

ESTIMATION DU PARAMETRE DE TRANSMISSION DU PCV-2 A PARTIR DE DONNEES EXPERIMENTALES *

Mathieu Andraud¹, Béatrice Grasland¹, Benoît Durand², Roland Cariolet¹,
André Jestin¹, François Madec¹ et Nicolas Rose¹

RESUME

Le taux de transmission instantané est l'un des paramètres clés dans un modèle épidémiologique. Il est défini comme le nombre moyen de nouvelles infections produites par un individu infectieux par unité de temps. Contrairement aux données de terrain, les essais expérimentaux, qui se déroulent en environnement maîtrisé, permettent de se focaliser sur un aspect de la transmission. L'essai dont il est question ici a permis d'estimer le taux de transmission par contact direct de porcs inoculés par le PCV2 en fonction du temps écoulé depuis l'inoculation.

Mots-clés : Modélisation, taux de transmission, PCV-2.

SUMMARY

The instantaneous transmission rate, defined as the mean number of new infections produced by a single infective animal per time unit, is a key factor in epidemiological models transmission. It can be assessed by experimental studies under a fully controlled environment much better than in field studies. The experimental transmission trial reported in this study made it possible to estimate the instantaneous transmission rate parameter in PCV-2 inoculated pigs in terms of time elapsed since inoculation.

Keywords : Modelling, Transmission rate, PCV-2.



I - INTRODUCTION

Le taux de transmission, défini comme le nombre moyen d'infections provoquées par un individu infectieux par unité de temps, est un élément clé dans les modèles épidémiologiques [Anderson et May, 1991 ; De Jong, 1995 ; McCallum, 2001]. La mise en place d'essais expérimentaux permet un suivi du processus infectieux au cours du temps

dans un environnement entièrement contrôlé. Ainsi, plusieurs études, portant sur différents agents pathogènes porcins, ont abouti à des estimations de taux de transmission intra- et inter-cases : fièvre aphteuse [Eblé *et al.*, 2006], peste porcine [Klinkenberg *et al.*, 2002], PCV-2 [Andraud *et al.*, 2008].

* Texte de la communication orale présentée lors des Journées AEEMA, 22-23 mai 2008

¹ AFSSA-site de Ploufragan, B.P. 53, F22440 Ploufragan, France

² AFSSA-site de Maisons-Alfort, 23 Avenue du Général de Gaulle, Maisons Alfort cedex, F94706, France

Ces estimations reposent sur un modèle SEIR (Susceptible, Exposed, Infectious, Recovered) classique [Kermack et McKendrick, 1927] dont l'une des principales caractéristiques est une distribution exponentielle de la durée de période infectieuse. Bien que cette hypothèse soit pratique d'un point de vue mathématique, elle est assez irréaliste d'un point de vue biologique [Lloyd, 2001]. Une autre approche modélisatrice, aussi connue sous le nom de modèle de Kermack-McKendrick, repose sur les modèles temps-dépendants pour lesquels chaque individu est caractérisé par un paramètre de transmission évalué en fonction du temps écoulé depuis son infection [Fraser, 2007 ; Fraser *et al.*, 2004]. Ce type de modèle est principalement utilisé pour la modélisation du virus de l'immunodéficience humaine [Blythe et Anderson, 1988 ; Pinkerton et Abramson, 1996 ; Wawer *et al.*, 2005]. Modéliser l'infectiosité en fonction du temps depuis l'infection reflète l'évolution de la virémie dans le temps. Dans la plupart des cas, la fonction utilisée est unimodale représentant dans un premier temps la croissance de la charge virale chez l'hôte, suivie de la réponse immunitaire [Fraser, 2007].

Le circovirus porcin de type 2 (PCV-2) est un virus de petite taille (17 nm) composé d'un ADN simple brin circulaire et reconnu comme étant l'agent étiologique de la maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP) [Allan et Ellis, 2000 ; Segalés et Domingo, 2002]. Cette maladie est d'une grande importance économique car elle cause de lourdes pertes dans les élevages de porcs dues à une forte augmentation du taux de mortalité ou à des

retards de croissance chez les porcs charcutiers [Madec *et al.*, 2000]. Peu d'éléments sont connus sur la transmission du PCV-2 chez le porc en croissance. La charge génomique est détectable environ quatre jours post-inoculation, puis augmente rapidement jusqu'au 14^{ième} jour, après quoi elle diminue progressivement [Ladekjaer-Mikkelsen *et al.*, 2002 ; Pensaert *et al.*, 2004 ; Yu *et al.*, 2007]. De nombreuses études ont été menées afin de connaître la durée de la virémie chez le porc [Calsamiglia *et al.*, 2002 ; Lopez-Soria *et al.*, 2005 ; Rodriguez-Arriola *et al.*, 2002 ; Segalés *et al.*, 2005]. Cependant, la mise en évidence par PCR quantitative d'une charge génomique à partir d'écouvillons ne prouve en rien la présence de particules virales infectieuses [McIntosh *et al.*, 2006]. L'unique preuve de l'infectiosité d'un porc est sa capacité à infecter des porcs susceptibles au cours d'une période de contact.

