

INTERACTIONS ENTRE UNE BRUMISATION D'HUILES ESSENTIELLES ET UNE VACCINATION BRONCHITE INFECTIEUSE EN GALLUS GALLUS.

**Mauvisseau Thierry ¹, Ruppin Romaric ¹, Sauvaget Samuel ¹, Galliard Nathalie ²,
Marguerie Jocelyn ³**

¹RESEAU CRISTAL-LABOVET CONSEIL-28 rue des Sables, 85140 LES ESSARTS, France

²ZOETIS, Bâtiment VIVA, 10, Rue Raymond David, 92240 - Malakoff, France

³RESEAU CRISTAL - Fili@vet - 7 rue des Artisans, 79300 BRESSUIRE, France

t.mauvisseau@reseaucristal.fr

RESUME :

Le recours aux huiles essentielles est fréquent en élevage avicole afin de limiter la prescription des antibiotiques, en accord avec les plans ECOANTIBIO. Ces substances possèdent des propriétés antibactériennes et antivirales et sont souvent incorporées à l'alimentation, à l'eau de boisson ou utilisées en brumisation. Les vaccins sont également préconisés pour diminuer les surinfections bactériennes favorisées par des virus respiratoires. Du fait des propriétés antivirales des huiles essentielles, nous nous sommes intéressés à l'éventuelle incompatibilité de ces substances avec la prise vaccinale d'un vaccin vivant contre la Bronchite Infectieuse. L'essai a été conduit en élevage de poulet ayant reçu au couvoir une vaccination Mass H120 et 793-B puis un vaccin Poulvac IB Qx administré en pulvérisation à 6 jours. Les huiles essentielles ont été brumisées à partir de 5 jours. L'essai a été conduit sur un lot témoin négatif, non vacciné Qx, non éprouvé par les huiles essentielles, un lot test éprouvé avec les huiles essentielles avec une vaccination Qx et un lot témoin positif avec une vaccination Qx sans éprouve avec les huiles essentielles. 20 prises de sang ont été réalisées à J35 sur chaque lot afin de réaliser une sérologie IHA permettant de mesurer les anticorps vis-à-vis de différents variants coronavirus. Le taux d'anticorps IB Qx est significativement supérieur pour le lot vacciné, non éprouvé aux huiles essentielles par rapport à celui vacciné et éprouvé. Cet essai montre que les huiles essentielles ont de puissantes activités antivirales et qu'il n'est pas recommandé de les utiliser en brumisation en même temps qu'un vaccin vivant au risque de limiter la production d'anticorps.

ABSTRACT:

Interactions between misting of essential oils and vaccination against infectious bronchitis gallus gallus.

The use of essential oils is common in poultry farming to limit the prescription of antibiotics, in accordance with ECOANTIBIO plans. These substances possess antibacterial and antiviral properties and are often incorporated into food, drinking water or used as ambient spraying. Vaccines are also recommended to reduce bacterial superinfections. Due to the antiviral properties of the essential oils, we were interested in the possible incompatibility of these substances with the vaccination by a live vaccine infectious Bronchitis. The trial was conducted in chicken commercial farm received Mass and 793-B vaccination at the hatchery and a Poulvac IB Qx vaccine administered as a spray at 6 days. The essential oils were administered by mist. The test was conducted on a negative control batch, non-vaccinated Qx, not treated by essential oils, a test batch treated with essential oils with a Qx vaccination and a positive control lot with a Qx vaccination without treating with essential oils. 20 blood samples were taken at day 35 on each batch in order to perform a serology IHA to measure the vaccine intake regarding different variants of coronaviruses. The level of antibody IB Qx was significantly higher for the vaccinated batch, not treated with essential oils compared to the vaccinated and treated one. This test shows that essential oils have powerful antiviral activities and that it is not recommended to use them in mist together with a live vaccine with the risk of impairing vaccine intake.

