

PERSPECTIVES EN MATIERE DE VACCINATION ANTICOCCIDIENNE CHEZ LE POULET.

Yvoré P.(1) , Laurent F.(1) , Pery P.(2), Pascale Quéré (1)

(1) INRA, Station de Pathologie Aviaire et de Parasitologie, 37380 Nouzilly

(2) INRA, Station de Virologie et d'Immunologie Moléculaire, 78352 Jouy-en-Josas cedex

Résumé

Deux voies de recherche sont actuellement exploitées :

- La recherche de vaccins vivants à partir de souches atténuées par sélection sur la "précocité" (cycle biologique plus court), adaptation à l'oeuf embryonné ou application de traitements physiques (rayonnements)

- La recherche de vaccins recombinants à partir de protéines parasitaires produites par génie génétique ainsi que la recherche de nouveaux adjuvants et vecteurs.

Si la première voie a déjà permis l'obtention de vaccins commercialisés elle a toutefois ses limites, la seconde ne semble pas devoir aboutir à des résultats concrets avant plusieurs années mais est probablement la voie d'avenir.

Introduction

La chimioprévention anticoccidienne, si elle a permis le développement de l'élevage industriel, n'a pas pour autant supprimé le problème des coccidioses. Son action se trouve limitée par l'impossibilité de l'employer dans certaines productions (poules pondeuses, poulets labels à certains moments de l'élevage), par l'apparition de souches chimiorésistantes, et par des problèmes de résidus chez l'animal ou dans l'environnement.

L'une des alternatives à l'emploi d'anticoccidien est la recherche d'une résistance chez l'animal soit génétique soit acquise. Nous envisagerons ici les principales voies explorées pour l'obtention de vaccins.

Caractéristiques d'un vaccin anticoccidien

Un vaccin anticoccidien devrait rassembler les caractéristiques générales suivantes :

- *Administrable chez l'animal très jeune* soit dans l'eau de boisson ou l'aliment soit, à la naissance, par injection.

- *Protéger vis-à-vis des conséquences pathologiques ou économiques du parasitisme.* Lors d'infection naturelle l'immunité obtenue est en général partielle. Il s'établit un équilibre entre l'hôte et le parasite. Le développement parasitaire est modéré et compatible avec la rentabilité de la production. Une bonne vaccination ne nécessite pas une éradication complète du parasitisme mais l'obtention d'un niveau immunitaire suffisant pour le rendre tolérable.

- *Immuniser vis-à-vis des 7 espèces parasites du poulet ou au moins des espèces les plus pathogènes.* Actuellement on sait que, au moins 6 des 7 espèces parasites du poulet sont présentes en France, parfois simultanément dans le même élevage. *Eimeria necatrix* n'a pas été trouvée dans une étude réalisée en 1994 (Répérant *et al*, 1995, session Posters). Cependant sa présence avait été démontrée lors d'enquêtes plus anciennes. A-t-elle disparue ? Il est difficile de l'affirmer. Par ailleurs, si elle semble au moins rare, elle est très pathogène et doit sans doute être prise en compte dans les programmes de vaccinations. En outre, le fait de l'ignorer pourrait conduire à en augmenter la prévalence.

- *Etre d'un coût compatible avec la production.* Ce coût peut varier avec le type de production et un vaccin peut être plus spécialement destiné à des productions comme la poulette ou le poulet label où l'obtention d'une immunité est souhaitable et où la chimioprévention pose des problèmes d'application.

Vaccins vivants

1. Souches virulentes

Une technique de vaccination actuellement proposée consiste à administrer, très précocement et de manière continue pendant environ 3 semaines un nombre très faible d'oocystes (5 à 20/poulet/souche/jour) de souches virulentes. Norton et Joyner (1986) ont montré qu'il était possible, avec toutes les espèces parasites du poulet, d'immuniser ainsi les animaux sans conséquence pour ceux-ci et sans contaminer de façon très importante le milieu d'élevage. Cette administration pourrait se faire par incorporation des oocystes dans l'aliment après leur enrobage dans des alginates. La faible contamination journalière et l'obtention assez rapide d'une immunité limitent la contamination de l'environnement. Cependant celle-ci existe et nous risquons d'introduire dans l'élevage des souches virulentes d'espèces qui y étaient absentes. En outre il est difficilement admissible d'incorporer dans un aliment des agents pathogènes virulents. Cette méthode est connue sous le nom de "Trickle infection".

