

INJECTION IN OVO APPLICATION A LA VACCINATION DE L'EMBRYON

Jean Michel Blanchart¹, Frans Davelaar²

¹Fort Dodge Santé Animale, BP 1311, 64 rue Delpérier, 37013 Tours cedex 1

²Fort Dodge Animal Health, PO Box 900, 1380 DA Weesp - Holland

Résumé

La vaccination de l'embryon de 18 jours contre la maladie de Marek avec les souches HVT, SB1, 301/B/1 et R223, seules ou associées, se montre aussi efficace que la vaccination du poussin d'un jour avec ces mêmes souches. D'autre part, leur administration in ovo a plus de dix fois la dose minimum protectrice est bien tolérée et n'affecte ni l'éclosabilité, ni la croissance.

La vaccination in ovo contre la maladie de Marek est déjà devenue une pratique courante dans certains pays. Des travaux récents montrent que cette possibilité de vaccination de l'embryon pourrait s'étendre à d'autres antigènes en particulier à la vaccination contre la maladie de Newcastle.

Abstract

In ovo injection - application to embryo vaccination

18 days old embryo vaccination against Marek disease with strains HVT, SB1, 301/B/1 and R223, alone or combined, is shown to be as efficacious as the chicken day old vaccination with the same strains.

Administration of these strains at more than 10 times the minimum protective dosis does not affect hatchability nor growth rate.

In ovo vaccination against Marek disease is already routinely applied in some countries.

Recent results show that in ovo vaccination could be extended to some other antigens, ie to ND vaccination.

Introduction

Si la possibilité d'administrer des substances à l'embryon est à l'étude depuis longtemps, c'est la mise au point du système INOVOJECT (commercialisé par la société Embrex) qui permet ces dernières années la mise en pratique de la méthode d'injection in ovo.

Cette méthode peut-être utilisée avec différentes substances (anti-infectieuses -nutriments), (Robineau B.) mais elle se développe particulièrement pour l'administration des vaccins.

1. Principe de la méthode

Il repose d'abord sur le fait que l'embryon de poulet devient progressivement immunocompétent à partir de l'âge de 14 jours et qu'il est possible d'obtenir une réponse vaccinale à partir de l'âge de 17 à 18 jours, sans effet négatif sur l'éclosabilité (Sharma J.M et al, 1984).

Le vaccin doit être reconstitué dans une quantité de solvant tel que le volume contenant la dose vaccinale soit de 0,05 ml, quantité que délivre le système INOVOJECT avec une précision de 2%.

Après perforation de la coquille au-dessus du sac aérien, la dose vaccinale est administrée dans le liquide amniotique.

2. Vaccination in ovo contre la maladie de Marek

Depuis le début des années 70, la vaccination des poussins d'un jour, avec des vaccins à virus HVT a été largement appliquée dans le monde pour protéger les productions avicoles des pertes économiques occasionnées par la maladie de Marek.

L'immunité induite par la vaccination met quelques jours à s'installer et les poussins peuvent être en contact avec un milieu infecté dès leur mise en place.

Les contaminations précoces sont donc souvent responsables des échecs de vaccination contre la maladie de Marek et on a toujours cherché à limiter cette période critique pendant laquelle les animaux vaccinés ne sont pas encore protégés face à un risque déjà présent.

C'est ce qui a conduit à investiguer dès le début des années 1980 (Sharma J.M. et Burmster B.R., 1985) les possibilités de vacciner l'embryon 3 à 4 jours avant la date d'éclosion pour installer plus

précocement la protection contre la maladie de Marek chez le poussin.

Notre groupe ayant une gamme importante et toujours en développement de vaccins Marek, nous nous sommes logiquement investis dans des expérimentations sur leur application in ovo. Nous nous limiterons à la présentation synthétique de 3 essais, deux concernant l'innocuité, un l'efficacité.

2.1. Innocuité

Cette innocuité a été étudiée à la fois dans un cadre expérimental et sur le terrain.

2.1.1. Essai de laboratoire

Les vaccins souches HVT, HVT + 301/B/1, R223 ont été inoculés à trois groupes (1,2 et 3 respectivement) d'oeufs SPF embryonnés, au 18ème jour d'incubation, deux groupes d'oeufs (4 et 5) non inoculés servant respectivement de témoins négatif et positif.

Les poussins issus des groupes 1 à 4 ont été observés jusqu'à l'âge de 120 jours puis euthanasiés.

Les poussins issus du groupe 5 (non vaccinés-éprouvés) ont été suivis jusqu'à l'âge de 50 jours, où les animaux encore en vie ont été également euthanasiés.