L'objectif de cette étude est l'estimation d'un paramètre de transmission en fonction du temps écoulé depuis l'infection chez des porcs inoculés dans des conditions expérimentales. Six essais de transmission ont été successivement menés afin d'estimer le nombre d'individus infectés dans chaque groupe de contact durant la période de contact. Le ratio de reproduction de base (R_0) a aussi été estimé. Le taux de transmission ainsi estimé a été inséré dans un modèle épidémiologique temps-dépendant et les résultats obtenus en terme d'incidence et de prévalence ont été comparés avec des données externes issues d'un essai expérimental précédent [Andraud *et al.*, 2008].

II - MATERIELS ET METHODES

1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

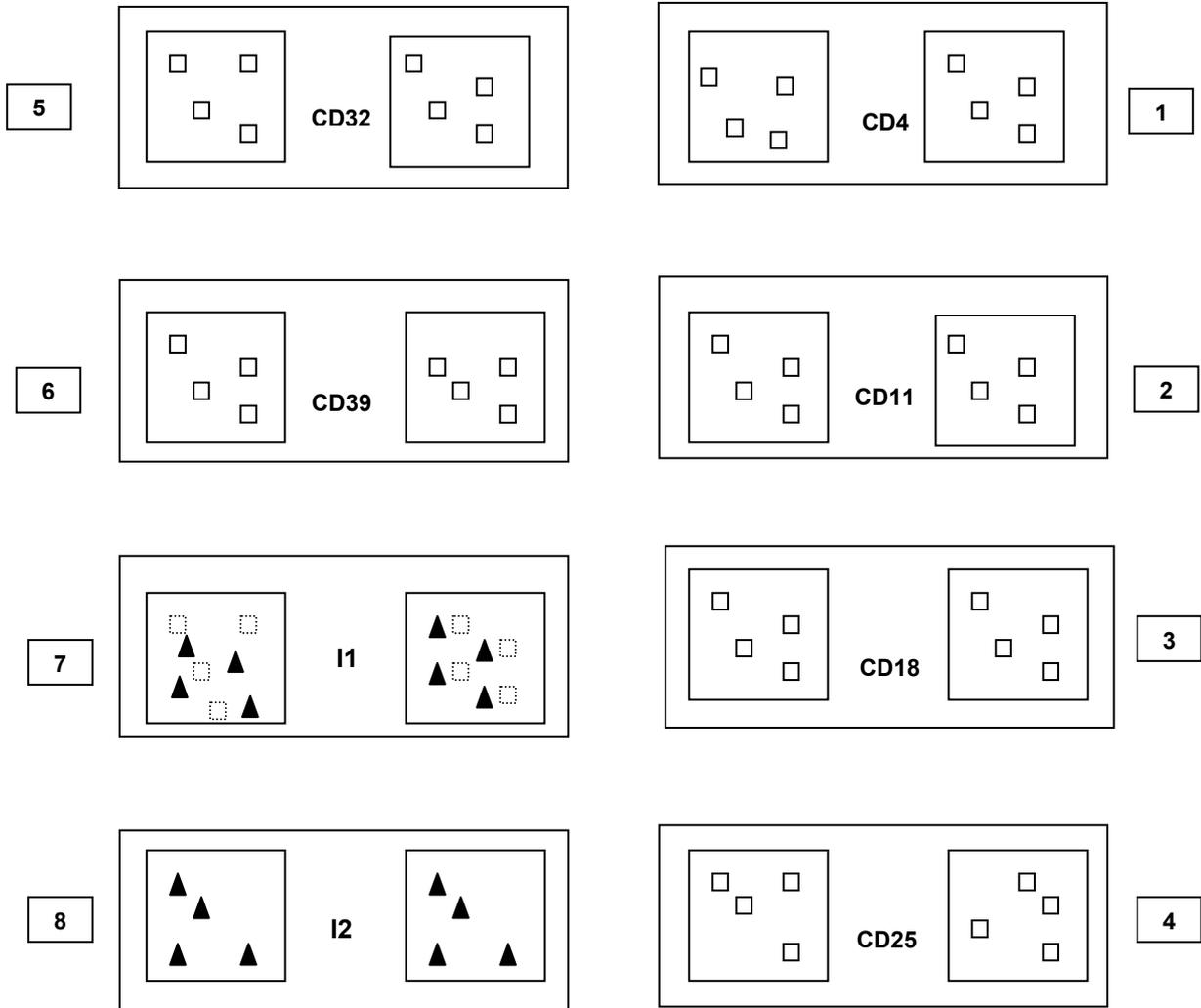
Soixante-douze porcs exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS) issus de l'animalerie protégée de l'AFSSA [Cariolet *et al.*, 1994] ont été utilisés et individuellement identifiés. Huit d'entre eux ont été gardés comme contrôles négatifs (salle 0) et 16 ont été inoculés et répartis aléatoirement dans deux groupes : le premier a été conservé en tant que groupe témoin inoculé (Salle 8), le

second était destiné à recevoir des contacts avec des porcs EOPS (salle 7). Six groupes « contacts » (CD4, CD11, CD18, CD25, CD32 et CD39) composés de 8 porcs EOPS ont été formés (salles 1 à 6). Les contacts ont eu lieu chaque semaine, à compter du 4^{ème} jour post inoculation (JPI) et jusqu'au 39^{ième} JPI, pour une durée de contact de 2 jours. Après cette période, chaque groupe « contact » regagne sa salle d'origine (figure 1).

