

## Les rotaviroses du veau : vaccination et protection passive

J. COHEN

*Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires, INRA, 78350 Jouy-en-Josas, France*

**RÉSUMÉ** – Les gastro-entérites à Rotavirus restent un problème majeur dans les élevages. Depuis la mise en évidence du virus et les premiers vaccins, des progrès considérables ont été accomplis sur les méthodes de diagnostic, de prévention, et sur la connaissance intime du virus.

Divers facteurs peuvent moduler la gravité des symptômes : l'âge des veaux, la dose infectante, le statut immunitaire, une mauvaise transmission de l'immunité passive, la présence d'autres entéropathogènes. Il est possible également que les conditions d'élevage, l'alimentation influencent la gravité de la maladie. Aussi, une méthode pour arrêter ou prévenir les rotaviroses consiste à tenter de réduire les possibilités d'exposition des jeunes veaux aux virus en optimisant les conduites d'élevage. Une autre stratégie est fondée sur l'élévation du niveau de l'immunité active et de l'immunité passive des animaux sensibles. Expérimentalement, il a été montré que la protection active des veaux est difficile à réaliser en présence de l'immunité maternelle et, en revanche, qu'il est possible d'assurer une protection passive en administrant aux veaux une dose suffisante d'anticorps spécifiques. Les vaccins actuellement disponibles en France visent à élever le titre en anticorps spécifiques dans le *colostrum* et dans le lait. Nous discuterons de leur efficacité et des perspectives d'amélioration.

## Calf rotavirus infection : vaccination and passive immunity

J. COHEN

*Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires, INRA, 78350 Jouy-en-Josas, France*

**SUMMARY** – The rotavirus is the major etiologic agent of diarrhoea in young calves and piglets. Presently, diagnostic methodology, prophylactic approaches and knowledge on structure and replication have been considerably improved.

Several parameters modulate the symptom severity: age of calves, infective dose, immunological status of animals and effect of passive immunity. It could be also hypothesized that animal husbandry management and food supply play a role in symptoms severity. Consequently prophylactic approaches consist in reducing the risk of contact between virus and young calves by optimising farm management. Alternatively one should improve the level of active and passive immunity in target animals. It has been shown that active protection of calves is difficult to achieve in presence of maternal immunity. Conversely it is possible to implement passive protection by giving orally a sufficient amount of specific antibodies. Vaccines presently available in France aim at increasing specific antibodies in milk and *colostrum*. Efficacy and possibility of improvement of this approach will be discussed.

Malgré l'impact économique considérable des gastro-entérites virales du veau, il est surprenant de constater que peu d'enquêtes épidémiologiques approfondies ont été menées en France sur leurs étiologies. En rassemblant les données des quelques enquêtes réalisées en France et celles recueillies dans plusieurs pays d'élevage, on en arrive à estimer que les rotavirus sont responsables d'environ 40 à 50 % des diarrhées néonatales du veau. Ils représentent la cause principale de diarrhées et passent avant les coronavirus (environ 10 %), les *Cryptosporidium*, les *Salmonelles*, les *E. coli* entéropathogènes qui chacun interviennent pour 5 à 10 %. Dans ces enquêtes, le rôle d'autres agents infectieux, plus difficiles à identifier (par exemple : rotavirus atypiques, calicivirus, astrovirus (2), n'est pas pris en compte. Toutes les enquêtes sérologiques indiquent que l'ensemble des troupeaux est touché par les rotavirus, mais que souvent les infections ne provoquent pas de troubles cliniques. Les facteurs qui peuvent moduler la gravité des symptômes ne sont pas clairement identifiés. On cite souvent l'âge des veaux, la dose infectante, le statut immunitaire, une mauvaise transmission de l'immunité passive, la présence d'autres entéropathogènes. Il est possible également que les conditions d'élevage, l'alimentation influencent la gravité de la maladie. L'infection se traduit par une multiplication du virus dans les entérocytes différenciés du sommet des villosités. Ces cellules se détachent et ne sont pas remplacées assez vite par les cellules des cryptes, d'où une baisse des capacités digestives et d'absorption de l'intestin. Ce mécanisme de la pathogénie permet de mettre en œuvre une réhydratation orale, car la perte des entérocytes est rarement complète. On peut utiliser les cellules restantes pour maintenir l'alimentation et l'équilibre électrolytique par une réhydratation orale et laisser ainsi le temps aux cellules des cryptes de se différencier et de régénérer le sommet des villosités. Parallèlement la réponse immunitaire se met en place, permet l'élimination des cellules infectées et neutralise le virus. Cependant, cette réhydratation qui doit être mise en place au début des signes cliniques coûte relativement cher et n'empêche pas les retards de croissance. Aussi l'utilisation de l'immunité active et passive semble plus adaptée à résoudre les problèmes des rotaviroses des veaux.

