

# COMPATIBILITE D'UN NOUVEAU VACCIN VECTEUR HVT-GUMBORO AVEC LA VACCINATION DE LA MALADIE DE NEWCASTLE ET DE LA BRONCHITE INFECTIEUSE A L'AGE D'UN JOUR

**Jay Marie-Laure, Bizzini Sandrine, Duboeuf Michelle, Goutebroze Sylvain, Le Gros François-Xavier**

*MERIAL S.A.S. - Laboratoire de Lyon Gerland, 254 rue Marcel Mérieux - 69007 LYON*

## RÉSUMÉ

La compatibilité d'un vaccin vecteur HVT dirigé contre les maladies de Marek (MD) et de Gumboro (IBD) administré par voie sous cutanée sur des poussins d'un jour, avec la vaccination de la maladie de Newcastle (ND) et de la Bronchite Infectieuse (IB) pratiquées en mélange par nébulisation, a été vérifiée lors de trois études. Dans la première, des poussins conventionnels de type chair furent vaccinés avec les souches Avinew (ND) et H120 (IB). Ils reçurent simultanément une dose de vaccin vecteur HVT-Gumboro. Des poussins de même origine furent conservés sans vaccination. Vingt poussins de chaque groupe furent prélevés aux âges de 21/22 et 42 jours pour épreuve virulente ND et IB. La protection par épreuve virulente contre IBD et MD fit l'objet des études suivantes sur animaux EOPS. Ainsi, dans la deuxième étude, quatre-vingts poussins furent vaccinés comme suit à l'âge d'un jour : 30 reçurent une dose du vaccin vecteur HVT-Gumboro seul, 20 une dose de la vaccination associée ND/IB et 30 l'ensemble des deux traitements. Une épreuve virulente IBD fut pratiquée 14 jours après vaccination au moyen de la souche de virulence classique F52/70. Dans la troisième étude, 3 groupes de 36 poussins de 1 jour reçurent les mêmes traitements que dans la seconde étude. Ils furent éprouvés 9 jours après au moyen de la souche MD de virulence classique GA22; la lecture de l'épreuve fut réalisée par examen macroscopique à l'âge de 79 jours. Dans les 3 études, des conversions sérologiques et des protections contre les épreuves correspondantes aux immunisations pratiquées furent observées. Des scores de protection supérieurs à 90% furent obtenus dans tous les groupes vaccinés. Aucun effet négatif des associations vaccinales ne fut constaté. Nous concluons que la vaccination associée des quatre dominantes pathologiques aviaire MD, ND, IB et IBD est possible chez le poussin à l'âge d'un jour au moyen d'un vaccin vecteur HVT-IBD et des vaccins classiques ND et IB.

## ABSTRACT

The compatibility of an HVT vector-vaccine against Marek (MD) and Gumboro (IBD) diseases delivered through subcutaneous injection to one day-old chicks, with the vaccination against Newcastle disease and Infectious Bronchitis delivered by spray, was studied and verified by three trials. In the first one, conventional broilers were vaccinated using Avinew (ND) and H120 (IB) strains. They were simultaneously given 1 dose of a vector HVT-IBD vaccine. Control chicks of same origin were kept unvaccinated. Twenty birds of each group were allocated at 21/22 and 42 days-old to groups for virulent ND and IB challenges. The protection against IBD and MD was studied in the following trials on SPF birds. So, in the 2<sup>nd</sup> trial, eighty chicks were vaccinated as follows at one day-old: 30 were given one dose of the vector HVT-IBD vaccine alone, 20 received one dose of the associated vaccination ND/IB and 30 received both treatments. A virulent IBD challenge was performed 14 days post vaccination with the strain of classical virulence F52/70. In the third trial, 3 groups of 36 one day-old birds received the same treatments as in trial 2. They were challenged 9 days later with the MD strain of classical virulence GA22; the challenge reading was performed through macroscopic observation at 79 days of age. In the 3 trials, serological conversion and protection against the corresponding challenges were observed. In vaccinated groups the protection scores were above 90%. No negative effect was observed due to the vaccine association. We conclude that the associated vaccination against four of the main chicken pathologies MD, ND, IB and IBD is possible as from one day of age, using a combination of a vector vaccine HVT-IBD and classical ND and IB vaccines.

## INTRODUCTION

Les conditions épidémiologiques présentes dans de nombreux pays rendent nécessaire l'usage de la vaccination des poulets de chair contre la Bronchite Infectieuse et les maladies de Newcastle, de Gumboro et parfois également de Marek.