Figure 1

Protocole expérimental

▲ : animaux infectés □ : animaux contacts



Les porcs contacts et inoculés ont été suivis de manière hebdomadaire à la fois au niveau sérologique (ELISA [Blanchard *et al.*, 2003]) et au niveau de leur charge génomique dans le sérum (PCR quantitative en temps réel [Grasland *et al.*, 2005]) tout au long de l'expérimentation.

2. ESTIMATION DU PARAMETRE DE TRANSMISSION TEMPS-DEPENDANT

Soient τ et $\beta(\tau)$ respectivement le temps écoulé depuis l'infection et le taux de

transmission temps-dépendant. $\beta(\tau)$ représente le nombre moyen d'individus potentiellement infectés par un individu inoculé τ unités de temps post-inoculation. On en déduit donc que le nombre moyen de nouvelles infections produites par un individu inoculé sur un intervalle de temps $[t_0, t_1]$ est

donné par $\int_{t_0}^{t_1} \beta(\tau) d\tau$. Le ratio de reproduction

de base, R_0 , défini comme le nombre moyen de nouvelles infections produites par un

individu infectieux au cours de son entière période infectieuse, peut être calculé en prenant l'intégrale de $\beta(\tau)$ le long de son support.

Par conséquent, la probabilité d'infection pour un porc susceptible mis en contact sur une période de deux jours $[t_i, t_{i+1}]$ avec I individus infectieux est égale à :

$$p_i = 1 - \exp\left(-I \int_{t_i}^{t_{i+1}} \beta(\tau) d\tau\right). \text{ Le nombre de}$$

nouveaux cas dans chaque groupe de contact suit une loi binomiale de paramètres $S = 8$, nombre initial d'individus susceptibles dans les groupes contacts et p_i dont la log-vraisemblance a pour expression :

$$\sum_{i=1}^6 \log \binom{S}{C_i} + \sum_{i=1}^6 (C_i \log(p_i) + (S - C_i) \log(1 - p_i))$$

où C_i et p_i représentent respectivement le nombre de nouveaux cas observés et la probabilité d'infection lors des deux jours de contact du groupe CD_i , le nombre I d'individus inoculés en contact étant égal à 8 pour chacun des 6 groupes contacts. Le paramètre de transmission $\beta(\tau)$ a été estimé par maximum de vraisemblance.

3. MODELE EPIDEMIOLOGIQUE TEMPS-DEPENDANT

Le paramètre de transmission ainsi estimé a été inséré dans un modèle épidémiologique déterministe de type SEIR (Susceptible, Exposed, Infectious, Recovered) afin d'étudier l'effet d'une infectiosité temps-dépendant sur la propagation de l'infection. La phase latente étant supposée fixe, le modèle a été réduit à un modèle SIR classique en considérant la fonction $\beta(\tau)$ nulle au cours de la période latente. De plus, les animaux sont supposés infectieux tant que leur fonction de transmission ne franchit pas le seuil de 0,001 ($\beta(x) < 0,001$) à partir duquel l'infectiosité est

supposée négligeable. Le modèle s'écrit alors sous la forme du système intégro-différentiel suivant :

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = -\frac{S(t)}{N} \int_0^{\infty} \beta(\tau) I(t, \tau) d\tau \\ \frac{\partial I}{\partial t} + \frac{\partial I}{\partial \tau} = -\int_0^{\infty} \delta_x(\tau) I(t, \tau) d\tau \\ \frac{dR}{dt} = \int_0^{\infty} \delta_x(\tau) I(t, \tau) d\tau \end{cases}$$

où t est le temps et τ le temps écoulé depuis l'infection, N est le nombre total d'individus et δ_x est la mesure de Dirac ($\delta_x(\tau) = 1$ si $\tau = x$, $\delta_x(\tau) = 0$ sinon). De plus, la condition aux bornes est donnée par

$$I(t, 0) = \frac{S(t)}{N} \int_0^{\infty} \beta(\tau) I(t, \tau) d\tau \text{ représentant le}$$

nombre de nouvelles infections au temps t . La condition initiale $I(0, a)$ décrit la répartition des individus infectieux au temps $t = 0$ selon le temps depuis lequel ils ont acquis l'infection.

4. VALIDATION

Les sorties du modèle épidémiologique (incidence et prévalence) ont été comparées à des données provenant de quatre essais expérimentaux de transmission [Andraud *et al.*, 2008]. Pour chacun de ces essais, 4 porcs susceptibles étaient mis en contact avec 4 porcs inoculés. Les animaux inoculés l'étaient selon la même voie et la même dose que dans l'essai présenté ci-dessus. A la fin de l'essai, la totalité des porcs contacts étaient infectés. Afin de se placer dans le contexte de ces essais, nous avons supposé que les porcs étaient inoculés à $t = 0$, ce qui revient à écrire : $I(0, 0) = 4$, $S(0) = 4$, $R(0) = 0$.

