectivement, mais sans perte de poids. Quant aux porcs primo-infectés à 11 semaines d'âge, ils ont majoritairement déclaré une hyperthermie (86 % dans les lots AOM- et 100% dans les lots AOM+) et ont subi un léger ralentissement de leur croissance. Dans les 2 essais (E1 et E2), la seconde inoculation n'a eu aucun impact sur les performances zootechniques.

Tableau 2 – Pourcentage d'animaux présentant des signes cliniques (hyperthermie >40°C et/ou perte de poids) suite à la primo-infection en fonction de leur âge et de leur statut immunitaire

Statut immunitaire	Age en semaines à la 1 ^{ère} inoculation		
	5	7	11
AOM -	100%	29%	86%
AOM+	0%	36%	100%

Les scores des lésions macroscopiques pulmonaires observées aux autopsies étaient plutôt faibles, souvent inférieurs à 2/28 (données non montrées). Les scores les plus élevés (note de 4/28) ont été obtenus pour les lots infectés uniquement à 11 semaines (11 AOM- et 11 AOM+). L'ensemble des poumons issus de ces animaux autopsiés 3 semaines post-infection ont été détectés positifs en RT-qPCR gène M, ce qui n'était pas le cas dans les lots où les animaux ont été infectés à 5 ou 7 semaines (données non montrées).

2.2. Excrétion virale

Du génome viral a été détecté chez tous les porcs primo-infectés. En revanche, il n'a jamais été détecté dans les sécrétions nasales des porcs ré-inoculés 4 semaines plus tard.

Les cinétiques d'excrétion virale étaient similaires entre les animaux infectés à 5 et 11 semaines d'âge avec un début d'excrétion 2 à 3 jours post-inoculation (jpi) et une fin autour de 9 jpi, et ce quel que soit le statut immunitaire (Figure 1). Pour les animaux infectés à 7 semaines d'âge, le profil différait avec une excrétion débutant entre 1 jpi et 4 jpi et se terminant à 11 jpi pour certains porcs.

Les pics d'excrétion virale les plus élevés ont été observés pour les lots 5/9AOM- et 5/9AOM+ (autour de $3 \cdot 10^4$ copies du gène M/ 10^4 copies du gène β -actine). Ces lots présentent également les AUC moyennes les plus fortes (62470 et 60395 respectivement), sans différence significative entre les statuts immunitaires. Ce constat est vrai quel que soit l'âge à la primo-infection, avec des AUC de 19239 / 13905 et 30462 / 26967 pour les lots AOM- / AOM+ âgés de 7 et 11 semaines respectivement. En revanche, tous statuts immunitaires confondus, les analyses statistiques montrent que les porcs âgés de 7 semaines à la primo-infection ont excrété moins de virus que ceux infectés à 5 semaines (P=0,004). Il n'a pas été observé de différence entre les animaux inoculés à 11 et 5 semaines de vie ou entre ceux infectés à 11 et 7 semaines d'âge (P=0,17).

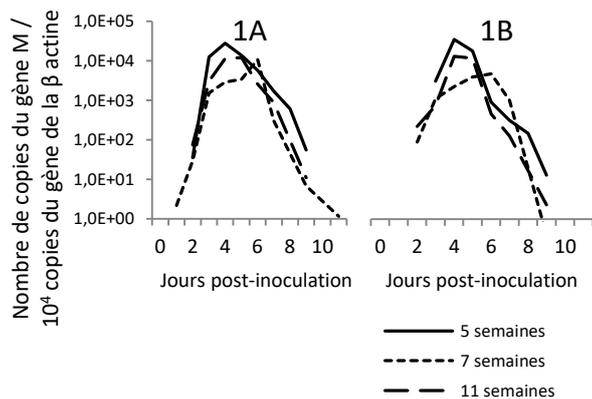


Figure 1 – Quantification du génome viral par RT-qPCR en fonction du temps (jpi) pour les porcs âgés de 5 (trait plein), 7 (pointillés serrés) ou 11 (tirets larges) semaines à la primo-infection, issus de truies non vaccinées (1A) ou vaccinées (1B)

L'infectiosité des particules virales présentes dans les sécrétions nasales a été évaluée, pour chaque porc, par titrage du prélèvement le plus chargé en génome viral. Dans tous les cas (5, 7 et 11 semaines), une corrélation a été mesurée entre les titres infectieux et les quantités de génome viral (exemple des animaux primo-infectés à 5 semaines d'âge en Figure 2).