La courte durée de la période d'élevage de ces animaux ainsi que la praticité de la vaccination au couvoir plutôt qu'en élevage conduisent de plus en plus souvent à réaliser ces immunisations dès l'âge d'un jour. Cette pratique est en effet déjà fréquente concernant la vaccination ND et IB par nébulisation, avec cependant des doutes de certains auteurs sur leur compatibilité réelle (Thornton & Muskett, 1975). La présence d'anticorps d'origine maternelle à cet âge rend par contre impossible la vaccination de la maladie de Gumboro au moyen de vaccins atténués classiques. Cependant l'introduction récente sur le marché d'un vaccin vecteur utilisant une souche de vaccin de la maladie de Marek (souche HVT) modifiée pour induire également une immunisation contre la maladie de Gumboro (Vaxxitek® HVT+IBD), rend possible la vaccination conjointe contre ces deux maladies par injection au couvoir (Bublot *et al.*, 2007). Il était donc important de vérifier la compatibilité de ces multiples immunisations pratiquées simultanément sur le jeune poussin, bien que par des voies différentes (nébulisation pour ND et IB et voie parentérale pour MD et IBD).

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Essai n°1: efficacité ND, IB et activité IBD en présence d'immunité maternelle.

Des poussins conventionnels de type chair de l'âge d'un jour furent vaccinés par nébulisation (système Spra-Vac®) au moyen des spécialités Avinew® (ND) et Bioral® H120 (IB) en mélange aux doses minimales respectives. Ils reçurent simultanément une dose de vaccin vecteur Vaxxitek HVT+IBD par injection sous-cutanée. Des poussins de même origine non vaccinés furent conservés comme contrôles. Un suivi sérologique ND, IB et IBD de chacun des deux groupes fut pratiqué sur dix animaux aux âges de 1, 21, 28, 35, 42 et 56 jours. Vingt poussins vaccinés et dix non vaccinés furent prélevés aux âges de 21 et 42 jours pour épreuve virulente ND suivant les normes de la monographie 0450 de la Pharmacopée Européenne (Ph Eur); et de même aux âges de 22 et 42 jours pour épreuve IB suivant la monographie Ph Eur 0442. Le critère de ré-isollement trachéal du virus d'épreuve par ovoculture 5 jours après épreuve fut utilisé. Dix témoins EOPS furent également engagés dans cette épreuve.

### 1.2. Essai n°2 : activité ND, IB et efficacité IBD sur animaux EOPS.

Quatre-vingts poussins EOPS (origine Lohmann) furent vaccinés comme suit à l'âge d'un jour : 30 reçurent par voie sous-cutanée le vaccin vecteur HVT-Gumboro seul à dose minimale, 20 la vaccination associée ND/IB au moyen d'une dose par nébulisation et 30 l'ensemble des deux traitements. 20 animaux des groupes vaccinés IBD et 10 du groupe non vacciné pour cette valence furent éprouvés 14 jours après vaccination au moyen de la souche IBD de virulence classique F52/70 suivant les spécifications de la monographie Ph Eur 0587. Le score lésionnel des bourses de Fabricius par examen histologique fut utilisé comme critère. Les animaux restant non éprouvés firent l'objet d'un suivi sérologique ND, IB, IBD à l'âge de 28 jours.

### 1.3. Essai n°3 : activité ND, IB, IBD et efficacité MD sur animaux EOPS.

Trois groupes de 36 poussins EOPS (origine Lohmann) d'un jour reçurent les mêmes traitements que dans la seconde étude. Ils furent éprouvés 9 jours après au moyen de la souche MD de virulence classique GA22 suivant la monographie de la Ph Eur 0589; la lecture de l'épreuve fut réalisée par examen macroscopique à l'âge de 79 jours. Ces animaux firent également l'objet d'un suivi sérologique ND, IB et IBD à cette date.