III - RESULTATS

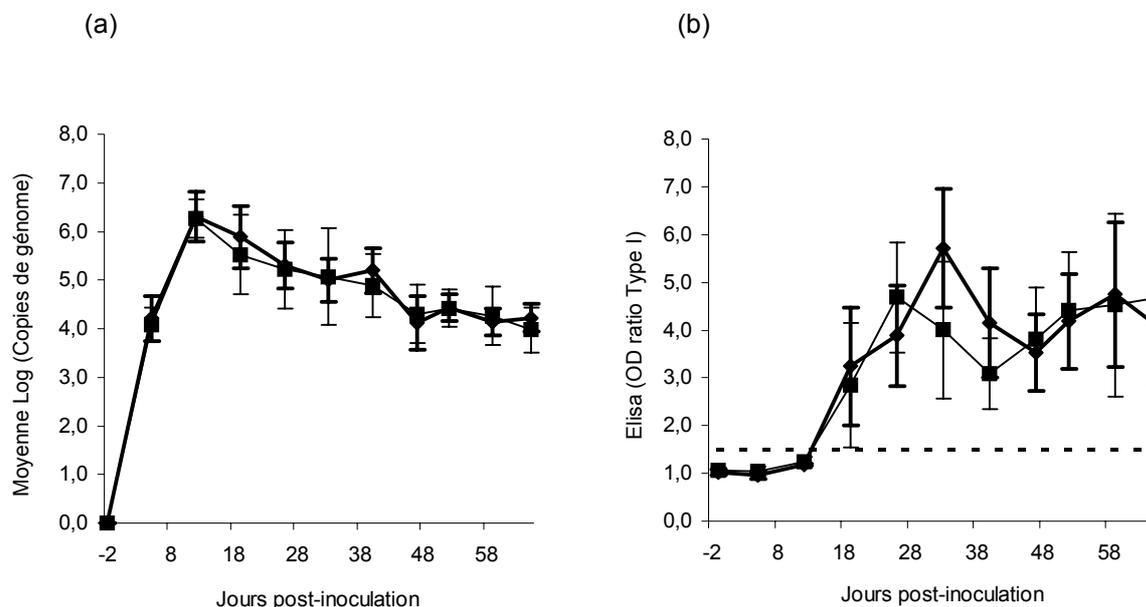
1. RESULTATS SEROLOGIQUES ET PCR

Les huit porcs témoins sont restés négatifs tout au long de l'essai. Aucune différence n'a pu être mise en évidence entre le groupe inoculé contact et témoin que ce soit au niveau de la charge génomique ou bien de la réponse immunitaire (figure 2b), ce qui montre que les

porcs inoculés n'ont pas été affectés par les contacts successifs. La charge génomique augmente entre 0 et 11 jours post-inoculation (JPI), puis décroît sensiblement jusqu'à la fin de l'essai. L'ensemble des porcs inoculés montre une séroconversion vers 18 JPI.

Figure 2

Résultats PCR (a) et sérologiques (b) chez les porcs inoculés contacts (ligne épaisse) et témoins (ligne fine)



Les résultats PCR et sérologiques chez les porcs contacts ont permis d'identifier deux types d'infection : des infections primaires, qui ont eu lieu lors de la période de contact avec les porcs inoculés et des infections dites secondaires qui ont eu lieu après le retour des porcs contacts dans leurs cases d'origine. Dans une case spécifique, les infections détectées plus de 15 jours après les premières ne peuvent être causées par les porcs inoculés pour deux raisons :

1. les charges génomiques chez les porcs inoculés étaient homogènes ;

2. le taux de contact entre les animaux inoculés et les animaux EOPS au cours du mélange peut raisonnablement être supposé uniforme.

Le nombre d'infections primaires était croissant sur la période 0 JPI à 18 JPI (0, 7 et 8 porcs infectés à 4, 11 et 18 JPI respectivement) puis décroissant jusqu'à la fin de l'essai (4, 2 et 1 porc infecté à 25, 32 et 39 JPI respectivement). Aucun porc n'ayant contracté l'infection dans le groupe contact à 4 JPI, la durée de la période latente se situe entre 6 et 10 JPI.

2. PARAMETRE DE TRANSMISSION ET MODELE TEMPS-DEPENDANTS

La fonction de transmission est une fonction paramétrique unimodale : une fonction de type gamma a été utilisée :

$$\beta(\tau) = \begin{cases} \frac{(\tau - Lat)^{k-1} \exp\left(-\frac{(\tau - Lat)}{\theta}\right)}{\theta^k} & \text{si } \tau \geq Lat \\ 0 & \text{si } \tau < Lat \end{cases}$$

Où Lat représente la durée de la période latente. Estimer la fonction $\beta(\tau)$ revient à l'estimation de ces deux paramètres k et θ . Les estimations ont été effectuées pour chaque valeur de la durée de période latente comprise entre 6 et 10 jours. L'ensemble des jeux de paramètres obtenus est donné dans le tableau 1.