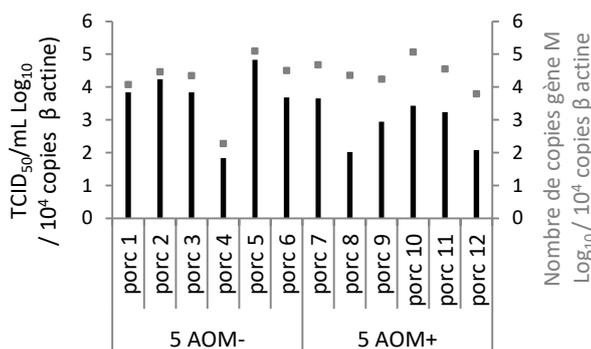


Figure 2 –Corrélation entre le titre viral (TCID₅₀/mL, représenté par l'histogramme noir) et la charge génomique (nombre de copies du gène M, représenté par un carré gris) pour les porcs des lots 5 AOM- et 5 AOM+

L'infectiosité des particules virales excrétées par les animaux de 5 semaines est apparue plus faible chez les individus AOM+, avec un titre viral moyen significativement inférieur comparativement à celui mesuré chez les AOM- (P=0,05) (Tableau 3). Après infection à 7 et 11 semaines en revanche, les titres infectieux sont similaires chez les animaux AOM- et AOM+.

Tableau 3 – Titre infectieux moyen (TCID₅₀/mL) des animaux en fonction de leur âge et de leur statut immunitaire

Statut immunitaire	Age en semaines à la 1 ^{ère} inoculation		
	5	7	11
AOM -	10 ^{4.24}	10 ^{3.27}	10 ^{3.44}
AOM+	10 ^{3.22}	10 ^{3.05}	10 ^{3.28}

2.3. Réponse cellulaire

Tous les lots primo-infectés ont déclenché une réponse lymphocytaire T spécifique à partir de 7 jpi, quel que soit l'âge et le statut immunitaire (Figure 3). En E1, la réponse maximale a été atteinte plus tardivement pour les individus infectés à 5 semaines en présence d'AOM comparativement aux AOM-. Une baisse de la prolifération cellulaire a été obtenue pour les lots AOM- à partir de 32 jpi, qu'ils soient réinfectés ou non, tandis que le niveau est resté constant chez les porcs AOM+.

2.4. Réponses humorales

Chez les animaux AOM- primo-infectés, les réponses immunitaires ont été similaires quel que soit l'âge à l'infection et le test sérologique utilisé (Figure 3). Des anticorps ont été détectés à partir de 7 jpi et aucun impact de la ré-inoculation 4 semaines plus tard n'a été décelé. Seul l'ELISA anti-M/NP fournit un profil un peu différent avec un décalage de séroconversion à 14 jpi et une légère augmentation du niveau d'anticorps à la ré-inoculation.

Durant la phase de primo-infection des animaux AOM+, une décroissance des niveaux d'anticorps a été mise en évidence par tous les tests chez les individus témoins et infectés. Aucune séroconversion post-infectieuse n'a été observée chez les porcelets inoculés à 5 semaines de vie. Chez les porcs AOM+ primo-infectés à 7 semaines, il a été détecté des anticorps anti-NP et anti-M/NP à partir de 11 jpi et 18 jpi respectivement, donc plus tardivement que chez les animaux AOM-. Pour le lot 11 AOM+, la séroconversion a été observée grâce aux méthodes ELISA, à partir de 7 ou 11 jpi selon le test, au même moment que pour les porcs sans AOM. Suite à la réinfection, une réponse anti-M/NP a été rapidement visible quel que soit le niveau d'AOM initial (lots 5/9 AOM+ et 7/11 AOM+). Une augmentation des taux d'anticorps neutralisants et anti-HA (dans une moindre mesure) a aussi été observée mais uniquement chez les porcs du lot 7/11 AOM+.

3. DISCUSSION

Les animaux infectés en absence d'immunité passive, ont montré les signes cliniques habituellement observés en expérimentation (hyperthermie, diminution du gain moyen quotidien), excrété du virus à partir de 2-3 jours suivant l'inoculation et mis en place une réponse cellulaire et humorale dès 7 jours post-infection. Cette étude pointe cependant quelques particularités liées au statut physiologique de l'animal puisque l'infection réalisée à 7 semaines d'âge a eu un impact moins important qu'à 5 ou 11 semaines, avec des signes cliniques plus frustrés, un pic d'excrétion virale différé de 2 jours et une quantité de virus excrété plus faible. Chez les animaux ré-inoculés 4 semaines après la primo-infection, le virus semble avoir été rapidement neutralisé étant donnée l'absence de signes cliniques et d'excrétion virale.