2. Souches atténuées

Essentiellement 3 méthodes ont été employées pour obtenir des souches atténuées : l'irradiation, l'adaptation de la souche à l'oeuf embryonné et la sélection sur la "Précocité".

2.1. Irradiation

L'idée de diminuer le pouvoir pathogène par irradiation est ancienne et avait plus ou moins été abandonnée. Quelques travaux ont parus récemment (Mielke, 1993; Augustine *et al*, 1993; Jenkins *et al*, 1991 et 1993; Drossigk *et al*, 1993) et redonnent une actualité à cette voie de recherche.

Les oocystes de coccidies sont très résistants à l'irradiation. Pour beaucoup d'auteurs l'irradiation n'atténue pas le pouvoir pathogène et ne modifie pas le pouvoir immunogène, mais diminue le nombre de parasites viables. Récemment cependant, Augustine *et al* (1993) ont montré qu'il pouvait y avoir un développement partiel qui pourrait induire l'immunité. Par ailleurs, quand il y a développement complet, Bajwa et Gill (1977) ont montré que les oocystes issus d'une souche irradiée, sont aussi pathogènes et ont le même pouvoir de multiplication que des oocystes non irradiés. Il y a donc une contamination du milieu avec des souches pathogènes.

2.2. Souches adaptées à l'oeuf embryonné

Il est possible de cultiver certaines espèces de coccidies sur oeuf embryonné. Après un certain nombre de passages la souche s'adapte au milieu de culture et on observe, parallèlement une atténuation du pouvoir pathogène pour l'hôte normal : le poulet. En général le pouvoir immunogène est conservé. Cela dépend néanmoins de la souche employée. Après plusieurs passages sur poulet la souche peut retrouver son pouvoir pathogène pour cet hôte. La rapidité de cette réversion est fonction du nombre de passage sur oeuf embryonné et du niveau d'adaptation à ce milieu. En outre toutes les espèces ne se cultivent pas sur oeuf.

Malgré ces inconvénients certains vaccins en cours d'élaboration ou commercialisés comportent des souches adaptées à l'oeuf embryonné.

2.3. Souches "Précoces"

Jeffers (1975), en sélectionnant, passage après passage les premiers oocystes émis par des poulets inoculés par *E. tenella*, a obtenu une souche à période prépatente plus courte et dont le cycle de développement était modifié à partir de la seconde génération de schizontes. Cette "précocité" d'apparition des oocystes après inoculation expérimentale peut être obtenue avec toutes les espèces de coccidies parasites du poulet. Les souches obtenues sont stables, peu ou pas pathogènes et immunogènes. Si chez le poulet les oocystes ne se différencient pas morphologiquement des souches "normales", chez les coccidies parasites du lapin Licois *et al* (1990) ont constaté des différences morphologiques importantes entre souches "normales" et souches "précoces". Il leur a même été possible d'obtenir d'emblée une souche précoce en isolant un oocyste et en

l'administrant à un animal. Cela permet de penser que le caractère est d'origine génétique au moins pour les espèces parasites du lapin.

La première condition pour obtenir une immunité est le développement partiel ou total du parasite. Il est donc essentiel pour un vaccin de ce type qu'aucun anticoccidien ne figure dans l'aliment. On pourrait envisager l'emploi de souches précoces résistantes aux anticoccidiens. Cela est illusoire et dangereux car il faudrait des multirésistances de toutes les souches administrées et l'introduction de souches chimiorésistantes peut être dangereuse car on ne connaît pas les mécanismes impliqués et leur mode de transmission.

Les avantages de ce type de vaccin sont sa possibilité d'obtention avec toutes les espèces de coccidies, la facilité d'administration dans l'eau de boisson, l'entretien de l'immunité par la réingestion de la souche précoce présente dans l'environnement.