Depuis les années 80, un travail considérable a été réalisé sur la structure antigénique des différents rotavirus et sur les divers mécanismes immunitaires, en particulier muqueux, qui confèrent une protection.

## ANTIGÈNES VIRAUX

La capsidie des rotavirus est constituée de 6 protéines (6). Il a été montré que deux d'entre elles (VP 7 et VP 4) induisent des anticorps neutralisants, spécifiques de chaque sérotype viral. Ces deux protéines sont très variables d'une souche à l'autre, et les anticorps neutralisants ne sont pas nécessairement protecteurs. Chez les bovins, les sérotypes les plus fréquemment rencontrés sont les sérotypes G 6 et P 5, mais il existe de nombreux autres sérotypes, en particulier G 10, G 1 et P 11. En revanche, la protéine majeure de la capsidie (VP 6) est très conservée pour tous les rotavirus. Elle est très fortement immunogène ; elle induit des anticorps non neutralisants et une réponse protectrice longtemps suspectée et récemment mise en évidence dans un modèle murin de rotavirose. Cette protéine, ainsi qu'une autre protéine très mino-

ritaire (VP 3), induisent une réponse immunitaire à médiation cellulaire (7, 8).

## MÉCANISMES DE PROTECTION

Dès le début de l'identification des rotavirus, il est apparu que l'immunité systémique n'était absolument pas impliquée dans la protection. Cette constatation s'explique d'autant mieux maintenant que le rôle de l'immunité des muqueuses et celui des systèmes lymphoïdes des muqueuses sont beaucoup mieux connus. Il importe donc de développer une protection immunitaire et la production d'anticorps au niveau de la muqueuse intestinale, notamment des IgA sécrétoires (S-IgA) en stimulant le système immunitaire associé. Divers protocoles de vaccinations orales existent, qui permettent de stimuler plus particulièrement ce système. Il faut développer cette réponse rapidement, car l'infection de l'intestin par les rotavirus survient majoritairement dans les premiers jours de la vie du veau et jusqu'à l'âge de 4 à 5 semaines. Il faut aussi rappeler que le veau nouveau-né est dépourvu d'anticorps à la naissance, puisque le placenta des ruminants ne permet pas le passage des anticorps maternels durant la gestation. Pour assurer une bonne protection muqueuse des veaux, il convient donc :

- d'administrer un *colostrum* et un lait riche en immunoglobulines spécifiques ;
- d'assurer le plus rapidement possible une réponse muqueuse du veau. Cette mise en place vaccinale d'une immunité active demande quelques jours et est rendue difficile par la présence des anticorps colostraux ;
- de pallier à la lenteur et au faible niveau de la réponse immunitaire locale par l'administration régulière, *per os*, d'anticorps spécifiques.

## STRATÉGIES UTILISÉES ET PERSPECTIVES

Nous passerons en revue trois stratégies en essayant d'indiquer les outils actuellement disponibles et les améliorations que l'on peut raisonnablement attendre.

