

# ETUDE D'UNE METHODE D'EPREUVE POUR EVALUER L'EFFICACITE D'UN VACCIN ANTICOCIDIEN POUR LE POULET

Raymond B. Williams

Mallinckrodt Veterinary Limited, Breakspear Road South, Harefield,  
Uxbridge, Middlesex UB9 6LS, United Kingdom

## Résumé

Au cours de ces dernières années, des vaccins permettant le contrôle de la coccidiose des poulets sont apparus. Compte tenu des problèmes croissants de résistance aux anticoccidiens, leur utilisation va certainement s'étendre. De ce fait, il est important de mettre au point des méthodes valables d'évaluation de l'efficacité de ces vaccins. Précédemment, les scores lésionnels ont souvent été employés pour estimer l'efficacité des substances anticoccidiennes, mais nous savons maintenant que, chez les poulets partiellement ou totalement immuns, une infection d'épreuve peut entraîner des lésions coccidiennes sans produire d'effets cliniques défavorables. Dans ce contexte, une technique d'épreuve s'appuyant, en tant que critère essentiel de mesure de la protection anticoccidienne, sur le taux de croissance après épreuve, a été développée. Des résultats de contrôle de l'efficacité du vaccin Paracox™ (Mallinckrodt Veterinary Limited) sont présentés à titre d'exemple de cette méthode.

## Abstract

### A challenge method for assessing the efficacy of anticoccidial vaccines for chickens

In recent years, several vaccines have been introduced for the control of coccidiosis in chickens. Their use is likely to become more widespread in view of the increasing problems of drug resistance to anticoccidial agents. It is important, therefore, to develop valid methods for the assessment of efficacy of vaccines. Lesion scores have often been used to assess drug efficacy, but it is known that in partially or completely immune chickens a challenge infection may induce coccidial lesions without causing adverse clinical effects. A challenge method has therefore been developed which uses growth rate after challenge as the primary criterion for protection against coccidiosis. Results are presented to show how the method may be used to demonstrate the efficacy of Paracox™ vaccine (Mallinckrodt Veterinary Limited).

## Introduction

Au cours de ces dernières années, quelques vaccins permettant le contrôle de la coccidiose des poulets sont apparus. Il est probable que leur emploi va s'étendre face aux problèmes croissants de résistance aux agents anticoccidiens. Au cours du développement du vaccin atténué Paracox™ (Mallinckrodt Veterinary Limited), il nous a été nécessaire de mettre en place une méthode de démonstration de la protection apportée par le vaccin contre la coccidiose clinique.

Pour les substances anticoccidiennes, la démonstration de l'efficacité a pu utiliser, dans des essais en parquet et sur le terrain, la sévérité des lésions observées sur les poulets. Cette sévérité est étroitement corrélée au contrôle coccidien apporté par ces substances. Mais du fait que, chez les poulets partiellement ou totalement immuns, des lésions coccidiennes peuvent survenir, en réponse à une épreuve, sans entraîner d'effets cliniques indésirables

(Long et coll., 1980), ce critère utilisé seul n'est pas approprié aux vaccins.

C'est pourquoi si aucun autre critère n'est pris en considération, les oiseaux vaccinés qui présentent des lésions pourraient injustement être considérés comme atteints d'une coccidiose sévère. C'est pour cela que l'état clinique des oiseaux, particulièrement leur performance de croissance, doit être le critère essentiel de jugement. Malheureusement, s'il est possible de démontrer par comptage des oocystes dans la litière ou par tests ELISA que les poulets ont été infectés, seule l'épreuve par des coccidies virulentes peut apporter la certitude que les oiseaux sont protégés contre la coccidiose.

Pour ces raisons, nous avons développé un contrôle de la protection s'appuyant sur le taux de croissance comparatif après épreuve virulente des poulets vaccinés et non vaccinés. Contrairement à d'autres critères variés tels que la mortalité, les scores lésionnels, les scores fécaux, les hématocrites, la

production oocystale, etc., ce critère permet à la fois la comparaison de l'immunité des oiseaux vis-à-vis de l'ensemble des espèces et reflète leur statut clinique fondamental.

## Méthodes

Ce protocole d'épreuve a été employé séparément pour trois lots différents de vaccin anticoccidien Paracox™ de production commerciale. Les grandes lignes en sont les suivantes : des poussins d'un jour Lohmann Brown (200 de chaque sexe, sans aucune vaccination) nous sont parvenus d'un producteur commercial. Deux cent vingt (110 de chaque sexe) ont été placés au sol à une densité normale dans des parquets désinfectés et sur une litière de copeaux.