Les inconvénients sont la nécessité de multiplier chaque souche sur animal (taux de multiplication faible des souches "précoces", nécessité d'un statut EOPS rigoureux de l'animal) et un coût de production assez élevé, fonction du nombre de souches administrées. C'est aussi l'absence, pour les espèces parasitant les oiseaux tout au moins, de marqueur de la précocité. Des études sont en cours dans ce domaine mais elles n'ont pas pour l'instant abouties. Enfin on pourrait craindre, avec ces vaccins, l'introduction de parasites dans l'élevage. Cela est propre à tout vaccin vivant. Le problème est plus de connaître la stabilité du caractère de précocité; ce qui semble bien démontré par les différents travaux publiés.

Antigènes vaccinaux

1. Antigènes

Dès 1986 Murray *et al* ont montré qu'il était possible d'induire une résistance avec des extraits de parasites tués. En administrant plusieurs fois à des poulets, à une semaine d'intervalle, par voie orale ou par injection intramusculaire, des extraits protéiques de sporozoïtes d'*E.tenella*, ces auteurs obtiennent une protection partielle vis-à-vis d'une réinfection par la même espèce. Cependant, cette résistance est étroitement spécifique. Avec *E.acervulina* par contre, on constate, après l'administration d'extraits protéiques l'induction d'un certain degré de résistance vis-à-vis d'*E.tenella* et d'*E.maxima*. Ces résultats encourageants ont engagé de nombreux auteurs à rechercher des antigènes vaccinaux.

Différents types d'antigènes ont été étudiés : des antigènes de surface de sporozoïtes ou de mérozoïtes, des antigènes internes essentiellement localisés dans le corps réfringent, les rhoptries ou les micronèmes, enfin quelques travaux portent sur des formes gamogoniques.

Pour les coccidies du poulet, un certain nombre d'antigènes recombinants ont pu être isolés et caractérisés. Les méthodes employées pour leur obtention sont assez classiques. Pour l'instant, si les protéines obtenues peuvent induire une résistance à la réinfection, la protection obtenue est assez faible. Certaines protéines se retrouvent chez plusieurs espèces de coccidies. Récemment plusieurs équipes ont clonés des protéines présentes dans le globule réfringent des sporozoïtes, qui semblent conservées dans l'ensemble des espèces du genre *Eimeria* (Abrahamsen *et al*, 1994; Laurent *et al*, 1993). De même nous avons identifié à partir d'une souche d'*E.acervulina* une protéine dont la séquence ne diffère que pour un acide aminé de celle obtenue aux Etats-Unis sur un autre isolat de la même espèce. Ceci suggère, au moins pour certaines protéines, une bonne conservation entre isolats ainsi que la présence d'antigènes communs qui pourrait être de bons candidats pour des vaccins.

2. Adjuvants et vecteurs

Un certain nombre d'adjuvants ont été associés aux protéines (alun, adjuvant de Freund, saponine, toxine cholérique ...) de même que des vecteurs (bactéries vivantes ou tuées, liposomes, iscoms). Il reste que, si pour l'étude du pouvoir antigénique d'une protéine ces différentes associations sont justifiées, toutes ne sont pas envisageables dans la pratique.

Méthodes de vaccination

Actuellement les vaccins vivants sont administrés dans les premiers jours de la vie de l'animal (2 à 9 jours) dans l'eau de boisson. Une forme pharmaceutique avec dispersant permet d'assurer une bonne administration du produit. Nous avons pu contrôler ce fait grâce au critère très sensible de la décoloration plasmatique 6 jours après une infection. On constatait, chez les animaux ayant reçu un vaccin une légère, mais très significative décoloration plasmatique chez tous les animaux avec un taux de variabilité faible. Ceci est sans conséquence sur la coloration finale mais signalait la prise vaccinale.

L'aliment pourrait être retenu, soit par incorporation des oocystes dans un aliment humide, soit en incorporant des oocystes enrobés avec des alginates dans un aliment normal.

Pour les antigènes recombinants la voie parentérale, à la naissance, pourrait être utilisée. La voie orale peut aussi être retenue en utilisant des formes particulières : liposomes (Rhalem *et al*, 1989) ou ISCOMs (Kasangi *et al*, 1992).