INTRODUCTION :

Les huiles essentielles sont des solutions alternatives de plus en plus utilisées en médecine vétérinaire pour pallier le recours aux antibiotiques et limiter les phénomènes d'antibiorésistance. Elles répondent au plan ECOANTIBIO2, qui recommande également la phytothérapie. Les huiles essentielles se retrouvent dans des aliments complémentaires, dans des aliments complets et sont également utilisées en nébulisation pour améliorer l'ambiance des bâtiments (Shelton, 2018). Leurs propriétés ont été étudiées surtout depuis le XXème siècle et de nombreuses actions ont pu être démontrées, telles leur activité antibactérienne, anti virale, anti fongique ou anti parasitaire (Franchomme, 2001).

Parallèlement au plan ECOANTIBIO2, le recours aux vaccins est également soutenu puisqu'il permet de diminuer fortement l'utilisation d'antibiotiques en élevage. La vaccination fait appel à deux sortes de vaccins soit, des vaccins inactivés produits à partir de bactéries ou de virus tués, soit des vaccins vivants préparés à partir de souches atténuées en stimulant le système immunitaire par la multiplication de l'agent vaccinal. L'objet de cette étude est de valider la prise vaccinale d'un vaccin vivant administré en pulvérisation associé à une utilisation d'huiles essentielles par brumisation. Faut-il les proscrire en cas de vaccination avec un vaccin vivant et durant quelle période? L'étude a été réalisée en condition terrain sur *Gallus gallus* vacciné en élevage avec un vaccin contre la bronchite infectieuse à variant Qx, (Geerligns, 2011) et éprouvé conjointement avec une solution à base d'huiles essentielles ayant des propriétés antivirales reconnues. (Willem, 2015). Nous avons mesuré les titres sérologiques de 4 coronavirus au moyen de l'Inhibition de l'HémAgglutination.(IHA)

1. MATERIEL ET METHODE.

1.1 Matériel

1.1.1 Les poulets.

Nous avons sélectionné un site présentant 3 lots de 22500 poulets répartis dans 3 bâtiments de 1000 m², de 6 jours, vaccinés au couvoir par nébulisation contre la bronchite infectieuse à l'aide de vaccins vivants Massachussetts (type H120) et d'un type variant 793-B.

1.1.2 Le vaccin.

Nous avons éprouvé les poulets avec le vaccin vivant Poulvac IB QX, comportant un coronavirus

variant différent du type 793-B et de la souche Massachussetts (Mass) type H120) (Karimi, 2018). afin de pouvoir identifier les différents anticorps (Yun Zhang, 2018). Le vaccin a été administré par pulvérisation à l'aide d'un Birchmeier sur batterie, avec une distribution régulière de gouttelettes de 100 à 120 microns avec 2 bars de pression. L'essai a été réalisé sur les Pays de Loire où les virus sauvages QX et Italy 02 sont peu isolés, ce qui a justifié le choix du vaccin de type Qx (Blond et al., 2017). Le vaccin contenant le variant Italy 02, n'est pas disponible en France.

1.1.3 Les huiles essentielles.

Nous avons sélectionné un assainisseur d'ambiance comportant un mélange de 4 huiles essentielles chémotypées (Un certificat d'analyse chromatographique permettant de connaître les composants exacts). Ces huiles essentielles ont une activité antivirale reconnue, en raison de la présence de composés réputés pour leur activité antiseptique (Faucon, 2015). Ce mélange est composé de 3 huiles essentielles comportant des phénols : (Le clou de girofle à base de l'Eugénol, l'origan riche en Carvacrol et le thym à chémotype Thymol) et de la cannelle de Chine constituée d'un aldéhyde aromatique : le cinnamaldéhyde. Le produit se compose de 25 % d'huiles essentielles et d'un excipient permettant la solubilité des huiles essentielles dans l'eau. Les huiles essentielles étant lipophiles, un solubilisant est indispensable pour obtenir un mélange homogène dans l'eau. Le produit a été dilué à raison de 150 ml/20 litres d'eau et administré dans une brume haute pression de façon à avoir une répartition homogène des huiles essentielles pour tous les poulets dans l'ensemble du bâtiment.

1.2 Méthode

Nous avons sélectionné 3 bâtiments représentant 3 lots, de poulets de chair. Un lot A, témoin négatif, comportant des sujets, vaccinés au couvoir contre la bronchite infectieuse avec une souche classique Massachussetts (H120) et une souche variante 793-B, n'ayant pas reçu de vaccination en élevage contre la bronchite, et n'ayant pas reçu d'administration d'huiles essentielles ni par nébulisation ni par voie orale.