Le tableau 1 présente les résultats de ces observations en ce qui concerne les lésions de maladie de Marek observées sur tous les groupes d'animaux pendant la période d'essai et les poids des animaux des groupes 1 à 4 à 120 jours.

Les résultats de cette expérimentation mettent en évidence que la vaccination in ovo a des doses plus de 10 fois supérieures aux doses vaccinales minimales, n'affecte ni l'éclosabilité, ni la croissance des animaux pendant la période d'observation de 120 jours. Elle n'induit aucune lésion de maladie de Marek sur des animaux sensibles, puisque le taux de lésions atteint 76% à l'âge de 50 jours chez les animaux non vaccinés éprouvés.

2.1.2. Essai sur le terrain

Parmi les essais réalisés, nous en avons retenu un qui permet de comparer l'injection in ovo à la voie sous cutanée.

L'association vaccinale HVT/SB1 a été administrée soit par voie in ovo à 27500 oeufs, soit par voie sous cutanée à 27500 poussins d'un jour.

Les résultats (tableau 2) montrent que pour les paramètres observés, il n'y a pas de différences significatives entre les voies in ovo et sous cutanée. La vaccination in ovo à 18 jours d'incubation ne modifie, ni l'éclosabilité, ni les performances.

2.2. Efficacité

L'efficacité de la voie in ovo a été testée avec différentes souches d'épreuves vis à vis de différentes souches et associations vaccinales.

Les essais les plus significatifs sont ceux qui ont étudié le pouvoir protecteur vis à vis de la souche hypervirulente RB1B.

L'un de ces essais a étudié le pouvoir protecteur de la souche HVT, de l'association HVT+301/B/1 et de la souche R223, administrées au 18ème jour d'incubation, vis à vis d'une épreuve virulente avec la souche RB1B au 5ème jour après l'éclosion.

Les résultats (tableau 3) prennent en compte l'incidence de la maladie de Marek répertoriée pendant la période d'observation de 50 jours, au bout de laquelle tous les animaux encore vivants sont euthanasiés et autopsiés.

Les indices de protection obtenus, calculés par rapport au lot témoin qui ne reçoit que du solvant, sont conformes à ceux procurés par les mêmes vaccins administrés à 1 jour par voie sous cutanée.

3. Vaccination in ovo contre la maladie de Newcastle

Si la vaccination in ovo contre la maladie de Marek a été largement décrite, les publications concernant la vaccination in ovo contre la maladie de Newcastle sont beaucoup plus rares.

Ahmad et Al, ont décrit des essais de vaccination de l'embryon avec la souche NDV-B1 modifiée par l'action d'Ethyl Méthane sulfonate (EMS), afin de lui enlever son caractère létal pour l'embryon. Cependant, il était difficile d'envisager l'administration en routine d'une souche modifiée par l'action d'une substance (EMS) ayant un effet mutagène. D'autre part, il est apparu que l'écart entre la dose minimale efficace, et la dose maximale tolérée était trop faible pour pouvoir produire en routine un vaccin à un titre s'inscrivant dans ces limites.

Ayant mis au point un vaccin vivant administré par voie orale à l'âge d'un jour, nous avons eu l'opportunité d'adapter cette souche vaccinale, dans le vaccin Poulvac OVoline ND à la vaccination de l'embryon de 18 jours par injection dans le liquide amniotique, selon la méthode décidée par Sharma et Bamester.

3.1. Dose maximale tolérée sur oeuf avec anticorps d'origine maternelle

La dose maximale tolérée sur oeufs avec anticorps d'origine maternelle , a été déterminée en injectant des doses croissantes à 8 groupes d'oeufs, tels que décrit dans le tableau 4 qui indique également les résultats concernant le pourcentage d'éclosabilité pour chaque groupe.
Il apparait qu'au-delà de 100 fois la dose vaccinale, on constate une dégradation de l'éclosabilité.

3.2. Efficacité de la vaccination in ovo

A partir des essais réalisés sur oeufs SPF, ceux mis en oeuvre pour définir la dose vaccinale comprenaient des groupes recevant un dixième et cent fois la dose et étaient réalisés sur oeufs avec anticorps maternels, selon le protocole ci-après.

Oeufs : issus de reproducteurs chair dont les poussins à un jour ont des titres HI en anticorps Newcastle de 5,1 (log 2).

vaccin : Poulvac OVoline ND administré à cent fois la dose vaccinale (groupe 1), à un dixième de

dose vaccinale (groupe 2), le groupe 3 servant de témoin.

épreuve : souche Hertz 33/56 de la maladie de Newcastle administrée à 10⁵ DI0 à tous les poussins à l'âge de 3 semaines.

paramètres suivis: Titres HI à 3 semaines et pourcentage de mortalité après épreuve.