### 1.4. Techniques sérologiques

Les anticorps de la maladie de Newcastle furent mesurés par la technique d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) utilisant 4 unités hémagglutinantes suivant les spécifications de la monographie de la Ph Eur 0870. Les anticorps de la Bronchite Infectieuse furent quantifiés par séroneutralisation bêta (SN) en microculture sur cellules primaires de rein de poussins utilisant des dilutions de sérums de raison 3.16 ( $0.5 \log_{10}$ ) et une quantité fixe d'antigène Massachusetts de 100 DICC<sub>50</sub>/puits. Les anticorps de la maladie de Gumboro le furent par une technique analogue sur cellules VERO utilisant une dilution de sérums de même raison  $0.5 \log_{10}$  et 200 DICC<sub>50</sub> d'antigène IBD par puits.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Essai n°1

Une conversion sérologique significativement différente des témoins non vaccinés fut observée contre les 3 antigènes ND, IB et IBD après

décroissance de l'immunité d'origine maternelle. Ces résultats sont reportés en figure 1. La réponse sérologique ND resta très faible et ne fut statistiquement différente des témoins non vaccinés qu'en fin d'essai; ceci peut être attribué à l'interférence avec l'immunité passive correspondante en comparaison des résultats de l'essai n°2 sur animaux EOPS. Lors de l'épreuve précoce ND à l'âge de 21 jours les scores de protection suivants furent constatés dans les différents groupes : animaux conventionnels vaccinés 90% (2 morts sur 20) ; animaux conventionnels non vaccinés 40% (5 morts et 1 malade sur 10), cette protection partielle significativement inférieure au score du groupe vacciné étant due à l'immunité passive résiduelle sur ces oiseaux ( $p=1.3\%$  test de  $\chi^2$  avec correction de Yates); animaux EOPS non vaccinés 0% (10 morts sur 10). La protection additionnelle apportée à cet âge par la vaccination Newcastle fut donc clairement mise en évidence. Lors de l'épreuve tardive à l'âge de 42 jours ces scores furent respectivement pour les mêmes traitements : 100% (0 mort/20) ; 10% (9 morts/10) ; 0% (10 morts/10). Dans ces deux épreuves la protection ND après vaccination fut satisfaisante et l'interférence des anticorps maternels visible sur la séroconversion n'eut donc pas d'effet sur la protection des animaux. Lors de l'épreuve IB précoce à l'âge de 22 jours les scores de protection suivants furent constatés : animaux conventionnels vaccinés, 90% (2 positifs sur 20) ; animaux conventionnels non vaccinés 0% (10 positifs sur 10) ; animaux EOPS non vaccinés 0% (10 positifs sur 10). Lors de l'épreuve tardive à l'âge de 42 jours ces scores furent respectivement pour les mêmes traitements : 95% (1 positif/20) ; 0% (10 positifs/10) ; 0% (10 positifs/10). L'ensemble de ces résultats est reporté en figure 2. On constate donc dans cet essai une prise vaccinale satisfaisante contre ND (quoique non accompagnée d'une conversion sérologique franche pour cette valence), IB et IBD à l'issue de la vaccination associée et en présence d'une immunité d'origine maternelle, en comparaison d'animaux non vaccinés. Dans ce contexte la protection contre des épreuves virulentes ND et IB s'est montrée très satisfaisante. L'absence de groupes recevant une vaccination monovalente non associée ne permet toutefois pas de conclure quant à une interférence partielle au plan sérologique. Ce point a fait entre autres l'objet des essais suivants.

## 2.2. Essai n°2

Les moyennes géométriques en anticorps IHA ND observés à l'âge de 28 jours étaient  $5,1 \log_2$  pour le groupe recevant les vaccins ND/IB seuls et  $4,6 \log_2$  pour celui recevant ces vaccinations associées à HVT-IBD. Ces niveaux ne sont pas significativement différents au seuil 5% (test de Kruskal-Wallis). Ils sont par contre nettement supérieurs à ceux constatés au même âge et même ultérieurement dans l'essai n°1

en présence d'anticorps d'origine maternelle. La faible séroconversion obtenue dans ce premier essai était donc bien à attribuer à l'effet de l'immunité passive sur la prise vaccinale sérologique ND et non à une interférence entre vaccins. Les valeurs SN IB furent d'interprétation difficile les niveaux moyens atteints n'étant pas nettement positifs. Cependant le même pourcentage d'animaux positifs fut observé dans les deux groupes vaccinés, 57 et 60% respectivement. En comparaison avec le 3ème essai où ces valeurs furent clairement positives 79 jours après vaccination, on peut penser que dans ce second essai le contrôle sérologique pratiqué 28 jours après vaccination était trop précoce pour révéler une séroconversion nette. Ce fut pourtant le cas dans l'essai 1; le dispositif de nébulisation différent dans ces deux essais pourrait être à l'origine de cette différence. La séroconversion IBD fut identique dans ces deux groupes avec des moyennes respectives de titre SN de 3,1 et 3,0  $\log_{10}$ . Ces titres furent sensiblement supérieurs à ceux obtenus en présence d'une immunité maternelle. La protection observée après épreuve IBD fut de 100% dans le groupe recevant la vaccination HVT-IBD seule avec aspect normal des bourses de Fabricius sur les 20 animaux, 0% dans le groupe recevant la vaccination ND/IB seule avec 50% de mortalité et un score lésionnel maximal de 5 sur les survivants, et 100% dans le groupe recevant ces vaccinations associées avec aspect normal des bourses de Fabricius sur les 20 animaux. Ces observations sont rapportées dans le tableau 1. Elles ne révèlent pas d'incompatibilité entre les différents vaccins engagés dans l'essai en particulier en matière de protection contre la maladie de Gumboro, ni d'interférence même partielle au plan sérologique, entre les vaccinations ND/IB d'une part et la vaccination HVT-IBD d'autre part.