Un lot B, lot test, ayant reçu les mêmes vaccins que le lot A au couvoir par nébulisation, ne présentant pas de mortalité anormale sur la période 0-5 jours. A J5 les poulets ont reçu le mélange d'huiles durant 5 mn le matin et 5 mn le soir par la brume. La ventilation dynamique a été reprise 10 mn après l'arrêt de la nébulisation, une fois le brouillard retombé sur les animaux et la litière. A J6, les

poulets ont reçu le matin une pulvérisation d'huiles essentielles suivant le même protocole et 3 heures plus tard, les poulets ont été vaccinés par nébulisation en élevage avec un vaccin variant de type Qx par nébulisation à l'aide d'un appareil sur batterie avec 900 ml d'eau minérale dépourvue de trace de chlore ou autre oxydant pouvant altérer le vaccin. La vaccination s'est effectuée, sur le côté droit, le côté gauche puis un retour par le centre du bâtiment; ce circuit de passage ayant été renouvelé 3 fois. Durant la vaccination, la ventilation dynamique a été arrêtée.

Le soir du J6, les poulets ont reçu une pulvérisation d'huiles essentielles suivant les mêmes doses. De J7 à J9, les poulets ont également reçu matin et soir une pulvérisation de l'assainisseur d'ambiance.

Un lot C, témoin positif ayant reçu les mêmes vaccins au couvoir que les lots A et B, ne présentant pas de mortalité anormale de J0 à J5, a été vacciné par le variant Qx par nébulisation suivant le même protocole que le lot B.

A J35, 20 prises de sang ont été effectuées sur chaque lot. Les tubes ont été réfrigérés puis centrifugés afin de récupérer le sérum. Un test d'inhibition de l'hémagglutination a ensuite été réalisé sur chaque sérum permettant ainsi de quantifier les titres en anticorps en coronavirus de 4 types : Mass (Massachusetts), 793-B, Qx et Italy 02. Les sérums sont considérés comme positifs pour un titre au moins supérieur à 4. Pour chaque coronavirus, les titres moyens, l'écart type et le coefficient de variation ont été calculés.

1.2 Analyse statistique

Un test ANOVA de l'analyse de la variance a été réalisé sur les titres entre le lot B (vacciné IBQx éprouvé huiles essentielles) et le lot C (vacciné IBQx non éprouvé avec les huiles essentielles).

2. RESULTATS ET DISCUSSION :

L'analyse des titres (Tableau 1) pour le variant Italy 02 dans les 3 lots, révèle des titres très bas (Tableau 1) entre 3 et 3,2, et des coefficients de variation de 0 à 12 %, (tableau 2) indiquant une relative homogénéité des populations. Les titres très bas correspondent à une absence d'immunité vis-à-vis de ce variant, les poulets n'ont donc pas été en contact avec ce variant.

Pour le variant 793-B, l'immunité est assez élevée entre 6,8 et 7,1, avec seulement 1 sérum limite négatif. (titre de 4 pour le lot témoin positif). La vaccination au couvoir réalisée avec le 793-B indique une bonne prise vaccinale à 35 jours mais avec un coefficient de variation de 26 % plus élevé

sur le lot témoin positif. 16 % sur le lot test et 14 % sur le lot témoin négatif.

Pour la souche Mass, les titres s'étalent entre 4,5 et 5,4, ce qui indique une bonne immunité pour les 3 lots. En revanche, dans chaque lot, un tiers des sérums a un titre inférieur à 4, et sont donc qualifiés de négatif. Certains sujets n'ont donc pas ou plus d'immunité protectrice vis-à-vis de la souche Mass. Le coefficient de variation du lot témoin négatif de 20%, indique une relative homogénéité dans les titres. En revanche, pour le lot témoin positif et le lot test, les coefficients sont plus élevés (36 à 38 %) ce qui indique une plus grande variation dans les titres avec plus de sujets ayant un titre négatif et d'autres très positifs (titre de 7 à 9).