Tableau 1

Estimations des paramètres de la fonction de transmission [$\beta(\tau)$] et comparaisons aux données observées et à des données externes [Andraud *et al.*, 2008]

Latence (jours)	Paramètres $\beta(\tau)$ (CI)		R_0 (CI)	Test du Chi2 sur données observées			Test du Chi2 sur données externes		
	k	θ		Chi Square	P-value	R2	Chi Square	P-value	R2
6	3,9 (3,5;4,3)	3,2 (2,4;4,0)	5,3 (3,2;9,2)	0,36	0,99	0,96	7,09	0,42	0,38
7	3,9 (3,5;4,3)	3,0 (2,2;3,7)	5,4 (3,2;9,6)	0,47	0,98	0,96	3,48	0,84	0,74
8	4,0 (3,6;4,4)	2,7 (2,0;3,3)	5,7 (3,2;10,5)	0,68	0,95	0,95	1,68	0,95	0,94
9	4,1 (3,5;4,6)	2,3 (1,7;2,9)	6,4 (3,4;13,2)	1,05	0,9	0,93	4,52	0,61	0,73
10	4,3 (3,6;5,0)	1,9 (1,3;2,4)	9,0 (3,6;25,7)	1,88	0,75	0,86	9,8	0,13	0,53

Le modèle infectieux temps-dépendant a été mis en place pour chaque jeu de paramètres. Les résultats obtenus ont été comparés statistiquement (Chi Square goodness of fit test) aux données issues de l'essai de transmission préalablement décrit, ce qui a permis de conclure à une durée de période latente de 8 jours (tableau 1).

Avec cette latence de 8 jours, la prédiction de l'incidence et de la prévalence observées dans l'essai précédent [Andraud *et al.*, 2008] est nettement meilleure avec le modèle temps-dépendant qu'avec un modèle SEIR classique (β constant) (figure 3).

Le mode de la fonction du taux de transmission est situé entre 17 et 18 jours, correspondant à la phase croissante de la charge génomique chez les individus inoculés. Le taux de transmission décroît ensuite de manière continue jusqu'au 46^{ième} JPI où il devient négligeable ($\beta(46) < 0,001$). La phase décroissante correspond à l'apparition de la réponse immunitaire chez l'hôte (figure 4). Le ratio de reproduction de base (R_0) a ainsi été estimé à 5,7 (intervalle de confiance : [3,2 ; 10,5]).

Figure 3

Comparaison des résultats du modèle avec les résultats de l'essai de transmission : incidence cumulée entre deux intervalles de temps (lignes noires) et prévalence (lignes grises).
 Les données issues de l'essai sont représentées en traits pleins, les sorties des modèles en traits discontinus : (a) modèle SEIR temps-dépendant, (b) modèle SEIR classique.

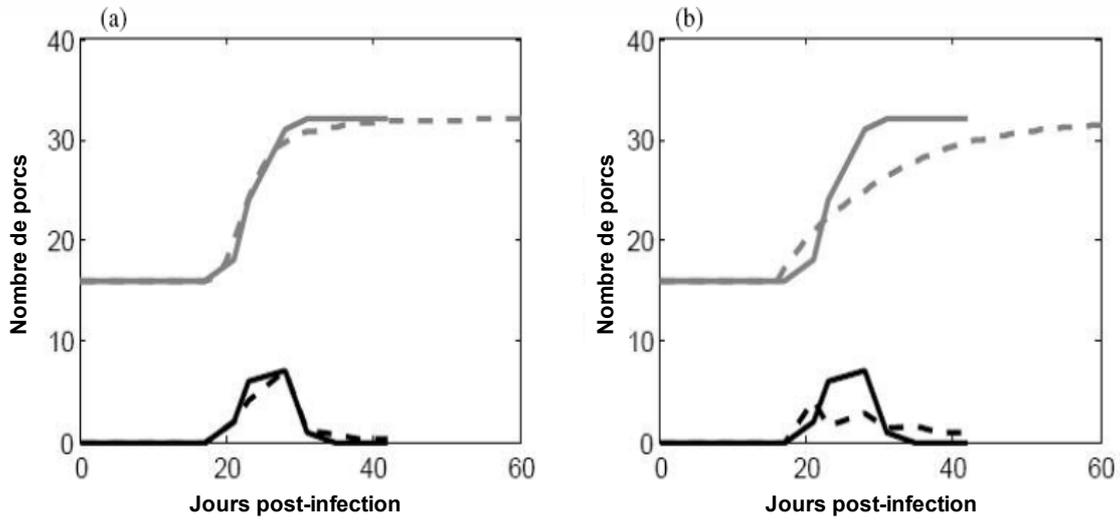
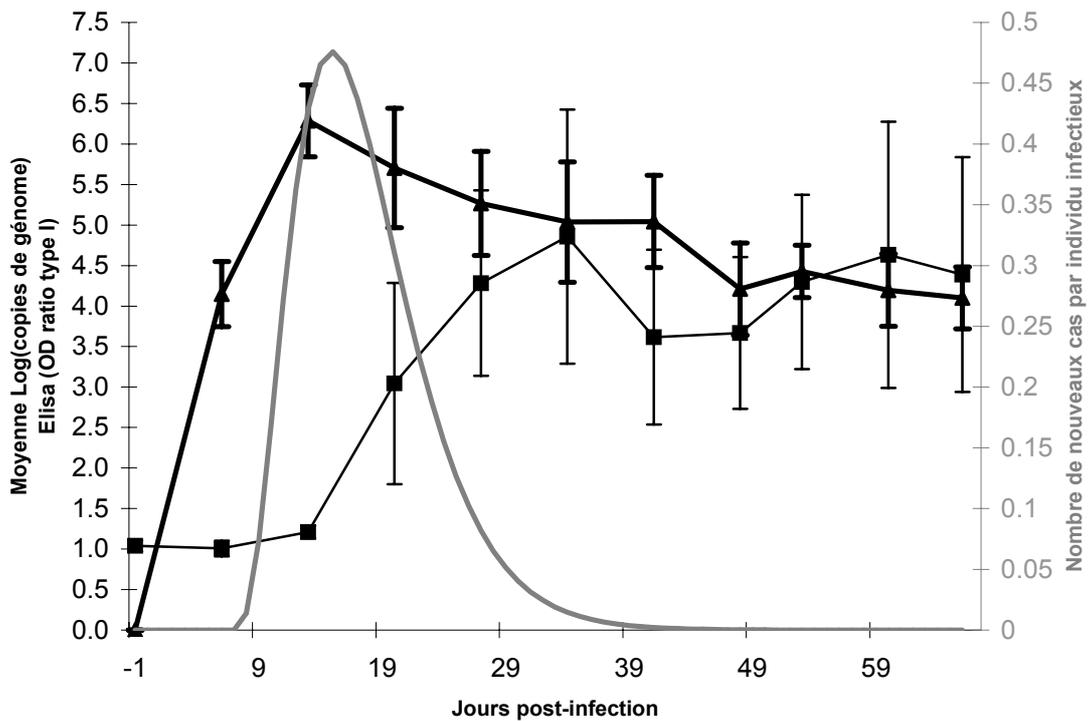