## 2.3. Essai n°3

Les valeurs sérologiques disponibles concernent uniquement la fin d'essai à l'âge de 79 jours. Elles confirment une prise vaccinale correspondant aux traitements appliqués ainsi que l'absence d'interférence entre vaccinations. Les taux d'anticorps IHA ND étaient de 2,6 et 2,9  $\log_2$  respectivement pour les groupes recevant la vaccination seule ou associée. Ces taux plus faibles que dans l'essai précédent mesurés à l'âge de 28 jours sont à relier à la faible persistance de cette immunité. Les taux d'anticorps SN IB étaient respectivement de 1,75 et 2,0  $\log_{10}$  et furent donc cohérents avec ceux observés à l'âge de 60 jours dans l'essai n°1. Les taux d'anticorps SN IBD étaient respectivement de 4,4 et 4,3  $\log_{10}$ , et confirmèrent l'excellente persistance de cette immunité faisant suite à la vaccination à l'âge d'un jour (Goutebroze *et al.*, 2003), ainsi qu'une séroconversion clairement supérieure sur animaux EOPS par rapport à celle obtenue dans l'essai n°1 en présence d'une immunité passive. Une telle

observation était déjà présente dans l'essai n°2. A l'issue de l'épreuve MD, 72% des animaux témoins immunisés ND/IB uniquement ont présenté des lésions spécifiques de la maladie (26 animaux sur 36). Les groupes vaccinés HVT-MD seul ou en association n'ont présenté respectivement qu'un animal sur 30 ou 35 porteur de lésions spécifiques, soit 95,4 et 96% de protection relative telle que défini par la Pharmacopée Européenne, en comparaison du groupe témoin. Ces résultats sont rapportés dans le tableau 2. Ils complètent et confirment les observations des essais précédents quant à la compatibilité des vaccins testés en particulier concernant la protection contre la maladie de Marek.

## CONCLUSION

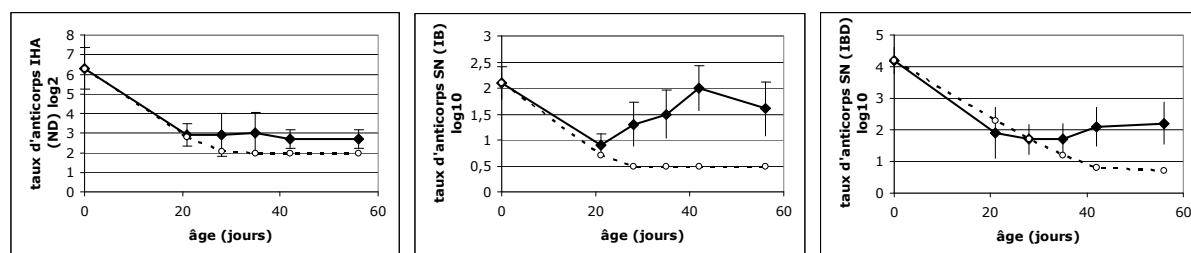
Cet essai n'a pas étudié spécifiquement l'interaction des vaccins ND et IB administrés en mélange par nébulisation. Cependant si une interférence partielle ne peut être exclue, les résultats obtenus avec cette association, satisfaisants sur les critères sérologiques ou cliniques suivant les cas, confirment le bienfondé d'une pratique terrain déjà bien établie. En revanche,