### 1. IMMUNISATION PASSIVE PAR LA VACCINATION DES MÈRES

Cette stratégie est fondée sur les deux observations suivantes : a) la présence en quantité suffisante d'anticorps neutralisant le rotavirus dans la lumière intestinale permet d'arrêter la multiplication virale ; b) la concentration en anticorps anti-rotavirus dans le lait et le *colostrum* peut être considérablement augmentée par la vaccination et le rappel des vaches (13, 14). Cette stratégie est à la base du développement et de la diffusion de plusieurs vaccins anti rotavirus de conception simple : le virus multiplié en culture cellulaire est inactivé et associé à un adjuvant. A condition que la dose d'antigène soit suffisante, ce qui n'est pas toujours le cas dans les vaccins commerciaux, l'inoculation de la vache entraîne une augmentation notable des IgG1 dans le *colostrum* et dans le lait durant les quelques semaines après la mise bas (3). En présence de cette immunité passive, et en fonction bien sûr de son niveau, certains veaux seront quand même infectés, mais les signes cliniques seront plus faibles, voire inexistantes, ce qui favorisera la mise en place d'une immunisation active. De plus, la vaccination de la mère, qui n'est, dans la plupart du temps, qu'un rappel à de nombreuses stimulations antigéniques antérieures, suscite une réponse à large spectre et

entraîne la présence dans le lait et le *colostrum* d'anticorps dirigés contre plusieurs sérotypes (1, 15). Cette stratégie, à condition d'être bien conduite, semble tout à fait satisfaisante pour le veau sous la mère. En revanche, elle n'est manifestement pas applicable dès que le veau est retiré de sa mère quelques jours après la mise bas, comme c'est le cas dans l'élevage laitier. Dans tous les cas cependant, il faut fournir régulièrement au veau des doses suffisantes d'anticorps spécifiques. La possibilité de disposer de ces anticorps sera abordée plus bas.

## 2. IMMUNISATION ACTIVE DU JEUNE VEAU

Historiquement, cette stratégie a été la première mise en œuvre dès les années 70 aux U.S.A. Avec le recul, on peut constater sa faible efficacité. Pourtant, expérimentalement, l'administration *in utero* de rotavirus atténué permet de mettre en évidence une protection du veau (18). Sur le terrain, cependant, on se heurte à deux difficultés indépendamment du fait que la vaccination *in utero* est inenvisageable. D'une part, la protection est limitée au sérotype utilisé pour la vaccination. D'autre part, la présence pratiquement universelle d'anticorps anti rotavirus dans le *colostrum* et dans le lait, à des concentrations hautement variables, rend la prise du vaccin très aléatoire. La présence d'anticorps dans le *colostrum*, qui est normalement ingéré par le veau, suffit souvent à neutraliser le virus vivant atténué utilisé comme vaccin (4, 17). L'amélioration de ce type de vaccin nécessitera au moins l'addition de plusieurs valences à la valence G 6 qui est actuellement la seule utilisée. Elle nécessitera aussi la mise au point d'un protocole d'administration qui permettra au virus vaccinal d'échapper à la neutralisation par le *colostrum*.

## 3. SUPPLÉMENTATION EN IMMUNOGLOBULINES SPÉCIFIQUES

Ce mode de protection est utilisé d'une façon limitée, chaque fois que le veau ne peut recevoir l'immunité colostrale et lactée de sa propre mère. Le problème est de disposer de quantités suffisantes d'anticorps spécifiques à moindre coût. La manière la plus naturelle et pour le moment la moins chère est d'administrer le *colostrum* d'autres vaches vaccinées (5, 10). Cette politique peut se réaliser à l'échelle d'une ferme ou d'une région par l'intermédiaire d'un laboratoire centralisateur. Du *colostrum* provenant de vaches fortes productrices peut être recueilli, congelé, et distribué en cas de problèmes. Dans une ferme, il faut supposer que les problèmes de rotavirus ne surviennent que d'une façon occasionnelle. A l'échelon d'une région ou d'un groupe d'éleveurs, cette stratégie nécessite une organisation et un contrôle de la qualité des *colostrums* distribués et en particulier de leur teneur en immunoglobulines spécifiques. Diverses préparations commerciales, la plupart à base d'immunoglobulines extra-

ites de *colostrums* hyperimmuns, sont aussi disponibles. Cette stratégie, qui fait ses preuves expérimentalement, ne sera vraiment généralisable que lorsque l'on pourra disposer de grandes quantités d'anticorps. Pour lever ce goulot d'étranglement, on dispose de plusieurs possibilités, réalisables à plus ou moins long terme :