En dehors de l'administration au poulet deux autres possibilités sont à l'étude : la vaccination dans l'oeuf ou celle des parentaux. A ce sujet, des résultats récents sur la protection du jeune issu de mère vacciné sont assez encourageants (Smith *et al*, 1994a et b). Cela constitue une voie intéressante à explorer.

Conclusions

Actuellement les premiers vaccins vivants à souches modifiées par sélection sur la précocité ou adaptation à l'oeuf embryonné sont commercialisés dans plusieurs pays d'Europe. Pour l'instant ces vaccins s'appliquent à l'espèce poule mais il n'est pas exclus que d'autres productions comme la dinde ou le lapin soient par la suite concernées.

Par ailleurs, si certains laboratoires ont plus ou moins abandonné la recherche d'antigènes vaccinaux, ce sujet reste d'actualité et, sur le plan européen, un projet (COST89 puis COST820) sur le thème de la vaccination vis-à-vis d'un certain nombre de protozoaires (coccidies, cryptosporidies, toxoplasmes) regroupe environ 15 laboratoires répartis dans 7 états.

On peut donc raisonnablement espérer qu'après une première génération de vaccins vivants nous disposerons de vaccins plus élaborés composés d'antigènes recombinants. Les vaccins vivants, plus facile à mettre au point, peuvent par ailleurs constituer la meilleure solution pour certaines productions pour lesquelles des recherches plus élaborées ne seront pas entreprises.

Que sera le vaccin du futur ? Sera-t-il composé d'un ou de plusieurs antigènes ? Y a-t-il des variants antigéniques chez les coccidies ? Quelle sera la forme d'administration (voie, vecteurs, adjuvants) ? A qui sera-t-il administré : animal à vacciner, parentaux ou même embryon ? Il est difficile de répondre à ces questions, de même que de prévoir le temps nécessaire à sa mise au point. Après de grands espoirs, on s'est vite aperçu des difficultés que représentaient la mise au point de vaccins vis-à-vis de grandes endémies parasitaires. Il semble cependant que la situation évolue comme c'est le cas pour le paludisme humain. En outre il est plus facilement admis actuellement que pour de telles entités parasitaires, en production animale, il n'est pas nécessaire d'obtenir une éradication complète du parasitisme mais simplement d'en réduire les conséquences.

Références

- Abrahamsen M.S., Johnson R.R., Clark T.G., White M.W., 1994. Mol. Bioch. Parasitol. 68,25-34.
Augustine P.C., Danforth H.D., Jenkins M.C., 1993. Avian Dis. 37,349-357.
Bajwa R.S., Gill B.S., 1977. Ann. Rech. Vét. 8,181-186.
Drossigk U., Mielke D., Jungmann R., 1993. Monats. Veterin. 48,315-318
Jeffers T.K., 1975. J. Parasitol. 61,1083-1090.
Jenkins M.C., Augustine P.C., Danforth H.D., Barta J.R., 1991. Infection Immunity 59,4042-4048.
Jenkins M.C., Seferian P.G., Augustine P.C., Danforth H.D., 1993. Avian Dis. 37,74-82.
Kazanji M., Laurent F., 1994. Vaccine 12,798-804.
Laurent F., Bourdieu C., Kaga M., Chilmonczyk S., Zgrzebski G., Yvoré P., Péry P., 1993. Mol. Bioch. Parasitol. 62,303-312

- Licois D., Coudert P., Boivin M., Drouet-Viard F., 1990. *Parasitol. Res.* 76,192-198.
- Mielke D., 1993. *Applied Parasitol.* 34,11-18.
- Murray P.K., Bhogal B.S., Crane M. St. J., McDonald T.T., 1986. *Research in Avian Coccidiosis. Proc. of the Georgia Coccidiosis Conference* pp 564-573.
- Norton C.C., Joyner L.P., 1986. *Parasitology* 92,499-510.
- Rhalem A., Bekhti K., Bourdieu C., Luffau G., Pery P., 1989. *C.R. Ac. Sci. Série 3*, 309,19-23.
- Smith N.C., Wallach M., Miller C.M.D., Braun R., Eckert J., 1994a. *Infection Immunity* 62,4811-4817.
- Smith N.C., Wallach M., Petracca M., Braun R., Eckert J., 1994b. *Parasitology* 109,551-557.