le but de ces essais était d'établir que cette vaccination ND/IB combinée était elle même compatible avec la vaccination HVT-IBD pratiquée au même âge mais par voie parentérale. Si dans ces essais une interférence de l'immunité passive sur les séroconversion ND et IB est visible, elle n'affecte pas la protection clinique contre une épreuve virulente chez le poulet de chair conventionnel. Ceci confirme des travaux antérieurs quant à la protection IBD en présence d'immunité d'origine maternelle (Prandini *et al.* 2008, Massi *et al.* 2008) Par ailleurs aucune interférence entre ces vaccinations elles mêmes n'est mise en évidence. Au vu de ces essais, une immunisation du poussin d'un jour est donc possible contre la Bronchite Infectieuse et les maladies de Newcastle, de Marek et de Gumboro, qui sont quatre dominantes pathologiques de l'espèce poule. Cette immunisation qui peut être pratiquée au couvoir dans un environnement contrôlé et sur des effectifs regroupés présentera probablement une robustesse améliorée par rapport aux vaccinations en élevage notamment en production chair. Ceci reste toutefois à confirmer en conditions réelles d'emploi et sous de larges effectifs.

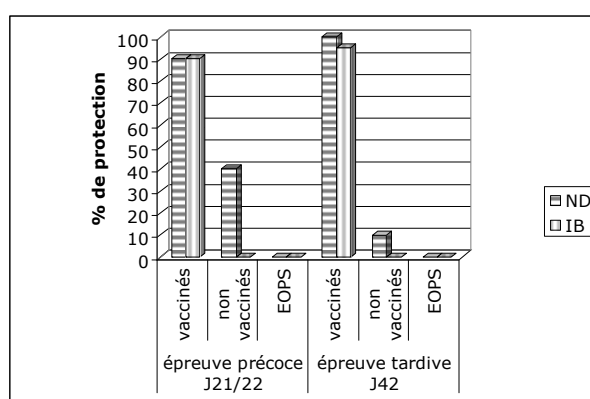
## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bublot M., Pritchard N., Le Gros F.X., Goutebroze S. 2007. J. Comp. Path. 137, S81-S84.  
 Goutebroze S., Curet M., Jay M.L., Roux C., Le Gros F.X., 2003. British Poultry Science. 44, 824-825.  
 Massi P., Tossi G., Fiorentini L. 2008. Zootechnica international, in press.  
 Prandini F., Bublot M., Le Gros F.X., Dancer A., Pizzoni L., Lamichhane C., 2008. Zootechnica international, sep: 40-50.  
 Thornton D.H. & Muskett J.C., 1975. Vet. Record, 96, 467-468.

**Figure 1.** Suivis sérologiques de l'essai n°1; moyenne et écart type de la série des valeurs individuelles en fonction de l'âge. Animaux vaccinés : trait plein ; animaux non vaccinés : trait pointillé.



**Figure 2.** Essai n°1; Pourcentages de protection par groupe après épreuves ND et IB



**Tableau 1.** Observations de l'essai n°2

Critère d'évaluation	Type de vaccination		
	HVT-IBD seule	ND/IB seule	Associée HVT-IBD+ ND/IB
<b>Sérologie 28 jours après vaccination</b>			
ND (IHA) log <sub>2</sub> – titre moyen	≤ 1,0	5,1	4,6
IB (SN) % de positifs*	0%	57%	60%
Titre moyen log <sub>10</sub>	0,00	0,43	0,80
IBD (SN) log <sub>10</sub> – titre moyen	3,1	<0,5	3,0
<b>Epreuve IBD 14 jours après vaccination</b>			
% de protection	100%	0%	100%
Nb atteints/total	(0/20 ; score lésionnel =0 sur tous)	(5 morts/10 ; 5/10 avec score lésionnel =5)	(0/20 ; score lésionnel =0 sur tous)

\* : le seuil positif est fixé à 0.5 log<sub>10</sub>, l'ensemble des animaux non vaccinés IB étant inférieur à ce seuil.

**Tableau 2.** Observations de l'essai n°3 – sérologies et épreuve 79 jours après vaccination

Critère d'évaluation	Type de vaccination		
	HVT-IBD seule	ND/IB seule	Associée HVT-IBD+ ND/IB
<b>Sérologie (titre moyen)</b>			
ND (IHA) log <sub>2</sub>	≤ 1,0	2,6	2,9
IB (SN) % de positifs	0%	90%	100%
Titre moyen log <sub>10</sub>	0,00	1,75	2,00
IBD (SN) log <sub>10</sub>	4,4	négatif	4,3
<b>Epreuve MD</b>			
Nb atteints/total	1/30	26/36	1/35
% de protection relative (Ph Eur)	95,4%	0%	96%

\* : le seuil positif est fixé à 0.5 log<sub>10</sub>, l'ensemble des animaux non vaccinés IB étant inférieur à ce seuil.