1. Améliorer les protocoles d'immunisation pour avoir, non seulement dans le *colostrum*, mais aussi dans le lait, des concentrations notablement plus élevées d'anticorps. Les protocoles actuellement mis en œuvre sont basés sur l'immunisation systémique de la vache et ne visent pas à augmenter à la fois le taux des anticorps et leur transport dans le *colostrum* et le lait. Une vaccination muqueuse des vaches (par exemple par voie orale, après une stimulation systémique) devrait augmenter la concentration d'anticorps dans le lait. De plus, la modulation hormonale des mécanismes qui assurent le transport actif des anticorps à travers l'épithélium mammaire pourrait encore augmenter la quantité d'immunoglobulines présentes dans le lait.

2. Améliorer la quantité, la qualité et le ciblage des antigènes vers les muqueuses. De nombreuses possibilités existent, qui vont de l'utilisation de souches virales nouvelles (apportant les valences qui manquent dans les vaccins actuels) à l'utilisation de vaccins sous-unitaires portés par des vecteurs à tropisme intestinal, par exemple, des pili bactériens recombinants portant des épitopes viraux, comme ceux développés avec nos collègues de Theix. De nouveaux espoirs sont aussi fondés sur l'utilisation pour la vaccination de l'ADN codant pour des protéines virales (12, 16). Ces diverses possibilités devraient se traduire par le remplacement, à moyenne échéance, des vaccins de la génération actuelle.

3. A plus long terme, mais d'une façon tout à fait raisonnable, on peut envisager d'utiliser les moyens du génie génétique pour produire ces anticorps spécifiques à un coût relativement bas. L'administration d'anticorps monoclonaux de souris a montré expérimentalement son efficacité (11). Le problème du coût pourrait se voir résolu par l'expression des anticorps par des plantes. Ceci a déjà été réalisé, et au moins dans un cas, des « planticorps » fonctionnels ont été obtenus (9). Il reste à généraliser et optimiser cette approche, ce qui n'est certes pas une mince affaire.

## CONCLUSION

La mise en place d'une bonne protection contre les rotavirus, qui restent des pathogènes majeurs des élevages, nécessite une lutte sur plusieurs fronts qui vont d'une meilleure connaissance du pathogène et des mécanismes de défense de l'hôte au développement de produits nouveaux : antigènes vaccinaux et immunoglobulines spécifiques.