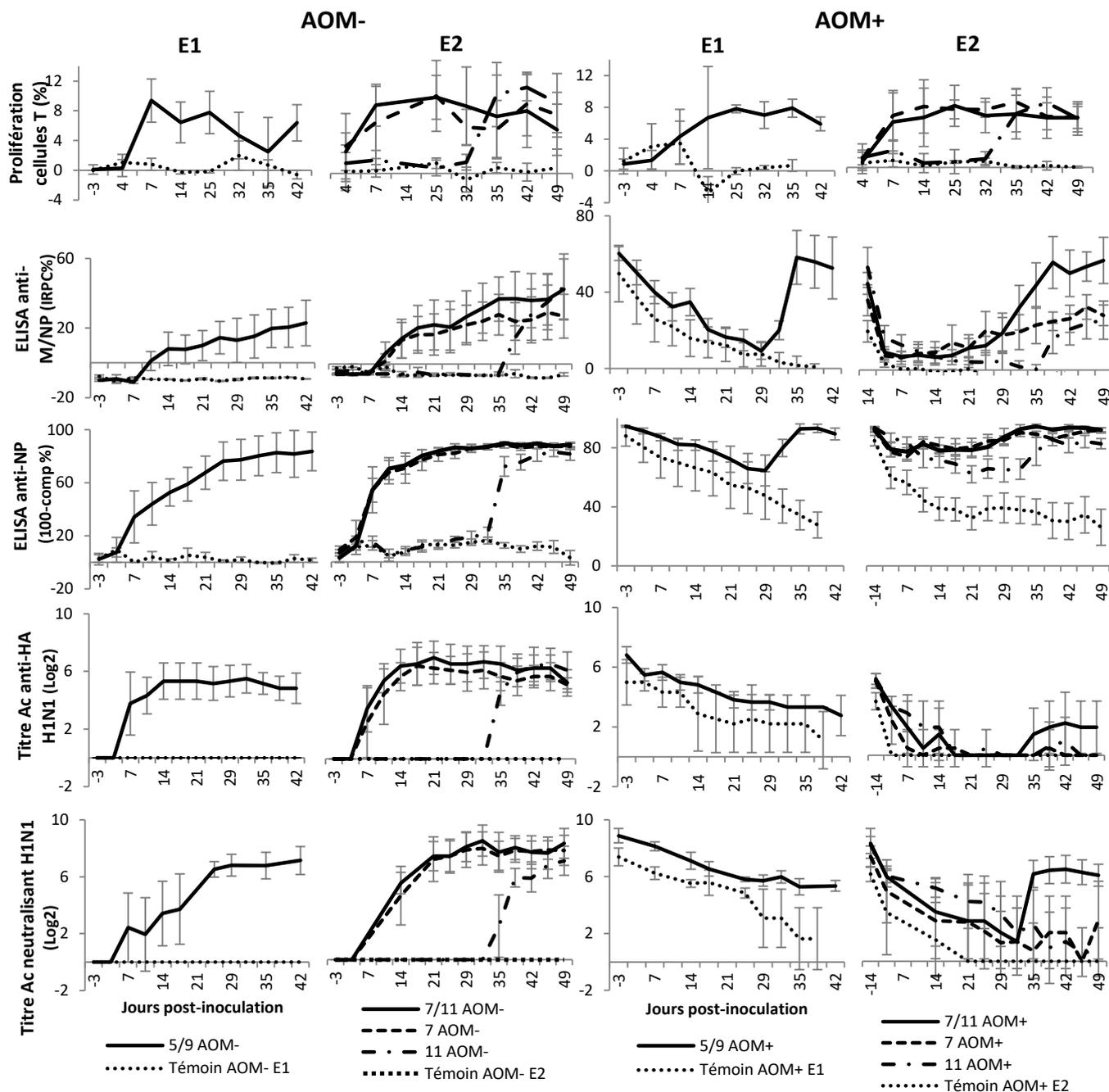


Figure 3 – Réponses cellulaires (test de lymphoprolifération) et immunitaires (ELISA indirect, ELISA de compétition, test IHA et test de neutralisation virale) des porcs sans ou avec immunité passive (AOM- et AOM+) et selon l’âge (E1 et E2) d’infection à J0/J28

Ces porcs ont donc été protégés d’une réinfection par le même virus, grâce aux réponses immunitaires et cellulaires mises en place suite à la primo-infection. Pour autant, aucune augmentation de la réponse humorale n’a ici été mise en évidence suite à la réinfection.