Les résultats (Tableau 5) montrent que la vaccination in ovo est efficace et ne semble pas influencée par la présence d'anticorps d'origine maternelle.

4. Conclusion

La possibilité d'injecter des vaccins à l'embryon s'est largement appliquée dans un premier temps à la maladie de Marek pour laquelle la vaccination in ovo est déjà d'un usage courant dans certains pays. D'autres développements sont en cours, vaccination contre la maladie de Newcastle et contre la maladie de Gumboro..., dont l'aboutissement conditionnera l'avenir de cette voie d'administration.

TABLEAU 1 : Innocuité par voie in ovo des vaccins souches HVT, HVT + 301/B/1, R223

Groupe	Souche/dose inoculée	% lésions Marek	Poids moyen (g) à 120 jours		
			mâles	femelles	total
1	* HVT— 16 162 Pfu	0	2120 ± 203 N=28	1587 ± 99 N=18	1911 ± 311 N=46
2	** HVT — 12 465 Pfu + 301/ B/1 — 7 974 Pfu	0	1991 ± 216 N=23	1459 ± 143 N=15	1825 ± 315 N=48
3	*** R223 — 14 248 Pfu	0	1990 ± 195 N=22	1505 ± 117 N=25	1732 ± 289 N=47
4	Non inoculés-Non éprouvés	0	2077 ± 177 N=24	1492 ± 85 N=21	1804 ± 324 N=45
5	Non inoculés Poussins éprouvés à un jour (souche GA/22)	76	euthanasiés à 50 jours		

* vaccins MD Vac CA ** VV MD Vac *** MD one Vac

TABLEAU 2 : Innocuité clinique comparée par voie in ovo ou sous cutanée à 1 jour du vaccin HVT/SB1

	Eclosabilité (%)	% de Mortalité			Poids moyen/kg	IC*	% de saisie	
		à 7 jours	à 14 jours	Totale			Lesions cutanées	total
HVT/SB1 in ovo	86,5	1,03	1,33	3,62	2,330	1,96	0,07	0,84
HVT/SB1 sous-cutanée 1 jour	86,5	0,98	1,27	3,99	2,303	1,95	0,03	0,77

* IC : Indice de Consommation

TABLEAU 3 : Eclosabilité et Indice de Protection vis à vis de la souche RB₁B, après vaccination in ovo avec les souches HVT, HVT + 301/B/1, R223

Vaccins	Eclosabilité (%)	Nombre d'animaux			Incidence maladie de marek	IP *
		Sans lésions	Morts de la maladie de Marek	Avec lésion de maladie de Marek à l'autopsie		
HVT	97	24	4	6	10/34 → 29 %	70
HVT+ 301/B/1	93	30	2	1	3/33 → 9 %	90,7
R223	97	29	3	3	6/35 → 17 %	82,5
Témoins (solvant)	97	1	25	5	30/31 → 97 %	

*IP : Indice de protection

TABLEAU 4 : Poulvac OVoline ND - dose maximale tolérée in ovo

Groupe	dose	Nombre d'oeufs	éclosabilité (%)
1	10 ⁶ dose vaccinale	50	68
2	10 ⁵ ..	50	70
3	10 ⁴ ..	50	74
4	10 ³ ..	50	76
5	10 ² ..	50	91
6	10 ¹ ..	50	84
7	1 ..	50	96
8	témoin	50	88

TABLEAU 5 : dose efficace in ovo

Groupe	Dose	Titre HI (en log 2) à 3 semaines d'âge	Pourcentage de mortalité après une épreuve de 3 semaines d'âge
1	10 ² dose vaccinale	3,9	0
2	10 ⁻¹ dose vaccinale	2,4	0
3	témoin	1,0	100

Références

Ahmad et Al., "US patent" 54 277 91
Robineau B., "L'injection automatisée des oeufs à couvrir par le système INOVOJECT de la société Embrex". p. 197 : comptes rendus, rencontres internationales de production avicoles le 04/10/95 à Nantes.
Sharma J.M. et Burmster B.R., "Embryo vaccination with infectious Bursal disease virus alone or in combination with Marek's disease vaccine." vol 29 n°4 "Avian disease" 29 1155 1167 68 (1985)
Sharma J.M. et Burmster B.R., " Resistance to Marek's disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the Turkey Herpesvirus " vol 26 n°1 "Avian disease" 26 (1) 134 149

Sharma J.M., Lee L.F., Wakenell P.S., "Comparative viral and pathologic responses of chickens inoculated with herpesvirus of turkeys as embryos or at hatch." Am J Vet Res, vol 45, n°8, 1984.