Figure 4

Relation entre charge génomique (courbe épaisse), sérologie (courbe fine) et la fonction de taux de transmission (ligne grise)



IV - DISCUSSION

Le circovirus porcin de type 2 est reconnu comme l'agent causal de la maladie de l'amaigrissement du porcelet. De nombreuses études expérimentales ont été menées afin de reproduire le syndrome dans un environnement contrôlé, mais la seule inoculation avec le PCV-2 n'a jamais permis d'obtenir de symptômes ni de lésions typiques de la maladie [Allan *et al.*, 1999 ; Kennedy *et al.*, 2000]. L'étude présentée ici ne déroge pas à la règle et les porcs inoculés ne présentaient aucun signe clinique de la maladie. Tous les porcs inoculés ont été infectés et la transmission du virus des porcs inoculés aux porcs EOPS a bien été effective. De plus, aucune différence de charge génomique n'a pu être observée entre les porcs inoculés et les porcs secondairement infectés par contact. De même, aucune différence n'a été constatée entre les porcs inoculés contacts (salle 7) et témoins (salle 8), montrant que les contacts successifs n'ont pas joué de rôle sur la réplication virale chez les porcs inoculés soumis aux contacts successifs.

Une série de six contacts consécutifs a été menée entre un groupe inoculé et six groupes contacts constitués de porcs EOPS. Les contacts ont eu lieu toutes les semaines sur une durée de 2 jours. Cette approche diffère des essais de transmission classiques [Andraud *et al.*, 2008 ; Eblé *et al.*, 2006 ; Klinkenberg *et al.*, 2002] et une nouvelle méthodologie a dû être utilisée afin d'estimer un taux de transmission dépendant du temps depuis l'infection chez les porcs inoculés. Les résultats sérologiques et de PCR en temps réel ont permis d'identifier deux types d'infections : les infections primaires, causées par les animaux inoculés, et les infections secondaires, dues aux contacts intra-groupes après retour dans leurs salles d'origine. L'objectif de l'étude étant d'évaluer le potentiel infectieux des porcs inoculés uniquement, seules les infections primaires ont été prises en compte dans les calculs. Le nombre d'infections primaires, *i.e.* causées par les animaux inoculés, était croissant sur les trois premières périodes de contacts (0, 7, 8 infections respectivement pour les groupes CD4, CD11 et CD18) puis décroissant pour les groupes suivants (4, 2, et 1 infection pour les groupes CD25, CD32 et CD39 respectivement). Lors du dernier essai de transmission (39 JPI), un seul porc contact a été infecté, ce qui peut laisser supposer qu'un essai supplémentaire mené 46 jours post-

inoculation n'aurait probablement abouti à aucune infection.