Leur l'alimentation et leur eau de boisson ne contenaient ni substance médicamenteuse, ni facteur de croissance. Pour les conserver indemnes de coccidies, les autres poussins ont été placés dans un autre bâtiment désinfecté à l'intérieur de cages équipées d'un plancher plein recouvert d'une litière. Les soins aux animaux ont été assurés par du personnel différent pour les deux bâtiments. Les poussins en parquets ont été vaccinés à 6 jours d'âge avec le vaccin anticoccidien Paracox™. La prise vaccinale a été confirmée par comptage des oocystes dans des échantillons de litière récupérés à 7 et 14 jours après vaccination. Pour confirmer que les oiseaux restaient bien indemnes de coccidies, les fèces des poussins en cages ont été contrôlés 2 fois par semaine. Quand les poussins ont eu 34 jours d'âge (4 semaines après la vaccination), une épreuve virulente a été mise en place pour contrôler leur protection contre l'ensemble des 7 espèces de coccidies contenues dans le vaccin (*Eimeria acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* et *E. tenella*).

Pour l'épreuve virulente, les oiseaux provenant des parquets et des cages à plancher plein ont été mis dans des cages à plancher grillagé dans un 3ème bâtiment désinfecté et dont l'entretien était encore assuré par du personnel différent. Avant qu'ils soient placés dans leurs nouvelles cages, tous les oiseaux vaccinés provenant des parquets ont été individuellement bagués à l'aile et pesés, puis mis en lot de façon à ce que les poids moyens soient approximativement équivalents. Les oiseaux élevés indemnes de coccidies ont été bagués, pesés et mis en lot de la même manière. Pour chaque espèce coccidienne d'épreuve, il y avait 3 lots de traitement.

Les contrôles absolus étaient représentés par 20 oiseaux indemnes de coccidies (10 de chaque sexe) provenant des cages : ces témoins non éprouvés non vaccinés (TNN) ont été répartis entre les

7 espèces coccidiennes. Pour chaque espèce, il y avait un autre lot de 20 oiseaux indemnes de coccidies (10 de chaque sexe) provenant également des cages : c'était les 7 lots de témoins éprouvés non vaccinés (TEN). Enfin, pour contrôler l'immunité vis-à-vis de chaque espèce, 7 lots de 20 oiseaux (10 de chaque sexe) provenant des parquets : c'était les oiseaux éprouvés vaccinés (EV). De ce fait, pour chacune des 7 espèces coccidiennes, il y avait 3 lots de traitement, chacun de 20 oiseaux, avec des poids moyens approximativement équivalents.

Chaque souche virulente des 7 espèces de coccidies utilisées pour les épreuves a été préalablement titrée en utilisant des oiseaux Lohmann Brown, de manière à déterminer le nombre d'oocystes sporulés nécessaire dans chaque inoculum pour entraîner une réduction statistiquement significative ( $p < 0,05$ ) du gain de poids au cours de la semaine qui suivait l'infection.

La dose appropriée de chaque espèce coccidienne a été donnée à 20 oiseaux TEN et à 20 oiseaux EV : les oiseaux TNN n'ont pas été infectés mais ont reçu un placebo d'eau. Sept jours après l'épreuve, tous les oiseaux furent pesés à nouveau et leur gain de poids après épreuve a été calculé individuellement. Pour chaque espèce, le gain de poids moyen des 3 groupes de traitement (TNN, TEN et EV) a été comparé par analyse de variance et test de Tukey. En plus du critère essentiel de gain de poids, les lésions d'*Eimeria acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix* et *E. tenella* ont été cotées selon la méthode de Johnson et Reid (1970) de manière à contrôler si ce critère reflétait ou non la santé clinique des oiseaux immuns. Ceci n'a pas pu être fait pour *E. mitis* et *E. praecox* qui n'entraînent pas de lésions dans les atteintes discrètes.

## Résultats

Les résultats obtenus ont été similaires pour chacun des 3 lots de vaccin Paracox™ contrôlés. Pour chaque espèce coccidienne, le groupe TEN a présenté un gain de poids significativement plus bas que celui du groupe TNN, ce qui a confirmé le caractère pathogène de l'épreuve. De plus, chaque groupe EV a eu un gain de poids significativement plus élevé que celui du groupe TEN, confirmant que les oiseaux vaccinés étaient immuns vis-à-vis de l'épreuve virulente par chaque espèce. Dans la plupart des cas (17 sur 21), il n'y eut pas de différence statistiquement significative entre les gains de poids des groupes EV et TNN montrant que les oiseaux vaccinés ont exprimé leur taux maximal de croissance. A titre d'exemple, le tableau 1 résume la comparaison des gains de poids pour l'un des lots de vaccin contrôlés.