Suite à une primo-infection en présence d’immunité passive, les signes cliniques se sont intensifiés à mesure que le taux d’AOM diminuait. Ainsi, les porcelets étaient complètement protégés à 5 semaines tandis qu’à 11 semaines, 100% d’entre eux présentaient un syndrome grippal. Sachant que la durée de persistance des AOM est estimée à 71,3 [52,8–92,1] jours (Cador *et al.*, 2016a), ces observations sont cohérentes et confirment qu’un taux d’AOM élevé protège cliniquement les animaux d’une infection.

Malgré cette protection clinique, l’immunité passive n’a pas empêché la réplication et l’excrétion du virus à un niveau similaire à celui rencontré chez les porcs sans AOM. Le profil d’excrétion virale était également particulier pour les animaux AOM+ infectés à 7 semaines d’âge comme celui des porcs AOM. Cependant, nous montrons ici qu’un taux élevé d’AOM (lot 5/9 AOM+) permet de neutraliser partiellement les particules virales produites chez l’hôte infecté, en accord avec une autre étude menée aux USA (Vincent *et al.*, 2012). Ceci permet d’expliquer la diminution du taux de reproduction de base chez les animaux AOM+, ainsi que le ralentissement de la propagation virale au niveau de l’élevage, comme précédemment rapporté (Cador *et al.*, 2016a ; Cador *et al.*, 2016b). Paradoxalement, ce phénomène contribuerait à

générer des épisodes grippaux plus longs au sein des bandes touchées.

Une forte immunité passive a également provoqué un retard de la réponse cellulaire, confirmant des données précédentes (Loeffen *et al.*, 2003). Mais l'interférence la plus flagrante des AOM a concerné la réponse humorale, notamment la production d'anticorps anti-HA ou neutralisants. L'impact s'est révélé moins fort sur la production d'anticorps anti-M/NP avec la détection d'une légère augmentation de leur niveau chez les porcs du lot 7 AOM+. Ces résultats corroborent ceux de précédentes études et s'expliqueraient par les différences d'accessibilité des protéines virales (Pertmer *et al.*, 2000 ; Loeffen *et al.*, 2003). Ainsi, les AOM neutraliseraient plus facilement les glycoprotéines HA localisées à la surface des particules virales que les protéines internes M et NP avant leur présentation au système immunitaire.

Malgré la faible réponse immunitaire à la primo-infection en présence de l'immunité d'origine maternelle, les animaux issus des lots AOM+ ont toutefois été protégés d'une seconde infection homologe opérée 4 semaines plus tard, y compris ceux du lot 7/11 AOM+ qui ne présentaient plus (ou très peu) d'AOM au moment de la seconde inoculation réalisée à 11 semaines. Ainsi, un même porc ne participe pas à la persistance du virus au sein de l'élevage, pendant au moins 4 semaines après sa primo-infection. Il serait intéressant de prolonger ce dispositif expérimental dans le temps afin de déterminer la durée de la mémoire immunitaire.

Indépendamment du statut immunitaire, nous avons identifié des réponses de l'hôte variables selon le stade physiologique de l'animal. Des investigations complémentaires seraient nécessaires pour tenter d'expliquer la baisse de sensibilité des porcelets EOPS de 7 semaines, alors même qu'en élevage c'est un âge auquel sont fréquemment rapportés des épisodes grippaux (Hervé *et al.*, 2014). Il conviendrait notamment d'acquérir de nouvelles connaissances quant à l'impact potentiel, sur le cycle viral, des derniers stades de développement du système immunitaire du porcelet et/ou des

modifications métaboliques (voire des modifications de la flore intestinale) qui font suite à la transition alimentaire opérée vers 6 semaines.