La phase croissante du taux de transmission, entre 8 et 17 JPI, correspond à la phase croissante de la charge génomique des animaux inoculés [Ladekjaer-Mikkelsen *et al.*, 2002 ; Pensaert *et al.*, 2004 ; Yu *et al.*, 2007]. Une relation peut donc être établie entre charge génomique et potentiel infectieux en début de virémie. Cependant, la charge génomique retrouvée dans le sérum reste relativement élevée longtemps après infection (jusqu'à 70 JPI) [McIntosh *et al.*, 2006 ; Rodriguez-Arriola *et al.*, 2002 ; Shibata *et al.*, 2003] alors que, selon nos résultats, le taux de transmission décroît après 17 JPI pour devenir négligeable au-delà de 46 JPI. Cette contradiction peut être expliquée par deux raisons : (i) la détection d'un certain nombre de copies d'ADN viral ne constitue pas une preuve de la présence de particules virales infectieuses car une partie d'ADN libre non encapsidé peut être détecté ; (ii) la décroissance du potentiel infectieux correspond au délai d'apparition des anticorps neutralisants contre le PCV-2 (entre 14 et 21 jours post-infection) [Fort *et al.*, 2007 ; Meerts *et al.*, 2006 ; Opriessnig *et al.*, 2007]. Par conséquent, le statut infectieux des animaux ne peut être déterminé uniquement par tests PCR et sérologiques mais par la capacité d'infection de porcs susceptibles.

Un modèle SEIR prenant en compte le paramètre de transmission temps-dépendant a été développé. Les incidences et prévalences estimées par le modèle ont été comparées à celles obtenues lors d'un essai expérimental indépendant. De plus, la comparaison avec les incidences et prévalences obtenues avec un modèle SEIR classique a permis de conclure à une meilleure adéquation aux données avec le modèle temps-dépendant. Ainsi, le processus infectieux observé peut être décrit de manière beaucoup plus réaliste à l'aide du taux de transmission dépendant du temps depuis l'infection estimé dans cette étude.

Les porcs inoculés présentaient des infections subcliniques. Or, les porcs atteints par la maladie de l'amaigrissement du porcelet possèdent des charges génomiques plus élevées et une réponse immunitaire amoindrie [Fort *et al.*, 2007 ; Meerts *et al.*, 2006]. Le taux de transmission peut donc être différent chez les porcs atteints de MAP clinique de par l'intensité du potentiel infectieux et la durée de

la période infectieuse. Cette étude pourrait être reproduite avec des porcs atteints par la MAP afin d'évaluer les conséquences de

l'expression clinique de la maladie sur la transmission du virus.

BIBLIOGRAPHIE

- Allan G., Ellis J. - Porcine circoviruses : a review. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2000, **12**, 3-14.
- Allan G., Kennedy S., Mcneilly F., Foster J., Ellis J., Krakowka S., Meehan B., Adair B. - Experimental reproduction of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus. *J. Comp. Pathol.*, 1999, **121**, 1-11.
- Anderson R.M., May R.M. - Infectious diseases of humans : dynamics and control, 768 pages, Oxford University Press, New-York, 1991.
- Andraud M., Grasland B., Durand B., Cariolet R., Jestin A., Madec F., Rose N. - Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV2) within- and between-pen transmission in pigs. *Vet. Res.*, 2008, **39**, doi: 10.1051/vetres:2008020.
- Blanchard P., Mahe D., Cariolet R., Truong C., Le Dimna M., Arnould C., Rose N., Eveno E., Albina E., Madec F., Jestin A. - An ORF2 protein-based ELISA for porcine circovirus type 2 antibodies in post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Vet. Microbiol.*, 2003, **94**, 183-194.
- Blythe S.P., Anderson R.M. - Variable infectiousness in HFV transmission models. *Math. Med. Biol.*, 1988, **5**, 181-200.
- Calsamiglia M., Segalés J., Quintana J., Rosell C., Domingo M. - Detection of porcine circovirus types 1 and 2 in serum and tissue samples of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, **40**, 1848-1850.
- Cariolet R., Marie P., Moreau G., Robert H. - Summary of the different methods for producing, maintaining and benefiting from piglets of high health status. *Journées de la Recherche Porcine*, 1994, **26**, 1-12.
- De Jong M.C.M. - Mathematical modelling in veterinary epidemiology : why model building is important. *Prev. Vet. Med.*, 1995, **25**, 183-193.
- Eblé P., De Koeijer A., Bouma A., Stegeman A., Dekker A. - Quantification of within- and between-pen transmission of foot-and-mouth disease virus in pigs. *Vet. Res.*, 2006, **37**, 647-654.
- Fort M., Olvera A., Sibila M., Segalés J., Mateu E. - Detection of neutralizing antibodies in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected farms. *Vet. Microbiol.*, 2007, **125**, 244-255.
- Fraser C. - Estimating individual and household reproduction numbers in an emerging epidemic. *PLoS ONE*, 2007, **2** (8), e758.
- Fraser C., Riley S., Anderson R.M., Ferguson N.M. - Factors that make an infectious disease outbreak controllable. *Proc N. A. S.*, 2004, **101**, 6146-6151.
- Grasland B., Loizel C., Blanchard P., Oger A., Nignol A.-C., Bigarré L., Morvan H., Cariolet R., Jestin A. - Reproduction of PMWS in immunostimulated SPF piglets transfected with infectious cloned genomic DNA of type 2 porcine circovirus. *Vet. Res.*, 2005, **36**, 685-697.
- Kennedy S., Moffett D., Mcneilly F., Meehan B., Ellis J., Krakowka S., Allan G. - Reproduction of Lesions of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome by Infection of Conventional Pigs with Porcine Circovirus Type 2 Alone or in Combination with Porcine Parvovirus. *J. Comp. Pathol.*, 2000, **122**, 9-24.
- Kermack W.O., Mckendrick A.G. - A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proc. Roy. Soc. Lond*, 1927, **115**, 700-721.
- Klinkenberg D., De Bree J., Leavens H., De Jong M. C.M. - Within- and between-pen transmission of Classical Swine fever Virus : a new method to estimate the basic reproduction ratio from transmission