**TABLEAU 1 :** Gain de poids pendant les 7 jours suivant l'épreuve d'oiseaux vaccinés (EV) et non vaccinés (TEN) exprimé en pourcentage des témoins non éprouvés non vaccinés (TNN). Dans les colonnes, les gains de poids partageant la même lettre ne sont pas différents d'une manière statistiquement significative ( $p > 0,05$ ) les uns des autres.

Groupe	Espèces d' <i>Eimeria</i> d'épreuve						
	<i>acervulina</i>	<i>brunetti</i>	<i>maxima</i>	<i>mitis</i>	<i>necatrix</i>	<i>praecox</i>	<i>tenella</i>
TNN	100 % a	100 % a	100 % a	100 % a	100 % a	100 % a	100 % a
EV	99 % a	107 % a	109 % a	103 % a	96 % a	110 % a	112 % a
TEN	74 % b	17 % b	54 % b	65 % b	4 % b	75 % b	34 % b

Fréquemment il a été noté que les scores lésionnels auraient pu induire des résultats erronés. Par exemple, un groupe d'oiseaux vaccinés éprouvés par *Eimeria brunetti* (tableau 2) a obtenu 100,9 % (femelles) et 98,0 % (mâles) du gain de poids des témoins non éprouvés non vaccinés malgré que 45 % des oiseaux présentaient des lésions de score 1 ou 2. Il n'y avait pas de corrélation entre les gains de poids

moyens et les scores lésionnels des oiseaux à l'intérieur de chaque lot de traitement. Les femelles les plus lourdes avaient des lésions, mais les femelles les plus légères n'en avaient pas. Parmi les mâles, le gain de poids moyen des oiseaux avec des lésions de score 2 était plus important que le gain moyen de ceux avec des scores lésionnels de 1. Tous les oiseaux du lot TEN présentaient des lésions de score 3 ou 4.

**TABLEAU 2 :** Absence de corrélation entre les scores lésionnels et les gains de poids des oiseaux vaccinés pendant 7 jours après épreuve par des souches virulentes d'*E. brunetti*.

	Scores lésionnels femelles			Scores lésionnels mâles		
	0	1	2	0	1	2
Gain de poids individuel (g) du lot EV	112	122	126	150	135	142
	114	129		174	157	145
	129	134		182		186
	141	150		184		
	146			201		
Gain de poids moyen (g)	128,4	133,8	126,0	178,2	146,0	157,7
Moyenne globale (g) (en % de TNN)		130,3 100,9%			165,6 98,0%	

La même conclusion globale peut être tirée des données concernant *E. maxima* présentées dans le tableau 3. Dans ce cas, les oiseaux vaccinés présentant les scores lésionnels les plus élevés présentaient les gains de poids moyens les plus élevés

à la fois pour les mâles et les femelles. Les oiseaux les plus lourds et les plus légers ne présentaient pas de lésions. A nouveau, tous les oiseaux du groupe TEN présentaient des lésions de score 3 ou 4.

**TABLEAU 3 : Absence de corrélation entre les scores lésionnels et les gains de poids des oiseaux vaccinés pendant 7 jours après épreuve par des souches virulentes d'*E. maxima*.**

	Scores lésionnels femelles			Scores lésionnels mâles		
	0	1	2	0	1	2
Gain de poids individuel (g) du lot EV	108	123	143	157	170	180
	117	128		165	172	
	124	132		167	185	
	138	135		170	192	
	149			205		
Gain de poids moyen (g)	127,2	129,5	143,0	172,8	179,8	180,0
Moyenne globale (g) (en % de TNN)		129,7 98,6%			176,3 101,8%	

Il en est conclu que le critère de gain de poids pendant les 7 jours suivant l'épreuve par des souches de coccidies virulentes démontre l'immunité des oiseaux contre les coccidioses provoquées par l'ensemble des 7 espèces qui parasitent le poulet. Quoi qu'il en soit, si l'absence de lésions chez les oiseaux vaccinés peut toujours être considérée comme une démonstration de la protection, il doit être noté que la présence de

lésions n'indique pas obligatoirement une absence de protection envers une maladie clinique.

#### Références

- Johnson J., Reid W.M., 1970. Exp. Parasitol., 28, 30-36.  
 Long P.L., Johnson J., Wyatt R.D., 1980. Poult. Sci., 59, 2221-2224.