Pour le type Qx, les titres moyens sont moins élevés que pour le type Mass ou 793-B et plus élevés que ceux de l'Italy 02. Il n'y a donc pas eu de concurrence avec un virus sauvage, sinon les titres auraient été plus élevés. Pour le lot A et B, 16 titres sur 20 sont inférieurs à 4, et sont considérés comme négatifs. Les titres moyens ne dépassent pas 6.

Pour le lot C : 11/16 sont négatifs et 2 sérums ont des titres à 7, donc supérieurs.

L'application d'une troisième souche de virus bronchique (Qx) (Lot B et C) pourrait expliquer les coefficients de variation plus élevés que le lot témoin négatif non vacciné en Qx.

L'analyse statistique avec le test d'ANOVA (Tableau 3) n'a pas été réalisée sur le lot A et B, ni sur le lot A et C, en raison d'une vaccination supplémentaire pour les lots B et C par rapport au A. Pour le lot B (éprouvé) et le lot C (témoin positif), le test met en évidence une différence significative (p-value= 0,05) qui confirme bien que les titres issus d'un lot vacciné non éprouvé aux huiles essentielles sont plus élevés que ceux issus du lot vacciné et éprouvé aux Huiles essentielles.

La prise vaccinale vis-à-vis du Qx n'est pas très élevée, et il n'y a pratiquement pas de différence entre les titres issus d'un lot non vaccinés et ceux issus d'un lot vacciné et éprouvé.

Le lot vacciné non éprouvé par les huiles essentielles a un titre en anticorps plus élevé que pour un lot vacciné et éprouvé. Les huiles essentielles neutralisent le virus vaccinal en inhibant la réplication du virus vaccinal et donc diminuent la production d'anticorps. Les huiles essentielles, administrées durant les 4 jours suivant la vaccination ont donc bien une activité antivirale et il convient de ne pas les utiliser durant la prise vaccinale. L'essai pourrait être renouvelé avec des applications d'huiles essentielles plus courtes (un ou 2 jours) afin de réduire peut être la période de contre-indication des huiles essentielles, par rapport à la prise vaccinale. L'essai pourrait aussi, être

complété avec une recherche du virus vaccinal Qx, cependant les dernières analyses sur écouvillons cloacaux ou trachéaux réalisées en France sur des lots éprouvés H120 et 793-B au couvoir n'ont pas permis le ré isolement du virus vaccinal Qx lors d'une vaccination en élevage. La protection contre le virus Qx n'étant pas affectée, l'essai aurait pu être conduit avec une vaccination H120 uniquement en couvoir et non 793-B. Cela aurait peut-être permis de retrouver les virus Qx. Le 793-B semblerait plus immunogène que le Mass H120. (titres plus élevés). Dans d'autres pays européens où la vaccination avec le 793-B n'est pas faite à un jour, le Qx vaccinal est plus souvent ré isolé. (Bru et al. 2016)

CONCLUSION :

L'étude a donc permis de conclure sur l'objectif initial qui était de savoir si les huiles essentielles pouvaient inhiber la prise d'un vaccin vivant. Il est donc déconseillé d'avoir recours à des huiles essentielles par nébulisation le jour qui précède la vaccination et dans les 4 jours suivant la vaccination.

L'essai a été réalisé avec des huiles essentielles administrées en pulvérisation, donc assez

concentrées et suivant le même mode d'application que le vaccin à savoir la nébulisation. Les huiles essentielles sont aussi souvent utilisées par voie orale soit par l'aliment à des doses très faibles soit en intervention dans des aliments complémentaires, à des doses parfois plus élevées. Du fait de leur nature lipophile, elles sont très bien absorbées par voie orale et donc diffusent très rapidement dans tout l'organisme. Il serait donc très intéressant de renouveler l'étude avec une application d'huiles essentielles dans l'eau de boisson et de vérifier si une telle administration peut aussi inhiber un vaccin vivant administré par voie aérienne. Dans le cadre d'un vaccin antibactérien vivant, les antibiotiques sont proscrits sur une période de 6 jours post vaccination, il semblerait donc qu'il en soit de même avec les huiles essentielles. Enfin cette étude permet de soulever la problématique des huiles essentielles utilisées souvent dans l'alimentation sans contrôle et ce dès le plus jeune âge afin d'améliorer la digestibilité ou de prévenir d'éventuels troubles infectieux: une telle administration ne limite-t-elle pas l'efficacité des vaccins vivants de plus en plus prescrit pour limiter les antibiotiques en élevages ?