## RÉFÉRENCES

1. BELLINZONI, R. C., J. BLACKHALL, N. BARO, N. AUZA, N. MATTION, A. CASARO, J. L. LA TORRE, and E. A. SCODELLER. 1989. Efficacy of an inactivated oil- adjuvanted rotavirus vaccine in the control of calf diarrhoea in beef herds in Argentina. *Vaccine*. **7**:263-8.
2. BRIDGER, J. C., G. A. HALL, and J. F. BROWN. 1984. Characterization of a calici-like virus (Newbury agent) found in association with astrovirus in bovine diarrhea. *Infection and Immunity*. **43**:133-8.
3. CASTRUCCI, G., F. FRIGERI, M. FERRARI, V. ALDROVANDI, and F. TASSINI. 1989. Further studies on passive immunization of newborn calves against rotaviral infection. *Comp Immunology Microbiology Infect Disease*. **12**:71- 6.
4. CONNER, M. E., D. O. MATSON, and M. K. ESTES. 1994. Rotavirus vaccines and vaccination potential. *Current Top Microbiology Immunology*.
5. CORDLE, C. T., J. P. SCHALLER, T. R. WINSHIP, E. L. CANDLER, M. D. HILTY, K. L. SMITH, L. J. SAIF, E. M. KOHLER, and S. KRAKOWKA. 1991. Passive immune protection from diarrhea caused by rotavirus or *E. coli*: an animal model to demonstrate and quantitate efficacy. *Advances Experimental Med Biol*.
6. ESTES, M. K., and J. COHEN. 1989. Rotavirus gene structure and function. *Microbiology Review*. **53**:410-49.
7. FRANCO, M. A., and H. B. GREENBERG. 1995. Role of B cells and cytotoxic T lymphocytes in clearance of and immunity to rotavirus infection in mice. *Journal of Virology*. **69**:7800-7806.
8. FRANCO, M. A., P. LEFEVRE, P. WILLEMS, G. TOSSER, P. LINTERMANN, and J. COHEN. 1994. Identification of cytotoxic T cell epitopes on the VP3 and VP6 rotavirus proteins. *Journal of General Virology*. **75**:589-96.
9. JULIAN, K., and M. HEIN. 1995. Immunotherapeutic potential of antibodies produced in plants. *Tibtech*. **13**:522-527.
10. KUROKI, M., M. OHTA, Y. IKEMORI, R. C. PERALTA, H. YOKOYAMA, and Y. KODAMA. 1994. Passive protection against bovine rotavirus in calves by specific immunoglobulins from chicken egg yolk. *Arch. Virol*. **138**:143-8.
11. MATSUI, S. M., P. A. OFFIT, P. T. VO, E. R. MACKOW, D. A. BENFIELD, R. D. SHAW, N. L. PADILLA, and H. B. GREENBERG. 1989. Passive protection against rotavirus-induced diarrhea by monoclonal antibodies to the heterotypic neutralization domain of VP7 and the VP8 fragment of VP4. *Journal of Clinical Microbiology*. **27**:780-2.
12. MONTGOMERY, D. L., J. J. DONNELLY, J. W. SHIVER, M. A. LIU, and J. B. ULMER. 1994. Protein expression in vivo by injection of polynucleotides. *Current Opinion in Biotechnol*. **5**:505-510.
13. SAIF, L. J., D. R. REDMAN, K. L. SMITH, and K. W. THEIL. 1983. Passive immunity to bovine rotavirus in newborn calves fed colostrum supplements from immunized or nonimmunized cows. *Infection and Immunity*. **41**:1118-31.
14. SAIF, L. J., and K. L. SMITH. 1985. Enteric viral infections of calves and passive immunity. *Journal of Dairy Sciences*. **68**:206-28.
15. SNODGRASS, D. R., T. A. FITZGERALD, I. CAMPBELL, G. F. BROWNING, F. M. SCOTT, Y. HOSHINO, and R. C. DAVIES. 1991. Homotypic and heterotypic serological responses to rotavirus neutralization epitopes in immunologically naive and experienced animals. *Journal of Clinical Microbiology*. **29**:2668-72.
16. ULMER, J. B., J. J. DONNELLY, S. E. PARKER, G. H. RHODES, P. L. FELGNER, V. J. DWARKI, S. H. GROMKOWSKI, R. R. DECK, C. M. DEWITT, A. FRIEDMAN, and et al. 1993. Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein. *Science*. **259**:1745-9.
17. VAN ZAANE, D., J. IJZERMAN, and P. W. DE LEEUW. 1986. Intestinal antibody response after vaccination and infection with rotavirus of calves fed colostrum with or without rotavirus antibody. *Vet Immunology Immunopathol*. **11**:45-63.
18. WYATT, R. G., A. Z. KAPIKIAN, and C. A. MEBUS, 1983, Induction of cross-reactive serum neutralizing antibody to human rotavirus in calves after in utero administration of bovine rotavirus. *Journal of Clinical Microbiology*. **18**:505-8.