CONCLUSION

L'immunité passive confère au porcelet une protection clinique vis-à-vis de l'infection à virus influenza A, sans toutefois prévenir la multiplication virale. Plus les taux d'AOM sont importants, moins les particules virales produites sont infectieuses, plus la réponse immunitaire cellulaire est retardée et plus la réponse humorale est inhibée. L'immunité acquise est cependant suffisamment efficace pour conférer à l'individu une mémoire immunitaire protectrice vis-à-vis d'une réinfection par la même souche virale, pendant au moins 4 semaines.

La baisse d'infectiosité du virus excrété chez des animaux possédant de forts taux d'AOM participe au ralentissement de la propagation virale, ce qui paradoxalement, pourrait contribuer à la persistance du pathogène à l'échelle de l'élevage car rendant alors possible le transfert du virus à des individus naïfs d'une autre bande à suivre.

Enfin, cette étude aura montré qu'en terme de diagnostic sérologique de l'infection grippale au stade du post-sevrage, notamment dans les élevages pratiquant la vaccination des truies, il est préférable de tenter de détecter, en cinétique (dans une paire de sérums minima), des anticorps dirigés contre des protéines internes (par ELISA) plutôt que de chercher à mettre en évidence une séroconversion post-infectieuse via la détection d'anticorps anti-HA (par test IHA).

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été soutenus financièrement par les Comités Régionaux Porcins (CRP) de Bretagne, Pays de la Loire et Normandie, INAPORC et le conseil départemental des Côtes d'Armor.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Cador, C., Herve, S., Andraud, M., Gorin, S., Paboeuf, F., Barbier, N., Queguiner, S., Deblanc, C., Simon, G., Rose, N., 2016a. Maternally-derived antibodies do not prevent transmission of swine influenza A virus between pigs. *Vet Res* 47, 86.
- Cador, C., Rose, N., Willem, L., Andraud, M., 2016b. Maternally Derived Immunity Extends Swine Influenza A Virus Persistence within Farrow-to-Finish Pig Farms: Insights from a Stochastic Event-Driven Metapopulation Model. *PLoS One* 11, e0163672.
- Gauger, P.C., Vincent, A.L., 2014. Serum virus neutralization assay for detection and quantitation of serum-neutralizing antibodies to influenza A virus in swine. *Methods Mol Biol* 1161, 313-324.
- Hervé, S., Garin, E., Rose, N., Marcé, C., Simon, G., 2014. Réseau national de surveillance des virus influenza chez le porc (Résavip) – Résultats des trois premières années de fonctionnement. *Bull. Epid. Santé Anim. Alim* 63, 10-14.
- 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* 112, 117-128.
- Loeffen, W.L., Heinen, P.P., Bianchi, A.T., Hunneman, W.A., Verheijden, J.H., 2003. 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.
- OIE. 2012. Swine Influenza, In: Health, W.O.F.A. (Ed.) *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*.
- Opriessnig, T., Gimenez-Lirola, L.G., Halbur, P.G., 2011. Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Anim Health Res Rev* 12, 133-148.
- Pertmer, T.M., Oran, A.E., Moser, J.M., Madorin, C.A., Robinson, H.L., 2000. DNA vaccines for influenza virus: differential effects of maternal antibody on immune responses to hemagglutinin and nucleoprotein. *J. Virol.*, 74, 7787-7793.
- Pol, F., Quéguiner, S., Gorin, S., Deblanc, C., Simon, G., 2011. Validation of commercial real-time RT-PCR kits for detection of influenza A viruses in porcine samples and differentiation of pandemic (H1N1) 2009 virus in pigs. *J Virol Methods* 171, 241-247.
- Rose, N., Herve, S., Eveno, E., Barbier, N., Eono, F., Dorenlor, V., Andraud, M., Camsusou, C., Madec, F., Simon, G., 2013. Dynamics of influenza A virus infections in permanently infected pig farms: evidence of recurrent infections, circulation of several swine influenza viruses and reassortment events. *Vet Res* 44, 72.
- Vincent, A.L., Ma, W., Lager, K.M., Janke, B.H., Richt, J.A., 2008. Swine influenza viruses a North American perspective. *Advances in virus research* 72, 127-154.
- Vincent, A.L., Ma, W., Lager, K.M., Richt, J.A., Janke, B.H., Sandbulte, M.R., Gauger, P.C., Loving, C.L., Webby, R.J., Garcia-Sastre, A., 2012. Live attenuated influenza vaccine provides superior protection from heterologous infection in pigs with maternal antibodies without inducing vaccine-associated enhanced respiratory disease. *J Virol* 86, 10597-10605.