- experiments. *Epidemiol. Infect.*, 2002, **128**, 293-299.
- Ladekjaer-Mikkelsen A.-S., Nielsen J., Stadejek T., Storgaard T., Krakowka S., Ellis J., Mcneilly F., Allan G., Botner A. - Reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in immunostimulated and non-immunostimulated 3-week-old piglets experimentally infected with porcine circovirus type 2 (PCV2). *Vet. Microbiol.*, 2002, **89**, 97-114.
- Lloyd A.L. - Destabilization of epidemic models with the inclusion of realistic distributions of infectious periods. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 2001, **268**, 985-993.
- Lopez-Soria S., Segalès J., Rose N., Viñas M.J., Blanchard P., Madec F., Jestin A., Casal J., Domingo M. - An exploratory study on risk factors for postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Spain. *Prev. Vet. Med.*, 2005, **69**, 97-107.
- Madec F., Eveno E., Morvan P., Hamon L., Blanchard P., Cariolet R., Amenna N., Marvan H., Truong C., Mahe D., Albina E., Jestin A. - Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs in France : clinical observations from follow-up studies on affected farms. *Livest. Prod. Sci.*, 2000, 223-233.
- Mccallum H., Barlow N., Hone J. - How should pathogen transmission be modelled? *Trends Ecol. Evol.*, 2001, **16**, 295-301.
- Mcintosh K.A., Harding J.C.S., Ellis J.A., Appleyard G.D. - Detection of Porcine circovirus type 2 viremia and seroconversion in naturally infected pigs in a farrow-to-finish barn. *Can. J. Vet. Res.*, 2006, **70**, 58-61.
- Meerts P., Misinzo G., Lefebvre D., Nielsen J., Botner A., Kristensen C.S., Nauwynck H.J. - Correlation between the presence of neutralizing antibodies against porcine circovirus 2 (PCV2) and protection against replication of the virus and development of PCV2-associated disease. *BMC Vet. Res.*, 2006, 2, doi:10.1186/1746-6148-2-6.
- Opriessnig T., Madson D.M., Pogranichniy R. M., Meng, X.J., Halbur P.G. - Long-term effect of PCV2-infection and reinfection on PCV2-antibody and DNA profiles in pigs over time. Proceedings of the 5th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases, 2007, Krakow, Poland.
- Pensaert M.B., Sanchez R.E.J., A.-S., L.-M., Allan G. M., Nauwynck H. J. - Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Vet. Microbiol.*, 2004, **98**, 175-183.
- Pinkerton S.D., Abramson P.R. - Implication of increased infectivity in early-stage HIV infection. *Eval. Rev.*, 1996, **20**, 516-540.
- Rodriguez-Arrijoja G., Segalès J., Calsamiglia M., Resendes A., Balasch M., Plana-Duran J., Casal J., Domingo M. - Dynamics of porcine circovirus type 2 infection in a herd with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Am. J. Vet. Res.*, 2002, **63**, 354-357.
- Segalés J., Calsamiglia M., Olvera A., Sibila M., Badiella L., Domingo M. - Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in serum and tonsillar, nasal, tracheo-bronchial, urinary and faecal swabs of pigs with and without postweaning multisystemic syndrome (PMWS). *Vet. Microbiol.*, 2005, **111**, 223-229.
- Segalés J., Domingo M. - Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. A review. *Vet. Q.*, 2002, **24**, 109-124.
- Shibata I., Okuda Y., Yazawa S., Ono M., Sazaki T., Itagaki M., Nakajima N., Okabe Y., Hidejima I. - Porcine circovirus type 2 DNA in whole blood, serum, oropharyngeal swab, nasal swab, and feces from experimentally infected pigs and field cases. *J. Vet. Med. Sci.*, 2003, **65**, 405-408.
- Wawer M. J., Gray R. H., Sewankambo N. K., Serwadda D., Li X., Laeyendecker O., Kiwanuka N., Kigozi G., Kiddugavu M., Lutalo T., Nalugoda F., Wabwire-Mangen F., Meehan M.P., Quinn T.C. - Rates of HIV-1 transmission per coital act, by stage of HIV-1 infection, in Rakai, Uganda. *J. Infect. Dis.*, 2005, **191**, 1403-1409.
- Yu S., Opriessnig T., Kitikoon P., Nilubol D., Halbur P.G., Thacker E. - Porcine circovirus type 2 (PCV2) distribution and replication in tissues and immune cells in early infected pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2007, **115**, 261-272.