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ECOANTIBIO2 2017-2021: Réduire l'utilisation des antibiotiques vétérinaires

Blond F, Boelm G.J, Galliard N, Vancraeynest D, Ledoux A-L et Geerligs H, 2017. JRA-JRPFG2017.279-283.

Bru T, Vila R, Cabana M et Geerlings H.J, 2016. Avian Pathology. 46:1, 52-58

Faucon M, 2015 Traité d'aromathérapie scientifique et médicale. Ed Sang de la Terre.

Franchomme P., et al., 2001. L'aromathérapie exactement. Ed Jollois.

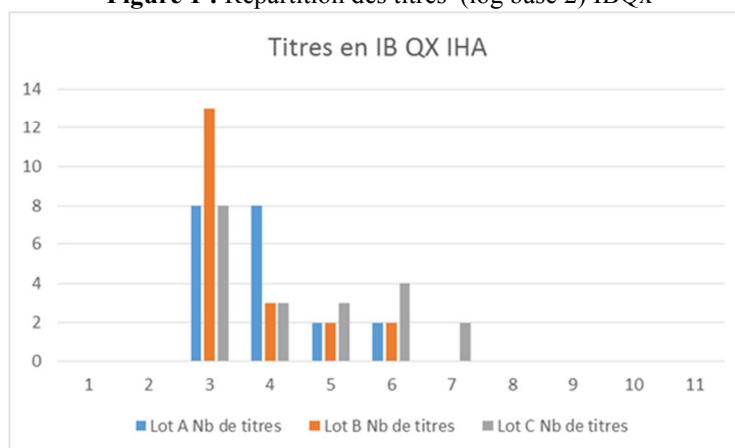
Geerligs H. J., Boelm G.-J., Meinders C. A. M., et al., 2011. Avian Pathology, 40:1, 93-102,

Karimi, V., Ghalyanchilangeroudi, A., Hashemzadeh, M. et al., 2018. Virus Diseases, (29), 123-126.

Shelton M, 2018. ADR II The Animal Desk Reference, Essential Oils for Animals II nd Edition

Willem J.P., 2015. Huiles essentielles antivirales. La solution naturelle pour lutter contre les infections. Ed Tredaniel.

Yun Zhang, Songjian Huang, Yuyao Zeng et al, 2018. Vaccine, (36), Issue 29, 4245-4254.

Figure 1 : Répartition des titres (log base 2) IBQx**Tableau 1. Titres obtenus par IHA BI (Filiavet RESALAB)* Titres exprimés en log base 2**

Titres en Ac IHA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 et +
Lot A témoin négatif											
IBQx			8	8	2	2					
BI793B					1	4	6	6	1		
BI MASS			2	5	7	4					
BI It02			16	3							
Lot B test éprouvé HE + IBQx											
IBQx			13	3	2	2					
BI793B					2	7	6	4	1		
BI MASS			9		4	2	2	1			
BI It02			20								
Lot C Témoin positif IBQx											
IBQx			8	3	3	4	2				
BI793B				1	1	9	3	3	1		2
BI MASS			6	1	2	5	4	1	1		
BI It02			19	1							

Tableau 2. Moyenne, écart type et coefficient de variation par IHA BI (Filiavet RESALAB)

Lot A témoin négatif			
	Titre moyen	Ecart type	%CV
Qx	3,9	1,0	25%
793 B	7,1	1,0	14%
MASS	4,7	1,0	20%
It 02	3,2	0,4	12%
Lot B test			
	Titre moyen	Ecart type	%CV
Qx	3,7	1,0	28%
793 B	6,8	1,1	16%
MASS	4,5	1,7	38%
It 02	3	0,0	0%
Lot C Témoin positif			
	Titre moyen	Ecart type	%CV
Qx	4,5	1,5	33%
793 B	7	1,8	26%
MASS	5,4	1,9	36%
It 02	3,1	0,2	7%

Tableau 3. Résultats du test ANOVA
Différence non significative si p-value>0,05

Test ANOVA	Lot B et C
p value	0,05